



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0003147
(43) 공개일자 2021년01월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 47/10 (2017.01)
A61K 47/12 (2006.01) A61K 47/22 (2017.01)
A61K 47/26 (2017.01) A61K 47/68 (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/39591 (2013.01)
A61K 47/10 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7032399
(22) 출원일자(국제) 2019년04월12일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년11월10일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/027329
(87) 국제공개번호 WO 2019/200322
국제공개일자 2019년10월17일
(30) 우선권주장
62/657,185 2018년04월13일 미국(US)
- (71) 출원인
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
- (72) 발명자
파텔, 안키톨 알.
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌 프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내
리우, 준
미국 94080 캘리포니아주 사우쓰 샌 프란시스코
디엔에이 웨이 1 제넨테크 인크. 내
- (74) 대리인
장덕순, 이귀동

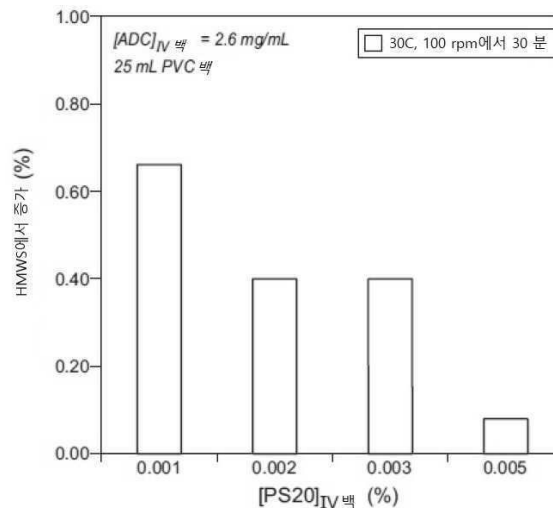
전체 청구항 수 : 총 109 항

(54) 발명의 명칭 안정된 항-CD79B 면역접합체 제제

(57) 요약

본 발명은 항-CD79b 면역접합체 및 계면활성제를 포함하는 안정된 제약학적 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한, 암의 치료를 위해 이런 조성물을 이용하기 위한 방법을 제공한다.

대표도 - 도6



(52) CPC특허분류

A61K 47/12 (2013.01)

A61K 47/22 (2013.01)

A61K 47/26 (2013.01)

A61K 47/6803 (2017.08)

A61K 47/6849 (2017.08)

A61K 47/6867 (2017.08)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/08 (2013.01)

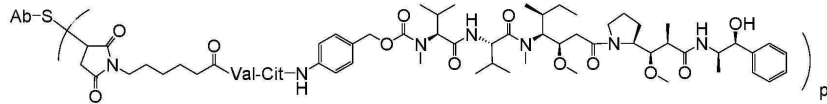
A61K 9/19 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

항-CD79b 면역접합체 및 계면활성제를 포함하는 제약학적 조성물이며,
상기 계면활성제는 적어도 0.06% w/v의 농도로 존재하고,
상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고,

여기서 상기 경쇄는

(a) KASQSDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열,

(b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열, 및

(c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열

을 포함하고,

여기서 상기 중쇄는

(a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열,

(b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열, 및

(c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열

을 포함하고,

Val은 발린이고,

Cit는 시트룰린이고,

p는 약 1 내지 약 8의 값인

제약학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 항-CD79b 면역접합체가 약 5 mg/ml 내지 약 60 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 50 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 40 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 30 mg/ml, 또는 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 항-CD79b 면역접합체가 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 4

제2항 또는 제3항에 있어서, 항-CD79b 면역접합체가 20 mg/ml의 농도로 존재하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,
10 mg/ml의 농도로 존재하는 항-CD79b 면역접합체 및
0.06% w/v의 농도로 존재하는 계면활성제
를 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
20 mg/ml의 농도로 존재하는 항-CD79b 면역접합체 및
0.12% w/v의 농도로 존재하는 계면활성제
를 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,
20 mg/ml의 농도로 존재하는 항-CD79b 면역접합체 및
적어도 0.12% w/v의 농도로 존재하는 계면활성제
를 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 계면활성제가 폴리소르베이트 20 (PS20), 폴리소르베이트 80 (PS80), 폴록사머 188 (P188), N-옥틸-β-D 글루코피라노시드 (OG), 및 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약학적 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 완충제를 추가로 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 완충제가 히스티딘 완충액 또는 숙신산염 완충액인 제약학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 완충제가 히스티딘 완충액인 제약학적 조성물.

청구항 12

제10항에 있어서, 완충제가 숙신산염 완충액인 제약학적 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 숙신산염 완충액이 숙신산나트륨 완충액인 조성물.

청구항 14

제13항에 있어서, 숙신산나트륨 완충액이 약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도로 존재하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 숙신산나트륨 완충액이 10 mM의 농도로 존재하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 약 5.0 내지 약 6.0의 pH를 갖는 제약학적 조성물.

청구항 17

제16항에 있어서, 5.3의 pH를 갖는 제약학적 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 당을 추가로 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 당이 약 100 mM 내지 약 260 mM의 농도로 존재하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 당이 수크로오스, 만니톨, 소르비톨, 글리세롤, 텍스트란 40 및 트레할로스로 구성된 군에서 선택되는 것인 제약학적 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 당이 수크로오스인 제약학적 조성물.

청구항 22

제22항에 있어서, 수크로오스가 120 mM의 농도로 존재하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 23

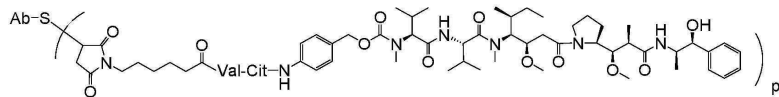
제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 동결 건조된 케이크로부터 재구성된 제약학적 조성물.

청구항 24

10 mM 숙신산나트륨 완충액, 0.12% w/v의 폴리소르베이트 20 및 120 mM 수크로오스 중 20 mg/ml의 항-CD79b 면역접합체를 포함하는 액체 조성물의 동결 건조에 의해 생산되는 제약학적 조성물이며,

상기 액체 조성물은 5.3의 pH를 갖고,

상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고,

여기서 상기 경쇄는

(a) KASQSVDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열,

(b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열, 및

(c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열

을 포함하고,

여기서 상기 중쇄는

(a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열,

(b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열, 및

(c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열

을 포함하고,
Val은 발린이고,
Cit는 시트룰린이고,
p는 약 1 내지 약 8의 값인
제약학적 조성물

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 항-CD79b 항체가
서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및
서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)
을 포함하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서,
중쇄가 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,
경쇄가 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 것인
제약학적 조성물.

청구항 27

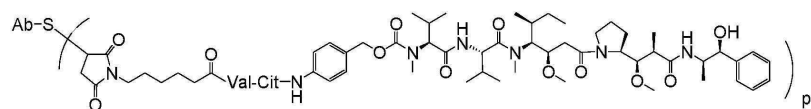
제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, p가 약 2 내지 약 5 사이의 값인 제약학적 조성물.

청구항 28

10 mM 숙신산나트륨 완충액, 0.12% w/v의 폴리소르베이트 20 및 120 mM 수크로오스 중 20 mg/ml의 항-CD79b 면역접합체를 포함하는 액체 조성물의 동결 건조에 의해 생산되는 제약학적 조성물이며,

상기 액체 조성물은 5.3의 pH를 갖고,

상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고, 여기서

상기 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,

상기 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고,

Val은 발린이고,

Cit는 시트룰린이고,

p는 약 2 내지 약 5의 값인

제약학적 조성물.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, p가 약 3.5인 제약학적 조성물.

청구항 30

제24항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 광으로부터 보호되는 경우에 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 에서 약 48 개월 동안 안정성을 갖는 제약학적 조성물.

청구항 31

제30항에 있어서, 조성물의 안정성이 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 계측되는 것인 제약학적 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, SE-HPLC에 의해 계측 시에 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %)를 갖는 제약학적 조성물.

청구항 33

제28항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물의 안정성이 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF)에 의해 계측되는 것인 제약학적 조성물.

청구항 34

제33항에 있어서, icIEF에 의해 계측 시에 적어도 58.0의 주요 피크 (면적 %), 32.0 이하의 산 영역 (면적 %), 및 12.0 이하의 염기성 영역 (면적 %)을 갖는 제약학적 조성물.

청구항 35

제24항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 동결 건조된 케이크인 제약학적 조성물.

청구항 36

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 재구성된 조성물을 생산하기 위해 주사용 무균수 (SWFI)로 재구성되는 제약학적 조성물.

청구항 37

제1항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 재구성된 조성물을 생산하기 위해 약 7.2 ml SWFI로 재구성되는 제약학적 조성물.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서, 재구성된 조성물이 약 30°C 에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정한 것인 제약학적 조성물.

청구항 39

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 재구성된 조성물이 약 2°C 내지 약 8°C 에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정한 것인 제약학적 조성물.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 재구성된 조성물이, 희석된 조성물을 생산하기 위해 정맥내 (IV) 백에서 등장성 완충액 내로 추가로 희석될 수 있는 것인 제약학적 조성물.

청구항 41

제40항에 있어서, IV 백에서 희석된 조성물의 최종 용적이 약 100 ml인 제약학적 조성물.

청구항 42

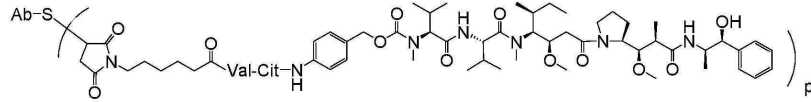
제40항 또는 제41항에 있어서, 희석된 조성물 중 면역접합체의 농도가 약 0.72 mg/ml 내지 약 2.7 mg/ml 사이인 제약학적 조성물.

청구항 43

(a) 10 mM 숙신산나트륨 완충액, 0.12% w/v의 폴리소르베이트 20 및 120 mM 수크로오스 중 20 mg/ml의 항-CD79b 면역접합체를 포함하는 액체 조성물을 동결 건조시켜 동결 건조된 조성물을 생산하는 단계이며,

상기 액체 조성물은 5.3의 pH를 갖고,

상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고, 여기서

상기 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,

상기 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고,

Val은 발린이고,

Cit는 시트룰린이고,

p는 약 2 내지 약 5의 값인

단계,

(b) 동결 건조된 조성물을 약 7.2 ml 주사용 무균수 (SWFI)로 재구성하여 재구성된 조성물을 생산하는 단계, 및

(c) 재구성된 조성물을 정맥내 (IV) 백에서 등장성 완충액 내로 희석하여 제약학적 조성물을 생산하는 단계를 포함하는 방법에 의해 생산되는 제약학적 조성물이며,

여기서 IV 백에서 상기 제약학적 조성물의 최종 용적은 약 100 ml이고,

여기서 상기 제약학적 조성물 중 상기 면역접합체의 최종 농도는 약 0.72 mg/ml 또는 약 2.7 mg/ml인 제약학적 조성물.

청구항 44

제43항에 있어서, p가 약 3.5인 제약학적 조성물.

청구항 45

제38항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 등장성 완충액이 0.9% 염화나트륨 용액, 0.45% 염화나트륨 용액, 또는 5% 텍스트로스 용액인 제약학적 조성물.

청구항 46

a) 약 0.72-2.7 mg/ml 사이의 폴라투주맙 베도틴,

b) 약 0.36-01.35 mM 사이의 숙신산나트륨,

c) 약 0.51-16.24 mM 사이의 수크로오스,

d) 약 0.0432-0.162 mg/ml 사이의 폴리소르베이트 20

을 포함하며, pH는 약 5 내지 약 5.7 사이인 액체 조성물.

청구항 47

a) 약 0.72 mg/ml 폴라투주맙 베도틴,

b) 약 0.36 mM 숙신산나트륨,

- c) 약 0.51 mM 수크로오스,
d) 약 0.0432 mg/ml 폴리소르베이트 20
을 포함하며, pH는 5.1 내지 약 5.4 사이인 액체 조성물.

청구항 48

- a) 약 2.7 mg/ml 플라투주맙 베도틴,
b) 약 01.35 mM 숙신산나트륨,
c) 약 16.24 mM 수크로오스,
d) 약 0.162 mg/ml 폴리소르베이트 20
을 포함하며, pH는 약 5.1 내지 약 5.4 사이인 액체 조성물.

청구항 49

제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 용적이 약 50 ml 내지 약 100 ml 사이인 액체 조성물.

청구항 50

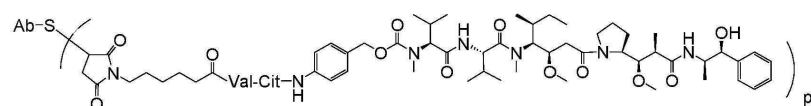
제49항에 있어서, 용적이 50 ml인 액체 조성물.

청구항 51

제49항에 있어서, 용적이 100 ml인 액체 조성물.

청구항 52

항-CD79b 면역접합체, 계면활성제, 숙신산염 완충액 및 당을 포함하는 제약학적 조성물이며,
상기 제약학적 조성물은 물 중 재구성될 때,
약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재하는 항-CD79b 면역접합체,
적어도 0.06% w/v의 농도로 존재하는 계면활성제,
약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도로 존재하는 숙신산염 완충액 및
약 100 mM 내지 약 260 mM의 농도로 존재하는 당
을 포함하는 액체 제약학적 조성물을 형성하고,
상기 액체 제약학적 조성물은 5.3의 pH를 갖고,
상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고,

여기서 상기 경쇄는

- (a) KASQSVDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열,
(b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열, 및
(c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열
을 포함하고,

여기서 상기 중쇄는

- (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열,
- (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열, 및
- (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열

을 포함하고,

Val은 발린이고,

Cit는 시트룰린이고,

p는 약 1 내지 약 8의 값인

제약학적 조성물.

청구항 53

제52항에 있어서, 항-CD79b 항체가

서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및

서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)

을 포함하는 것인 제약학적 조성물.

청구항 54

제52항 또는 제53항에 있어서,

항-CD79b의 중쇄가 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,

항-CD79b 항체의 경쇄가 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 것인

제약학적 조성물.

청구항 55

제24항 내지 제34항 또는 제52항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서,

제약학적 조성물은 동결 건조에 의해 생산되며,

동결 건조된 제약학적 조성물은 약 2℃ 내지 약 8℃에서 보관 시에 적어도 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 또는 60 개월 동안 안정한 것인

제약학적 조성물.

청구항 56

제55항에 있어서, 동결 건조된 제약학적 조성물은 동결 건조된 케이크인 제약학적 조성물.

청구항 57

제52항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 재구성 이후에, 약 30℃에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정한 제약학적 조성물.

청구항 58

제52항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 재구성 이후에, 약 2℃ 내지 약 8℃에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정한 제약학적 조성물.

청구항 59

제52항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서,

제구성 이후에, IV 백에서 등장성 완충액 내로 회석되고,
IV 백에서 회석 시에 계면활성제 농도가 적어도 0.003% w/v인
제약학적 조성물.

청구항 60

제59항에 있어서, IV 백에서 회석 시에 계면활성제 농도가 적어도 0.004% w/v인 제약학적 조성물.

청구항 61

제52항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 계면활성제가 폴리소르베이트 20인 제약학적 조성물.

청구항 62

제52항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 당이 수크로오스인 제약학적 조성물.

청구항 63

제52항 내지 제58항 및 제61항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 수크로오스가 120 mM의 농도로 존재하는
것인 제약학적 조성물.

청구항 64

제52항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 숙신산염 완충액이 숙신산나트륨 완충액인 제약학적 조성물.

청구항 65

제64항에 있어서, 제구성 이후 및 회석 전에, 숙신산나트륨 완충액이 10 mM의 농도로 존재하는 것인 제약학적
조성물.

청구항 66

제52항 내지 제58항 및 제61항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 5℃ ± 3℃에서 약 7 일의 안정성을 갖는
제약학적 조성물.

청구항 67

제66항에 있어서, 조성물의 안정성이 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 계측되는 것인
제약학적 조성물.

청구항 68

제67항에 있어서, SE-HPLC에 의해 계측 시에 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %)를 갖는 제약학적 조성물.

청구항 69

제52항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물의 안정성이 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF)에 의해 계
측되는 것인 제약학적 조성물.

청구항 70

제69항에 있어서, icIEF에 의해 계측 시에 적어도 58.0의 주요 피크 (면적 %), 32.0 이하의 산 영역 (면적 %),
및 12.0 이하의 염기성 영역 (면적 %)을 갖는 제약학적 조성물.

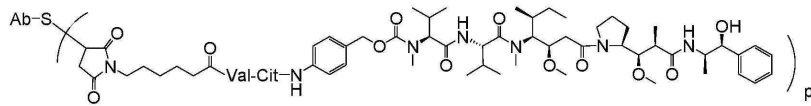
청구항 71

제52항 내지 제58항 및 제61항 내지 제70항 중 어느 한 항의 제약학적 조성물을 함유하는 유리 바이알.

청구항 72

항-CD79b 면역접합체, 계면활성제, 숙신산염 완충액 및 당을 포함하는 액체 조성물이며,

상기 항-CD79b 면역접합체는 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재하고,
상기 계면활성제는 적어도 0.06% w/v의 농도로 존재하고,
상기 숙신산염 완충액은 약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도로 존재하고,
상기 당은 약 100 mM 내지 약 260 mM의 농도로 존재하고,
상기 액체 조성물은 5.3의 pH를 갖고,
상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고,

여기서 상기 경쇠는

(a) KASQSVDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열,

(b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열, 및

(c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열

을 포함하고,

여기서 상기 중쇄는

(a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열

(b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열, 및

(c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열

을 포함하고,

Val은 발린이고,

Cit는 시트룰린이고,

p는 약 1 내지 약 8의 값인

액체 조성물.

청구항 73

제72항에 있어서, 항-CD79b 항체가

서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및

서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)

을 포함하는 것인 액체 조성물.

청구항 74

제72항 또는 제73항에 있어서,

항-CD79b의 중쇄가 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,

항-CD79b 항체의 경쇄가 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 것인

액체 조성물.

청구항 75

제72항 내지 제74항 중 어느 한 항에 있어서, 계면활성제가 폴리소르베이트 20인 액체 조성물.

청구항 76

제72항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 당이 수크로오스인 액체 조성물.

청구항 77

제76항에 있어서, 수크로오스가 약 120 mM의 농도로 존재하는 것인 액체 조성물.

청구항 78

제72항 내지 제77항 중 어느 한 항에 있어서, 숙신산염 완충액이 숙신산나트륨 완충액인 액체 조성물.

청구항 79

제78항에 있어서, 숙신산나트륨 완충액이 10 mM의 농도로 존재하는 것인 액체 조성물.

청구항 80

제72항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 등장성 완충액 중 희석되는 액체 조성물.

청구항 81

제80항에 있어서, 등장성 완충액이 0.9% 염화나트륨 용액, 0.45% 염화나트륨 용액, 또는 5% 텍스트로스 용액인 액체 조성물.

청구항 82

제80항 또는 제81항에 있어서, 등장성 완충액 중 희석되는 조성물이 IV 백 내에 있는 것인 액체 조성물.

청구항 83

제72항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 5℃ ± 3℃에서 약 72 시간의 안정성을 갖는 액체 조성물.

청구항 84

제72항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 25℃에서 약 24 시간의 안정성을 갖는 액체 조성물.

청구항 85

제72항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 약 30℃에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정한 액체 조성물.

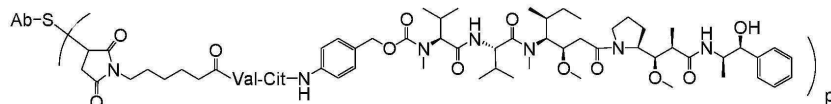
청구항 86

제72항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, 약 2℃ 내지 약 8℃에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정한 액체 조성물.

청구항 87

약 150 mg의 항-CD79b 면역접합체, 약 9.0 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.88 mg 숙신산, 약 4.08 mg 수산화나트륨 및 약 309 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이며,

상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고, 여기서
 항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,
 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고,
 Val은 발린이고,
 Cit는 시트룰린이고,
 p는 약 2 내지 약 5의 값인
 동결 건조된 제약학적 조성물.

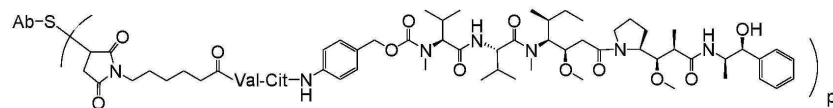
청구항 88

약 150 mg의 폴라투주맙 베도틴, 약 9.0 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.88 mg 숙신산, 약 4.08 mg 수산화나트륨 및 약 309 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물.

청구항 89

약 140 mg의 항-CD79b 면역접합체, 약 8.4 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.27 mg 숙신산, 약 3.80 mg 수산화나트륨 및 약 288 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이며,

상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고, 여기서
 항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,
 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고,
 Val은 발린이고,
 Cit는 시트룰린이고,
 p는 약 2 내지 약 5의 값인
 동결 건조된 제약학적 조성물.

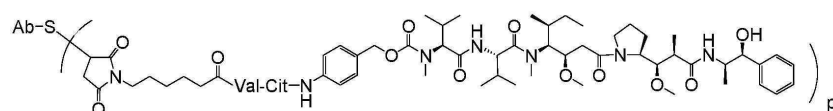
청구항 90

약 140 mg의 폴라투주맙 베도틴, 약 8.4 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.27 mg 숙신산, 약 3.80 mg 수산화나트륨 및 약 288 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물.

청구항 91

약 30 mg의 항-CD79b 면역접합체, 약 1.8 mg 폴리소르베이트 20, 약 1.77 mg 숙신산, 약 0.816 mg 수산화나트륨 및 약 61.8 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이며,

상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항-CD79b 항체이고, 여기서

항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고,
 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고,
 Val은 발린이고,
 Cit는 시트룰린이고,
 p는 약 2 내지 약 5의 값인
 동결 건조된 제약학적 조성물.

청구항 92

약 30 mg의 폴라투주맙 베도틴, 약 1.8 mg 폴리소르베이트 20, 약 1.77 mg 숙신산, 약 0.816 mg 수산화나트륨 및 약 61.8 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물.

청구항 93

제87항, 제89항 및 제91항 중 어느 한 항에 있어서, p가 약 3.5인 동결 건조된 조성물.

청구항 94

약 140-150 mg의 폴라투주맙 베도틴, 약 8.4-9.0 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.27-8.88 mg 숙신산, 약 3.80-4.08 mg 수산화나트륨 및 약 288-309 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물.

청구항 95

제87항 내지 제94항 중 어느 한 항에 있어서, 약 2℃ 내지 약 8℃에서 보관 시에 적어도 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54 또는 60 개월 동안 안정한 동결 건조된 제약학적 조성물.

청구항 96

제87항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 동결 건조된 케이크인 동결 건조된 제약학적 조성물.

청구항 97

a) 5-60 mg/ml 폴라투주맙 베도틴,
 b) 10-200 mM 숙신산나트륨,
 c) 100-260 mM 수크로오스,
 d) 0.06-0.12% w/v 폴리소르베이트 20
 을 포함하며, pH는 5 내지 6 사이인 액체 제약학적 조성물.

청구항 98

제97항에 있어서,
 a) 10-55 mg/ml 폴라투주맙 베도틴,
 b) 10-100 mM 숙신산나트륨,
 c) 150-260 mM 수크로오스,
 d) 0.08-0.12% w/v 폴리소르베이트 20
 을 포함하며, pH는 5.1 내지 5.6 사이인 액체 조성물.

청구항 99

제97항에 있어서,
 a) 15-40 mg/ml 폴라투주맙 베도틴,

- b) 10-50 mM 숙신산나트륨,
 - c) 200-260 mM 수크로오스,
 - d) 0.1-0.12% w/v 폴리소르베이트 20
- 을 포함하며, pH는 5.2 내지 5.4 사이인 액체 조성물.

청구항 100

- a) 20 mg/ml 폴라투주맙 베도틴,
 - b) 10 mM 숙신산나트륨,
 - c) 120 mM 수크로오스,
 - d) 0.12% w/v 폴리소르베이트 20
- 을 포함하며, pH는 약 5.3인 액체 제약학적 조성물.

청구항 101

제97항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 약 30℃에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정한 액체 조성물.

[청구항 101]

제97항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 약 2℃ 내지 약 8℃에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정한 액체 조성물.

청구항 102

증식성 장애의 치료가 필요한 환자에서 증식성 장애를 치료하는 방법이며, 상기 환자에게 제1항 내지 제102항 중 어느 한 항의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 103

제102항에 있어서, 증식성 장애가 암인 방법.

청구항 104

제103항에 있어서, 암이 B 세포 증식성 장애인 방법.

청구항 105

제104항에 있어서, B 세포 증식성 장애가 림프종, 골수종, 비호지킨 림프종 (NHL), 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL), 공격성 NHL, 무통성 림프종, 여포성 림프종 (FL), 재발성 공격성 NHL, 재발성 무통성 NHL, 재발성 NHL, 난치성 NHL, 난치성 무통성 NHL, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 소형 림프성 림프종, 백혈병, 모양 세포성 (hairy cell) 백혈병 (HCL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 및 외투 세포 림프종으로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 106

제105항에 있어서, B 세포 증식성 장애가 비호지킨 림프종 (NHL)인 방법.

청구항 107

제105항에 있어서, B 세포 증식성 장애가 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL)인 방법.

청구항 108

제105항에 있어서, B 세포 증식성 장애가 재발성 NHL 또는 난치성 NHL인 방법.

청구항 109

제105항에 있어서, B 세포 증식성 장애가 여포성 림프종 (FL)인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련된 출원에 대한 교차 참조**

[0002] 본 출원은 2018년 4월 13일자 제출된 U.S. 가출원 일련 번호 62/657,185에 우선권을 주장하고, 이것은 본원에서 전체적으로 참조로서 편입된다.

[0003] **ASCII 텍스트 파일로 서열 목록의 제출**

[0004] ASCII 텍스트 파일로 하기 제출의 내용은 본원에서 전체적으로 참조로서 편입된다: 서열 목록의 컴퓨터 판독가능 형태 (CRF) (파일 명칭: 146392044340SEQLIST.TXT, 기록 일자: 2019년 4월 9일, 크기: 12 KB).

[0005] **분야**

[0006] 본 발명은 항-CD79b 면역접합체 및 계면활성제를 포함하는 안정된 제약학적 조성물에 관계한다. 본 발명은 또한, 암의 치료를 위해 이런 조성물을 이용하기 위한 방법을 제공한다.

배경 기술

[0007] **배경**

[0008] 주입 백을 이용한 정맥내 (IV) 투여는 상업적인 세팅에서 생물제제에 대한 전달의 가장 흔한 루트이다. IV 투여에 의한 생물제제, 예컨대, 면역접합체의 전달과 양립성을 뒷받침하기 위해, 주입 백에서 회석 후, 수술 동안, 그리고 투여의 코스 내내 안정성을 유지하는 적절한 치료 제제를 설계하는 것이 필요하다 (Bardin, C. *et al. Annales pharmaceutiques francaises* 69 (2011) 221-231).

[0009] 생물제제를 특히, IV 주입 백을 이용하여 투여할 때 한 가지 과제는 구성과 주입 용액의 물질이 치료 단백질에 대한 불안정화 환경을 제공할 수 있다는 것이다. 추가적으로, 이러한 단백질은 또한, IV 백에서 계면 응력에 직면한다. 고체-액체 및 공기-물 계면에서 단백질 흡착은 표면에서 단백질 변성을 유발하여, 단백질 응집을 야기할 수 있다 (Shieh, I., *et al. Mol Pharm.* 12 (2015): 3184-93; Sreedhara, A., *et al. Pharm. Sci.* 101 (2012): 21-30). IV 투여를 더욱 복잡하게 만드는, 주입 백의 교반은 공기-액체 계면의 연속 재생을 유발하여, 시간의 추이에서 단백질에 대한 반복된 손상을 유발한다. IV 백의 불안정화 용해 조건, 또는 계면 응력 중에서도 어느 한 가지에 의해 유발된 응집은 생물제제의 제품 품질, 효능 및 면역원성에 유의미하게 및 부정적으로 영향을 줄 수 있다.

[0010] 생물제제에 대한 IV 투여의 유해한 효과는 부분적으로, 제제 개발에서 계면활성제의 이용을 통해 경감될 수 있다. 비이온성 계면활성제, 예컨대, 폴리소르베이트-20 (PS20) 또는 폴리소르베이트-80 (PS80)은 공기-물 계면 응력으로부터 분자를 보호하고 안정화하기 위해 단백질 제제에서 통상적으로 이용된다 (Kerwin, BA. *J. Pharm. Sci.* 97 (2008) 2924-2935). 계면활성제는 공기-물 및 고체-물 계면 둘 모두에서 단백질과 경쟁함으로써 표면-유도된 손상으로부터 의약품 (DP)을 보호할 수 있다 (Kerwin, BA. *J. Pharm. Sci.* 97 (2008) 2924-2935). 이에 더하여, 계면활성제는 또한, 시스템의 표면장력을 감소시킨다 (Cleland, JL., *et al. Critical reviews in therapeutic drug carrier systems* 10 (1993) 307-377). 하지만, IV 백 전달에 적합한 농도에서 비이온성 계면활성제를 이용할 때 결정적인 결점은 계면활성제에 생물제제의 연장된 노출이 특정한 아미노산 잔기의 산화를 야기하고, 따라서 치료 효능을 감소시킬 수 있다는 것이다. Lam X, *et al., Pharm Res.* (2011) 28:2543-2555.

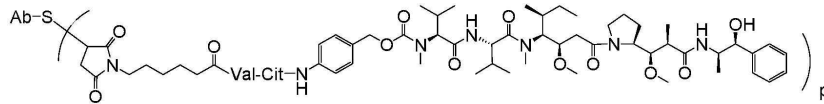
[0011] 중요하게는, IV 투여에 앞서, 생물제제는 또한, 치료 단백질의 구조와 활성을 훼손하지 않으면서, 보관 조건 하에 긴, 안정된 보관 수명을 소유해야 한다. 링커를 이용하는 항체-약물 접합체 (ADCs)의 액체 제제는 예를 들면, 보관 동안 상기 링커의 산-촉매된 가수분해에 감수성일 수 있다. 이런 불안정성은 환자에게 IV 투여 시에 약물 화합물의 조기 방출을 유발하여, 생물제제의 약물동력학과 안전성에 부정적으로 영향을 줄 수 있다.

[0012] 따라서, IV 투여용으로 안정될 뿐만 아니라 보관 조건 하에 긴 보관 수명을 소유하는 안정된 제약학적 조성물을 개발하는 것이 요구된다. 본 발명은 이러한 요구를 충족시키고 다른 관련된 이점을 제공한다.

발명의 내용

해결하려는 과제**짧은 요약**

한 양상에서, 본 발명은 항-CD79b 면역접합체 및 계면활성제를 포함하는 제약학적 조성물을 제공하는데, 여기서 상기 계면활성제는 적어도 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재하고, 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



여기서:

Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSVDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열; 및 (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 1 내지 약 8 (예를 들면, 약 2 및 약 5 사이, 예컨대, 약 3.5)의 값이다.

일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 약 5 mg/ml 내지 약 60 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 50 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 40 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 30 mg/ml, 또는 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재한다.

일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재한다. 한 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 약 10 mg/ml의 농도로 존재한다. 다른 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 약 20 mg/ml의 농도로 존재한다.

일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 5 mg/ml 내지 60 mg/ml, 10 mg/ml 내지 50 mg/ml, 10 mg/ml 내지 40 mg/ml, 10 mg/ml 내지 30 mg/ml, 또는 10 mg/ml 내지 20 mg/ml의 농도로 존재한다.

일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml 내지 20 mg/ml의 농도로 존재한다. 한 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml의 농도로 존재한다. 다른 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재한다.

일부 구체예에서, 계면활성제는 약 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml) 및 약 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml) 사이의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 계면활성제는 적어도 약 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 다른 구체예에서, 계면활성제는 적어도 약 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 계면활성제는 적어도 0.06% w/v의 농도로 존재한다. 다른 구체예에서, 계면활성제는 적어도 0.12% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 계면활성제는 0.06% w/v의 농도로 존재한다. 다른 구체예에서, 계면활성제는 0.12% w/v의 농도로 존재한다.

일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 약 10 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 계면활성제는 약 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 약 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 계면활성제는 적어도 약 0.12% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 약 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 계면활성제는 약 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml)의 농도로 존재한다.

일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 계면활성제는 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 계면활성제는 적어도 0.12% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 계면활성제는 0.12% w/v의 농도로 존재한다.

임의의 상기 구체예에 따른 (또는 이들에 적용된 바와 같은) 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 액체 제약학적 조성물이다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 30℃에서 보관 시에 적어도 약 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 중에서 한 가지 동안, 또는 2℃-8℃에서 보관 시에 적어도 약 24, 48 또는 72 시간

[0039] 여기서 Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 2 내지 약 5 (예컨대, 약 3.5)의 값이다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 동결 건조된 케이크이다.

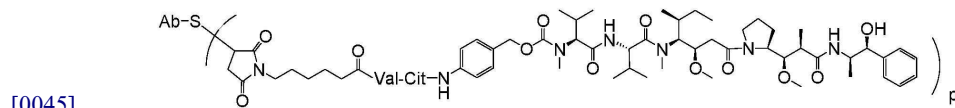
[0040] 일정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 광으로부터 보호될 때 5°C ± 3°C에서 약 60 개월의 안정성을 갖는다. 일정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 광으로부터 보호될 때 5°C ± 3°C에서 약 48 개월의 안정성을 갖는다.

[0041] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물의 안정성은 고성능 크기 배제 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 측정된다. 한 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 측정될 때 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %)를 갖는다.

[0042] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물의 안정성은 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF)에 의해 측정된다. 한 구체예에서, 조성물은 icIEF에 의해 측정될 때 적어도 58.0의 주요 피크 (면적 %), 32.0 이하의 산성 영역 (면적 %), 그리고 12.0 이하의 염기성 영역 (면적 %)을 갖는다.

[0043] 일정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 주사용 무균수 (SWFI)로 재구성된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 약 7.2 ml SWFI에서 재구성된다. 일부 구체예에서, 재구성된 조성물은 약 30°C에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 재구성된 조성물은 약 2°C 내지 약 8°C에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 재구성된 조성물은 정맥내 (IV) 백에서 등장성 완충액 내로 더욱 희석된다. 일부 구체예에서, IV 백에서 희석된 조성물의 최종 용적은 약 50 ml 및 약 100 ml 사이에 있다. 일부 구체예에서, IV 백에서 면역접합체의 농도는 약 0.72 mg 및 약 2.7 mg 사이에 있다.

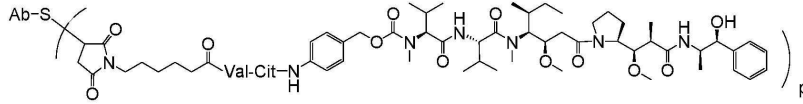
[0044] 10 mM 숙신산나트륨 완충액, 0.12% w/v의 폴리소르베이트 20 및 120 mM 수크로오스에서 20 mg/ml의 항-CD79b 면역접합체를 포함하는 액체 제제의 동결 건조에 의해 생산되는 제약학적 조성물 역시 본원에서 제공되는데, 여기서 상기 액체 제제는 5.3의 pH를 갖고, 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



[0046] 여기서 Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 2 내지 약 5 (예컨대, 약 3.5)의 값이다.

[0047] a) 약 0.72 및 약 2.7 mg/ml 사이의 폴라투주맙 베도틴; b) 약 0.36 및 약 1.35 mM 사이의 숙신산나트륨; c) 약 0.51 및 약 16.24 mM 사이의 수크로오스; d) 약 0.0432 및 약 0.162 mg/ml 사이의 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 조성물 (예컨대, 정맥내 투여를 위한)이 제공되는데, 여기서 액체 조성물의 pH는 약 5 및 약 5.7 사이에 있다. a) 약 0.72 mg/ml 폴라투주맙 베도틴; b) 약 0.36 mM 숙신산나트륨; c) 약 0.51 mM 수크로오스; d) 약 0.0432 mg/ml 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 조성물 (예컨대, 정맥내 투여를 위한)이 또한 제공되는데, 여기서 액체 조성물의 pH는 5.1 및 약 5.4 사이에 있다. a) 약 2.7 mg/ml 폴라투주맙 베도틴; b) 약 1.35 mM 숙신산나트륨; c) 약 16.24 mM 수크로오스; d) 약 0.162 mg/ml 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 조성물 (예컨대, 정맥내 투여를 위한)이 또한 제공되는데, 여기서 액체 조성물의 pH는 약 5.1 및 약 5.4 사이에 있다. 일부 구체예에서, 액체 조성물의 용적은 약 50 ml 및 약 100 ml 사이에 있다. 일부 구체예에서, 액체 조성물의 용적은 50 ml이다. 일부 구체예에서, 액체 조성물의 용적은 100 ml이다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 정맥내 (IV) 백에서 내포된다. 일부 구체예에서, 액체 조성물에 접촉하는 IV 백의 표면은 폴리염화비닐 (PVC), 폴리올레핀 (PO), 폴리에틸렌 (PE), 또는 폴리프로필렌 (PE)으로 구성된다.

[0048] 한 양상에서, 본 발명은 항-CD79b 면역접합체, 계면활성제, 숙신산염 완충액 및 당을 포함하는 제약학적 조성물을 제공하는데, 여기서 상기 제약학적 조성물은 물에서 재구성될 때, 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도에서 항-CD79b 면역접합체, 적어도 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도에서 계면활성제, 약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도에서 숙신산염 완충액 및 약 100 mM 내지 약 260 mM의 농도에서 당을 포함하는 액체 제제를 형성하고, 여기서 상기 액체 제제는 5.3의 pH를 갖고, 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



[0049]

[0050]

여기서 Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSVDEYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열; 및 (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 1 내지 약 8 (예를 들면, 약 2 및 약 5 사이, 예컨대, 약 3.5)의 값이다. 일부 구체예에서, 항-CD79b 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0051]

일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 SWFI에서 재구성되고, 그리고 차후에 IV 백에서 완충액 내로 희석된다. 일정한 구체예에서, 제약학적 조성물은 SWFI에서 재구성되고, 그리고 차후에 IV 백에서 등장성 완충액 내로 희석된다. 한 구체예에서, IV 백에서 희석 시에 계면활성제 농도는 적어도 0.003% w/v이다. 한 구체예에서, IV 백에서 희석 시에 계면활성제 농도는 적어도 0.004% w/v이다. 일부 구체예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20이다. 일부 구체예에서, 당은 수크로오스이다. 특정한 구체예에서, 수크로오스는 120 mM의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 숙신산염 완충액은 숙신산나트륨 완충액이다. 특정한 구체예에서, 숙신산나트륨 완충액은 10 mM의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 재구성 이후에, 약 30℃에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 재구성 이후에, 약 2℃ 내지 약 8℃에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정된다.

[0052]

일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 물에서 재구성될 때, 30℃에서 약 1 일까지, 약 2 일까지, 또는 약 3 일까지의 안정성을 갖는다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 물에서 재구성될 때, 5℃ ± 3℃에서 약 1 일까지, 약 2 일까지, 약 3 일까지, 약 4 일까지, 약 5 일까지, 6 일까지, 또는 약 7 일까지의 안정성을 갖는다. 일정한 구체예에서, 조성물의 안정성은 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 측정된다. 특정한 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 측정될 때 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %)를 갖는다.

[0053]

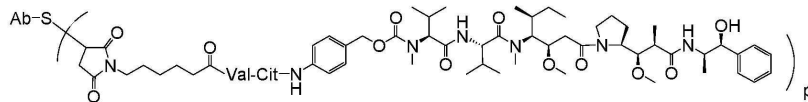
일정한 구체예에서, 조성물의 안정성은 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF)에 의해 측정된다. 특정한 구체예에서, 조성물은 icIEF에 의해 측정될 때 적어도 58.0의 주요 피크 (면적 %), 32.0 이하의 산성 영역 (면적 %), 그리고 12.0 이하의 염기성 영역 (면적 %)을 갖는다.

[0054]

일부 구체예에서, 본원에서 개시된 제약학적 조성물은 유리 바이알 (예를 들면, 20 ml 유리 바이알)에서 내포된다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 동결 건조된 제약학적 조성물이다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 액체 제약학적 조성물이다.

[0055]

한 양상에서, 본 발명은 (a) 10 mM 숙신산나트륨 완충액, 0.12% w/v의 폴리소르베이트 20 및 120 mM 수크로오스에서 20 mg/ml의 항-CD79b 면역접합체를 포함하는 액체 조성물을 동결 건조시켜 동결 건조된 조성물을 생산하되, 상기 액체 조성물이 5.3의 pH를 갖고, 그리고 상기 항-CD79b 면역접합체가 하기 화학식을 포함하고:



[0056]

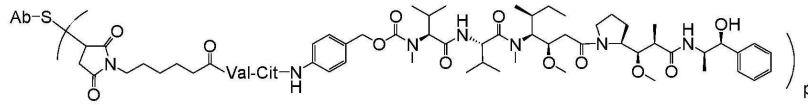
[0057]

여기서: Ab가 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체가 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 중쇄가 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄가 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고; Val이 발린이고; Cit가 시트룰린이고; 그리고 p가 약 2 내지 약 5의 값인 단계; (b) 동결 건조된 조성물을 약 7.2 ml 주사용 무균수 (SWFI)로 재구성하여 재구성된 조성물을 생산하는 단계; 그리고 (c) 재구성된 조성물을 정맥내 (IV) 백에서 등장성 완충액 내로 희석하여 제약학적 조성물을 생산하는 단계를 포함하는 과정에 의해 생산되는 제약학적 조성물을 제공하는데, 여기서 IV 백에서 제약학적 조성물의 최종 용적은 약 100 ml이고, 그리고 제약학적 조성물에서 면역접합체의 최종 농도는 약 0.72 mg/ml 또는 약 2.7 mg/ml이다.

[0058]

한 양상에서, 본 발명은 항-CD79b 면역접합체, 계면활성제, 숙신산염 완충액 및 당을 포함하는 액체 조성물을

제공하는데, 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 상기 계면활성제는 적어도 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재하고, 상기 숙신산염 완충액은 약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도로 존재하고, 그리고 상기 당은 약 100 mM 내지 약 260 mM의 농도로 존재하고, 여기서 상기 액체 조성물은 5.3의 pH를 갖고, 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



[0059]

[0060]

여기서:

[0061]

Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열; 및 (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 1 내지 약 8 (예를 들면, 약 2 및 약 5 사이, 예컨대, 약 3.5)의 값이다. 일부 구체예에서, 항-CD79b 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일부 구체예에서, 항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0062]

일부 구체예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20이다. 일부 구체예에서, 당은 수크로오스이다. 특정한 구체예에서, 수크로오스는 120 mM의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 숙신산염 완충액은 숙신산나트륨 완충액이다. 특정한 구체예에서, 숙신산나트륨 완충액은 10 mM의 농도로 존재한다.

[0063]

일부 구체예에서, 본 발명의 액체 조성물은 등장성 완충액 내로 희석된다. 예시적인 구체예에서, 등장성 완충액에서 용해된 본 발명의 액체 조성물은 IV 백 내에 있다. 일부 구체예에서, 액체 조성물이 희석되는 등장성 완충액은 0.9% 염화나트륨 용액, 0.45% 염화나트륨 용액, 또는 5% 텍스트로스 용액이다.

[0064]

일부 구체예에서, 0.9% 염화나트륨 용액에서 희석된 본원에서 제공된 액체 조성물은 희석 이후에, 2°C-8°C에서 적어도 약 24 시간까지 동안 안정된다 (본원의 다른 곳에서 설명된 한 가지 또는 그 이상의 기준에 따라서). 일부 구체예에서, 0.9% 염화나트륨 용액에서 희석된 본원에서 제공된 액체 조성물은 희석 이후에, 9°C 내지 25°C에서 약 4 시간까지 동안 안정된다 (본원의 다른 곳에서 설명된 한 가지 또는 그 이상의 기준에 따라서). 일부 구체예에서, 0.45% 염화나트륨 용액에서 희석된 본원에서 제공된 액체 조성물은 희석 이후에, 2°C-8°C에서 적어도 약 24 시간까지 동안 안정된다 (본원의 다른 곳에서 설명된 한 가지 또는 그 이상의 기준에 따라서). 일부 구체예에서, 0.45% 염화나트륨 용액에서 희석된 본원에서 제공된 액체 조성물은 희석 이후에, 9°C 내지 25°C에서 약 4 시간까지 동안 안정된다 (본원의 다른 곳에서 설명된 한 가지 또는 그 이상의 기준에 따라서). 일부 구체예에서, 5% 텍스트로스 용액에서 희석된 본원에서 제공된 액체 조성물은 희석 이후에, 2°C-8°C에서 적어도 약 48 시간까지 동안 안정된다 (본원의 다른 곳에서 설명된 한 가지 또는 그 이상의 기준에 따라서). 일부 구체예에서, 5% 텍스트로스 용액에서 희석된 본원에서 제공된 액체 조성물은 희석 이후에, 9°C 내지 25°C에서 약 8 시간까지 동안 안정된다 (본원의 다른 곳에서 설명된 한 가지 또는 그 이상의 기준에 따라서).

[0065]

일부 구체예에서, 등장성 완충액에서 희석되는 액체 조성물은 IV 백 내에 있다. 일부 구체예에서, 등장성 완충액에서 희석되는 조성물에 접촉하는 IV 백의 표면은 폴리염화비닐 (PVC), 폴리올레핀 (PO), 폴리에틸렌 (PE), 또는 폴리프로필렌 (PE)으로 구성된다.

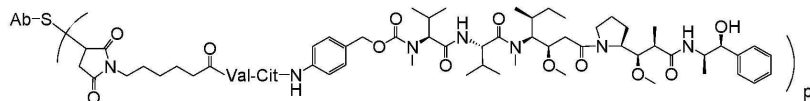
[0066]

일부 구체예에서, IV 백에서 등장성 완충액에서 희석된 본 발명의 액체 조성물은 30°C에서 약 6 내지 약 8 시간까지의 안정성을 갖는다. 일부 구체예에서, IV 백에서 등장성 완충액에서 용해된 본 발명의 액체 조성물은 25°C에서 약 24 시간까지의 안정성을 갖는다. 일부 구체예에서, IV 백에서 등장성 완충액에서 용해된 본 발명의 액체 조성물은 5°C ± 3°C에서 약 72 시간까지의 안정성을 갖는다. 일정한 구체예에서, 등장성 완충액은 생리식염수이다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 약 30°C에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 약 2°C 내지 약 8°C에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정된다.

[0067]

약 150 mg의 항-CD79b 면역접합체, 약 9.0 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.88 mg 숙신산, 약 4.08 mg 수산화나트륨

류 및 약 309 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이 또한 제공되는데, 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



[0068]

여기서 Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 2 내지 약 5 (예컨대, 약 3.5)의 값이다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.

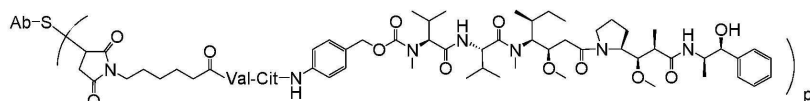
[0069]

약 150 mg의 폴라투주맙 베도틴, 약 9.0 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.88 mg 숙신산, 약 4.08 mg 수산화나트륨 및 약 309 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이 더욱 제공된다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.

[0070]

약 140 mg의 항-CD79b 면역접합체, 약 8.4 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.27 mg 숙신산, 약 3.80 mg 수산화나트륨 및 약 288 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이 또한 제공되는데, 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:

[0071]



[0072]

여기서 b는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 2 내지 약 5 (예컨대, 약 3.5)의 값이다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.

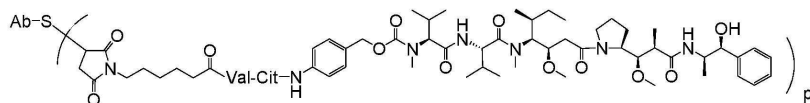
[0073]

약 140 mg의 폴라투주맙 베도틴, 약 8.4 mg 폴리소르베이트 20, 약 8.27 mg 숙신산, 약 3.80 mg 수산화나트륨 및 약 288 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이 더욱 제공된다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.

[0074]

약 30 mg의 항-CD79b 면역접합체, 약 1.8 mg 폴리소르베이트 20, 약 1.77 mg 숙신산, 약 0.816 mg 수산화나트륨 및 약 61.8 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이 또한 제공되는데, 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:

[0075]



[0076]

여기서 Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 항-CD79b의 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 항-CD79b 항체의 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 2 내지 약 5 (예컨대, 약 3.5)의 값이다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 조성물은 동결 건조된 케이크이다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.

[0077]

약 30 mg의 폴라투주맙 베도틴, 약 1.8 mg 폴리소르베이트 20, 약 1.77 mg 숙신산, 약 0.816 mg 수산화나트륨 및 약 61.8 mg 수크로오스를 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물이 더욱 제공된다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.

[0078]

일부 구체예에서, 본원에서 제공된 동결 건조된 제약학적 조성물은 동결 건조된 케이크이다. 일부 구체예에서, 본원에서 임의의 구체예에 따른 동결 건조된 제약학적 조성물은 약 2°C 내지 약 8°C에서 보관 시에 적어도 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 또는 60 개월 동안 안정된다.

[0079]

- [0080] a) 약 5-60 mg/ml 사이의 폴라투주맙 베도틴; b) 약 10-200 mM 사이의 숙신산나트륨; c) 약 100-260 mM 사이의 수크로오스; 및 d) 약 0.06-0.12% w/v 사이의 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 제약학적 조성물이 제공되는데, 여기서 액체 조성물의 pH는 5 및 6 사이에 있다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 a) 약 10-55 mg/ml 사이의 폴라투주맙 베도틴; b) 약 10-100 mM 사이의 숙신산나트륨; c) 약 150-260 mM 사이의 수크로오스; 및 d) 약 0.08-0.12% w/v 사이의 폴리소르베이트 20을 포함하고, 여기서 액체 조성물의 pH는 5.1 및 5.6 사이에 있다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 a) 약 15-40 mg/ml 사이의 폴라투주맙 베도틴; b) 약 10-50 mM 사이의 숙신산나트륨; c) 약 200-260 mM 사이의 수크로오스; 및 d) 약 0.1-0.12% w/v 사이의 폴리소르베이트 20을 포함하고, 여기서 액체 조성물의 pH는 5.2 및 5.4 사이에 있다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)을 재구성함으로써 획득된다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.
- [0081] a) 20 mg/ml 폴라투주맙 베도틴; b) 10 mM 숙신산나트륨; c) 120 mM 수크로오스; 및 d) 0.12% w/v 폴리소르베이트 20을 포함하는 액체 제약학적 조성물이 또한 제공되는데, 여기서 액체 조성물의 pH는 약 5.3이다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)을 재구성함으로써 획득된다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.
- [0082] 일부 구체예에서, 본원에서 임의의 구체예에 따른 액체 조성물은 약 30℃에서 보관 시에 적어도 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 본원에서 임의의 구체예에 따른 액체 조성물은 약 2℃ 내지 약 8℃에서 보관 시에 적어도 24, 48 또는 72 시간 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 동결 건조된 조성물 (예컨대, 케이크)을 재구성함으로써 획득된다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 바이알, 예를 들면, 20 ml 유리 바이알에서 내포된다.
- [0083] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 재구성된 제약학적 조성물은 2℃-8℃에서 72 시간의 보관 후 안정된다. 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 재구성된 제약학적 조성물은 환경 광에 노출 시에 30℃에서 24 시간의 보관 후 안정된다. 일부 구체예에서, 재구성된 제약학적 조성물은 10 mM 숙신산염, 120 mM 수크로오스 및 1.2 mg/mL 폴리소르베이트 20에서 20 mg/mL 폴라투주맙 베도틴을 포함하고, 여기서 pH는 5.3이다. 일부 구체예에서, 표적 (다시 말하면, CD79b)에 대한 폴라투주맙 베도틴의 친화성에서 또는 폴라투주맙 베도틴의 생물학적 활성에서.
- [0084] 한 양상에서, 본 발명은 치료가 필요한 환자에서 증식성 장애를 치료하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 본원에서 설명된 제약학적 조성물 또는 액체 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 치료가 필요한 환자에서 증식성 장애를 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 본원에서 설명된 제약학적 조성물 또는 액체 조성물의 용도 역시 제공된다. 일부 구체예에서, 치료가 필요한 환자에서 증식성 장애의 치료에서 이용을 위한 본원에서 설명된 제약학적 조성물 또는 액체 조성물이 제공된다. 치료가 필요한 환자에서 증식성 장애를 치료하는 방법에서 이용을 위한 본원에서 설명된 제약학적 조성물 또는 액체 조성물 역시 제공된다.
- [0085] 일부 구체예에서, 증식성 장애는 암이다. 예시적인 구체예에서, 암은 B 세포 증식성 장애이다. 특정한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 림프종, 골수종, 비호지킨 림프종 (NHL), 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL), 재발성/난치성 DLBCL 공격성 NHL, 무통성 림프종, 여포성 림프종 (FL), 재발성 공격성 NHL, 재발성 무통성 NHL, 재발성 NHL, 난치성 NHL, 난치성 무통성 NHL, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 소형 림프성 림프종, 백혈병, 모양 세포성 (hairy cell) 백혈병 (HCL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 그리고 외투 세포 림프종으로 구성된 군에서 선택된다.
- [0086] 본 발명의 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 비호지킨 림프종 (NHL)이다. 한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL)이다. 한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 재발성/난치성 DLBCL이다. 일부 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 재발성/난치성 DLBCL이다. 다른 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 재발성 NHL 또는 난치성 NHL이다. 또 다른 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 여포성 림프종 (FL)이다.

도면의 간단한 설명

[0087] 도면에 관한 설명

도 1은 3가지 상이한 정맥내 (IV) 백 크기에서 고정된 농도의 PS20 ([PS20])과 함께 30℃에서 22 시간의 정적 보관 후 고분자량 종류 (HMWS)에서 증가를 묘사한다.

도 2는 3가지 상이한 IV 백 크기에서 고정된 농도의 PS20 ([PS20])과 함께 30℃에서 2 시간의 교반 응력 (100 rpm) 후 HMWS에서 증가를 묘사한다.

도 3은 다양한 농도의 PS20 ([PS20])에서 식염수 IV 백에서 항-CD79b-vc-MMAE의 물리적 안정성에 대한 온도의

효과를 묘사한다.

도 4는 30℃에서 22 시간 동안 정적 보관 시에 계면활성제 및 주입액의 유형의 효과를 묘사한다.

도 5a는 교반 시에 항-CD79b-vc-MMAE의 안정성에 대한 2-8℃ 온도의 효과를 묘사한다. 도 5b는 교반 시에 항-CD79b-vc-MMAE의 안정성에 대한 25℃ 온도의 효과를 묘사한다. 도 5c는 교반 시에 항-CD79b-vc-MMAE의 안정성에 대한 30℃ 온도의 효과를 묘사한다.

도 6은 교반 모형 1을 이용하여 항-CD79b-vc-MMAE의 물리적 안정성을 묘사한다.

도 7은 교반 모형 2를 이용하여 항-CD79b-vc-MMAE의 물리적 안정성을 묘사한다.

도 8은 면역접합체를 안정화하고 제거를 예방하기 위한 티오숙신이미드의 가수분해 반응을 묘사한다. 말레이미드 제거는 면역접합체 상에 존재하는 티오숙신이미드 연쇄의 가수분해에 의해 방지될 수 있다.

도 9는 3가지 상이한 시점: 2 주, 4 주 및 8 주에서 30℃에서 산성 전하 변이체 형성에 대한 pH의 효과를 묘사한다.

도 10은 3가지 상이한 시점: 2 주, 4 주 및 8 주에서 30℃에서 염기성 전하 변이체 형성에 대한 pH의 효과를 묘사한다.

도 11은 3가지 상이한 시점: 2 주, 4 주 및 8 주에서 30℃에서 HMWS 형성에 대한 pH의 효과를 묘사한다.

도 12는 30℃에서 4 주 동안 응력 부하된 저분자량 종류 (LMWS)에 대한 pH 및 완충액 종류의 효과를 묘사한다.

도 13은 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해, 동결 건조된 제제의 30℃에서의 안정성을 묘사한다.

도 14는 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF)에 의해, 동결 건조된 제제의 30℃에서의 안정성을 묘사한다.

도 15a - 도 15c는 변하는 단백질 대 수크로오스 비율에서 동결 건조된 케이크 외관을 묘사한다. 도 15a는 10 mg/ml의 항-CD79b-vc-MMAE 및 260 mM 수크로오스를 나타낸다. 도 15b는 10 mg/ml의 항-CD79b-vc-MMAE 및 180 mM 수크로오스를 나타낸다. 도 15c는 10 mg/ml의 항-CD79b-vc-MMAE 및 120 mM 수크로오스를 나타낸다.

도 16a - 도 16b는 변하는 단백질 대 수크로오스 비율에서 동결 건조된 케이크 외관을 묘사한다. 도 16a는 10 mg/ml의 항-CD79b-vc-MMAE 및 260 mM 수크로오스를 나타낸다. 도 16b는 20 mg/ml의 항-CD79b-vc-MMAE 및 120 mM 수크로오스를 나타낸다.

도 17은 SEC에 의해 HMWS 변이체를 계측하기 위해, 2-8℃, 25℃ 및 40℃에서 응력 부하된 동결 건조된 항-CD79b-vc-MMAE 의약품의 안정성을 묘사한다.

도 18은 icIEF에 의해 HMWS 변이체를 계측하기 위해, 2-8℃, 25℃ 및 40℃에서 응력 부하된 동결 건조된 항-CD79b-vc-MMAE 의약품의 안정성을 묘사한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0088]

상세한 설명

[0089]

본 발명은 항-CD79b 면역접합체 및 계면활성제를 포함하는 안정된 제약학적 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한, 암의 치료를 위해 이런 조성물을 이용하기 위한 방법을 제공한다.

[0090]

I. 정의

[0091]

본 발명은 특정 조성물 또는 생물학적 시스템에 한정되지 않으며, 이들은 당연히, 달라질 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본원에서 이용된 용어는 단지 특정한 구체예를 설명하기 위한 것이고, 그리고 한정하는 것으로 의도되지 않는 것으로 이해된다. 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 별도로 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다. 따라서, 예를 들면, "분자"에 대한 언급은 2개 또는 그 이상의 이런 분자의 조합 등을 임의적으로 포함한다.

[0092]

본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "약"은 당업자에게 쉽게 공지된 개별 값에 대한 통상의 오차 범위를 지칭한다. 본원에서 값 또는 파라미터에서 "약"에 대한 언급은 그 자체로 상기 값 또는 파라미터에 관계하는 구체예를 포함한다 (및 설명한다).

[0093]

본원에서 설명된 발명의 양상과 구체예는 "포함하는," "구성되는" 및 "본질적으로 구성되는" 양상과 구체예를

포함하는 것으로 이해된다.

- [0094] 용어 "항-CD79b 면역접합체"는 항-CD79b 항체-약물 접합체 (ADC)를 지칭한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 항-CD79b 면역접합체는 CD79b에 결합할 수 있는 항체 또는 이의 단편, 링커, 그리고 약물 분자를 내포한다. 용어 "링커"는 6-말레이미도카프로일-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카르보닐 (MC-val-cit-PAB)을 지칭하는 데 이용된다.
- [0095] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미에서 이용되고, 그리고 예를 들면, 단일 항-CD79b 단일클론 항체 (효현재, 길항제, 중화 항체, 전장 또는 무손상 단일클론 항체를 제한 없이 포함), 폴리에피토프 특이성을 갖는 항-CD79b 항체 조성물, 다중클론 항체, 다가 항체, 적어도 2개의 무손상 항체로부터 형성된 다중특이적 항체 (예를 들면, 이중특이적 항체, 원하는 생물학적 활성을 전시하기만 하면), 단일 사슬 항-CD79b 항체, 그리고 원하는 생물학적 또는 면역학적 활성을 전시하기만 하면, Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편, 디아바디, 단일 도메인 항체 (sdAbs)를 비롯한, 항-CD79b 항체의 단편 (하기 참조)을 특징적으로 커버한다. 용어 "면역글로불린" (Ig)은 본원에서 항체와 교체가능하게 이용된다. 항체는 키메라, 인간, 인간화 및/또는 친화성 성숙된 항체일 수 있다.
- [0096] 용어 "항-CD79b 항체" 및 "CD79b에 결합하는 항체"는 항체가 CD79b를 표적으로 하는데 있어서 진단적 및/또는 치료적 작용제로서 유용할 만큼 충분한 친화성으로 CD79b에 결합할 수 있는 항체를 지칭한다. 바람직하게는, 관련 없는 비-CD79b 단백질에 항-CD79b 항체의 결합의 정도는 예를 들면, 방사면역검정 (RIA)에 의해 측정될 때 CD79b에 대한 상기 항체의 결합의 약 10%보다 적다. 일정한 구체예에서, CD79b에 결합하는 항체는 $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, 또는 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 의 해리 상수 (K_d)를 갖는다. 일정한 구체예에서, 항-CD79b 항체는 상이한 종으로부터 CD79b 사이에서 보존되는 CD79b의 에피토프에 결합한다.
- [0097] 기본 4-사슬 항체 단위는 2개의 동일한 가벼운 (L) 사슬 및 2개의 동일한 무거운 (H) 사슬로 구성되는 이중삼합체성 당단백질이다 (IgM 항체는 J 사슬로 불리는 추가 폴리펩티드와 함께 5개의 기본 이중삼합체 단위로 구성되고, 그리고 이런 이유로 10개의 항원 결합 부위를 내포하는 반면, 분비된 IgA 항체는 중합하여 J 사슬과 함께 2-5개의 기본 4-사슬 단위를 포함하는 다가 기계조립을 형성할 수 있다). IgGs의 경우에, 4-사슬 단위는 일반적으로, 약 150,000 달톤이다. 각 L 사슬은 하나의 공유 이황화 결합에 의해 H 사슬에 연결되고, 반면 2개의 H 사슬은 H 사슬 아이소타입에 따라, 하나 또는 그 이상의 이황화 결합에 의해 서로 연결된다. 각 H와 L 사슬은 또한, 규칙적으로 이격된 사슬내 이황화 다리를 갖는다. 각 H 사슬은 N 말단에서, 가변 도메인 (VH), 그 이후에 α 와 γ 사슬 각각에 대해 3개의 불변 도메인 (CH) 및 μ 와 ϵ 아이소타입에 대해 4개의 CH 도메인을 갖는다. 각 L 사슬은 N 말단에서, 가변 도메인 (VL), 그 이후에 이의 다른 단부에서 불변 도메인 (CL)을 갖는다. VL은 VH에 맞추어 정렬되고, 그리고 CL은 중쇄의 첫 번째 불변 도메인 (CH1)에 맞추어 정렬된다. 특정 아미노산 잔기는 경쇄와 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 생각된다. VH와 VL의 대합은 단일 항원 결합 부위를 함께 형성한다. 항체의 상이한 부류의 구조와 성질에 대해, 예를 들면, Basic and Clinical Immunology, 8th edition, Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds.), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 및 Chapter 6을 참조한다.
- [0098] 임의의 척추동물 종으로부터 L 사슬은 그들의 불변 도메인의 아미노산 서열에 근거하여, 카파와 람다로 불리는 2가지 명확하게 상이한 유형 중에서 한 가지에 지정될 수 있다. 중쇄의 불변 도메인 (CH)의 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 부류 또는 아이소타입에 지정될 수 있다. 5가지 부류의 면역글로불린이 있다: 각각, α , δ , ϵ , γ 및 μ 로서 지정된 중쇄를 갖는 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM. γ 와 α 부류는 CH 서열과 기능에서 상대적으로 작은 차이에 근거하여 하위부류로 더욱 나뉜다, 예를 들면, 인간은 하기의 하위부류를 발현한다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2.
- [0099] 항체의 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 항체의 중쇄 또는 경쇄의 아미노 말단 도메인을 지칭한다. 중쇄의 가변 도메인은 "VH"로서 지정될 수 있다. 경쇄의 가변 도메인은 "VL"로서 지정될 수 있다. 이들 도메인은 일반적으로, 항체의 최대 가변 부분이고 항원 결합 부위를 내포한다.
- [0100] 용어 "가변"은 가변 도메인의 일정한 분절이 항체 사이에서 서열에서 광범위하게 다르다는 사실을 지칭한다. V 도메인은 항원 결합을 매개하고, 그리고 특정 항원에 대한 특정 항체의 특이성을 규정한다. 하지만, 가변성은 가변 도메인의 110-아미노산 스펠에 걸쳐 균등하게 분포되지 않는다. 그 대신에, V 영역은 각각 9-12개 아미노산 길이인 "초가변 영역"으로 불리는 극도로 가변성의 더욱 짧은 영역에 의해 분리된 15-30개 아미노산의 프레임워크 영역 (FRs)으로 불리는 상대적으로 불변 스트레치로 구성된다. 선천적 중쇄와 경쇄의 가변 도메인은 각각, 3개의 초가변 영역에 의해 연결된, β -시트 형상을 주로 채택하는 4개의 FRs를 포함하고, 이들은 루프 연결을 형성하고, 그리고 일부 경우에, β -시트 구조의 일부를 형성한다. 각 사슬에서 초가변 영역은 FRs에 의해 매

우 근접하여 결합되고, 그리고 다른 사슬로부터 초가변 영역과 함께, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. (참조: Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). 불변 도메인은 항체를 항원에 결합시키는데 직접적으로 관련되지 않지만, 다양한 작동체 기능, 예컨대, 항체 의존성 세포 세포독성 (ADCC)에서 항체의 참여를 전시한다.

[0101] "무손상" 항체는 항원 결합 부위뿐만 아니라 CL 및 적어도 중쇄 불변 도메인, CH1, CH2 및 CH3을 포함하는 것이다. 불변 도메인은 선천적 서열 불변 도메인 (예를 들면, 인간 선천적 서열 불변 도메인) 또는 이들의 아미노산 서열 변이체일 수 있다. 바람직하게는, 무손상 항체는 하나 또는 그 이상의 작동체 기능을 갖는다.

[0102] 본원에서 목적을 위해 "나신 항체"는 약물 모이어티 또는 방사성 표지에 접합되지 않는 항체이다.

[0103] "항체 단편"은 무손상 항체의 부분, 바람직하게는 무손상 항체의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 실례는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체 (참조: U.S. 특허 번호 5,641,870, 실시예 2; Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 [1995]); 단일 사슬 항체 분자; 그리고 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다. 한 구체예에서, 항체 단편은 무손상 항체의 항원 결합 부위를 포함하고, 그리고 따라서 항원에 결합하는 능력을 유지한다.

[0104] 항체의 과파인 소화는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편, 그리고 쉽게 결정화하는 능력을 반영하는 명칭인 잔여 "Fc" 단편을 생산한다. Fab 단편은 H 사슬의 가변 영역 도메인 (VH), 그리고 중쇄의 첫 번째 불변 도메인 (CH1)과 함께, 전체 L 사슬로 구성된다. 각 Fab 단편은 항원 결합에 대하여 일가이다, 다시 말하면, 이것은 단일 항원 결합 부위를 갖는다. 항체의 펩신 처리는 이가 항원 결합 활성을 갖는 2개의 이황화 연결된 Fab 단편에 거의 상응하고 항원을 여전히 교차 연결할 수 있는 단일 큰 F(ab')₂ 단편을 산출한다. Fab' 단편은 항체 힌지 영역으로부터 하나 또는 그 이상의 시스테인을 포함하는 CH1 도메인의 카르복시 말단에서 추가의 소수 잔기를 가짐으로써 Fab 단편과 상이하다. Fab'-SH는 본원에서, 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 유리 티올 기를 보유하는 Fab'에 대한 명칭이다. F(ab')₂ 항체 단편은 Fab' 단편의 쌍으로서 최초 생산되었는데, 이들은 그들 사이에 힌지 시스테인을 갖는다. 항체 단편의 다른 화학적 연계 역시 알려져 있다.

[0105] Fc 단편은 이황화물에 의해 묶인 양쪽 H 사슬의 카르복시 말단 부분을 포함한다. 항체의 작동체 기능은 Fc 영역 내에 서열에 의해 결정되는데, 이러한 영역은 또한, 일정한 유형의 세포 상에서 발견되는 Fc 수용체 (FcR)에 의해 인식되는 부분이다.

[0106] "Fv"는 완전 항원-인식 및 -결합 부위를 내포하는 최소 항체 단편이다. 이러한 단편은 간단한, 비공유 연관에서 하나의 중쇄와 하나의 경쇄 가변 영역 도메인의 이합체로 구성된다. 단일 사슬 Fv (scFv) 종에서, 하나의 중쇄와 하나의 경쇄 가변 도메인은 이러한 경쇄와 중쇄가 2-사슬 Fv 종류에서와 유사한 "이합체성" 구조로 연관할 수 있도록 유연한 펩티드 링커에 의해 공유 연결될 수 있다. 이들 두 도메인의 접힘으로부터, 항원 결합을 위한 아미노산 잔기에 기여하고 항원 결합 특이성을 항체에 부여하는 6개의 초가변 루프 (H와 L 사슬 각각으로부터 3개의 루프)가 발산된다. 하지만, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 단지 3개의 CDRs만을 포함하는 Fv의 절반)도 비록 전체 결합 부위보다 친화성이 낮긴 하지만, 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는다.

[0107] 또한 "sFv" 또는 "scFv"로서 약칭되는 "단일 사슬 Fv"는 단일 폴리펩티드 사슬 내로 연결된 VH와 VL 항체 도메인을 포함하는 항체 단편이다. 바람직하게는, sFv 폴리펩티드는 VH와 VL 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 더욱 포함하는데, 이것은 sFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다. sFv의 리뷰를 위해, Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); Borrebaeck 1995, 하기를 참조한다.

[0108] 용어 "디아바디"는 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편을 지칭하는데, 이들 단편은 동일한 폴리펩티드 사슬 (VH-VL) 내에서 경쇄 가변 도메인 (VL)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (VH)을 포함한다. 이들 작은 항체 단편은 V 도메인의 사슬내가 아닌 사슬간 대합이 달성되어 이가 단편, 다시 말하면, 2개의 항원 결합 부위를 갖는 단편이 산출되도록, VH와 VL 도메인 사이에 짧은 링커 (약 5-10개 잔기)로 sFv 단편 (선행하는 단락 참조)을 작제함으로써 제조된다. 디아바디는 이가 또는 이중특이적일 수 있다. 이중특이적 디아바디는 2개의 "교배" sFv 단편의 이형이합체인데, 여기서 이들 두 항체의 VH와 VL 도메인은 상이한 폴리펩티드 사슬 상에 존재한다. 디아바디는 예를 들면, EP 404,097; WO 93/11161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 그리고 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)에서 더욱 충분히 설명된다. 트리아바디 및 테트라바디

역시 Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)에서 설명된다.

[0109] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "단일클론 항체"는 실제로 균질한 항체의 개체군으로부터 획득된 항체를 지칭한다. 다시 말하면, 상기 개체군을 구성하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단일클론 항체는 고도로 특이적이고 단일 항원성 부위에 대해 지향된다. 게다가, 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 포함하는 다중클론 항체 제조물과 대조적으로, 각 단일클론 항체는 항원 상에서 단일 결정인자에 대해 지향된다. 단일클론 항체는 그들의 특이성에 더하여, 다른 항체에 의한 오염 없이 합성될 수 있다는 점에서 유리하다. 수식어 "단일클론"은 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는다. 예를 들면, 본 발명에서 유용한 단일클론 항체는 Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)에 의해 최초 설명된 하이브리도마 방법론에 의해 제조될 수 있거나, 또는 세균, 진핵 동물 또는 식물 세포에서 재조합 DNA 방법을 이용하여 만들어질 수 있다 (참조: 예를 들면, U.S. 특허 번호 4,816,567). "단일클론 항체"는 또한, 예를 들면, Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991) 및 Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)에서 설명된 기술을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0110] 본원에서 단일클론 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 또는 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 또는 이들 서열에 상동하고, 반면 사슬(들)의 나머지 부분이 다른 종으로부터 유래되거나 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체에서 상응하는 서열과 동일하거나 또는 이들 서열에 상동한 "키메라" 항체뿐만 아니라 원하는 생물학적 활성을 전시하기만 하면, 이런 항체의 단편을 포함한다 (참조: U.S. 특허 번호 4,816,567; 및 Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)). 본원에서 관심되는 키메라 항체는 비인간 영장류 (예를 들면, 긴꼬리원숭이, 유인원 등)로부터 유래된 가변 도메인 항원 결합 서열 및 인간 불변 영역 서열을 포함하는 "영장류화" 항체를 포함한다.

[0111] 비인간 (예를 들면, 설치류) 항체의 "인간화" 형태는 비인간 항체로부터 유래된 최소 서열을 내포하는 키메라 항체이다. 대부분의 경우에, 인간화 항체는 수용자의 추가변 영역으로부터 잔기가 원하는 항체 특이성, 친화성 및 수용력을 갖는, 비인간 종 (공여자 항체), 예컨대, 생쥐, 쥐, 토끼 또는 비인간 영장류의 추가변 영역으로부터 잔기에 의해 대체되는 인간 면역글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 프레임워크 잔기 (FR)가 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다. 게다가, 인간화 항체는 수용자 항체에서 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 더욱 정밀화하기 위해 만들어진 것이다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 하나, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실제로 모두 포함할 것인데, 여기서 추가변 루프의 전부 또는 실제로 전부가 비인간 면역글로불린의 것들에 상응하고, 그리고 FRs의 전부 또는 실제로 전부가 인간 면역글로불린 서열의 것들이다. 인간화 항체는 임의적으로 또한, 면역글로불린 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부, 전형적으로 인간 면역글로불린의 것을 포함할 것이다. 추가 상세를 위해, Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); 그리고 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)을 참조한다. 하기의 리뷰 논문 및 그 안에 인용된 참고문헌을 또한 참조한다: Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma and Immunol., 1:105-115 (1998); Harris, Biochem. Soc. Transactions, 23:1035-1038 (1995); Hurler and Gross, Curr. Op. Biotech., 5:428-433 (1994).

[0112] "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 소유하고 및/또는 본원에서 개시된 바와 같은 인간 항체를 만들기 위한 임의의 기술을 이용하여 만들어진 항체이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 특정적으로 배제한다. 인간 항체는 파지 전시 라이브러리를 비롯한, 당해 분야에서 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991). 인간 단일클론 항체의 제조를 위해 Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)에서 설명된 방법이 또한 가용하다. 또한, van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001)를 참조한다. 인간 항체는 항원 공격에 대한 응답으로 이런 항체를 생산하도록 변형되지만, 내인성 좌위에 장애가 있는 유전자도입 동물, 예컨대, 면역화된 제노마우스에 항원을 투여함으로써 제조될 수 있다 (예를 들면, XENOMOUSE 기술에 관하여 U.S. 특허 번호 6,075,181 및 6,150,584를 참조한다). 또한, 인간 B-세포 하이브리도마 기법을 통해 산출된 인간 항체에 관하여, 예를 들면, Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)를 참조한다.

[0113] 본원에서 이용될 때, 용어 "추가변 영역", "HVR" 또는 "HV"는 서열에서 추가변성이고 및/또는 구조적으로 규정된 루프를 형성하는 항체 가변 도메인의 영역을 지칭한다. 일반적으로, 항체는 6개의 추가변 영역; VH에서 3개

(H1, H2, H3), 그리고 VL에서 3개 (L1, L2, L3)를 포함한다. 다수의 초가변 영역 묘사가 본원에서 이용되고 포괄된다. Kabat 상보성 결정 영역 (CDRs)은 서열 가변성에 근거되고, 그리고 가장 흔히 이용되는 것이다 (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Chothia는 그 대신에, 구조적 루프의 위치를 지칭한다 (Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). Kabat 넘버링 규약을 이용하여 넘버링될 때 Chothia CDR-H1 루프의 단부는 상기 루프의 길이에 따라서 H32 및 H34 사이에서 달라진다 (이것은 Kabat 넘버링 기법이 H35A 및 H35B에서 삽입을 배치하기 때문이다; 만약 35A와 35B 둘 모두 존재하지 않으면, 상기 루프는 32에서 끝나고; 만약 단지 35A만 존재하면, 상기 루프는 33에서 끝나고; 만약 35A와 35B 둘 모두 존재하면, 상기 루프는 34에서 끝난다). AbM 초가변 영역은 Kabat CDRs 및 Chothia 구조적 루프 사이에 타협을 나타내고, 그리고 Oxford Molecular's AbM 항체 모형화 소프트웨어에 의해 이용된다. "접촉" 초가변 영역은 가용한 복합 결정 구조의 분석에 근거된다. 이들 초가변 영역 각각으로부터 잔기는 아래에서 제시된다.

[0114]	루프	Kabat	AbM	Chothia	접촉
[0115]	----	-----	---	-----	-----
[0116]	L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34	L30-L36
[0117]	L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56	L46-L55
[0118]	L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L96
[0119]	H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34	H30-H35B
[0120]	(Kabat 넘버링)				
[0121]	H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
[0122]	(Chothia 넘버링)				
[0123]	H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56	H47-H58
[0124]	H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102	H93-H101
[0125]	초가변 영역은 아래와 같이 "연장된 초가변 영역"을 포함할 수 있다: VL에서 24-36 또는 24-34 (L1), 46-56 또는 50-56 (L2) 및 89-97 (L3), 그리고 VH에서 26-35B (H1), 50-65, 47-65 또는 49-65 (H2) 및 93-102, 94-102 또는 95-102 (H3). 이들 가변 도메인 잔기는 이들 정의 각각에 대해 Kabat et al., 위와 같음에 따라 넘버링된다.				
[0126]	"프레임워크" 또는 "FR" 잔기는 본원에서 규정된 초가변 영역 잔기 이외에 가변 도메인 잔기이다.				
[0127]	용어 "Kabat의 경우에서와 같은 가변 도메인 잔기 넘버링" 또는 "Kabat의 경우에서와 같은 아미노산 위치 넘버링", 그리고 이들의 변이는 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)에서 항체의 편집의 중쇄 가변 도메인 또는 경쇄 가변 도메인에 이용되는 넘버링 시스템을 지칭한다. 이러한 넘버링 시스템을 이용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR의 단축, 또는 이것 내로 삽입에 상응하는 더욱 적은 또는 추가 아미노산을 내포할 수 있다. 예를 들면, 중쇄 가변 도메인은 H2의 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입물 (Kabat에 따라 잔기 52a), 그리고 중쇄 FR 잔기 82 뒤에 삽입된 잔기 (예를 들면, Kabat에 따라 잔기 82a, 82b 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 Kabat 넘버링은 항체의 서열과 "표준" Kabat 넘버링된 서열의 상동성의 영역에서 정렬에 의해 소정의 항체에 대해 결정될 수 있다.				
[0128]	가변 도메인 내에 잔기 (대략, 경쇄의 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113)를 지칭할 때, Kabat 넘버링 시스템이 일반적으로 이용된다 (예를 들면, Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). "EU 넘버링 시스템" 또는 "EU 지수"는 일반적으로, 면역글로불린 중쇄 불변 영역에서 잔기를 지칭할 때 이용된다 (예를 들면, Kabat et al., 위와 같음에서 보고된 EU 지수). "Kabat의 경우에서와 같은 EU 지수"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다. 본원에서 별도로 명시되지 않으면, 항체의 가변 도메인에서 잔기 번호에 대한 언급은 Kabat 넘버링 시스템에 의한 잔기 넘버링을 의미한다. 본원에서 별도로 명시되지 않으면, 항체의 불변 도메인에서 잔기 번호에 대한 언급은 EU 넘버링 시스템에 의한 잔기 넘버링을 의미한다 (EU 넘버링에 대해, 예를 들면, 미국 가출원 번				

호 60/640,323, 도면을 참조한다).

- [0129] "친화성 성숙된" 항체는 변경(들)을 소유하지 않는 부모 항체와 비교하여, 항원에 대한 항체의 친화성에서 향상을 유발하는, 하나 또는 그 이상의 HVRs에서 하나 또는 그 이상의 변경을 갖는 것이다. 바람직한 친화성 성숙된 항체는 표적 항원에 대한 나노몰 또는 심지어 피코몰 친화성을 가질 것이다. 친화성 성숙된 항체는 당해 분야에서 공지된 절차에 의해 생산된다. Marks et al. Bio/Technology 10:779-783 (1992)은 VH와 VL 도메인 뒤섞임에 의한 친화성 성숙을 설명한다. HVR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 Barbas et al. Proc Natl. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994); Schier et al. Gene 169:147-155 (1995); Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995); Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995); 및 Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)에 의해 설명된다.
- [0130] "결합 친화성"은 일반적으로, 분자 (예를 들면, 항체)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 상대 (예를 들면, 항원) 사이에 비공유 상호작용의 총계의 강도를 지칭한다. 별도로 지시되지 않으면, 본원에서 이용된 바와 같이, "결합 친화성"은 결합 쌍의 구성원 (예를 들면, 항체와 항원) 사이에 1:1 상호작용을 반영하는 내재성 결합 친화성을 지칭한다. 파트너 Y에 대한 분자 X의 친화성은 일반적으로, 해리 상수 (K_d)에 의해 표현될 수 있다. 친화성은 본원에서 설명된 것들을 비롯한, 당해 분야에서 공지된 통상적인 방법에 의해 측정될 수 있다. 낮은 친화성 항체는 일반적으로, 항원에 천천히 결합하고 쉽게 해리하는 경향이 있고, 반면 높은 친화성 항체는 일반적으로, 항원에 더욱 빨리 결합하고 더욱 길게 결합된 상태로 남아있는 경향이 있다. 결합 친화성을 측정하는 다양한 방법이 당해 분야에서 공지되는데, 이들 중에서 한 가지가 본 발명을 위해 이용될 수 있다. 특정한 예시적인 구체예가 하기에서 설명된다.
- [0131] 결합 친화성을 지칭하기 위해 본원에서 이용될 때 "또는 더욱 우수한"은 분자 및 이의 결합 파트너 사이에 더욱 강한 결합을 지칭한다. 본원에서 이용될 때 "또는 더욱 우수한"은 더욱 작은 수치 K_d 값에 의해 표시되는 더욱 강한 결합을 지칭한다. 예를 들면, 항원에 대한 ".6 nM 또는 더욱 우수한" 친화성을 갖는 항체의 경우에, 항원에 대한 상기 항체의 친화성은 <.6 nM, 다시 말하면, .59 nM, .58 nM, .57 nM 등, 또는 .6 nM 이하의 임의의 값이다.
- [0132] 한 구체예에서, 본 발명에 따른 " K_d " 또는 " K_d 값"은 표지화되지 않은 항원의 적정 연속의 존재에서 Fab를 최소 농도의 (125I)-표지된 항원으로 평형시키고, 이후 결합된 항원을 항-Fab 항체-코팅된 평판으로 포획함으로써, 항원에 대한 Fabs의 용해 결합 친화성을 측정하는 하기 검정에 의해 설명된 바와 같이, 관심되는 항체의 Fab 버전 및 이의 항원으로 수행되는 방사성표지화된 항원 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다 (Chen, et al., (1999) J. Mol Biol 293:865-881). 검정을 위한 조건을 확립하기 위해, 마이크로역가 평판 (Dynex)이 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6)에서 5 μ g/ml의 포획 항-Fab 항체 (Cappel Labs)로 하룻밤 동안 코팅되고, 그리고 차후에, 실온 (대략 23°C)에서 2 내지 5 시간 동안 PBS에서 2% (w/v) 소 혈청 알부민으로 차단된다. 비흡착성 평판 (Nunc #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [125I]-항원이 관심되는 Fab의 연속 희석액과 혼합된다 (예를 들면, Presta et al., (1997) Cancer Res. 57:4593-4599에서 항-VEGF 항체, Fab-12의 사정과 일치). 관심되는 Fab는 이후, 하룻밤 동안 항온처리된다; 하지만, 항온처리는 평형이 도달되도록 담보하기 위해 더욱 긴 기간 (예를 들면, 65 시간) 동안 계속될 수도 있다. 그 후에, 혼합물이 실온에서 항온처리를 위해 포획 평판으로 이전된다 (예를 들면, 1 시간 동안). 용액은 이후, 제거되고, 그리고 평판이 PBS에서 0.1% 폴리소르베이트 20으로 8회 세척된다. 평판이 건조될 때, 150 μ l/웰의 신틸란트 (MicroScint-20; Packard)가 첨가되고, 그리고 이들 평판은 TOPCOUNT™ 감마 계수기 (Packard)에서 10 분 동안 계수된다. 최대 결합의 20% 이하이거나 또는 이와 동등한 결합을 제공하는 각 Fab의 농도가 경쟁적 결합 검정에서 이용을 위해 선택된다.
- [0133] 다른 구체예에 따라서, " K_d " 또는 " K_d 값"은 ~10 반응 단위 (RU)로 고정된 항원 CM5 칩에서 25°C에서 BIAcore™-2000 또는 BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)을 이용한 표면 플라즈몬 공명 검정을 이용함으로써 측정된다. 간단히 말하면, 카르복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, BIAcore Inc.)은 공급 업체의 사용설명서에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 염산염 (EDC) 및 N-히드록시수신 이미드 (NHS)로 활성화된다. 항원은 거의 10 반응 단위 (RU)의 연계된 단백질을 달성하기 위해, 5 μ l/분의 유속에서 주입 전에 10 mM 아세트산나트륨, pH 4.8로 5 μ g/ml (~0.2 μ M)까지 희석된다. 항원의 주입 이후에, 반응하지 않은 기를 차단하기 위해 1 M 에탄올아민이 주입된다. 동역학 측정을 위해, Fab의 2-배 연속 희석액 (0.78 nM 내지 500 nM)이 거의 25 μ l/분의 유속에서 25°C에서 0.05% Tween 20을 포함하는 PBS (PBST)에 주입된다. 연관률 (k_{on}) 및 해리율 (k_{off})은 연관과 해리 센서그램을 동시에 적합시킴으로써 단순한 1 대 1 랭뮤어 결합 모형 (BIAcore 평가 소프트웨어 버전 3.2)을 이용하여 계산된다. 평형 해리 상수 (K_d)는 비율 k_{off}/k_{on} 으로서 계산

된다. 참조: 예를 들면, Chen, Y., et al., (1999) J. Mol Biol 293:865-881. 온 레이트가 상기 표면 플라스몬 공명 검정에 의해 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 를 초과하면, 온 레이트는 분광계, 예컨대, 정지-유동 구비된 분광광도계 (Aviv Instruments) 또는 교반 큐벳이 달린 8000-시리즈 SLM-Aminco 분광광도계 (ThermoSpectronic)에서 측정될 때 증가하는 농도의 항원의 존재에서 PBS, pH 7.2에서, 20 nM 항-항원 항체 (Fab 형태)의 25°C에서 형광 방출 강도 (여기 = 295 nm; 방출 = 340 nm, 16 nm 대역)의 증가 또는 감소를 측정하는 형광 퀀칭 기술을 이용함으로써 결정될 수 있다.

[0134] 본 발명에 따른 "온 레이트" 또는 "연관률" 또는 "연관률" 또는 " k_{off} "은 또한, 전술된 바와 같이 BIAcore™-2000 또는 BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)을 이용한 전술된 동일한 표면 플라스몬 공명 기술로 결정될 수 있다.

[0135] 본원에서 이용된 바와 같이, 관용구 "실제적으로 유사한" 또는 "실제적으로 동일한"은 당업자가 2개의 수치 값 (일반적으로, 본 발명의 항체와 연관된 수치 값 및 참조/비교측정기 항체와 연관된 다른 수치 값) 사이에 차이를 상기 값 (예를 들면, K_d 값)에 의해 측정된 생물학적 특성의 맥락에서 생물학적 및/또는 통계학적 유의성이 거의 또는 전혀 없는 것으로 고려하게 할 만큼, 이들 2개의 값 사이에 충분히 고도한 유사성을 표시한다. 상기 2개의 값 사이에 차이는 참조/비교측정기 항체에 대한 값의 함수로서 바람직하게는 약 50% 이하, 바람직하게는 약 40% 이하, 바람직하게는 약 30% 이하, 바람직하게는 약 20% 이하, 바람직하게는 약 10% 이하이다.

[0136] 본원에서 이용된 바와 같이, 관용구 "실제적으로 감소된" 또는 "실제적으로 상이한"은 당업자가 2개의 수치 값 (일반적으로, 본 발명의 항체와 연관된 수치 값 및 참조/비교측정기 항체와 연관된 다른 수치 값) 사이에 차이를 상기 값 (예를 들면, K_d 값, HAMA 반응)에 의해 측정된 생물학적 특성의 맥락에서 통계학적으로 유의한 것으로 고려하게 할 만큼, 이들 2개의 값 사이에 충분히 고도한 차이를 표시한다. 상기 2개의 값 사이에 차이는 참조/비교측정기 분자에 대한 값의 함수로서 바람직하게는 약 10% 이상, 바람직하게는 약 20% 이상, 바람직하게는 약 30% 이상, 바람직하게는 약 40% 이상, 바람직하게는 약 50% 이상이다.

[0137] 본원에서 목적으로 "수용자 인간 프레임워크"는 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크로부터 유래된 VL 또는 VH 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 공통 프레임워크"로부터 유래된" 수용자 인간 프레임워크는 이의 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 기존 아미노산 서열 변화를 내포할 수 있다. 기존 아미노산 변화가 존재하는 경우에, 바람직하게는 5개 이내, 그리고 바람직하게는 4개 또는 그 이하, 또는 3개 또는 그 이하의 기존 아미노산 변화가 존재한다. 기존 아미노산 변화가 VH 내에 존재하는 경우에, 바람직하게는 이들 변화는 71H, 73H 및 78H 중에서 단지 3개, 2개 또는 1개의 위치에서만 존재한다; 예를 들면, 이들 위치에서 아미노산 잔기는 71A, 73T 및/또는 78A일 수 있다. 한 구체예에서, VL 수용자 인간 프레임워크는 VL 인간 면역글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 공통 프레임워크 서열과 서열에서 동일하다.

[0138] "인간 공통 프레임워크"는 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선별에서 가장 흔히 발생하는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 일반적으로, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열은 가변 도메인 서열의 하위군으로부터 선별된다. 일반적으로, 서열의 하위군은 Kabat *et al.*의 경우에서와 같은 하위군이다. 한 구체예에서, VL의 경우에, 하위군은 Kabat *et al.*의 경우에서와 같은 하위군 카파 I이다. 한 구체예에서, VH의 경우에, 하위군은 Kabat *et al.*의 경우에서와 같은 하위군 III이다.

[0139] "VH 하위군 III 공통 프레임워크"는 Kabat *et al.*의 가변 중쇄 하위군 III에서 아미노산 서열로부터 획득된 공통 서열을 포함한다. 한 구체예에서, VH 하위군 III 공통 프레임워크 아미노산 서열은 하기 서열 각각의 적어도 일부 또는 전부를 포함한다: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS (서열 번호: 11)-H1-WVRQAPGKGLEWV (서열 번호: 12)-H2-RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (서열 번호: 145)-H3-WGQGTILVTSS (서열 번호: 13).

[0140] "VL 하위군 I 공통 프레임워크"는 Kabat *et al.*의 가변 경쇄 카파 하위군 I에서 아미노산 서열로부터 획득된 공통 서열을 포함한다. 한 구체예에서, VL 하위군 I 공통 프레임워크 아미노산 서열은 하기 서열 각각의 적어도 일부 또는 전부를 포함한다: DIQMTQSPSSLSASVGRVTITC (서열 번호: 14)-L1-WYQQKPGKAPKLLIY (서열 번호: 15)-L2-GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (서열 번호: 141)-L3-FGQGTKVEIKR (서열 번호: 16).

[0141] "변형되지 않은 인간 프레임워크"는 수용자 인간 프레임워크와 동일한 아미노산 서열을 갖는, 예를 들면, 수용자 인간 프레임워크에서 인간에서 비인간으로의 아미노산 치환(들)을 결여하는 인간 프레임워크이다.

[0142] CD79b"에 결합하는" 항-CD79b 면역접합체 또는 항체는 항체가 항원을 발현하는 세포 또는 조직을 표적으로 하는

데 있어서 치료제로서 유용하고, 그리고 다른 단백질과 유의미하게 교차반응하지 않을 만큼 충분한 친화성으로 CD79b 항원에 결합하는 것이다. 이런 구체예에서, "비표적" 단백질에 항체의 결합 정도는 형광 활성화된 세포 분류 (FACS) 분석 또는 방사면역침강 (RIA)에 의해 결정될 때, 특정 표적 단백질에 항체의 결합의 약 10%보다 적을 것이다. 표적 분자에 항체의 결합에 대하여, 특정 폴리펩티드 또는 특정 폴리펩티드 표적 상에서 에피토프에 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합한다" 또는 "특이적이다"는 비특이적 상호작용과 계측가능하게 상이한 결합을 의미한다. 특이적 결합은 예를 들면, 일반적으로 결합 활성을 갖지 않는 유사한 구조의 분자인 대조 분자의 결합과 비교하여 분자의 결합을 결정함으로써 계측될 수 있다. 예를 들면, 특이적 결합은 표적과 유사한 대조 분자, 예를 들면, 과잉의 비표지화된 표적과의 경쟁에 의해 결정될 수 있다. 이 경우에 있어서, 만약 프로브에 대한 표지화된 표적의 결합이 과잉의 표지화되지 않은 표적에 의해 경쟁적으로 저해되면, 특이적 결합이 지시된다. 본원에서 이용된 바와 같이 특정 폴리펩티드, 또는 특정 폴리펩티드 표적 상에서 에피토프에 대해 용어 "특이적 결합" 또는 "특이적으로 결합한다" 또는 "특이적이다"는 예를 들면, 표적에 대해 적어도 약 10^{-4} M, 대안으로 적어도 약 10^{-5} M, 대안으로 적어도 약 10^{-6} M, 대안으로 적어도 약 10^{-7} M, 대안으로 적어도 약 10^{-8} M, 대안으로 적어도 약 10^{-9} M, 대안으로 적어도 약 10^{-10} M, 대안으로 적어도 약 10^{-11} M, 대안으로 적어도 약 10^{-12} M, 또는 그 이상의 Kd를 갖는 분자에 의해 전시될 수 있다. 한 구체예에서, 용어 "특이적 결합"은 항체가 임의의 다른 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 에피토프에 실제적으로 결합하지 않으면서 CD79b 폴리펩티드 상에서 에피토프에 결합하는 결합을 지칭한다.

[0143] "항체 작동체 기능"은 항체의 Fc 영역 (선천적 서열 Fc 영역 또는 아미노산 서열 변이체 Fc 영역)에 기인한 생물학적 활성을 지칭하고, 그리고 항체 아이소타입에 따라 변한다. 항체 작동체 기능의 실례는 다음을 포함한다: C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체 의존성 세포 매개된 세포독성 (ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체 (예를 들면, B 세포 수용체)의 하향조절; 그리고 B 세포 활성화.

[0144] 본원에서 용어 "Fc 영역"은 선천적 서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 비롯하여, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 규정하는 데 이용된다. 비록 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계가 변할 수도 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 위치 Cys226에서 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 이들의 카르복실 말단까지 뻗어 있는 것으로 통상적으로 규정된다. Fc 영역의 C 말단 리신 (EU 넘버링 시스템에 따라 잔기 447)은 예를 들면, 항체의 생산 또는 정제 동안, 또는 항체의 중쇄를 인코딩하는 핵산을 재조합적으로 가공함으로써 제거될 수 있다. 따라서, 무손상 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 개체군, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 개체군, 그리고 K447 잔기가 있고 없는 항체의 혼합물을 갖는 항체 개체군을 포함할 수 있다.

[0145] "기능적 Fc 영역"은 선천적 서열 Fc 영역의 "작동체 기능"을 소유한다. 예시적인 "작동체 기능"은 C1q 결합; CDC; Fc 수용체 결합; ADCC; 식균작용; 세포 표면 수용체 (예를 들면, B 세포 수용체; BCR)의 하향조절 등을 포함한다. 이런 작동체 기능은 일반적으로, Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들면, 항체 가변 도메인)과 조합되는 것을 필요로 하고, 그리고 예를 들면, 본원의 정의에서 개시된 바와 같은 다양한 검정을 이용하여 사정될 수 있다.

[0146] "선천적 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 선천적 서열 인간 Fc 영역은 선천적 서열 인간 IgG1 Fc 영역 (비-A 및 A 동종이형); 선천적 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 선천적 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 선천적 서열 인간 IgG4 Fc 영역뿐만 아니라 이들의 자연발생 변이체를 포함한다.

[0147] "변이체 Fc 영역"은 적어도 하나의 아미노산 변형, 바람직하게는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환(들)에 의해 선천적 서열 Fc 영역의 것과 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 변이체 Fc 영역은 선천적 서열 Fc 영역 또는 부모 폴리펩티드의 Fc 영역과 비교하여 선천적 서열 Fc 영역 내에 또는 부모 폴리펩티드의 Fc 영역 내에 적어도 하나의 아미노산 치환, 예를 들면, 약 1개 내지 약 10개 아미노산 치환, 그리고 바람직하게는 약 1개 내지 약 5개 아미노산 치환을 갖는다. 본원에서 변이체 Fc 영역은 바람직하게는, 선천적 서열 Fc 영역 및/또는 부모 폴리펩티드의 Fc 영역과 적어도 약 80% 상동성, 그리고 가장 바람직하게는 그것과 적어도 약 90% 상동성, 더욱 바람직하게는 그것과 적어도 약 95% 상동성을 소유할 것이다.

[0148] "항체 의존성 세포 매개된 세포독성" 또는 "ADCC"는 일정한 세포독성 세포 (예를 들면, 자연 킬러 (NK) 세포, 호중구 및 대식세포) 상에 존재하는 Fc 수용체 (FcRs) 위에 결합된 분비된 Ig가 이들 세포독성 작동체 세포가 항원-보유 표적 세포에 특이적으로 결합하고, 그리고 차후에, 표적 세포를 세포독소로 사멸시킬 수 있게 하는 세포독성의 한 형태를 지칭한다. 항체는 세포독성 세포를 "무장"시키고 이런 사멸에 절대적으로 필요하다. ADCC

를 매개하기 위한 일차 세포, NK 세포는 단지 Fc γ RIII만을 발현하고, 반면 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RRII 및 Fc γ RIII을 발현한다. 조혈 세포 상에서 FcR 발현은 Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991)의 464 페이지 상에 표 3에서 요약된다. 관심되는 분자의 ADCC 활성을 사정하기 위해, 시험관내 ADCC 검정, 예컨대, U.S. 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337에서 설명된 것이 수행될 수 있다. 이런 검정을 위한 유용한 작동체 세포는 말초혈 단핵 세포 (PBMC) 및 자연 킬러 (NK) 세포를 포함한다. 대안으로, 또는 부가적으로, 관심되는 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들면, 동물 모형, 예컨대, Clynes et al. (USA) 95:652-656 (1998)에서 개시된 것에서 사정될 수 있다.

[0149] "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 설명한다. 바람직한 FcR은 선천적 서열 인간 FcR이다. 게다가, 바람직한 FcR은 IgG 항체 (감마 수용체)에 결합하고, 그리고 Fc γ RI, Fc γ RRII 및 Fc γ RIII 하위부류의 수용체뿐만 아니라 이들 수용체의 대립형질 변이체와 대안으로 스플라이싱된 형태를 포함하는 것이다. Fc γ RRII 수용체는 Fc γ RIIA ("활성화 수용체") 및 Fc γ RRIIB ("저해 수용체")를 포함하는데, 이들은 주로 세포질 도메인에서 다른 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 Fc γ RIIA는 세포질 도메인에서 면역수용체 티로신-기초된 활성화 모티프 (ITAM)를 내포한다. 저해 수용체 Fc γ RRIIB는 세포질 도메인에서 면역수용체 티로신-기초된 저해 모티프 (ITIM)를 내포한다 (참조: M. in Daëron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)). FcRs는 Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994); 그리고 de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)에서 리뷰된다. 장래에 확인될 것들을 비롯한 다른 FcRs는 본원에서 용어 "FcR"에 의해 포괄된다. 상기 용어는 또한, 신생아 수용체, FcRn를 포함하는데, 이것은 모계 IgGs의 태아로의 전달을 책임진다 (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)).

[0150] 인간 FcRn 높은 친화성 결합 폴리펩티드의 생체내에서 인간 FcRn에 결합 및 혈청 반감기는 예를 들면, 인간 FcRn을 발현하는 유전자도입 생쥐 또는 형질감염된 인간 세포주에서, 또는 변이체 Fc 영역을 갖는 폴리펩티드가 투여되는 영장류에서 검정될 수 있다. WO 2004/42072 (Presta)는 FcRs에 향상된 또는 축소된 결합을 갖는 항체 변이체를 설명한다. 예를 들면, Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001)를 또한 참조한다.

[0151] "인간 작동체 세포"는 하나 또는 그 이상의 FcRs를 발현하고 작동체 기능을 수행하는 백혈구이다. 바람직하게는, 이들 세포는 적어도 Fc γ RIII을 발현하고 ADCC 작동체 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구의 실례는 말초혈 단핵 세포 (PBMC), 자연 킬러 (NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포, 그리고 호중구를 포함한다; PBMCs와 NK 세포가 바람직하다. 작동체 세포는 선천적 공급원으로부터, 예를 들면, 혈액으로부터 분리될 수 있다.

[0152] "보체 의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재에서 표적 세포의 용해를 지칭한다. 고전적 보체 경로의 활성화는 동계 항원에 결합되는 항체 (적절한 하위부류의)에 보체계의 첫 번째 성분 (C1q)의 결합에 의해 시작된다. 보체 활성화를 사정하기 위해, 예를 들면, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)에서 설명된 바와 같은 CDC 검정이 수행될 수 있다. 변경된 Fc 영역 아미노산 서열 (변이체 Fc 영역을 갖는 폴리펩티드) 및 증가된 또는 감소된 C1q 결합 능력을 갖는 폴리펩티드 변이체는 U.S. 특허 번호 6,194,551 B1 및 W099/51642에서 설명된다. 예를 들면, Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)를 또한 참조한다.

[0153] 용어 "Fc-영역-포함 항체"는 Fc 영역을 포함하는 항체를 지칭한다. Fc 영역의 C 말단 리신 (EU 넘버링 시스템에 따라 잔기 447)은 예를 들면, 항체의 정제 동안, 또는 항체를 인코딩하는 핵산을 재조합적으로 가공함으로써 제거될 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 Fc 영역을 갖는 항체를 포함하는 조성물은 K447을 갖는 항체, 모든 K447이 제거된 항체, 또는 K447 잔기가 있는 경우와 없는 경우의 항체의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0154] 본원에서 "B-세포 표면 마커" 또는 "B-세포 표면 항원"은 자연발생 B-세포 항원에 리간드의 결합을 길항할 수 있는, B-세포 표면 항원 또는 가용성 형태의 B-세포 표면 항원에 대한 항체를 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 거기에 결합하는 길항제로 표적화될 수 있는, B 세포의 표면 상에서 발현된 항원이다. 예시적인 B-세포 표면 마커는 CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85 및 CD86 백혈구 표면 마커를 포함한다 (설명을 위해, The Leukocyte Antigen Facts Book, 2nd Edition. 1997, ed. Barclay et al. Academic Press, Harcourt Brace & Co., New York을 참조한다). 다른 B-세포 표면 마커는 RP105, FcRH2, B-세포 CR2, CCR6, P2X5, HLA-DOB, CXCR5, FCER2, BR3, BAFF, BlyS, Btlg, NAG14, SLGC16270, FcRH1, IRTA2, ATWD578, FcRH3, IRTA1, FcRH6, BCMA 및 239287을 포함한다. 특히 관심되는 B-세포 표면 마커는 포유동물의 다른 비-B-세포 조직과 비교하여 B 세포에서 우선적으로 발현되고, 그리고 전구체 B 세포 및 성숙 B 세포 둘 모두에서

발현될 수 있다.

[0155] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로, 조절되지 않은 세포 성장에 의해 특징되는, 포유동물에서 생리학적 상태를 지칭하거나 또는 설명한다. 암의 실례는 조혈암 또는 혈액-관련된 암, 예컨대, 림프종, 백혈병, 골수종 또는 림프성 악성종양뿐만 아니라 비장의 암 및 림프절의 암, 그리고 또한 암종, 모세포종 및 육종을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 암의 더욱 특정한 실례는 예를 들면, 높은, 중간 및 낮은 등급 림프종 (B 세포 림프종, 예컨대, 예를 들면, 점막층-연관된-림프양 조직 B 세포 림프종 및 비호지킨 림프종 (NHL), 외투 세포 림프종, 버킷 림프종, 소형 림프성 림프종, 변연대 림프종, 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종 (FL), 그리고 호지킨 림프종 및 T 세포 림프종 포함)을 비롯한 B-세포 연관된 암 및 백혈병 (이차성 백혈병, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 예컨대, B 세포 백혈병 (CD5+ B 림프구), 골수성 백혈병, 예컨대, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프성 백혈병, 예컨대, 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 및 척수형성이상증 포함), 그리고 다른 혈액학적 및/또는 B 세포- 또는 T-세포-연관된 암을 포함한다. 다형성 백혈구, 예컨대, 호염기구, 호산구, 호중구 및 단핵구, 수지상 세포, 혈소판, 적혈구, 그리고 자연 살해 세포를 비롯한 추가 조혈 세포의 암 또한 포함된다. 하기에 선택되는 암성 B 세포 증식성 장애 또한 포함된다: 림프종, 비호지킨 림프종 (NHL), 공격성 NHL, 재발성 공격성 NHL, 재발성 무통성 NHL, 난치성 NHL, 난치성 무통성 NHL, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 소형 림프성 림프종, 백혈병, 모양 세포성 백혈병 (HCL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), DLBCL, 재발성/난치성 DLBCL, FL, 그리고 외투 세포 림프종. B-세포 암의 기원은 다음을 포함한다: 변연대 B-세포 림프종은 변연대에서 기억 B-세포에서 유래하고, 여포성 림프종 및 미만성 대 B 세포 림프종은 배 중심의 명대에서 중심세포에서 유래하고, 만성 림프성 백혈병 및 소형 림프성 백혈병은 B1 세포 (CD5+)에서 유래하고, 외투 세포 림프종은 외투막 구역에서 미경험 B-세포에서 유래하고, 그리고 버킷 림프종은 배 중심의 암대에서 중심모세포에서 유래한다. 본원에서 "조혈 세포 조직"으로서 지칭되는, 조혈 세포를 포함하는 조직은 흉선 및 골수 및 말초 림프양 조직, 예컨대, 비장, 림프절, 점막층과 연관된 림프양 조직, 예컨대, 소화관-연관된 림프양 조직, 편도, 페이에르판 및 충수, 그리고 다른 점막층, 예를 들면, 기관지 내용과 연관된 림프양 조직을 포함한다. 이런 암의 추가 특정 실례는 편평상피 세포 암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평상피 암종, 복막의 암, 간 세포암, 위장관암, 췌장암, 신경교종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 타액선 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종, 백혈병 및 다른 림프구증식성 장애, 그리고 다양한 유형의 두경부암을 포함한다.

[0156] 본원에서 "B-세포 악성종양" 또는 "B 세포 증식성 장애"는 낮은 등급/여포성 NHL, 소형 림프성 (SL) NHL, 중간 등급/여포성 NHL, 중간 등급 미만성 NHL, 높은 등급 면역모세포성 NHL, 높은 등급 림프모구성 NHL, 높은 등급 작은 비개열된 세포 NHL, 거대 질환 NHL, 외투 세포 림프종, AIDS-관련된 림프종 및 발덴스트롬 마크로글로불린 혈증을 비롯한 비호지킨 림프종 (NHL), 비호지킨 림프종 (NHL), DLBCL, 재발성/난치성 DLBCL, FL, 림프구 우위성 호지킨병 (LPHD), 소형 림프성 림프종 (SLL), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 재발성 무통성 NHL 및 리툽시맵-난치성 무통성 NHL을 비롯한 무통성 NHL; 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 모양 세포성 백혈병, 만성 골수모구성 백혈병을 비롯한 백혈병; 외투 세포 림프종; 그리고 다른 혈액암을 포함한다. 이런 악성종양은 B-세포 표면 마커, 예컨대, CD79b를 향해 지향된 항체로 치료될 수 있다. 이런 질환은 B 세포 표면 마커, 예컨대, CD79b를 향해 지향된 항체의 투여에 의해 치료되는 것으로 본원에서 예기되고, 그리고 접합되지 않은 ("나신") 항체 또는 본원에서 개시된 바와 같은 세포독성 작용제에 접합된 항체의 투여를 포함한다. 이런 질환은 또한, 동시에 또는 연속적으로 투여되는 다른 항체 또는 항체 약물 접합체, 다른 세포독성 작용제, 방사선 또는 다른 치료와 병용으로 본 발명의 항-CD79b 항체 또는 항-CD79b 항체 약물 접합체를 포함하는 병용 요법에 의해 치료되는 것으로 본원에서 예기된다. 본 발명의 예시적인 치료 방법에서, 본 발명의 항-CD79b 항체는 함께 또는 순차적으로, 항-CD20 항체, 면역글로불린, 또는 이들의 CD20 결합 단편과 병용으로 투여된다. 항-CD20 항체는 나신 항체 또는 항체 약물 접합체일 수 있다. 병용 요법의 구체예에서, 항-CD79b 항체는 본 발명의 항체이고, 그리고 항-CD20 항체는 Rituxan® (리툽시맵)이다.

[0157] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "비호지킨 림프종" 또는 "NHL"은 호지킨 림프종 이외에 림프계의 암을 지칭한다. 호지킨 림프종은 일반적으로, 호지킨 림프종에서 리드 슈테른베르크 세포의 존재 및 비호지킨 림프종에서 상기 세포의 부재에 의해 비호지킨 림프종으로부터 구별될 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이 상기 용어에 의해 포괄되는 비호지킨 림프종의 실례는 당해 분야에서 공지된 분류 체계, 예컨대, Color Atlas of Clinical Hematology (3rd edition), A. Victor Hoffbrand and John E. Pettit (eds.) (Harcourt Publishers Ltd., 2000)에서 설명된 바와 같은 개정된 유럽 미국 림프종 (REAL) 체계에 따라서, 당업자 (예를 들면, 종양전문의 또는 병리학자)에 의해 그와 같이 확인될 임의의 것을 포함한다. 참조: 특히, 도 11.57, 11.58 및 11.59에서 목록. 더욱 특정한 실례는 재발성 또는 불응성 NHL, 최전선 낮은 등급 NHL, III/IV 기 NHL, 화학요법 내성 NHL,

전구체 B 림프모구성 백혈병 및/또는 림프종, 소형 림프성 림프종, B 세포 만성 림프성 백혈병 및/또는 전림프구성 백혈병 및/또는 소형 림프성 림프종, B-세포 전림프구성 림프종, 면역세포종 및/또는 림프구형질세포 림프종, 림프구형질세포 림프종, 변연대 B 세포 림프종, 비장 변연대 림프종, 외부결절성 변연대 - MALT 림프종, 결절성 변연대 림프종, 모양 세포성 백혈병, 형질세포종 및/또는 형질 세포 골수종, 낮은 등급/여포성 림프종, 중간 등급/여포성 NHL, 외투 세포 림프종, 난포 센터 림프종 (여포성 림프종), 중간 등급 미만성 NHL, 미만성 대 B 세포 림프종, 재발성/난치성 미만성 대 B 세포 림프종, 공격성 NHL (공격성 최전선 NHL 및 공격성 재발성 NHL 포함), 자가 줄기 세포 이식 후 재발하거나 또는 이것에 불응성인 NHL, 원발성 종격 큰 B-세포 림프종, 원발성 삼출액 림프종, 높은 등급 면역모세포성 NHL, 높은 등급 림프모구성 NHL, 높은 등급 작은 비개열된 세포 NHL, 거대 질환 NHL, 버킷 림프종, 전구체 (말초) 큰 과립성 림프성 백혈병, 균상식육종 및/또는 세자리 증후군, 피부 (피부) 림프종, 역형성 큰 세포 림프종, 혈관 중심위 림프종을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0158] "장애"는 본 발명의 물질/분자 또는 방법으로 치료로부터 이익을 얻을 임의의 상태이다. 이것은 포유동물을 문 제되는 장애에 취약하게 만드는 병리학적 상태를 포함하는 만성과 급성 장애 또는 질환을 포함한다. 본원에서 치료되는 장애의 무제한적 실례는 암성 상태, 예컨대, 악성과 양성 종양; 비-백혈병 및 림프성 악성종양; 뉴런, 신경교, 성상세포, 시상하부 및 다른 선, 대식세포, 상피, 간질 및 포배강 장애; 그리고 염증성, 면역학적 및 다른 혈관형성-관련된 장애를 포함한다. 장애는 암성 상태, 예컨대, B 세포 증식성 장애 및/또는 B 세포 종양, 예를 들면, 림프종, 비호지킨 림프종 (NHL), 공격성 NHL, 재발성 공격성 NHL, 재발성 무통성 NHL, 난치성 NHL, 난치성 무통성 NHL, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 소형 림프성 림프종, 백혈병, 모양 세포성 백혈병 (HCL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 그리고 외투 세포 림프종을 더욱 포함한다.

[0159] 용어 "세포 증식성 장애" 및 "증식성 장애"는 어느 정도의 비정상 세포 증식과 연관되는 장애를 지칭한다. 한 구체예에서, 증식성 장애는 암이다. 일부 구체예에서, 암은 B 세포 증식성 장애이다.

[0160] 본원에서 이용된 바와 같이, "종양"은 악성 또는 양성인지에 상관없이 모든 신생물 세포 성장과 증식, 그리고 모든 전암성과 암성 세포와 조직을 지칭한다.

[0161] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "경감"은 치료적 처치 및 방지적 또는 예방적 조치 둘 모두를 지칭하는데, 여기서 목적은 표적 병리학적 상태 또는 장애를 예방하거나 또는 이의 속도를 늦추는 (저하시키는) 것이다. 치료가 필 요한 개체는 장애를 이미 앓고 있는 개체뿐만 아니라 장애를 앓기 쉬운 개체 또는 장애가 예방되어야 하는 개체 를 포함한다. 개체 또는 포유동물은 만약 본 발명의 방법에 따라 항-CD79b 항체의 치료량을 제공받은 후, 환자가 하기 중에서 한 가지 또는 그 이상에서 식별가능한 및/또는 계측가능한 감소, 또는 이의 부재를 보여주면, CD79b 폴리펩티드-발현 암에 대해 성공적으로 "치료"된다: 암 세포의 숫자에서 감소 또는 암 세포의 부재; 종양 크기에서 감소; 연조직 및 뼈 내로 암의 확산을 포함하는, 주변 장기 내로 암 세포 침윤의 저해 (다시 말하면, 얼마간 늦추고, 그리고 바람직하게는 중단시킴); 종양 전이의 저해 (다시 말하면, 얼마간 늦추고, 그리고 바람 직하게는 중단시킴); 종양 성장의 얼마간 저해; 및/또는 특정한 암과 연관된 증상 중에서 한 가지 또는 그 이상 의 얼마간 경감; 감소된 이환율과 사망률, 그리고 삶의 질 문제에서 향상. 항-CD79b 항체는 성장을 예방하고 및 /또는 기존의 암 세포를 사멸시킬 수 있는 정도까지, 정균성 및/또는 세포독성일 수 있다. 이들 징후 또는 증상의 감소는 또한, 환자에 의해 느껴질 수도 있다.

[0162] 질환에서 성공적인 치료와 향상을 사정하기 위한 상기 파라미터는 의사 에게 익숙한 일과적인 절차에 의해 쉽게 계측가능하다. 암 요법의 경우에, 효능은 예를 들면, 질환 진행까지 시간 (TTP)을 사정하고 및/또는 반응률 (RR)을 결정함으로써 계측될 수 있다. 전이는 병기결정 검사에 의해, 그리고 뼈로의 확산을 결정하기 위한 뼈 스캔 및 칼슘 수준과 다른 효소에 대한 검사에 의해 결정될 수 있다. CT 스캔 또한, 구역 내에 골반과 림프절로 의 확산을 찾아내기 위해 행해질 수 있다. 흉부 엑스선 및 공지된 방법에 의한 간 효소 수준의 계측이 각각, 폐 및 간으로의 전이를 찾아내는 데 이용된다. 상기 질환을 모니터링하기 위한 다른 일과적인 방법은 직장경유 초 음파촬영술 (TRUS) 및 직장경유 바늘 생검 (TRNB)을 포함한다.

[0163] 더욱 국부화된 암인 방광암의 경우에, 질환의 진행을 결정하기 위한 방법은 방광경검사에 의한 소변 세포학적 평가, 소변 내에 혈액의 존재에 대한 모니터링, 초음파 검사 또는 정맥내 신우조영사진에 의한 요로상피관의 가 시화, 전산화 단층촬영술 (CT) 및 자기 공명 영상법 (MRI)을 포함한다. 원거리 전이의 존재는 복부의 CT, 흉부 엑스선, 또는 골격의 방사성핵종 영상화에 의해 사정될 수 있다.

[0164] "장기" 투여는 연장된 기간 동안 초기 치료 효과 (활성)를 유지하기 위해, 급성 방식과는 대조적으로 연속 방식 으로 작용제(들)의 투여를 지칭한다. "간헐적" 투여는 단절 없이 연속해서 행위되지 않고, 오히려 성질에서 순 환적인 치료이다.

- [0165] "개체," "피험자" 또는 "환자"는 척추동물이다. 일정한 구체예에서, 척추동물은 포유동물이다. 포유동물은 경작용 동물 (예컨대, 소), 스포츠 동물, 애완동물 (예컨대, 고양이, 개 및 말), 영장류, 생쥐, 그리고 쥐를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 구체예에서, 포유동물은 인간이다.
- [0166] 한 가지 또는 그 이상의 추가 치료제와 "병용으로" 투여는 동시적 (동시) 투여 및 임의의 순서로 연속적 (순차적) 투여를 포함한다.
- [0167] 본원에서 이용된 바와 같이, "운반체"는 이용된 용량과 농도에서 거기에 노출되는 세포 또는 포유동물에 비독성인 제약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 안정제를 포함한다. 종종, 생리학적으로 허용되는 운반체는 수성 pH 완충된 용액이다. 생리학적으로 허용가능 운반체의 실례는 완충액, 예컨대, 인산염, 구연산염 및 다른 유기산; 아스코르빈산을 비롯한 항산화제; 저분자량 (약 10개 잔기 이하) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신; 글루코오스, 만노오스 또는 텍스트린을 비롯한 당류, 이당류 및 다른 탄수화물; 킬레이트화제, 예컨대, EDTA; 당 알코올, 예컨대, 만니톨 또는 소르비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대, 나트륨; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대, TWEEN®, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 및 PLURONICS®를 포함한다.
- [0168] 용어 "제약학적 조성물" 또는 "제약학적 제제"는 활성 성분의 생물학적 활성이 효과적이라도 허용하는 그런 형태이고, 그리고 이러한 제제가 투여될 개체에게 받아들이기 어려울 정도로 독성인 추가 성분을 내포하지 않는 항-CD79b 면역접합체의 제조물을 지칭한다. 이런 제제는 무균이다. "제약학적으로 허용되는" 부형제 (운반체, 첨가제)는 이용되는 활성 성분의 유효 용량을 제공하기 위해 대상 포유동물에 합리적으로 투여될 수 있는 것들이다.
- [0169] "무균" 제제는 무균이거나 또는 모든 살아있는 미생물 및 그들의 포자가 없거나 또는 본질적으로 없다.
- [0170] 본원에서 개시된 바와 같은 항-CD79b 면역접합체의 "효과량"은 구체적으로 언급된 목적을 실행하는 데 충분한 양이다. "효과량"은 언급된 목적과 관련하여, 경험적으로 및 일과적인 방식으로 결정될 수 있다.
- [0171] 용어 "치료 효과량"은 개체 또는 포유동물에서 질환 또는 장애를 "치료"하는 데 효과적인 항-CD79b 면역접합체의 양을 지칭한다. 암의 경우에, 상기 면역접합체의 치료 효과량은 암 세포의 숫자를 감소시키고; 종양 크기를 감소시키고; 주변 장기 내로 암 세포 침윤을 저해하고 (다시 말하면, 얼마간 늦추고, 그리고 바람직하게는 중단시키고); 종양 전이를 저해하고 (다시 말하면, 얼마간 늦추고, 그리고 바람직하게는 중단시키고); 종양 성장을 얼마간 저해하고; 및/또는 암과 연관된 증상 중에서 한 가지 또는 그 이상을 얼마간 완화할 수 있다. 본원에서 "치료하는"의 정의를 참조한다. 상기 면역접합체는 성장을 예방하고 및/또는 기존의 암 세포를 사멸시킬 수 있는 정도까지, 정균성 및/또는 세포독성일 수 있다. "예방 효과량"은 원하는 방지적 결과를 달성하는 데 필요한 용량에서 및 기간 동안 효과적인 양을 지칭한다. 반드시 그러한 것은 아니지만 전형적으로, 방지적 용량이 질환에 앞서 또는 질환의 초기 단계에서 개체에서 이용되기 때문에, 예방 효과량은 치료 효과량보다 적을 것이다.
- [0172] 항-CD79b 면역접합체의 "성장 저해량"은 시험관내 또는 생체내 중에서 어느 한 가지에서 세포, 특히 종양, 예를 들면, 암 세포의 성장을 저해할 수 있는 양이다. 신생물 세포 성장을 저해하는 목적으로 항-CD79b 면역접합체의 "성장 저해량"은 경험적으로 및 일과적인 방식으로 결정될 수 있다.
- [0173] 항-CD79b 면역접합체의 "세포독성량"은 시험관내 또는 생체내 중에서 어느 한 가지에서 세포, 특히 종양, 예를 들면, 암 세포의 파괴를 유발할 수 있는 양이다. 신생물 세포 성장을 저해하는 목적으로 항-CD79b 항체의 "세포독성량"은 경험적으로 및 일과적인 방식으로 결정될 수 있다.
- [0174] "CD79b-발현 세포"는 세포 표면 상에서 또는 분비된 형태에서 내인성 또는 형질감염된 CD79b 폴리펩티드를 발현하는 세포이다. "CD79b-발현 암"은 세포 표면 상에 존재하는 CD79b 폴리펩티드를 갖거나, 또는 CD79b 폴리펩티드를 생산하고 분비하는 세포를 포함하는 암이다. "CD79b-발현 암"은 항-CD79b 항체가 거기에 결합하고 암에 대하여 치료 효과를 가질 수 있도록, 그들의 세포의 표면 상에서 충분한 수준의 CD79b 폴리펩티드를 임의적으로 생산한다. 다른 구체예에서, "CD79b-발현 암"은 항-CD79b 항체 길항제가 거기에 결합하고 암에 대하여 치료 효과를 가질 수 있도록, 충분한 수준의 CD79b 폴리펩티드를 임의적으로 생산하고 분비한다. 후자에 대하여, 길항제는 종양 세포에 의한 분비된 CD79b 폴리펩티드의 생산과 분비를 감소시키거나, 저해하거나 또는 예방하는 안티센스 올리고뉴클레오타이드일 수 있다. CD79b 폴리펩티드를 "과다발현하는" 암은 동일한 조직 유형의 비암성 세포와 비교하여, 그들의 세포 표면에서 더욱 높은 수준의 CD79b 폴리펩티드를 갖거나, 또는 생산하고 분비하는 것이다. 이런 과다발현은 유전자 증폭에 의해 또는 증가된 전사 또는 번역에 의해 유발될 수 있다. CD79b 폴리

펩티드 과다발현은 세포의 표면 상에 존재하거나, 또는 세포에 의해 분비된 증가된 수준의 CD79b 단백질을 평가함으로써 (예를 들면, CD79b 폴리펩티드를 인코딩하는 단리된 핵산으로부터 재조합 DNA 기술을 이용하여 제조될 수 있는, 단리된 CD79b 폴리펩티드에 대항하여 제조된 항-CD79b 항체를 이용하는 면역조직화학 검정; FACS 분석 등을 통해), 검출 또는 예후적 검정에서 결정될 수 있다. 대안으로 또는 부가적으로, 예를 들면, CD79b-인코딩 핵산 또는 이의 보체에 상응하는 핵산 기초된 프로브를 이용한 형광 제자리 혼성화; (FISH; 1998년 10월 공개된 W098/45479를 참조한다), 서던 블로팅, 노던 블로팅, 또는 증합효소 연쇄 반응 (PCR) 기술, 예컨대, 실시간 정량적 PCR (RT-PCR)을 통해 세포에서 CD79b 폴리펩티드-인코딩 핵산 또는 mRNA의 수준이 측정될 수 있다. 또한, 예를 들면, 항체-기초된 검정을 이용하여 생물학적 유체, 예컨대, 혈청에서 떨어져 나온 항원을 측정함으로써 CD79b 폴리펩티드 과다발현이 연구될 수 있다 (또한, 예를 들면, 1990년 6월 12일자 허여된 U.S. 특허 번호 4,933,294; 1991년 4월 18일자 공개된 W091/05264; 1995년 3월 28일자 허여된 U.S. 특허 5,401,638; 및 Sias et al., J. Immunol. Methods 132:73-80 (1990)을 참조한다). 상기 검정 이외에, 다양한 생체내 검정이 숙련된 의사에게 가능하다. 예를 들면, 환자의 신체 내에 세포를 검출가능한 표지, 예를 들면, 방사성동위원소로 임의적으로 표지화되는 항체에 노출시킬 수 있고, 그리고 환자에서 세포에 항체의 결합이 예를 들면, 방사성에 대한 외부 스캐닝에 의해, 또는 항체에 이전에 노출된 환자로부터 채취된 생검을 분석함으로써 평가될 수 있다.

[0175] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "세포독성 작용제"는 세포 기능을 저해하거나 또는 예방하고 및/또는 세포 파괴를 유발하는 약물 분자를 지칭한다. 상기 용어는 독소, 예컨대, 세균, 진균, 식물 또는 동물 기원의 소형 분자 독소 또는 효소적으로 활성 독소뿐만 아니라 세포의 성장 또는 증식에 대한 유해한 효과를 가질 수 있는 이들의 단편 및/또는 변이체를 포함하는 것으로 의도된다. 한 구체예에서, 세포독성 작용제는 모노-메틸 아우리스 타틴 E (MMAE)이다.

[0176] 본원에서 이용된 바와 같이 "동결 건조된" 조성물은 "케이크"를 유발하는, 동결 건조의 과정을 통한 동결 건조에 종속된 액체 조성물을 지칭한다. 일정한 구체예에서, 동결 건조된 케이크는 케이크 구조, 컬러, 외관, 또는 수분 함량에서 유의미한 변화 없이 보관 조건 ($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 및 광으로부터 보호됨) 하에 안정된다. 특정한 구체예에서, 동결 건조된 케이크는 절흔 없이 매끈하다. 본 발명의 일정한 구체예에서, 동결 건조된 조성물은 약 60 개월 동안 안정된다. 본 발명의 일정한 구체예에서, 동결 건조된 조성물은 약 48 개월 동안 안정된다.

[0177] "안정된" 제제는 그 안에 면역접합체가 보관 시에 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 본질적으로 유지하는 것이다. 바람직하게는, 제제는 보관 시에 물리적 및 화학적 안정성뿐만 아니라 생물학적 활성을 본질적으로 유지한다. 보관 기간은 일반적으로, 제제의 의도된 보관 수명에 근거하여 선택된다. 단백질 안정성을 측정하기 위한 다양한 분석 기법이 당해 분야에서 가용하고, 그리고 예를 들면, Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) 및 Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993)에서 리뷰된다. 안정성은 선택된 기간 동안 선택된 온도에서 측정될 수 있다. 안정성은 응집체 형성의 평가 (예를 들면, 크기 배제 크로마토그래피를 이용하여, 혼탁도를 측정함으로써 및/또는 시각적 검사에 의해); 양이온 교환 크로마토그래피, 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF) 또는 모세관 구역 전기이동을 이용하여 전하 이질성을 사정함으로써; 아미노 말단 또는 카복시 말단 서열 분석; 질량 분광계 분석; 환원된 항체 및 무손상 항체를 비교하기 위한 SDS-PAGE 분석; 펩티드 지도 (예를 들면, 트립신 또는 LYS-C) 분석; 항체의 생물학적 활성 또는 항원 결합 기능을 평가하는 것 등을 비롯한, 다양한 상이한 방식으로 정성적으로 및/또는 정량적으로 평가될 수 있다. 불안정은 하기 중에서 한 가지 또는 그 이상을 수반할 수 있다: 응집, 탈아미드화 (예를 들면, Asn 탈아미드화), 산화 (예를 들면, Met 산화), 이성화 (예를 들면, Asp 이성화), 클리핑/가수분해/단편화 (예를 들면, 힌지 영역 단편화), 숙신이미드 형성, 대합되지 않은 시스테인(들), N 말단 연장, C 말단 처리, 글리코실화 차이, 기타 등등.

[0178] 면역접합체는 만약 컬러 및/또는 선명도의 시각 검사 시에, 또는 UV 광 산란에 의해 또는 크기 배제 크로마토그래피에 의해 측정될 때 응집, 침전 및/또는 변성의 징후를 거의 또는 전혀 보여주지 않으면, 제약학적 제제에서 "물리적 안정성을 유지한다."

[0179] 면역접합체는 만약 소정의 시점에서 화학적 안정성이 면역접합체가 아래에 규정된 바와 같이 생물학적 활성을 여전히 유지하는 것으로 고려되도록 하는 정도이면, 제약학적 제제에서 "화학적 안정성을 유지한다." 화학적 안정성은 면역접합체 (예를 들면, 항체)의 단백질 모이어티의 화학적으로 변경된 형태를 검출하고 정량함으로써 사정될 수 있다. 화학적 변경은 예를 들면, 크기 배제 크로마토그래피, SDS-PAGE 및/또는 매트릭스-보조된 레이저 탈착 이온화/비행 시간 질량 분광분석법 (MALDI/TOF MS)을 이용하여 평가될 수 있는 크기 변형 (예를 들면, 클리핑)을 수반할 수 있다. 화학적 변경의 다른 유형은 예를 들면, 이온 교환 크로마토그래피 또는 icIEF에 의해 평가될 수 있는 전하 변경 (예를 들면, 탈아미드화의 결과로서 발생)을 포함한다. 부가적으로 또는

대안으로, 면역접합체의 화학적 안정성은 면역접합체의 약물 모이어티의 화학적으로 변경된 형태를 검출하고 정량함으로써 사정될 수 있다. 부가적으로 또는 대안으로, 면역접합체의 화학적 안정성은 예를 들면, 면역접합체를 포함하는 조성물에서 약물: 항체 비율 (DAR) 분포를 결정하기 위한 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC)를 통해 DAR을 측정함으로써 사정될 수 있다.

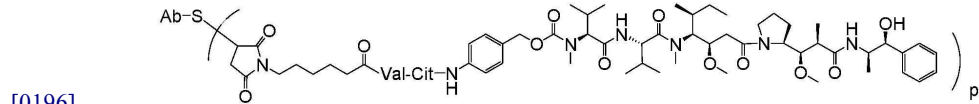
- [0180] 면역접합체의 항체는 만약 소정의 시점에서 면역접합체의 단백질 모이어티 (예를 들면, 항체, 예컨대, 항-CD79b 항체)의 생물학적 활성이 검정 (예를 들면, 항원 결합 검정)에서 결정될 때, 상기 면역접합체를 포함하는 제약학적 제제가 제조된 시점에 전시된 생물학적 활성의 적어도 약 60% (검정의 오차 내에)이면, 제약학적 제제에서 "생물학적 활성을 유지한다."
- [0181] 본원에서 "탈아미드화된" 단일클론 항체는 이의 하나 또는 그 이상의 아스파라긴 잔기가 예를 들면, 아스파르트산 또는 이소아스파르트산으로 유도체화된 것이다.
- [0182] 본원에서 "산화된" 단일클론 항체는 이의 하나 또는 그 이상의 트립토판 잔기 및/또는 하나 또는 그 이상의 메티오닌이 산화된 것이다.
- [0183] 본원에서 "당화된" 단일클론 항체는 이의 하나 또는 그 이상의 리신 잔기가 당화된 것이다.
- [0184] "탈아미드화에 감수성"인 항체는 탈아미드화하기 쉬운 것으로 밝혀진 하나 또는 그 이상의 잔기를 포함하는 것이다.
- [0185] "산화에 감수성"인 항체는 산화하기 쉬운 것으로 밝혀진 하나 또는 그 이상의 잔기를 포함하는 것이다.
- [0186] "응집에 감수성"인 항체는 특히, 동결 및/또는 교반 시에 다른 항체 분자(들)와 함께 응집하는 것으로 밝혀진 것이다.
- [0187] "단편화에 감수성"인 항체는 예를 들면, 이의 힌지 영역에서 2개 또는 그 이상의 단편으로 개열되는 것으로 밝혀진 것이다.
- [0188] "탈아미드화, 산화, 응집, 또는 단편화를 감소시키는"은 상이한 제제에서 조제된 단일클론 항체에 비하여 탈아미드화, 산화, 응집, 또는 단편화를 예방하거나 또는 이의 양을 감소시키는 것으로 의도된다.
- [0189] 조제되는 항체는 바람직하게는 본질적으로 순수하고, 그리고 바람직하게는 본질적으로 균질하다 (예를 들면, 오염 단백질 등이 없다). "본질적으로 순수한" 항체는 조성물 내에 단백질의 총 중량에 근거하여, 중량으로 적어도 약 90%, 바람직하게는 중량으로 적어도 약 95%의 항체를 포함하는 조성물을 의미한다. "본질적으로 균질한" 항체는 조성물 내에 단백질의 총 중량에 근거하여, 중량으로 적어도 약 99%의 항체를 포함하는 조성물을 의미한다.
- [0190] "등장성"은 관심되는 제제가 인간 혈액과 본질적으로 동일한 삼투압을 갖는 것으로 의미된다. 등장성 제제는 일반적으로, 약 250 내지 350 mOsm의 삼투압을 갖는다. 등장성은 예를 들면, 증기압 또는 결빙 유형 삼투압계를 이용하여 측정될 수 있다.
- [0191] 본원에서 이용된 바와 같이, "완충제"는 산-염기 접합체 성분의 행위에 의한 pH에서 변화에 저항하는 완충된 용액을 지칭한다. 본원에서 완충제의 무제한적 실례는 히스티딘, 인산나트륨 및 숙신산나트륨을 포함한다. 본 발명의 완충제는 바람직하게는, 약 4.5 내지 약 7.0, 바람직하게는 약 5.0 내지 약 6.0의 범위에서 pH를 갖는다. 한 구체예에서, 완충제는 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 또는 6.0의 pH를 갖는다. 예시적인 구체예에서, 완충제는 5.3의 pH를 갖는다. 예를 들면, 숙신산나트륨은 이러한 범위에서 pH를 제어할 완충제의 실례이다.
- [0192] 본원에서 이용된 바와 같이, "계면활성제"는 표면-활성제, 바람직하게는 비이온성 계면활성제를 지칭한다. 본원에서 계면활성제의 실례는 폴리소르베이트 (예를 들면, 폴리소르베이트 20 및 폴리소르베이트 80); 폴록사머 (예를 들면, 폴록사머 188); 트리톤; 황산도데실나트륨 (SDS); 라우릴황산나트륨; 나트륨 옥틸 글리코시드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-술포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸-, 또는 세틸-베타인; 라우로아미도프로필-, 코크아미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스타아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필-베타인 (예를 들면, 라우로아미도프로필); 미리스타아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필-디메틸아민; 나트륨 메틸 코코일- 또는 이나트륨 메틸 올레일-타우레이트; 및 MONAQUATTM 계열 (Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.); 폴리에틸 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 그리고 에틸렌 및 프로필렌 글리콜의 공중합체 (예를

들면, 플루로닉, PF68 등); 기타 등등을 포함한다. 한 구체예에서, 본원에서 계면활성제는 폴리소르베이트 20이다. 다른 구체예에서, 본원에서 계면활성제는 폴리소르베이트 80이다.

[0193] 본원에서 이용된 바와 같이, "당"은 가용성 탄수화물을 지칭한다. 당의 무제한적 실례는 글루코오스, 프룩토오스, 수크로오스, 트레할로스, 아르기닌, 글리세린, 프롤린, 텍스트란, 그리고 당 알코올, 예컨대, 글리세롤, 만니톨 및 소르비톨을 포함한다.

[0194] II. 제약학적 조성물

[0195] 한 양상에서, 본 발명은 항-CD79b 면역접합체 및 계면활성제를 포함하는 제약학적 조성물을 제공하는데, 여기서 상기 계면활성제는 적어도 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재하고, 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



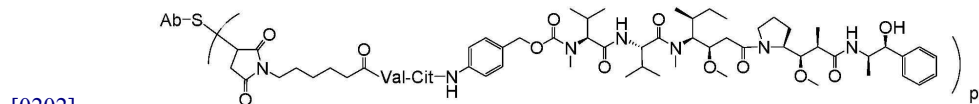
[0197] 여기서:

[0198] Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSVDEYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열; 및 (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 1 내지 약 8 (예를 들면, 약 2 및 약 5 사이, 예컨대, 약 3.5)의 값이다.

[0199] 일부 구체예에서, 본 발명의 조성물은 동결 건조된다. 일부 구체예에서, 본원에서 개시된 조성물은 재구성된 조성물, 다시 말하면, 동결 건조된 케이크로부터 재구성된 조성물이다. 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 제약학적 조성물 (예를 들면, 동결 건조된 조성물 또는 재구성된 조성물)을 내포하는 20-ml 유리 바이알 (예컨대, 밀봉된 바이알)이 제공된다.

[0200] A. 면역접합체

[0201] 본 발명은 소형 분자 독소, 예컨대, 모노메틸아우리스타틴 (MMAE) (돌라스타틴의 합성 유사체)에 접합된 항체를 포함하는 면역접합체 ("항체-약물 접합체," 또는"ADCs"로서 교체가가능하게 지칭됨)와 관련된다. 본 발명은 화학식 Ab - (L - D)_p의 항-CD79b 면역접합체를 제공하는데, 여기서 Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSVDEYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열; 및 (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열을 포함하고; L은 6-말레이미도카프로일-발린-시트룰린-p-아미노벤질옥시카르보닐 (MC-val-cit-PAB)을 포함하는 링커이고; D는 MMAE이고; 그리고 p는 약 1 내지 약 8 (예컨대, 약 2 및 약 5 사이, 예를 들면, 약 3.5)의 값이고; 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 구조를 갖는다:



[0202] 본 발명의 항-CD79b 면역접합체는 항-CD79b-MC-val-cit-MMAE, 항-CD79b-MC-vc-MMAE, 또는 항-CD79b-vc-MMAE로서 지칭될 수 있다. 폴라투주맙 베도틴은 본 발명의 항-CD79b 면역접합체의 실례이다. 폴라투주맙 베도틴은 CAS 등록 번호 1313206-42-6, IUPHAR/BPS 번호 8404 및 KEGG 번호 D10761을 갖는다. 용어 "폴라투주맙 베도틴," "DCDS4501A" 및"RG7596"은 미국, 유럽 및 일본으로 구성되는 국가의 군에서 선택되는 국가 또는 영토에서 동일한 또는 바이오시밀러 산물로서 시판 허가를 획득하기 위해 필요한 요건을 충족하는 모든 상응하는 면역접합체를 포괄한다.

[0203] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 약 5 mg/ml 내지 약 60 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 50 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 40 mg/ml, 약 10 mg/ml 내지 약 30 mg/ml, 또는 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 약 5 mg/ml, 약 6 mg/ml, 약 7 mg/ml, 약 8 mg/ml, 약 9 mg/ml, 약 10 mg/ml, 약 11 mg/ml, 약 12 mg/ml, 약 13 mg/ml, 약 14

mg/ml, 약 15 mg/ml, 약 16 mg/ml, 약 17 mg/ml, 약 18 mg/ml, 약 19 mg/ml, 약 20 mg/ml, 약 25 mg/ml, 약 30 mg/ml, 약 35 mg/ml, 약 40 mg/ml, 약 45 mg/ml, 약 50 mg/ml, 약 55 mg/ml, 또는 약 60 mg/ml의 농도로 존재한다.

- [0204] 본원에서 제공된 임의의 구체예의 일부 구체예에서, "약" 값 또는 파라미터는 이들 값의 임의의 중간 범위를 비롯하여, 진술된 값 또는 파라미터의 $\pm 10\%$, $\pm 9\%$, $\pm 8\%$, $\pm 7\%$, $\pm 6\%$, $\pm 5\%$, $\pm 4\%$, $\pm 3\%$, $\pm 2\%$, 또는 $\pm 1\%$ 중에서 한 가지의 오차 범위를 포괄한다.
- [0205] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도로 존재한다. 예시적인 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 약 10 mg/ml의 농도로 존재한다. 다른 예시적인 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 약 20 mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0206] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 5 mg/ml 내지 60 mg/ml, 10 mg/ml 내지 50 mg/ml, 10 mg/ml 내지 40 mg/ml, 10 mg/ml 내지 30 mg/ml, 또는 10 mg/ml 내지 20 mg/ml의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 11 mg/ml, 12 mg/ml, 13 mg/ml, 14 mg/ml, 15 mg/ml, 16 mg/ml, 17 mg/ml, 18 mg/ml, 19 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 30 mg/ml, 35 mg/ml, 40 mg/ml, 45 mg/ml, 50 mg/ml, 55 mg/ml, 또는 60 mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0207] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml 내지 20 mg/ml의 농도로 존재한다. 예시적인 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml의 농도로 존재한다. 다른 예시적인 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0208] 본원에서 예기된 바와 같이, 항-CD79b 면역접합체는 아래에 나타나 있는 바와 같은 화학식 I을 갖는데, 여기서 항-CD79b 항체 또는 이의 단편 (Ab)이 링커 (L)를 통해 MMAE 약물 모이어티 (D)에 접합된다 (다시 말하면, 공유 부착된다).
- [0209] $Ab-(L-D)_p$ I
- [0210] 화학식 I에서, p는 항체마다 약물 모이어티의 평균 숫자이고, 이것은 예를 들면, 항체마다 약 1 내지 약 20개 약물 모이어티, 그리고 일정한 구체예에서, 항체마다 1 내지 약 8개 약물 모이어티의 범위에서 변할 수 있다. 본 발명은 화학식 I의 항체-약물 화합물의 혼합물을 포함하는 조성물을 포함하는데, 여기서 항체마다 평균 약물 부하는 약 2 내지 약 5, 또는 약 3 내지 약 4, 예를 들면, 3.5이다.
- [0211] **1. 항-CD79b 항체**
- [0212] 본 발명은 항-CD79b 항체 또는 이의 기능적 단편을 포함하는 면역접합체를 제공한다.
- [0213] 한 양상에서, 본 발명은 CD79b에 결합하는, 바람직하게는 특이적으로 결합하는 항-CD79b 항체를 제공한다. 임의적으로, 상기 항체는 단일클론 항체, Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편을 비롯한 항체 단편, 디아바디, 단일 도메인 항체, 키메라 항체, 인간화 항체, 단일 사슬 항체, 또는 개별 항원성 에피토프에 대한 항-CD79b 폴리펩티드 항체의 결합을 경쟁적으로 저해하는 항체이다. 본 발명의 항체는 임의적으로, CHO 세포 또는 세균 세포에서 생산되고, 그리고 바람직하게는, 그들이 결합하는 세포의 사멸을 유도할 수 있다.
- [0214] 본 발명은 인간화 항-CD79b 항체를 포함하는 항-CD79b 면역접합체를 제공하는데, 여기서 CD79b에 대한 상기 항체의 일가 친화성 (예를 들면, CD79b에 대한 Fab 단편으로서 상기 항체의 친화성)은 무린 항체 (예를 들면, CD79b에 대한 Fab 단편으로서 무린 항체의 친화성) 또는 키메라 항체 (예를 들면, CD79b에 대한 Fab 단편으로서 키메라 항체의 친화성)의 일가 친화성과 실제적으로 동일하다.
- [0215] 한 구체예에서, 본 발명은 인간화 항-CD79b 항체를 포함하는 항-CD79b 면역접합체를 제공하는데, 여기서 CD79b에 대한 이가 형태에서 상기 항체의 친화성 (예를 들면, CD79b에 대한 IgG로서 상기 항체의 친화성)은 0.3 nM 또는 더욱 우수하다. 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 항-CD79b 항체를 제공하는데, 여기서 CD79b에 대한 이가 형태에서 상기 항체의 친화성 (예를 들면, CD79b에 대한 IgG로서 상기 항체의 친화성)은 0.5 nM이다. 추가 구체예에서, 본 발명은 인간화 항-CD79b 항체를 제공하는데, 여기서 CD79b에 대한 이가 형태에서 상기 항체의 친화성 (예를 들면, CD79b에 대한 IgG로서 상기 항체의 친화성)은 0.5 nM +/- 0.1이다. 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 항-CD79b 항체를 제공하는데, 여기서 CD79b에 대한 이가 형태에서 상기 항체의 친화성 (예를 들면, CD79b에 대한 IgG로서 상기 항체의 친화성)은 0.3 nM 및 0.7 nM 사이에 있다. 다른 구체예에서, 본 발명은 인간

화 항-CD79b 항체를 제공하는데, 여기서 CD79b에 대한 이가 형태에서 상기 항체의 친화성 (예를 들면, CD79b에 대한 IgG로서 상기 항체의 친화성)은 0.4 nM 및 0.6 nM 사이에 있다. 다른 구체예에서, 본 발명은 인간화 항-CD79b 항체를 제공하는데, 여기서 CD79b에 대한 이가 형태에서 상기 항체의 친화성 (예를 들면, CD79b에 대한 IgG로서 상기 항체의 친화성)은 0.5 nM 및 0.55 nM 사이에 있다.

[0216] 당해 분야에서 충분히 확립된 바와 같이, 수용체에 대한 리간드의 결합 친화성은 임의의 다양한 검정을 이용하여 결정되고, 그리고 다양한 정량적 값의 면에서 표현될 수 있다. 따라서, 한 구체예에서, 결합 친화성은 Kd 값으로서 표현되고 내재적 결합 친화성 (예를 들면, 최소화된 결합능 효과를 가짐)을 반영한다. 일반적으로 및 바람직하게는, 결합 친화성은 무세포 또는 세포-연관된 세팅인지에 상관없이, 시험관내에서 측정된다. 본원에서 더욱 상세하게 설명된 바와 같이, 결합 친화성에서 배수적 차이는 인간화 항체 (예를 들면, Fab 형태에서)의 일가 결합 친화성 값 및 참조/비교측정기 항체 (예를 들면, Fab 형태에서) (예를 들면, 공여자 초가변 영역 서열을 갖는 뮤린 항체)의 일가 결합 친화성 값의 비율의 면에서 정량될 수 있는데, 여기서 이들 결합 친화성 값은 유사한 검정 조건 하에 결정된다. 따라서, 한 구체예에서, 결합 친화성에서 배수적 차이는 Fab 형태에서 인간화 항체 및 상기 참조/비교측정기 Fab 항체의 Kd 값의 비율로서 결정된다. 예를 들면, 한 구체예에서, 만약 본 발명의 항체 (A)가 참조 항체 (M)의 친화성보다 "3 배 낮은" 친화성을 가지면, A에 대한 Kd 값이 3x일 때, M의 Kd 값은 1x일 것이고, 그리고 A의 Kd 대 M의 Kd의 비율은 3:1일 것이다. 반대로, 한 구체예에서, 만약 본 발명의 항체 (C)가 참조 항체 (R)의 친화성보다 "3-배 높은" 친화성을 가지면, C에 대한 Kd 값이 1x일 때, R의 Kd 값은 3x일 것이고, 그리고 C의 Kd 대 R의 Kd의 비율은 1:3일 것이다. 본원에서 설명된 것들을 비롯하여, 당해 분야에서 공지된 다수의 검정 중에서 어느 것, 예를 들면, Biacore, 방사면역검정 (RIA) 및 ELISA가 결합 친화성 치수를 획득하는 데 이용될 수 있다.

[0217] 제공된 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSVDEYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTILVTSS (서열 번호: 7)

[0218] 본 발명의 일부 구체예에서, 항-CD79b 항체는 하기의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH):

[0219] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEVVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTILVTSS (서열 번호: 7)

[0220] 및 하기의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL):

[0221] DIQLTQSPSSLSASVGRVTITCKASQSVDEYEGDSFLNYYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKR (서열 번호: 8)을 포함한다.

[0222] 일부 구체예에서, 중쇄는 하기의 아미노산 서열을 포함하고:

[0223] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEVVRQAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTILVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (서열 번호: 9)

[0224] 그리고 경쇄는 하기의 아미노산 서열을 포함한다:

[0225] DIQLTQSPSSLSASVGRVTITCKASQSVDEYEGDSFLNYYQQKPGKAPKLLIYAASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPPREAVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 10).

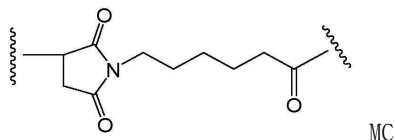
[0226] 2. 링커

[0227] 본 발명은 6-말레이미도카프로일 ("MC"), 발린-시트룰린 ("val-cit" 또는 "vc") 및 p-아미노벤질옥시카르보닐 ("PAB")을 비롯한 여러 성분을 포함하는 링커를 제공한다. 이런 링커 성분은 당해 분야에서 공지되고 아래에 간단히 설명된다.

[0228] 본원에서 이용된 바와 같이, 링커는 화학식 II를 갖고:

[0229] - A_a - W_w - Y_y - II

[0230] 여기서 A는 스트레처 단위이고, 그리고 a는 0 내지 1의 정수이고; W는 아미노산 단위이고, 그리고 w는 0 내지 12의 정수이고; Y는 스페이서 단위이고, 그리고 y는 0, 1 또는 2이다. "스트레처 단위"는 항체를 다른 링커 성분에 연결한다. 본원에서 제공된 스트레처 단위, MC는 아래에 도시된다 (여기서 물결선은 항체에 공유 부착의 부위를 지시한다):

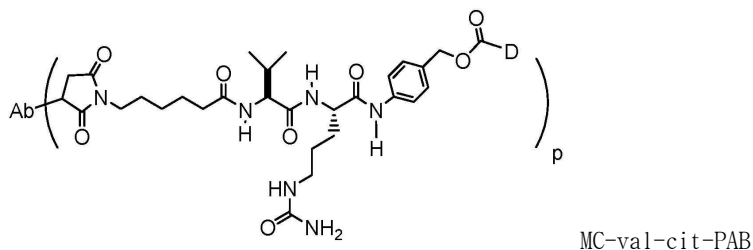


[0232] 아미노산 단위는 프로테아제에 의한 링커의 개열을 허용하고, 따라서 세포내 프로테아제, 예컨대, 리소솜 효소에 노출 시에 면역접합체로부터 약물의 방출을 용이하게 한다. 참조: 예를 들면, Doronina et al. (2003) *Nat. Biotechnol.* 21:778-784. 아미노산 단위는 자연적으로 발생하는 아미노산 잔기뿐만 아니라 소수 아미노산 및 비자연발생 아미노산 유사체, 예컨대, 시트룰린을 포함할 수 있다. 아미노산 단위는 특정 효소, 예를 들면, 종양-연관된 프로테아제, 카텝신 B, C와 D, 또는 플라스민 프로테아제에 의한 효소적 개열에 대한 그들의 선택성에서 설계되고 최적화될 수 있다. 본원에서 제공된 아미노산 단위는 발린-시트룰린 (vc 또는 val-cit) 디펩티드이다.

[0233] 본원에서 이용된 바와 같이, "스페이서" 단위는 자기희생적이고, 그리고 항체를 스트레처 단위 및 아미노산 단위에 의하여 약물 모이어티에 연결한다. "자기희생적" 스페이서 단위는 아마이드 결합, 그리고 벤질 알코올 및 세포독성 작용제 사이에 만들어진 카바메이트, 메틸카바메이트 또는 탄산염의 결과로서 별도의 가수분해 단계 없이 약물 모이어티의 방출을 허용한다. 참조: 예를 들면, Hamann et al. (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* (2005) 15: 1087-1103. 본원에서 제공된 스페이서 단위는 p-아미노벤질옥시카르보닐 (PAB)이다.

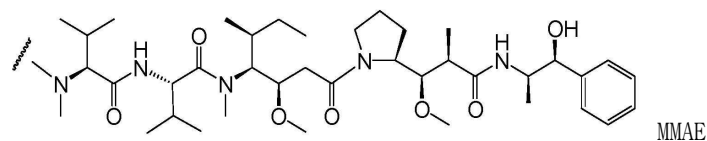
[0234] 스트레처, 스페이서 및 아미노산 단위를 비롯한 링커 성분은 당해 분야에서 공지된 방법, 예컨대, US 2005-0238649A1에서 설명된 것들에 의해 합성될 수 있다.

[0235] 본 발명의 링커는 아래에 나타나 있는 바와 같은 MC-val-cit-PAB이다.



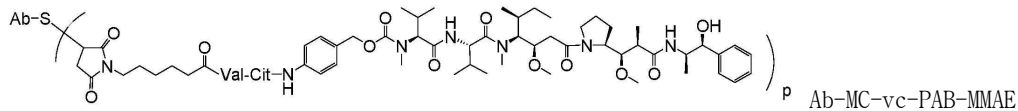
[0237] 3. 모노메틸아우리스타틴 (MMAE)

[0238] 본 발명의 면역접합체는 돌라스타틴의 합성 유사체인 아우리스타틴 (US 특허 번호 5635483; 5780588)에 접합된 항-CD79b 항체 또는 이의 단편을 포함한다. 돌라스타틴 및 아우리스타틴은 미소관 동역학, GTP 가수분해 및 핵과 세포 분열을 간섭하고 (Woyke et al (2001) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 45(12):3580-3584), 그리고 항암 (US 특허 번호 5663149) 및 항진균 활성 (Pettit et al (1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2961-2965)을 갖는 것으로 밝혀졌다. 아우리스타틴 약물 모이어티는 펩티드성 약물 모이어티의 N (아미노) 말단 또는 C (카르복실) 말단을 통해 항체에 부착될 수 있다 (WO 02/088172). 본 발명의 아우리스타틴은 아래에 나타나 있는 바와 같은 합성, 비-하전된, N 말단 연결된 모노메틸아우리스타틴 (MMAE) 펜타펩티드이다.



[0240] 항-CD79b 항체 또는 이의 단편, 다양한 링커 성분을 갖는 링커 및 MMAE를 포함하는 화학식 I의 항-CD79b 면역접합체는 하기의 약어와 함께 아래에 도시된다 (여기서 "Ab"는 항-CD79b 항체 또는 이의 단편이고; p는 1 내지 약 8 (예를 들면, 약 2 및 약 5 사이, 예컨대, 약 3.5)이고, "Val-Cit" 또는 "vc"는 발린-시트룰린 디펩티드이고;

그리고 "S"는 황 원자이다.



본원에서 황 연결된 면역접합체에 관한 일정한 구조적 설명에서 항체는 황 연결 특질만을 단순히 지시하고, 그리고 특정 황 원자가 복수의 링커-약물 모이어티를 보유한다는 것을 지시하지 않기 위해 "Ab-S"로서 표시된다는 점에 유의한다. 하기 구조의 왼쪽 괄호는 또한, 황 원자의 왼쪽에서, Ab와 S 사이에 배치될 수도 있는데, 이것은 본원에서 설명된 본 발명의 면역접합체에 관한 동등한 설명일 것이다.

4. 약물 부하

약물 부하는 화학식 I의 분자에서 항체마다 약물 모이어티의 평균 숫자인 p에 의해 표시된다. 약물 부하는 항체마다 1 내지 20개 약물 모이어티 (D)의 범위에서 변할 수 있다. 화학식 I의 ADCs는 1 내지 20개 범위의 약물 모이어티와 접합된 항체의 집합물을 포함한다. 접합 반응으로부터 ADC의 제조물에서 항체마다 약물 모이어티의 평균 숫자는 전통적인 수단, 예컨대, 질량 분광법, ELISA 검정 및 HPLC에 의해 특징화될 수 있다. p의 면에서 ADC의 정량적 분포 또한 결정될 수 있다. 일부 사례에서, 다른 약물 부하를 갖는 ADC로부터, p가 일정한 값인 균질한 ADC의 분리, 정제 및 특징화는 역상 HPLC 또는 전기이동과 같은 수단에 의해 달성될 수 있다. 화학식 I 항체-약물 접합체의 제약학적 제제는 따라서, 항체들이 1, 2, 3, 4개, 또는 그 이상의 약물 모이어티에 연결되는 이런 접합체의 이질성 혼합물일 수 있다.

일부 항체-약물 접합체의 경우에, p는 항체 상에서 부착 부위의 숫자에 의해 제한될 수 있다. 예를 들면, 본원에서 제공된 구체예의 경우에서와 같이, 부착이 시스테인 티올인 경우에, 항체는 단지 하나 또는 여러 개의 시스테인 티올 기를 가질 수 있거나, 또는 단지 하나 또는 여러 개의 충분히 반응성 티올 기를 가질 수 있고, 이를 통해 링커가 부착될 수 있다. 일정한 구체예에서, 더욱 높은 약물 부하, 예를 들면, $p > 5$ 는 일정한 항체-약물 접합체의 응집, 불용성, 독성, 또는 세포 투과성의 상실을 유발할 수 있다. 일정한 구체예에서, 본 발명의 ADC에 대한 약물 부하는 1 내지 약 8; 약 2 내지 약 6; 약 3 내지 약 5, 또는 약 3.5의 범위에 있다. 실제로, 일정한 ADCs의 경우에, 항체마다 약물 모이어티의 최적 비율은 8 이하일 수 있고, 그리고 약 2 내지 약 5일 수 있는 것으로 밝혀졌다. 참조: US 2005-0238649 A1.

일정한 구체예에서, 이론적 최대치보다 적은 약물 모이어티가 접합 반응 동안 항체에 접합된다. 항체는 아래에 논의된 바와 같이, 예를 들면, 약물-링커 중간물 또는 링커 시약과 반응하지 않는 리신 잔기를 내포할 수 있다. 일반적으로, 항체는 약물 모이어티에 연결될 수 있는 많은 자유와 반응성 시스테인 티올 기를 내포하지 않는다; 실제로 항체 내에 대부분의 시스테인 티올 잔기는 디설피드 다리로서 존재한다. 일정한 구체예에서, 항체는 부분적인 또는 완전한 환원 조건 하에, 환원제, 예컨대, 디티오프레이톨 (DTT) 또는 트리카르보닐에틸포스핀 (TCEP)으로 환원되어, 반응성 시스테인 티올 기가 산출될 수 있다. 일정한 구체예에서, 항체는 반응성 친핵성 기, 예컨대, 리신 또는 시스테인을 드러내기 위해 변성 조건에 종속된다.

ADC의 부하 (약물/항체 비율)는 상이한 방식으로, 예를 들면, (i) 항체에 비하여 약물-링커 중간물 또는 링커 시약의 몰 과잉을 제한함으로써, (ii) 접합 반응 시간 또는 온도를 제한함으로써, 그리고 (iii) 시스테인 티올 변형을 위한 부분적인 또는 제한적인 환원 조건에 의해 제어될 수 있다.

하나 이상의 친핵성 기가 약물-링커 중간물 또는 링커 시약, 그 이후에 약물 모이어티 시약과 반응하는 경우에, 결과의 산물은 항체에 부착된 하나 또는 그 이상의 약물 모이어티의 분포를 갖는 ADC 화합물의 혼합물인 것으로 이해되어야 한다. 항체마다 약물의 평균 숫자는 항체에 대해 특이적이고 약물에 대해 특이적인 이중 ELISA 항체 검정에 의해 혼합물로부터 계산될 수 있다. 개별 ADC 분자는 질량 분광법에 의해 혼합물에서 확인되고 HPLC, 예를 들면, 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다 (참조: 예를 들면, McDonagh et al (2006) Prot. Engr. Design & Selection 19(7):299-307; Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Hamblett, K.J., et al. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C., et al. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004). 일정한 구체예에서, 단일 부하 값을 갖는 균질한 ADC는 전기이동 또는 크로마토

그래피에 의해 접합 혼합물로부터 분리될 수 있다.

[0249] **5. 면역접합체를 제조하는 예시적인 방법**

[0250] 화학식 I의 ADC는 (1) 공유 결합을 통해 Ab-L을 형성하기 위한 항체의 친핵성 기의 이가 링커 시약과의 반응, 그 이후에 약물 모이어티 D와의 반응; 및 (2) 공유 결합을 통해 D-L을 형성하기 위한 약물 모이어티의 친핵성 기의 이가 링커 시약과의 반응, 그 이후에 항체의 친핵성 기와의 반응을 포함하는, 당업자에게 공지된 유기화학 반응, 조건 및 시약을 이용하여 여러 루트에 의해 제조될 수 있다. 후자 루트를 통해 화학식 I의 ADC를 제조하기 위한 예시적인 방법은 US 2005-0238649 A1에서 설명되는데, 이것은 명시적으로 본원에서 참조로서 편입된다.

[0251] 항체 상에서 친핵성 기는 (i) N 말단 아민 기, (ii) 측쇄 아민 기, 예를 들면, 리신, (iii) 측쇄 티올 기, 예를 들면, 시스테인, 그리고 (iv) 항체가 글리코실화되는 당 히드록실 또는 아미노 기를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 아민, 티올 및 히드록실 기는 친핵성이고, 그리고 반응하여 (i) 활성 에스테르, 예컨대, NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트 및 산 할로겐화물; (ii) 알킬과 벤질 할로겐화물, 예컨대, 할로아세트아미드; (iii) 알데히드, 케톤, 카르복실 및 말레이미드 기를 비롯한, 링커 모이어티 및 링커 시약 상에서 친전자성 기와 공유 결합을 형성할 수 있다. 일정한 항체는 환원성 사슬간 디설피드, 다시 말하면, 시스테인 다리를 갖는다. 항체는 이러한 항체가 완전하게 또는 부분적으로 환원되도록, 환원제, 예컨대, DTT (디티오프레이트) 또는 트리카르보닐에틸포스핀 (TCEP)으로 처리에 의해 링커 시약과의 접합에 대해 반응성으로 만들어질 수 있다. 각 시스테인 다리는 따라서, 이론적으로, 2개의 반응성 티올 친핵체를 형성할 것이다. 리신 잔기의 변형을 통해, 예를 들면, 리신 잔기를 2-이미노티올란 (트라우트 시약)과 반응시켜, 아민의 티올로의 전환을 유발함으로써 추가 친핵성 기가 항체 내로 도입될 수 있다. 1개, 2개, 3개, 4개 또는 그 이상의 시스테인 잔기를 도입함으로써 (예를 들면, 하나 또는 그 이상의 비선택적 시스테인 아미노산 잔기를 포함하는 변이체 항체를 제조함으로써) 반응성 티올 기가 항체 내로 도입될 수 있다.

[0252] 본 발명의 항체-약물 접합체는 항체 상에서 친전자성 기, 예컨대, 알데히드 또는 케톤 카르보닐 기 및 링커 시약 또는 약물 상에서 친핵성 기 사이의 반응에 의해 또한 생산될 수 있다. 링커 시약 상에서 유용한 친핵성 기는 히드라지드, 옥심, 아미노, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실산염, 그리고 아릴히드라지드를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 한 구체예에서, 항체는 링커 시약 또는 약물 상에서 친핵성 치환체와 반응할 수 있는 친전자성 모이어티가 도입되도록 변형된다. 다른 구체예에서, 글리코실화된 항체의 당이 예를 들면, 과요오드산염 산화 시약으로 산화되어, 링커 시약 또는 약물 모이어티의 아민 기와 반응할 수 있는 알데히드 또는 케톤 기가 형성될 수 있다. 결과의 이민 슈프 염기 기는 안정된 연쇄를 형성할 수 있거나, 또는 예를 들면, 수소화붕소 시약에 의해 환원되어 안정된 아민 연쇄를 형성할 수 있다. 한 구체예에서, 글리코실화된 항체의 탄수화물 부분의 갈락토오스 옥시다아제 또는 나트륨 메타과요오드산염 중에서 어느 한 가지와의 반응은 약물 상에서 적합한 기와 반응할 수 있는, 항체 내에 카르보닐 (알데히드 및 케톤) 기를 산출할 수 있다 (Hermanson, Bioconjugate Techniques). 다른 구체예에서, N 말단 세린 또는 트레오닌 잔기를 내포하는 항체가 나트륨 메타과요오드산염과 반응하여, 첫 번째 아미노산 대신에 알데히드의 생산을 유발할 수 있다 (Geoghegan & Strohm, (1992) Bioconjugate Chem. 3: 138-146; US 5362852). 이런 알데히드는 약물 모이어티 또는 링커 친핵체와 반응될 수 있다.

[0253] 약물 모이어티 상에서 친핵성 기는 반응하여 (i) 활성 에스테르, 예컨대, NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트 및 산 할로겐화물; (ii) 알킬과 벤질 할로겐화물, 예컨대, 할로아세트아미드; (iii) 알데히드, 케톤, 카르복실 및 말레이미드 기를 비롯한, 링커 모이어티 및 링커 시약 상에서 친전자성 기와 공유 결합을 형성할 수 있는 아민, 티올, 히드록실, 히드라지드, 옥심, 히드라진, 티오세미카르바존, 히드라진 카르복실산염 및 아릴히드라지드 기를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0254] 본 발명의 화합물은 상업적으로 가용한 하기의 교차연결제 시약으로 제조된 ADC를 명시적으로 예기하지만 이것에 한정되지 않는다: BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술포-EMCS, 술포-GMBS, 술포-KMUS, 술포-MBS, 술포-SIAB, 술포-SMCC 및 술포-SMPB, 그리고 SVSB (숙신이미딜-(4-비닐술포)벤조산염) (예를 들면, Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A로부터; 참조: 페이지 467-498, 2003-2004 Applications Handbook and Catalog.

[0255] 항체 및 세포독성 작용제를 포함하는 면역접합체 또한, 다양한 이중기능성 단백질 연계 작용제, 예컨대, N-숙신이미딜-3-(2-피리디닐디티오) 프로피온산염 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 시클로헥산-1-카르복실산염 (SMCC), 이미노티올란 (IT), 이미노에스테르의 이중기능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디피메이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미딜 수베르산염), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예

컨대, 비스 (p-아지도벤조일) 헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트), 그리고 비스-활성 플루오르 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠)을 이용하여 만들어질 수 있다. 예를 들면, 리신 면역독소는 Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)에서 설명된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지화된 1-이소티오시아나토벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성뉴클레오타이드의 접합을 위한 예시적인 킬레이 트화제이다. 참조: W094/11026.

[0256] B. 계면활성제

[0257] 본 발명은 항-CD79b 면역접합체 및 계면활성제를 포함하는 조성물을 제공한다. 일정한 구체예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 (예를 들면, 폴리소르베이트 20 및 폴리소르베이트 80); 폴록사머 (예를 들면, 폴록사머 188); N-옥틸-β-D 글루코피라노시드 (OG); 트리톤; 황산도데실나트륨 (SDS); 라우릴황산나트륨; 나트륨 옥틸 글리코시드; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-술포베타인; 라우릴-, 미리스틸-, 리놀레일- 또는 스테아릴-사르코신; 리놀레일-, 미리스틸- 또는 세틸-베타인; 라우로아미도프로필-, 코크아미도프로필-, 리놀레아미도프로필-, 미리스타아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필-베타인 (예를 들면, 라우로아미도프로필); 미리스타아미도프로필-, 팔미도프로필- 또는 이소스테아르아미도프로필-디메틸아민; 나트륨 메틸 코코일- 또는 이나트륨 메틸 올레일-타우레이트; MONAQUATM 계열 (Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.); 폴리에틸 글리콜, 폴리프로필 글리콜, 에틸렌 및 프로필렌 글리콜의 공중합체, 예컨대, 플루로닉 또는 PF68; 또는 이들의 임의의 조합이다.

[0258] 일부 구체예에서, 본원에서 계면활성제는 비이온성이다. 일정한 예시적인 구체예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20 (PS20), 폴리소르베이트 80 (PS80), 폴록사머 188 (P188), N-옥틸-β-D 글루코피라노시드 (OG), 그리고 이들의 조합으로 구성된 군에서 선택된다. 특정한 구체예에서, 계면활성제는 PS20이다. 다른 구체예에서, 본원에서 계면활성제는 PS80이다.

[0259] 일정한 구체예에서, 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.01% w/v (다시 말하면, 0.1 mg/ml) 및 약 0.20% w/v (다시 말하면, 2.0mg/ml)의 농도로 존재한다. 일정한 구체예에서, 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.01% w/v (다시 말하면, 0.1 mg/ml), 적어도 약 0.02% w/v (다시 말하면, 0.2 mg/ml), 적어도 약 0.03% w/v (다시 말하면, 0.3 mg/ml), 적어도 약 0.04% w/v (다시 말하면, 0.4 mg/ml), 적어도 약 0.05% w/v (다시 말하면, 0.5 mg/ml), 적어도 약 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml), 적어도 약 0.07% w/v (다시 말하면, 0.7 mg/ml), 적어도 약 0.08% w/v (다시 말하면, 0.8 mg/ml), 적어도 약 0.09% w/v (다시 말하면, 0.9 mg/ml), 적어도 약 0.10% w/v (다시 말하면, 1 mg/ml), 적어도 약 0.11% w/v (다시 말하면, 1.1 mg/ml), 적어도 약 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml), 적어도 약 0.13% w/v (다시 말하면, 1.3 mg/ml), 적어도 약 0.14% w/v (다시 말하면, 1.4 mg/ml), 적어도 약 0.15% w/v (다시 말하면, 1.5 mg/ml), 적어도 약 0.16% w/v (다시 말하면, 1.6 mg/ml), 적어도 약 0.17% w/v (다시 말하면, 1.7 mg/ml), 적어도 약 0.18% w/v (다시 말하면, 1.8 mg/ml), 적어도 약 0.19% w/v (다시 말하면, 1.9 mg/ml), 또는 적어도 약 0.20% w/v (다시 말하면, 2.0mg/ml)뿐만 아니라 이들 값의 임의의 중간 범위의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 다른 특정한 구체예에서, 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 액체 제약학적 조성물이다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 30℃에서 보관 시에 적어도 약 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 중에서 한 가지 동안, 또는 2℃-8℃에서 보관 시에 적어도 약 24, 48 또는 72 시간 중에서 한 가지 동안 안정된다.

[0260] 일정한 구체예에서, 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.01% w/v (다시 말하면, 0.1 mg/ml) 및 약 0.20% w/v (다시 말하면, 2.0mg/ml)의 농도로 존재한다. 일정한 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 0.01% w/v, 적어도 0.02% w/v, 적어도 0.03% w/v, 적어도 0.04% w/v, 적어도 0.05% w/v, 적어도 0.06% w/v, 적어도 0.07% w/v, 적어도 0.08% w/v, 적어도 0.09% w/v, 적어도 0.10% w/v, 적어도 0.11% w/v, 적어도 0.12% w/v, 적어도 0.13% w/v, 적어도 0.14% w/v, 적어도 0.15% w/v, 적어도 0.16% w/v, 적어도 0.17% w/v, 적어도 0.18% w/v, 적어도 0.19% w/v, 또는 적어도 0.20% w/v뿐만 아니라 이들 값의 임의의 중간 범위의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 0.06% w/v의 농도로 존재한다. 다른 특정한 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 0.12% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물은 동결 건조된 케이크이다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성

물은 유리 바이알에서 내포된다.

- [0261] 일정한 구체예에서, 액체 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.1 내지 약 2.0 mg/ml의 농도로 존재한다. 일정한 구체예에서, 액체 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 또는 2.0 mg/ml 중에서 한 가지뿐만 아니라 이들 값의 임의의 중간 범위의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 액체 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 약 0.6% mg/ml의 농도로 존재한다. 다른 특정한 구체예에서, 액체 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 1.2 mg/ml의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 동결 건조된 케이크)로부터 재구성된다 (예를 들면, SWFI를 이용하여 재구성된다). 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 유리 바이알에서 내포된다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 30℃에서 보관 시에 적어도 약 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 중에서 한 가지 동안, 또는 2℃-8℃에서 보관 시에 적어도 약 24, 48 또는 72 시간 중에서 한 가지 동안 안정된다.
- [0262] 예시적인 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 0.06% w/v의 농도로 존재한다. 다른 예시적인 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 0.12% w/v의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물은 동결 건조된 케이크이다. 일부 구체예에서, 동결 건조된 제약학적 조성물은 유리 바이알에서 내포된다.
- [0263] 예시적인 구체예에서, 액체 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 0.6 mg/ml의 농도로 존재한다. 다른 예시적인 구체예에서, 액체 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 1.2 mg/ml의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 동결 건조된 조성물 (예컨대, 동결 건조된 케이크)로부터 재구성된다 (예를 들면, SWFI를 이용하여 재구성된다). 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 유리 바이알에서 내포된다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 30℃에서 보관 시에 적어도 약 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 중에서 한 가지 동안, 또는 2℃-8℃에서 보관 시에 적어도 약 24, 48 또는 72 시간 중에서 한 가지 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 30℃에서 보관 시에 적어도 약 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 중에서 한 가지 동안, 또는 2℃-8℃에서 보관 시에 적어도 약 24, 48 또는 72 시간 중에서 한 가지 동안 안정된다.
- [0264] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서 계면활성제는 적어도 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 재구성된 조성물 (예를 들면, 동결 건조된 조성물로부터 SWFI를 이용하여 재구성됨)이다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 유리 바이알에서 내포된다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 30℃에서 보관 시에 적어도 약 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 중에서 한 가지 동안, 또는 2℃-8℃에서 보관 시에 적어도 약 24, 48 또는 72 시간 중에서 한 가지 동안 안정된다.
- [0265] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 10 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 재구성된 조성물 (예를 들면, 동결 건조된 조성물로부터 SWFI를 이용하여 재구성됨)이다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 유리 바이알에서 내포된다.
- [0266] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 적어도 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 재구성된 조성물 (예를 들면, 동결 건조된 조성물로부터 SWFI를 이용하여 재구성됨)이다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 유리 바이알에서 내포된다.
- [0267] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서 계면활성제 (예를 들면, PS20)는 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물에서 항-CD79b 면역접합체는 20 mg/ml의 농도로 존재하고, 그리고 제약학적 조성물에서

서 계면활성제는 0.12% w/v (다시 말하면, 1.2 mg/ml)의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 액체 제약학적 조성물은 30℃에서 보관 시에 적어도 약 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24 시간 중에서 한 가지 동안, 또는 2℃-8℃에서 보관 시에 적어도 약 24, 48 또는 72 시간 중에서 한 가지 동안 안정된다.

[0268] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 정맥내 투여에 적합한 액체 조성물이다. 일부 구체예에서, 투여에 적합한 액체 조성물은 약 0.0432 및 약 0.162 mg/ml 계면활성제 (예를 들면, 폴리소르베이트 20)를 포함한다. 일부 구체예에서, 액체 조성물은 약 0.72 mg/ml 및 약 2.7 mg/ml 사이의 폴라투주맙 베도틴을 포함한다. 일부 구체예에서, 정맥내 투여에 적합한 액체 조성물은 약 0.72 mg/ml 폴라투주맙 베도틴 및 약 0.0432 mg/ml 폴리소르베이트 20을 포함한다. 일부 구체예에서, 정맥내 투여에 적합한 액체 조성물은 약 2.7 mg/ml 폴라투주맙 베도틴 및 약 0.162 mg/ml 폴리소르베이트 20을 포함한다.

[0269] C. 완충제

[0270] 본 발명에 따라서, 완충제를 포함하는 제약학적 조성물이 제공된다. 이론에 한정됨 없이, 완충액의 이용은 조성물의 제조, 보관 및 이용 동안 제약학적 조성물의 pH를 유지한다. 완충제의 무제한적 실례는 히스틴, 숙신산염, 숙신산나트륨, 중탄산나트륨, 염화칼슘, 황산마그네슘, 제일인산나트륨, 인산이나트륨, 제일인산칼륨, 인산이칼륨, [트리스(히드록시메틸)메틸아미노]프로판술포산 (TAPS), 2-(비스(2-히드록시에틸)아미노)아세트산 (비신), 2-아미노-2-(히드록시메틸)프로판-1,3-디올 (트리스), N-(2-히드록시-1,1-비스(히드록시메틸)에틸)글리신 (트리신), 3-[[1,3-디히드록시-2-(히드록시메틸)프로판-2-일]아미노]-2-히드록시프로판-1-술포산 (TAPSO), 2-[4-(2-히드록시에틸)피페라진-1-일]에탄술포산 (HEPES), 2-[[1,3-디히드록시-2-(히드록시메틸)프로판-2-일]아미노]에탄술포산 (TES), 1,4-피페라진디에탄술포산 (PIPES), 디메틸아르신산, 2-모르폴린-4-일에탄술포산 (MES), 또는 인산염 완충된 식염수 (PBS)를 포함한다. 다른 적합한 완충제는 염에서 아세트산, 염에서 구연산, 염에서 붕산 및 염에서 인산일 수 있다.

[0271] 본 발명의 예시적인 구체예에서, 완충제는 히스티딘 완충액 또는 숙신산염 완충액이다. 특정한 구체예에서, 숙신산염 완충액은 숙신산나트륨 완충액이다.

[0272] 일부 구체예에서, 완충제는 약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 완충제는 약 10 mM, 약 11 mM, 약 12 mM, 약 13 mM, 약 14 mM, 약 15 mM, 약 16 mM, 약 17 mM, 약 18 mM, 약 19 mM, 약 20 mM, 약 21 mM, 약 22 mM, 약 23 mM, 약 24 mM, 약 25 mM, 약 26 mM, 약 27 mM, 약 28 mM, 약 29 mM, 약 30 mM, 약 35 mM, 약 40 mM, 약 45 mM, 약 50 mM, 약 55 mM, 약 60 mM, 약 65 mM, 약 70 mM, 약 75 mM, 약 80 mM, 약 85 mM, 약 90 mM, 약 95 mM, 약 100 mM, 약 105 mM, 약 110 mM, 약 115 mM, 약 120 mM, 약 125 mM, 약 130 mM, 약 135 mM, 약 140 mM, 약 145 mM, 약 150 mM, 약 155 mM, 약 160 mM, 약 165 mM, 약 170 mM, 약 175 mM, 약 180 mM, 약 185 mM, 약 190 mM, 약 195 mM, 또는 약 200 mM의 농도로 존재한다.

[0273] 다른 특정한 구체예에서, 완충제는 10 mM, 11 mM, 12 mM, 13 mM, 14 mM, 15 mM, 16 mM, 17 mM, 18 mM, 19 mM, 20 mM, 21 mM, 22 mM, 23 mM, 24 mM, 25 mM, 26 mM, 27 mM, 28 mM, 29 mM, 30 mM, 35 mM, 40 mM, 45 mM, 50 mM, 55 mM, 60 mM, 65 mM, 70 mM, 75 mM, 80 mM, 85 mM, 90 mM, 95 mM, 100 mM, 105 mM, 110 mM, 115 mM, 120 mM, 125 mM, 130 mM, 135 mM, 140 mM, 145 mM, 150 mM, 155 mM, 160 mM, 165 mM, 170 mM, 175 mM, 180 mM, 185 mM, 약 190 mM, 195 mM, 또는 200 mM의 농도로 존재한다.

[0274] 본 발명의 예시적인 구체예에서, 숙신산나트륨 완충액은 약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도로 존재한다. 한 구체예에서, 숙신산나트륨 완충액은 약 10 mM의 농도로 존재한다. 다른 구체예에서, 숙신산나트륨 완충액은 10 mM의 농도로 존재한다.

[0275] 일부 구체예에서, 본 발명의 조성물은 약 5.0 내지 약 6.0의 pH를 갖는다. 특정한 구체예에서, 완충액은 약 5.0, 약 5.1, 약 5.2, 약 5.3, 약 5.4, 약 5.5, 약 5.6, 약 5.7, 약 5.8, 약 5.9, 또는 약 6.0의 pH를 갖는다. 다른 특정한 구체예에서, 완충액은 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 또는 6.0의 pH를 갖는다.

[0276] 예시적인 구체예에서, 본 발명의 조성물은 약 5.3의 pH를 갖는다. 다른 예시적인 구체예에서, 본 발명의 조성물은 5.3의 pH를 갖는다.

[0277] D. 당

[0278] 본 발명에 따라서, 당을 포함하는 제약학적 조성물이 제공된다. 이론에 한정됨 없이, 당은 제약학적 조성물의 한랭보호를 증진하고, 따라서 제약학적 조성물의 응집을 예방하고 이의 화학적 및 물리적 안정성을 유지하는 기

능을 한다. 일정한 구체예에서, 당은 글루코오스, 프룩토오스, 수크로오스, 트레할로스, 아르기닌, 글리세린, 프롤린, 텍스트란, 텍스트란 40, 글리세롤, 만니톨, 또는 소르비톨이다.

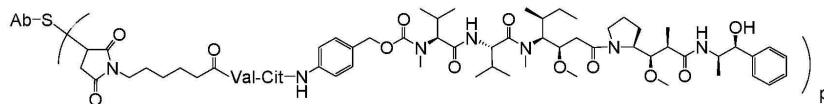
[0279] 일부 구체예에서, 당은 수크로오스, 만니톨, 소르비톨, 글리세롤, 텍스트란 40 및 트레할로스로 구성된 군에서 선택된다. 예시적인 구체예에서, 당은 수크로오스이다.

[0280] 일부 구체예에서, 당은 약 50 mM 내지 약 300 mM의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 완충제는 약 50 mM, 약 60 mM, 약 70 mM, 약 80 mM, 약 90 mM, 약 100 mM, 약 110 mM, 약 120 mM, 약 130 mM, 약 140 mM, 약 150 mM, 약 160 mM, 약 170 mM, 약 180 mM, 약 190 mM, 약 200 mM, 약 210 mM, 약 220 mM, 약 230 mM, 약 240 mM, 약 250 mM, 약 260 mM, 약 270 mM, 약 280 mM, 약 290 mM, 또는 약 300 mM의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 당은 약 100 mM 내지 약 260 mM의 농도로 존재한다.

[0281] 일부 구체예에서, 당은 50 mM 내지 300 mM의 농도로 존재한다. 특정한 구체예에서, 완충제는 50 mM, 60 mM, 70 mM, 80 mM, 90 mM, mM, 110 mM, 120 mM, 130 mM, 140 mM, 150 mM, 160 mM, 170 mM, 180 mM, 190 mM, 200 mM, 210 mM, 220 mM, 230 mM, 240 mM, 250 mM, 260 mM, 270 mM, 280 mM, 290 mM, 또는 300 mM의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 당은 100 mM 내지 260 mM의 농도로 존재한다.

[0282] 본 발명의 예시적인 구체예에서, 수크로오스는 약 120 mM의 농도로 존재한다. 다른 예시적인 구체예에서, 수크로오스는 120 mM의 농도로 존재한다.

[0283] 다른 양상에서, 본 발명은 10 mM 숙신산나트륨 완충액, 0.12% w/v의 폴리소르베이트 20 및 120 mM 수크로오스에서 20 mg/ml의 항-CD79b 면역접합체를 포함하는 액체 조성물의 동결 건조에 의해 생산되는 제약학적 조성물을 제공하는데, 여기서 상기 액체 조성물은 5.3의 pH를 갖고, 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 갖고:



[0284]

[0285] 여기서:

[0286] Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSVDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열; 및 (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 1 내지 약 8 (예를 들면, 약 2 및 약 5 사이, 예컨대, 약 3.5)의 값이다.

[0287] 본 발명의 일부 구체예에서, 항-CD79b 항체는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH) 및 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 일부 구체예에서, 중쇄는 서열 번호: 9의 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 경쇄는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함한다.

[0288] E. 안정성

[0289] 일부 구체예에서, 액체 상태 또는 동결 건조된 형태에서 제약학적 조성물의 물리적 안정성, 화학적 안정성, 또는 생물학적 활성이 평가되거나 또는 예측된다. 당해 분야에서 공지되고 본원의 실시예에서 설명된 임의의 방법이 본 발명의 제약학적 조성물의 안정성과 생물학적 활성을 평가하는 데 이용될 수 있다. 예를 들면, 제약학적 조성물에서 항체의 안정성은 크기 배제 크로마토그래피 (SEC 또는 SE-HPLC), 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF), 펩티드 지도화, 적은 용적 광 차폐 (HIAC) 검정, 그리고 모세관 전기이동 (CE) 기술, 예컨대, CE-황산 도데실나트륨 (CE-SDS) 및 CE-글리칸 분석에 의해 예측될 수 있지만 이들에 한정되지 않는다. 일부 구체예에서, 안정된 제약학적 조성물 (또는 제제)은 보관, 예를 들면, 특정된 조건 (예컨대, 온도, 상대 습도, 잔류 수분, 광의 존재 또는 부재, 교반의 기간 이후에, 기타 등등) 하에 특정된 기간 또는 지속 기간 (예컨대, 수 시간, 수 일, 수개월, 수년, 기타 등) 동안 보관 시에, 그 안에 면역접합체가 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 본질적으로 유지하는 것이다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물 내에 존재하는 면역접합체는 만약 소정의 시점에서 면역접합체 (및/또는 면역접합체의 항체 모이어티, 예컨대, 항-CD79b 항체)의 생물학적 활성이 제약학적 산물에 대한 국가 또는 지역 규제 당국 (예를 들면, 미국의 연방 의약청 (FDA), 오스트레일리아의 의약품 관리국 (TGA), 유럽 연합의 유럽 의약품청 (EMA) 등)에 의해 용인된 범위 내에 있으면, 생물학

적으로 안정된다 (예를 들면, 생물학적 활성을 유지한다). 예를 들면, 면역접합체 (예컨대, 항-CD79b 항체를 포함하는 면역접합체) 또는 이런 면역접합체를 포함하는 제약학적 조성물의 생물학적 활성은 항원에 결합하는 능력 (예컨대, CD79b, 예를 들면, 인간 CD79b에 결합하는 항-CD79b 항체의 능력)에 의해 측정될 수 있다. 예를 들면, 표면 플라스몬 공명 (SPR), 방사면역검정 (RIA) 및 ELISA를 제한 없이 포함하는, 당해 분야에서 공지된 다수의 검정이 항체 결합 친화성 지수를 측정하는 데 이용될 수 있다. 부가적으로 또는 대안으로, 면역접합체 (예컨대, 항-CD79b 항체를 포함하는 면역접합체)의 생물학적 활성은 예를 들면, 시험관내 또는 생체내에서 세포 성장 및/또는 세포 증식을 저해하는 능력, 또는 예를 들면, 시험관내 또는 생체내에서 예정된 세포 사멸 (아포토시스)을 비롯한, 세포 사멸을 유도하는 능력에 의해 측정된다. 항-CD79b 항체 또는 항-CD79b 항체를 포함하는 면역접합체의 생물학적 활성을 측정하는 검정에 관한 추가 상세는 U.S. 특허 번호 8,088,387에서 제공되는데, 이의 내용은 본원에서 전체적으로 참조로서 편입된다.

[0290] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 광으로부터 보호될 때 -20℃에서 적어도 약 6 개월, 적어도 약 8 개월, 적어도 약 10 개월, 적어도 약 12 개월, 적어도 약 14 개월, 적어도 약 16 개월, 적어도 약 18 개월, 적어도 약 20 개월, 적어도 약 21 개월, 적어도 약 22 개월, 적어도 약 23 개월, 적어도 약 24 개월, 적어도 약 3 년, 적어도 약 4 년, 또는 적어도 약 5 년 동안 안정된다.

[0291] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 광으로부터 보호될 때 2℃ 내지 8℃ (예를 들면, 5℃ ± 3℃)에서 적어도 약 6 개월, 적어도 약 8 개월, 적어도 약 10 개월, 적어도 약 12 개월, 적어도 약 14 개월, 적어도 약 16 개월, 적어도 약 18 개월, 적어도 약 20 개월, 적어도 약 21 개월, 적어도 약 22 개월, 적어도 약 23 개월, 적어도 약 24 개월, 적어도 약 3 년, 적어도 약 4 년, 또는 적어도 약 5 년 동안 안정된다.

[0292] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 25℃ 내지 40℃에서 적어도 약 30 분, 적어도 약 60 분, 적어도 약 2 시간, 적어도 약 4 시간, 적어도 약 6 시간, 적어도 약 8 시간, 적어도 약 10 시간, 적어도 약 12 시간, 적어도 약 14 시간, 적어도 약 16 시간, 적어도 약 18 시간, 적어도 약 20 시간, 적어도 약 22 시간, 적어도 약 1 일, 적어도 약 2 일, 또는 적어도 약 3 일 동안 안정된다.

[0293] 예시적인 구체예에서, 조성물은 광으로부터 보호될 때 5℃ ± 3℃에서 적어도 약 48 개월의 안정성을 갖는다. 다른 예시적인 구체예에서, 조성물은 광으로부터 보호될 때 5℃ ± 3℃에서 약 48 개월의 안정성을 갖는다.

[0294] 일정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물의 동결 건조된 형태 (예를 들면, 동결 건조된 케이크)가 안정성에 대해 검사될 수 있다. 일부 구체예에서, 보관 조건 (5℃ ± 3℃ 및 광으로부터 보호됨) 하에, 동결 건조된 케이크는 구조, 컬러, 외관, 또는 수분 함량에서 임의의 유의미한 변화를 나타내지 않는다. 특정한 구체예에서, 동결 건조된 케이크는 보관 조건 하에 5% 이하의 수분 함량을 갖는다. 다른 특정한 구체예에서, 동결 건조된 케이크는 보관 조건 하에 절흔 없이 매끈하다. 본 발명의 일정한 구체예에서, 동결 건조된 케이크는 보관 조건 하에 적어도 약 48 개월 동안 안정된다.

[0295] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물의 안정성은 고성능 크기 배제 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 측정된다. 예시적인 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 측정될 때 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %)를 갖는다.

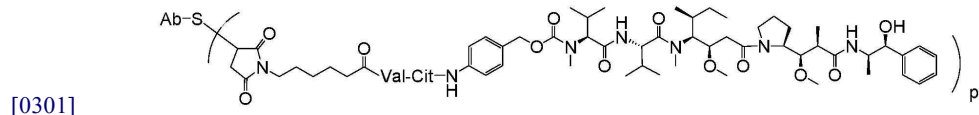
[0296] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)은 약 0.3% (w/w) 내지 약 3.2% (w/w)뿐만 아니라 이들 값의 임의의 중간 범위의 잔류 수분 함량 범위에 걸쳐 약 2℃ 및 약 8℃ 사이의 온도에서 보관될 때 적어도 약 44 개월 (예컨대, 약 30, 35, 40, 45, 50, 또는 55 개월 중에서 한 가지) 동안 안정된다. 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)은 약 0.3% (w/w) 내지 약 3.2% (w/w)뿐만 아니라 이들 값의 임의의 중간 범위의 잔류 수분 함량 범위에 걸쳐 약 25℃에서 보관될 때 적어도 약 7 개월 (예컨대, 약 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 8, 또는 10 개월 중에서 한 가지) 동안 안정된다.

[0297] 일부 구체예에서, 본원에서 제공된 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)은 (a) 약 17 및 약 23 mg/ml 사이의 단백질 농도, (b) 약 7 및 약 23 mM 사이의 숙신산염 농도, (c) 약 90 및 약 150 mM 사이의 수크로오스 농도, (d) 약 0.9 및 약 1.5 mg/ml 사이의 폴리소르베이트 20 농도, 그리고 (e) 약 4.95 및 약 5.65 사이의 pH에 걸쳐 건설하다. 일부 구체예에서, 상기 (a) 내지 (e) 중에서 한 가지 또는 그 이상을 포함하는 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)은 약 2℃ 및 약 8℃ 사이의 온도에서 적어도 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개월 중에서 한 가지까지 동안 안정된다.

[0298] G. 정맥내 투여용 조성물.

[0299] 본 발명은 정맥내 (IV) 투여에 적합한 제약학적 조성물 및 액체 조성물을 제공한다. 생체내 IV 투여에 이용되는 조성물은 무균이어야 한다. 이것은 제약학적 조성물의 제조에 앞서 또는 이후에, 무균 여과 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다. 일정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물은 주사용 무균수 (SWFI)로 재구성된다. 일부 구체예에서, 재구성된 조성물은 정맥내 (IV) 백에서 등장성 완충액 내로 더욱 희석된다.

[0300] 한 양상에서, 본 발명은 항-CD79b 면역접합체, 계면활성제, 숙신산염 완충액 및 당을 포함하는 제약학적 조성물을 제공하는데, 여기서 상기 제약학적 조성물은 물에서 재구성될 때, 약 10 mg/ml 내지 약 20 mg/ml의 농도에서 항-CD79b 면역접합체, 적어도 0.06% w/v (다시 말하면, 0.6 mg/ml)의 농도에서 계면활성제, 약 10 mM 내지 약 200 mM의 농도에서 숙신산염 완충액 및 약 100 mM 내지 약 260 mM의 농도에서 당을 포함하는 액체 제약학적 조성물을 형성하고, 여기서 상기 액체 제약학적 조성물은 5.3의 pH를 갖고, 그리고 여기서 상기 항-CD79b 면역접합체는 하기 화학식을 포함하고:



[0302] 여기서:

[0303] Ab는 항-CD79b 항체이고, 여기서 상기 항-CD79b 항체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 (a) KASQSDYEGDSFLN (서열 번호: 1)의 HVR-L1 서열; (b) AASNLES (서열 번호: 2)의 HVR-L2 서열; 및 (c) QQSNEPLT (서열 번호: 3)의 HVR-L3 서열을 포함하고; 여기서 상기 중쇄는 (a) GYTFSSYWIE (서열 번호: 4)의 HVR-H1 서열; (b) GEILPGGGDTNYNEIFKG (서열 번호: 5)의 HVR-H2 서열; 및 (c) TRRVPIRLDY (서열 번호: 6)의 HVR-H3 서열을 포함하고; Val은 발린이고; Cit는 시트룰린이고; 그리고 p는 약 1 내지 약 8 (예컨대, 약 2 및 약 5 사이, 예를 들면, 약 3.5)의 값이다.

[0304] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 SWFI에서 재구성된다 (1:1 질량:용적). 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 물에서 재구성될 때, 10 mM 숙신산나트륨 완충액, 0.12% w/v의 폴리소르베이트 20 및 120 mM 수크로오스에서 20 mg/ml의 항-CD79b면역접합체를 포함하는 액체 제약학적 조성물을 형성하고, 여기서 상기 액체 제약학적 조성물은 5.3의 pH를 갖는다.

[0305] 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 SWFI에서 재구성되고, 그리고 차후에 IV 백에서 등장성 완충액 내로 희석되는데, 여기서 IV 백에서 희석 시에 계면활성제 농도는 적어도 0.003% w/v이다. 한 구체예에서, IV 백에서 희석 시에 계면활성제 농도는 적어도 0.004% w/v이다. 예시적인 구체예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20이다. 일부 구체예에서, 당은 수크로오스이다. 특정한 구체예에서, 수크로오스는 120 mM의 농도로 존재한다. 일부 구체예에서, 숙신산염 완충액은 숙신산나트륨 완충액이다. 특정한 예시적인 구체예에서, 숙신산나트륨 완충액은 10 mM의 농도로 존재한다.

[0306] 일부 구체예에서, 물에서 재구성될 때, 본 발명의 제약학적 조성물의 안정성은 응집, pH, 혼탁도, 가시적인 빛/또는 현미경으로 보이는 입자의 숫자, 또는 자유 (예를 들면, 접합되지 않은) 약물의 양에 의해 계측된다. 일정한 구체예에서, UV 분광광도법, SE-HPLC, 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC), icIEF, 또는 HIAC, 또는 이들의 조합이 안정성을 평가하는 데 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 물에서 재구성될 때, 30 °C에서 약 1 일까지, 약 2 일까지, 또는 약 3 일까지의 안정성을 갖는다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 물에서 재구성될 때, 5°C ± 3°C에서 약 1 일까지, 약 2 일까지, 약 3 일까지, 약 4 일까지, 약 5 일까지, 6 일까지, 또는 약 7 일까지의 안정성을 갖는다.

[0307] 일정한 구체예에서, 물에서 재구성된 조성물의 안정성은 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 측정된다. 예시적인 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 측정될 때 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %)를 갖는다.

[0308] 일정하고 특정한 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 계측될 때 4.0 이하의 HMWS (%)를 갖는다. 일정하고 특정한 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 계측될 때 1.0 이하의 LMWS (%)를 갖는다. 일부 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 계측될 때 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %) 및 4.0 이하의 HMWS를 갖는다. 일부 구체예에서, 조성물은 SE-HPLC에 의해 계측될 때 적어도 95.0의 주요 피크 (면적 %), 4.0 이하의 HMWS (%) 및 1.0 이하의 LMWS (%)를 갖는다.

[0309] 일정한 구체예에서, 물에서 재구성된 조성물의 안정성은 영상화 모세관 등전위 초점 (icIEF)에 의해 계측된다.

의 IV 백에서 액체 조성물은 교반 조건 하에 안정된다. 일부 구체예에서, IV 백에서 등장성 완충액에서 용해된 본 발명의 액체 조성물은 30℃에서 약 1 시간까지, 약 2 시간까지, 약 3 시간까지, 약 4 시간까지, 약 5 시간까지, 약 6 시간까지, 약 7 시간까지, 또는 약 8 시간까지의 안정성을 갖는다. 일부 구체예에서, IV 백에서 등장성 완충액에서 용해된 본 발명의 액체 조성물은 25℃에서 약 8 시간까지, 약 9 시간까지, 약 10 시간까지, 약 12 시간까지, 약 14 시간까지, 약 16 시간까지, 약 18 시간까지, 약 20 시간까지, 약 22 시간까지, 또는 약 24 시간까지의 안정성을 갖는다. 일부 구체예에서, IV 백에서 등장성 완충액에서 용해된 본 발명의 액체 조성물은 5℃ ± 3℃에서 약 24 시간까지, 약 30 시간까지, 약 36 시간까지, 약 42 시간까지, 약 48 시간까지, 약 54 시간까지, 약 60 시간까지, 약 66 시간까지, 또는 약 72 시간까지의 안정성을 갖는다. 일정한 구체예에서, 등장성 완충액은 생리식염수이다.

[0321] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 주입을 위한 재구성된 용액 또는 희석된 용액 (예를 들면, 면역접합체 (예를 들면, 폴라투주맙 베도틴)를 포함하는, 주입을 위한 희석된 용액)은 무균이다.

[0322] III. 치료 방법

[0323] 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 예를 들면, 중앙 항원의 과다발현에 의해 특징화되는 다양한 증식성 장애를 치료하는 데 이용될 수 있는 것으로 예기된다. 예시적인 증식성 장애는 암이다. 암의 실례는 조혈 암 또는 혈액-관련된 암, 예컨대, 림프종, 백혈병, 골수종 또는 림프성 악성종양뿐만 아니라 비장의 암 및 림프절의 암, 그리고 또한 암종, 모세포종 및 육종을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 암의 더욱 특정한 실례는 예를 들면, 높은, 중간 및 낮은 등급 림프종 (B 세포 림프종, 예컨대, 예를 들면, 점막중-연관된-림프양 조직 B 세포 림프종 및 비호지킨 림프종 (NHL), 외투 세포 림프종, 버킷 림프종, 소형 림프성 림프종, 변연대 림프종, 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL), 여포성 림프종 (FL), 그리고 호지킨 림프종 및 T 세포 림프종 포함)을 비롯한 B-세포 증식성 장애 및 백혈병 (이차성 백혈병, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 예컨대, B 세포 백혈병 (CD5+ B 림프구), 골수성 백혈병, 예컨대, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 림프성 백혈병, 예컨대, 급성 림프모구성 백혈병 (ALL) 및 척수형성이상증 포함), 그리고 다른 혈액학적 및/또는 B 세포- 또는 T-세포-연관된 암을 포함한다. 다형핵 백혈구, 예컨대, 호염기구, 호산구, 호중구 및 단핵구, 수지상 세포, 혈소판, 적혈구, 그리고 자연 살해 세포를 비롯한 추가 조혈 세포의 암 또한 포함된다. 일정한 구체예에서, 본 발명의 증식성 장애는 재발성 암 또는 난치성 암이다.

[0324] 일정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 재발성 백혈병 또는 재발성 림프종을 치료하는 데 이용될 수 있다. 다른 특정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 난치성 백혈병 또는 난치성 림프종을 치료하는 데 이용될 수 있다.

[0325] 한 양상에서, 본 발명은 치료가 필요한 환자에서 증식성 장애를 치료하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 본원에서 설명된 제약학적 조성물 또는 액체 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함한다.

[0326] 일부 구체예에서, 치료되는 암은 B 세포 증식성 장애이다. 특정한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 림프종, 골수종, 비호지킨 림프종 (NHL), 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL), 공격성 NHL, 무통성 림프종, 여포성 림프종 (FL), 재발성 공격성 NHL, 재발성 무통성 NHL, 재발성 NHL, 난치성 NHL, 난치성 무통성 NHL, 만성 림프성 백혈병 (CLL), 소형 림프성 림프종, 백혈병, 모양 세포성 백혈병 (HCL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 그리고 외투 세포 림프종으로 구성된 군에서 선택된다.

[0327] 본 발명의 예시적인 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 비호지킨 림프종 (NHL)이다. 예시적인 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL)이다. 특정한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 재발성 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL)이다. 다른 특정한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 난치성 미만성 대 B 세포 림프종 (DLBCL)이다.

[0328] 예시적인 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 재발성 NHL 또는 난치성 NHL이다. 또 다른 예시적인 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 여포성 림프종이다.

[0329] 암은 본 발명의 항-CD79b 면역접합체가 암 세포에 결합할 수 있도록, CD79b-발현 세포를 포함할 수 있다. 암에서 CD79b 발현을 결정하기 위해, 다양한 진단적/예후적 검정이 가용하다. 한 구체예에서, CD79b 과다발현은 IHC에 의해 분석될 수 있다. 중앙 생검으로부터 파라핀 포매된 조직 절편은 IHC 검정에 종속되고, 그리고 염색의 정도에 대하여 CD79b 단백질 염색 강도 기준이 부여되고 중앙 세포의 비율이 조사될 수 있다.

[0330] 장애의 예방 또는 치료를 위한, ADC의 적절한 용량은 앞서 규정된 바와 같은, 치료되는 질환의 유형, 질환의 심각도와 코스, 분자가 예방적 또는 치료적 목적으로 투여되는 지의 여부, 이전 요법, 환자의 임상 병력 및 항체

에 대한 반응, 그리고 주치의의 재량에 의존할 것이다. 상기 분자는 적합하게는, 한꺼번에 또는 일련의 치료에 걸쳐 환자에게 투여된다. 질환의 유형과 심각도에 따라서, 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 15 mg/kg (예를 들면, 0.1-20 mg/kg)의 분자가 예를 들면, 1회 또는 그 이상의 별개의 투여, 또는 연속 주입에 의하는 지에 상관없이, 환자에게 투여를 위한 초기 후보 용량이다. 전형적인 일일량은 전술된 인자에 따라서, 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 또는 그 이상의 범위일 수도 있다. 환자에게 투여되는 ADC의 예시적인 용량은 환자 체중의 약 0.1 내지 약 10 mg/kg 의 범위 안에 있다. 수 일 또는 그 이상에 걸쳐 반복된 투여의 경우에, 상태에 따라서, 치료는 질환 증상의 원하는 억제가 발생할 때까지 지속된다.

[0331] 증식성 장애를 치료하거나 예방하기 위해, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 정맥내 주입을 통해 투여된다. 주입을 통해 투여되는 용량은 투약마다, 일반적으로 총 1, 2, 3 또는 4회 투약을 위해 주당 1회 투약마다 약 1 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 10,000 $\mu\text{g/m}^2$ 의 범위 안에 있다. 대안으로, 용량 범위는 약 1 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 1000 $\mu\text{g/m}^2$, 약 1 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 800 $\mu\text{g/m}^2$, 약 1 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 600 $\mu\text{g/m}^2$, 약 1 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 400 $\mu\text{g/m}^2$, 약 10 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 500 $\mu\text{g/m}^2$, 약 10 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 300 $\mu\text{g/m}^2$, 약 10 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 200 $\mu\text{g/m}^2$, 그리고 약 1 $\mu\text{g/m}^2$ 내지 약 200 $\mu\text{g/m}^2$ 이다. 용량은 질환의 증상을 완화하거나 또는 경감하기 위해 하루 1회, 주 1회, 주당 복수 회, 하지만 하루 1 회 이하, 월마다 복수 회, 하지만 하루 1 회 이하, 월마다 복수 회, 하지만 주 1회 이하, 월 1회, 또는 간헐적으로 투여될 수 있다. 투여는 치료되는 림프종, 백혈병의 종양 또는 증상의 관해 때까지 개시된 간격 중에서 어느 것에서 계속될 수 있다. 투여는 증상의 관해 또는 경감이 달성된 후 계속될 수 있는데, 여기서 이런 관해 또는 경감은 이런 지속된 투여에 의해 연장된다.

[0332] 암에서 CD79b 발현을 결정하기 위해, 다양한 검출 검정이 가용하다. 한 구체예에서, CD79b 폴리펩티드 과다발현은 면역조직화학 (IHC)에 의해 분석될 수 있다. 종양 생검으로부터 파라핀 포매된 조직 절편은 IHC 검정에 종속되고, 그리고 하기와 같이 CD79b 단백질 염색 강도 기준이 부여될 수 있다:

[0333] **점수 0** - 염색이 관찰되지 않거나, 또는 종양 세포의 10% 이하에서 막 염색이 관찰된다.

[0334] **점수 1+** - 종양 세포의 10% 이상에서 희미한/거우 감지할 수 있는 막 염색이 검출된다. 이들 세포는 단지 그들의 막의 부분에서만 염색된다.

[0335] **점수 2+** - 종양 세포의 10% 이상에서 약한 내지 중간 정도의 완전한 막 염색이 관찰된다.

[0336] **점수 3+** - 종양 세포의 10% 이상에서 중간 내지 강한 완전한 막 염색이 관찰된다.

[0337] CD79b 폴리펩티드 발현에 대해 0 또는 1+ 점수를 갖는 이들 종양은 CD79b를 과다발현하지 않는 것으로 특징화될 수 있고, 반면 2+ 또는 3+ 점수를 갖는 이들 종양은 CD79b를 과다발현하는 것으로 특징화될 수 있다.

[0338] 대안으로 또는 부가적으로, 종양에서 CD79b 과다발현의 정도 (만약 있다면)를 결정하기 위해, FISH 검정, 예컨대, INFORM® (Ventana, Arizona에 의해 판매됨) 또는 PATHVISION® (Vysis, Illinois)이 포르말린-고정된, 파라핀 포매된 종양 조직에서 실행될 수 있다.

[0339] CD79b 과다발현 또는 증폭은 예를 들면, 검출되는 분자에 결합하고 검출가능한 표지 (예를 들면, 방사성동위원소 또는 형광 표지)로 태깅되는 분자 (예컨대, 항체)를 투여하고, 그리고 상기 표지의 국부화에 대해 환자를 외부적으로 스캐닝함으로써 생체내 검출 검정을 이용하여 평가될 수 있다.

[0340] **병용 요법**

[0341] 현재, 암의 시기에 따라서, 암 치료는 하기 요법 중에서 한 가지 또는 이들의 병용을 수반한다: 암성 조직을 제거하기 위한 수술, 방사선요법 및 화학요법. 항-CD79b 면역접합체 요법은 화학요법의 독성과 부작용을 잘 견디지 못하는 노령 환자에서 및 방사선요법이 한정된 유용성을 갖는 전이성 질환에서 특히 바람직할 수 있다. 본 발명의 종양 표적화 항-CD79b 면역접합체는 질환의 초기 진단 시에 또는 재발 동안 CD79b-발현 암을 경감하는데 유용하다. 치료적 적용을 위해, 항-CD79b 면역접합체는 단독으로, 또는 예를 들면, 호르몬, 항신생혈관계 또는 방사성표지화된 화합물과의 병용 요법, 또는 수술, 냉동요법 및/또는 방사선요법과의 병용 요법으로 이용될 수 있다. 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물의 투여는 프리- 또는 포스트-전통적인 요법과 연속적으로, 전통적인 요법의 다른 형태와 함께 수행될 수 있다. 화학요법 약물, 예컨대, TAXOTERE® (도세탁셀), TAXOL® (파클리탁셀), 에스트라무스틴 및 미톡산트론은 특히, 우량 위험 환자에서 암을 치료하는 데 이용된다. 암을 치료하거나 또는 경감하기 위한 본 발명의 방법에서, 암 환자는 전술한 화학요법제 중에서 한 가지 또는 그 이상으로 치료와 함께 항-CD79b 항체가 투여될 수 있다. 특히, 파클리탁셀 및 변형된 유도체와의 병용 요법

(참조: 예를 들면, EP0600517)이 예기된다. 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 화학요법제의 치료적으로 유효 용량으로 투여될 수 있다. 다른 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 화학요법제, 예를 들면, 파클리탁셀의 활성과 효능을 증강하기 위해 화학요법과 함께 투여된다. 의사 처방 참고집(PDR)은 다양한 암의 치료에서 이용된 이들 작용제의 용량을 개시한다. 치료적으로 효과적인 이들 전술된 화학요법 약물의 투약 섭생과 용량은 치료되는 특정 암, 질환의 정도, 그리고 당해 분야에서 평균적 기술자에게 익숙한 다른 인자에 의존할 것이고, 그리고 의사에 의해 결정될 수 있다.

[0342] 다른 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 중앙 성장을 또한 저해하는 상이한 화학요법제, 또는 다른 세포독성 작용제(들) 또는 다른 치료제(들)의 각테일의 공동투여를 포함하는, 한 가지 또는 그 이상의 화학요법제 또는 성장 저해제와 병용으로 투여될 수 있다. 화학요법제는 에스트라무스틴 인산염, 프레드니무스틴, 시스플라틴, 5-플루오로우라실, 멜팔란, 시클로포스파미드, 히드록시요소 및 히드록시우레아탁산(예컨대, 파클리탁셀 및 도세탁셀) 및/또는 안트라사이클린 항생제를 포함한다. 이런 화학요법제에 대한 제조 및 투약 일정은 제조업체의 사용설명서에 따라서, 또는 숙련된 의사에 의해 경험적으로 결정된 대로 이용될 수 있다. 이런 화학요법의 제조 및 투약 일정은 또한 Chemotherapy Service Ed., M.C. Perry, Williams & Wilkins, Baltimore, MD (1992)에서 설명된다. 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 이런 분자에 대한 공지된 용량에서 항호르몬 화합물; 예를 들면, 항에스트로겐 화합물, 예컨대, 타목시펜; 항프로게스테론, 예컨대, 오나프리스톤(참조: EP 616 812); 또는 항안드로겐, 예컨대, 플루타미드와 병용될 수 있다. 치료되는 암이 안드로겐 비의존성 암인 경우에, 환자는 항안드로겐 요법에 이전에 종속되었을 수 있고, 그리고 암이 안드로겐 비의존성이 된 후, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물이 환자에게 투여될 수 있다.

[0343] 때때로, 심장보호제(요법과 연관된 심근 기능장애를 예방하거나 또는 감소시키기 위해) 또는 한 가지 또는 그 이상의 사이토킨을 환자에게 또한 공동투여하는 것이 유익할 수 있다. 상기 치료 섭생에 더하여, 환자는 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물의 투여 전, 투여와 동시에, 또는 투여 후, 암 세포의 외과적 제거 및/또는 방사선요법(예를 들면, 외부 빔 방사선조사, 또는 방사성 표지화된 작용제, 예컨대, 항체를 이용한 요법)에 종속될 수 있다. 상기 공동투여된 임의의 작용제에 대한 적합한 용량은 현재 이용되는 것들이고, 그리고 상기 작용제 및 항-CD79b 항체의 통합 작용(상승작용)으로 인해 낮아질 수 있다.

[0344] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 다른 치료제의 효과량과 병용으로 환자에게 투여될 수 있다. 한 구체예에서, 치료제는 항체, 화학요법제, 세포독성 작용제, 항신생혈관제, 면역억제제, 전구약물, 사이토킨, 사이토킨 길항제, 세포독성 방사선요법, 코르티코스테로이드, 암 백신, 그리고 성장 저해제로 구성된 군에서 선택된다. 다른 구체예에서, 치료제는 타목시펜, 레트로졸, 엑세메스테인, 아나스트로졸, 이리노테칸, 세특시맙, 플베스트란트, 비노렐빈, 에블로티닙, 베바시주맙, 빈크리스틴, 이마티닙 메실레이트, 소라페닙, 라파티닙, 트라스투주맙, 시스플라틴, 젠시타빈, 메토틱렉사트, 빈블라스틴, 카르보플라틴, 파클리탁셀, 5-플루오로우라실, 독소루비신, 보르테오미드, 멜팔란, 프레드니손, 프레드니솔론 및 도세탁셀 중에서 한 가지 또는 그 이상에서 선택된다.

[0345] 일부 구체예에서, 치료제는 항-CD20 항체이다.

[0346] 일정한 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 B 세포 증식성 장애를 치료하기 위한 항-CD20 항체의 효과량과 병용으로 투여될 수 있다. 한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 미만성 대 B 세포 림프종(DLBCL)이다. 다른 구체예에서, 증식성 장애는 여포성 림프종(FL)이다. 일정한 구체예에서, 항-CD20 항체는 리툭시맙이다.

[0347] 일부 구체예에서, 치료제는 화학요법제이다. 한 구체예에서, 화학요법제는 시클로포스파미드, 히드록시다우노루비신, 빈크리스틴 및 프레드니손 중에서 한 가지 또는 그 이상을 포함한다. 다른 구체예에서, 화학요법제는 시클로포스파미드, 독소루비신 및 프레드니손을 포함한다.

[0348] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 항-CD20 항체 및 화학요법제의 효과량과 병용으로 투여될 수 있다. 한 구체예에서, 화학요법제는 시클로포스파미드, 독소루비신 및 프레드니손을 포함한다.

[0349] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 B 세포 증식성 장애를 치료하기 위한 항-CD20 항체 및 화학요법제의 효과량과 병용으로 투여될 수 있다. 한 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 비호지킨 림프종(NHL)이다. 다른 구체예에서, B 세포 증식성 장애는 미만성 대 B 세포 림프종(DLBCL)이다. 특정한 구체예에서, DLBCL은 재발성/난치성 DLBCL이다. 다른 구체예에서, NHL은 재발성 NHL 또는 난치성 NHL이다. 다른 특정한 구체예에서, 증식성 장애는 여포성 림프종(FL)이다. 다른 구체예에서, FL은 재발성/난치성 FL이다. 일정한 구

체에서, 항-CD20 항체는 리툭시맙이다.

[0350] 일부 구체예에서, 본 발명의 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 항-CD20 항체 (나신 항체 또는 ADC 중에서 어느 한 가지)와 병용될 수 있다. 한 구체예에서 항-CD20 항체는 리툭시맙 (Rituxan®) 또는 이의 바이오시밀러이다. 일부 구체예에서 항-CD20 항체는 오크렐리주맙 (2H7) (Genentech, Inc., South San Francisco, CA) 또는 이의 바이오시밀러이다. 다른 구체예에서, 본 발명의 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 항-VEGF 항체 (예를 들면, Avastin®)와 병용될 수 있다.

[0351] 일부 구체예에서, 본 발명의 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 알킬화제와 병용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물은 알킬화제 및 항-CD20 항체 (나신 항체 또는 ADC 중에서 어느 한 가지)와 병용될 수 있다. 일부 구체예에서, 항-CD20 항체는 리툭시맙 (Rituxan®) 또는 이의 바이오시밀러이다. 일부 구체예에서, 알킬화제는 4-[5-[비스(2-클로로에틸)아미노]-1-메틸벤즈이미다졸-2-일]부탄산 및 이의 염이다. 일부 구체예에서, 알킬화제는 벤다무스틴이다.

[0352] 병용 요법은 동시적 또는 순차적 섭생으로서 투여될 수 있다. 순차적으로 투여될 때, 병용은 2회 또는 그 이상의 투여에서 투여될 수 있다. 병용 투여는 별개의 제제 또는 단일 제약학적 제제를 이용한 공동투여, 그리고 어느 한쪽 순서로 연속 투여를 포함하는데, 여기서 바람직하게는, 양쪽 (또는 모든) 활성제가 그들의 생물학적 활성을 동시에 발휘하는 기간이 존재한다.

[0353] 상기 공동투여된 작용제 중에서 어느 것에 대한 적합한 용량은 현재 이용되는 것들이고, 그리고 새로 확인된 작용제 및 다른 화학요법제 또는 치료의 통합 작용 (상승작용)으로 인해 낮아질 수 있다.

[0354] 병용 요법은 "상승작용"을 제공하고 "상승적"인 것으로 입증될 수 있다. 다시 말하면, 활성 성분이 함께 이용될 때 달성되는 효과가 이들 화합물을 별개로 이용하는 것로부터 발생하는 효과의 합계보다 크다. 상승 효과는 활성 성분이 (1) 공동조제되고, 그리고 병용된 단위 용량 제제에서 동시에 투여되거나 또는 전달될 때; (2) 별개의 제제로서 교대로 또는 병렬적으로 전달될 때; 또는 (3) 일부 다른 섭생에 의할 때 획득될 수 있다. 교대 요법에서 전달될 때, 상승 효과는 이들 화합물이 예를 들면, 별개의 주사기에서 상이한 주사에 의해 순차적으로 투여되거나 또는 전달될 때 획득될 수 있다. 일반적으로, 교대 요법 동안, 각 활성 성분의 유효 용량은 순차적으로, 다시 말하면, 연속으로 투여되고, 반면 병용 요법에서는 2가지 또는 그 이상의 활성 성분의 유효 용량이 함께 투여된다.

[0355] IV. 제조 물품 및 키트

[0356] 본 발명의 다른 구체예는 증식성 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 내포하는 제조 물품이다. 한 구체예에서, 제조 물품은 용기 및 용기 상에 또는 용기와 결합된 표지 또는 포장 삽입물을 포함한다. 적합한 용기는 예를 들면, 병, 바이알, 주사기 등을 포함한다. 이들 용기는 다양한 물질, 예컨대, 유리 또는 플라스틱으로부터 형성될 수 있다. 용기는 암 질환을 치료하고, 예방하고 및/또는 진단하는 데 효과적인 조성물을 보유하고, 그리고 무균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들면, 용기는 정맥내 용액 백, 또는 피하 주사 바늘에 의해 관통가능한 마개를 갖는 바이알일 수 있다). 조성물 내에 적어도 한 가지 활성제는 본 발명의 항-CD79b 면역접합체이다. 표지 또는 포장 삽입물은 조성물이 암을 치료하는 데 이용된다는 것을 지시한다. 표지 또는 포장 삽입물은 조성물을 암 환자에게 투여하기 위한 사용설명서를 더욱 포함할 것이다. 추가적으로, 제조 물품은 제약학적으로 허용가능한 완충액, 예컨대, 주사용 무균수 (SWFI), 정균성 주사용수 (BWHI), 인산염 완충된 식염수, 링거액 및 텍스트로스 용액을 포함하는 두 번째 용기를 더욱 포함할 수 있다. 이것은 다른 완충액, 희석제, 필터, 바늘 및 주사기를 비롯하여, 상업적 관점 및 사용자 관점으로부터 바람직한 다른 물질을 더욱 포함할 수도 있다.

[0357] 일부 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 제약학적 조성물을 포함하는 용기, 예컨대, 병, 바이알, 주사기이다. 일부 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)을 포함하는 용기, 예컨대, 병, 바이알, 주사기이다. 일부 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 재구성된 동결 건조된 제약학적 조성물을 포함하는 용기, 예컨대, 병, 바이알, 주사기이다. 특정한 구체예에서, 제조 물품은 주사용 무균수 (SWFI)로 재구성되는 동결 건조된 제약학적 조성물을 포함하는 용기이다.

[0358] 일부 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 제약학적 조성물을 포함하는 플라스틱 용기이다. 일부 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 제약학적 조성물을 포함하는 유리 용기이다.

[0359] 일부 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 제약학적 조성물을 포함하는 유리 바이알이다. 특정한 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)을 포함하는 유리 바이알이다. 특정한 구체

예에서, 제조 물품은 본 발명의 재구성된 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)을 포함하는 유리 바이알이다. 특정한 구체예에서, 제조 물품은 주사용 무균수 (SWFI)로 재구성되는 동결 건조된 제약학적 조성물 (예컨대, 케이크)을 포함하는 유리 바이알이다.

- [0360] 일정한 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물을 내포하는 IV 백이다. IV 백은 폴리올레핀 (PO), 폴리염화비닐 (PVC), 에틸렌 비닐 아세트산염, 폴리프로필렌 (PP), 폴리에틸렌 (PE), 공폴리에스테르 에테르, 또는 이들의 조합을 제한 없이 포함하는 물질로 구성될 수 있다. 일부 구체예에서, IV 백은 폴리올레핀 (PO) 백, 폴리프로필렌 백 (PP), 폴리에틸렌 백 (PE) 또는 폴리염화비닐 (PVC) 백이다.
- [0361] 일부 구체예에서, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물을 내포하는 제조 물품은 적어도 약 5 밀리리터 (mLs), 적어도 약 10 mLs, 적어도 약 15 mLs, 적어도 약 20 mLs, 적어도 약 25 mLs, 적어도 약 30 mLs, 적어도 약 35 mLs, 적어도 약 40 mLs, 적어도 약 45 mLs, 적어도 약 50 mLs, 적어도 약 55 mLs, 적어도 약 60 mLs, 적어도 약 65 mLs, 적어도 약 70 mLs, 적어도 약 75 mLs, 적어도 약 80 mLs, 적어도 약 85 mLs, 적어도 약 90 mLs, 적어도 약 95 mLs, 적어도 약 100 mLs, 적어도 약 105 mLs, 적어도 약 110 mLs, 적어도 약 115 mLs, 적어도 약 120 mLs, 적어도 약 125 mLs, 적어도 약 130 mLs, 적어도 약 135 mLs, 적어도 약 140 mLs, 적어도 약 145 mLs, 적어도 약 150 mLs, 적어도 약 155 mLs, 적어도 약 160 mLs, 적어도 약 165 mLs, 적어도 약 170 mLs, 적어도 약 175 mLs, 적어도 약 180 mLs, 적어도 약 185 mLs, 적어도 약 190 mLs, 적어도 약 195 mLs, 또는 적어도 약 200 mLs의 용적을 수용할 수 있다. 일부 구체예에서, 제조 물품은 적어도 약 25 mLs, 적어도 약 50 mLs, 또는 적어도 약 100mLs의 용적을 수용할 수 있는 PO 백이다. 일부 구체예에서, 제조 물품은 적어도 약 25 mLs, 적어도 약 50 mLs, 또는 적어도 약 100mLs의 용적을 수용할 수 있는 PVC 백이다.
- [0362] 일정한 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물 및 완충액을 포함하는 IV 백이다. 특정한 구체예에서, 완충액은 생리식염수, 1/2 생리식염수, 5% w/v 텍스트로스, 유산화 링거액, 또는 이들의 조합일 수 있다. 한 구체예에서, 제조 물품은 1/2 생리식염수에서 용해된 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물을 포함하는 IV 백이다.
- [0363] 일부 구체예에서, 제조 물품은 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물 및 등장성 완충액을 포함하는 IV 백이다. 한 구체예에서, 제조 물품은 생리식염수에서 용해된 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물을 포함하는 IV 백이다.
- [0364] 예시적인 구체예에서, 제조 물품은 적어도 약 100mLs의 용적을 수용할 수 있는, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물 및 생리식염수를 포함하는 PVC 백이다. 다른 예시적인 구체예에서, 제조 물품은 약 100mLs의 용적을 수용할 수 있는, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물 및 생리식염수를 포함하는 PVC 백이다.
- [0365] 다른 예시적인 구체예에서, 제조 물품은 적어도 약 100mLs의 용적을 수용할 수 있는, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물 및 생리식염수를 포함하는 PO 백이다. 또 다른 예시적인 구체예에서, 제조 물품은 적어도 약 100mLs의 용적을 수용할 수 있는, 본 발명의 제약학적 조성물 또는 액체 조성물 및 1/2 생리식염수를 포함하는 PO 백이다.
- [0366] 본원에서 임의의 구체예에서, 안정된 제약학적 또는 액체 제약학적 조성물은 용기, 예컨대, 병, 바이알, 주사기, 또는 정맥내 (IV) 백에서 보관될 수 있다.
- [0367] 다양한 목적, 예컨대, CD79b-발현 세포 사멸 검정에 유용한 키트 역시 제공된다. 제조 물품의 경우에서와 같이, 키트는 용기 및 용기 상에 또는 용기와 결합된 표지 또는 포장 삽입물을 포함한다. 용기는 본 발명의 적어도 한 가지 항-CD79b 면역접합체를 포함하는 조성물을 유지한다. 예를 들면, 희석제, 계면활성제, 완충액, 대조 항체를 내포하는 추가 용기가 포함될 수 있다. 표지 또는 포장 삽입물은 조성물에 관한 설명뿐만 아니라 의도된 용도에 대한 지시사항을 제공할 수 있다.
- [0368] 하기 설명은 당업자가 다양한 구체예를 만들고 이용하는 것을 가능하게 하기 위해 제시된다. 특정한 장치, 기술 및 적용에 관한 설명은 단지 실례로서 제공된다. 본원에서 설명된 실례에 대한 다양한 변형은 당업자에게 쉽게 명백할 것이고, 그리고 본원에서 규정된 일반적인 원리는 다양한 구체예의 사상과 범위로부터 벗어나지 않으면서 다른 실례와 적용에 적용될 수 있다. 따라서, 이들 다양한 구체예는 본원에서 설명되고 도시된 실례에 한정되는 것으로 의도되지 않고, 청구항과 일치하는 범위가 부여된다.
- [0369] 실시예
- [0370] 실시예 1: 항-CD79b 면역접합체 계면활성제 연구

- [0371] 환자에서 항-CD79b-vc-MMAE에 대한 초기 단계 임상 시험을 위해 초기에 이용된 제제는 0.02% 폴리소르베이트 20을 포함하는 히스티딘 아세트산염 완충액을 포함하는 액체 제제이었는데, 이것은 정맥내 주사기 펌프를 통해 환자에게 전달되었다. 의약품에 대한 상업적인 제제를 확립하기 위해, 상업적인 세팅에서 환자에게 전달 루트일 IV 백에서 희석될 때, 다양한 비이온성 계면활성제가 응집으로부터 항-CD79b-vc-MMAE를 보호하고 안정화할 수 있는 지를 결정하기 위해, 이들이 상이한 농도에서 검사되었다. 구체적으로, 항-CD79b-vc-MMAE의 안정성은 (a) IV 백에서 정적 조건 및 (b) IV 백에서 단기간 교반에 의해 유발된 공기-물 계면 응력 조건 둘 모두 하에서 평가되었다.
- [0372] 항-CD79b-vc-MMAE
- [0373] 항-CD79b-vc-MMAE는 20 mM 히스티딘 아세트산염, pH 5.5에서 희석되었다. 3.11 g의 히스티딘 및 1.03 mL의 빙초산을 800 mL의 신선한 초순수에 첨가함으로써 20 mM 히스티딘 아세트산염 pH 5.5 완충액이 제조되었다. 계측된 pH는 5.5 ± 0.1 이었다. 결과의 용액은 신선한-초순수를 이용하여 1 L로 조정되고, 0.22 μ M PES 필터를 통해 여과되고, 그리고 2-8°C에서 보관되었다. 항-CD79b-vc-MMAE의 농도는 필요에 따라, 여과된 완충액에서 10 mg/mL 또는 20 mg/mL로 희석함으로써 (i) 10 mg/mL 및 (ii) 20 mg/mL 둘 모두에서 검사되었다. 희석된 물질은 2-8°C에서 보관되고 광으로부터 보호되었다.
- [0374] 계면활성제
- [0375] 검사된 계면활성제는 하기와 같았다: (i) 폴리소르베이트 20 (PS20), USP 등급, NF, Croda에 의해 제조됨; (ii) 폴리소르베이트 80 (PS80), USP 등급, NF, Croda에 의해 제조됨; (iii) 폴록사머 (P188), USP 등급, 98 ppm 부틸화된 히드록시톨루엔을 내포하는 NF, Spectrum Chemicals에 의해 제조됨; 그리고 (iv) N-옥틸- β -D 글루코피라노시드 (OG) C14H28O6, FW: 292.4, Affymetrix, Anagrade에 의해 제조됨. 10%, 1.0% 및 0.5% PS20 원액의 제조는 하기와 같이 준비되었다: 백에서 PS20의 목표 농도에 따라서, 초순수에서 10%, 1% 또는 0.5% PS20 원액이 이용되었다. 10 g의 PS20을 100 mL 용적 플라스크에 첨가함으로써 10% PS20 원액이 제조되었다. 상기 플라스크는 60 mL의 초순수로 채워지고, 그리고 이후, 용액이 충분히 혼합되도록 담보하기 위해 자력 교반기로 교반되었다. 기포가 30 분 동안 가라앉도록 허용한 후, 플라스크는 초순수로 100 mL까지 채워졌다. 용액이 광 보호 용기로 이전되고 2-8°C에서 최대 1 주 동안 보관되었다. 100 mL의 초순수에서 1.0 g의 PS20을 이용하여 1.0% PS20 용액을 제조하는 데 유사한 절차가 이용되었다. 1.0% PS20 스톡의 1:1 (v/v) 희석액이 0.5% PS20 용액을 만드는 데 이용되었다.
- [0376] 0.5% PS80의 제조는 하기와 같았다: 10 g의 PS80을 100 mL 용적 플라스크에 첨가함으로써 10% PS20 스톡이 제조되었다. 상기 플라스크는 50 mL의 초순수로 채워지고, 그리고 이후, 용액이 충분히 혼합될 때까지 자력 교반기로 교반되었다. 상기 용액은 기포가 가라앉도록 하기 위해 30 분 동안 방치되도록 허용되고, 그리고 이후, 교반되고 제거되었다. 용액 용적이 이후, 초순수를 이용하여 100 mL로 조정되었다. PS80의 0.5% 원액을 획득하기 위해, 0.5 mL의 10% PS80 원액이 초순수를 이용하여 10 mL로 조정되었다. 이들 용액은 광 보호 용기로 이전되고 2-8°C에서 최대 1 주 동안 보관되었다.
- [0377] 0.5% P188의 제조는 하기와 같았다: 10 g의 P188을 100 mL 용적 플라스크에 첨가함으로써 10% P188 스톡이 제조되었다. 상기 플라스크는 60 mL의 초순수로 채워지고, 그리고 이후, 용액이 충분히 혼합될 때까지 자력 교반기로 교반되었다. 상기 용액은 기포가 가라앉도록 하기 위해 30 분 동안 방치되도록 허용되고, 그리고 이후, 교반되고 제거되었다. 용액 용적이 이후, 초순수를 이용하여 100 mL로 조정되었다. P188의 0.5% 원액을 획득하기 위해, 0.5 mL의 10% P188 원액이 초순수를 이용하여 10 mL로 조정되었다. 이들 용액은 광 보호 용기로 이전되고 2-8°C에서 최대 1 주 동안 보관되었다.
- [0378] A. 정적 IV 백 연구:
- [0379] 항-CD79b-vc-MMAE는 IV 백 내로 희석되었다. 약국에서 권장된 제조 절차를 모의하기 위해, 첨가될 항-CD79b-vc-MMAE 및 계면활성제의 총 용적과 동등한 용적의 식염수가 IV 백으로부터 제거되었다. 히스티딘 완충액에서 항-CD79b-vc-MMAE 제제에 앞서 계면활성제를 IV 백에 도입하여, 계면활성제-없는 한외여과 정용여과 (UFDF) 플로서 항-CD79b-vc-MMAE가 IV 백에서 어떤 계면활성제도 없이 식염수에 노출되지 않도록 담보하였다. IV 백은 이후, 항-CD79b-vc-MMAE를 내포하는 백의 임의의 활발한 진탕과 교반을 방지하면서, 완전한 혼합을 허용하기 위해 부드럽게 회전되었다.
- [0380] 유리 바이알에서 내포된 식염수에서 항-CD79b-vc-MMAE의 제조: 다양한 양의 식염수 (0.9% 염화나트륨), 계면활성제 및 면역접합체가 15-cc Forma Vitrum 유리 바이알에 첨가되고 20-mm Daikyo 마개로 캡핑되었다. 표본은 이

후에, 특정 연구 조건 하에 항온처리되었다.

- [0381] 표본 수집: 연구의 코스 내내, 표본은 18 G 바늘과 조합으로 1-cc 또는 5-cc BD Falcon 주사기를 이용하여 이진되었다. 수집된 표본은 10-cc PETG (Nalgene) 용기에서 보관되었다.
- [0382] UV 분광광도법 스캔에 의한 단백질 농도 결정: Agilent 분광광도계를 이용하여, 선별된 표본에 대한 희석 후 단백질 농도가 결정되었다. IV 백으로부터 수집된 표본은 UV 신호가 0.1 및 1.0 AU 사이에 있도록 용적형으로 희석되었다 (필요하면). 흡광도가 279 nm 및 320 nm에서 기록되었다. UV 농도 결정은 $1.40 \text{ (mg/mL)} \cdot 1 \text{ cm}^{-1}$ 의 흡광 계수를 이용함으로써 계산되었다. A279 nm로부터 A320 nm를 감산함으로써, 교정된 A279가 획득되었다. 이러한 교정은 용액의 혼탁도를 설명하고, 그리고 단백질 농도의 정확한 계측을 가능하게 한다.
- [0383] 혼탁도: 표본의 혼탁도는 Agilent 분광광도계에서 1-cm 통로 길이 큐벳을 이용하여 340-360 nm로부터 평균 UV 흡광도를 기록함으로써 계측되었다. 상기 분광광도계는 정제수로 비워졌다.
- [0384] 가시적인 입자: 임의의 가시적인 입자의 존재는 표본이 10-cc PETG 용기 내에 들어있는 흑백 배경 라이트 상자에 대비하여 시각적으로 사정되었다. 단백질 불안정성의 척도로서 가용성 응집체 함량이 주위 온도에서, 280 nm에서 세팅된 다이오드 어레이 검출기가 구비된 Agilent 1200/1280 고성능 크기 배제 크로마토그래피 (HPSEC) (Agilent Technologies, Santa Clara, California) 및 Tosoh Bioscience LLC (Montgomeryville, Pennsylvania) TSK-Gel G3000SWXL 크기 배제 칼럼 (300 x 7.8 mm, 5 μm)을 이용하여 결정되었다. 표본은 0.2 M K3PO₄, 0.25 M KCl, pH 6.2를 이용하여 0.5 mL/분의 등용매성 유속에서 30 분에 걸쳐 용리되었다.
- [0385] 높은 정확도 액체 입자 계수기 (HIAC): 용액 내에 있는 동안 미립자의 크기산정 및 계수를 수행하는 데 HIAC가 이용되었다. HIAC (모형 9703+) 기기를 이용한 가시적인 및/또는 현미경으로 보이는 입자 (SVP)의 정량에 광 카메라가 이용되었다. 하기의 입자 크기가 수집되었다: 1.6, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 20, 25 및 50 μm .
- [0386] 정적 보관 시에 IV 백에서 안정성 연구:
- [0387] IV 백에서 계면활성제 연구를 위해, 초기 연구가 정적 및 교반 조건 둘 모두 하에 수행되었다. 항-CD79b-vc-MMAE에 대한 이들 연구를 위해 검사된 용량 범위가 설계되고 1.8 mg/kg 내지 2.4 mg/kg의 범위에서 수행되었다. 대다수의 환자 체중은 40 kg 및 120 kg 사이에 속할 것으로 가정되었다. 이들 가정에 근거하여, IV 백마다 총 용량은 72 mg (낮은 용량/낮은 체중) 내지 288 mg (높은 용량/높은 체중) 사이에서 변화되었다.
- [0388] 도 1-도 2는 백에서 0.005%의 고정된 PS20 농도 및 0.65 mg/mL의 최종 항-CD79b-vc-MMAE 농도에서 IV 백 성과의 결과를 요약한다. IV 백에서 항-CD79b-vc-MMAE 농도의 농도는 100 mL IV 백에서 40 kg 환자의 가장 낮은 환자 체중에 대한 1.8 mg/kg의 낮은 용량을 가정하여 선택되었다. 100 mL IV 백이 10 mL의 오버필을 갖기 때문에, IV 백에서 최종 농도는 $(1.8 \text{ mg/kg} \times 40 \text{ kg}) / 110 \text{ mL} = 0.65 \text{ mg/mL}$ 이었다.
- [0389] 30°C에서 22 시간 동안 정적 보관 조건 하에, 항-CD79b-vc-MMAE의 물리적 안정성에 대하여 IV 백 유형 사이에 어떤 유의미한 차이도 없었다. 모든 백은 SEC에 의해 계측된 고분자량 종류 (HMWS)에서 0.3% + 0.1% 증가 (Δ)를 보여주었다. 이것은 항-CD79b-vc-MMAE가 0.9% NaCl에서 희석 시에 30°C에서 불안정하다는 것을 증명하였다.
- [0390] 정적 보관 하에 계면활성제 및 선별검사 연구:
- [0391] 계면활성제 유형 및 계면활성제 농도의 잘 제어되고 효율적인 선별검사를 위해, 백에서 고정된 단백질 농도를 활용하는 것이 필요하였다. 백에서 2.6 mg/mL의 항-CD79b-vc-MMAE 농도는 하기의 계산에서 목격되는 바와 같이, 클리닉을 위한 권장된 백 크기이고 10% 오버필 용적을 갖는, 100 mL 백에서 투여된 120 kg의 무거운 환자에 대한 2.4 mg/kg의 가장 높은 가능 용량에 근거하여 선택되었다: $(2.4 \text{ mg/kg} \times 120 \text{ kg}) / 110 \text{ mL} = 2.6 \text{ mg/mL}$. 백에서 가장 높은 단백질 농도는 최악 사례인 것으로 가정되었는데, 그 이유는 더욱 높은 벌크 단백질 농도가 공기-물 계면에 항체의 더욱 신속한 흡착을 주동하여 더욱 높은 수준의 계면-매개된 응집을 야기할 것이기 때문이다.
- [0392] 정적 보관 하에 안정성에 대한 온도의 효과:
- [0393] 배합된 IV 백에 대한 적합한 보관 조건을 제공하는 것은 항체 치료제의 제품 품질에 중요하고, 그리고 평가되었다. 이러한 정보는 또한, 임의의 항체 치료제의 적절한 용법을 담보하기 위한 약국 매뉴얼 및 제품 첨부 설명서를 준비하는 데 필요하다. 백에서 다양한 수준의 PS20이 30°C, 25°C 및 2-8°C의 온도에서 검사되었다. 2-8°C에서, 백에서 PS20의 검사된 수준 (0.003%, 0.005% 및 0.01%)은 22 시간의 정적 보관 후 HMWS에서 어떤 유의미한

변화 없음도 보여주지 않았다 (도 3). 모든 변화 (% HMWS)는 < 0.02%이었다. 25℃에서, 그리고 백에서 0.005%, 0.01%, 0.015%, 0.025% 및 0.030%의 PS20 수준에서, 22 시간의 정적 보관 후 ~0.1% HMWS의 증가가 관찰되었다 (도 3). 30℃에서 HMWS에서 증가는 25℃에서 목격된 것보다 훨씬 컸다. 22 시간의 정적 보관 후 백에서 0.004%, 0.015%, 0.02%, 0.025%, 0.05% 및 0.1%의 PS20 수준에서, 0.3 + 0.1%의 증가가 관찰되었다 (도 3).

[0394] 모든 온도에 걸쳐, HMWS에서 증가는 백에서 PS20의 농도와 무관하였는데, 이것은 정적 조건 하에 응집이 계면 응력에 의해 매개되지 않는다는 것을 시사하였다. HMWS에서 증가는 보관 온도에 강한 상관성을 보여주었다. 이들 결과는 Beckley, N. et al., Investigation into Temperature-Induced Aggregation of an Antibody Drug Conjugate. *Bioconjugate Chemistry*, 24, pp:1674-1683 (2013)에 의해 수행된 차후 연구와 충분히 상관하고, 더욱 높은 온도에서 항체 약물 접합체 (ADCs)에서 HMWS의 형성이 아마도 CH2 도메인에 가까운 사슬간 시스테인에서 접합된 약물의 존재로 인한, 열응력에 대한 삼차 구조의 증가된 민감도에 기인한다는 것을 시사한다.

[0395] 계면활성제 하이브리드 검사:

[0396] 폴록사머 188 (P188)은 IV 백에서 HMWS의 형성을 감소시키지만, 교반 시에 현미경으로 보이는 입자 (SVP)에서 유의미한 증가가 있을 수 있는 것으로 알려져 있다. 대조적으로, PS20은 SVP를 증가시키지 않았다. 2가지 계면활성제 사이에 이들 변하는 결과를 더욱 조사하기 위해, 중량으로 1:1 동등한 비율에서 PS20 - P188 하이브리드가 PS20이 SVP 형성을 예방할 수도 있고 P188이 HMWS에서 증가를 제한할 수도 있는 지를 결정하는 데 이용되었다. 상기 연구는 백에서 2.6 mg/mL의 항-CD79b-vc-MMAE 농도를 이용하여 25 mL IV 백에서 수행되었다. 질량 기초에서, 동등한 양의 PS20과 P188이 0.05% 또는 0.1% 중에서 어느 한 가지의 IV 백에서 총 계면활성제 농도를 산출하기 위해 추가되었다. HMWS에서 0.3-0.4% 증가가 아래의 표 1에서, 30℃에서 22 시간 동안 정적 조건 하에 관찰되었다.

[0397] 표 1: 열응력 부하된 30℃ 정적 조건 하에 하이브리드 PS20-P188 계면활성제 연구

표 1

백의 용적 (mL)	온도 (℃)	계면활성제 (%)	시간 (시)	SEC (상대적 면적 퍼센트) (%)			농도 (mg/mL)	혼탁도	HIAC (누적 입자/mL)			
				HMWS	단량체	LMWS			2 μm	5 μm	10 μm	25 μm
			0	0.7	99.2	0.2	2.7	0.02	3309	498	54	8
		0.05% (0.025% PS20 및 0.025% P188)	6	0.9	98.9	0.2	NT	NT	NT	NT	NT	NT
25 mL PVC 백	30℃		22	1.2	98.6	0.2	NT	0.02	3002	287	38	3
			0	0.7	99.2	0.2	2.7	0.05	1244	122	15	0
		0.1% (0.05% PS20 및 0.05% P188)	6	0.8	99.0	0.2	NT	NT	NT	NT	NT	NT
			22	1.1	98.7	0.2	NT	0.02	3652	497	54	3

[0399] 5 μm, 10 μm 및 25 μm 크기를 초과하는 입자에서 약간의 증가가 있었다. 0.1% 총 계면활성제가 IV 백에서 이용될 때, 2 μm 입자에서 증가가 있었다. 이들 결과에 근거하여, 상기 계면활성제 하이브리드는 PS20 단독과 비교하여 실제적인 차이를 보여주지 못하였다.

[0400] PS20, PS80, P188 및 옥틸글루코시드 (OG)를 비롯한 4가지 상이한 계면활성제가 본 연구를 위해 평가되었다.

PVC 백으로부터 식염수로 채워진 바이알에서 0.02% 계면활성제 및 2.6 mg/mL 의약품과 함께 30℃에서 22 시간 동안 항온처리 후, 0.3-0.4% HMWS의 증가가 있었는데, 이것은 응집이 또한, 이용된 계면활성제의 유형과도 무관하다는 것을 증명하였다 (도 4).

[0401] 바이알에서 정적 보관 하에 항-CD79b-vc-MMAE의 안정성:

[0402] IV 백에서 정적 보관 하에 생리식염수 (0.9% NaCl)에서 항-CD79b-vc-MMAE의 물리적 불안정성을 고려하여, 이온 강도에 대한 면역접합체 불안정성의 의존을 사정하기 위해, 5% 텍스트로스 (D5W) 및 1/2 생리식염수 (0.45% w/v NaCl)에서 면역접합체의 안정성이 바이알에서 검사되었다. 0.02% PS20을 내포하는 용액이 2.6 mg/mL의 고정된 항-CD79b-vc-MMAE 농도에서 제조되었다. 항-CD79b-vc-MMAE는 1/2 생리식염수 및 D5W 둘 모두에서 물리적 안정성에서 유의미한 향상을 보여주었다 (도 4). D5W 용액에서는 HMWS에서 어떤 변화도 없었지만, 1/2 생리식염수는 30℃에서 24 시간의 정적 보관 후 HMWS에서 0.1% 이내의 증가를 보여주었다. 비록 D5W에서 제조가 항-CD79b-vc-MMAE의 응집을 제한하긴 하지만, D5W 용액에서 항체의 당화반응은 금지된 위험이다 (참조: Fischer, S. et al., Glycation during Storage and Administration of Monoclonal Antibody Formulations, European J Pharma and Biopharm. vol.70; pp.42-50 (2008)). 이런 이유로, 5% 텍스트로스 백으로 항-CD79b-vc-MMAE의 IV 전달은 당화 반응에 대한 잠재력으로 인해 더 이상 고려되지 않았다. 비록 1/2 생리식염수가 생리식염수와 비교하여 물리적 안정성에서 유의미한 향상을 보여주긴 하지만, 전역 임상적 및 상업적인 세팅에서 미리 만들어진 1/2 생리식염수 백의 낮은 이용가능성뿐만 아니라 약국에서 1/2 생리식염수 백의 제조와 연관된 불편함 및 잠재적인 미생물 오염 위험으로 인해, 항-CD79b-vc-MMAE의 IV 주입을 위한 1/2 생리식염수의 이용 또한 바람직하지 않았다.

[0403] IV 백 및 유리 바이알에서 정적 안정성 연구로부터 결론:

[0404] 전술된 정적 안정성 연구는 항-CD79b-vc-MMAE의 응집이 높은 이온 강도 환경에 의해 주동된다는 것을 증명하고, 조제 완충액에서 응집의 속도가 식염수에서 것보다 훨씬 느리다는 것을 지시한다.

[0405] B. IV 백 교반 연구:

[0406] 용량 투여를 위한 병원 또는 클리닉 세팅에서 항-CD79b-vc-MMAE를 내포하는 배합된 IV 백의 수송을 뒷받침하기 위해 일련의 IV 백 교반 연구가 수행되었다. 비록 치료 단백질을 내포하는 제조된 IV 백의 수송이 응집 위험으로 인해 일반적으로 권장되지 않지만, 클리닉 세팅에서, 특히 약국에 대한 접근이 제한되는 원거리 위치에서 IV 백의 수송에 대한 실질적인 요구가 빈번하게 존재한다. 이런 이유로, 최소량의 수송이 뒷받침되어야 하고, 그리고 IV 백의 교반에 기인한 약물에 대한 영향이 개발 동안 사정되어야 한다. 수송 동안 IV 백에서 교반 응력은 항체 치료제에 물리적 저하를 유도할 수 있다. 항체의 물리적 저하 (다시 말하면, 응집 및 입자 형성)는 아마도, 교반 동안 연속 재생을 겪는, IV 백에서 공기-액체 계면에 흡착에 의해 매개된다. 하기 연구의 코스 내내, MaxQ 4000 타원형 실험실 셰이커 (0.75 in의 궤도 길이)가 IV 백 교반 연구를 위해 활용되었다. IV 백은 셰이커의 평면 상에 편평하게 배치되었다.

[0407] IV 백에서 교반 시에 안정성에 대한 온도의 효과:

[0408] 교반 연구는 2-8℃, 25℃ 및 30℃에서 백에서 상이한 수준의 PS20으로 수행되었다 (도 5a-도 5c). HMWS에서 증가의 속도는 2-8℃에서 검사된 것보다 25℃에서, 그리고 이것보다는 30℃에서 더욱 높았다. HMWS에서 증가는 IV 백에서 교반 동안 온도와 상관되었다. 0.01%, 0.005% 및 0.003%의 PS20 농도 수준을 내포하는 백의 경우에, 2-8℃에서 2 시간 동안 교반 시에 HMWS에서 어떤 증가도 없었다 (도 5a). 30℃에서, HMWS에서 증가는 백에서 PS20의 농도에 의존하였다 (도 5c). 2-8℃ (도 5a) 및 25℃ 둘 모두에서 모든 PS20 수준의 전역에서 교반 시에 HMWS에서 증가는 비선형인 것으로 확인되었다 (도 5b). 이러한 비선형 거동은 아마도 상이한 시점에서 표본추출에 기인하였다.

[0409] IV 백에서 교반 시에 안정성에 대한 계면활성제 혼합물의 효과:

[0410] 증량으로 1:1 동등한 비율에서 PS20 - P188 하이브리드가 PS20이 SVP 형성을 예방할 수도 있고 P188이 교반 시에 HMWS에서 증가를 제한할 수도 있는 지를 결정하는 데 이용되었다. 상기 연구는 백에서 2.6 mg/mL의 항-CD79b-vc-MMAE 농도를 이용하여 25 mL IV 백에서 수행되었다. 질량 기초에서, 동등한 양의 PS20과 P188이 0.05% 또는 0.1% 중에서 어느 한 가지의 IV 백에서 총 계면활성제 농도를 산출하기 위해 추가되었다.

[0411] 0.05% 총 계면활성제가 IV 백에서 이용될 때, 30℃에서 2 시간 동안 교반 후 HMWS에서 2.9% 증가가 관찰되었다 (표 2). 1 시간까지 5 μm, 10 μm 및 25 μm 크기를 초과하는 입자에서 증가하는 추세가 있었고, 그리고 입자 계수가 2 시간 시점에 검출 한계 (LOD)를 초과하였다. 0.1% 총 계면활성제가 IV 백에서 이용될 때, 모든 크기에

걸쳐 입자에서 증가하는 추세가 있긴 해지만, 0.05% 계면활성제를 포함하는 백보다는 훨씬 낮았다 (표 2). HMWS에서 증가하는 또한, IV 백에서 0.05% 총 계면활성제 농도와 비교하여, 2 시간의 교반 후 약 2.8%까지 낮았다. 이들 결과에 근거하여, 상기 계면활성제 하이브리드는 PS20 단독과 비교하여 차이를 보여주지 않았다.

표 2: 열응력 부하된 30℃ 교반 조건 하에 하이브리드 PS20-P188 계면활성제 연구

표 2

백의 용적 (mL)	온도 (℃)	계면활성제 (%)	시간 (시)	SEC (상대적 면적 퍼센트) (%)			농도 (mg/mL)	혼탁도	HIAC (누적 입자/mL)			
				HMWS	단량체	LMWS			2 μm	5 μm	10 μm	25 μm
			0	2.2	97.6	0.2	NT	0.02	320 2	383	35	0
		0.05% (0.025% PS20 및 0.025% P188)	1	3.2	96.7	0.2	NT	0.03	373 7	485	48	0
25 mL PVC 백	30℃		2	5.1	94.7	0.2	3.1	0.21	146 66	979	76	0
			0	1.2	98.6	0.2	NT	0.03	339 6	476	53	3
		0.1% (0.05% PS20 및 0.05% P188)	1	1.3	98.5	0.2	NT	0.03	397 3	549	56	0
			2	2.3	97.5	0.2	2.7	0.03	381 6	650	82	7

30℃에서 단기간 IV 백 교반:

본 연구의 목적은 주위 환경에서 단기간 동안 희석된 항-CD79b-vc-MMAE를 포함하는 IV 백의 수송을 조사하고, 그리고 항-CD79b-vc-MMAE 제제에서 PS20의 효과적인 농도를 결정하는 것이었다. 본 연구는 백을 30℃에서 30 분 동안 단기간 교반에 적용한다. 30℃에서 이러한 더욱 짧은 교반은 희석된 항-CD79b-vc-MMAE가 병원 또는 주위 환경에서 다른 시설에서 수송 동안 경험할 수 있는 잠재적인 교반을 커버할 수 있었다. 상기 연구는 IV 백에서 희석되고 30℃에서 100 rpm으로 교반된 0.001%, 0.002%, 0.003% 및 0.005% PS20으로 수행되었다. 결과는 도 6에서 도시된다. 이들 결과에 근거하여, 백에서 0.005% PS20의 경우에 < 0.1% 증가가 있다. 이들 조건 하에, 항-CD79b-vc-MMAE에 대해, HMWS에서 증가 대 IV 백에서 PS20의 농도의 직접적인 상관이 존재한다. 본 연구에 근거하여, IV 백에서 희석된 항-CD79b-vc-MMAE의 물리적 안정성을 위해, 응집체 수준을 정량 한계 미만으로 유지하기 위한, IV 백에서 PS20의 최소량은 0.003% 및 0.005% 사이에 있었다.

IV 백이 냉각되는 동안 2-8℃에서 교반 (백의 사전 냉각 없음):

본 연구의 목적은 배합된 IV 백의 수송을 더욱 현실적인 시나리오에서 뒷받침하는 것이었다. 전형적으로, IV 백은 약사에 의해 배합되고, 그리고 예냉각될 수도 있거나 또는 되지 않을 수도 있는 운반체에서 수송된다. 이러한 실험의 시작에 앞서, 백은 세계의 다른 지역에서 존재할 수 있는 더욱 높은 주위 온도를 모의하기 위해 30℃에 평형화된다. 비록 백이 예냉각되지 않거나, 또는 예냉각되지 않은 용기에 담겨 수송된다 하더라도, 이것은 희석된 DP의 안정성을 확실하게 한다. 상기 연구는 100 mL IV 백에서 4가지 상이한 PS20 수준에서 2.6 mg/mL의 항-CD79b-vc-MMAE로 수행되었다: 0.001%, 0.002%, 0.003% 및 0.005%. IV 백에서 ≤0.002%의 경우에 HMWS에서 < 0.1% 증가가 있다. 이러한 교반 모형 연구의 결과에 근거하여, 응집체 수준을 정량 한계 미만으로 유지하기 위한, IV 백에서 PS20의 최소량은 0.001% 및 0.002% 사이에 있었다. 결과는 도 7에서 요약된다.

결론:

- [0419] 항체 약물 접합체 (ADCs)는 특히, 정규적인 접합되지 않은 항체보다 식염수 및 높은 이온 강도 완충액에 더욱 민감하다 (Adem, Y., *et al. Bioconjugate Chemistry*, 25 (2014) 656-664). 검사된 항-CD79b-vc-MMAE는 정적 보관 하에 30℃에서 22 시간 동안 0.3% 식염수에서 희석될 때 HMWS에서 증가를 나타냈다.
- [0420] 2가지 교반 모형을 근거하여, 항-CD79b-vc-MMAE는 2-8℃에서 1 시간의 단기간 수송에 의해 유발된 교반 동안 IV 백에서 적어도 0.002% PS20으로 안정된다. 취급과 수송 및 단기간 보관 동안 교반 응력에 대한 안정성 요건에 부합하기 위해, 항-CD79b-vc-MMAE 제제에서 최종 제안된 계면활성제 농도는 0.12%인데, 이것은 100 mL IV 백의 이용과 조합될 때, 가장 낮은 예상 환자 체중 (40 kg)에 대해 백에서 0.004%를 유발한다. 이러한 수준의 계면활성제는 1.8 mg/kg 내지 2.4 mg/kg의 용량 범위에서 항-CD79b-vc-MMAE를 보호하는 것으로 밝혀졌다. 유의할 점은 이러한 양의 계면활성제, 특히 PS20이 과학 문헌에 비추어 예상치 않게 높고 반직관적이라는 것이다 (참조: Kerwin BA. Polysorbates 20 and 80 used in the Formulation of Protein Biotherapeutics: Structure and Degradation Pathways. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008;97(8):2924-2935). 항-CD79b-vc-MMAE 의약품에 이용되는 이러한 양의 PS20은 또한, 0.05% PS20의 상업적인 제제가 IV 백 내로 희석에 적합한 것으로 확립된 다른 면역접합체, 항-CD22-vc-MMAE와 비교하여 예상치 않게 더욱 높다 (데이터 제시되지 않음).
- [0421] 실시예 2: 항-CD79b 면역접합체 산화 및 링커 가수분해 위험의 완화
- [0422] 실시예 1에서 논의된 바와 같이 IV 백 전달에 적합한 계면활성제 농도를 확립하는 것은 항-CD79b-vc-MMAE에 대한 산화의 문제점에 잠재적으로 추가되었다. 더욱 높은 수준의 폴리소르베이트는 폴리소르베이트의 자가산화적 분해에 기인한 더욱 높은 수준의 과산화물과 일반적으로 연관되는 것으로 알려져 있다. 참조: Lam XM, Yang JY, Cleland JL. Antioxidants for prevention of methionine oxidation in recombinant monoclonal antibody HER2. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1997;86(11):1250-1255; Donbrow M, Azaz E, Pillersdorf A. Autoxidation of polysorbates. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1978;67(12):1676-1681; Kerwin BA. Polysorbates 20 and 80 used in the Formulation of Protein Biotherapeutics: Structure and Degradation Pathways. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008;97(8):2924-2935.
- [0423] 게다가, 트립토판 산화가 PS20의 존재에서 일어날 수 있는 것으로 알려져 있다. 참조: Lam X, et al., Site-Specific Tryptophan Oxidation Induced by Autocatalytic Reaction of Polysorbate 20 in Protein Formulation., *Pharm Res*. (2011) 28:2543-2555. 특히, 본 발명에서 이용되는 항-CD79b 항체의 경우에, 가변 중쇄 HVR 1: GYTFSSYWIE (서열 번호: 4) 내에 트립토판이 있다. 항-CD79b-vc-MMAE를 AAPH로 조제한 이후에, AAPH 응력 조건 (예를 들면, 40℃에서 2 주 또는 25℃에서 6 개월 또는 2-8℃에서 6 개월까지 동안) 하에 산화되는 성향이 트립토판 분해 펩티드의 질량 분광분석법 분석에 의해 결정되었다. 응력 부하된 항-CD79b-vc-MMAE는 트립토판으로 소화되고, 그리고 소화된 펩티드는 산화의 백분율을 결정하기 위해 LC-MS/MS에 종속되었다 (데이터 제시되지 않음). 펩티드 지도화에 의해, HVR 트립토판의 68% 산화가 관찰되었다. 이것은 항-CD79b-vc-MMAE에 대한 대략 58% 효능 손실을 유발하였다 (데이터 제시되지 않음). 이런 이유로, 산화 위험을 경감하는 것이 필요하였다.
- [0424] 고려되는 추가 인자에는 면역접합체의 링커의 숙신이미드 가수분해를 관리하는 방법이 포함되었다. 본 발명의 항-CD79b-vc-MMAE 면역접합체는 항체 시스테인 잔기에 접합된 말레이미드-내포 약물-링커를 이용하여 티오-숙신이미드 연쇄를 형성하였다. 이런 티오-숙신이미드 연쇄는 환자의 혈장 내에 있는 동안 2가지 경쟁하는 반응을 겪을 수 있는 것으로 알려져 있다: (a) 면역접합체로부터 약물의 바람직하지 않은 손실을 유발하는, 말레이미드의 제거; 및 (b) 제거될 수 없는 숙신산 유도체를 유발하는, 티오-숙신이미드 고리의 가수분해. 참조: 도 8 및 Lyon, R., et al Self-Stabilizing ADCs: Conjugates Prepared with Maleimido Drug-Linkers that Catalyze their own Thiosuccinimide Ring Hydrolysis., Abstract No. 4333, American Association for Cancer Research (April 2013). 이것은 중요한 주요 품질 속성 (CQA)인데, 그 이유는 이것이 약물동력학 (pK) 및 안전성에 대한 잠재적인 영향을 주기 때문이다. 환자에서 초기 단계 임상 시험에 이용된 초기 액체 제제, 예를 들면, 5.5의 pH에서 히스티딘 아세트산염 완충액에서 액체 제제는 2 년에 걸친 권장된 보관 조건에서 산성물에서 대략 9% 증가를 나타내는 것으로 이전에 증명되었다 (데이터 제시되지 않음).
- [0425] 이들 3가지 위험: 증가된 PS20 농도에 기인한 증가된 산화 위험; 효능 손실을 유발할 트립토판 산화에 기인한 증가된 산화 위험; 그리고 면역접합체로부터 MMAE 약물의 손실을 야기하고 환자의 혈장에서 자유 약물을 유발할 링커 가수분해 위험의 결과로서, 동결 건조된 제제는 이들 위험을 경감하여 더욱 길고, 더욱 안정된 보관 수명을 유발하는 것으로 제안되었다.

[0426] A. 대안적 완충액 종류의 조사:

[0427] 동결 건조된 산물에 대한 제제 개발을 개시하기 위해, 대안적 완충액 종류가 조사되었다. 초기 임상 단계 제제에서 이용된 완충액 종류는 히스티딘 아세트산염 완충액이었다. L-히스티딘은 매우 다양한 기전을 통해 산화되는 잠재력을 갖는 것으로 알려져 있는데, 이들 중에서 가장 흔히 관찰되는 산화 기전은 광산화이다. 참조: Mason, B., et al Oxidation of Free L-histidine by tert-Butylhydroperoxide., *Pharm Res.* (2010) 27(3):447-456. 이에 더하여, 아세트산염은 동결 건조 과정 동안 증발하고, 따라서 pH 변화를 야기할 수 있는데, 이것은 면역접합체 산물을 불안정하게 만들 수 있다. 게다가, 아세트산염을 갖는 것은 동결 건조 과정에 대한 잠재적 위험인 것으로 고려될 수 있는데, 그 이유는 아세트산염이 가연성이기 때문이다. 이런 이유로, 대안적 완충액 종류가 평가되었다. 3가지 제제가 표 3에서 도시된 바와 같이 검사되었다.

[0428] 표 3: 완충액 종류 스크린 및 pH 범위 사정

표 3

단백질 농도	완충액 종류	pH
22 mg/mL	히스티딘/히스티딘-HCL	5.5
22 mg/mL	숙신산나트륨	5.0
22 mg/mL	숙신산나트륨	6.0

[0430] 일회용 PETG 용기에서 표 3에서 동결 해동된 항-CD79b-vc-MMAE 제약학적 조성물의 안정성이 동결/해동 응력 실험에서 사정되었다. 단백질 제제는 무균 여과되고 PETG 용기에 채워졌다. 이들 용기는 T=0 및 1 주 동안 -20°C에서 배치되었다. 이들 용기는 총 5회 동안 동결되고 실온으로 해동되었다. 단지 T=0 및 세 번째 동결 해동 주기만 분석되었다. 결과는 표 4에서 요약된다.

[0431] 표 4: 동결 해동된 항-CD79b-vc-MMAE의 안정성

표 4

항-CD79b-VC-MMAE: 5X 동결 해동 연구 (대규모 Tox 로트) 결과 요약																
제제	동결 해동 주기(X)	CAC	가시적인 미립자	농도 (mg/mL)	투광도 (AU)	pH	SEC			HPLC						
							HMWS			LMWS			(고분자량 수지/mL)			
							>2um	>5um	>10um	>25um	>25um	>25um	>25um			
10mM His/His-HCL 130mM NaCl/포스포스, 0.06% PS-20, pH 5.5	0	투광 (원칙)	없음	22.3	0.09	5.57	0.6	99.2	0.2	133	15	3	0	없음		
	1	투광 (원칙)	없음	23.4	0.08	5.53	0.6	99.2	0.2	213	66	17	1			
	2	투광 (원칙)	없음	23.9	0.10	5.54	0.6	99.2	0.2							
	3	투광 (원칙)	없음	22.7	0.09	5.53	0.6	99.2	0.2							
	4	투광 (원칙)	없음	23.0	0.08	5.54	0.6	99.2	0.2							
	5	투광 (원칙)	없음	22.7	0.08	5.55	0.6	99.2	0.2	295	68	22	3			
10mM NaCl/포스포스, 130mM NaCl/포스포스, 0.06% PS-20, pH 5.0	0	투광 (원칙)	없음	20.9	0.08	5.04	0.6	99.2	0.2	10	2	0	0	없음		
	1	투광 (원칙)	없음	20.6	0.08	5.06	0.6	99.2	0.2	57	17	7	1			
	2	투광 (원칙)	없음	20.6	0.08	5.04	0.6	99.2	0.2							
	3	투광 (원칙)	없음	21.0	0.08	5.06	0.6	99.2	0.2							
	4	투광 (원칙)	없음	21.3	0.07	5.04	0.6	99.2	0.2							
	5	투광 (원칙)	없음	21.5	0.07	5.06	0.6	99.1	0.2	43	10	4	1			
10mM NaCl/포스포스, 130mM NaCl/포스포스, 0.06% PS-20, pH 6.0	0	완전 투광 (원칙)	없음	21.0	0.10	5.99	0.7	99.1	0.2	24	6	3	0	없음		
	1	완전 투광 (원칙)	없음	21.3	0.11	6.01	0.7	99.1	0.2	45	24	12	4			
	2	완전 투광 (원칙)	없음	21.1	0.11	6.02	0.7	99.1	0.2							
	3	완전 투광 (원칙)	없음	21.4	0.10	6.04	0.7	99.1	0.2							
	4	완전 투광 (원칙)	없음	20.9	0.11	6.02	0.7	99.1	0.2							
	5	완전 투광 (원칙)	없음	22.1	0.10	6.03	0.7	99.1	0.2	167	56	23	8			

[0433] 이들 결과는 검사된 3가지 제제 중에서 어느 것에서도 문제가 관찰되지 않았다는 것을 증명한다. 이런 이유로, 히스티딘 또는 숙신산염의 이용은 히스티딘-아세트산염에 대한 허용가능 대안적 완충액 종류일 것이다.

[0434] 그 다음, 30°C에서 전하 변이체 형성에 대한 pH의 효과를 검사하는 안정성 스크린이 검사되었다. 2 주, 4 주 및 8 주의 3가지 상이한 시점에서 30°C에서 응력 부하된, 표 3의 경우에서와 같은 동일한 3가지 액체 제제를 이용하여, 전하 변이체 분포가 PrinCE 미량주사기가 구비된 iCE280 분석기 (ProteinSimple) 및 100 μ m x 5 cm의 탄화플루오르-코팅된 모세관 카트리지 (ProteinSimple)에 의해 사정되었다. 중쇄 C 말단 리신 잔기를 제거하기 위해, 1:1000 (w/w)의 효소-대-기질 비율에서 희석 단계 후, 카르복시펩티드분해효소 B (CpB)가 각 표본에 첨가되었다. 이에 더하여, 시알산을 제거하기 위해 시알리다아제 A가 첨가되었다. CpB 및 시알리다아제 A의 첨가 후, 표본이 37°C에서 10 분 동안 항온처리되었다. 항온처리된 액체 제제 표본은 700 μ L의 1% 메틸 셀룰로오스,

1218 μL 의 정제수, 8 μL 의 파르말리트 8-10.5, 55 μL 의 파르말리트 5-8, 15 μL 의 pI 마커 5.12, 4 μL 의 pI 마커 7.05의 혼합물로 구성되는 양성체 용액과 혼합되었다. 이들 표본은 80 mM 인산의 양극액 및 100 mM 수산화나트륨의 음극액 (둘 모두 0.1% 메틸 셀룰로오스에서)으로 1 분 동안 1500 V의 전위, 그 이후에 5 분 동안 3000V의 전위를 도입함으로써 집중되었다. 280 nm 자외선 (UV) 광을 모세관을 관통하여 및 전하 결합 소자 디지털 카메라의 렌즈 내로 통과시킴으로써, 집중된 전하 변이체의 이미지가 획득되었다. 결과는 **도 9** 및 **도 10**에서 도시되는데, 이들은 pH 5.0 및 5.5 사이에서, 산 종류의 더욱 적은 형성 및 염기 종류에서 약간 더 빠른 형성이 있다는 것을 증명하였다. 따라서, 완충액 성분은 전하 안정성에 대한 예측가능한 영향을 갖지 않는 것으로 보인다.

[0435] B. 안정성에 대한 pH 효과의 조사:

[0436] 2 주, 4 주 및 8 주의 3가지 상이한 시점에서 30°C에서 응력 부하된, **표 3**의 경우에서와 같은 동일한 3가지 액체 제제를 이용하여, 30°C에서 크기 변이체 형성에 대한 pH의 효과를 검사하는 안정성 스크린이 검사되었다. 크기 변이체 분포는 0.25 mM 염화칼륨, pH 6.2를 이동상으로서 이용한, Agilent Technologies 1200 계열 HPLC (Santa Clara, California) 상에서 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해 결정되었다. 이들 액체 제제 표본은 이후, Tosoh Bioscience TSKgel G3000SWXL 칼럼 (South San Francisco, California) 위에 부하되었다. 이들 표본은 0.5 ml/분의 유속을 이용하여 30 분에 걸쳐 용리되었고, 그리고 흡광도가 280 nm에서 모니터링되었다. 결과는 곡선 아래 총면적의 상대적 피크 면적으로서 보고되고 **도 11**에서 도시된다. 이러한 안정성 스크린은 pH 5.0 및 5.5 사이에서, pH 6.0과 비교하여 더욱 적은 고분자량 종류 (HMWS)가 관찰된다는 것을 증명하였다. 30°C에서 4 주 후, 유사한 양의 저분자량 종류 (LMWS)가 관찰되었다. 8 주에, 30°C에서 약간 더 많은 LMWS가 관찰되었다. pH를 5.3으로 감소시키는 것이 전하와 크기 변이체 형성 둘 모두를 감소시키는 것처럼 보였기 때문에, pH 5.3이 선택되었다.

[0437] **도 12**는 2가지 완충액 종류를 검사하는 크로마토그램을 도시한다: 3가지 상이한 pH: 5.0, 5.5 및 6.0에서 숙신산나트륨과 비교하여 pH 5.5에서 히스티딘/히스티딘-HCl. pH 5.5에서 히스티딘 완충액은 검사된 임의의 pH (pH 5.0, 5.5, 또는 6.0)에서 숙신산나트륨보다 30°C에서 액체에서 약간 더 나은 물리적 안정성을 전시하였다. 하지만, 숙신산나트륨 완충액이 액체에서 허용가능 안정성을 전시하였기 때문에, 히스티딘에서 잠재적인 산화 위험을 고려하여, 숙신산나트륨 완충액이 선택되었다.

[0438] C. 동결 건조된 제제 검사:

[0439] 전술된 위험을 경감하기 위해, 동결 건조된 제제가 검사되었다. 동결 건조 주기에 대한 일반적인 체계는 **표 5**에서 도시된 바와 같았다.

[0440] **표 5:** 항-CD79b-vc-MMAE에 대한 동결 건조 주기

표 5

[0441]

단계	설명	온도 (°C)	압력 ($\mu\text{m Hg}$)	시간 (HH: MM)
1	부하	5	해당 없음	해당 없음
2	유지	5	해당 없음	1:00
3	동결 경사	-35	해당 없음	2:00
4	동결	-35	해당 없음	6:00
5	배출	해당 없음	120	해당 없음
6	일차 건조 경사	0	120	3:00
7	일차 건조	0	120	54:00
8	이차 건조 경사	20	120	2:00
9	이차 건조	20	120	10:00

[0442] 주기 길이는 대략 78 시간 또는 약 3 일이었다. 수분 함량은 0.5% 내지 0.7% 사이에 있도록 세팅되었다.

[0443] **표 6**에서 도시된 바와 같이 다양한 항-CD79b-vc-MMAE 농도, 2가지 상이한 완충액 종류, 상이한 pHs 및 2가지 상이한 계면활성제 수준을 검사하는 동결 건조된 선별검사 연구가 수행되었다.

[0444] **표 6:** 동결 건조된 선별검사 연구 - 검사 제제

표 6

#	단백질 농도	완충액	안정제/강장제	계면활성제	pH
1	10 mg/ml	10 mM Na 숙신산염	260 mM 수크로오스	0.06% PS20	5.0
2	10 mg/ml	10 mM Na 숙신산염	260 mM 수크로오스	0.06% PS20	5.5
3	10 mg/ml	10 mM Na 숙신산염	260 mM 수크로오스	0.06% PS20	6.0
4	20 mg/ml	10 mM Na 숙신산염	260 mM 수크로오스	0.06% PS20	5.5
5	10 mg/ml	10 mM His/His-HCl	260 mM 수크로오스	0.08% PS20	5.5

이들 검사 동결 건조된 제제는 선별검사 연구의 일부로서 30℃에서 2 개월까지 동안 보관되었다.

안정성에 대한 지표로서 각 검사된 제제 (1) 내지 (5)에 대해 개발된 임의의 단량체를 정량하기 위해, 전술된 바와 같이, 각 검사된 제제의 10 mg/ml까지 또는 20 mg/ml까지의 재구성 후, SEC 분석이 이용되었다. 도 13은 본 연구를 요약하고, 그리고 30℃에서 2 개월에 걸친 열응력 후, 검사된 임의의 제제에서 단량체의 퍼센트에서 어떤 변화도 없었다는 것을 증명한다. 각 동결 건조된 제제 (1) 내지 (5)는 또한, 30℃에서 2 개월의 열응력 후, 주요 피크 퍼센트를 결정하기 위해, 전술된 바와 같이 icIEF에 의해 검사되었다. 도 14는 본 연구를 요약하고, 그리고 30℃에서 2 개월에 걸친 열응력 후, 검사된 임의의 제제에서 주요 피크 퍼센트에서 어떤 변화도 없었다는 것을 증명한다. 이들 2 연구의 결과로서, 5.0 내지 6.0의 pH 범위에 걸쳐 숙신산나트륨 완충액이 검사된 동결 건조된 제제에 대한 허용가능 안정성을 유발하는 것으로 결정되었다.

D. 동결 건조된 케이크 외관:

동결 건조된 제제의 중요한 양상은 동결 건조된 케이크의 실제 외관인데, 그 이유는 이것이 제품 품질 속성이기 때문이다. 항-CD79b-vc-MMAE 동결 건조된 제제의 경우에, 동결 건조된 케이크의 외관을 향상시키는 방법을 조사하기 위해 면역접합체의 농도 및 안정제/강장제의 농도 둘 모두 검사되었다. 도 15a - 도 15c는 상이한 단백질 대 수크로오스 비율에서 검사되는 3가지 동결 건조된 제제를 도시한다. 검사된 3가지 수크로오스 수준 모두에 대해 동결 건조된 케이크의 하부에서 절흔이 목격되었는데, 이것은 이상적인 동결 건조된 케이크 외관을 창출하지 못한다. 그럼에도 불구하고, 유사한 동결 건조 조건 하에, 더욱 적은 수크로오스를 갖는 제제는 더욱 작은 절흔을 보여주고, 그리고 더욱 낮은 수크로오스 농도는 더욱 적은 수분을 야기한다. 다른 동결 건조된 제제가 검사되었는데, 여기서 면역접합체 농도는 20 mg/ml로 증가되었고, 반면 수크로오스 농도는 120 mM로 낮아졌다. 도 16a 및 도 16b는 2가지 동결 건조된 케이크 외관을 비교한다. 20 mg/ml 면역접합체 농도와 120 mM 수크로오스 조합은 가장 견실하고 균일한 동결 건조된 케이크 외관을 나타냈다. 40℃, 25℃ 및 5℃에서 4 주에 걸쳐 열응력 안정성 연구를 수행할 때, 케이크 구조, 컬러 또는 외관에서 어떤 변화도 목격되지 않았고, 그리고 수분 함량은 <5% 상태로 유지되었다.

E. 동결 건조된 제제의 안정성:

pH 5.3에서 10 mM 숙신산나트륨에서 의약품: 20 mg/ml 항-CD79b-vc-MMAE, 120 mM 수크로오스, 0.12% PS20의 동결 건조된 제제는 가용성 응집체 또는 전하 변이체 형성에 의해 예측된 대로 안정성에 대해 검사되었다. 가용성 응집체는 전술된 바와 같이, SEC에 의해 예측되었다. 도 17은 상기 동결 건조된 의약품에 대해, 25℃ 및 2-8℃에서 8 주에 걸쳐 가용성 응집체에서 0.1% 이하의 증가가 있었다는 것을 보여준다. 주당 이합체 응집체 종류에서 대략 0.1% 증가가 40℃에서 관찰되었고, 그리고 이러한 응집의 속도는 수분 수준에 의존할 수 있다. 전하 변이체는 전술된 바와 같이, icIEF에 의해 예측되었다. 도 18은 상기 동결 건조된 의약품에 대해, 40℃에서 4 주 후 주요 피크에서 대략 5% 손실 및 산성물에서 3.7% 증가를 보여준다. 25℃ 및 2-8℃에서 어떤 유의미한 변화도 예측되지 않았다. 결과적으로, 25℃ 및 2-8℃에서 응력 부하된 조건 하에 상기 동결 건조된 의약품에 대해 어떤 변화도 관찰되지 않았다.

표 7은 실시예 1과 2에서 설명된 많은 연구의 결과로서 도달된 최종 항-CD79b-vc-MMAE 제제를 요약한다.

표 7: 최종 항-CD79b-vc-MMAE 제제의 요약

표 7

	최종 상업적인 의약품 제제	이론적 근거
약형	동결 건조됨, SWFI로 단일 이용 1:1 재구성	숙신이미드 가수분해 및 산화 위험을 최소화한다

제제	20 mg/ml 의약품	허용가능 동결 건조된 케이크 외관
	10 mM 숙신산나트륨	동결 건조-친화적; 산화 위험을 최소화한다
	pH 5.3	숙신이미드 가수분해 위험을 최소화한다
	120 mM 수크로오스	허용가능 동결 건조된 케이크 외관
	0.12% PS20	IV 백에서 안정성을 가능하게 한다
투여 루트/전달	정맥내 IV 백	상업적인 편의

[0455] 상기 표 7에서 보여 지는 바와 같이, 최종 상업적인 의약품 제제는 20 mg/ml 의약품을 내포하는데, 이것은 단백질-대-약물 비율을 증가시켜, 상기 용액이 동결 건조될 때 향상된 케이크 외관을 유발한다. 0.12% PS20 (다시 말하면, 1.2 mg/ml)은 IV 백 및 IV 주입 세트를 이용한 투여 동안 목격된 계면 응력으로부터 제제 내에 단백질을 보호한다. 5.3의 pH는 숙신이미드 가수분해에 의해 기여되는 산성 변이체의 형성을 최소화한다. 표 7에서 제제는 1.8 mg/kg의 임상적 용량을 뒷받침하기 위해, 7.2 mL SWFI에서 재구성 후 바이알마다 140 mg의 의약품을 전달하도록 설계되었다.

[0456] 실시예 3: 항-CD79b-vc-MMAE 원료의약품 및 의약품 제제의 견고성 평가

[0457] 동결 건조된 제제에서 상기 의약품 (표 7 참조)은 0.3% (w/w) 내지 3.2% (w/w)의 잔류 수분 함량 범위에 걸쳐 2℃-8℃에서 적어도 44 개월 동안뿐만 아니라 0.3% (w/w) 내지 3.2% (w/w)의 잔류 수분 함량 범위에 걸쳐 25℃에서 적어도 7 개월 동안 안정된 것으로 밝혀졌다.

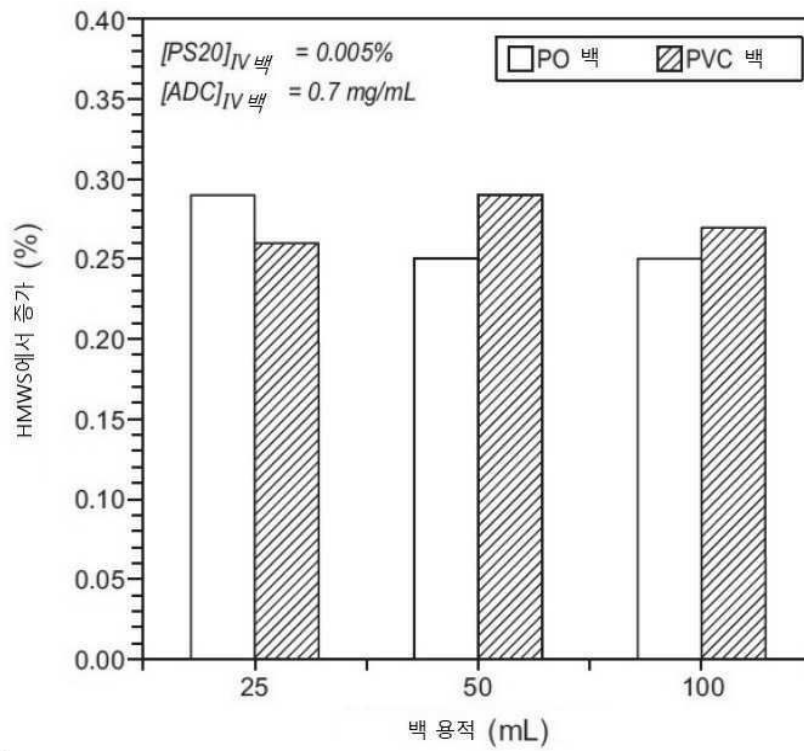
[0458] 그 다음, 상기 동결 건조된 의약품의 제제 파라미터가 변화되고, 그리고 동결 건조된 의약품의 안정성에 대한 실질적으로 의미 있는 영향에 대해 평가되었다. 검사된 5가지 제제 파라미터 (및 이들 파라미터가 변화된 범위)는 하기와 같았다: (a) 단백질 농도 (17-23 mg/ml), (b) 숙신산염 농도 (7-23 mM), (c) 수크로오스 농도 (90-150 mM), (d) 폴리소르베이트 20 농도 (0.9-1.5 mg/ml), 그리고 (e) pH (4.95-5.65). 9 개월까지의 지속 기간 동안 2℃-8℃에서 보관 이후에, 동결 건조된 의약품의 안정성에 대한 어떤 실질적으로 의미 있는 효과도 관찰되지 않았다. 모형-예측된 분해 속도에 근거하여, 적어도 24 개월까지의 지속 기간 동안 2℃-8℃에서 보관 이후에, 동결 건조된 의약품의 안정성에 대한 어떤 실질적으로 의미 있는 효과도 예상되지 않는다.

[0459] 재구성된 의약품 용액 (다시 말하면, pH 5.3에서 10 mM 숙신산염, 120 mM 수크로오스, 1.2 mg/mL 폴리소르베이트 20에서 20 mg/mL 폴라투주맙 베도틴)은 환경 광에 노출 시에, 2℃-8℃에서 72 시간의 보관 후 또는 30℃에서 24 시간의 보관 후 물리화학적으로 안정된 것으로 밝혀졌다. 표적 (다시 말하면, CD79b)에 대한 폴라투주맙 베도틴의 친화성에서 또는 폴라투주맙 베도틴의 생물학적 활성에서 어떤 유의미한 변화 (예를 들면, 통계학적으로 유의한 변화)도 검출되지 않았다.

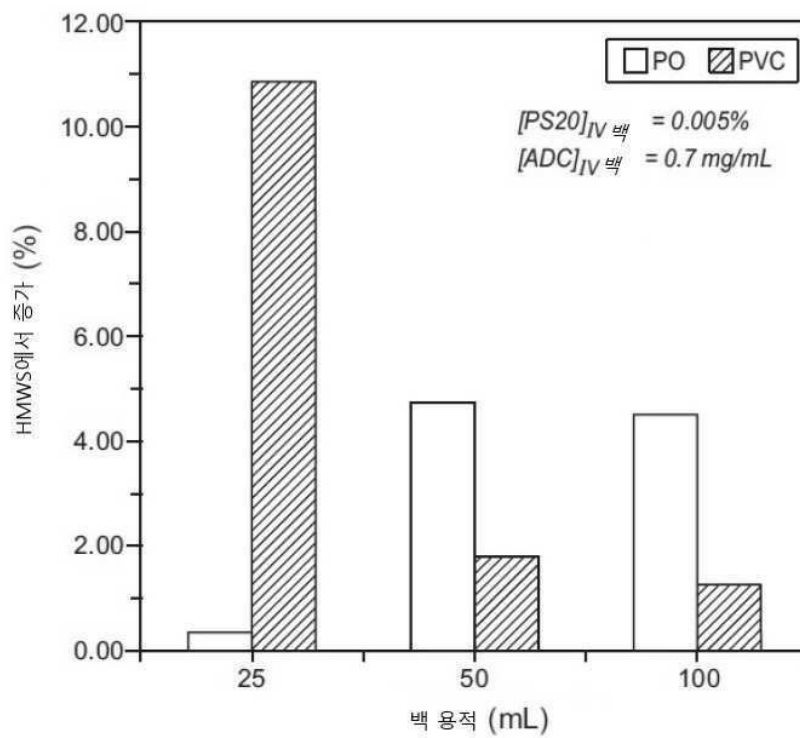
[0460] 비록 본 발명이 이해의 명료함을 위해 예시와 실례에 의하여 일부 상세하게 설명되긴 했지만, 이들 설명과 실례는 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본원에서 인용된 모든 특허와 과학 문헌의 개시는 명시적으로 전체적으로 참조로서 편입된다.

도면

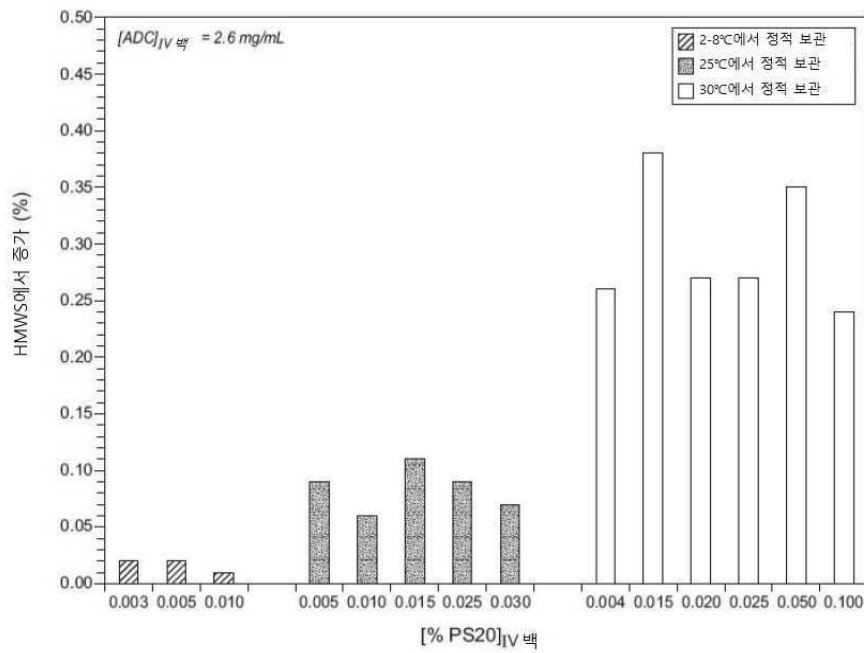
도면1



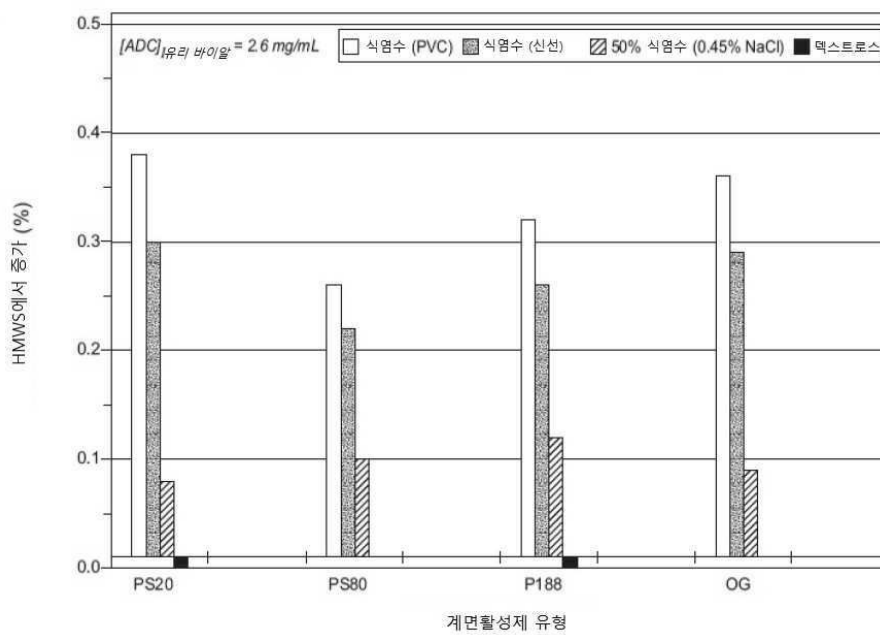
도면2



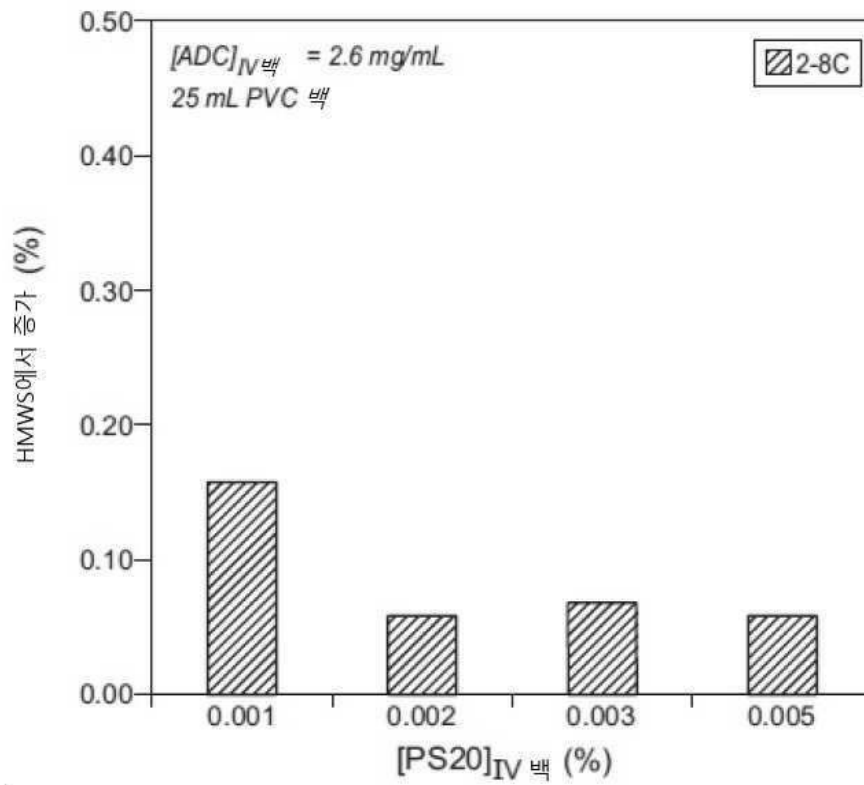
도면3



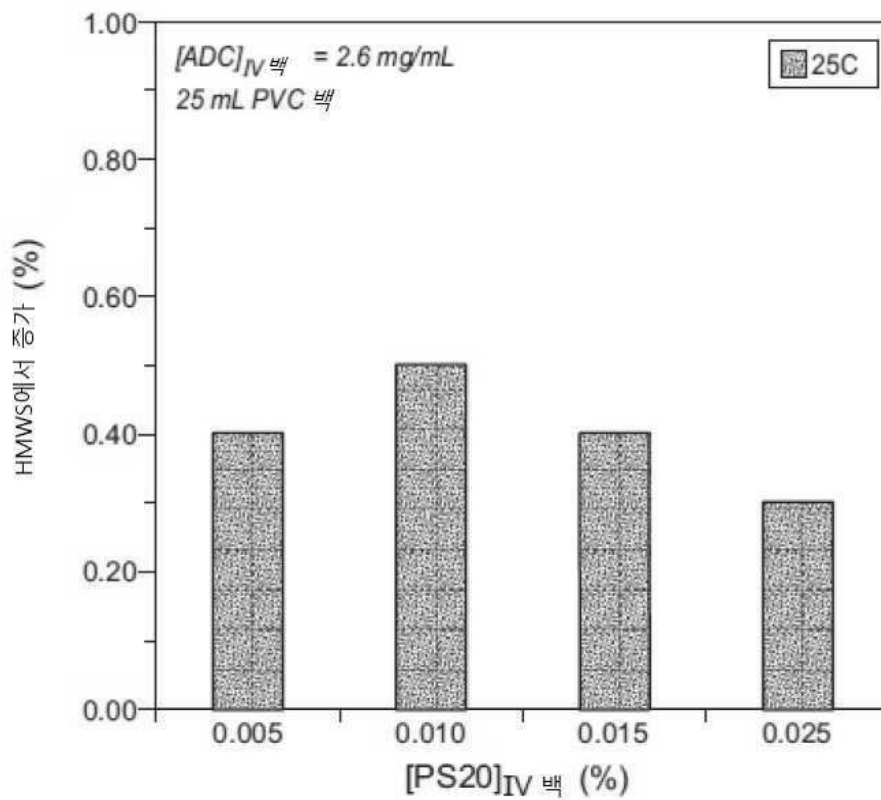
도면4



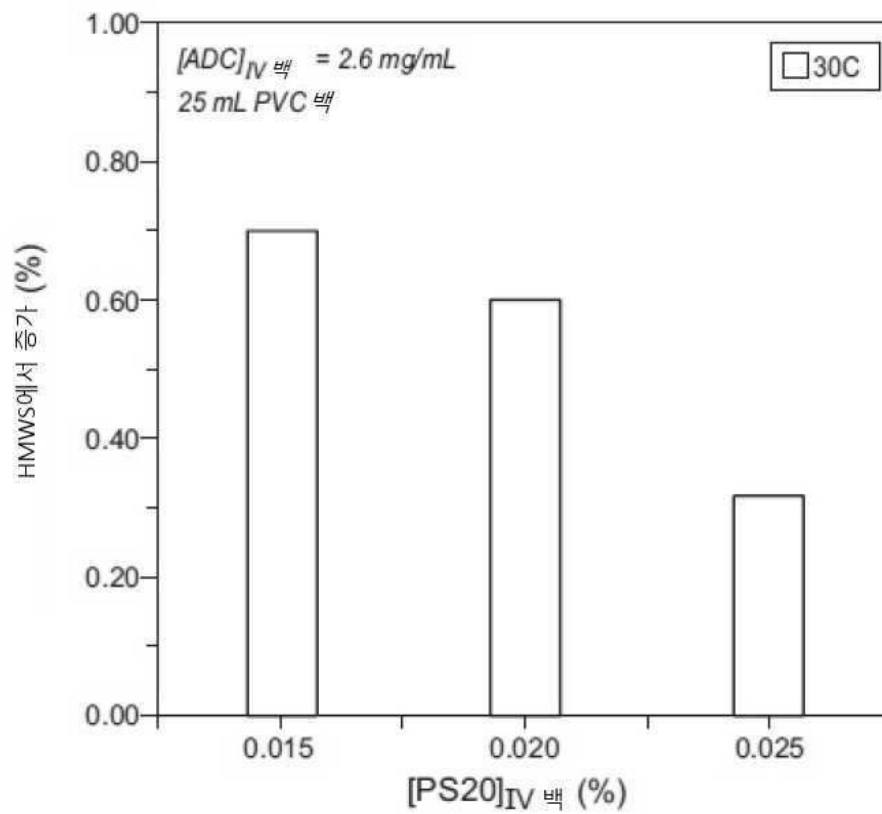
도면5a



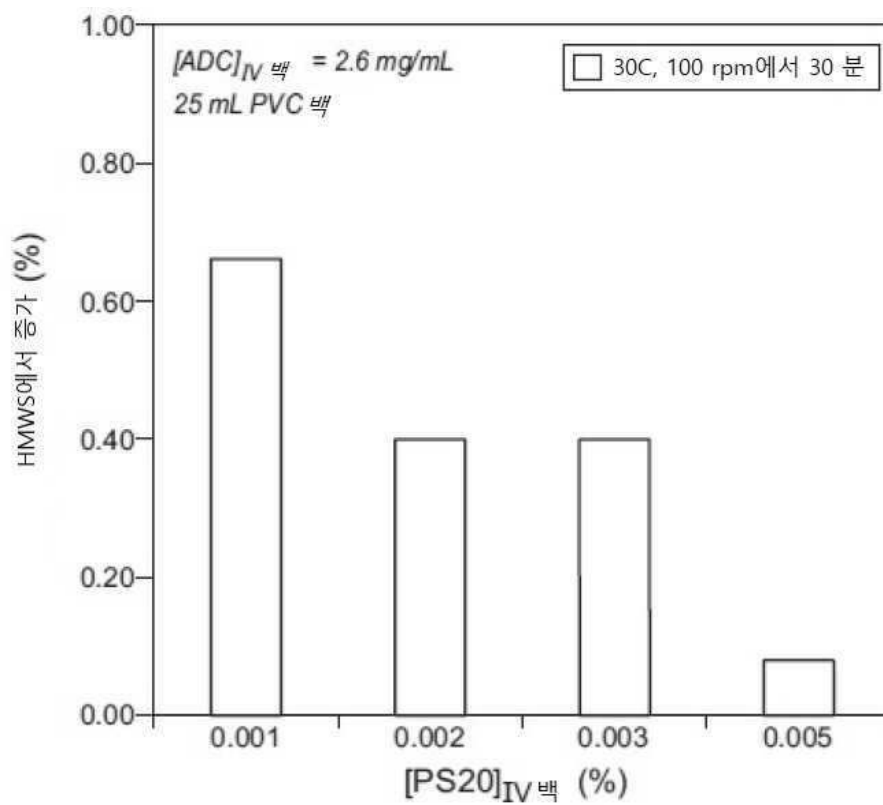
도면5b



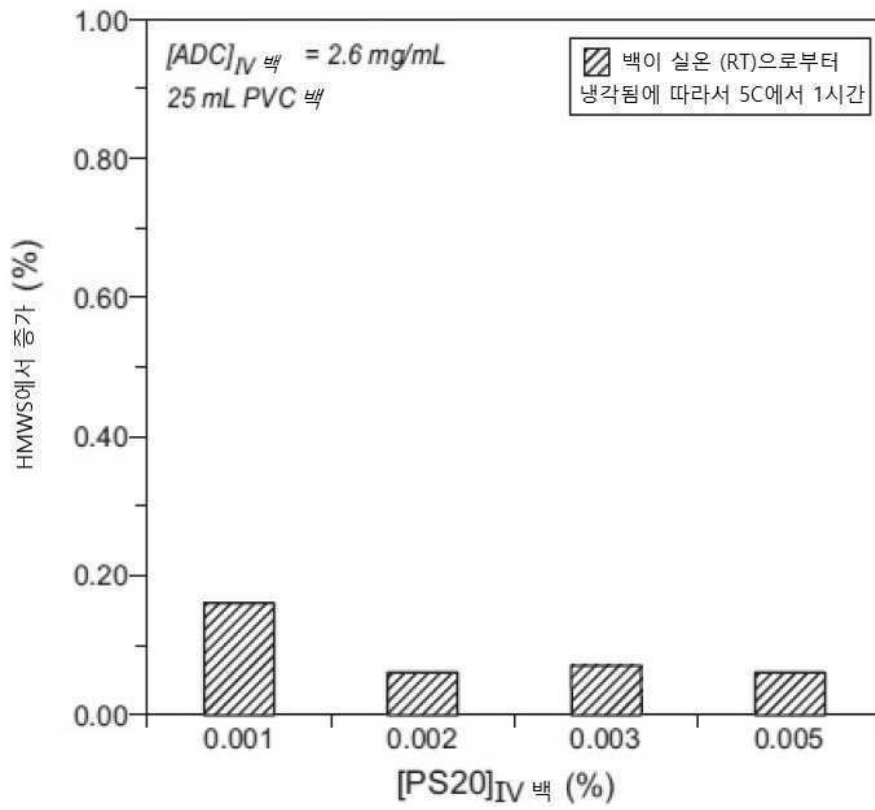
도면5c



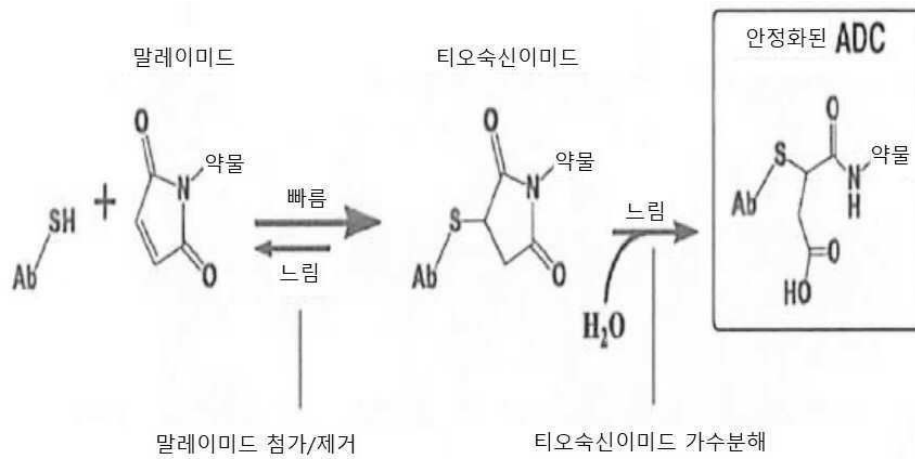
도면6



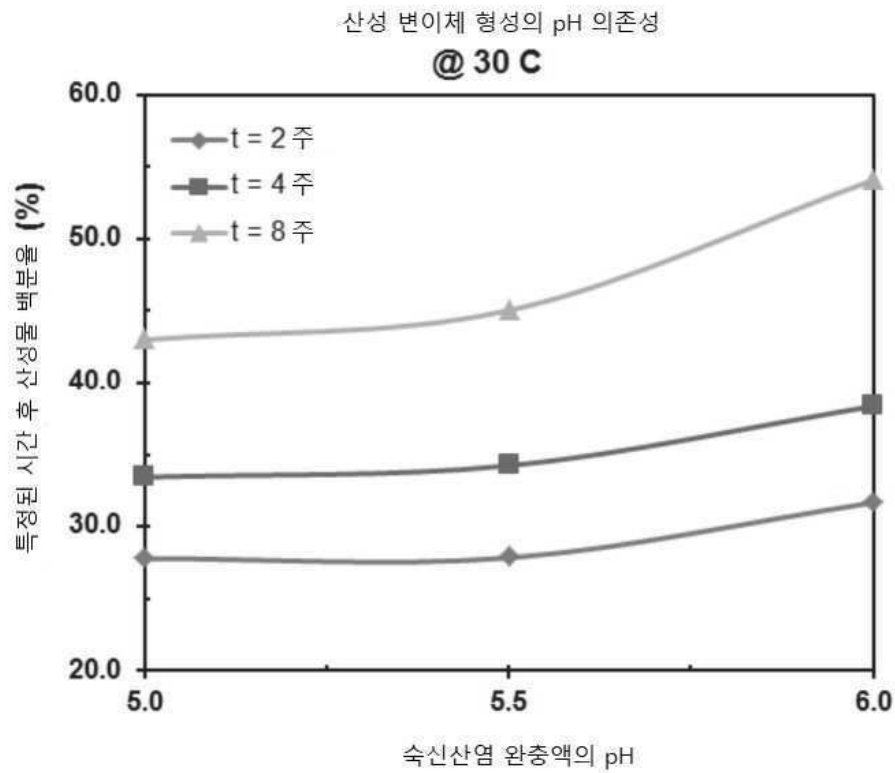
도면7



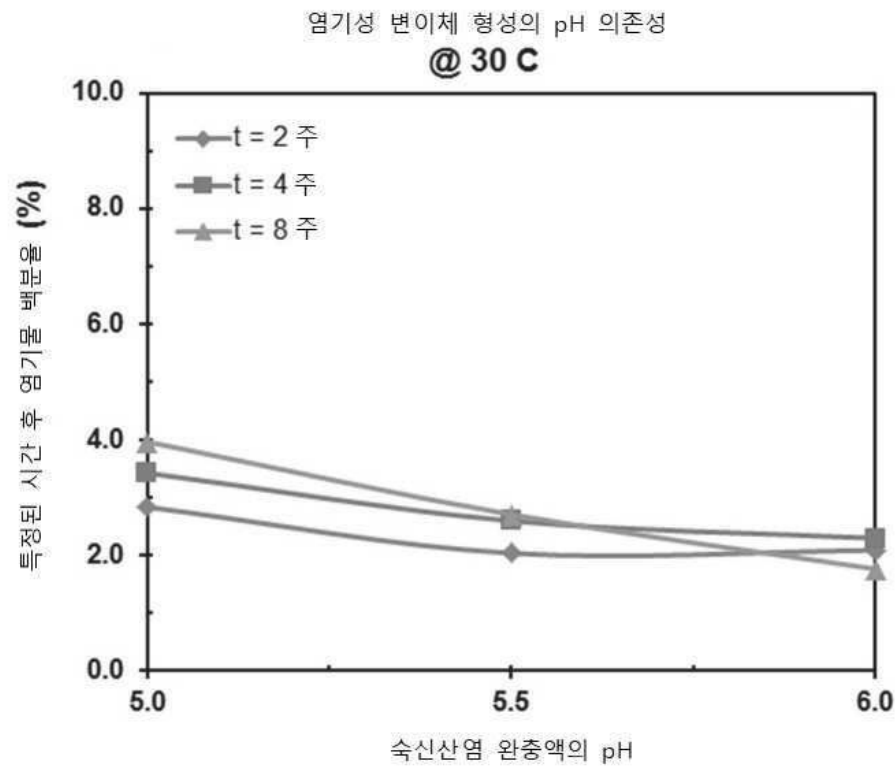
도면8



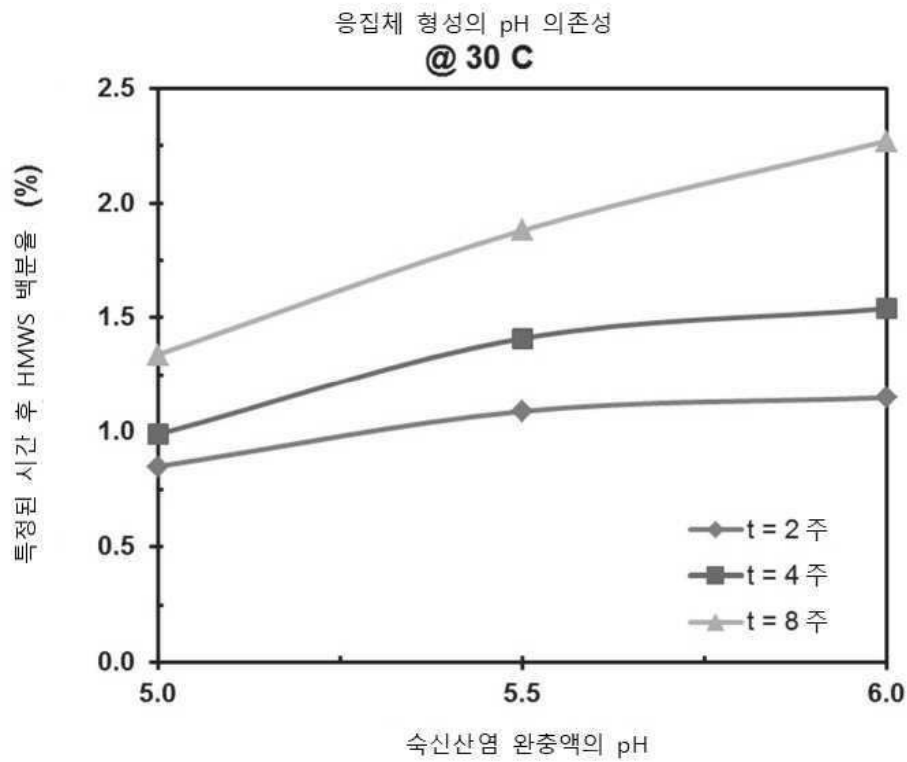
도면9



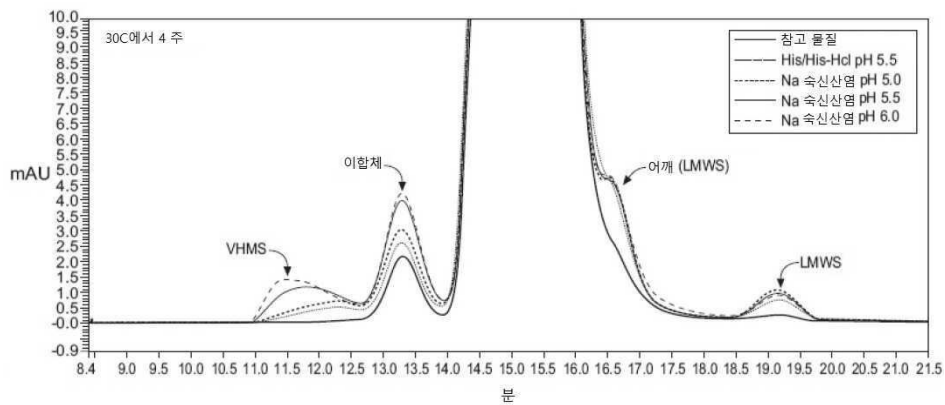
도면10



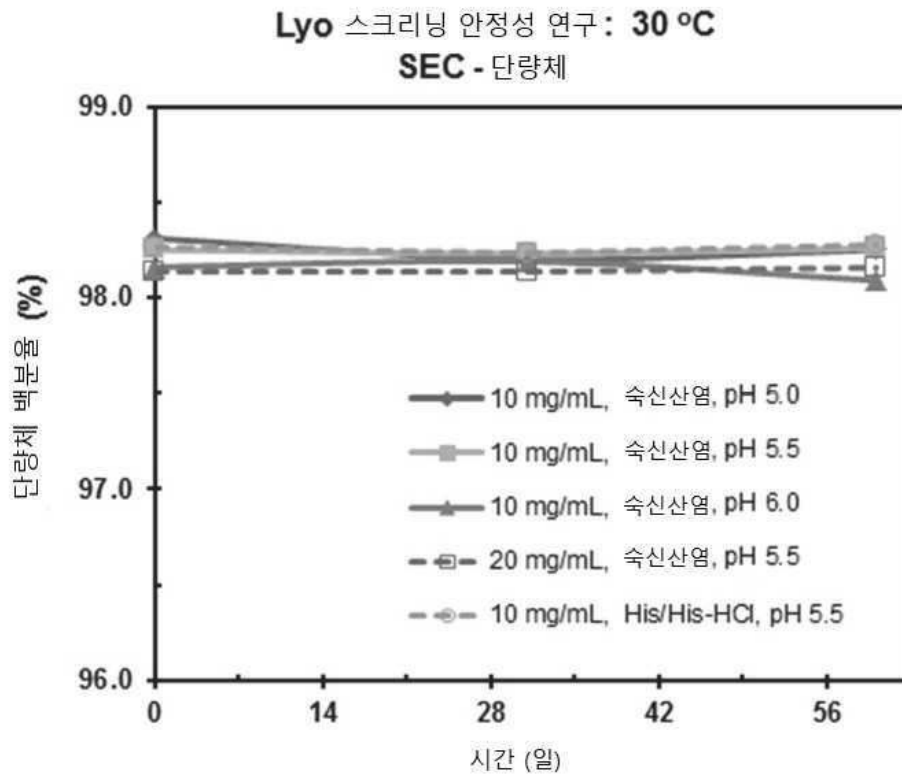
도면11



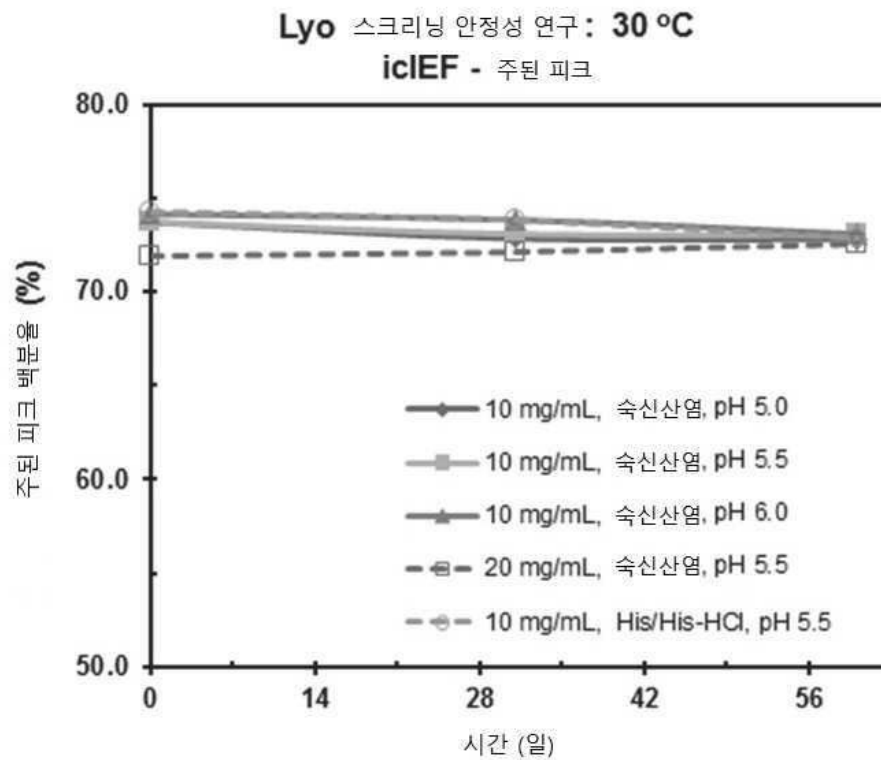
도면12



도면13



도면14

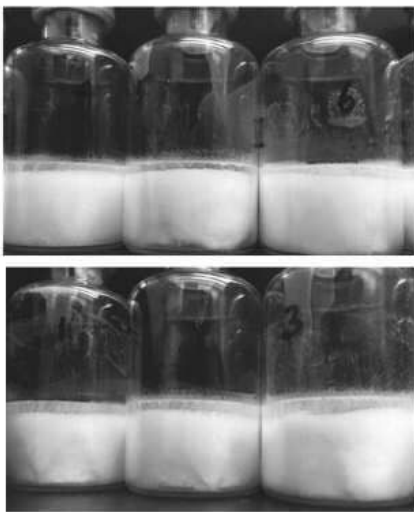


도면15a



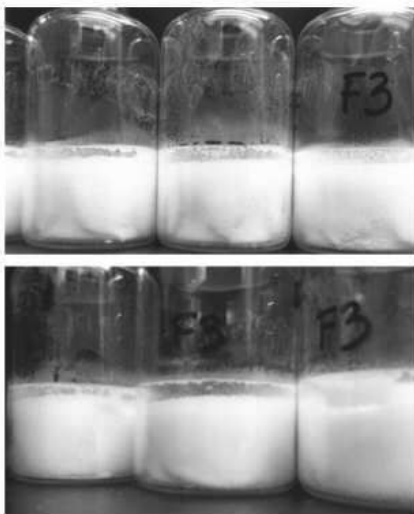
10 mg/mL
260mM 수크로오스
수분 ~2.4%

도면15b



10 mg/mL
180 mM 수크로오스
수분 ~1.9%

도면15c

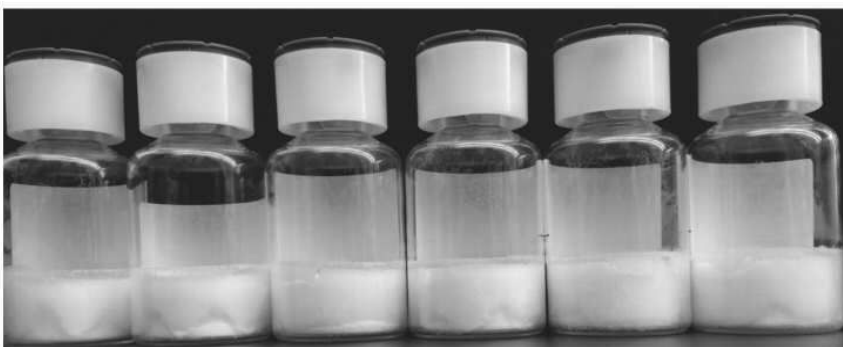


10 mg/mL
120mM 수크로오스
수분 ~1.5%

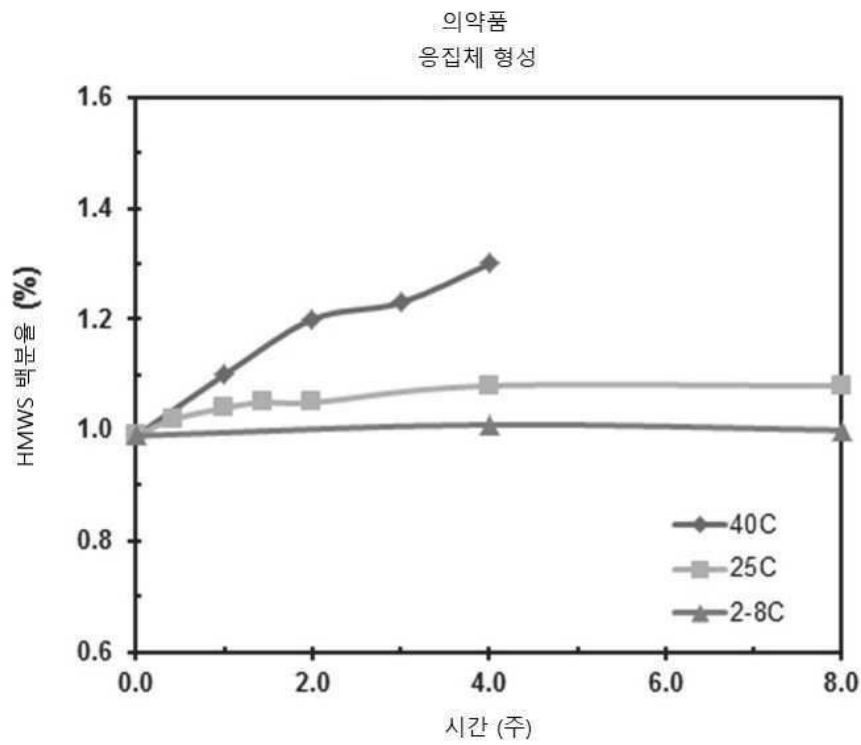
도면16a



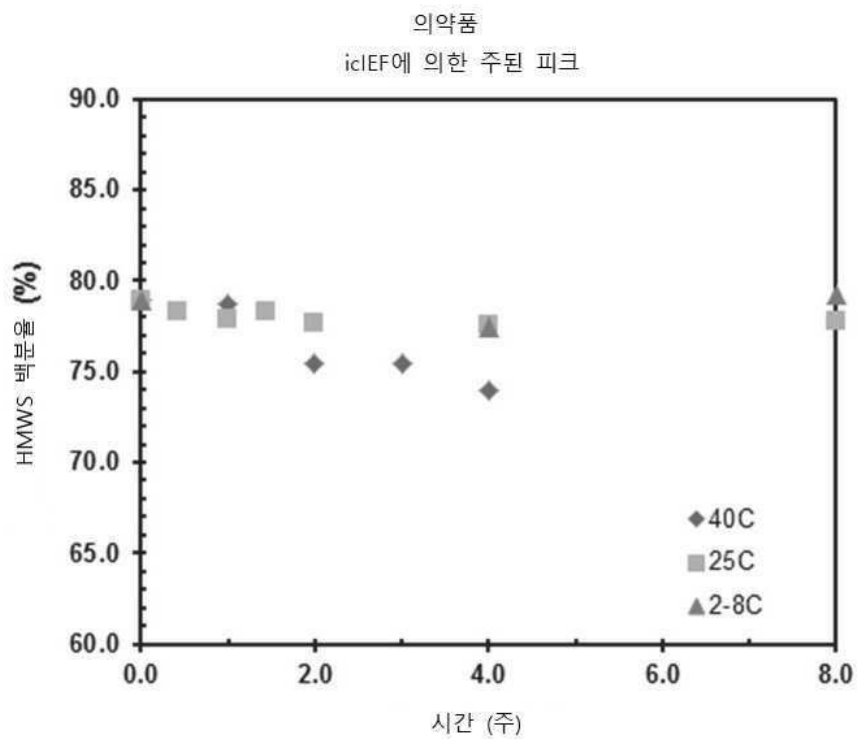
도면16b



도면17



도면18



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Genentech, Inc.

<120> STABLE ANTI-CD79B IMMUNOCONJUGATE FORMULATIONS

<130> 14639-20443.40

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> US 62/657,185

<151> 2018-04-13

<160> 18

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 1

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Glu Gly Asp Ser Phe Leu Asn

1 5 10 15

<210> 2

<211>

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 2

Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 3

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr

1 5

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 4

Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu

1 5 10

<210> 5

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 5

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 6

Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 7

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Trp Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Gly Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Glu Ile Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Ala Thr Phe Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 8

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 8

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Glu

20 25 30

Gly Asp Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50				55				60							
Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
65				70				75				80			
Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Asn
				85				90				95			
Glu	Asp	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg
100								105				110			

<210> 9

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> Synthetic Construct

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1					5					10					15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr				
				20					25					30					
Trp	Ile	Glu	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile				
				35					40					45					
Gly	Glu	Ile	Leu	Pro	Gly	Gly	Gly	Asp	Thr	Asn	Tyr	Asn	Glu	Ile	Phe				
				50					55					60					
Lys	Gly	Arg	Ala	Thr	Phe	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr				

65						70						75						80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
					85						90						95	
Thr	Arg	Arg	Val	Pro	Ile	Arg	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu			
					100						105						110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu			
					115						120						125	
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys			

130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

 260 265 270
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

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

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

<210> 10

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220>

<223> Synthetic Construct

<400> 10

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Glu

20 25 30

Gly Asp Ser Phe Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn

85 90 95

Glu Asp Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
 145 150 155 160
 Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
 165 170 175
 Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
 180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 11

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 11

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
 20 25

<210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 12

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 1 5 10
 <210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 13

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 14

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 14

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

20

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 15

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> Synthetic Construct

<400> 16

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

1 5 10

<210> 17

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 17

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 18

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 18

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

20 25 30