



(21)申請案號：112126392

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 04 月 12 日

(51)Int. Cl. :

A61K47/68 (2017.01)

A61K47/12 (2006.01)

A61K47/26 (2006.01)

A61K9/08 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/04/13美國62/657,185

(71)申請人：美商建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC. (US)
美國

(72)發明人：帕托 安奇特 R PATEL, ANKIT R. (US)；劉 俊 LIU, JUN (US)

(74)代理人：陳長文；朱淑尹

(56)參考文獻：
WO 2014/177615A2

審查人員：楊婷雅

申請專利範圍項數：4 項圖式數：18共 133 頁

(54)名稱

穩定抗 CD79B 免疫結合物調配物

(57)摘要

本發明提供包含抗 CD79b 免疫結合物及界面活性劑之穩定醫藥組成物。本發明亦提供使用該等組成物治療癌症之方法。

The disclosure provides stable pharmaceutical compositions comprising an anti-CD79b immunoconjugate and a surfactant. The disclosure also provides methods for using such compositions for the treatment of cancer.

指定代表圖：

[illegible]



I848769

【發明摘要】

【中文發明名稱】穩定抗 CD79B 免疫結合物調配物

【英文發明名稱】STABLE ANTI-CD79B IMMUNOCONJUGATE

FORMULATIONS

【中文】

本發明提供包含抗 CD79b 免疫結合物及界面活性劑之穩定醫藥組成物。本發明亦提供使用該等組成物治療癌症之方法。

【英文】

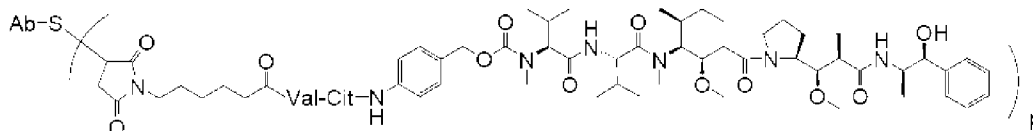
The disclosure provides stable pharmaceutical compositions comprising an anti-CD79b immunoconjugate and a surfactant. The disclosure also provides methods for using such compositions for the treatment of cancer.

【指定代表圖】圖 6

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明說明書】

【中文發明名稱】穩定抗 CD79B 免疫結合物調配物

【英文發明名稱】STABLE ANTI-CD79B IMMUNOCONJUGATE

FORMULATIONS

【技術領域】

【0001】 本發明係針對包含抗 CD79b 免疫結合物及界面活性劑之穩定醫藥組成物。本發明亦提供使用該等組成物治療癌症之方法。

【先前技術】

【0002】 使用輸液袋靜脈內(IV)投藥係在商業環境中遞送生物製劑之最常用途徑。為了實現藉由 IV 投藥遞送生物製劑諸如免疫結合物及其相容性，有必要設計出在輸液袋中稀釋之後、在運輸期間及在整個投藥過程中維持穩定性之適合治療調配物(Bardin, C. 等人, *Annales pharmaceutiques francaises* 69 (2011) 221-231)。

【0003】 投與生物製劑，尤其是使用 IV 輸液袋投與生物製劑的一個難題在於，構造及輸注溶液之材料可為治療蛋白質呈現不穩定環境。另外，該蛋白質亦會在 IV 袋中遭遇界面應力。在固-液及空氣-水界面處之蛋白質吸收可能在該表面處引起蛋白質變性，導致蛋白質聚集(Shieh, I. 等人, *Mol Pharm.* 12 (2015): 3184-93；Sreedhara, A. 等人, *Pharm. Sci.* 101 (2012): 21-30)。攪動輸液袋會使空氣-液體界面不斷地再生，隨時間推移而對蛋白質造成反復地損害，使得 IV 投藥變得複雜。由 IV 袋中使溶液不穩定之條件或由界面應力引起的聚集可顯著地且負面地影響生物製劑之產品品質、效力及免疫原性。

【0004】 在調配物開發中使用界面活性劑可部分地降低 IV 投藥對生物製劑之有害影響。在蛋白質調配物中常常使用非離子型界面活性劑，諸如聚山梨醇酯-20 (PS20)或聚山梨醇酯-80 (PS80)來保護分子免受空氣-水界面應力影響並使

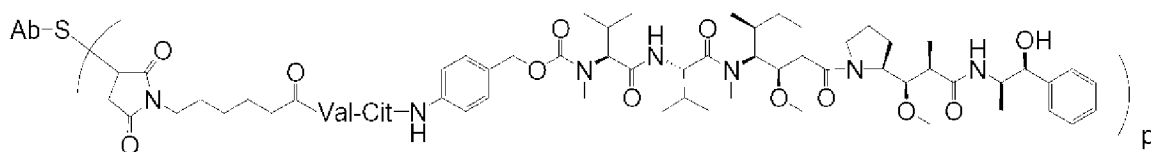
該分子對空氣-水界面應力穩定(Kerwin, BA. *J. Pharm. Sci.* 97 (2008) 2924-2935)。界面活性劑可藉由在空氣-水及固體-水界面處與蛋白質競爭來保護藥品(DP)免受表面誘導之損傷(Kerwin, BA. *J. Pharm. Sci.* 97 (2008) 2924-2935)。此外，界面活性劑還降低該系統之表面張力(Cleland, JL. 等人, *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems* 10 (1993) 307-377)。然而，使用適於 IV 袋遞送之濃度之非離子型界面活性劑的一個重要缺點在於，使生物製劑長時間暴露於界面活性劑可能導致特定胺基酸殘基氧化，由此降低治療效力。Lam X 等人, *Pharm Res.* (2011) 28:2543-2555。

【0005】 重要的是，在 IV 投藥之前，生物製劑還必須在儲存條件下具有較長的穩定保存期限，而不會損害治療蛋白質之結構及活性。舉例而言，採用連接子的抗體-藥物結合物(ADC)之液體調配物可能易於在儲存期間發生酸催化之連接子水解。此種不穩定性會使藥物化合物在向患者 IV 投與時提前釋放，由此負面地影響生物製劑之藥物動力學及安全性。

【0006】 因此，需要開發一種穩定的醫藥組成物，該醫藥組成物兼具對 IV 投藥之穩定性以及具有較長保存期限。本發明滿足此要求且提供其他相關優點。

【發明內容】

【0007】 在一個態樣中，本發明提供一種醫藥組成物，其包括抗 CD79b 免疫結合物及界面活性劑，其中該界面活性劑之濃度係至少 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)，且其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中：

Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含

(a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNEEDPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6)；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 1 至約 8(例如介於約 2 與約 5 之間，諸如為約 3.5)之值。

【0008】 在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 5 mg/ml 至約 60 mg/ml、約 10 mg/ml 至約 50 mg/ml、約 10 mg/ml 至約 40 mg/ml、約 10 mg/ml 至約 30 mg/ml，或約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml。

【0009】 在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml。在一個實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 10 mg/ml。在另一個實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 20 mg/ml。

【0010】 在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 5 mg/ml 至 60 mg/ml、10 mg/ml 至 50 mg/ml、10 mg/ml 至 40 mg/ml、10 mg/ml 至 30 mg/ml 或 10 mg/ml 至 20 mg/ml。

【0011】 在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml 至 20 mg/ml。在一個實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml。在另一個實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20 mg/ml。

【0012】 在一些實施例中，該界面活性劑之濃度係在約 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)與約 0.12% w/v (亦即，1.2 mg/ml)之間。在一些實施例中，該界面活性劑之濃度係至少約 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)。在另一個實施例中，該界面活性劑之濃度係至少約 0.12% w/v (亦即，1.2 mg/ml)。在一些實施例中，該界面活性劑之濃度係至少 0.06% w/v。在另一個實施例中，該界面活性劑之濃度係至少 0.12% w/v。在一些實施例中，該界面活性劑之濃度係 0.06% w/v。在另一個實施

例中，該界面活性劑之濃度係 0.12% w/v。

【0013】 在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 10 mg/ml 且該界面活性劑之濃度係約 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)。在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 20 mg/ml 且該界面活性劑之濃度係至少約 0.12% w/v。在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 20 mg/ml 且該界面活性劑之濃度係約 0.12% w/v (亦即，1.2 mg/ml)。

【0014】 在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml 且該界面活性劑之濃度係 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)。在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20 mg/ml 且該界面活性劑之濃度係至少 0.12% w/v。在一些實施例中，該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20 mg/ml 且該界面活性劑之濃度係 0.12% w/v。

【0015】 在根據(或如用於)以上任一實施例之一些實施例中，該醫藥組成物係液體醫藥組成物。在一些實施例中，該液體醫藥組成物在 30°C 下儲存時穩定保持至少約 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時中之任一個，或在 2°C-8°C 下儲存時穩定保持至少約 24、48 或 72 小時中之任一個。

【0016】 在本發明之某些實施例中，本文中之界面活性劑係非離子型的。在一個例示性實施例中，該界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯 20 (PS20)、聚山梨醇酯 80 (PS80)、泊洛沙姆(poloxamer)188 (P188)、N-辛基-β-D 吡喃葡萄糖苷(OG)及其組合。在一個具體實施例中，該界面活性劑係 PS20。在又另一個具體實施例中，該界面活性劑係 PS80。

【0017】 在本發明之一些實施例中，該組成物進一步包括緩衝劑。在某些實施例中，緩衝劑係組胺酸緩衝劑。在一些實施例中，該緩衝劑係琥珀酸鹽緩衝劑。在一個具體實施例中，該琥珀酸鹽緩衝劑係琥珀酸鈉緩衝劑。在一些實施例中，該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係約 10 mM 至約 200 mM。在一些實施例中，

該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係 10 mM 至 200 mM。在一個實施例中，該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係約 10 mM。在另一個實施例中，該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係 10 mM。

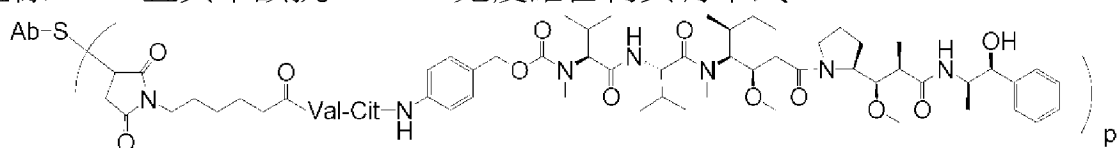
【0018】 在一些實施例中，本發明之組成物的 pH 值係約 5.0 至約 6.0。在具體實施例中，緩衝劑之 pH 值係約 5.0、約 5.1、約 5.2、約 5.3、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9 或約 6.0。在一個實施例中，本發明之組成物的 pH 值係約 5.3。在一些實施例中，本發明之組成物的 pH 值係 5.0 至 6.0。在具體實施例中，緩衝劑之 pH 值係 5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9 或 6.0。在一個實施例中，本發明之組成物的 pH 值係 5.3。

【0019】 在本發明之某些實施例中，該組成物進一步包括糖。在一些實施例中，該糖之濃度係約 100 mM 至約 260 mM。在一些實施例中，該糖之濃度係 100 mM 至 260 mM。在一些實施例中，該糖係選自由以下組成之群：蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、甘油、聚葡萄糖 40 及繭蜜糖。

【0020】 在一個具體實施例中，該糖係蔗糖。在本發明之一個實施例中，蔗糖之濃度係約 120 mM。在另一個實施例中，蔗糖之濃度係 120 mM。

【0021】 在一些實施例中，本發明之組成物係凍乾的(諸如凍乾塊)。在一些實施例中，凍乾組成物係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0022】 在一個態樣中，本發明提供一種藉由使液體調配物凍乾來製造之醫藥組成物，該液體調配物包括在 10 mM 琥珀酸鈉緩衝劑、0.12% w/v 聚山梨醇酯 20 及 120 mM 蔗糖中之 20 mg/ml 抗 CD79b 免疫結合物，其中該液體調配物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物具有下式：

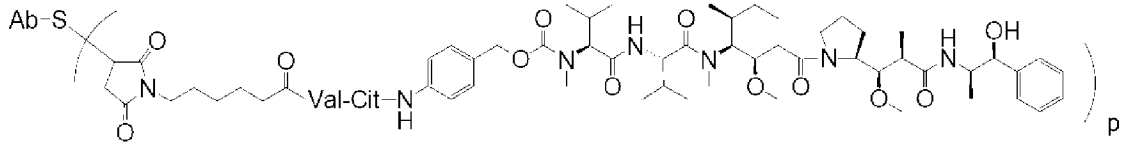


其中：

Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含 (a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNE DPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6)；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 1 至約 8(例如介於約 2 與約 5 之間，諸如為約 3.5)之值。

【0023】 在本發明之一些實施例中，該抗 CD79b 抗體包括含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列的重鏈可變結構域(VH)及含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的輕鏈可變結構域(VL)。在一些實施例中，該重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列且該輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列。

【0024】 亦提供一種藉由使液體調配物凍乾來製造之醫藥組成物，該液體調配物包含在 10 mM 琥珀酸鈉緩衝劑、0.12% w/v 聚山梨醇酯 20 及 120 mM 蔗糖中之 20 mg/ml 抗 CD79b 免疫結合物，其中該液體調配物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中 Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列，該輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 2 至約 5(諸如約 3.5)之值。在一些實施例中，該醫藥組成物係凍乾塊。

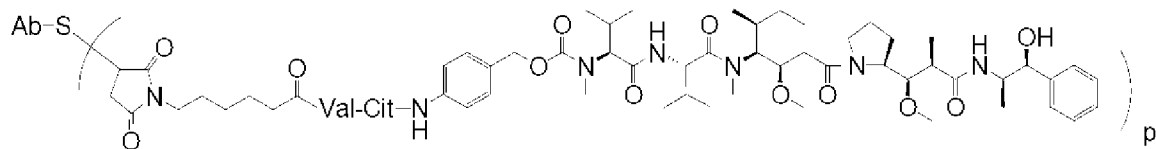
【0025】 在某些實施例中，本發明之醫藥組成物當避光保存時在 5°C ± 3°C 下具有約 60 個月之穩定性。在某些實施例中，本發明之醫藥組成物當避光保存時在 5°C ± 3°C 下具有約 48 個月之穩定性。

【0026】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物的穩定性係藉由尺寸排阻高效液相層析法(SE-HPLC)量測。在一個實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有至少 95.0 之主峰(面積%)。

【0027】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物的穩定性係藉由成像毛細管等電聚焦(imaged capillary isoelectric focusing, icIEF)量測。在一個實施例中，如藉由 icIEF 所量測，該組成物具有至少 58.0 之主峰(面積%)、至多 32.0 之酸區(面積%)及至多 12.0 之鹼區(面積%)。

【0028】 在某些實施例中，本發明之醫藥組成物係用無菌注射用水(SWFI)復原。在一些實施例中，該醫藥組成物係在約 7.2 ml SWFI 中復原。在一些實施例中，該復原之組成物當在約 30°C 下儲存時穩定保持至少 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時。在一些實施例中，該復原之組成物當在約 2°C 至約 8°C 下儲存時穩定保持至少 24、48 或 72 小時。在一些實施例中，該復原之組成物在靜脈內(IV)袋中之等滲緩衝劑中進一步稀釋。在一些實施例中，IV 袋中經稀釋之組成物的最終體積係在約 50 ml 與約 100 ml 之間。在一些實施例中，IV 袋中該免疫結合物之濃度係在約 0.72 mg 與約 2.7 mg 之間。

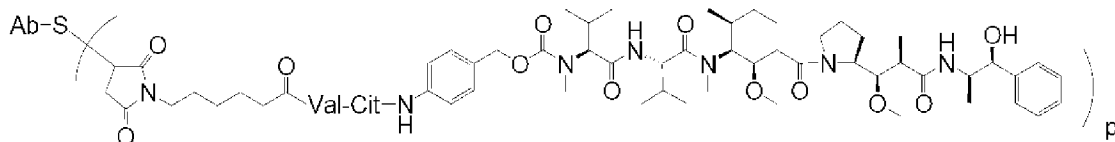
【0029】 本文亦提供一種藉由使液體調配物凍乾來製造之醫藥組成物，該液體調配物包含在 10 mM 琥珀酸鈉緩衝劑、0.12% w/v 聚山梨醇酯 20 及 120 mM 蔗糖中之 20 mg/ml 抗 CD79b 免疫結合物，其中該液體調配物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中 Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列，該輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 2 至約 5(諸如約 3.5)之值。

【0030】 提供一種液體組成物(諸如用於靜脈內投與)，其包含 a)在約 0.72 與約 2.7 mg/ml 之間的泊拉珠單抗凡酯(polatuzumab vedotin);b)在約 0.36 與約 0 1.35 mM 之間的琥珀酸鈉；c)在約 0.51 與約 16.24 mM 之間的蔗糖；d)在約 0.0432 與約 0.162 mg/ml 之間的聚山梨醇酯 20，其中該液體組成物之 pH 值係在約 5 與約 5.7 之間。亦提供一種液體組成物(諸如用於靜脈內投與)，其包含 a)約 0.72 mg/ml 泊拉珠單抗凡酯；b)約 0.36 mM 琥珀酸鈉；c)約 0.51 mM 蔗糖；d)約 0.0432 mg/ml 聚山梨醇酯 20，其中該液體組成物之 pH 值係在 5.1 與約 5.4 之間。亦提供一種液體組成物(諸如用於靜脈內投與)，其包含 a)約 2.7 mg/ml 泊拉珠單抗凡酯；b)約 0 1.35 mM 琥珀酸鈉；c)約 16.24 mM 蔗糖；d)約 0.162 mg/ml 聚山梨醇酯 20，其中該液體組成物之 pH 值係在約 5.1 與約 5.4 之間。在一些實施例中，該液體組成物之體積係在約 50 ml 與約 100 ml 之間。在一些實施例中，該液體組成物之體積係 50 ml。在一些實施例中，該液體組成物之體積係 100 ml。在一些實施例中，該液體組成物係包含在靜脈內(IV)袋中。在一些實施例中，接觸該液體組成物之 IV 袋的表面係由聚氯乙烯(PVC)、聚烯烴(PO)、聚乙烯(PE)或聚丙烯(PE)構成。

【0031】 在一個態樣中，本發明提供一種醫藥組成物，其包含抗 CD79b 免疫結合物、界面活性劑、琥珀酸鹽緩衝劑及糖，其中該醫藥組成物當在水中復原時形成液體調配物，該液體調配物包含約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml 濃度之該抗 CD79b 免疫結合物、至少 0.06% w/v(亦即，0.6 mg/ml)濃度之該界面活性劑、約 10 mM 至約 200 mM 濃度之該琥珀酸鹽緩衝劑及約 100 mM 至約 260 mM 濃度之該糖，其中該液體調配物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中 Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含(a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNE DPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6)；Val 係纈氨酸；Cit 係瓜氨酸；且 p 係自約 1 至約 8 (例如介於約 2 與約 5 之間，諸如為約 3.5)之值。在一些實施例中，該抗 CD79b 抗體包括含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列的重鏈可變結構域(VH)及含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的輕鏈可變結構域(VL)。在一些實施例中，該抗 CD79b 之重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列，且該抗 CD79b 抗體之輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列。

【0032】 在一些實施例中，該醫藥組成物係在 SWFI 中復原且隨後在 IV 袋中之緩衝劑中稀釋。在某些實施例中，該醫藥組成物係在 SWFI 中復原且隨後在 IV 袋中之等滲緩衝劑中稀釋。在一個實施例中，在 IV 袋中稀釋之後，該界面活性劑之濃度係至少 0.003% w/v。在一個實施例中，在 IV 袋中稀釋之後，該界面活性劑之濃度係至少 0.004% w/v。在一些實施例中，該界面活性劑係聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，該糖係蔗糖。在一個具體實施例中，蔗糖之濃度係 120 mM。在一些實施例中，該琥珀酸鹽緩衝劑係琥珀酸鈉緩衝劑。在一個具體實施例中，該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係 10 mM。在一些實施例中，醫藥組成物在復原之後當在約 30°C 下儲存時穩定保持至少 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時。在一些實施例中，該醫藥組成物在復原之後當在約 2°C 至約 8°C 下儲存時穩定保持至少 24、48 或 72 小時。

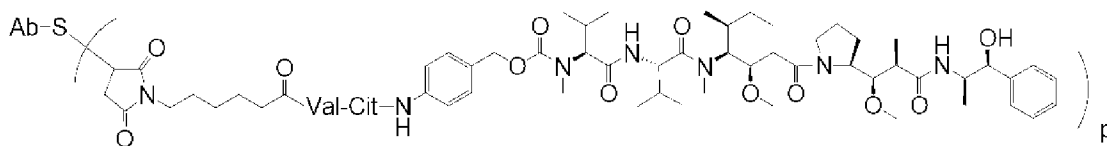
【0033】 在一些實施例中，該醫藥組成物當在水中復原時在 30°C 下具有長達約 1 天、長達約 2 天或長達約 3 天之穩定性。在一些實施例中，該醫藥組成物當

在水中復原時在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下具有長達約 1 天、長達約 2 天、長達約 3 天、長達約 4 天、長達約 5 天、長達約 6 天或長達約 7 天之穩定性。在某些實施例中，該組成物之穩定性係藉由尺寸排阻高效液相層析法(SE-HPLC)量測。在一個具體實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有至少 95.0 之主峰(面積%)。

【0034】 在某些實施例中，該組成物之穩定性係藉由成像毛細管等電聚焦 (icIEF) 量測。在一個具體實施例中，如藉由 icIEF 所量測，該組成物具有至少 58.0 之主峰(面積%)、至多 32.0 之酸區(面積%)及至多 12.0 之鹼區(面積%)。

【0035】 在一些實施例中，本文所揭示之醫藥組成物係包含在玻璃小瓶(例如 20 ml 玻璃小瓶)中。

【0036】 在一個態樣中，本發明提供一種液體組成物，其包含抗 CD79b 免疫結合物、界面活性劑、琥珀酸鹽緩衝劑及糖，其中該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml，該界面活性劑之濃度係至少 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)，該琥珀酸鹽緩衝劑之濃度係約 10 mM 至約 200 mM 且該糖之濃度係約 100 mM 至約 260 mM，其中該液體組成物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中：

Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含 (a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNE DPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6)；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 1 至約 8 (例如介於約

2 與約 5 之間，諸如為約 3.5)之值。在一些實施例中，該抗 CD79b 抗體包括含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列的重鏈可變結構域(VH)及含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的輕鏈可變結構域(VL)。在一些實施例中，該抗 CD79b 之重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列，且該抗 CD79b 抗體之輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列。

【0037】 在一些實施例中，該界面活性劑係聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，該糖係蔗糖。在一個具體實施例中，蔗糖之濃度係 120 mM。在一些實施例中，該琥珀酸鹽緩衝劑係琥珀酸鈉緩衝劑。在一個具體實施例中，該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係 10 mM。

【0038】 在一些實施例中，本發明之液體組成物係在等滲緩衝劑中稀釋。在一個例示性實施例中，溶解於等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物係在 IV 袋中。在一些實施例中，用於稀釋液體組成物之等滲緩衝劑係 0.9%氯化鈉溶液、0.45%氯化鈉溶液或 5%右旋糖溶液。

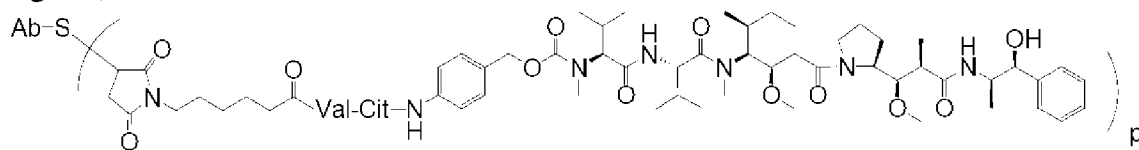
【0039】 在一些實施例中，在 0.9%氯化鈉溶液中稀釋的本文所提供之液體組成物在稀釋之後在 2°C-8°C下穩定(根據本文別處所描述之任一個或多個標準)保持長達至少約 24 小時。在一些實施例中，在 0.9%氯化鈉溶液中稀釋的本文所提供之液體組成物在稀釋之後在 9°C至 25°C下穩定(根據本文別處所描述之任一個或多個標準)保持長達約 4 小時。在一些實施例中，在 0.45%氯化鈉溶液中稀釋的本文所提供之液體組成物在稀釋之後在 2°C-8°C下穩定(根據本文別處所描述之任一個或多個標準)保持長達至少約 24 小時。在一些實施例中，在 0.45%氯化鈉溶液中稀釋的本文所提供之液體組成物在稀釋之後在 9°C至 25°C下穩定(根據本文別處所描述之任一個或多個標準)保持長達約 4 小時。在一些實施例中，在 5%右旋糖溶液中稀釋的本文所提供之液體組成物在稀釋之後在 2°C-8°C下穩定(根據本文別處所描述之任一個或多個標準)保持長達至少約 48 小時。在一些實

施例中，在 5% 右旋糖溶液中稀釋的本文所提供之液體組成物在稀釋之後在 9°C 至 25°C 下穩定(根據本文別處所描述之任一個或多個標準)保持長達約 8 小時。

【0040】 在一些實施例中，在等滲緩衝劑中稀釋之液體組成物係在 IV 袋中。在一些實施例中，接觸在等滲緩衝劑中稀釋之液體組成物的 IV 袋之表面係由聚氯乙烯(PVC)、聚烯烴(PO)、聚乙烯(PE)或聚丙烯(PE)構成。

【0041】 在一些實施例中，在 IV 袋中之等滲緩衝劑中稀釋的本發明之液體組成物在 30°C 下具有長達約 6 至約 8 小時之穩定性。在一些實施例中，溶解於 IV 袋中之等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物在 25°C 下具有長達約 24 小時之穩定性。在一些實施例中，溶解於 IV 袋中之等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物在 5°C $\pm$ 3°C 下具有長達約 72 小時之穩定性。在某些實施例中，該等滲緩衝劑係標準生理食鹽水。在一些實施例中，該液體組成物當在約 30°C 下儲存時穩定保持至少 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時。在一些實施例中，該液體組成物當在約 2°C 至約 8°C 下儲存時穩定保持至少 24、48 或 72 小時。

【0042】 亦提供一種凍乾之醫藥組成物，其包含約 150 mg 抗 CD79b 免疫結合物、約 9.0 mg 聚山梨醇酯 20、約 8.88 mg 琥珀酸、約 4.08 mg 氫氧化鈉及約 309 mg 蔗糖，其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：

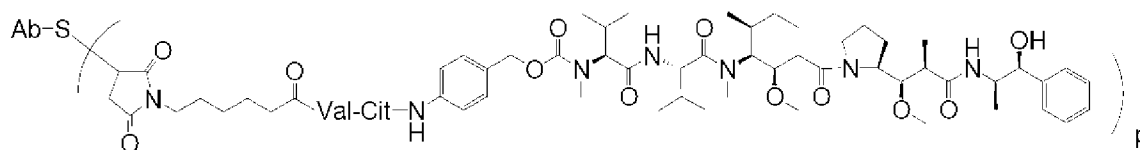


其中 Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該抗 CD79b 之重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列，且其中該抗 CD79b 抗體之輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 自係約 2 至約 5 (諸如約 3.5) 之值。在一些實施例中，凍乾組成物(諸如塊狀物)係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0043】 進一步提供一種凍乾之醫藥組成物，其包含約 150 mg 泊拉珠單抗凡

酯、約 9.0 mg 聚山梨醇酯 20、約 8.88 mg 琥珀酸、約 4.08 mg 氫氧化鈉及約 309 mg 蔗糖。在一些實施例中，凍乾組成物(諸如塊狀物)係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

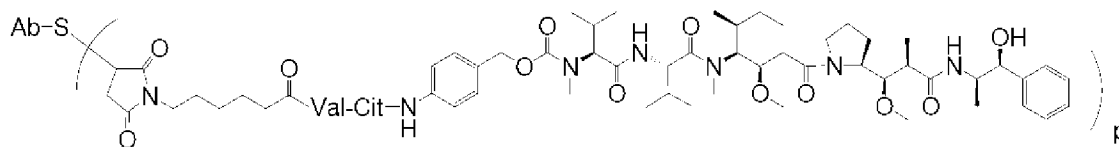
【0044】 亦提供一種凍乾之醫藥組成物，其包含約 140 mg 抗 CD79b 免疫結合物、約 8.4 mg 聚山梨醇酯 20、約 8.27 mg 琥珀酸、約 3.80 mg 氫氧化鈉及約 288 mg 蔗糖，其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中 Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該抗 CD79b 之重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列，且其中該抗 CD79b 抗體之輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 2 至約 5 (諸如約 3.5) 之值。在一些實施例中，凍乾組成物(諸如塊狀物)係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0045】 進一步提供一種凍乾之醫藥組成物，其包含約 140 mg 泊拉珠單抗凡酯、約 8.4 mg 聚山梨醇酯 20、約 8.27 mg 琥珀酸、約 3.80 mg 氫氧化鈉及約 288 mg 蔗糖。在一些實施例中，凍乾組成物(諸如塊狀物)係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0046】 亦提供一種凍乾之醫藥組成物，其包含約 30 mg 抗 CD79b 免疫結合物、約 1.8 mg 聚山梨醇酯 20、約 1.77 mg 琥珀酸、約 0.816 mg 氫氧化鈉及約 61.8 mg 蔗糖，其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中 Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該抗 CD79b 之重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列，且其中該抗 CD79b 抗體之輕鏈

包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 2 至約 5 (諸如約 3.5) 之值。在一些實施例中，該凍乾組成物係凍乾塊。在一些實施例中，凍乾組成物(諸如塊狀物)係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0047】 進一步提供一種凍乾之醫藥組成物，其包含約 30 mg 泊拉珠單抗凡酯、約 1.8 mg 聚山梨醇酯 20、約 1.77 mg 琥珀酸、約 0.816 mg 氫氧化鈉及約 61.8 mg 蔗糖。在一些實施例中，凍乾組成物(諸如塊狀物)係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0048】 在一些實施例中，本文所提供的凍乾之醫藥組成物係凍乾塊。在一些實施例中，根據本文任一實施例的凍乾之醫藥組成物在約 2°C 至約 8°C 下儲存時穩定保持至少 6、12、18、24、30、36、42、48、54 或 60 個月。

【0049】 提供一種液體醫藥組成物，其包含 a) 在約 5-60 mg/ml 之間的泊拉珠單抗凡酯；b) 在約 10-200 mM 之間的琥珀酸鈉；c) 在約 100-260 mM 之間的蔗糖；及 d) 在約 0.06-0.12% w/v 之間的聚山梨醇酯 20，其中該液體組成物之 pH 值係在 5 與 6 之間。在一些實施例中，該液體醫藥組成物包含 a) 在約 10-55 mg/ml 之間的泊拉珠單抗凡酯；b) 在約 10-100 mM 之間的琥珀酸鈉；c) 在約 150-260 mM 之間的蔗糖；及 d) 在約 0.08-0.12% w/v 之間的聚山梨醇酯 20，其中該液體組成物之 pH 值係在 5.1 與 5.6 之間。在一些實施例中，該液體醫藥組成物包含 a) 在約 15-40 mg/ml 之間的泊拉珠單抗凡酯；b) 在約 10-50 mM 之間的琥珀酸鈉；c) 在約 200-260 mM 之間的蔗糖；及 d) 在約 0.1-0.12% w/v 之間的聚山梨醇酯 20，其中該液體組成物之 pH 值係在 5.2 與 5.4 之間。在一些實施例中，該液體組成物係藉由使凍乾組成物(諸如塊狀物)復原獲得。在一些實施例中，該液體組成物係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0050】 亦提供一種液體醫藥組成物，其包含 a) 20 mg/ml 泊拉珠單抗凡酯；b) 10 mM 琥珀酸鈉；c) 120 mM 蔗糖；及 d) 0.12% w/v 聚山梨醇酯 20，其中該

液體組成物之 pH 值係約 5.3。在一些實施例中，該液體組成物係藉由使凍乾組成物(諸如塊狀物)復原獲得。在一些實施例中，該液體組成物係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0051】 在一些實施例中，根據本文任一實施例之液體組成物當在約 30°C 下儲存時穩定保持至少 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時。在一些實施例中，根據本文任一實施例之液體組成物當在約 2°C 至約 8°C 下儲存時穩定保持至少 24、48 或 72 小時。在一些實施例中，該液體組成物係藉由使凍乾組成物(諸如塊狀物)復原獲得。在一些實施例中，該液體組成物係包含在小瓶，例如 20 ml 玻璃小瓶中。

【0052】 在一些實施例中，本文所提供的復原之液體組成物在 2°C-8°C 下儲存 72 小時之後仍穩定。在一些實施例中，本文所提供的復原之液體組成物在暴露於環境光下在 30°C 下儲存 24 小時之後仍穩定。在一些實施例中，該復原之醫藥組成物包含在 10 mM 琥珀酸鹽、120 mM 蔗糖及 1.2 mg/mL 聚山梨醇酯 20 中之 20 mg/mL 泊拉珠單抗凡酯，其中 pH 值係 5.3。在一些實施例中，泊拉珠單抗凡酯對其靶(亦即，CD79b)之親和力或在泊拉珠單抗凡酯之生物活性中

【0053】 在一個態樣中，本發明提供一種治療有需要患者之增殖性病症的方法，其包括向患者投與本文所述之醫藥組成物或液體組成物。亦提供本文所述之醫藥組成物或液體組成物之用途，其係用於製造供治療有需要患者之增殖性病症用的藥物。在一些實施例中，提供本文所述之醫藥組成物或液體組成物，其係用於治療有需要患者之增殖性病症。亦提供本文所述之醫藥組成物或液體組成物，其係用於治療有需要患者之增殖性病症之方法中。

【0054】 在一些實施例中，該增殖性病症係癌症。在一個例示性實施例中，該癌症係 B 細胞增殖性病症。在具體實施例中，該 B 細胞增殖性病症係選自由以下組成之群：淋巴瘤、骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)、

彌漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)、復發性/難治性 DLBCL、侵襲性 NHL、惰性淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤(FL)、復發性侵襲性 NHL、復發性惰性 NHL、復發性 NHL、難治性 NHL、難治性惰性 NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

【0055】 在本發明之一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)。在一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係彌漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)。在一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係復發性/難治性 DLBCL。在一些實施例中，該 B 細胞增殖性病症係復發性/難治性 DLBCL。在另一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係復發性 NHL 或難治性 NHL。在又另一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係濾泡性淋巴瘤(FL)。

【圖式簡單說明】

【0056】 圖 1 描繪在三種不同靜脈內(IV)袋規格中固定濃度之 PS20 ([PS20])存在下，在 30°C 下靜態儲存 22 小時後高分子量物種(HMWS)增加。

【0057】 圖 2 描繪在三種不同 IV 袋規格中固定濃度之 PS20 ([PS20])存在下，在 30°C 下於攪動應力(100 rpm)下 2 小時後 HMWS 增加。

【0058】 圖 3 描繪在生理食鹽水 IV 袋中，在各種濃度之 PS20 ([PS20])下溫度對抗 CD79b-vc-MMAE 之物理穩定性的影響。

【0059】 圖 4 描繪在 30°C 下靜態儲存 22 小時的時候，界面活性劑及輸注流體之類型之影響。

【0060】 圖 5A 描繪 2-8°C 溫度對抗 CD79b-vc-MMAE 在攪動時之穩定性的影響。圖 5B 描繪 25°C 溫度對抗 CD79b-vc-MMAE 在攪動時之穩定性的影響。圖 5C 描繪 30°C 溫度對抗 CD79b-vc-MMAE 在攪動時之穩定性的影響。

【0061】 圖 6 描繪使用攪動模型 1 時抗 CD79b-vc-MMAE 之物理穩定性。

【0062】 圖 7 描繪使用攪動模型 2 時抗 CD79b-vc-MMAE 之物理穩定性。

【0063】 圖 8 描繪硫代琥珀醯亞胺之水解反應使免疫結合物穩定且防止消除。順丁烯二醯亞胺消除可藉由水解免疫結合物上存在之硫代琥珀醯亞胺鍵聯避免。

【0064】 圖 9 描繪在 30°C 下及以下三個不同時間點時 pH 對帶酸性電荷變異體形成之影響：2 週、4 週及 8 週。

【0065】 圖 10 描繪在 30°C 下及以下三個不同時間點時 pH 對帶鹼性電荷變異體形成之影響：2 週、4 週及 8 週。

【0066】 圖 11 描繪在 30°C 下及以下三個不同時間點時 pH 對 HMWS 形成之影響：2 週、4 週及 8 週。

【0067】 圖 12 描繪 pH 及緩衝劑物種對在 30°C 下承受應力 4 週之低分子量物種(LMWS)的影響。

【0068】 圖 13 描繪在 30°C 下藉由尺寸排阻層析法(SEC)測定的凍乾調配物之穩定性。

【0069】 圖 14 描繪在 30°C 下藉由成像毛細管等電聚焦(icIEF)測定的凍乾調配物之穩定性。

【0070】 圖 15A–圖 15C 描繪在不同的蛋白質與蔗糖比率下凍乾塊之外觀。圖 15A 表示 10 mg/ml 抗 CD79b-vc-MMAE 及 260 mM 蔗糖。圖 15B 表示 10 mg/ml 抗 CD79b-vc-MMAE 及 180 mM 蔗糖。圖 15C 表示 10 mg/ml 抗 CD79b-vc-MMAE 及 120 mM 蔗糖。

【0071】 圖 16A–圖 16B 描繪在不同的蛋白質與蔗糖比率下凍乾塊之外觀。圖 16A 表示 10 mg/ml 抗 CD79b-vc-MMAE 及 260 mM 蔗糖。圖 16B 表示 20 mg/ml 抗 CD79b-vc-MMAE 及 120 mM 蔗糖。

【0072】 圖 17 描繪藉由 SEC 量測 HMWS 變異體測定的在 2-8°C、25°C 及 40°C

下承受應力的凍乾之抗 CD79b-vc-MMAE 藥品之穩定性。

【0073】 圖 18 描繪藉由 icIEF 量測 HMWS 變異體測定的在 2-8°C、25°C 及 40°C 下承受應力的凍乾之抗 CD79b-vc-MMAE 藥品之穩定性。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

【0074】 本申請案主張 2018 年 4 月 13 日提交的美國臨時專利申請案系列第 62/657,185 號之優先權益，該案以全文引用的方式併入本文中。

以 ASCII 文本文檔提交序列表

【0075】 以下以 ASCII 文本文檔提交的内容係以全文引用的方式併入本文中：電腦可讀形式(CRF)之序列表(文件名：146392044340SEQLIST.TXT，記錄日期：2019 年 4 月 9 日，大小：12 KB)。

【0076】 本發明提供包含抗 CD79b 免疫結合物及界面活性劑之穩定醫藥組成物。本發明亦提供使用該等組成物治療癌症之方法。

I. 定義

【0077】 應瞭解，本發明不限於特定組成物或生物系統，其當然可以變化。還應瞭解，本文所使用之術語僅僅出於描述特定實施例之目的，且不打算作為限制。除非上下文另外清楚地規定，否則如本說明書和所附申請專利範圍中所使用，單數形式「一個(種)(a/an)」及「該」包括複數個(種)參照物。因此，例如提到「一個分子」視情況包括兩個或兩個以上此類分子之組合，及類似情形。

【0078】 如本文所使用，術語「約」係指本技術領域技術人員易於瞭解的各別值之常見誤差範圍。提到「約」一個值或參數在本文中包括(並描述)針對該值或參數本身之實施例。

【0079】 應瞭解，本文所描述的本發明之各態樣及實施例包括「包含」該等態樣及實施例、「由該等態樣及實施例組成」及/或「基本上由該等態樣及實施

例組成」。

【0080】 術語「抗 CD79b 免疫結合物」係指抗 CD79b 抗體-藥物結合物 (ADC)。如本文所使用，抗 CD79b 免疫結合物含有能夠結合 CD79b 之抗體或其片段、連接子及藥物分子。術語「連接子」用於指 6-順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苯甲氧羰基(MC-val-cit-PAB)。

【0081】 術語「抗體」係以最廣義使用且特別地涵蓋例如單一抗 CD79b 單株抗體(包括但不限於促效劑、拮抗劑、中和抗體、全長或完整單株抗體)；具有多抗原決定基特異性之抗 CD79b 抗體組成物；多株抗體；多價抗體；由至少兩個完整抗體形成之多特異性抗體(例如雙特異性抗體，只要其展現所希望之生物活性即可)；單鏈抗 CD79b 抗體；以及抗 CD79b 抗體之片段(參見下文)，包括 Fab、Fab'、F(ab')₂ 及 Fv 片段；雙功能抗體；單結構域抗體(sdAb)，只要其展現所希望之生物活性或免疫活性即可。術語「免疫球蛋白」(Ig)在本文中可與抗體互換使用。抗體可以為嵌合抗體、人類抗體、人類化抗體及/或親和力成熟抗體。

【0082】 術語「抗 CD79b 抗體」及「結合至 CD79b 之抗體」係指能夠以足夠親和力結合 CD79b 之抗體，由此該抗體可用作靶向 CD79b 之診斷劑及/或治療劑。較佳地，如例如由放射免疫檢定(RIA)所量測，抗 CD79b 抗體與不相關之非 CD79b 蛋白質的結合程度係該抗體與 CD79b 之結合的不到約 10%。在某些實施例中，結合至 CD79b 之抗體的解離常數(K_d) ≤ 1 μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM 或 ≤ 0.1 nM。在某些實施例中，抗 CD79b 抗體結合至在不同物種之 CD79b 間保守的 CD79b 之抗原決定基。

【0083】 基礎 4 鏈抗體單元係由兩條相同輕(L)鏈及兩條相同重(H)鏈構成的異四聚糖蛋白(IgM 抗體由 5 個基礎異四聚體單元連同稱為 J 鏈之額外多肽組成，且因此含有 10 個抗原結合位點，而分泌之 IgA 抗體可聚合形成包含 2-5 個基礎 4 鏈單元連同 J 鏈的多價集合體)。在 IgG 情況下，該 4 鏈單元一般係約

150,000 道爾頓。每條 L 鏈藉由一個共價二硫鍵連接至 H 鏈，而兩個 H 鏈取決於 H 鏈同型而藉由一或多個二硫鍵彼此連接。每條 H 鏈及 L 鏈亦具有規律間隔的鏈內二硫橋。每條 H 鏈在 N 末端處具有可變結構域(VH)，隨後對於 α 及 γ 鏈分別為三個恆定結構域(CH)且對於 μ 及 ε 同型為四個 CH 結構域。每條 L 鏈在 N 末端處具有可變結構域(VL)，隨後為在其另一端之恆定結構域(CL)。VL 與 VH 接合且 CL 與重鏈之第一個恆定結構域(CH1)接合。咸信特定胺基酸殘基在輕鏈與重鏈可變結構域之間形成界面。VH 與 VL 配對形成單一抗原結合位點。有關不同抗體類別之結構及特性，參見例如 Basic and Clinical Immunology, 第 8 版, Daniel P. Stites, Abba I. Terr 及 Tristram G. Parslow (編), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, 第 71 頁及第 6 章。

【0084】 來自任何脊椎動物物種之 L 鏈基於其恆定結構域之胺基酸序列可以分配至兩種明顯相異之類型之一，稱為 κ 及 λ 。取決於重鏈恆定結構域(CH)之胺基酸序列，可以將免疫球蛋白分為不同類別或同型。存在五類免疫球蛋白：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，分別具有稱為 α 、 δ 、 ε 、 γ 及 μ 的重鏈。 γ 及 α 類別基於 CH 序列及功能之相對微小差異進一步分成亞類，例如人類表現以下亞類：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 及 IgA2。

【0085】 抗體之「可變區」或「可變結構域」係指抗體重鏈或輕鏈之胺基末端結構域。重鏈之可變結構域可稱為「VH」。輕鏈之可變結構域可稱為「VL」。該等結構域一般係抗體變化最大之部分且含有抗原結合位點。

【0086】 術語「可變」係指可變結構域某些區段之序列在抗體間明顯不同的事實。V 結構域介導抗原結合且限定特定抗體對其特定抗原的特異性。然而，可變性並非均勻分佈於可變結構域之全部 110 個胺基酸範圍中。相反，V 區由經各 9-12 個胺基酸長的稱為「高變區」之變化極大之較短區域隔開的具有 15-30 個胺基酸的稱為構架區(FR)之相對不變的鏈段組成。天然重鏈及輕鏈之可變結構

域各自包含經三個高變區連接的主要呈 β 片構型之四個 FR 區，該等高變區形成連接 β 片結構且在一些情況下形成 β 片結構之一部分的環。每條鏈中的高變區係藉由 FR 區緊密保持在一起，且與來自另一條鏈之高變區促成抗體之抗原結合位點的形成(參見 Kabat 等人, *Sequences of Immunological Interest*, 第 5 版, Public Health Service, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991))。恆定結構域不直接參與抗體與抗原之結合，但展現各種效應功能，諸如使抗體參與抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。

【0087】 「完整」抗體係包含抗原結合位點以及 CL 及至少重鏈恆定結構域 CH1、CH2 及 CH3 之抗體。該等恆定結構域可以為天然序列恆定結構域(例如人類天然序列恆定結構域)或其胺基酸序列變異體。較佳地，該完整抗體具有一或多種效應功能。

【0088】 出於本文中之目的，「裸抗體」係未結合至藥物部分或放射性標記之抗體。

【0089】 「抗體片段」包含完整抗體之一部分，較佳地包含完整抗體之抗原結合區及/或可變區。抗體片段之實例包括 Fab、Fab'、F(ab')₂ 及 Fv 片段；雙功能抗體；線性抗體(參見美國專利第 5,641,870 號，實例 2；Zapata 等人, *Protein Eng.* 8(10):1057-1062 [1995])；單鏈抗體分子；及由抗體片段形成的多特異性抗體。在一個實施例中，抗體片段包含完整抗體之抗原結合位點且因此保持結合抗原之能力。

【0090】 木瓜蛋白酶消化抗體產生兩個相同的抗原結合片段，稱為「Fab」片段；及一個殘留的「Fc」片段，其名稱反映了易於結晶之能力。Fab 片段由完整 L 鏈以及 H 鏈之可變區結構域(VH)，及一條重鏈之第一恆定結構域(CH1)組成。每個 Fab 片段關於抗原結合均為單價的，亦即，其具有單一抗原結合位點。胃蛋白酶處理抗體得到單個較大 F(ab')₂ 片段，該片段大致對應於兩個二硫鍵連接

的具有二價抗原結合活性之 Fab 片段且仍能夠交聯抗原。Fab'片段與 Fab 片段的
不同之處在於，Fab'片段在 CH1 結構域之羧基末端處具有若干額外殘基，包括
抗體鉸鏈區中的一或多個半胱胺酸。Fab'-SH 在本文中稱為 Fab'片段，其中恆定
結構域之半胱胺酸殘基帶有游離硫醇基。F(ab')₂ 抗體片段最初係以 Fab'片段對
形式產生，在該等 Fab'片段之間具有鉸鏈半胱胺酸。抗體片段之其他化學偶合
亦係已知的。

【0091】 Fc 片段包含經二硫鍵保持在一起的兩條 H 鏈之羧基末端部分。抗體
之效應功能係由 Fc 區中之序列決定，該區域亦係由某些類型細胞上所見之 Fc
受體(FcR)所識別的部分。

【0092】 「Fv」係含有完整抗原識別及結合位點的最小抗體片段。該片段係
由緊密非共價締合之一個重鏈可變結構域及一個輕鏈可變結構域構成的二聚體
組成。在單鏈 Fv (scFv)物種中，一個重鏈可變結構域及一個輕鏈可變結構域可
藉由可撓性肽連接子共價連接，使得該輕鏈與該重鏈可締合成類似於兩條鏈之
Fv 物種中之結構的「二聚體」結構。由該兩個結構域摺疊得到六個高變環(由 H
及 L 鏈各得到 3 個環)，該等高變環提供用於抗原結合之胺基酸殘基並賦予抗體
抗原結合特異性。不過，即使單一可變結構域(或僅包含對抗原具有特異性之三
個 CDR 的一半 Fv)亦能夠識別並結合抗原，不過親和力低於完整結合位點。

【0093】 「單鏈 Fv」，又縮寫為「sFv」或「scFv」，係包含連接成單一多肽
鏈之 VH 及 VL 抗體結構域的抗體片段。較佳地，sFv 多肽進一步包含在 VH 與
VL 結構域之間的多肽連接子，該連接子使 sFv 能夠形成抗原結合所希望之結
構。關於 sFv 片段之評述，參見 Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal
Antibodies, 第 113 卷, Rosenberg 及 Moore 編, Springer-Verlag, New York, 第
269-315 頁 (1994)；Borrebaeck 1995, 見下文。

【0094】 術語「雙功能抗體」係指具有兩個抗原結合位點之抗體片段，該等

片段包含重鏈可變結構域(VH)連接至同一多肽鏈(VH-VL)中之輕鏈可變結構域(VL)。小抗體片段係藉由在 VH 與 VL 結構域之間用短連接子(約 5-10 個殘基)構造 sFv 片段(參看前一段)，以使得實現 V 結構域之鏈間而非鏈內配對，由此產生二價片段，亦即，具有兩個抗原結合位點之片段來製備。雙功能抗體可為二價或雙特異性的。雙特異性雙功能抗體係兩個「交叉」sFv 片段之異二聚體，其中兩個抗體之 VH 及 VL 結構域存在於不同多肽鏈上。雙功能抗體在例如 EP 404,097；WO 93/11161；Hudson 等人, Nat. Med. 9:129-134 (2003)；及 Hollinger 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)中有更完整地描述。三功能抗體及四功能抗體亦在 Hudson 等人, Nat. Med. 9:129-134 (2003)中有描述。

【0095】 如本文所使用，術語「單株抗體」係指自基本上同質之抗體群獲得的一種抗體，亦即，構成該群體之各個抗體除以微量存在的可能天然存在之突變外係一致的。單株抗體針對單一抗原位點具有高度特異性。另外，與包括針對不同抗原決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相對，每一單株抗體係針對抗原上的單個抗原決定子。除特異性外，單株抗體之優勢還在於，該等抗體可在不受其他抗體污染下合成。修飾語「單株」不應解釋為需要藉由任何特定方法產生抗體。舉例而言，可用於本發明中之單株抗體可藉由最先由 Kohler 等人, Nature, 256:495 (1975)所描述之融合瘤方法製備，或可使用重組 DNA 方法，在細菌、真核動物或植物細胞中製備(參見例如美國專利第 4,816,567 號)。

「單株抗體」亦可使用例如 Clackson 等人, Nature, 352:624-628 (1991)及 Marks 等人, J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991)中所描述之技術，自噬菌體抗體文庫分離。

【0096】 本文中之單株抗體包括「嵌合」抗體，其中一部分重鏈及/或輕鏈與源自特定物種或屬於特定抗體種類或亞類之抗體中的相應序列一致或同源，而該(該等)鏈之其餘部分與源自另一物種或屬於另一抗體種類或亞類之抗體中的相應序列一致或同源；以及該等抗體之片段，只要其展現出所需生物學活性即

可(參見美國專利第 4,816,567 號；及 Morrison 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984))。本文中所關注之嵌合抗體包括「靈長類化」抗體，其包含源自非人類靈長類動物(例如舊大陸猴(Old World Monkey)、猿等)之可變結構域抗原結合序列及人類恆定區序列。

【0097】 非人類(例如嚙齒動物)抗體之「人類化」形式係含有源自非人類抗體之最小序列的嵌合抗體。在大多數情況下，人類化抗體係來自接受體高變區之殘基經來自具有所需抗體特異性、親和力及能力的非人類物種(供體抗體)諸如小鼠、大鼠、兔或非人類靈長類動物之高變區之殘基置換的人類免疫球蛋白(接受體抗體)。在一些情形中，人類免疫球蛋白之 Fv 構架區(FR)殘基經相應非人類殘基置換。此外，人類化抗體可以包含在接受體抗體或供體抗體中未發現的殘基。進行此等修飾以進一步改善抗體效能。一般而言，人類化抗體將包含至少一個且典型地兩個可變結構域的基本上全部，其中所有或基本上所有高變環與非人類免疫球蛋白之高變環對應且所有或基本上所有 FR 均為人類免疫球蛋白序列之 FR。人類化抗體視情況還將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，典型地為人類免疫球蛋白恆定區之至少一部分。有關其他詳情，參見 Jones 等人, Nature 321:522-525 (1986)；Riechmann 等人, Nature 332:323-329 (1988)；及 Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)。亦參見以下評述文章及其中引用之參考文獻：Vaswani 及 Hamilton, Ann. Allergy, Asthma and Immunol., 1:105-115 (1998)；Harris, Biochem. Soc. Transactions, 23:1035-1038 (1995)；Hurle 及 Gross, Curr. Op. Biotech., 5:428-433 (1994)。

【0098】 術語「人類抗體」係指這樣一種抗體，該抗體具有對應於由人類產生之抗體之胺基酸序列的胺基酸序列及/或使用製備人類抗體之任何技術產生。該關於人類抗體之定義特別排除包含非人類抗原結合殘基之人類化抗體。人類抗體可以使用此項技術中已知之各種技術產生，包括噬菌體展示文庫。

Hoogenboom 及 Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991) ; Marks 等人, J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。另外，可用於製備人類單株抗體之方法係 Cole 等人, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, 第 77 頁(1985) ; Boerner 等人, J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)中所描述之方法。亦參見 van Dijk 及 van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol., 5: 368-74 (2001)。人類抗體可以藉由將抗原投與轉殖基因動物製備，該轉殖基因動物經改良以響應於抗原激發產生此類抗體，但其內源性基因座失能，例如免疫化 xenomice (關於 XENOMOUSE™ 技術，參見例如美國專利第 6,075,181 號及第 6,150,584 號)。關於經由人類 B 細胞融合瘤技術產生之人類抗體，亦參見例如 Li 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)。

【0099】 術語「高變區」、「HVR」或「HV」當用於本文中時係指抗體可變結構域中序列高變及/或形成結構確定之環的區域。一般而言，抗體包含六個高變區：三個在 VH 中(H1，H2、H3)，且三個在 VL 中(L1、L2，L3)。本文中使用且涵蓋多種高變區描述。Kabat 互補決定區(CDR)係基於序列可變性且為最常用的(Kabat 等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991))。而 Chothia 係指結構環之位置(Chothia 及 Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))。當使用 Kabat 編號規則編號時，Chothia CDR-H1 環之末端取決於環長度而在 H32 與 H34 之間變化(此係因為 Kabat 編號方案在 H35A 及 H35B 處有插入；若不存在 35A 及 35B，則該環在 32 處結束；若僅存在 35A，則該環在 33 處結束；若同時存在 35A 及 35B，則該環在 34 處結束)。AbM 高變區表示 Kabat CDR 與 Chothia 結構環之間的折中，且由 Oxford Molecular 之 AbM 抗體建模軟體使用。「接觸」高變區係基於對可用複雜晶體結構之分析。該等高變區各自之殘基如下所示。

環	Kabat	AbM	Chothia	接觸
----	-----	---	-----	-----

L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34	L30-L36
L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56	L46-L55
L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L96
H1	H31-H35B	H26-H35B	H26-H32..34	H30-H35B
	(Kabat 編號)			
H1	H31-H35	H26-H35	H26-H32	H30-H35
	(Chothia 編號)			
H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56	H47-H58
H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102	H93-H101

【0100】 高變區可包含如下「擴展之高變區」：VL 中之 24-36 或 24-34 (L1)、46-56 或 50-56 (L2)及 89-97 (L3)，以及 VH 中之 26-35B (H1)、50-65、47-65 或 49-65 (H2)及 93-102、94-102 或 95-102 (H3)。可變結構域殘基均根據上文 Kabat 等人中關於該等定義中之每一種之編號。

【0101】 「構架」或「FR」殘基係除如本文中所定義之高變區殘基以外的可變結構域殘基。

【0102】 術語「如 Kabat 中之可變結構域殘基編號」或「如 Kabat 中之胺基酸位置編號」及其變化形式係指 Kabat 等人, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)中用於編輯抗體之重鏈可變結構域或輕鏈可變結構域的編號系統。使用此編號系統，實際的線性胺基酸序列可以含有對應於可變結構域 FR 或 CDR 之縮短或插入的數個或額外胺基酸。舉例而言，重鏈可變結構域可以在 H2 之殘基 52 之後包括單一胺基酸插入(根據 Kabat 之殘基 52a)且在重鏈 FR 殘基 82 之後包括插入殘基(例如根據 Kabat 之殘基 82a、82b 及 82c 等)。可以藉由將抗體序列同源區與「標準」Kabat 編號序列比對來確定給定抗體中殘基的 Kabat 編號。

【0103】 當提到可變結構域中之殘基時，一般使用 Kabat 編號系統(大致地，輕鏈之殘基 1-107 及重鏈之殘基 1-113) (例如 Kabat 等人, Sequences of Immunological Interest. 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。當提到免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基時，一般使用「EU

編號系統」或「EU 索引」(例如 Kabat 等人, 上文中報導的 EU 索引)。「如 Kabat 中之 EU 索引」係指人類 IgG1 EU 抗體之殘基編號。除非本文另外陳述, 否則提到的抗體可變結構域中之殘基編號意思指根據 Kabat 編號系統進行之殘基編號。除非本文另外陳述, 否則提到的抗體恆定結構域中之殘基編號意思指根據 EU 編號系統進行的殘基編號(例如參見美國臨時申請案第 60/640,323 號中關於 EU 編號之圖式)。

【0104】 「親和力成熟」抗體係在其一或多個 HDR 中具有一或多種變化之抗體, 與不具有此等變化之親本抗體相比, 該一或多種變化引起該抗體對抗原之親和力之改善。較佳的親和力成熟抗體將對靶抗原具有奈莫耳濃度或甚至皮莫耳濃度之親和力。親和力成熟抗體係藉由此項技術中已知之程序產生。Marks 等人, *Bio/Technology* 10:779-783 (1992)描述藉由 VH 及 VL 結構域改組進行之親和力成熟。HVR 及/或構架殘基之隨機突變誘發描述於以下中: Barbas 等人, *Proc Nat. Acad. Sci, USA* 91:3809-3813 (1994); Schier 等人, *Gene* 169:147-155 (1995); Yelton 等人, *J. Immunol.* 155:1994-2004 (1995); Jackson 等人, *J. Immunol.* 154(7):3310-9 (1995); 及 Hawkins 等人, *J. Mol. Biol.* 226:889-896 (1992)。

【0105】 「結合親和力」一般係指一個分子(例如抗體)之單一結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間的非共價相互作用之總和的強度。除非另作指示, 否則如本文所使用, 「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間之 1:1 相互作用的固有結合親和力。分子 X 對其搭配物 Y 之親和力一般可以由解離常數(Kd)表示。親和力可以利用此項技術中已知之常用方法, 包括本文所述之方法量測。低親和力抗體一般緩慢地結合抗原且往往易於解離, 而高親和力抗體一般較快地結合抗原且往往保持長時間結合。此項技術中已知多種量測結合親和力之方法, 其中任一種可以用於本發明之目的。具體示例性實施例描述於下。

【0106】 「或更高」當在本文中用於指結合親和力時係指一個分子與其結合

搭配物之間之較強結合。「或更高」當在本文中用於指較強結合時係由較小的 K_d 數字值表示。舉例而言，若抗體對於抗原具有「0.6 nM 或更高」之親和力，則該抗體對於抗原之親和力 < 0.6 nM，亦即 0.59 nM、0.58 nM、0.57 nM 等，或小於 0.6 nM 之任何值。

【0107】 在一個實施例中，根據本發明之「 K_d 」或「 K_d 值」係如以下檢定中所述，藉由用所關注抗體之 Fab 形式與其抗原進行的放射性標記之抗原結合檢定(RIA)量測，該檢定係藉由在連續調定之未標記抗原存在下，使 Fab 與最小濃度(125 I)標記之抗原平衡，接著用抗 Fab 抗體塗佈盤捕捉經結合抗原來量測 Fab 對抗原之溶液結合親和力(Chen 等人, (1999) J. Mol Biol 293:865-881)。為建立檢定條件，用含 5 μ g/ml 捕捉抗 Fab 抗體(Cappel Labs)之 50 mM 碳酸鈉(pH 9.6)塗佈微量滴定板(Dynex)隔夜，且隨後在室溫(約 23°C)下用含 2%(w/v)牛血清白蛋白之 PBS 阻斷二至五小時。在非吸附板(Nunc #269620)中，將 100 pM 或 26 pM [125 I]-抗原與所關注 Fab 之連續稀釋液混合(例如符合 Presta 等人, (1997) Cancer Res. 57:4593-4599 中關於抗 VEGF 抗體 Fab-12 之評估)。接著培育所關注之 Fab 隔夜；然而，培育可持續較長時間(例如約 65 小時)以確保達到平衡。此後，在室溫下將混合物轉移至捕捉板中進行培育(例如一小時)。接著移出溶液並用含 0.1% Tween-20 之 PBS 洗滌板八次。當板乾燥時，添加 150 微升/孔閃爍體(MicroScint-20；Packard)，並在 TOPCOUNT™ γ 計數器(Packard)上對板計數十分鐘。選擇提供小於或等於 20%最大結合的每一 Fab 之濃度用於競爭性結合檢定。

【0108】 根據另一實施例，「 K_d 」或「 K_d 值」係在 25°C 下藉由使用表面電漿共振檢定，使用帶有經固定抗原 CM5 芯片之 BIAcore™-2000 或 BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)在約 10 個反應單元(RU)下量測。簡言之，根據供應商之說明書，用 N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)-碳化二亞胺鹽

酸鹽(EDC)及 N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)使羧甲基化之聚葡萄糖生物感測器晶片(CM5, BIAcore Inc.)活化。用 10 mM 乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至 5 $\mu\text{g/ml}$ (約 0.2 μM)，隨後以 5 $\mu\text{l/min}$ 流動速率注射以達到約 10 個反應單元(RU)之偶合蛋白。在注射抗原之後，注射 1 M 乙醇胺以阻斷未反應基團。對於動力學量測，在 25°C 下，以約 25 $\mu\text{l/min}$ 流動速率將 Fab 之兩倍連續稀釋液(0.78 nM 至 500 nM)注入含 0.05% Tween 20 之 PBS (PBST)中。使用簡單的一對一朗繆爾結合模型(one-to-one Langmuir binding model)(BIAcore®評價軟體 3.2 版)，藉由同時擬合締合及解離感測圖來計算締合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})。平衡解離常數(K_d)係以 $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ 比率計算。參見例如 Chen, Y.等人, (1999) J. Mol Biol 293:865-881。若以上表面電漿共振檢定測定締合速率超過 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$ ，則該締合速率可藉由使用螢光猝滅技術測定，該技術以分光計，諸如裝備停流儀之分光光度計(Aviv Instruments)或帶有攪拌紅色比色杯之 8000 系列 SLM-Aminco 分光光度計(ThermoSpectronic)量測在 25°C 下，在遞增濃度之抗原存在下含 20 nM 抗-抗原抗體(Fab 形式)之 PBS(pH 7.2)的螢光發射強度之增加或降低(激發= 295 nm；發射= 340 nm；16 nm 帶通)。

【0109】 根據本發明，「締合速率(on-rate)」或「締合之速率(rate of association)」或「締合速率(association rate)」或「 k_{on} 」亦可藉由與上述相同之表面電漿共振技術，使用如上文所述之 BIAcore™-2000 或 BIAcore™-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)測定。

【0110】 如本文所使用，短語「基本上類似」或「基本上相同」表示兩個數字值(一般而言，一個與本發明抗體相關且另一個與參考/比較抗體相關)之間之相似程度足夠高，使得熟習此項技術者認為該兩個值之間的差異在由該等值(例如 K_d 值)度量之生物特徵的情形內具有極小或無生物及/或統計顯著性。取決於參考/比較抗體之值，該兩個值之間的差異較佳小於約 50%、較佳小於約 40%、

較佳小於約 30%、較佳小於約 20%、較佳小於約 10%。

【0111】 如本文所使用，短語「基本上減小」或「基本上不同」表示兩個數字值(一般而言，一個與本發明抗體相關且另一個與參考/比較抗體相關)之間之差異程度足夠高，使得熟習此項技術者認為該兩個值之間的差異在由該等值(例如 Kd 值、HAMA 反應)度量之生物特徵的情形內具有統計顯著性。取決於參考/比較抗體之值，該兩個值之間的差異較佳大於約 10%、較佳大於約 20%、較佳大於約 30%、較佳大於約 40%、較佳大於約 50%。

【0112】 如本文所使用，「接受體人類構架」係包含來源於人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之 VL 或 VH 構架之胺基酸序列的構架。「來源於」人類免疫球蛋白構架或人類共同構架之接受體人類構架可以包含與其相同之胺基酸序列，或其可以含有預先存在之胺基酸序列變化。當存在預先存在之胺基酸變化時，較佳存在不超過 5 個且較佳 4 個或更少，或 3 個或更少的預先存在之胺基酸變化。當在 VH 中存在預先存在之胺基酸變化時，較佳地，該等變化僅在位置 71H、73H 及 78H 中之三個、兩個或一個處發生；例如，在該等位置處之胺基酸殘基可以為 71A、73T 及/或 78A。在一些實施例中，VL 接受體人類構架之序列與 VL 人類免疫球蛋白構架序列或人類共同構架序列一致。

【0113】 「人類共同構架」係代表所選人類免疫球蛋白 VL 或 VH 構架序列中最常出現之胺基酸殘基的構架。一般而言，人類免疫球蛋白 VL 或 VH 序列選自可變結構域序列亞群。一般而言，該序列亞群係如 Kabat 等人中之亞群。在一個實施例中，對於 VL，該亞群係如 Kabat 等人中之亞群 κ I。在一個實施例中，對於 VH，該亞群係如 Kabat 等人中之亞群 III。

【0114】 「VH 亞群 III 共同構架」包含自 Kabat 等人之可變重鏈亞群 III 中之胺基酸序列獲得的共同序列。在一個實施例中，VH 亞群 III 共同構架胺基酸序列包含以下序列中每一個之至少一部分或全部：EVQLVESGGGLVQPGGSLRL

SCAAS (SEQ ID NO:11)-H1-WVRQAPGKGLEWV (SEQ ID NO:12)-H2-RFTISRDN
NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC (SEQ ID NO:145)-H3-WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:13)。

【0115】 「VL 亞群 I 共同構架」包含自 Kabat 等人之可變輕鏈亞群 I 中之胺基酸序列獲得的共同序列。在一個實施例中，VL 亞群 I 共同構架胺基酸序列包含以下序列中每一個之至少一部分或全部：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:14)-L1-WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:15)-L2-GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:141)-L3-FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:16)。

【0116】 「未修飾之人類構架」係具有與接受體人類構架相同之胺基酸序列，例如缺乏接受體人類構架中人類至非人類胺基酸取代的人類構架。

【0117】 「結合」CD79b 之抗 CD79b 免疫結合物或抗體係以足夠親和力結合 CD79b 抗原之免疫結合物或抗體，使得該抗體可用作治療劑靶向表現該抗原之細胞或組織，且不與其他蛋白質顯著交叉反應。在該等實施例中，如藉由螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱(RIA)所測定，抗體與「非靶」蛋白質之結合程度將係該抗體與其特定靶蛋白質之不到約 10%。關於抗體與靶分子之結合，術語「特異性結合」或「特異性結合至」特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基或「對特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基具有特異性」意謂結合明顯不同於非特異性相互作用。特異性結合可以例如藉由測定一個分子之結合與對照分子之結合的差異來量度，對照分子一般係結構類似但不具有結合活性之分子。舉例而言，特異性結合可以藉由與類似於靶之對照分子，例如過量未標記靶競爭來測定。在此情況下，若經標記靶與探針之結合受過量未標記靶之競爭性抑制，則指示特異性結合。如本文所使用，術語「特異性結合」或「特異性結合至」特定多肽或特定多肽靶上之抗原決定基或「對特定多肽或特定多

肽靶上之抗原決定基具有特異性」可例如由一個分子對該靶至少約 10^{-4} M、或者至少約 10^{-5} M、或者至少約 10^{-6} M、或者至少約 10^{-7} M、或者至少約 10^{-8} M、或者至少約 10^{-9} M、或者至少約 10^{-10} M、或者至少約 10^{-11} M、或者至少約 10^{-12} M 或更高之 Kd 展現。在一個實施例中，術語「特異性結合」係指抗體結合至 CD79b 多肽上之抗原決定基，而不顯著結合至任何其他多肽或多肽抗原決定基的結合。

【0118】 抗體「效應功能」係指由抗體 Fc 區(天然序列 Fc 區或胺基酸序列變異體 Fc 區)引起之生物活性，且隨抗體同型而變化。抗體效應功能之實例包括：C1q 結合及補體依賴性細胞毒性；Fc 受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如 B 細胞受體)下調；及 B 細胞活化。

【0119】 術語「Fc 區」在本文中用於定義免疫球蛋白重鏈之 C 末端區域，包括天然序列 Fc 區及變異體 Fc 區。儘管免疫球蛋白重鏈 Fc 區之邊界可能不同，但人類 IgG 重鏈 Fc 區通常界定自位置 Cys226 處之胺基酸殘基，或自 Pro230 至其羧基末端的鏈段。在例如抗體產生或純化期間，或藉由重組工程改造編碼抗體重鏈之核酸可以移除 Fc 區之 C 末端離胺酸(根據 EU 編號系統的殘基 447)。因此，完整抗體之組成可以包含移除所有 K447 殘基之抗體群、未移除 K447 殘基之抗體群，及具有含有及不含 K447 殘基之抗體之混合物的抗體群。

【0120】 「功能性 Fc 區」具有天然序列 Fc 區之「效應功能」。示例性「效應功能」包括 C1q 結合；CDC；Fc 受體結合；ADCC；吞噬作用；細胞表面受體(例如 B 細胞受體；BCR)下調等。此類效應功能一般需要 Fc 區與結合結構域(例如抗體可變結構域)組合且可使用如例如本文定義中所揭示之各種檢定評估。

【0121】 「天然序列 Fc 區」包含與自然界中所見 Fc 區之胺基酸序列一致的胺基酸序列。天然序列人類 Fc 區包括天然序列人類 IgG1 Fc 區(非 A 及 A 異型)；天然序列人類 IgG2 Fc 區；天然序列人類 IgG3 Fc 區；及天然序列人類 IgG4 Fc

區，以及其天然存在之變異體。

【0122】 「變異體 Fc 區」包含由於至少一個胺基酸修飾，較佳一或多個胺基酸取代而不同於天然序列 Fc 區的胺基酸序列。較佳地，相較於天然序列 Fc 區或親本多肽之 Fc 區，變異體 Fc 區在天然序列 Fc 區中或親本多肽之 Fc 區中具有至少一個胺基酸取代，例如約一個至約十個胺基酸取代，且較佳約一個至約五個胺基酸取代。本文中的變異體 Fc 區較佳與天然序列 Fc 區及/或親本多肽之 Fc 區具有至少約 80%同源性，且最佳與其具有至少約 90%同源性，更佳與其具有至少約 95%同源性。

【0123】 「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性」或「ADCC」係指細胞毒性之一種形式，其中分泌之 Ig 結合至某些細胞毒性細胞(例如自然殺手(NK)細胞、嗜中性球及巨噬細胞)上存在之 Fc 受體(FcR)使該等細胞毒性效應細胞特異性結合至帶有抗原之靶細胞且隨後用細胞毒素殺滅靶細胞。抗體「武裝」細胞毒性細胞且此係此類殺滅必需的。介導 ADCC 之原代細胞，即 NK 細胞僅表現 FcγRIII，而單核細胞表現 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII。造血細胞上 FcR 之表現概括於 Ravetch 及 Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-92 (1991)第 464 頁之表 3 中。為了評估所關注分子之 ADCC 活性，可進行活體外 ADCC 檢定，諸如美國專利第 5,500,362 號或第 5,821,337 號中所描述之檢定。可用於此類檢定的效應細胞包括周圍血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。替代地或另外，可以在活體內，例如在動物模型，如在 Clynes 等人, (USA) 95:652-656 (1998)中所揭示之動物模型中，評估所關注分子的 ADCC 活性。

【0124】 「Fc 受體」或「FcR」描述結合至抗體 Fc 區之受體。較佳的 FcR 係天然序列人類 FcR。此外，較佳之 FcR 係結合 IgG 抗體之受體(γ 受體)且包括 FcγRI、FcγRII 及 FcγRIII 子類之受體，包括對偶基因變異體及該等受體之替代性剪接形式。FcγRII 受體包括 FcγRIIA(「活化受體」)及 FcγRIIB(「抑制受體」)，

該等受體具有類似胺基酸序列且差異主要在於其細胞質結構域。活化受體 FcγRIIA 在其細胞質結構域中含有免疫受體酪胺酸活化基元(ITAM)。抑制受體 FcγRIIB 在其細胞質結構域中含有免疫受體酪胺酸抑制基元(ITIM)。(參見例如 M. Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997))。FcR 評述於 Ravetch 和 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)；Capel 等人, *Immunomethods* 4:25-34 (1994)；及 de Haas 等人, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995)中。其他 FcR，包括將來會鑑別的 FcR，均涵蓋在本文之術語「FcR」中。該術語亦包括新生兒受體 FcRn，該受體負責母體 IgG 向胎兒之轉移(Guyer 等人, *J. Immunol.* 117:587 (1976)；及 Kim 等人, *J. Immunol.* 24:249 (1994))。

【0125】 可以例如在表現人類 FcRn 之轉殖基因小鼠或經轉染人類細胞株中，或在投與具有變異體 Fc 區之多肽的靈長類動物中，檢定人類 FcRn 高親和力結合多肽在活體內與人類 FcRn 之結合及血清半衰期。WO 2000/42072 (Presta) 描述與 FcR 之結合改善或減少的抗體變異體。亦參見例如 Shields 等人, *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604 (2001)。

【0126】 「人類效應細胞」係表現一或多種 FcR 且執行效應功能的白血球。較佳地，該等細胞至少表現 FcγRIII 且執行 ADCC 效應功能。介導 ADCC 之人類白血球的實例包括周圍血液單核細胞(PBMC)、自然殺手(NK)細胞、單核細胞、細胞毒性 T 細胞及嗜中性球；其中 PBMC 及 NK 細胞係較佳的。該等效應細胞可自天然來源，例如自血液分離。

【0127】 「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」係指在補體存在下靶細胞之溶解。經典補體路徑之活化係藉由補體系統之第一組分(C1q)與結合至其同源抗原之抗體(適當子類之抗體)結合起始。為了評估補體活化，可執行 CDC 檢定，例如 Gazzano-Santoro 等人, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)中所述。Fc 區胺基酸序列改變(具有變異體 Fc 區之多肽)及 C1q 結合能力增加或減弱之多肽描述於

例如美國專利第 6,194,551 B1 號及 WO 1999/51642 中。亦參見例如 Idusogie 等人, J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)。

【0128】 術語「含 Fc 區之抗體」係指包含 Fc 區之抗體。在例如抗體純化期間，或藉由重組工程改造編碼抗體之核酸可以移除 Fc 區之 C 末端離胺酸(根據 EU 編號系統的殘基 447)。因此，含根據本發明的具有 Fc 區之抗體的組成物可包含具有 K447、移除所有 K447 之抗體，或含及不含 K447 殘基之抗體的混合物。

【0129】 「B 細胞表面標記物」或「B 細胞表面抗原」在本文中係在 B 細胞表面上表現的抗原，該抗原可作為結合至其之拮抗劑的靶，該拮抗劑包括但不限於針對 B 細胞表面抗原或 B 細胞表面抗原之可溶性形式之抗體，其能夠拮抗配體與天然存在之 B 細胞抗原之結合。示例性 B 細胞表面標記物包括 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 及 CD86 白血球表面標記物(相關描述，參見 The Leukocyte Antigen Facts Book, 第 2 版, 1997, Barclay 等人編, Academic Press, Harcourt Brace & Co., New York)。其他 B 細胞表面標記物包括 RP105、FcRH2、B-細胞 CR2、CCR6、P2X5、HLA-DOB、CXCR5、FCER2、BR3、BAFF、BLyS、Btig、NAG14、SLGC16270、FcRH1、IRTA2、ATWD578、FcRH3、IRTA1、FcRH6、BCMA 及 239287。相較於哺乳動物之其他非 B 細胞組織，特別值得關注的 B 細胞表面標記物優先在 B 細胞上表現，且可在前驅 B 細胞及成熟 B 細胞上表現。

【0130】 術語「癌症」及「癌」係指或描述哺乳動物中典型地以不受調控之細胞生長為特徵的生理狀況。癌症之實例包括但不限於造血癌症或血液相關癌症，諸如淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴系惡性疾病，而且亦包括脾臟癌及淋巴結癌症，以及癌瘤、母細胞瘤及肉瘤。癌症之更具體實例包括 B 細胞相關癌

症，包括例如高級別、中等級別及低級別淋巴瘤(包括 B 細胞淋巴瘤，諸如黏膜相關淋巴樣組織 B 細胞淋巴瘤及非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、套細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤(FL)，以及霍奇金氏淋巴瘤及 T 細胞淋巴瘤)及白血病(包括繼發性白血病；慢性淋巴細胞性白血病(CLL)，諸如 B 細胞白血病(CD5+ B 淋巴細胞)；骨髓性白血病，諸如急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病；淋巴細胞性白血病，諸如急性淋巴母細胞性白血病(ALL)及骨髓發育不良)及其他血液及/或 B 細胞或 T 細胞相關癌症。亦包括其他造血細胞，包括多形核白血球，諸如嗜鹼性球、嗜酸性球、嗜中性球及單核細胞、樹突狀細胞、血小板、紅血球及自然殺手細胞之癌症。亦包括選自以下之癌性 B 細胞增殖性病征：淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性 NHL、復發性侵襲性 NHL、復發性惰性 NHL、難治性 NHL、難治性惰性 NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)、DLBCL、復發性/難治性 DLBCL、FL 及套細胞淋巴瘤。B 細胞癌症之起源包括如下：邊緣區 B 細胞淋巴瘤起源於邊緣區中之記憶性 B 細胞，濾泡性淋巴瘤及彌漫性大 B 細胞淋巴瘤起源於生發中心亮區中之中心細胞，慢性淋巴細胞性白血病及小淋巴細胞性白血病起源於 B1 細胞(CD5+)，套細胞淋巴瘤起源於套區中之天然 B 細胞且伯基特氏淋巴瘤起源於生發中心暗區中之中心母細胞。包括造血細胞之組織在本文中稱為「造血細胞組織」，其包括胸腺及骨髓以及周圍淋巴組織，諸如脾臟、淋巴結、與黏膜相關之淋巴組織，諸如內臟相關淋巴組織、扁桃腺、派爾集合淋巴結(Peyer's patches)及闌尾，以及與其他黏膜，例如支氣管內襯相關之淋巴組織。此類癌症之其他特定實例包括鱗狀細胞癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌、肺鱗癌、腹膜癌症、肝細胞癌、胃腸癌、胰臟癌、神經膠質瘤、子宮頸癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞瘤、乳癌、結腸癌、結腸直腸

癌、子宮內膜或子宮癌、唾液腺癌、腎癌、肝癌(liver cancer)、前列腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、肝癌瘤(hepatic carcinoma)、白血病及其他淋巴增殖性病變，以及各種類型之頭頸癌。

【0131】 「B 細胞惡性疾病」或「B 細胞增殖性病變」在本文中包括非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)，包括低級別/濾泡性 NHL、小淋巴細胞性(SL) NHL、中間級別/濾泡性 NHL、中間級別彌漫性 NHL、高級別免疫母細胞性 NHL、高級別淋巴母細胞性 NHL、高級別小無裂細胞 NHL、腫塊性疾病 NHL、套細胞淋巴瘤、AIDS 相關淋巴瘤及瓦爾登斯特姆氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia)、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、DLBCL、復發性/難治性 DLBCL、FL、淋巴細胞為主型霍奇金氏病(LPHD)、小淋巴細胞性淋巴瘤(SLL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、惰性 NHL，包括復發性惰性 NHL 及利妥昔單抗(rituximab)難治性惰性 NHL；白血病，包括急性淋巴母細胞性白血病(ALL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、毛細胞白血病、慢性髓母細胞性白血病；套細胞淋巴瘤；及其他血液惡性疾病。此類惡性疾病可用針對 B 細胞表面標記物，諸如 CD79b 之抗體治療。本文所涵蓋之該等疾病可藉由投與針對 B 細胞表面標記物，諸如 CD79b 之抗體治療，且包括投與未結合(「裸」)抗體或如本文所揭示的結合至細胞毒性劑之抗體。本文所涵蓋之該等疾病可藉由包括本發明之抗 CD79b 抗體或抗 CD79b 抗體藥物結合物與同時或連續投與之另一抗體或抗體藥物結合物、另一細胞毒性劑、放射或其他治療之組合的組合療法治療。在本發明之示例性治療方法中，本發明之抗 CD79b 抗體係組合抗 CD20 抗體、免疫球蛋白或其 CD20 結合片段一起或依序投與。抗 CD20 抗體可為裸抗體或抗體藥物結合物。在組合療法之一個實施例中，抗 CD79b 抗體係本發明之抗體且抗 CD20 抗體係 Rituxan® (利妥昔單抗)。

【0132】 如本文所使用，術語「非霍奇金氏淋巴瘤」或「NHL」係指除霍奇

金氏淋巴瘤外的淋巴系統癌症。霍奇金氏淋巴瘤與非霍奇金氏淋巴瘤之區別大體在於霍奇金氏淋巴瘤中存在里德-斯泰伯格氏細胞(Reed-Sternberg cell)且在非霍奇金氏淋巴瘤中不存在該等細胞。本文所使用之術語所涵蓋的非霍奇金氏淋巴瘤之實例包括熟習此項技術者(腫瘤學家或病理學家)根據此項技術中已知之分類方案，諸如 Color Atlas of Clinical Hematology (第 3 版), A. Victor Hoffbrand 及 John E. Pettit (編) (Harcourt Publishers Ltd., 2000)中所描述的改編之歐美淋巴瘤 (REAL)方案鑑別為非霍奇金氏淋巴瘤的任何淋巴瘤。具體而言，參見圖 11.57、11.58 及 11.59 中之清單。更具體的實例包括但不限於復發性或難治性 NHL、前線低級別 NHL、第 III/IV 期 NHL、化學療法抗性 NHL、前驅 B 淋巴母細胞性白血病及/或淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、B 細胞慢性淋巴細胞性白血病及/或幼淋巴細胞性白血病及/或小淋巴細胞性淋巴瘤、B 細胞幼淋巴細胞性淋巴瘤、免疫細胞瘤及/或淋巴漿細胞性淋巴瘤、淋巴漿細胞性淋巴瘤、邊緣區 B 細胞淋巴瘤、脾臟邊緣區淋巴瘤、結外邊緣區-MALT 淋巴瘤、淋巴結邊緣區淋巴瘤、毛細胞白血病、漿細胞瘤(plasmacytoma)及/或漿細胞骨髓瘤、低級別/濾泡性淋巴瘤、中等級別/濾泡性 NHL、套細胞淋巴瘤、濾泡性中央型淋巴瘤(濾泡性淋巴瘤)、中等級別彌漫性 NHL、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、復發性/難治性彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、侵襲性 NHL (包括侵襲性前線 NHL 及侵襲性復發性 NHL)、在自體幹細胞移植後復發或自體幹細胞移植難治性 NHL、原發性縱隔大 B 細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、高級別免疫母細胞性 NHL、高級別淋巴母細胞性 NHL、高級別小無裂細胞 NHL、腫塊性疾病 NHL、伯基特氏淋巴瘤、前驅(周圍)大顆粒淋巴細胞性白血病、蕁樣真菌病及/或塞紮里氏症候群(Sezary syndrome)、皮膚淋巴瘤、間變性大細胞淋巴瘤、血管中心性淋巴瘤。

【0133】 「病症」係將獲益於本發明之物質/分子或方法之治療的任何病況。此包括慢性及急性病症或疾病，包括使哺乳動物易患上所論及病症之病理病

況。擬在本文中治療之病症的非限制性實例包括癌性病況，諸如惡性及良性腫瘤；非白血病及淋巴惡性疾病；神經元、神經膠質、星形細胞、下丘腦及其他腺體、巨噬細胞、上皮細胞、基質細胞及囊胚腔病症；以及發炎性、免疫性及其他血管生成相關病症。病症進一步包括癌性病況，諸如 B 細胞增殖性病症及/或 B 細胞腫瘤，例如淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、侵襲性 NHL、復發性侵襲性 NHL、復發性惰性 NHL、難治性 NHL、難治性惰性 NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

【0134】 術語「細胞增殖性病症」及「增殖性病症」係指與某種程度之異常細胞增殖相關的病症。在一個實施例中，該增殖性病症係癌症。在一些實施例中，該癌症係 B 細胞增殖性病症。

【0135】 如本文所使用，「腫瘤」係指所有贅生性細胞生長及增殖，不管是惡性抑或良性的，以及所有癌前及癌細胞及組織。

【0136】 「治療(Treating/treatment)」或「緩和」係指治療性治療以及防治性或預防性措施，其中目的係預防或減慢(減輕)靶病理病況或病症。需要治療者包括已患上該病症者以及易患上該病症者或打算預防該病症者。若在根據本發明之方法，接受治療量之抗 CD79b 抗體之後，患者顯示以下一或多種的可觀察及/或可量測之減少或不存在，則受試者或哺乳動物成功地治療 CD79b 多肽表現性癌症：癌細胞數量減少或不存在癌細胞；腫瘤大小減小；抑制(亦即，在某種程度上減慢且較佳停止)癌細胞浸潤至周圍器官，包括癌症擴散至軟組織及骨骼中；抑制(亦即，在某種程度上減慢且較佳停止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；及/或在某種程度上緩解與特定癌症相關之一或多種症狀；降低發病率及死亡率；以及改善生活品質。就抗 CD79b 抗體可以預防癌細胞生長及/或殺死現有癌細胞而言，該抗體可以為細胞抑制性及/或細胞毒性的。該等病徵或症狀

之減少亦可由患者感知。

【0137】 以上用於評估疾病成功治療及改善之參數易於藉由醫師熟悉之常規程序量測。對於癌症療法，可例如藉由評估疾病進展時間(TTP)及/或測定反應率(RR)來量測功效。轉移可藉由分期測試及藉由骨骼掃描以及針對鈣含量及測定擴散至骨骼之其他酶測定。亦可進行 CT 掃描以觀察骨盆及淋巴結在該區域中之擴散。胸部 X 射線及利用已知方法量測肝酶含量分別可用於觀察肺及肝之轉移。用於監測疾病之其他常規方法包括經直腸超音照相法(TRUS)及經直腸針穿刺活檢(TRNB)。

【0138】 對於作為侷限性較高之癌症的膀胱癌，測定疾病進展之方法包括藉由膀胱鏡檢查進行之尿細胞學評價、監測尿液中血液之存在、藉由超音檢查法或靜脈內腎盂造影、電腦斷層攝影(CT)或磁共振成像(MRI)觀測泌尿道。遠端轉移之存在可藉由腹部 CT、胸部 x 射線或骨骼放射性核種成像評估。

【0139】 「長期」投藥係指與急性模式相對，以連續模式投與藥劑，由此維持初始治療作用(活性)較長時間段。「間歇」投藥係並非在無中斷情況下連續地進行，而是循環性進行的治療。

【0140】 「個體」、「受試者」或「患者」係脊椎動物。在某些實施例中，該脊椎動物係哺乳動物。哺乳動物包括但不限於農場動物(諸如牛)、運動動物、寵物(諸如貓、犬及馬)、靈長類動物、小鼠及大鼠。在某些實施例中，哺乳動物係人類。

【0141】 「與一或多種其他治療劑組合」投與包括同時(並行)及以任何次序連續投與。

【0142】 如本文所使用，「載劑」包括在所用劑量及濃度下對暴露於其之細胞或哺乳動物無毒的醫藥學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑。通常，生理學上可接受之載劑係 pH 緩衝水溶液。生理學上可接受之載劑的實例包括緩衝劑，

諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸；低分子量(小於約 10 個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啉酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、精胺酸或離胺酸；單醣、二醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如 EDTA；糖醇，諸如甘露糖醇或山梨糖醇；成鹽抗衡離子，諸如鈉；及/或非離子型界面活性劑，諸如 TWEEN®、聚乙二醇(PEG)及 PLURONICS®。

【0143】 術語「醫藥組成物」或「醫藥調配物」係指呈使活性成分之生物活性有效之形式且不含對將投與調配物之受試者產生不可接受之毒性之其他組分的抗 CD79b 免疫結合物之製劑。此類調配物係無菌的。「醫藥學上可接受」之賦形劑(媒劑、添加劑)係可合理地投與受試哺乳動物以提供有效劑量之所用活性成分者。

【0144】 「無菌」調配物係無病菌的或不含或者基本上不含所有活微生物及其孢子。

【0145】 本文所揭示之抗 CD79b 免疫結合物之「有效量」係足以實現特別規定之目的量。「有效量」可以針對所述目的，憑經驗且以常規方式確定。

【0146】 術語「治療有效量」係指有效「治療」受試者或哺乳動物之疾病或病症的抗 CD79b 免疫結合物之量。在癌症之情況下，治療有效量的該免疫結合物可減少癌細胞數量；減小腫瘤大小；抑制(亦即，在某種程度上減慢且較佳停止)癌細胞向周圍器官中之浸潤；抑制(亦即，在某種程度上減慢且較佳停止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；及/或在某種程度上減輕癌症相關一或多種症狀。參見本文中「治療」之定義。就該免疫結合物可以預防癌細胞生長及/或殺死現有癌細胞而言，其可以為細胞抑制性及/或細胞毒性的。「預防有效量」係指以必需之劑量且在必需時間段內有效達成所需預防結果的量。典型地但非必需地，由於預防劑量係在疾病之前或疾病早期用於受試者，故預防有效量將

低於治療有效量。

【0147】 抗 CD79b 免疫結合物之「生長抑制量」係能夠在活體外或活體內抑制細胞，尤其是腫瘤，例如癌細胞之生長的量。用於抑制贅生細胞生長目的的抗 CD79b 免疫結合物之「生長抑制量」可憑經驗且以常規方式測定。

【0148】 抗 CD79b 免疫結合物之「細胞毒性量」係能夠在活體外或活體內破壞細胞，尤其是腫瘤，例如癌細胞之量。用於抑制贅生細胞生長目的的抗 CD79b 抗體之「細胞毒性量」可憑經驗且以常規方式測定。

【0149】 「CD79b 表現性細胞」係在細胞表面上或以分泌形式表現內源性或經轉染 CD79b 多肽的細胞。「CD79b 表現性癌症」係包含在細胞表面上存在 CD79b 多肽或產生並分泌 CD79b 多肽之細胞的癌症。「CD79b 表現性癌症」視情況在其細胞表面上產生足量 CD79b 多肽，由此抗 CD79b 抗體可與其結合並針對該癌症具有治療作用。在另一個實施例中，「CD79b 表現性癌症」視情況產生並分泌足量 CD79b 多肽，由此抗 CD79b 抗體拮抗劑可與其結合並針對該癌症具有治療作用。對於後者，該拮抗劑可為減少、抑制或防止腫瘤細胞產生並分泌經分泌 CD79b 多肽的反義寡核苷酸。「過度表現」CD79b 多肽之癌症係在細胞表面上具有的 CD79b 多肽量高於相同組織類型之非癌細胞，或產生並分泌 CD79b 多肽的癌症。此類過度表現可由基因擴增或由轉錄或轉譯增加引起。CD79b 多肽過度表現可在偵測或預後檢定中，藉由評價細胞表面上存在或由該細胞分泌之 CD79b 蛋白質的量增加測定(例如經由免疫組織化學檢定，使用所製備的針對經分離 CD79b 多肽之抗 CD79b 抗體進行，該經分離 CD79b 多肽可使用重組 DNA 技術，由編碼 CD79b 多肽之經分離核酸製備；FACS 分析等)。替代地或另外，可經由例如使用對應於 CD79b 編碼核酸或其補體的基於核酸之探針進行的螢光原位雜交(FISH；參見 1998 年 10 月公開之 WO98/45479)、南方墨點法(Southern blotting)、北方墨點法(Northern blotting)或聚合酶鏈反應(PCR)技

術，諸如實時定量 PCR (RT-PCR)量測細胞中編碼 CD79b 多肽之核酸或 mRNA 之含量。亦可藉由例如使用基於抗體之檢定量測生物流體諸如血清中之脫落抗原來研究 CD79b 多肽之過度表現(亦參見例如 1990 年 6 月 12 日頒予的美國專利第 4,933,294 號；1991 年 4 月 18 日公開之 WO91/05264；1995 年 3 月 28 日頒予之美國專利 5,401,638；及 Sias 等人, J. Immunol. Methods 132:73-80 (1990))。除上述檢定外，熟練技術人員亦可用各種活體內檢定。舉例而言，可使患者體內之細胞暴露於視情況用可偵測標記，例如放射性同位素標記之抗體，且可例如藉由外部掃描放射性物質或藉由分析自先前暴露於抗體之患者取得的生檢體評價該抗體與患者體內細胞之結合。

【0150】 如本文所使用，術語「細胞毒性劑」係指抑制或防止細胞功能及/或引起細胞破壞之藥物分子。該術語意圖包括能夠對細胞生長或增殖具有有害作用的毒素，諸如細菌、真菌、植物或動物起源之小分子毒素或酶活性毒素，包括其片段及/或變異體。在一個實施例中，該細胞毒性劑係單甲基奧瑞他汀 E (mono-methyl auristatin E, MMAE)。

【0151】 如本文所使用，「凍乾」組成物係指經由凍乾程序進行冷凍乾燥，產生「塊狀物」之液體組成物。在某些實施例中，凍乾塊在儲存條件($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 且避光)下穩定且該塊狀物結構、顏色、外觀或水分含量無明顯改變。在一個具體實施例中，凍乾塊係光滑的且無凹痕。在本發明之某些實施例中，凍乾組成物穩定保持約 60 個月。在本發明之某些實施例中，凍乾組成物穩定保持約 48 個月。

【0152】 「穩定」調配物係這樣一種調配物，在該調配物中之免疫結合物在儲存時基本上保持其物理穩定性及/或化學穩定性及/或生物活性。較佳地，該調配物在儲存時基本上保持其物理及化學穩定性，以及其生物活性。儲存期一般係基於該調配物之預定保存期限選擇。用於量測蛋白質穩定性之各種分析技術

係此項技術中可用的且評述於例如 *Peptide and Protein Drug Delivery*, 247-301, Vincent Lee 編, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991)及 Jones, A. *Adv. Drug Delivery Rev.* 10: 29-90 (1993)中。穩定性可在選定溫度及選定時間段內量測。穩定性可藉由多種不同方式定性及/或定量地評價，包括評價聚集體形成(例如使用尺寸排阻層析法、藉由量測濁度及/或藉由目測檢查)；藉由使用陽離子交換層析法、成像毛細管等電聚焦(icIEF)或毛細管區電泳評估電荷異質性；胺基末端或羧基末端序列分析；質譜分析；用於比較較短抗體及完整抗體之 SDS-PAGE 分析；肽譜圖(例如胰蛋白酶或 LYS-C)分析；評價抗體之生物活性或抗原結合功能等。不穩定性可涉及以下任一種或多種：聚集、脫醯胺(例如 Asn 脫醯胺)、氧化(例如 Met 氧化)、異構化(例如 Asp 異構化)、剪輯/水解/斷裂(例如鉸鏈區斷裂)、琥珀醯亞胺形成、未配對半胱胺酸、N 末端延伸、C 末端加工、糖基化差異等。

【0153】 若在目測檢查顏色及/或澄清度時，或如藉由 UV 光散射或藉由尺寸排阻層析法所量測，免疫結合物未顯示聚集、沈澱及/或變性跡象或顯示極少聚集、沈澱及/或變性，則免疫結合物在醫藥調配物中「保持其物理穩定性」。

【0154】 若在給定時間時之化學穩定性使得免疫結合物被視為仍保持其生物活性(如以下所定義)，則該免疫結合物在醫藥調配物中「保持其化學穩定性」。化學穩定性可藉由偵測並定量該免疫結合物中蛋白質部分(例如抗體)之化學變化形式來評估。化學變化可能涉及尺寸改變(例如剪輯)，此可例如使用尺寸排阻層析法、SDS-PAGE 及/或基質輔助雷射解吸電離/飛行時間質譜法(MALDI/TOF MS)評價。其他類型之化學變化包括電荷變化(例如作為脫醯胺之結果存在)，其可藉由例如離子交換層析法或 icIEF 評價。另外或替代地，免疫結合物之化學穩定性可藉由偵測並定量該免疫結合物中藥物部分之化學變化形式來評估。另外或替代地，免疫結合物之化學穩定性可藉由例如用疏水相互作用層析法(HIC)量測藥物:抗體比率(DAR)以測定包含該免疫結合物之組成物中的 DAR 分佈來評

估。

【0155】 若如在檢定(例如抗原結合檢定)中所測定，在給定時間時免疫結合物中蛋白質部分(例如抗體，諸如抗 CD79b 抗體)之生物活性係在製備包含該免疫結合物之醫藥調配物時所展現的生物活性之至少約 60% (在該檢定之誤差範圍內)，則該免疫結合物中之抗體在該醫藥調配物中「保持其生物活性」。

【0156】 「脫醯胺」單株抗體在本文中係一或多個天冬醯胺殘基已衍生化成例如天冬胺酸或異天冬胺酸之抗體。

【0157】 「氧化」單株抗體在本文中係一或多個色胺酸殘基及/或一或多個甲硫胺酸經氧化之抗體。

【0158】 「糖化」單株抗體在本文中係一或多個離胺酸殘基經糖化之抗體。

【0159】 「易於脫醯胺」之抗體係包含一或多個被發現傾向於脫醯胺之殘基的抗體。

【0160】 「易於氧化」之抗體係包含一或多個被發現傾向於氧化之殘基的抗體。

【0161】 「易於聚集」之抗體係被發現可與其他抗體分子聚集，尤其是在冷凍及/或攪動時聚集的抗體。

【0162】 「易於斷裂」之抗體係被發現可裂解成兩個或兩個以上片段，例如在其鉸鏈區裂解成兩個或兩個以上片段的抗體。

【0163】 「減少脫醯胺、氧化、聚集或斷裂」意圖指相對於調配成不同調配物之單株抗體，防止脫醯胺、氧化、聚集或斷裂，或減少脫醯胺、氧化、聚集或斷裂之量。

【0164】 所調配之抗體較佳為基本上純的且合意地為基本上均質的(例如不含污染蛋白質等)。「基本上純」的抗體意謂以組成物中蛋白質之總重量計包含至少約 90 重量%、較佳至少約 95 重量%該抗體的組成物。「基本上均質」之抗

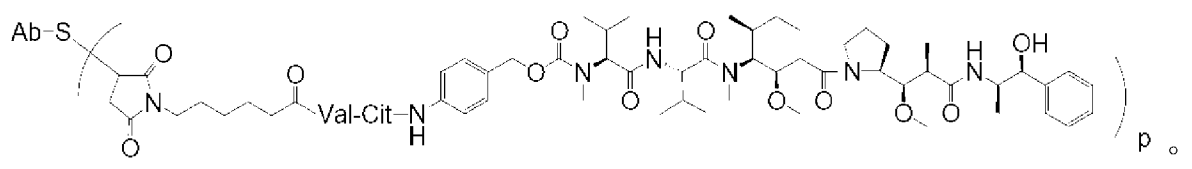
體意謂以組成物中蛋白質之總重量計包含至少約 99 重量%抗體的組成物。

【0165】 「等滲」意味著，所關注調配物之滲透壓與人血液基本上相同。等滲調配物之滲透壓一般為約 250 至 350 mOsm。等滲性可使用例如蒸氣壓或冰凍型滲透壓計量測。

【0166】 如本文所使用，「緩衝劑」係指在酸-鹼結合組分作用下抵抗 pH 變化的緩衝溶液。在本文中，緩衝劑之非限制性實例包括組胺酸、磷酸鈉及琥珀酸鈉。本發明之緩衝劑的 pH 值較佳地在約 4.5 至約 7.0 範圍內，較佳地在約 5.0 至 6.0 範圍內。在一個實施例中，緩衝劑之 pH 值係 5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9 或 6.0。在一個示例性實施例中，緩衝劑之 pH 值係 5.3。舉例而言，琥珀酸鈉係將 pH 值控制在該範圍內的緩衝劑之實例。

【0167】 如本文所使用，「界面活性劑」係指一種表面活性劑，較佳地為非離子型界面活性劑。在本文中，界面活性劑之實例包括聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯 20 及聚山梨醇酯 80)；泊洛沙姆(例如泊洛沙姆 188)；曲通(Triton)；十二烷基硫酸鈉(SDS)；月桂基硫酸鈉；辛基糖苷鈉；月桂基-磺基甜菜鹼、肉豆蔻基-磺基甜菜鹼、亞油基-磺基甜菜鹼或硬脂基-磺基甜菜鹼；月桂基-肌胺酸、肉豆蔻基-肌胺酸、亞油基-肌胺酸或硬脂基-肌胺酸；亞油基-甜菜鹼、肉豆蔻基-甜菜鹼或鯨蠟基-甜菜鹼；月桂醯胺基丙基-甜菜鹼、椰油醯胺基丙基-甜菜鹼、亞油醯胺基丙基-甜菜鹼、肉豆蔻醯胺基丙基-甜菜鹼、棕櫚醯胺基丙基-甜菜鹼或異硬脂醯胺基丙基-甜菜鹼(例如月桂醯胺基丙基)；肉豆蔻醯胺基丙基-二甲基胺、棕櫚醯胺基丙基-二甲基胺或異硬脂醯胺基丙基-二甲基胺；甲基椰油醯基-牛磺酸鈉或甲基油醯基-牛磺酸二鈉；以及 MONAQUATTM 系列(Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.)；聚乙二醇、聚丙二醇及乙二醇與丙二醇之共聚物(例如 Pluronic、PF68 等)等等。在一個實施例中，該界面活性劑在本文中係聚山梨醇酯 20。在另一個實施例中，該界面活性劑在本文中係聚山梨醇酯 80。

物」或「ADC」)。本發明提供式 Ab – (L – D)_p 之抗 CD79b 免疫結合物，其中 Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含 (a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNE DPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6)；L 係包含 6-順丁烯二醯亞胺基己醯基-纈胺酸-瓜胺酸-對胺基苯甲氧羰基(MC-val-cit-PAB)之連接子；D 係 MMAE；且 p 係自約 1 至約 8 (例如介於約 2 與約 5 之間，諸如為約 3.5)之值；且其中該抗 CD79b 免疫結合物具有以下結構：



本發明之抗 CD79b 免疫結合物可稱為抗 CD79b-MC-val-cit-MMAE、抗 CD79b-MC-vc-MMAE 或抗 CD79b-vc-MMAE。泊拉珠單抗凡酯係本發明之抗 CD79b 免疫結合物的一個實例。泊拉珠單抗凡酯具有 CAS 登記號 1313206-42-6、IUPHAR/BPS 編號 8404 及 KEGG 編號 D10761。術語「泊拉珠單抗凡酯」、「DCDS4501A」及「RG7596」涵蓋滿足在選自由美國、歐洲及日本組成之國家群的國家或地區獲得作為相同或生物類似產品之上市許可所需要求的所有相應免疫結合物。

【0172】 在一些實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 5 mg/ml 至約 60 mg/ml、約 10 mg/ml 至約 50 mg/ml、約 10 mg/ml 至約 40 mg/ml、約 10 mg/ml 至約 30 mg/ml，或約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml。在一個具體實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 5 mg/ml、約 6 mg/ml、約 7 mg/ml、約 8 mg/ml、約 9 mg/ml、約 10 mg/ml、約 11 mg/ml、約 12 mg/ml、約

13 mg/ml、約 14 mg/ml、約 15 mg/ml、約 16 mg/ml、約 17 mg/ml、約 18 mg/ml、約 19 mg/ml、約 20 mg/ml、約 25 mg/ml、約 30 mg/ml、約 35 mg/ml、約 40 mg/ml、約 45 mg/ml、約 50 mg/ml、約 55 mg/ml 或約 60 mg/ml。

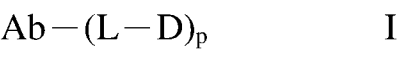
【0173】 在本文所提供之任何實施例的一些實施例中，「約」某值或參數涵蓋所述值或參數 $\pm 10\%$ 、 $\pm 9\%$ 、 $\pm 8\%$ 、 $\pm 7\%$ 、 $\pm 6\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 4\%$ 、 $\pm 3\%$ 、 $\pm 2\%$ 或 $\pm 1\%$ 中任一個之誤差範圍，包括在該等值之間的任何範圍。

【0174】 在一些實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml。在一個示例性實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 10 mg/ml。在另一個示例性實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 20 mg/ml。

【0175】 在一些實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 5 mg/ml 至 60 mg/ml、10 mg/ml 至 50 mg/ml、10 mg/ml 至 40 mg/ml、10 mg/ml 至 30 mg/ml 或 10 mg/ml 至 20 mg/ml。在一個特定實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 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 或 60 mg/ml。

【0176】 在一些實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml 至 20 mg/ml。在一個示例性實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml。在另一個示例性實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20 mg/ml。

【0177】 如本文所預期，該抗 CD79b 免疫結合物具有如下所示之式 I，其中抗 CD79b 抗體或其片段(Ab)經連接子(L)結合至(亦即，共價連接至) MMAE 藥物部分(D)。



【0178】 在式 I 中，p 係每個抗體的藥物部分之平均數量，其可在例如每個抗體約 1 至約 20 個藥物部分的範圍內，且在某些實施例中可在每個抗體約 1 至約 8 個藥物部分範圍內。本發明包括一種組成物，其包含式 I 之抗體-藥物化合物之混合物，其中每個抗體之平均載藥量係約 2 至約 5 個，或約 3 至約 4 個，例如 3.5 個。

1. 抗 CD79b 抗體

- 【0179】 本發明提供包含抗 CD79b 抗體或其功能片段之免疫結合物。
- 【0180】 在一個態樣中，本發明提供一種結合至、較佳特異性結合至 CD79b 之抗 CD79b 抗體。視情況，該抗體係單株抗體；抗體片段，包括 Fab、Fab'、F(ab')₂ 及 Fv；雙功能抗體；單結構域抗體；嵌合抗體；人類化抗體；單鏈抗體；或競爭性抑制抗 CD79b 多肽抗體與其各別抗原決定基之結合的抗體。本發明之抗體可視情況在 CHO 細胞或細菌細胞中產生且較佳誘導其所結合之細胞死亡。
- 【0181】 本發明提供一種包括人類化抗 CD79b 抗體之抗 CD79b 免疫結合物，其中該抗體與 CD79b 之單價親和力(例如 Fab 片段形式之抗體與 CD79b 的親和力)與鼠類抗體之單價親和力(例如 Fab 片段形式之鼠類抗體與 CD79b 的親和力)或嵌合抗體之單價親和力(例如 Fab 片段形式之嵌合抗體與 CD79b 的親和力)大體上相同。
- 【0182】 在一個實施例中，本發明提供一種包括人類化抗 CD79b 抗體之抗 CD79b 免疫結合物，其中呈二價形式之抗體與 CD79b 之親和力(例如呈 IgG 形式之抗體與 CD79b 的親和力)係 0.3 nM 或更高。在另一個實施例中，本發明提供一種人類化抗 CD79b 抗體，其中呈二價形式之抗體與 CD79b 之親和力(例如呈 IgG 形式之抗體與 CD79b 的親和力)係 0.5 nM。在另一個實施例中，本發明提供一種人類化抗 CD79b 抗體，其中呈二價形式之抗體與 CD79b 之親和力(例如呈

IgG 形式之抗體與 CD79b 的親和力)係 0.5 nM +/- 0.1。在另一個實施例中，本發明提供一種人類化抗 CD79b 抗體，其中呈二價形式之抗體與 CD79b 之親和力(例如呈 IgG 形式之抗體與 CD79b 的親和力)係在 0.3 nM 與 0.7 nM 之間。在另一個實施例中，本發明提供一種人類化抗 CD79b 抗體，其中呈二價形式之抗體與 CD79b 之親和力(例如呈 IgG 形式之抗體與 CD79b 的親和力)係在 0.4 nM 與 0.6 nM 之間。在另一個實施例中，本發明提供一種人類化抗 CD79b 抗體，其中呈二價形式之抗體與 CD79b 之親和力(例如呈 IgG 形式之抗體與 CD79b 的親和力)係在 0.5 nM 與 0.55 nM 之間。

【0183】 此項技術中已充分確定，配體與其受體之結合親和力可使用多種檢定中之任一種測定，且以多種定量值表示。因此，在一個實施例中，結合親和力係以 Kd 值表示且反映固有結合親和力(例如具有最小親合力效應)。一般而言且較佳地，結合親和力係在活體外，即在無細胞環境抑或細胞結合環境中量測。如本文更詳細地描述，結合親和力之倍數差異可以人類化抗體(例如呈 Fab 形式)之單價結合親和力值與參考/比較抗體(例如呈 Fab 形式)(具有供體高變區序列之鼠類抗體)之單價結合親和力值的比率定量。因此，在一個實施例中，結合親和力之倍數差異係以呈 Fab 形式之人類化抗體與該參考/比較 Fab 抗體之 Kd 值的比率測定。舉例而言，在一個實施例中，若本發明抗體(A)之親和力比參考抗體(M)之親和力「低 3 倍」，則在 A 之 Kd 值係 3x 時，M 之 Kd 值係 1x，且 A 之 Kd 與 M 之 Kd 的比率將為 3:1。相反，在一個實施例中，若本發明抗體(C)之親和力係參考抗體(R)之親和力的「3 倍」，則在 C 之 Kd 值係 1x 時，R 之 Kd 值將為 3x，且 C 之 Kd 與 R 之 Kd 的比率將為 1:3。可使用此項技術中已知之多種檢定的任一種，包括本文所述之檢定獲得結合親和力量測值，包括例如 Biacore、放射免疫檢定(RIA)及 ELISA。

【0184】 所提供之抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含(a)

HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1) ; (b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2) ; 及(c) HVR-L3 序列 QQSNEEDPLT (SEQ ID NO:3) ; 其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4) ; (b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5) ; 及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6) 。

【0185】 在本發明之一些實施例中，該抗 CD79b 抗體包括含以下胺基酸序列的重鏈可變結構域(VH)：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEIL
PGGGDTNYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRL
DYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7)

及含以下胺基酸序列的輕鏈可變結構域(VL)：

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFLNWKYQQKPGKAPKLLIY
AASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTK
VEIKR (SEQ ID NO:8) 。

【0186】 在一些實施例中，該重鏈包含以下胺基酸序列：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVRQAPGKGLEWIGEIL
PGGGDTNYNEIFKGRATFSADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRL
DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:9)

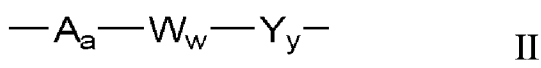
且該輕鏈包含以下胺基酸序列：

DIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQSVDYEGDSFLNWDYQQKPGKAPKLLIY
AASNLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDPLTFGQGTK
VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
SFNRGEC (SEQ ID NO:10)。

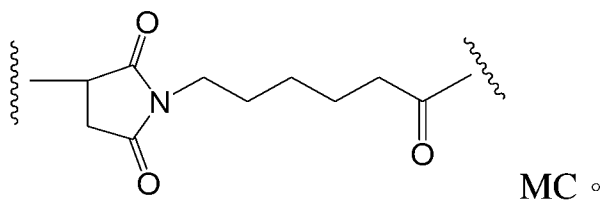
2. 連接子

【0187】 本發明提供一種連接子，其包括若干組分，包括 6-順丁烯二醯亞胺基己醯基(「MC」)、纈胺酸-瓜胺酸(「val-cit」或「vc」)及對胺基苯甲氧基羰基(「PAB」)。此類連接子組分係此項技術中已知的且在下文簡要地描述。

【0188】 如本文所使用，連接子具有式 II：



其中 A 係延伸物單元，且 a 係 0 至 1 之整數；W 係胺基酸單元，且 w 係 0 至 12 之整數；Y 係間隔子單元，且 y 係 0、1 或 2。「延伸物單元」將抗體連接至另一個連接子組分。本文所提供之延伸物單元 MC 顯示於下(其中波浪線指示與抗體共價連接之位點)：



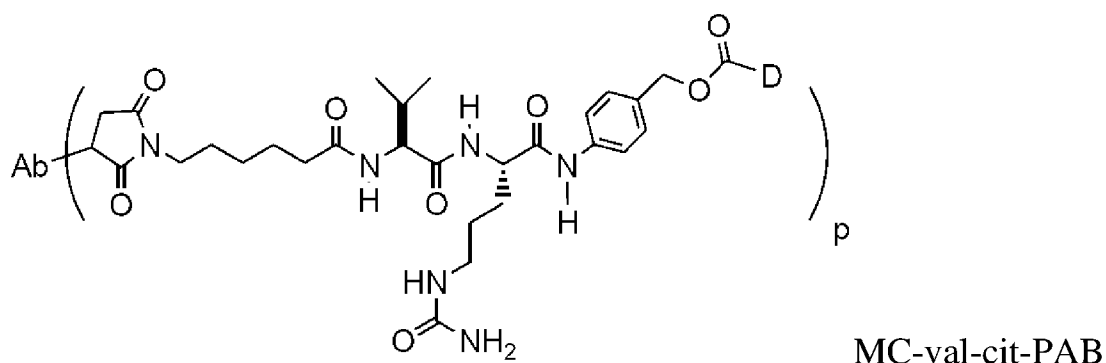
【0189】 胺基酸單元允許藉由蛋白酶裂解連接子，由此有助於藥物在暴露於細胞內蛋白酶，諸如溶酶體酶時自該免疫結合物釋放。參見例如 Doronina 等人, (2003) *Nat. Biotechnol.* 21:778-784。胺基酸單元可包含天然存在之胺基酸殘基，以及次要胺基酸及非天然存在之胺基酸類似物，諸如瓜胺酸。胺基酸單元可關於其針對特定酶，例如腫瘤相關蛋白酶、組織蛋白酶 B、C 及 D 或纖溶酶蛋白

酶之酶裂解之選擇性進行設計及優化。本文所提供之胺基酸單元係纈胺酸-瓜胺酸(vc 或 val-cit)二肽。

【0190】 如本文所使用，「間隔子」單元係自降解型的並藉助於延伸物單元及胺基酸單元將抗體連接至藥物部分。「自降解型」間隔子單元能夠因醯胺鍵以及苯甲醇與細胞毒性劑之間產生胺基甲酸酯、甲基胺基甲酸酯或碳酸酯而釋放藥物部分，無需獨立水解步驟。參見例如 Hamann 等人, (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* (2005) 15:1087-1103。本文所提供之間隔子單元係對胺基苯甲氧羰基(PAB)。

【0191】 連接子組分，包括延伸物、間隔子及胺基酸單元，可藉由此項技術中已知之方法，諸如 US 2005-0238649A1 中所描述之方法合成。

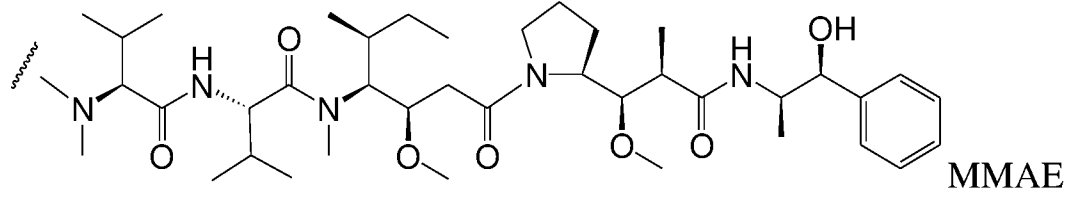
【0192】 本發明之連接子係如下所示之 MC-val-cit-PAB。



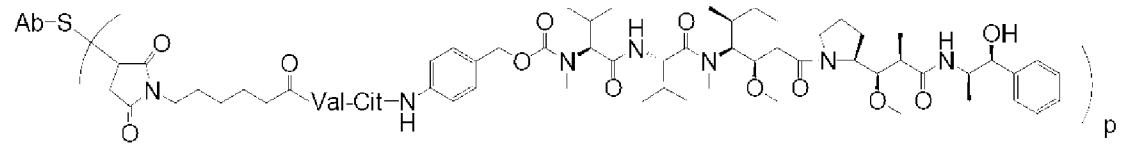
3. 單甲基奧瑞他汀(MMAE)

【0193】 本發明之免疫結合物包括抗 CD79b 抗體或其片段與作為海兔毒素合成類似物之奧瑞他汀之結合物(美國專利第 5635483 號、第 5780588 號)。經顯示，海兔毒素及奧瑞他汀可干擾微管動力學、GTP 水解以及核及細胞分裂(Woyke 等人, (2001) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 45(12):3580-3584)，並具有抗癌(美國專利第 5663149 號)及抗真菌活性(Pettit 等人, (1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2961-2965)。奧瑞他汀藥物部分可以經由肽藥物部分之 N(胺基)末端或 C(羧基)末端連接至抗體(WO 02/088172)。本發明之奧瑞他汀係如下所示的

合成、不帶電荷、N 末端連接之單甲基奧瑞他汀(MMAE)五肽。



【0194】 包含抗 CD79b 抗體或其片段、具有各種連接子組分之連接子及 MMAE 的式 I 之抗 CD79b 免疫結合物藉由以下縮寫(其中「Ab」係抗 CD79b 抗體或其片段；p 係 1 至約 8 (例如在約 2 與約 5 之間，諸如為約 3.5)，「Val-Cit」或「vc」係纈胺酸-瓜胺酸二肽；且「S」係硫原子)顯示於下。



Ab-MC-vc-PAB-MMAE

【0195】 應注意，在關於本文中硫連接之免疫結合物的某些結構描述中，抗體係表示為「Ab-S」部分，用以指示硫連接特徵且並非指示特定硫原子帶有多個連接子-藥物部分。以下結構之左括號亦可放在硫原子之左邊，在 Ab 與 S 之間，此將為本文所描述的本發明之免疫結合物之等效描述。

4. 載藥量

【0196】 載藥量係以 p 表示，表示式 I 之分子中每個抗體的藥物部分之平均數量。載藥量可在每個抗體 1 至 20 個藥物部分(D)之範圍內。式 I 之 ADC 包括抗體與一系列藥物部分(1 至 20 個)之結合物的集合。在由結合反應製備的 ADC 中每個抗體之藥物部分的平均數量可以藉由習知方式，諸如質譜法、ELISA 檢定及 HPLC 來表徵。亦可根據 p 測定 ADC 之定量分佈。在一些情形中，可以藉由諸如反相 HPLC 或電泳法之類手段實現 p 為某一值之均質 ADC 與具有其他載藥量之 ADC 之分離、純化及表徵。因此，具有式 I 之抗體-藥物結合物的醫藥調配物可為抗體連接至 1、2、3、4 個或更多藥物部分之該等結合物之異質混合物。

【0197】 對於一些抗體-藥物結合物， p 可以受抗體上連接位點之數量限制。舉例而言，當連接係半胱胺酸硫醇時，如在本文所提供之實施例中，抗體可以僅具有一個或若干個半胱胺酸硫醇基，或可能僅具有一個或若干個可以連接至連接子的具有足夠反應性的硫醇基。在某些實施例中，較高的載藥量，例如 $p > 5$ ，可能使某些抗體-藥物結合物聚集、不溶解、毒性或是細胞滲透性損失。在某些實施例中，本發明之 ADC 的載藥量在 1 至約 8、約 2 至約 6、約 3 至約 5 之範圍內或為約 3.5。實際上，經顯示，對於某些 ADC，每個抗體之最佳藥物部分比率可以低於 8，且可以為約 2 至約 5。參見 US 2005-0238649 A1。

【0198】 在某些實施例中，低於理論最大量之藥物部分在結合反應期間與抗體結合。抗體可以含有例如不與藥物-連接子中間體或連接子試劑(如以下所論述)反應的離胺酸殘基。一般而言，抗體包含許多游離的反應性半胱胺酸硫醇基，該等基團可以連接至藥物部分；實際上，抗體中的大部分半胱胺酸硫醇殘基係以二硫橋形式存在。在某些實施例中，抗體可以在部分或總體還原條件下經還原劑諸如二硫蘇糖醇(DTT)或三羰基乙基膦(TCEP)還原，產生反應性半胱胺酸硫醇基。在某些實施例中，抗體經歷變性條件，由此展現反應性親核基團，諸如離胺酸或半胱胺酸。

【0199】 ADC 之裝載量(藥物/抗體比)可以藉由不同方式控制，例如：(i)限制藥物-連接子中間體或連接子試劑相對於抗體之莫耳過量的量；(ii)限制結合反應時間或溫度；及(iii)用於半胱胺酸硫醇修飾之部分或限制性還原條件。

【0200】 應理解，在超過一個親核基團與藥物-連接子中間體或連接子試劑反應，隨後與藥物部分試劑反應的情況下，所得產物係分佈有連接至抗體之一或多個藥物部分的 ADC 複合物之混合物。每個抗體的平均藥物數量可以由該混合物，藉由雙重 ELISA 抗體檢定來計算，該檢定對於抗體具有特異性且對於藥物具有特異性。該混合物中之各個 ADC 分子可藉由質譜法鑑別且藉由 HPLC，例

如疏水相互作用層析法分離(參見例如 McDonagh 等人, (2006) Prot. Engr. Design & Selection 19(7):299-307 ; Hamblett 等人, (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070 ; Hamblett, K.J.等人, 「Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate,」 摘要編號 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, 2004 年 3 月 27-31 日, Proceedings of the AACR, 第 45 卷, 2004 年 3 月 ; Alley, S.C.等人, 「Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates」, 摘要編號 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, 2004 年 3 月 27-31 日, Proceedings of the AACR, 第 45 卷, 2004 年 3 月)。在某些實施例中, 具有單一載量值之均質 ADC 可以藉由電泳或層析法自結合混合物分離。

5. 製備免疫結合物之示例性方法

【0201】 式 I 之 ADC 可藉由若干途徑, 採用熟習此項技術者已知之有機化學反應、條件及試劑製備, 包括: (1)抗體之親核基團與二價連接子試劑反應形成經由共價鍵連接之 Ab-L, 隨後與藥物部分 D 反應; 及(2)藥物部分之親核基團與二價連接子試劑反應形成經由共價鍵連接之 D-L, 隨後與抗體之親核基團反應。經由後一途徑製備式 I 之 ADC 的示例性方法描述於 US 2005-0238649 A1 中, 其以引用之方式明確地併入本文中。

【0202】 抗體上之親核基團包括但不限於: (i) N 末端胺基; (ii)側鏈胺基, 例如離胺酸; (iii)側鏈硫醇基, 例如半胱胺酸; 及(iv)糖羥基或胺基, 其中該抗體經糖基化。胺、硫醇基及羥基係親核基團且能夠與連接子部分及連接子試劑上之親電子基團反應形成共價鍵, 該等連接子部分及連接子試劑包括: (i)活性酯, 諸如 NHS 酯、HOBt 酯、鹵代甲酸酯及醯鹵化物; (ii)烷基及苯甲基鹵化物, 諸如鹵代乙醯胺; (iii)醛、酮、羧基及順丁烯二醯亞胺基團。某些抗體具有可還原之鏈間二硫鍵, 亦即, 半胱胺酸橋。可藉由用還原劑諸如 DTT (二硫蘇糖醇)或

三羰基乙基膦(TCEP)處理，使得抗體完全或部分還原來使抗體具有反應性以與連接子試劑結合。每個半胱胺酸橋在理論上將由此形成兩個反應性硫醇親核試劑。可以藉由例如離胺酸與 2-亞胺基硫雜環戊烷(托特氏試劑(Traut's reagent))反應，將胺轉化成硫醇來對離胺酸殘基進行修飾，將另外的親核基團引入抗體中。反應性硫醇基團可以藉由引入一個、兩個、三個、四個或更多個半胱胺酸殘基(例如藉由製備包含一或多個非天然半胱胺酸胺基酸殘基之變異抗體)而引入抗體中。

【0203】 亦可藉由抗體上之親電子基團諸如醛或酮羰基與連接子試劑或藥物上之親核基團反應來製備本發明之抗體-藥物結合物。連接子試劑上的有用親核基團包括但不限於醯肼、肟、胺基、羥基、肼、縮胺基硫脲、肼羧酸酯及芳基醯肼。在一個實施例中，對抗體進行修飾以引入能夠與連接子試劑或藥物上之親核取代基反應的親電子部分。在另一個實施例中，糖基化抗體中之糖可用例如高碘酸鹽氧化試劑氧化，以形成醛基或酮基，該等基團可以與連接子試劑或藥物部分上之胺基反應。所得亞胺希夫鹼(Schiff base)基團可形成穩定鍵聯，或可例如藉由硼氫化物試劑還原以形成穩定胺鍵聯。在一個實施例中，糖基化抗體中之碳水化合物部分與半乳糖氧化酶或偏高碘酸鈉反應可在抗體中產生羰基(醛基及酮基)，其可與藥物上之適當基團反應(Hermanson, Bioconjugate Techniques)。在另一個實施例中，含有 N 末端絲胺酸或蘇胺酸殘基之抗體可與偏高碘酸鈉反應，產生醛替代第一個胺基酸(Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146；US 5362852)。此類醛可與藥物部分或連接子親核試劑反應。

【0204】 藥物部分上之親核基團包括但不限於：胺、硫醇基、羥基、醯肼、肟、肼、縮胺硫脲、肼羧酸酯及芳基醯肼，其能夠與連接子部分及連接子試劑上之親電子基團反應形成共價鍵，該等連接子部分及連接子試劑包括：(i)活性

酯，諸如 NHS 酯、HOBt 酯、鹵代甲酸酯及醯鹵化物；(ii)烷基及苯甲基鹵化物，諸如鹵代乙醯胺；(iii)醛、酮、羧基及順丁烯二醯亞胺基團。

【0205】 本發明之化合物明確地涵蓋但不限於用以下交聯試劑製備的 ADC：BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、磺基-EMCS、磺基-GMBS、磺基-KMUS、磺基-MBS、磺基-SIAB、磺基-SMCC 及磺基-SMPB，以及琥珀醯亞胺基-(4-乙基基磺)苯甲酸酯(SVSB)，其為可商購的(例如購自 Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A；參見 2003-2004 Applications Handbook and Catalog, 第 467-498 頁)。

【0206】 包含抗體及細胞毒性劑之免疫結合物亦可使用多種雙官能蛋白質偶合劑製備，該等雙官能蛋白質偶合劑係諸如 N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、琥珀醯亞胺基-4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(SMCC)、亞胺基硫雜環戊烷(IT)、醯亞胺酯之雙官能衍生物(諸如二亞胺代己二酸二甲酯鹽酸鹽(dimethyl adipimidate HCl))、活性酯(諸如二琥珀醯亞胺基辛二酸酯)、醛(諸如戊二醛)、雙疊氮基化合物(諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺)、雙重氮鎘衍生物(諸如雙(對重氮鎘苯甲醯基)-乙二胺)、二異氰酸酯(諸如 2,6-二異氰酸甲苯酯)及雙活性氟化合物(諸如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯)。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可以如 Vitetta 等人, Science, 238:1098 (1987)中所述來製備。碳-14 標記之 1-異硫氰酸基苯甲基-3-甲基二仲乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)係用於結合放射性核苷酸與抗體的一種示例性螯合劑。參見 WO94/11026。

B. 界面活性劑

【0207】 本發明提供一種包括抗 CD79b 免疫結合物及界面活性劑之組成物。在某些實施例中，界面活性劑係聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯 20 及聚山梨醇酯 80)；泊洛沙姆(例如泊洛沙姆 188)；N-辛基-β-D 吡喃葡萄糖苷(OG)；曲通；十二烷基硫酸鈉(SDS)；月桂基硫酸鈉；辛基糖苷鈉；月桂基-磺基甜菜鹼、肉豆蔻

基-磺基甜菜鹼、亞油基-磺基甜菜鹼或硬脂基-磺基甜菜鹼；月桂基-肌胺酸、肉豆蔻基-肌胺酸、亞油基-肌胺酸或硬脂基-肌胺酸；亞油基-甜菜鹼、肉豆蔻基-甜菜鹼或鯨蠟基-甜菜鹼；月桂醯胺基丙基-甜菜鹼、椰油醯胺基丙基-甜菜鹼、亞油醯胺基丙基-甜菜鹼、肉豆蔻醯胺基丙基-甜菜鹼、棕櫚醯胺基丙基-甜菜鹼或異硬脂醯胺基丙基-甜菜鹼(例如月桂醯胺基丙基)；肉豆蔻醯胺基丙基-二甲基胺、棕櫚醯胺基丙基-二甲基胺或異硬脂醯胺基丙基-二甲基胺；甲基椰油醯基-牛磺酸鈉或甲基油醯基-牛磺酸二鈉；以及 MONAQUATTM 系列(Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.)；聚乙二醇、聚丙二醇及乙二醇與丙二醇之共聚物，諸如 Pluronic 或 PF68；或其任何組合。

【0208】 在一些實施例中，在本文中，該界面活性劑係非離子型的。在某些示例性實施例中，該界面活性劑係選自由以下組成之群：聚山梨醇酯 20 (PS20)、聚山梨醇酯 80 (PS80)、泊洛沙姆 188 (P188)、N-辛基-β-D 吡喃葡萄糖苷(OG)及其組合。在一個具體實施例中，該界面活性劑係 PS20。在另一個實施例中，在本文中該界面活性劑係 PS80。

【0209】 在某些實施例中，該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少約 0.01% w/v (亦即，0.1 mg/ml)與約 0.20% w/v (亦即，2.0 mg/ml)之間。在某些實施例中，該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少約 0.01% w/v (亦即，0.1 mg/ml)、至少約 0.02% w/v (亦即，0.2 mg/ml)、至少約 0.03% w/v (亦即，0.3 mg/ml)、至少約 0.04% w/v (亦即，0.4 mg/ml)、至少約 0.05% w/v (亦即，0.5 mg/ml)、至少約 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)、至少約 0.07% w/v (亦即，0.7 mg/ml)、至少約 0.08% w/v (亦即，0.8 mg/ml)、至少約 0.09% w/v (亦即，0.9 mg/ml)、至少約 0.10% w/v (亦即，1 mg/ml)、至少約 0.11% w/v (亦即，1.1 mg/ml)、至少約 0.12% w/v (亦即，1.2 mg/ml)、至少約 0.13% w/v (亦即，1.3 mg/ml)、至少約 0.14% w/v (亦即，1.4 mg/ml)、至少約 0.15% w/v (亦即，1.5 mg/ml)、至少

約 0.16% w/v (亦即, 1.6 mg/ml)、至少約 0.17% w/v (亦即, 1.7 mg/ml)、至少約 0.18% w/v (亦即, 1.8 mg/ml)、至少約 0.19% w/v (亦即, 1.9 mg/ml)或至少約 0.20% w/v (亦即, 2.0mg/ml), 包括在該等值之間之任何範圍。在一個具體實施例中, 該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少約 0.06% w/v (亦即, 0.6 mg/ml)。在另一個具體實施例中, 該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少約 0.12% w/v (亦即, 1.2 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物係液體醫藥組成物。在一些實施例中, 該液體醫藥組成物在 30°C下儲存時穩定保持至少約 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時中之任一個, 或在 2°C-8°C 下儲存時穩定保持至少約 24、48 或 72 小時中之任一個。

【0210】 在某些實施例中, 該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少約 0.01% w/v (亦即, 0.1 mg/ml)與約 0.20% w/v (亦即, 2.0 mg/ml)之間。在某些實施例中, 該凍乾醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少 0.01% w/v、至少 0.02% w/v、至少 0.03% w/v、至少 0.04% w/v、至少 0.05% w/v、至少 0.06% w/v、至少 0.07% w/v、至少 0.08% w/v、至少 0.09% w/v、至少 0.10% w/v、至少 0.11% w/v、至少 0.12% w/v、至少 0.13% w/v、至少 0.14% w/v、至少 0.15% w/v、至少 0.16% w/v、至少 0.17% w/v、至少 0.18% w/v、至少 0.19% w/v 或至少 0.20% w/v, 包括在該等值之間之任何範圍。在一個具體實施例中, 該凍乾醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少 0.06% w/v。在另一個具體實施例中, 該凍乾醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少 0.12% w/v。在一些實施例中, 該凍乾醫藥組成物係凍乾塊。在一些實施例中, 該凍乾醫藥組成物係包含在玻璃小瓶中。

【0211】 在某些實施例中, 該液體醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少約 0.1 至約 2.0 mg/ml。在某些實施例中, 該液體醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少以下至少一個: 約 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 或 2.0 mg/ml，包括在該等值之間之任何範圍。在一個具體實施例中，該液體醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少約 0.6 mg/ml。在另一個具體實施例中，該液體醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少 1.2 mg/ml。在一些實施例中，該液體醫藥組成物自凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)復原(例如使用 SWFI 復原)得到。在一些實施例中，該液體醫藥組成物係包含在玻璃小瓶中。在一些實施例中，該液體醫藥組成物在 30°C 下儲存時穩定保持至少約 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時中之任一個，或在 2°C-8°C 下儲存時穩定保持至少約 24、48 或 72 小時中之任一個。

【0212】 在一個示例性實施例中，該凍乾醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係 0.06% w/v。在另一個示例性實施例中，該凍乾醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係 0.12% w/v。在一些實施例中，該凍乾醫藥組成物係凍乾塊。在一些實施例中，該凍乾醫藥組成物係包含在玻璃小瓶中。

【0213】 在一個示例性實施例中，該液體醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係 0.6 mg/ml。在另一個示例性實施例中，該液體醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係 1.2 mg/ml。在一些實施例中，該液體醫藥組成物係自凍乾組成物(諸如凍乾塊)復原(例如使用 SWFI 復原)得到。在一些實施例中，該液體醫藥組成物係包含在玻璃小瓶中。在一些實施例中，該液體醫藥組成物在 30°C 下儲存時穩定保持至少約 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時中之任一個，或在 2°C-8°C 下儲存時穩定保持至少約 24、48 或 72 小時中之任一個。在一些實施例中，該液體醫藥組成物在 30°C 下儲存時穩定保持至少約 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時中之任一個，或在 2°C-8°C 下儲存時穩定保持至少約 24、48 或 72 小時中之任一個。

【0214】 在一些實施例中，該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10

mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑之濃度係至少 0.06% w/v (亦即, 0.6 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少 0.12% w/v (亦即, 1.2 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物係復原之組成物(例如使用 SWFI 自凍乾組成物復原)。在一些實施例中, 該醫藥組成物係包含在玻璃小瓶中。在一些實施例中, 該液體醫藥組成物在 30°C下儲存時穩定保持至少約 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時中之任一個, 或在 2°C-8°C下儲存時穩定保持至少約 24、48 或 72 小時中之任一個。

【0215】 在一些實施例中, 該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係 0.06% w/v (亦即, 0.6 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 10 mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係 0.12% w/v (亦即, 1.2 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物係復原之組成物(例如使用 SWFI 自凍乾組成物復原)。在一些實施例中, 該醫藥組成物係包含在玻璃小瓶中。

【0216】 在一些實施例中, 該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20 mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少 0.06% w/v (亦即, 0.6 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20 mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係至少 0.12% w/v (亦即, 1.2 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物係復原之組成物(例如使用 SWFI 自凍乾組成物復原)。在一些實施例中, 該醫藥組成物係包含在玻璃小瓶中。

【0217】 在一些實施例中, 該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20 mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑(例如 PS20)之濃度係 0.06% w/v (亦即, 0.6 mg/ml)。在一些實施例中, 該醫藥組成物中抗 CD79b 免疫結合物之濃度係 20

mg/ml 且該醫藥組成物中界面活性劑之濃度係 0.12% w/v (亦即, 1.2 mg/ml)。在一些實施例中, 該液體醫藥組成物在 30°C 下儲存時穩定保持至少約 4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 小時中之任一個, 或在 2°C-8°C 下儲存時穩定保持至少約 24、48 或 72 小時中之任一個。

【0218】 在一些實施例中, 該醫藥組成物係適於靜脈內投與之液體組成物。在一些實施例中, 適於投與之液體組成物包含在約 0.0432 與約 0.162 mg/ml 之間之界面活性劑(例如聚山梨醇酯 20)。在一些實施例中, 該液體組成物包含在約 0.72 mg/ml 與約 2.7 mg/ml 之間之泊拉珠單抗凡酯。在一些實施例中, 適於靜脈內投與之液體組成物包含約 0.72 mg/ml 泊拉珠單抗凡酯及約 0.0432 mg/ml 聚山梨醇酯 20。在一些實施例中, 適於靜脈內投與之液體組成物包含約 2.7 mg/ml 泊拉珠單抗凡酯及約 0.162 mg/ml 聚山梨醇酯 20。

C. 緩衝劑

【0219】 根據本發明, 提供包括緩衝劑之醫藥組成物。不希望受理論束縛, 使用緩衝劑維持該醫藥組成物在該組成物之製造、儲存及使用期間的 pH 值。緩衝劑之非限制性實例包括組胺酸、琥珀酸鹽、琥珀酸鈉、碳酸氫鈉、氯化鈣、硫酸鎂、磷酸單鈉、磷酸二鈉、磷酸單鉀、磷酸二鉀、[參(羥甲基)甲基胺基]丙烷磺酸(TAPS)、2-(雙(2-羥乙基)胺基)乙酸(Bicine)、2-胺基-2-(羥甲基)丙-1,3-二醇(Tris)、N-(2-羥基-1,1-雙(羥甲基)乙基)甘胺酸(Tricine)、3-[[1,3-二羥基-2-(羥甲基)丙-2-基]胺基]-2-羥基丙烷-1-磺酸(TAPSO)、2-[4-(2-羥乙基)哌嗪-1-基]乙烷磺酸(HEPES)、2-[[1,3-二羥基-2-(羥甲基)丙-2-基]胺基]乙烷磺酸(TES)、1,4-哌嗪二乙烷磺酸(PIPES)、二甲基胍酸、2-嗎啉-4-基乙烷磺酸(MES)或磷酸鹽緩衝生理食鹽水(PBS)。其他適合緩衝劑可為呈鹽形式之乙酸、呈鹽形式之檸檬酸、呈鹽形式之硼酸及呈鹽形式之磷酸。

【0220】 在本發明之示例性實施例中, 該緩衝劑係組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽

緩衝劑。在一個具體實施例中，該琥珀酸鹽緩衝劑係琥珀酸鈉緩衝劑。

【0221】 在一些實施例中，緩衝劑之濃度係約 10 mM 至約 200 mM。在一個具體實施例中，緩衝劑之濃度係約 10 mM、約 11 mM、約 12 mM、約 13 mM、約 14 mM、約 15 mM、約 16 mM、約 17 mM、約 18 mM、約 19 mM、約 20 mM、約 21 mM、約 22 mM、約 23 mM、約 24 mM、約 25 mM、約 26 mM、約 27 mM、約 28 mM、約 29 mM、約 30 mM、約 35 mM、約 40 mM、約 45 mM、約 50 mM、約 55 mM、約 60 mM、約 65 mM、約 70 mM、約 75 mM、約 80 mM、約 85 mM、約 90 mM、約 95 mM、約 100 mM、約 105 mM、約 110 mM、約 115 mM、約 120 mM、約 125 mM、約 130 mM、約 135 mM、約 140 mM、約 145 mM、約 150 mM、約 155 mM、約 160 mM、約 165 mM、約 170 mM、約 175 mM、約 180 mM、約 185 mM、約 190 mM、約 195 mM 或約 200 mM。

【0222】 在另一個具體實施例中，該緩衝劑之濃度係 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、約 190 mM、195 mM 或 200 mM。

【0223】 在本發明之一個示例性實施例中，琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係約 10 mM 至約 200 mM。在一個實施例中，琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係約 10 mM。在另一個實施例中，琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係 10 mM。

【0224】 在一些實施例中，本發明之組成物的 pH 值係約 5.0 至約 6.0。在具體實施例中，緩衝劑之 pH 值係約 5.0、約 5.1、約 5.2、約 5.3、約 5.4、約 5.5、

約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9 或約 6.0。在其他具體實施例中，緩衝劑之 pH 值係 5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9 或 6.0。

【0225】 在一個示例性實施例中，本發明之組成物的 pH 值係約 5.3。在另一個示例性實施例中，本發明之組成物的 pH 值係 5.3。

D. 糖

【0226】 根據本發明，提供包括糖之醫藥組成物。不希望受理論束縛，糖用於促進該醫藥組成物之低溫保護，由此防止該醫藥組成物聚集並維持其化學及物理穩定性。在某些實施例中，該糖係葡萄糖、果糖、蔗糖、繭蜜糖、精胺酸、丙三醇、脯胺酸、聚葡萄糖、聚葡萄糖 40、甘油、甘露糖醇或山梨糖醇。

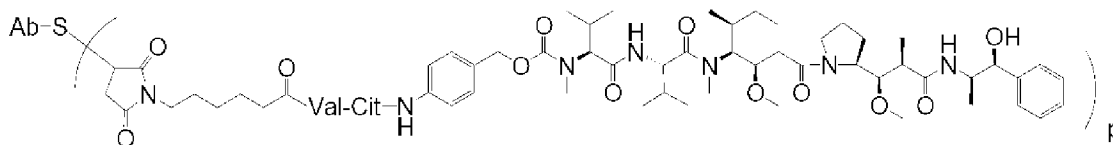
【0227】 在一些實施例中，糖係選自由以下組成之群：蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、甘油、聚葡萄糖 40 及繭蜜糖。在一個示例性實施例中，該糖係蔗糖。

【0228】 在一些實施例中，該糖之濃度係約 50 mM 至約 300 mM。在一個具體實施例中，緩衝劑之濃度係約 50 mM、約 60 mM、約 70 mM、約 80 mM、約 90 mM、約 100 mM、約 110 mM、約 120 mM、約 130 mM、約 140 mM、約 150 mM、約 160 mM、約 170 mM、約 180 mM、約 190 mM、約 200 mM、約 210 mM、約 220 mM、約 230 mM、約 240 mM、約 250 mM、約 260 mM、約 270 mM、約 280 mM、約 290 mM 或約 300 mM。在一些實施例中，該糖之濃度係約 100 mM 至約 260 mM。

【0229】 在一些實施例中，該糖之濃度係 50 mM 至 300 mM。在一個具體實施例中，緩衝劑之濃度係 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 或 300 mM。在一些實施例中，該糖之濃度係 100 mM 至 260 mM。

【0230】 在本發明之一個示例性實施例中，蔗糖之濃度係約 120 mM。在另一個示例性實施例中，蔗糖之濃度係 120 mM。

【0231】 在另一個態樣中，本發明提供一種藉由使液體組成物凍乾來製造之醫藥組成物，該液體組成物包含在 10 mM 琥珀酸鈉緩衝劑、0.12% w/v 聚山梨醇酯 20 及 120 mM 蔗糖中之 20 mg/ml 抗 CD79b 免疫結合物，其中該液體組成物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物具有下式：



其中：

Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含 (a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNE DPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6)；Val 係纈氨酸；Cit 係瓜氨酸；且 p 係自約 1 至約 8 (例如介於約 2 與約 5 之間，諸如為約 3.5)之值。

【0232】 在本發明之一些實施例中，該抗 CD79b 抗體包括含 SEQ ID NO:7 之胺基酸序列的重鏈可變結構域(VH)及含 SEQ ID NO:8 之胺基酸序列的輕鏈可變結構域(VL)。在一些實施例中，該重鏈包含 SEQ ID NO:9 之胺基酸序列且該輕鏈包含 SEQ ID NO:10 之胺基酸序列。

E. 穩定性

【0233】 在一些實施例中，評價或量測呈液體狀態或呈凍乾形式之醫藥組成物的物理穩定性、化學穩定性或生物活性。此項技術中已知且本文實例中所描述之任何方法均可用於評價本發明之醫藥組成物的穩定性及生物活性。舉例而

言，醫藥組成物中抗體之穩定性可藉由但不限於尺寸排阻層析法(SEC 或 SE-HPLC)、成像毛細管等電聚焦(icIEF)、肽定位、小體積遮光(small-volume light obscuration, HIAC)檢定及毛細管電泳(CE)技術，諸如 CE-十二烷基硫酸鈉(CE-SDS)及 CE-聚糖分析量測。在一些實施例中，穩定醫藥組成物(或調配物)係這樣一種組成物，在該組成物中之免疫結合物在指定條件(諸如溫度、相對濕度、殘留水分、存在或不存在光、攪動一段時間後等)儲存時，例如儲存指定時間段或持續時間(諸如數小時、數天、數月、數年等)時基本上保持其物理穩定性及/或化學穩定性及/或生物活性。在一些實施例中，若醫藥組成物中存在之免疫結合物(及/或該免疫結合物中之抗體部分，諸如抗 CD79b 抗體)在給定時間之生物活性在醫藥產品之國家或地方管理機構(例如美國之聯邦藥物管理局(Federal Drug Administration, FDA)、澳大利亞之治療品管理局(Therapeutic Goods Administration, TGA)、歐盟之歐洲藥品局(European Medicines Agency, EMA)等)所認可之範圍內，則該免疫結合物係生物穩定的(例如保持其生物活性)。舉例而言，免疫結合物(諸如包含抗 CD79b 抗體之免疫結合物)或包含此類免疫結合物之醫藥組成物的生物活性可藉由其結合抗原之能力(諸如抗 CD79b 抗體結合 CD79b，例如人類 CD79b 之能力)度量。可使用此項技術中已知之多種檢定量測抗體結合親和力量測值，包括但不限於例如表面電漿共振(SPR)、放射免疫檢定(RIA)及 ELISA。另外或替代地，免疫結合物(諸如包含抗 CD79b 抗體之免疫結合物)之生物活性係藉由其例如在活體外或活體內抑制細胞生長及/或細胞增殖之能力，或例如在活體外或活體內誘導細胞死亡，包括計劃性細胞死亡(細胞凋亡)之能力度量。有關量測抗 CD79b 抗體或包含抗 CD79b 抗體之免疫結合物之生物活性的檢定之其他詳情提供於美國專利第 8,088,387 號中，該案之內容以全文引用之方式併入本文中。

【0234】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物當避光時在 20°C 下穩定保持

至少約 6 個月、至少約 8 個月、至少約 10 個月、至少約 12 個月、至少約 14 個月、至少約 16 個月、至少約 18 個月、至少約 20 個月、至少約 21 個月、至少約 22 個月、至少約 23 個月、至少約 24 個月、至少約 3 年、至少約 4 年或至少約 5 年。

【0235】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物當避光時在 2°C 至 8°C (例如 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) 下穩定保持至少約 6 個月、至少約 8 個月、至少約 10 個月、至少約 12 個月、至少約 14 個月、至少約 16 個月、至少約 18 個月、至少約 20 個月、至少約 21 個月、至少約 22 個月、至少約 23 個月、至少約 24 個月、至少約 3 年、至少約 4 年或至少約 5 年。

【0236】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物在 25°C 至 40°C 下穩定保持至少約 30 分鐘、至少約 60 分鐘、至少約 2 小時、至少約 4 小時、至少約 6 小時、至少約 8 小時、至少約 10 小時、至少約 12 小時、至少約 14 小時、至少約 16 小時、至少約 18 小時、至少約 20 小時、至少約 22 小時、至少約 1 天、至少約 2 天或至少約 3 天。

【0237】 在一個示例性實施例中，該組成物當避光時在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下具有至少約 48 個月之穩定性。在另一個示例性實施例中，該組成物當避光時在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下具有至少約 48 個月之穩定性。

【0238】 在某些實施例中，可檢查呈凍乾形式(凍乾塊)的本發明之醫藥組成物之穩定性。在一些實施例中，在儲存條件($5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 且避光)下，該凍乾塊未展示結構、顏色、外觀或水分含量之明顯改變。在一個具體實施例中，該凍乾塊在儲存條件下具有低於 5% 之水分含量。在另一個具體實施例中，該凍乾塊在儲存條件下係光滑且無凹痕的。在本發明之某些實施例中，凍乾塊在儲存條件下穩定保持約 48 個月。

【0239】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物的穩定性係藉由尺寸排阻高

效液相層析法(SE-HPLC)量測。在一個示例性實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有至少 95.0 之主峰(面積%)。

【0240】 在一些實施例中，本文所提供之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)當在介於約 2°C與約 8°C之間之溫度下及在約 0.3% (w/w)至約 3.2% (w/w)殘留水分含量範圍內儲存時穩定保持至少約 44 個月(諸如約 30、35、40、45、50 或 55 個月中之任一個)，包括在該等值之間之任何範圍在內。在一些實施例中，本文所提供之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)當在約 25°C下及在約 0.3% (w/w)至約 3.2% (w/w)殘留水分含量範圍內儲存時穩定保持至少約 7 個月(諸如約 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個月中之任一個)，包括在該等值之間之任何範圍在內。

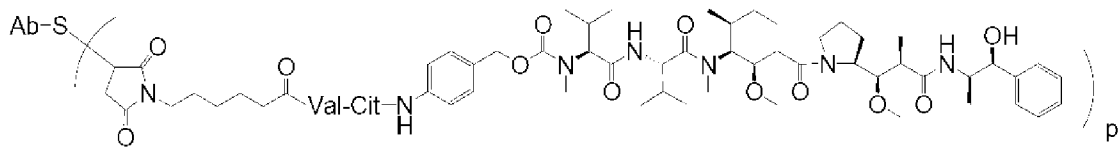
【0241】 在一些實施例中，本文所提供之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)在(a)介於約 17 與約 23 mg/ml 之間之蛋白質濃度；(b)介於約 7 與約 23 mM 之間之琥珀酸鹽濃度；(c)介於約 90 與約 150 mM 之間之蔗糖濃度；(d)介於約 0.9 與約 1.5 mg/ml 之間之聚山梨醇酯 20 濃度；及(e)介於約 4.95 與約 5.65 之間之 pH 值下穩定。在一些實施例中，包含以上(a)至(e)中任一項或多項之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)在介於約 2°C與約 8°C之間之穩定性穩定保持長達至少約 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 個月中之任一個。

G. 供靜脈內投與之組成物

【0242】 本發明提供適於靜脈內(IV)投與之醫藥組成物及液體組成物。欲用於活體內 IV 投與之組成物應為無菌的。此易於藉由在製備醫藥組成物之前或之後過濾穿過無菌過濾膜來實現。在某些實施例中，本發明之醫藥組成物係用無菌注射用水(SWFI)復原。在一些實施例中，該復原之組成物在靜脈內(IV)袋中之等滲緩衝劑中進一步稀釋。

【0243】 在一個態樣中，本發明提供一種醫藥組成物，其包括抗 CD79b 免疫

結合物、界面活性劑、琥珀酸鹽緩衝劑及糖，其中該醫藥組成物當在水中復原時形成液體醫藥組成物，該液體醫藥組成物包含約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml 濃度之該抗 CD79b 免疫結合物、至少 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml) 濃度之該界面活性劑、約 10 mM 至約 200 mM 濃度之該琥珀酸鹽緩衝劑及約 100 mM 至約 260 mM 濃度之該糖，其中該液體醫藥組成物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中：

Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含 (a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNE DPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY (SEQ ID NO:6)；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 1 至約 8 (諸如介於約 2 與約 5 之間，例如為約 3.5)之值。

【0244】 在一些實施例中，該醫藥組成物係在 SWFI 中復原(1:1 質量:體積)。在一些實施例中，該醫藥組成物當在水中復原時形成液體醫藥組成物，該液體醫藥組成物包括在 10 mM 琥珀酸鈉緩衝劑、0.12% w/v 聚山梨醇酯 20 及 120 mM 蔗糖中之 20 mg/ml 抗 CD79b 免疫結合物，其中該液體醫藥組成物之 pH 值係 5.3。

【0245】 在一些實施例中，該醫藥組成物在 SWFI 中復原且隨後在 IV 袋中之等滲緩衝劑中稀釋，其中在 IV 袋中稀釋後，該界面活性劑之濃度係至少 0.003% w/v。在一個實施例中，在 IV 袋中稀釋之後，該界面活性劑之濃度係至少 0.004% w/v。在一個示例性實施例中，該界面活性劑係聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，

該糖係蔗糖。在一個具體實施例中，蔗糖之濃度係 120 mM。在一些實施例中，該琥珀酸鹽緩衝劑係琥珀酸鈉緩衝劑。在一個具體示例性實施例中，該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係 10 mM。

【0246】 在一些實施例中，當在水中復原時，本發明之醫藥組成物之穩定性係藉由聚集、pH 值、濁度、可見及/或不溶性粒子之數量或游離(例如未結合)藥物之量度量。在某些實施例中，可使用 UV 分光光度技術、SE-HPLC、疏水相互作用層析法(HIC)、icIEF 或 HIAC，或其組合評價穩定性。在一些實施例中，該醫藥組成物當在水中復原時在 30°C 下具有長達約 1 天、長達約 2 天或長達約 3 天之穩定性。在一些實施例中，該醫藥組成物當在水中復原時在 5°C $\pm$ 3°C 下具有長達約 1 天、長達約 2 天、長達約 3 天、長達約 4 天、長達約 5 天、長達約 6 天或長達約 7 天之穩定性。

【0247】 在某些實施例中，在水中復原之組成物的穩定性係藉由尺寸排阻高效液相層析法(SE-HPLC)量測。在一個示例性實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有至少 95.0 之主峰(面積%)。

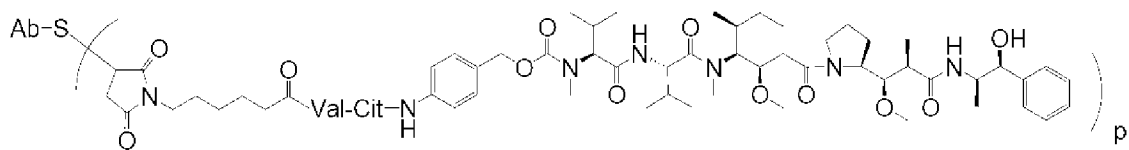
【0248】 在某些具體實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有小於 4.0 之 HMWS (%)。在某些具體實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有小於 1.0 之 LMWS (%)。在一些實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有至少 95.0 之主峰(面積%)及小於 4.0 之 HMWS。在一些實施例中，如藉由 SE-HPLC 所量測，該組成物具有至少 95.0 之主峰(面積%)、小於 4.0 之 HMWS (%)及小於 1.0 之 LMWS (%)。

【0249】 在某些實施例中，在水中復原的組成物之穩定性係藉由成像毛細管等電聚焦(icIEF)量測。在一個實施例中，如藉由 icIEF 所量測，該組成物具有至少 73.0 之主峰(面積%)、至多 25.5 之酸區(面積%)及至多 10.0 之鹼區(面積%)。在一個示例性實施例中，如藉由 icIEF 所量測，該組成物具有至少 58.0 之主峰(面

積%)、至多 32.0 之酸區(面積%)及至多 12.0 之鹼區(面積%)。

【0250】 在一些實施例中，包含在 pH 5.3 的 10 mM 琥珀酸鹽、120 mM 蔗糖、1.2 mg/mL 聚山梨醇酯 20 中之 20 mg/mL 泊拉珠單抗凡酯的復原之醫藥組成物在介於約 2°C與約 8°C之間之溫度下儲存 72 小時後具有物理化學穩定性。在一些實施例中，復原之醫藥組成物在介於約 2°C與約 8°C之間之溫度下儲存 72 小時不會降低泊拉珠單抗凡酯之生物活性。在一些實施例中，包含在 pH 5.3 的 10 mM 琥珀酸鹽、120 mM 蔗糖、1.2 mg/mL 聚山梨醇酯 20 中之 20 mg/mL 泊拉珠單抗凡酯的復原之醫藥組成物在 30°C且暴露環境光下儲存 24 小時的時候具有物理化學穩定性。在一些實施例中，復原之醫藥組成物在 30°C且暴露環境光下儲存 24 小時不會降低泊拉珠單抗凡酯之生物活性。

【0251】 在一個態樣中，本發明提供一種液體組成物，其包含抗 CD79b 免疫結合物、界面活性劑、琥珀酸鹽緩衝劑及糖，其中該抗 CD79b 免疫結合物之濃度係約 10 mg/ml 至約 20 mg/ml，該界面活性劑之濃度係至少 0.06% w/v (亦即，0.6 mg/ml)，該琥珀酸鹽緩衝劑之濃度係約 10 mM 至約 200 mM 且該糖之濃度係約 100 mM 至約 260 mM，其中該液體組成物之 pH 值係 5.3，且其中該抗 CD79b 免疫結合物包含下式：



其中：

Ab 係抗 CD79b 抗體，其中該抗 CD79b 抗體包含重鏈及輕鏈，其中該輕鏈包含 (a) HVR-L1 序列 KASQSVDYEGDSFLN (SEQ ID NO: 1)；(b) HVR-L2 序列 AASNLES (SEQ ID NO:2)；及(c) HVR-L3 序列 QQSNE DPLT (SEQ ID NO:3)；其中該重鏈包含(a) HVR-H1 序列 GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)；(b) HVR-H2 序列 GEILPGGGDTNYNEIFKG (SEQ ID NO:5)；及(c) HVR-H3 序列 TRRVPIRLDY

(SEQ ID NO:6)；Val 係纈胺酸；Cit 係瓜胺酸；且 p 係自約 1 至約 8 (例如介於約 2 與約 5 之間，諸如為約 3.5) 之值。

【0252】 在一些實施例中，該界面活性劑係聚山梨醇酯 20。在一些實施例中，該糖係蔗糖。在一個示例性實施例中，蔗糖之濃度係 120 mM。在一些實施例中，該琥珀酸鹽緩衝劑係琥珀酸鈉緩衝劑。在一個具體示例性實施例中，該琥珀酸鈉緩衝劑之濃度係 10 mM。

【0253】 在某些實施例中，將本發明之液體組成物溶解於緩衝劑中。該緩衝劑可以為但不限於標準生理食鹽水(0.9% w/v 氯化鈉)、半濃度生理食鹽水(0.45% w/v 氯化鈉)、5% w/v 右旋糖、乳酸林格氏溶液(Lactated Ringer's solution)或其組合。

【0254】 在一些實施例中，將本發明之液體組成物溶解於等滲緩衝劑中。在某些實施例中，該等滲緩衝劑可為新鮮製備的或包含在預填充 IV 袋中。在某些實施例中，該等滲緩衝劑係標準生理食鹽水(0.9% w/v 氯化鈉)。在一個示例性實施例中，溶解於等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物係在 IV 袋中。

【0255】 在一些實施例中，溶解於 IV 袋中之等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物之 pH 值係約 4.8 至約 5.8。在一個具體實施例中，該 pH 值係約 4.8、約 4.9、約 5.0、約 5.1、約 5.2、約 5.3、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.7 或約 5.8。在一些實施例中，溶解於 IV 袋中之等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物之 pH 值係約 5.3。

【0256】 在一些實施例中，本發明的在 IV 袋中之醫藥組成物的穩定性係藉由聚集、pH 值、濁度、可見及/或不溶性粒子之數量或游離(例如未結合)藥物之量度量。在某些實施例中，可使用 UV 分光光度技術、SE-HPLC、疏水相互作用層析法(HIC)、icIEF 或 HIAC，或其組合評價在 IV 袋中液體組成物之穩定性。

【0257】 在某些實施例中，本發明的在 IV 袋中之液體組成物在靜態條件下穩

定。在某些實施例中，本發明的在 IV 袋中之液體組成物在攪動條件下穩定。在一些實施例中，溶解於 IV 袋中之等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物在 30°C 下具有長達約 1 小時、長達約 2 小時、長達約 3 小時、長達約 4 小時、長達約 5 小時、長達約 6 小時、長達約 7 小時或長達約 8 小時之穩定性。在一些實施例中，溶解於 IV 袋中之等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物在 25°C 下具有長達約 8 小時、長達約 9 小時、長達約 10 小時、長達約 12 小時、長達約 14 小時、長達約 16 小時、長達約 18 小時、長達約 20 小時、長達約 22 小時或長達約 24 小時之穩定性。在一些實施例中，溶解於 IV 袋中之等滲緩衝劑中的本發明之液體組成物在 5°C ± 3°C 下具有長達約 24 小時、長達約 30 小時、長達約 36 小時、長達約 42 小時、長達約 48 小時、長達約 54 小時、長達約 60 小時、長達約 66 小時或長達約 72 小時之穩定性。在某些實施例中，該等滲緩衝劑係標準生理食鹽水。

【0258】 在一些實施例中，本文所描述的復原溶液或供輸注之經稀釋溶液(包含免疫結合物(例如泊拉珠單抗凡酯)的供輸注之經稀釋溶液)係無菌的。

III. 治療方法

【0259】 預期本發明之醫藥組成物或液體組成物可用於治療各種增殖性病變，例如以腫瘤抗原過度表現為特徵之病症。示例性增殖性病變係癌症。癌症之實例包括但不限於造血癌症或血液相關癌症，諸如淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴系惡性疾病，而且亦包括脾臟癌及淋巴結癌症，以及癌瘤、母細胞瘤及肉瘤。癌症之更具體實例包括 B 細胞增殖性病變，包括例如高級別、中等級別及低級別淋巴瘤(包括 B 細胞淋巴瘤，諸如黏膜相關淋巴樣組織 B 細胞淋巴瘤及非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、套細胞淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、彌漫性大 B 細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤以及霍奇金氏淋巴瘤及 T 細胞淋巴瘤)及白血病(包括繼發性白血病；慢性淋巴細胞性白血病(CLL)，諸如 B 細胞白血病(CD5+ B 淋巴細胞)；骨髓性白血病，諸如急性骨髓性

白血病、慢性骨髓性白血病；淋巴細胞性白血病，諸如急性淋巴母細胞性白血病(ALL)及骨髓發育不良)及其他血液及/或 B 細胞或 T 細胞相關癌症。亦包括其他造血細胞，包括多形核白血球，諸如嗜鹼性球、嗜酸性球、嗜中性球及單核細胞、樹突狀細胞、血小板、紅血球及自然殺手細胞之癌症。在某些實施例中，本發明之增殖性病變係復發性癌症或難治性癌症。

【0260】 在某些實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可用於治療復發性白血病或復發性淋巴瘤。在其他特定實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可用於治療難治性白血病或難治性淋巴瘤。

【0261】 在一個態樣中，本發明提供一種治療有需要患者之增殖性病變的方法，其包括向該患者投與本文所述之醫藥組成物或液體組成物。

【0262】 在一些實施例中，待治療之癌症係 B 細胞增殖性病變。在具體實施例中，該 B 細胞增殖性病變係選自由以下組成之群：淋巴瘤、骨髓瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)、侵襲性 NHL、惰性淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤(FL)、復發性侵襲性 NHL、復發性惰性 NHL、復發性 NHL、難治性 NHL、難治性惰性 NHL、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)、小淋巴細胞性淋巴瘤、白血病、毛細胞白血病(HCL)、急性淋巴細胞性白血病(ALL)及套細胞淋巴瘤。

【0263】 在本發明之一個示例性實施例中，該 B 細胞增殖性病變係非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)。在一個示例性實施例中，該 B 細胞增殖性病變係瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)。在一個具體實施例中，該 B 細胞增殖性病變係復發性瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)。在另一個具體實施例中，該 B 細胞增殖性病變係難治性瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)。

【0264】 在一個示例性實施例中，該 B 細胞增殖性病變係復發性 NHL 或難治性 NHL。在又另一個示例性實施例中，該 B 細胞增殖性病變係濾泡性淋巴瘤。

【0265】 該癌症可包含 CD79b 表現性細胞，使得本發明之抗 CD79b 免疫結合物能夠結合至癌細胞。為測定癌細胞中之 CD79b 表現，可用各種診斷/預後檢定。在一個實施例中，CD79b 過度表現可藉由 IHC 分析。石蠟包埋的由腫瘤活檢得到之組織切片可經歷 IHC 檢定且其染色程度及檢查的腫瘤細胞比例符合 CD79b 蛋白質染色強度標準。

【0266】 對於預防或治療病症，ADC 之適當劑量將取決於如上文所定義的待治療疾病之類型、疾病之嚴重程度及病程、投與該分子係用於預防性抑或治療性目的、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應，以及主治醫師之判斷。該分子適於一次性或經一系列治療投與患者。取決於疾病之類型及嚴重程度，約 1 $\mu\text{g/kg}$ 至 15 mg/kg (例如 0.1-20 mg/kg) 之分子係投與患者的初始候選劑量，無論例如藉由一或多次分開投藥，抑或藉由連續輸注投與。取決於上文所提及之因素，典型日劑量可在約 1 $\mu\text{g/kg}$ 至 100 mg/kg 或更高劑量之範圍內。擬投與患者之 ADC 的示例性劑量係在每公斤患者體重約 0.1 至約 10 mg/kg 範圍內。對於在數天或更長時間內重複投與，取決於病況，將持續治療直至疾病症狀發生所希望的抑制。

【0267】 對於治療或預防增殖性病症，本發明之醫藥組成物或液體組成物係經由靜脈內輸注投與。經由輸注投與的劑量係在每劑約 1 $\mu\text{g/m}^2$ 至 10,000 $\mu\text{g/m}^2$ 範圍內，一般一週一劑，總計一劑、二劑、三劑或四劑。或者，劑量範圍係約 1 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 1000 $\mu\text{g/m}^2$ 、約 1 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 800 $\mu\text{g/m}^2$ 、約 1 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 600 $\mu\text{g/m}^2$ 、約 1 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 400 $\mu\text{g/m}^2$ 、約 10 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 500 $\mu\text{g/m}^2$ 、約 10 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 300 $\mu\text{g/m}^2$ 、約 10 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 200 $\mu\text{g/m}^2$ 及約 1 $\mu\text{g/m}^2$ 至約 200 $\mu\text{g/m}^2$ 。劑量可每天一次、每週一次、每週多次但一天少於一次、每月多次但每天少於一次、每月多次但每週少於一次、每月一次或間歇性投與以減輕或緩和疾病之症狀。投與可以所揭示之時間間隔中之任一種連續進行，直至緩解腫瘤或所治療之淋巴瘤、

白血病之症狀。投與可在症狀緩解或減輕之後繼續，在此情況下，該緩解或減輕因此類持續投與而延長。

【0268】 為測定癌細胞中之 CD79b 表現，可用各種偵測檢定。在一個實施例中，CD79b 多肽過度表現可藉由免疫組織化學法(IHC)分析。石蠟包埋的由腫瘤活檢得到之組織切片可經歷 IHC 檢定且符合如下 CD79b 蛋白質染色強度標準：

0 分—未觀察到染色或在不到 10%腫瘤細胞中觀察到膜染色。

1+分—在超過 10%腫瘤細胞中偵測到微弱/幾乎無法感知之膜染色。細胞僅在其膜部分中染色。

2+分—在超過 10%腫瘤細胞中偵測到弱至中等膜染色。

3+分—在超過 10%腫瘤細胞中偵測到中等至強烈膜染色。

【0269】 針對 CD79b 多肽表現具有 0 分或 1+分之腫瘤可表徵為不過度表現 CD79b，而具有 2+分或 3+分之腫瘤可表徵為過度表現 CD79b。

【0270】 替代或另外地，可對福爾馬林(formalin)固定、石蠟包埋之腫瘤組織進行 FISH 檢定，諸如 INFORM® (由 Ventana, Arizona 銷售)或 PATHVISION® (Vysis, Illinois)，以確定腫瘤中 CD79b 過度表現之程度(若存在的話)。

【0271】 CD79b 過度表現或擴增可使用活體內偵測檢定，例如藉由投與結合待偵測分子且用可偵測標記(例如放射性同位素或螢光標記)標記之分子(諸如抗體)並在外部掃描患者之標記定位來評估。

組合療法

【0272】 目前，取決於癌症之分期，癌症治療涉及以下療法之一或其組合：用於移除癌組織之手術、放射療法及化學療法。抗 CD79b 免疫結合物療法特別適合不耐受化學療法之毒性及副作用的早期患者以及放射療法之效用有限之轉移性疾病。靶向腫瘤的本發明之抗 CD79b 免疫結合物可在該疾病初始診斷時或在復發期間用於緩和 CD79b 表現性癌症。對於治療應用，該抗 CD79b 免疫結合

物可單獨使用，或與例如激素、抗血管生成劑或放射性標記之化合物，或與手術、低溫療法及/或放射療法一起作為組合療法使用。本發明之醫藥組成物或液體組成物可結合其他形式之習知療法投與，與該習知療法連續地投與、在該習知療法之前或之後投與。化學治療藥物諸如 TAXOTERE® (多西他賽(docetaxel))、TAXOL® (太平洋紫杉醇(paclitaxel))、雌莫司汀(estramustine)及米托蒽醌(mitoxantrone)係用於治療癌症，特別是有較大風險患者之癌症。在用於治療或緩和癌症的本發明之方法中，可向癌症患者投與抗 CD79b 抗體以及用一或多種前述化學治療劑進行之治療。具體言之，涵蓋利用太平洋紫杉醇及改良型衍生物(參見例如 EP0600517)之組合療法。本發明之醫藥組成物或液體組成物可與治療有效劑量之化學治療劑一起投與。在另一個實施例中，將本發明之醫藥組成物或液體組成物係與化學療法結合投與以增強該化學治療劑，例如太平洋紫杉醇之活性及功效。醫師案頭參考(Physicians' Desk Reference, PDR)揭示用於治療各種癌症之該等藥劑的劑量。該等以上提及的在治療上有效之化學治療藥物之給藥方案及劑量將取決於所治療之特定癌症、疾病程度及熟習此項技術之醫師所熟悉之其他因素，且可由醫師決定。

【0273】 在另一個實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可與一或多種化學治療劑或生長抑制劑組合投與，包括共投與不同化學治療劑，或亦抑制腫瘤生長之其他細胞毒性劑或其他治療劑的混合液。化學治療劑包括磷酸雌莫司汀、潑尼莫司汀(prednimustine)、順鉑(cisplatin)、5-氟尿嘧啶、美法侖(melphalan)、環磷醯胺、羥基脲及羥基脲紫杉烷(hydroxyureataxane)(諸如太平洋紫杉醇及多西他賽)及/或蒽環類抗生素。此類化學治療劑之製備及給藥方案可根據製造商之說明書使用或由熟練技術人員憑經驗確定。此類化學療法之製備及給藥方案亦描述於 Chemotherapy Service, M.C. Perry 編, Williams & Wilkins, Baltimore, MD (1992)中。本發明之醫藥組成物或液體組成物可與抗激素化合

物，例如抗雌激素化合物諸如他莫昔芬(tamoxifen)；抗孕酮諸如奧納司酮(onapristone)(參見 EP 616 812)；或抗雄激素諸如氟他胺(flutamide)以該等分子已知之劑量組合。在待治療之癌症係不依賴於雄激素之癌症情況下，患者可預先經歷抗雄激素療法，且在癌症變為不依賴於雄激素後，可向該患者投與本發明之醫藥組成物或液體組成物。

【0274】 有時，亦可有利地向患者共投與心臟保護劑(用於預防或減少與療法有關之心肌功能障礙)或一或多種細胞介素。除上述治療方案外，患者亦可在投與本發明之醫藥組成物或液體組成物之前、同時或之後經手術移除癌細胞及/或經歷放射療法(例如外部射束照射或用放射性標記之藥劑諸如抗體進行的療法)。以上共投與之藥劑中任一種之適合劑量係目前使用之劑量且可因該藥劑及抗 CD79b 抗體之組合作用(協同作用)而降低。

【0275】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可與有效量之另一治療劑組合投與患者。在一個實施例中，該治療劑係選自由以下組成之群：抗體、化學治療劑、細胞毒性劑、抗血管生成劑、免疫抑制劑、前藥、細胞介素、細胞介素拮抗劑、細胞毒性放射療法、皮質類固醇、癌症疫苗及生長抑制劑。在另一個實施例中，該治療劑係選自由以下組成之群：他莫昔芬、來曲唑(letrozole)、依西美坦(exemestane)、阿那曲唑(anastrozole)、伊立替康(irinotecan)、西妥昔單抗(cetuximab)、氟維司群(fulvestrant)、長春瑞濱(vinorelbine)、厄洛替尼(erlotinib)、貝伐單抗(bevacizumab)、長春新鹼(vincristine)、甲磺酸伊馬替尼(imatinib mesylate)、索拉非尼(sorafenib)、拉帕替尼(lapatinib)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、順鉑、吉西他濱(gemcitabine)、甲胺喋呤(methotrexate)、長春花鹼(vinblastine)、卡鉑(carboplatin)、太平洋紫杉醇、5-氟尿嘧啶、小紅莓(doxorubicin)、硼替佐米(bortezomib)、美法侖、潑尼松(prednisone)及多西他賽。

【0276】 在一些實施例中，該治療劑係抗 CD20 抗體。

【0277】 在某些實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可與有效量之抗 CD20 抗體組合投與以治療 B 細胞增殖性病症。在一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)。在另一個實施例中，該增殖性病症係濾泡性淋巴瘤(FL)。在某些實施例中，抗 CD20 抗體是利妥昔單抗。

【0278】 在一些實施例中，該治療劑係化學治療劑。在一個實施例中，該化學治療劑包含環磷醯胺、羥基多柔比星(hydroxydaunorubicin)、長春新鹼及潑尼松中之一或多種。在另一個實施例中，該化學治療劑包含環磷醯胺、小紅莓及潑尼松。

【0279】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可與有效量之抗 CD20 抗體及化學治療劑組合投與。在一個實施例中，該化學治療劑包含環磷醯胺、小紅莓及潑尼松。

【0280】 在一些實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可與有效量之抗 CD20 抗體及化學治療劑組合投與以治療 B 細胞增殖性病症。在一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)。在另一個實施例中，該 B 細胞增殖性病症係瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤(DLBCL)。在一個具體實施例中，DLBCL 係復發性/難治性 DLBCL。在另一個實施例中，DLBCL 係復發性 NHL 或難治性 NHL。在另一個具體實施例中，該增殖性病症係濾泡性淋巴瘤(FL)。在某些實施例中，抗 CD20 抗體是利妥昔單抗。

【0281】 在一個實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可與抗 CD20 抗體(例如裸抗體或 ADC)組合。在一個實施例中，抗 CD20 抗體係利妥昔單抗(Rituxan®)或其生物類似物。在一些實施例中，抗 CD20 抗體係奧瑞珠單抗(ocrelizumab) (2H7) (Genentech, Inc., South San Francisco, CA)或其生物類似物。在另一個實施例中，本發明之醫藥組成物或液體組成物可與抗 VEGF 抗體(例如 Avastin®)組合。

【0282】 該組合療法可作為同時或依序方案投與。當依序投與時，該組合可分兩次或兩個以上投藥來投與。組合投藥包括使用獨立調配物或單一醫藥調配物共投與，以及以任一次序連續投與，其中較佳地，在兩種(或所有)活性劑同時發揮其生物活性時存在一定時間段。

【0283】 以上共投與之藥劑中任一種之適合劑量係目前使用之劑量且可因新鑑別之藥劑及其他化學治療劑或治療之組合作用(協同作用)而降低。

【0284】 組合療法可以提供「協同作用」且證實「協同性」，亦即，當活性成分一起使用時達成之作用超過單獨使用各化合物引起之作用的總和。當存在以下情況時可以獲得協同作用：(1)共調配各活性成分且以組合之單位劑量調配物形式同時投與或遞送；(2)以獨立調配物形式交替或平行遞送各活性成分；或(3)藉由某種其他方案投與各活性成分。當以交替療法遞送時，若藉由例如用獨立注射器進行不同注射依序投與或遞送各化合物，則可以獲得協同作用。一般而言，在交替療法期間，有效劑量之各活性成分係依序地，亦即連續地投與，而在組合療法中，有效劑量之兩種或兩種以上活性成分係一起投與。

IV. 製品及套組

【0285】 本發明之另一實施例係含有可用於治療、預防及/或診斷增殖性病徵之材料的製品。在一個實施例中，該製品包括容器及在該容器上或與該容器相聯的標籤或藥品說明書。適合容器包括例如瓶子、小瓶、注射器等。該等容器可以由多種材料，諸如玻璃或塑膠形成。該容器容納有效治療、預防及/或診斷癌症病況之組成物，且可以具有無菌接取口(例如該容器可以為具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶)。該組成物中之至少一種活性劑係本發明之抗 CD79b 免疫結合物。該標籤或藥品說明書指示該組成物係用於治療癌症。該標籤或藥品說明書將進一步包含有關向癌症患者投與該組成物之說明。另外，該製品可以另外包括含醫藥學上可接受之緩衝劑，諸如注射用無菌水

(SWFI)、注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液之第二容器。其可以另外包括由商業及使用者觀點看所希望的其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

【0286】 在一些實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物之容器，諸如瓶子、小瓶、注射器。在一些實施例中，該製品係包括本發明之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)之容器，諸如瓶子、小瓶、注射器。在一些實施例中，該製品係包括本發明之復原之凍乾組成物的容器，諸如瓶子、小瓶、注射器。在一個具體實施例中，該製品係包括用注射用無菌水(SWFI)復原之凍乾醫藥組成物的容器。

【0287】 在一些實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物之塑膠容器。在一些實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物之玻璃容器。

【0288】 在一些實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物之玻璃小瓶。在一個具體實施例中，該製品係包括本發明之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)之玻璃小瓶。在一個具體實施例中，該製品係包括本發明之復原之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)之玻璃小瓶。在一個具體實施例中，該製品係包括用注射用無菌水(SWFI)復原之凍乾醫藥組成物(諸如凍乾塊)的玻璃小瓶。

【0289】 在某些實施例中，該製品係含有本發明之醫藥組成物或液體組成物的 IV 袋。該 IV 袋可由包括但不限於以下材料構成：聚烯烴(PO)、聚氯乙烯(PVC)、乙烯乙酸乙烯酯、聚丙烯(PP)、聚乙烯(PE)、共聚酯醚或其組合。在一些實施例中，IV 袋係聚烯烴(PO)袋、聚丙烯袋(PP)、聚乙烯袋(PE)或聚氯乙烯(PVC)袋。

【0290】 在一些實施例中，該含有本發明之醫藥組成物或液體組成物的製品可容納至少約 5 mL(毫升)、至少約 10 mL、至少約 15 mL、至少約 20 mL、至少約 25 mL、至少約 30 mL、至少約 35 mL、至少約 40 mL、至少約 45 mL、至少

約 50 mL、至少約 55 mL、至少約 60 mL、至少約 65 mL、至少約 70 mL、至少約 75 mL、至少約 80 mL、至少約 85 mL、至少約 90 mL、至少約 95 mL、至少約 100 mL、至少約 105 mL、至少約 110 mL、至少約 115 mL、至少約 120 mL、至少約 125 mL、至少約 130 mL、至少約 135 mL、至少約 140 mL、至少約 145 mL、至少約 150 mL、至少約 155 mL、至少約 160 mL、至少約 165 mL、至少約 170 mL、至少約 175 mL、至少約 180 mL、至少約 185 mL、至少約 190 mL、至少約 195 mL 或至少約 200 mL 體積。在一些實施例中，該製品係可容納至少約 25 mL、至少約 50 mL 或至少約 100 mL 體積之 PO 袋。在一些實施例中，該製品係可容納至少約 25 mL、至少約 50 mL 或至少約 100 mL 體積之 PVC 袋。

【0291】 在某些實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物及緩衝劑之 IV 袋。在一個具體實施例中，該緩衝劑可為標準生理食鹽水、半濃度生理食鹽水、5% w/v 右旋糖、乳酸林格氏溶液或其組合。在一個實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物溶解於半濃度生理食鹽水中之 IV 袋。

【0292】 在一些實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物及等滲緩衝劑之 IV 袋。在一個實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物溶解於標準生理食鹽水中之 IV 袋。

【0293】 在一個示例性實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物及標準生理食鹽水之 PVC 袋，其可容納至少約 100 mL 體積。在另一個示例性實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物及標準生理食鹽水之 PVC 袋，其可容納約 100 mL 體積。

【0294】 在另一個示例性實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物及標準生理食鹽水之 PO 袋，其可容納至少約 100 mL 體積。在又另一個示例性實施例中，該製品係包括本發明之醫藥組成物或液體組成物及半濃度

生理食鹽水之 PO 袋，其可容納至少約 100 mL 體積。

【0295】 在任一本文中之實施例中，該穩定醫藥組成物或液體醫藥組成物可儲存於容器，諸如瓶子、小瓶、注射器或靜脈內(IV)袋中。

【0296】 亦提供可用於各種目的，諸如用於 CD79b 表現性細胞殺滅檢定的套組。與該製品相同，該套組包含容器及在該容器上或與該容器相聯的標籤或藥品說明書。該容器容納包含至少一種抗 CD79b 免疫結合物之組成物。可包括額外容器，其可含有例如稀釋劑、界面活性劑、緩衝劑、對照抗體。該標籤或藥品說明書可提供有關該組成物之描述以及有關預定用途之說明。

【0297】 提供以下說明以使一般熟習此項技術者能夠實行及使用各種實施例。有關特定裝置、技術及應用之描述僅作為實例提供。一般熟習此項技術者將易於瞭解對本文所描述之實例的各種修改，且本文所定義之一般原理可以應用於其他實例及應用，而不會偏離該等各種實施例之精神及範圍。因此，該等各種實施例不打算侷限於本文所描述及顯示之實例，而是遵照與申請專利範圍相符之範圍。

實例

實例 1：抗 CD79b 免疫結合物界面活性劑研究

【0298】 最初用於患者早期臨床測試的抗 CD79b-vc-MMAE 之調配物係包括含 0.02% 聚山梨醇酯 20 之乙酸組胺酸緩衝劑的液體調配物，其係經由靜脈內注射泵遞送給患者。為了產生該藥品之市售調配物，對不同濃度之各種非離子型界面活性劑進行測試以確定該等界面活性劑是否能防止該抗 CD79b-vc-MMAE 在 IV 袋中稀釋時發生聚集且使其穩定，在 IV 袋中稀釋將係在商業環境中遞送給患者之途徑。具體言之，(a)在 IV 袋中之靜態條件下、及(b)在 IV 袋中由短期攪動引起之空氣-水界面應力條件下評價抗 CD79b-vc-MMAE 之穩定性。

抗 CD79b-vc-MMAE

【0299】 在 20 mM 乙酸組胺酸 pH 5.5 中稀釋抗 CD79b-vc-MMAE。該 20 mM 乙酸組胺酸 pH 5.5 係藉由將 3.11 g 組胺酸及 1.03 mL 冰乙酸添加於 800 mL 新製超純水中來製備。測得 pH 值係 5.5 ± 0.1 。使用新製超純水將所得溶液調至 1L 並經由 0.22 μ M PES 過濾器過濾且在 2-8°C 下儲存。必要時，藉由在過濾之緩衝劑中將該抗 CD79b-vc-MMAE 稀釋至 10 mg/mL 或 20 mg/mL，測試其(i) 10 mg/mL 及(ii) 20 mg/mL 濃度。稀釋過的材料在 2-8°C 下避光儲存。

界面活性劑

【0300】 測試界面活性劑係：(i)聚山梨醇酯 20 (PS20)，USP 級，NF，由 Croda 製造；(ii)聚山梨醇酯 80 (PS80)，USP 級，NF，由 Croda 製造；(iii)泊洛沙姆(P188)，USP 級，NF，含有 98 ppm 丁基化羥基甲苯，由 Spectrum Chemicals 製造；及(iv) N-辛基- β -D 吡喃葡萄糖苷(OG) C₁₄H₂₈O₆，FW：292.4，由 Affymetrix, Anagrade 製造。製備 10%、1.0%及 0.5% PS20 儲備溶液如下：取決於該袋中 PS20 之目標濃度，使用於超純水中之 10%、1%及 0.5% PS20 儲備溶液。10% PS20 儲備溶液係藉由以下方式製備：在 100 mL 容量瓶中添加 10 g PS20。向該燒瓶中裝入 60 mL 超純水且接著用磁力攪拌棒攪拌以確保溶液充分混合。在使氣泡平息 30 分鐘後，用超純水填充燒瓶達到 100 mL。將該溶液轉移至避光容器中並在 2-8°C 下儲存最多 1 週。使用類似程序，利用 1.0 g PS20 在 100 mL 超純水中製備 1.0% PS20 溶液。使用 1.0% PS20 儲備液之 1:1 (v/v)稀釋液製備 0.5% PS20 溶液。

【0301】 0.5% PS80 製備如下：10% PS20 儲備溶液係藉由以下方式製備：在 100 mL 容量瓶中添加 10 g PS80。向該燒瓶中裝入 50 mL 超純水且接著用磁力攪拌棒攪拌，直至溶液充分混合。使溶液靜置 30 分鐘以使氣泡平息，且接著移除攪拌。接著，使用超純水將該溶液體積調至 100 mL。為獲得 0.5% PS80 儲備溶液，使用超純水將 0.5 mL 之 10% PS80 儲備溶液調至 10 mL。將該溶液轉移至避光容器中並在 2-8°C 下儲存最多 1 週。

【0302】 0.5% P188 製備如下：10% P188 儲備溶液係藉由以下方式製備：在 100 mL 容量瓶中添加 10 g P188。向該燒瓶中裝入 60 mL 超純水且接著用磁力攪拌棒攪拌，直至溶液充分混合。使溶液靜置 30 分鐘以使氣泡平息，且接著移除攪拌。接著，使用超純水將該溶液體積調至 100 mL。為獲得 0.5% P188 儲備溶液，使用超純水將 0.5 mL 之 10% P188 儲備溶液調至 10 mL。將該溶液轉移至避光容器中並在 2-8°C 下儲存最多 1 週。

A. 靜態 IV 袋研究：

【0303】 在 IV 袋中稀釋抗 CD79b-vc-MMAE。為了模擬製藥業中推薦之製備程序，自 IV 袋中移除與所添加的抗 CD79b-vc-MMAE 與界面活性劑之總體積相等體積的生理食鹽水。在引入抗 CD79b-vc-MMAE 於組胺酸緩衝劑中之調配物之前，將界面活性劑引入 IV 袋中，確保作為無界面活性劑之超濾滲濾(UFDF)池之抗 CD79b-vc-MMAE 不在 IV 袋中無任何界面活性劑情況下暴露於生理食鹽水。接著，輕柔地旋轉 IV 袋以實現完全混合，同時避免含 CD79b-vc-MMAE 之袋的任何劇烈振盪及攪動。

【0304】 在玻璃小瓶中所包含之生理食鹽水中製備抗 CD79b-vc-MMAE：將各種量之生理食鹽水(0.9%氯化鈉)、界面活性劑及免疫結合物添加至 15 cc Forma Vitrum 玻璃小瓶中並用 20 mm Daikyo 塞子封蓋。隨後，在特定研究條件下培育樣品。

【0305】 樣品收集：在整個研究過程中，使用 1 cc 或 5 cc BD Falcon 注射器結合 18 G 針取出樣品。將收集之樣品儲存於 10 cc PETG (Nalgene)容器中。

【0306】 藉由 UV 分光光度法掃描測定蛋白質濃度：使用 Agilent 分光光度計測定所選樣品在稀釋後之蛋白質濃度。在體積上稀釋(必要時)自 IV 袋收集之樣品，以使 UV 信號在 0.1 與 1.0 AU 之間。記錄在 279 nm 及 320 nm 下之吸光度。藉由使用 $1.40 \text{ (mg/mL)} \cdot 1 \text{ cm}^{-1}$ 之消光係數計算 UV 濃度測定值。藉由自 A279 nm

減去 A320 nm，得到經校正 A279。此校正歸於該溶液之濁度且能夠準確地量測蛋白質濃度。

【0307】 濁度：樣品之濁度係藉由在 Agilent 分光光度計中使用 1 cm 光程長度比色杯記錄 340–360 nm 下之平均 UV 吸光度來量測。該分光光度計係用純化水作為空白。

【0308】 可見粒子：用裝在 10 cc PETG 容器中之樣品，針對黑白背景燈箱目測評估任何可見粒子之存在。在環境溫度下，使用配備設定為 280 nm 之二極體陣列偵測器及 Tosoh Bioscience LLC (Montgomeryville, Pennsylvania) TSK-Gel G3000SWXL 尺寸排阻管柱(300 × 7.8 mm，5 μm)的 Agilent 1200/1280 高效尺寸排阻層析儀(HPSEC) (Agilent Technologies, Santa Clara, California)測定可溶聚集體含量，作為蛋白質不穩定性之量度。使用 0.2 M K₃PO₄、0.25 M KCl (pH 6.2)，在 0.5 mL/min 等度流動速率下經 30 分鐘溶離樣品。

【0309】 高準確度液體粒子計數器(High Accuracy Liquid Particle Counter，HIAC)：使用 HIAC 測定在溶液中之顆粒的大小及數量。使用遮光法，使用 HIAC (型號 9703+)儀器定量可見及/或不溶性粒子(SVP)。收集以下粒度：1.6、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、20、25 及 50 μm。

在 IV 袋中在靜態儲存下進行之穩定性研究：

【0310】 對於在 IV 袋中進行之界面活性劑研究，初始研究係在靜態及攪動條件下進行。在該等研究中測試的抗 CD79b-vc-MMAE 之劑量範圍係設計成在 1.8 mg/kg 至 2.4 mg/kg 範圍內並在此範圍內進行測試。假設大部分患者之體重將在 40 kg 與 120 kg 之間。基於該等假設，每個 IV 袋之總劑量在 72 mg (低劑量/低體重)至 288 mg (高劑量/高體重)間變化。

【0311】 圖 1–圖 2 概述在該袋中 0.005%之固定 PS20 濃度及 0.65 mg/mL 之最終抗 CD79b-vc-MMAE 濃度下 IV 袋效能之結果。選擇在 IV 袋中之抗

CD79b-vc-MMAE 濃度，對於 40 kg 患者之最低患者體重採用在 100 mL IV 袋中 1.8 mg/kg 之低劑量。由於 100 mL IV 袋具有 10 mL 過填充量，故 IV 袋中之最終濃度係： $(1.8 \text{ mg/kg} \times 40 \text{ kg}) / 110 \text{ mL} = 0.65 \text{ mg/mL}$ 。

【0312】 在 30°C 下 22 小時之靜態儲存條件下，各 IV 袋類型間關於抗 CD79b-vc-MMAE 之物理穩定性無顯著差異。如藉由 SEC 所量測，所有袋均顯示高分子量物種(HMWS)之 0.3% + 0.1% 增加(Δ)。由此展示，抗 CD79b-vc-MMAE 在 0.9% NaCl 中稀釋後在 30°C 下不穩定。

界面活性劑及在靜態儲存下進行之篩選研究：

【0313】 對於界面活性劑類型及界面活性劑濃度之良好控制及高效篩選，有必要在袋中利用固定蛋白質濃度。如以下計算式中所見，基於對 120 kg 較重患者以 100 mL 袋投與 2.4 mg/kg 最高可能劑量，選擇在該袋中 2.6 mg/mL 之抗 CD79b-vc-MMAE 濃度，該 100 mL 袋係臨床上推薦之袋規格且有 10% 過填充體積： $(2.4 \text{ mg/kg} \times 120 \text{ kg}) / 110 \text{ mL} = 2.6 \text{ mg/mL}$ 。由於較高的整體蛋白質濃度將驅動抗體較快地吸附至空氣-水界面，引起較高水準的界面介導之聚集，故推測該袋中最高蛋白質濃度係最差情況。

溫度對在靜態儲存下之穩定性的影響：

【0314】 已知混配之 IV 袋的適當儲存條件對於抗體治療劑之產品品質至關重要且對其進行評價。此資訊亦係製備製藥手冊及產品說明書以確保任何抗體治療劑之適當使用所需的。在 30°C、25°C 及 2-8°C 溫度下，測試該等袋中各種量之 PS20。在 2-8°C 下，在該袋中測試量(0.003%、0.005% 及 0.01%)之 PS20 在靜態儲存 22 小時後顯示 HMWS 無顯著變化(圖 3)。所有變化(% HMWS)均 < 0.02%。在 25°C 及在該袋中 0.005%、0.01%、0.015%、0.025% 及 0.030% 之 PS20 含量下，在靜態儲存 22 小時後觀察到約 0.1% HMWS 增加(圖 3)。在 30°C 下 HMWS 之增加量要比在 25°C 下觀察到的增加量大得多。在該袋中 0.004%、

0.015%、0.02%、0.025%、0.05%及 0.1%之 PS20 含量下，在靜態儲存 22 小時後觀察到 0.3 + 0.1%增加(圖 3)。

【0315】 在所有溫度下，HMWS 之增加與袋中 PS20 之濃度無關，表明在靜態條件下之聚集並非由界面應力介導。HMWS 之增加顯示與儲存溫度之強相關性。該等結果與 Beckley, N. 等人，Investigation into Temperature-Induced Aggregation of an Antibody Drug Conjugate. *Bioconjugate Chemistry.*, 24, 第 1674-1683 頁(2013)所進行之後續研究充分相關，表明在較高溫度下抗體藥物結合物(ADC)中 HMWS 之形成可能因在接近 CH2 結構域之鏈間半胱胺酸處結合藥物之存在而使三級結構對熱應力之敏感性增加。

測試界面活性劑混合物：

【0316】 已知泊洛沙姆 188 (P188)減少 IV 袋中 HMWS 之形成，但在攪動時不溶性粒子(SVP)顯著增加。相比之下，PS20 不增加 SVP。為進一步研究在該兩種界面活性劑之間該等變化之結果，使用 1:1 相等重量比之 PS20 – P188 混合物來確定 PS20 是否能防止 SVP 形成且 P188 是否能限制 HMWS 增加。本研究係在 25 mL IV 袋中，使用在該袋中 2.6 mg/mL 之抗 CD79b-vc-MMAE 濃度進行。以質量計，添加等量的 PS20 及 P188 以得到在該 IV 袋中 0.05%或 0.1%之總界面活性劑濃度。如下表 1 中所示，在靜態條件下，在 30°C下 22 小時的時候觀察到 HMWS 之 0.3–0.4%增加。

表 1：在 30°C熱應力之靜態條件下之混合 PS20-P188 界面活性劑研究

袋體積 (mL)	溫度 (°C)	界面活性劑 (%)	時間 (小時)	SEC (相對面積百分比) (%)			濃度 (mg/mL)	濁度	HIAC (累積粒子/mL)			
				HMWS	單體	LMWS			2 µm	5 µm	10 µm	25 µm
25 mL PVC 袋	30°C	0.05% (0.025% PS20 及 0.025% P188)	0	0.7	99.2	0.2	2.7	0.02	3309	498	54	8
			6	0.9	98.9	0.2	NT	NT	NT	NT	NT	NT
			22	1.2	98.6	0.2	NT	0.02	3002	287	38	3
		0.1% (0.05% PS20 及 0.05% P188)	0	0.7	99.2	0.2	2.7	0.05	1244	122	15	0
			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

【0317】 尺寸大於 5 μm 、10 μm 及 25 μm 之粒子有微量增加。當在 IV 袋中使用 0.1%總界面活性劑時，存在 2 μm 粒子增加。基於該等結果，界面活性劑混合物相對於單獨 PS20 未展示顯著差異。

【0318】 在本研究中評價四種不同的界面活性劑，包括 PS20、PS80、P188 及辛基葡糖苷(OG)。在 30°C下，在填充有來自 PVC 袋之生理食鹽水的小瓶中培育 0.02%界面活性劑及 2.6 mg/mL 藥品 22 小時後，存在 0.3–0.4% HMWS 增加，展示聚集亦與所用界面活性劑之類型無關(圖 4)。

在小瓶中靜態儲存下抗 CD79b-vc-MMAE 之穩定性：

【0319】 考慮到在 IV 袋中靜態儲存下抗 CD79b-vc-MMAE 於標準生理食鹽水 (0.9% NaCl)中之物理不穩定性，在小瓶中測試該免疫結合物在 5%右旋糖(D5W)及半濃度生理食鹽水(0.45% w/v NaCl)中之穩定性以評估該免疫結合物不穩定性與離子強度之相關性。用 2.6 mg/mL 固定濃度之抗 CD79b-vc-MMAE 製備含 0.02% PS20 之溶液。抗 CD79b-vc-MMAE 顯示在半濃度生理食鹽水及 D5W 中物理穩定性之顯著改善(圖 4)。在 30°C下靜態儲存 24 小時後，在 D5W 溶液中，HMWS 無變化，而半濃度生理食鹽水顯示 HMWS 之不超過 0.1%之增加。儘管在 D5W 中製備使抗 CD79b-vc-MMAE 之聚集受限制，但在 D5W 溶液中抗體之糖化係一個已知風險(參見 Fischer, S.等人, Glycation during Storage and Administration of Monoclonal Antibody Formulations. European J Pharma and Biopharm. 第 70 卷; 第 42-50 頁(2008))。因此，由於有糖化可能，故不再考慮用 5%右旋糖袋 IV 遞送抗 CD79b-vc-MMAE。儘管半濃度生理食鹽水相較於標準生理食鹽水顯示物理穩定性之顯著改善，但由於在全球臨床及商業環境中預製半濃度生理食鹽水袋之可用性較低，以及製藥業中半濃度生理食鹽水袋之製備伴隨不便利及潛在微生物污染風險，故使用半濃度生理食鹽水進行抗 CD79b-vc-MMAE 之 IV 輸注亦非優選的。

由在 IV 袋及玻璃小瓶中進行之靜態穩定性研究得到的結論：

【0320】 以上描述之靜態穩定性研究展示，高離子強度環境驅動抗 CD79b-vc-MMAE 之聚集，表明在調配物緩衝劑中之聚集速率明顯慢於在生理食鹽水中之聚集速率。

B. IV 袋攪動研究：

【0321】 進行一系列 IV 袋攪動研究以便支持在醫院或臨床環境中轉運含抗 CD79b-vc-MMAE 之混配 IV 袋進行劑量投與。儘管由於存在聚集風險，一般不推薦轉運所製備的含治療性蛋白質之 IV 袋，但在實踐中常常需要在臨床環境中轉運 IV 袋，尤其是在接觸藥房之途徑有限的遠端位置中。因此，應支持最少量之轉運，且在開發期間必須評估 IV 袋攪動對藥物造成之影響。在轉運期間 IV 袋中之攪動應力可誘導抗體治療劑之物理降解。抗體之物理降解(亦即，聚集及粒子形成)可能係由吸附至 IV 袋中之空氣-液體界面介導，此在攪動期間經歷連續再生。在以下研究之整個過程中，利用 MaxQ 4000 橢圓形實驗室振盪器(軌道長度 0.75 吋)進行 IV 袋攪動研究。將 IV 袋平放於振盪器之平面上。

在 IV 袋中攪動時溫度對穩定性之影響：

【0322】 在 2-8°C、25°C 及 30°C 下，在該袋中不同含量之 PS20 下進行攪動研究(圖 5A-圖 5C)。在 30°C 下 HMWS 之增加速率高於 25°C，而在 25°C 下 HMWS 之增加速率高於在 2-8°C 下測試之速率。HMWS 之增加與在 IV 袋中攪動期間的溫度相關。對於含有 0.01%、0.005% 及 0.003% 之 PS20 濃度水準的袋，在 2-8°C 下攪動 2 小時的時候 HMWS 沒有增加(圖 5A)。在 30°C 下，HMWS 之增加與該袋中 PS20 之濃度相關(圖 5C)。應注意，在所有 PS20 含量下攪動時，HMWS 之增加在 2-8°C(圖 5A)及 25°C(圖 5B)下係非線性的。此非線性行為可能歸因於在不同時間點進行取樣。

在 IV 袋中攪動時界面活性劑對穩定性之影響：

【0323】 使用以重量計 1:1 相等比率之 PS20 – P188 混合物確定在攪動時 PS20 是否能防止 SVP 形成及 P188 是否能限制 HMWS 增加。本研究係在 25 mL IV 袋中，使用在該袋中 2.6 mg/mL 之抗 CD79b-vc-MMAE 濃度進行。以質量計，添加等量的 PS20 及 P188 以得到在該 IV 袋中 0.05%或 0.1%之總界面活性劑濃度。

【0324】 當在 IV 袋中使用 0.05%總界面活性劑時，在 30°C下攪動 2 小時後，觀察到 2.9%之 HMWS 增加(表 2)。尺寸大於 5 µm、10 µm 及 25 µm 之粒子在 1 小時的時候有增加之趨勢且在 2 小時的時候，粒子計數高於偵測限(LOD)。當在 IV 袋中使用 0.1%總界面活性劑時，所有尺寸的粒子均有增加之趨勢但顯著低於含 0.05%界面活性劑之袋(表 2)。攪動 2 小時後，HMWS 增加相較於在 IV 袋中 0.05%之總界面活性劑濃度亦小於約 2.8%。基於該等結果，界面活性劑混合物相對於單獨 PS20 未顯示差異。

表 2：在熱應激之 30°C攪動條件下之混合 PS20-P188 界面活性劑研究

袋體積 (mL)	溫度 (°C)	界面活性劑 (%)	時間 (小時)	SEC (相對面積百分比) (%)			濃度 (mg/mL)	濁度	HIAC (累積粒子/mL)			
				HMWS	單體	LMWS			2 µm	5 µm	10 µm	25 µm
25 mL PVC 袋	30°C	0.05% (0.025% PS20 及 0.025% P188)	0	2.2	97.6	0.2	NT	0.02	3202	383	35	0
			1	3.2	96.7	0.2	NT	0.03	3737	485	48	0
			2	5.1	94.7	0.2	3.1	0.21	14666	979	76	0
		0.1% (0.05% PS20 及 0.05% P188)	0	1.2	98.6	0.2	NT	0.03	3396	476	53	3
			1	1.3	98.5	0.2	NT	0.03	3973	549	56	0
			2	2.3	97.5	0.2	2.7	0.03	3816	650	82	7

在 30°C 下短期 IV 袋攪動：

【0325】 本研究之目的係研究在環境條件下含經稀釋抗 CD79b-vc-MMAE 之 IV 袋的短期轉運並確定在該 CD79b-vc-MMAE 調配物中 PS20 之有效濃度。本研究在 30°C下對該袋進行短期攪動，持續 30 分鐘。此在 30°C下進行之短時間攪動可涵蓋經稀釋抗 CD79b-vc-MMAE 在環境條件下於醫院或其他機構中轉運期間可能經歷的潛在攪動。本研究係用在 IV 袋中稀釋並在 30°C下以 100 rpm 攪

動的 0.001%、0.002%、0.003%及 0.005% PS20 進行。結果顯示於圖 6 中。基於該等結果，在該袋中 0.005% PS20 下，有< 0.1%增加。在該等條件下，對於抗 CD79b-vc-MMAE，HMWS 之增加與 IV 袋中 PS20 之濃度直接相關。基於本研究，對於在該 IV 袋中經稀釋之抗 CD79b-vc-MMAE 的物理穩定性，在該 IV 袋中 PS20 之最少量係在 0.003%與 0.005%之間以保持聚集體含量低於定量限。

在 2-8°C 下攪動，同時冷卻 IV 袋(該等袋未預先冷卻)：

【0326】 本研究之目的係支持在更實際之情況下轉運混配之 IV 袋。典型地，該等 IV 袋係由藥劑師混配且在可預先冷卻或可能未預先冷卻之媒劑中轉運。在本實驗開始之前，將該等袋平衡至 30°C以模擬在世界不同地區中可能存在的較高環境溫度。由此確保經稀釋 DP 即使在該等袋未預先冷卻或在未預先冷卻之容器中轉運的情況下亦具有穩定性。本研究係用在 100 mL IV 袋中 2.6 mg/mL 之抗 CD79b-vc-MMAE 及四種不同 PS20 含量進行：0.001%、0.002%、0.003%及 0.005%。在 IV 袋中≤0.002%下，存在< 0.1%之 HMWS 增加。基於本攪動模型研究之結果，該 IV 袋中 PS20 之最少量係在 0.001%與 0.002%之間以保持聚集體含量低於定量限。結果概述於圖 7 中。

結論：

【0327】 抗體藥物結合物(ADC)對生理食鹽水及高離子強度之敏感性高於常規未結合之抗體(Adem, Y.等人, *Bioconjugate Chemistry*, 25 (2014) 656-664)。測試的抗 CD79b-vc-MMAE 當在 0.3%生理食鹽水中稀釋時在 30°C下靜態儲存 22 小時將展示 HMWS 增加。

【0328】 基於該兩個攪動模型，在 IV 袋中至少 0.002% PS20 存在下，抗 CD79b-vc-MMAE 在 2-8°C下由 1 小時之短期轉運引起的攪動期間穩定。為了滿足在處理及轉運以及短期儲存期間對攪動應力之穩定性要求，在抗 CD79b-vc-MMAE 調配物中最終推薦之界面活性劑濃度係 0.12%，其在與使用

100 mL IV 袋組合時產生該袋中 0.004%之濃度用於最低預期患者體重(40 kg)。經顯示，此界面活性劑含量保持抗 CD79b-vc-MMAE 之 1.8 mg/kg 至 2.4 mg/kg 的劑量範圍。應注意，此界面活性劑，特別是 PS20 之量出乎意料地高且與科技文獻相悖，參見 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。該用於 CD79b-vc-MMAE 樣品之 PS20 之量相較於另一免疫結合物抗 CD22-vc-MMAE 亦出乎意料地高，對於該抗 CD22-vc-MMAE，已確定含 0.05% PS20 之市售調配物適於在 IV 袋中稀釋(資料未顯示)。

實例 2：減小抗 CD79b 免疫結合物氧化及連接子水解風險

【0329】 如實例 1 中所論述，確定適於 IV 袋遞送之界面活性劑濃度可能會帶來抗 CD79b-vc-MMAE 氧化之問題。由於聚山梨醇酯具有自氧化降解作用，故已知較高的聚山梨醇酯含量一般會伴隨較高的過氧化物含量。參見 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。

【0330】 另外，已知在 PS20 存在下可能發生色胺酸氧化。參見 Lam X 等人, Site-Specific Tryptophan Oxidation Induced by Autocatalytic Reaction of Polysorbate 20 in Protein Formulation., *Pharm Res*. (2011) 28:2543-2555。值得注意的是，就用於本發明中之抗 CD79b 抗體而言，在以下可變重鏈 HVR 1 中存在色胺酸：

GYTFSSYWIE (SEQ ID NO:4)。在用 AAPH 調配抗 CD79b-vc-MMAE 之後，藉由胰蛋白酶之質譜分析來測定在 AAPH 應力條件下氧化之可能性(例如在 40°C 下保持至多 2 週，或在 25°C 下保持 6 個月或在 2-8°C 下保持 6 個月)。用胰蛋白酶消化經受應力之抗 CD79b-vc-MMAE 並對消化之肽進行 LC-MS/MS 以測定氧化百分比(資料未顯示)。藉由肽定位觀察到 68% 之 HVR 色胺酸氧化。由此引起約 58% 之抗 CD79b-vc-MMAE 效力損失(資料未顯示)。因此，有必要減小氧化風險。

【0331】 要考慮的其他因素包括如何管理免疫結合物之連接子的琥珀醯亞胺水解。本發明之抗 CD79b-vc-MMAE 免疫結合物採用含順丁烯二醯亞胺之藥物-連接子結合至抗體半胱胺酸殘基以形成硫代琥珀醯亞胺鍵聯。已知此類硫代琥珀醯亞胺鍵聯可在患者之血漿中經歷兩個競爭反應：(a)順丁烯二醯亞胺消除反應，引起該免疫結合物中不合需要之藥物損失；及(b)硫代琥珀醯亞胺環之水解反應，產生無法經歷消除反應之琥珀酸鹽生物。參見圖 8 及 Lyon, R.等人, Self-Stabilizing ADCs: Conjugates Prepared with Maleimido Drug-Linkers that Catalyze their own Thiosuccinimide Ring Hydrolysis., 摘要編號 4333, American Association for Cancer Research (2013 年 4 月)。此對於關鍵品質屬性(critical quality attribute, CQA)極為重要，因為其可能影響藥物動力學(pK)及安全性。先前已展示，用於早期臨床患者測試的初始液體調配物，例如在 pH 5.5 之乙酸組胺酸緩衝劑中之液體調配物在推薦儲存條件下經 2 年展示約 9% 之酸性物質增加(資料未顯示)。

【0332】 歸因於以下三個風險：由 PS20 濃度增加引起之氧化風險增加；由色胺酸氧化引起之氧化風險增加，此將導致效力損失；及連接子水解風險，此將導致免疫結合物中 MMAE 藥物之損失並使患者血漿中產生游離藥物，故提出了凍乾調配物來減小該等風險以產生更長、更穩定之保存期限。

A. 替代性緩衝劑物種之研究：

【0333】 為了起始凍乾產物之調配物開發，對替代性緩衝劑物種進行研究。用於早期臨床調配物中的緩衝劑物種係乙酸組胺酸緩衝劑。已知 L-組胺酸有可能經由多種機制氧化，該等氧化機制中最常觀察到的氧化機制係光氧化。參見 Mason, B.等人, Oxidation of Free L-histidine by tert-Butylhydroperoxide., *Pharm Res.* (2010) 27(3):447-456。此外，乙酸鹽可能在凍乾製程期間蒸發，由此引起 pH 變化，從而使免疫結合物產品不穩定。此外，由於乙酸鹽易燃，故具有乙酸鹽被認為可能潛在地危害凍乾製程。因此，評價替代性緩衝劑物種。如表 3 中所示，測試三種調配物。

表 3：緩衝劑物種篩選及 pH 範圍評估

蛋白質濃度	緩衝劑物種	pH
22 mg/mL	組胺酸/鹽酸組胺酸	5.5
22 mg/mL	琥珀酸鈉	5.0
22 mg/mL	琥珀酸鈉	6.0

【0334】 在冷凍/解凍應激實驗中，評估在拋棄式 PETG 容器中表 3 中之冷凍-解凍之抗 CD79b-vc-MMAE 醫藥組成物的穩定性。蛋白質調配物經無菌過濾並填入 PETG 容器中。將該等容器放在-20°C下保持 T=0 及 1 週。將該等容器冷凍並解凍至室溫，總計五次。僅分析 T=0 及三次冷凍-解凍循環。結果概述於表 4 中。

表 4：冷凍-解凍之抗 CD79b-vc-MMAE 的穩定性

抗 CD79b-VC-MMAE: 5 次冷凍解凍研究(大規模 Tox 批料)之結果概述													
配方	冷凍解凍循環(X)	CAC	可見顆粒	濃度 (mg/mL)	濁度 (AU)	pH	SEC			HIAC (平均累積計數, mL)			
							峰面積百分比 (%)			> 2µm	> 5µm	> 10µm	> 25µm
							HMWS	單體	LMWS				
10mM His-His-HCL 130mM 蔗糖 0.06% PS-20, pH 5.5	0	澄清(液體)	無	22.3	0.09	5.57	0.6	99.2	0.2	133	15	3	0
	1	澄清(液體)	無	23.4	0.08	5.53	0.6	99.2	0.2	213	66	17	1
	2	澄清(液體)	無	23.9	0.10	5.54	0.6	99.2	0.2	n.a.			
	3	澄清(液體)	無	22.7	0.09	5.53	0.6	99.2	0.2				
	4	澄清(液體)	無	23.0	0.08	5.54	0.6	99.2	0.2				
	5	澄清(液體)	無	22.7	0.08	5.55	0.6	99.2	0.2	295	68	22	3
10mM 琥珀酸鈉 130mM 蔗糖 0.06% PS-20, pH 5.0	0	澄清(液體)	無	20.9	0.08	5.04	0.6	99.2	0.2	10	2	0	0
	1	澄清(液體)	無	20.6	0.08	5.06	0.6	99.2	0.2	57	17	7	1
	2	澄清(液體)	無	20.6	0.08	5.04	0.6	99.2	0.2	n.a.			
	3	澄清(液體)	無	21.0	0.08	5.06	0.6	99.2	0.2				
	4	澄清(液體)	無	21.3	0.07	5.04	0.6	99.2	0.2				
	5	澄清(液體)	無	21.5	0.07	5.06	0.6	99.1	0.2	43	10	4	1
10mM 琥珀酸鈉 130mM 蔗糖 0.06% PS-20, pH 6.0	0	略帶乳白色(液體)	無	21.0	0.10	5.99	0.7	99.1	0.2	24	6	3	0
	1	略帶乳白色(液體)	無	21.3	0.11	6.01	0.7	99.1	0.2	45	24	12	4
	2	略帶乳白色(液體)	無	21.1	0.11	6.02	0.7	99.1	0.2	n.a.			
	3	略帶乳白色(液體)	無	21.4	0.10	6.04	0.7	99.1	0.2				
	4	略帶乳白色(液體)	無	20.9	0.11	6.02	0.7	99.1	0.2				
	5	略帶乳白色(液體)	無	22.1	0.10	6.03	0.7	99.1	0.2	167	56	23	8

【0335】 結果展示，用該三種測試調配物中之任一種未觀察到問題。因此，使用組胺酸或琥珀酸鹽將為乙酸組胺酸的可接受之替代性緩衝劑物種。

【0336】 接下來，測試穩定性篩選以測試在 30°C 下 pH 值對電荷變異體形成之影響。使用與表 3 中相同之三種液體調配物，即在 30°C 下經歷 2 週、4 週及 8 週之三個不同時間點應激之調配物，利用配備 PrinCE 微量注射器及 100 µm × 5 cm 塗覆氟碳化合物之毛細管筒(ProteinSimple)的 iCE280 分析儀(ProteinSimple)評估電荷變異體分佈。為了移除重鏈 C 末端離胺酸殘基，在稀釋步驟後，將羧肽酶 B (CpB)以 1:1000 (w/w)之酶與底物比率添加至各樣品中。此外，添加唾液酸酶 A 以移除唾液酸。在添加 CpB 及唾液酸酶 A 後，在 37°C 下培育樣品 10 分鐘。將經培育之液體調配物樣品與兩性電解質溶液混合，該兩性電解質溶液由 700 µL 之 1% 甲基纖維素、1218 µL 純化水、8 µL pharmalyte 8-10.5、55 µL pharmalyte 5-8、15 µL pI 標記物 5.12、4 µL pI 標記物 7.05 之混合物組成。藉由在 0.1% 甲基纖維素中含 80 mM 磷酸之陽極電解質以及在 0.1% 甲基纖維素中含 100 mM 氫氧化鈉之陰極電解質存在下，引入 1500 V 電位 1 分鐘，隨後引入 3000V 電位 5 分鐘，使樣品聚焦。藉由使 280 nm 紫外光(UV)穿過毛細管並進入電荷耦

合裝置數位攝影機之透鏡中來獲得聚焦之電荷變異體的圖像。結果顯示於圖 9 及圖 10 中，圖中展示在 pH 5.0 與 5.5 之間，有較少酸性物種形成且鹼性物種形成略快。因此，看起來緩衝劑成分對電荷穩定性無明顯影響。

B. pH 值對穩定性影響之研究：

【0337】 使用與表 3 中相同之三種液體調配物測試穩定性篩選，以測試在 30°C 下 pH 值對尺寸變異體形成之影響，該三種液體調配物在 30°C 下經歷 2 週、4 週及 8 週三個不同時間點之應激。在 Agilent Technologies 1200 系列 HPLC (Santa Clara, California) 上，使用 pH 6.2 之 0.25 mM 氯化鉀移動相，藉由尺寸排阻層析法(SEC)測定尺寸變異體分佈。接著，將液體調配物樣品裝載至 Tosoh Bioscience TSKgel G3000SWXL 管柱(South San Francisco, California)上。使用 0.5 ml/min 流動速率，經 30 分鐘溶離樣品，並監測在 280 nm 下之吸光度。結果以總曲線下面積之相對峰面積報導且顯示於圖 11 中。穩定性篩選展示，相較於 pH 6.0，在 pH 5.0 與 5.5 之間觀察到較少的高分子量物種(HMWS)。在 30°C 下 4 週後觀察到類似量的低分子量物種(LMWS)。在 8 週時，在 30°C 下觀察到略微較高之 LMWS。由於 pH 值降至 5.3 看來會減少電荷及尺寸變異體形成，故選擇 pH 5.3。

【0338】 圖 12 顯示測試兩種緩衝劑物種之層析圖：pH 5.5 之組胺酸/鹽酸組胺酸相較於三個不同 pH 值之琥珀酸鈉：5.0、5.5 及 6.0。pH 5.5 之組胺酸緩衝劑展示在 30°C 下於液體中之物理穩定性略優於任何測試 pH 值(pH 5.0、5.5 或 6.0)之琥珀酸鈉。然而，由於琥珀酸鈉緩衝劑在液體中展示可接受之穩定性，且考慮到利用組胺酸可能存在之氧化風險，故選定琥珀酸鈉緩衝劑。

C. 測試凍乾調配物：

【0339】 測試凍乾調配物以減小上述風險。凍乾循環之通用流程如表 5 中所示。

表 5：抗 CD79b-vc-MMAE 之凍乾循環

步驟	描述	溫度(°C)	壓力 (µm Hg)	時間 (HH: MM)
1	裝載	5	N/A	N/A
2	保持	5	N/A	1:00
3	冷凍降溫	-35	N/A	2:00
4	冷凍	-35	N/A	6:00
5	評價	N/A	120	N/A
6	第一次乾燥升溫	0	120	3:00
7	第一次乾燥	0	120	54:00
8	第二次乾燥升溫	20	120	2:00
9	第二次乾燥	20	120	10:00

【0340】 循環時長係約 78 小時或約 3 天。水分含量設定在 0.5%至 0.7%之間。

【0341】 進行凍乾篩選研究以測試如表 6 中所示的各種抗 CD79b-vc-MMAE 濃度、兩個不同緩衝劑物種、不同 pH 值及兩個不同的界面活性劑含量。

表 6：凍乾篩選研究—測試調配物

#	蛋白質濃度	緩衝劑	穩定劑/張力調節劑	界面活性劑	pH
1	10 mg/ml	10 mM 琥珀酸鈉	260 mM 蔗糖	0.06% PS20	5.0
2	10 mg/ml	10 mM 琥珀酸鈉	260 mM 蔗糖	0.06% PS20	5.5
3	10 mg/ml	10 mM 琥珀酸鈉	260 mM 蔗糖	0.06% PS20	6.0
4	20 mg/ml	10 mM 琥珀酸鈉	260 mM 蔗糖	0.06% PS20	5.5
5	10 mg/ml	10 mM His/His-HCl	260 mM 蔗糖	0.08% PS20	5.5

【0342】 該等測試凍乾調配物在 30°C下儲存長達 2 個月作為篩選研究之一部分。

【0343】 為了定量開發用於各測試調配物(1)至(5)之任何單體作為穩定性之指示，如上文所述，在各測試調配物復原至 10 mg/ml 或 20 mg/ml 之後，採用 SEC 分析。圖 13 概述本研究且展示在 30°C下經歷熱應力之 2 個月內，任何測試調配物中之單體百分比均無變化。另外，如上文所述，藉由 icIEF 測試各凍乾調配物(1)至(5)，以測定在 30°C下經歷熱應力 2 個月後的主峰百分比。圖 14 概述本研究且展示在 30°C下經歷熱應力之 2 個月內，任何測試調配物中之主峰百分比均無變化。根據該兩項研究確定，在 5.0 至 6.0 之 pH 值範圍內之琥珀酸鈉緩衝劑使測試的凍乾調配物具有可接受之穩定性。

D. 凍乾塊外觀：

【0344】 凍乾調配物的一個重要態樣係凍乾塊之實際外觀，因為其係產品之品質屬性。對於抗 CD79b-vc-MMAE 凍乾調配物，測試免疫結合物之濃度及穩定劑/張力調節劑之濃度以檢查如何改善凍乾塊之外觀。圖 15A–圖 15C 顯示具有不同的測試蛋白質與蔗糖比率之三種凍乾調配物。在測試的全部三種蔗糖含量下，在凍乾塊之底部看到凹痕，由此沒有產生理想的凍乾塊外觀。儘管如此，在類似凍乾條件下，具有較少蔗糖之調配物顯示較小凹痕且較低蔗糖濃度產生較少水分。測試另一凍乾調配物，在該凍乾調配物中，免疫結合物濃度增加至 20 mg/ml，同時蔗糖濃度降低至 120 mM。圖 16A 及圖 16B 比較兩種凍乾塊外觀。20 mg/ml 免疫結合物濃度與 120 mM 蔗糖組合展示最穩固且最均一之凍乾塊外觀。在 40°C、25°C及 5°C下進行 4 週之熱應力穩定性研究中，未見到凍乾塊結構、顏色或外觀之變化，且水分含量保持<5%。

E. 凍乾調配物之穩定性：

【0345】 如藉由可溶性聚集體或電荷變異體形成所量測，測試藥品之凍乾調配物之穩定性：在 pH 5.3 之 10 mM 琥珀酸鈉中之 20 mg/ml 抗 CD79b-vc-MMAE、120 mM 蔗糖、0.12% PS20。如上文所述，藉由 SEC 量測可溶性聚集體。圖 17 顯示對於凍乾藥品，在 25°C及 2-8°C下經歷 8 週存在不到 0.1%之可溶性聚集體增加。在 40°C下觀察到每週二聚體聚集體物種有約 0.1%增加，且此聚集速率可能與水分含量相關。如上文所述，藉由 icIEF 量測電荷變異體。圖 18 顯示對於凍乾藥品，在 40°C下 4 週後，主峰有約 5%損失且酸性物質有 3.7%增加。在 25°C及 2-8°C下未量測到顯著變化。因此，在 25°C及 2-8°C應力條件下未觀察到凍乾藥品之變化。

【0346】 表 7 概述由實例 1 及 2 中所述之許多研究得到最終抗 CD79b-vc-MMAE 調配物。

表 7：最終抗 CD79b-vc-MMAE 調配物之概述

	最終市售藥品調配物	基本原理
劑型	凍乾，用 SWFI 一次性 1:1 復原	使琥珀醯亞胺水解及氧化風險最小
配方	20 mg/ml 藥品	可接受之凍乾塊外觀
	10 mM 琥珀酸鈉	凍乾-有益；使氧化風險最小；
	pH 5.3	使琥珀醯亞胺水解風險最小
	120 mM 蔗糖	可接受之凍乾塊外觀
	0.12% PS20	實現在 IV 袋中之穩定性
投與途徑/遞送	靜脈內 IV 袋	商業便利

【0347】 如以上表 7 所示，最終市售藥品調配物含有 20 mg/ml 藥品，其中增加蛋白質與藥物比率使得當溶液凍乾時凍乾塊之外觀改善。0.12% PS20 (亦即，1.2 mg/ml)防止調配物中之蛋白質免於在使用 IV 袋及 IV 輸注裝置投與期間碰到界面應力。pH 5.3 使琥珀醯亞胺水解引起之酸性變異體形成最少。表 7 中之調配物係設計成在 7.2 mL SWFI 中復原後遞送每個小瓶中 140 mg 藥品以實現 1.8 mg/kg 之臨床劑量。

實例 3：評價抗 CD79b-vc-MMAE 藥物物質及藥品調配物之穩健性

【0348】 已發現凍乾調配物中之藥品(參見表 7)在 2°C-8°C下且在 0.3% (w/w)至 3.2% (w/w)殘留水分含量範圍內穩定保持至少 44 個月，且在 25°C下且在 0.3% (w/w)至 3.2% (w/w)殘留水分含量範圍內穩定保持至少 7 個月。

【0349】 接下來，改變凍乾藥品之調配參數並評價其對凍乾藥品之穩定性的有實際意義之影響。測試的五個調配參數(及在該等參數之變化範圍)係：(a)蛋白質濃度(17-23 mg/ml)、(b)琥珀酸鹽濃度(7-23 mM)、(c)蔗糖濃度(90-150 mM)、(d)聚山梨醇酯 20 濃度(0.9-1.5 mg/ml)及(e) pH (4.95-5.65)。在 2°C-8°C下儲存長達九個月持續時間後未觀察到對凍乾藥品之穩定性的有實際意義之影響。基於模型預測之降解速率，預期在 2°C-8°C下儲存長達至少 24 個月持續時間後對凍乾藥品穩定性沒有實際意義之影響。

【0350】 已發現復原之藥品溶液(亦即，在 pH 5.3 的 10 mM 琥珀酸鹽、120 mM 蔗糖、1.2 mg/mL 聚山梨醇酯 20 中之 20 mg/mL 泊拉珠單抗凡酯)在暴露於環境

光下在 2°C-8°C 下儲存 72 小時後或在 30°C 下儲存 24 小時後仍具有物理化學穩定性。未偵測到泊拉珠凡酯對其靶(亦即，CD79b)之親和力或泊拉珠凡酯之生物活性的顯著變化(例如無統計學顯著變化)。

【0351】 雖然已出於清楚理解之目的，藉助於說明及實例略為詳細地描述了本發明，但不應將該等描述及實例解釋為限制本發明之範圍。本文引用的所有專利及科學文獻之揭示內容皆以全文引用的方式清楚地併入本文中。

【序列表】

<110> 美商建南德克公司(GENENTECH, INC.)

<120> 穩定抗CD79B免疫結合物調配物

<130> TW108112935

<150> US 62/657,185

<151> 2018-04-13

<160> 18

<170> 用于Windows之FastSEQ 4.0版

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 2

Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 3
Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Leu Thr
1 5

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 4
Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Ile Glu
1 5 10

<210> 5
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 6
Thr Arg Arg Val Pro Ile Arg Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 7
<211> 117
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 13
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 14
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 16

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
1 5 10

<210> 17

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<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> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<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

【發明申請專利範圍】

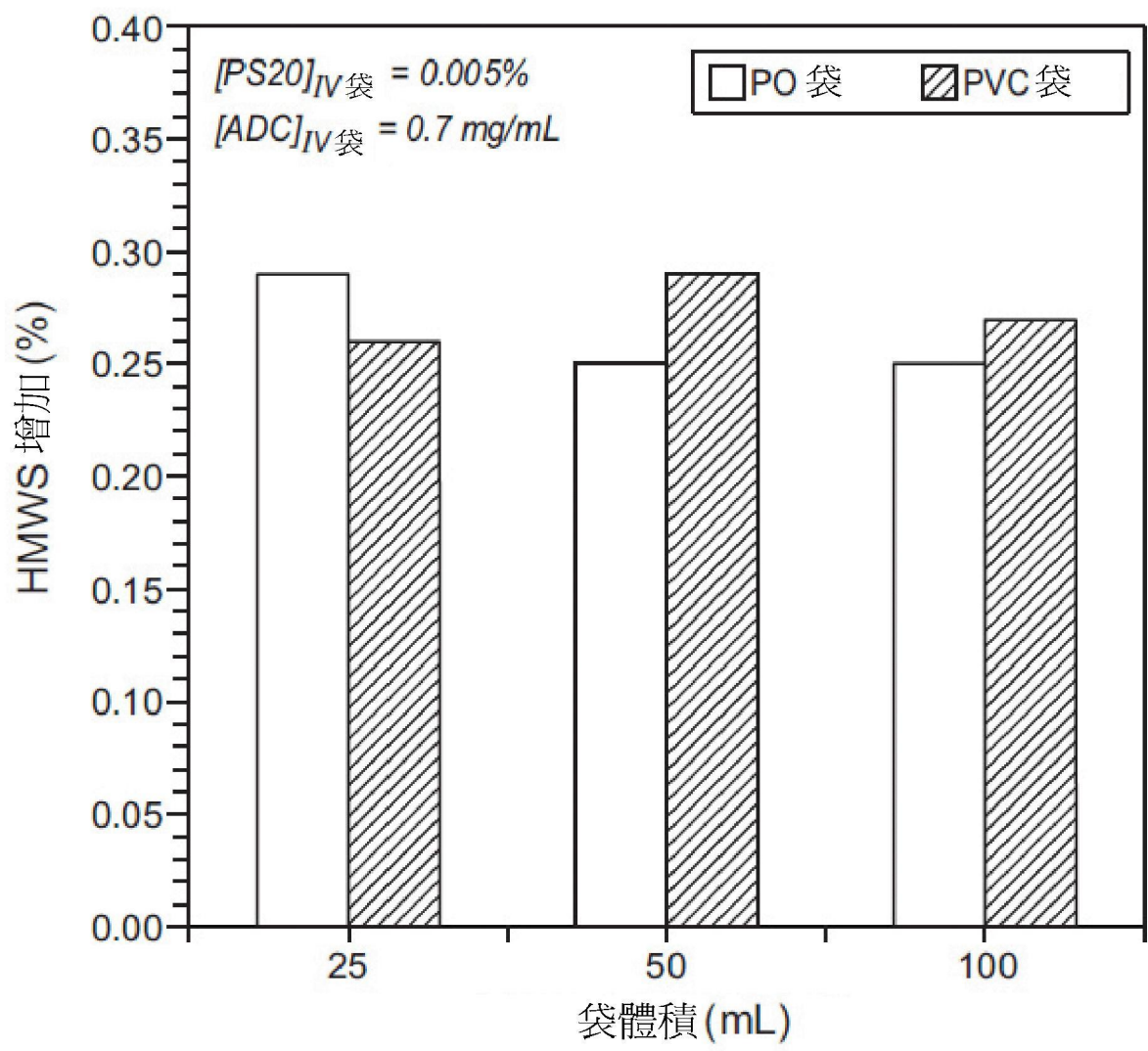
【請求項 1】 一種液體組成物，其包含濃度約 20 mg/ml 之泊拉珠單抗凡酯（polatuzumab vedotin）、濃度約 10 mM 之琥珀酸鈉緩衝液、濃度約 0.12% w/v 或約 1.2 mg/ml 之聚山梨醇酯 20 及濃度約 120 mM 之蔗糖，其中該液體組成物之 pH 值係約 5.3。

【請求項 2】 一種液體組成物之用途，其係用以製備治療有需要之患者之瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤（diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL）的藥物，其中該液體組成物包含濃度約 20 mg/ml 之泊拉珠單抗凡酯、濃度約 10 mM 之琥珀酸鈉緩衝液、濃度約 0.12% w/v 或約 1.2 mg/ml 之聚山梨醇酯 20 及濃度約 120 mM 之蔗糖，且其中該液體組成物之 pH 值係約 5.3。

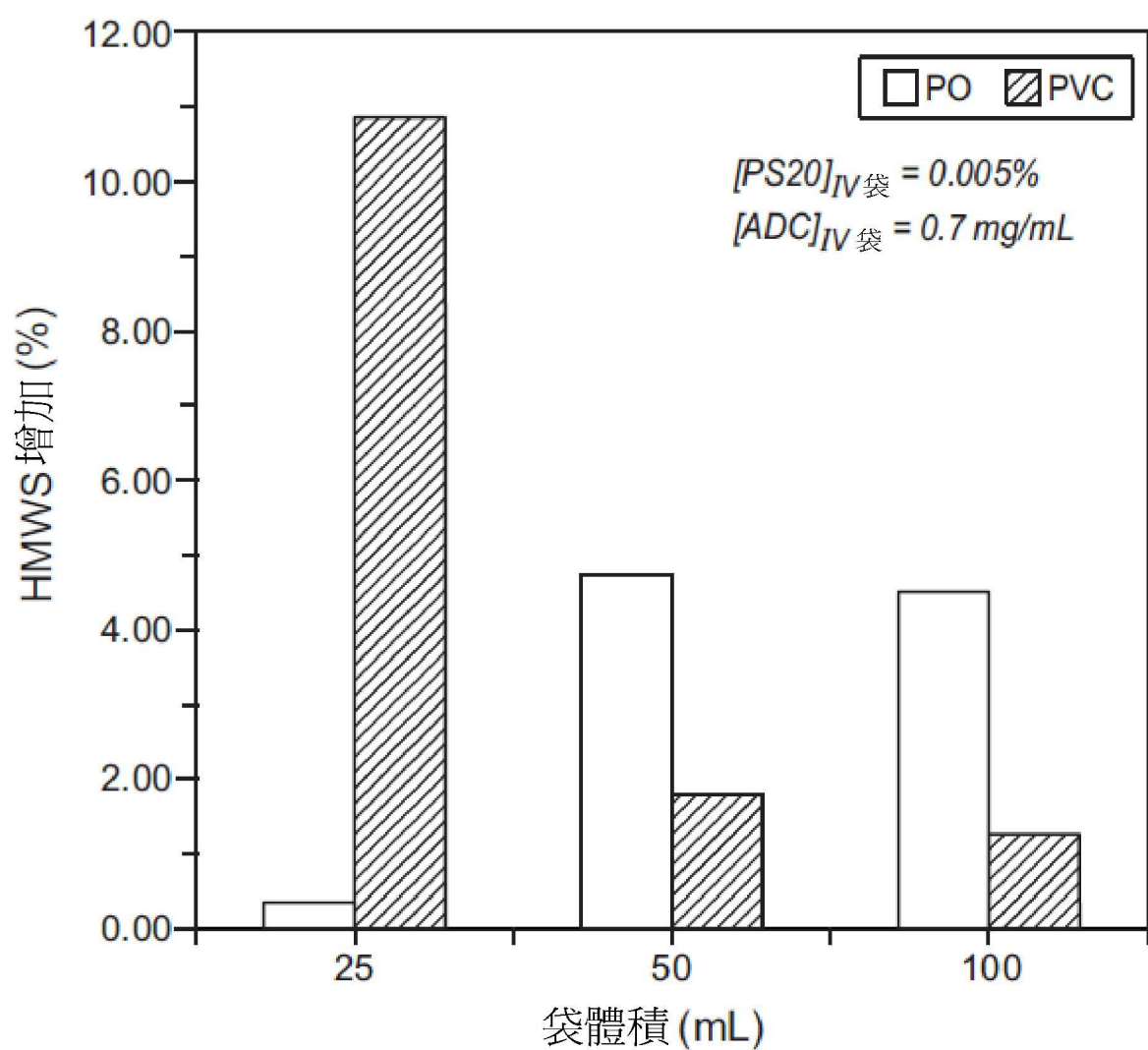
【請求項 3】 一種液體組成物之用途，其係用以製備治療有需要之患者之復發性/難治性瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤（relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma, R/R DLBCL）的藥物，其中該液體組成物包含濃度約 20 mg/ml 之泊拉珠單抗凡酯、濃度約 10 mM 之琥珀酸鈉緩衝液、濃度約 0.12% w/v 或約 1.2 mg/ml 之聚山梨醇酯 20 及濃度約 120 mM 之蔗糖，且其中該液體組成物之 pH 值係約 5.3。

【請求項 4】 一種液體組成物之用途，其係用以製備治療有需要之患者之濾泡性淋巴瘤（follicular lymphoma, FL）的藥物，其中該液體組成物包含濃度約 20 mg/ml 之泊拉珠單抗凡酯、濃度約 10 mM 之琥珀酸鈉緩衝液、濃度約 0.12% w/v 或約 1.2 mg/ml 之聚山梨醇酯 20 及濃度約 120 mM 之蔗糖，且其中該液體組成物之 pH 值係約 5.3。

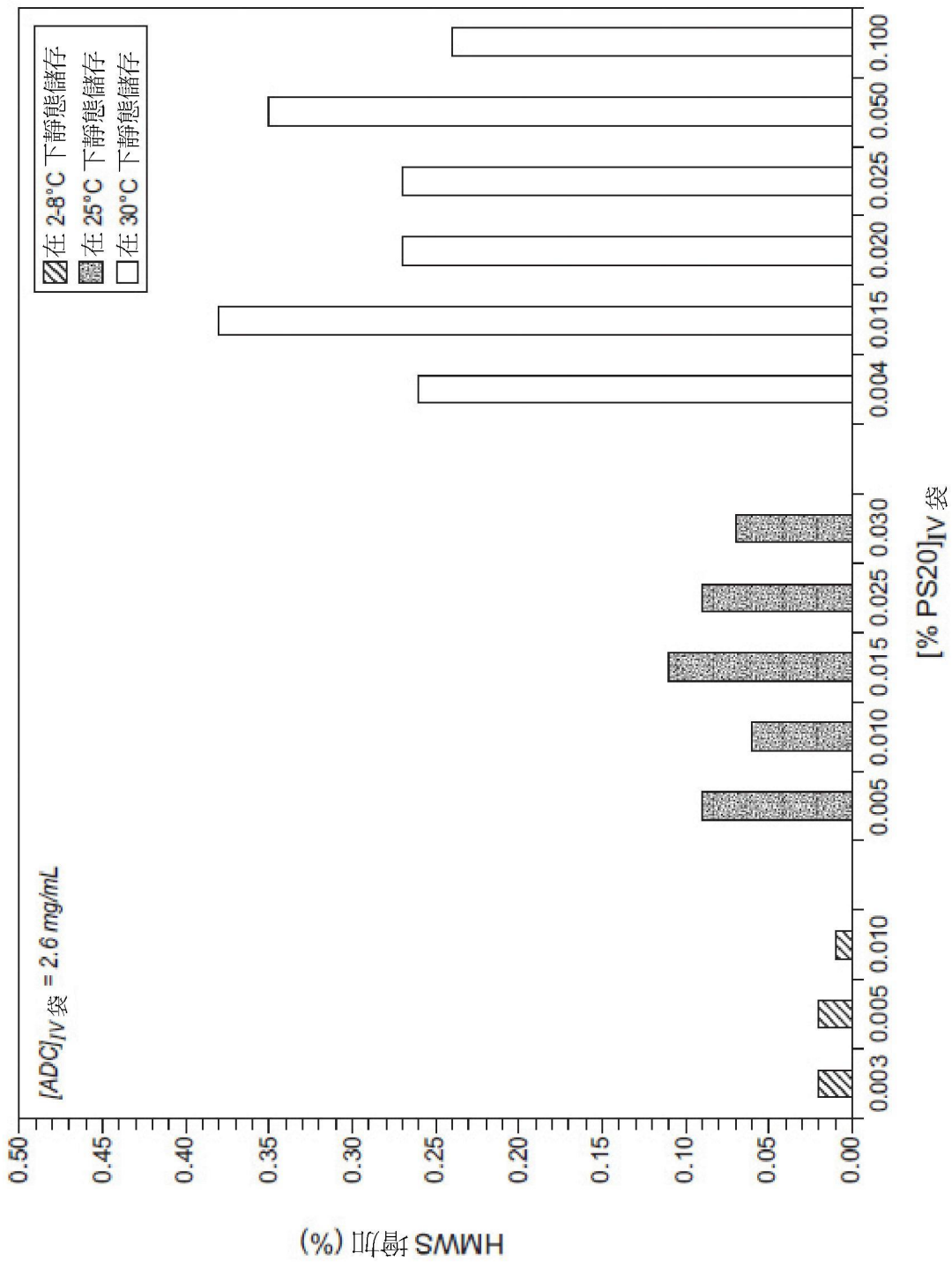
【發明圖式】

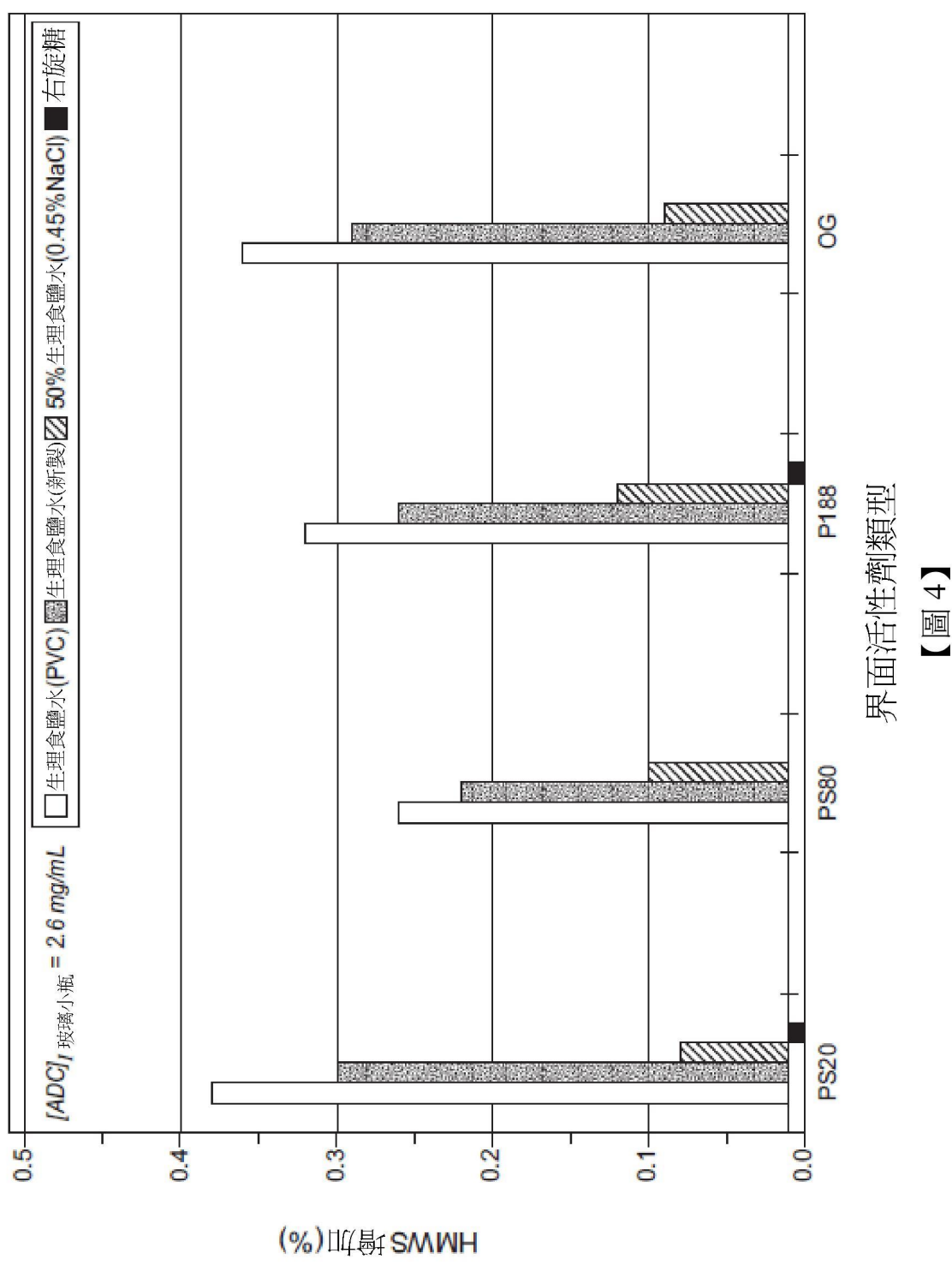


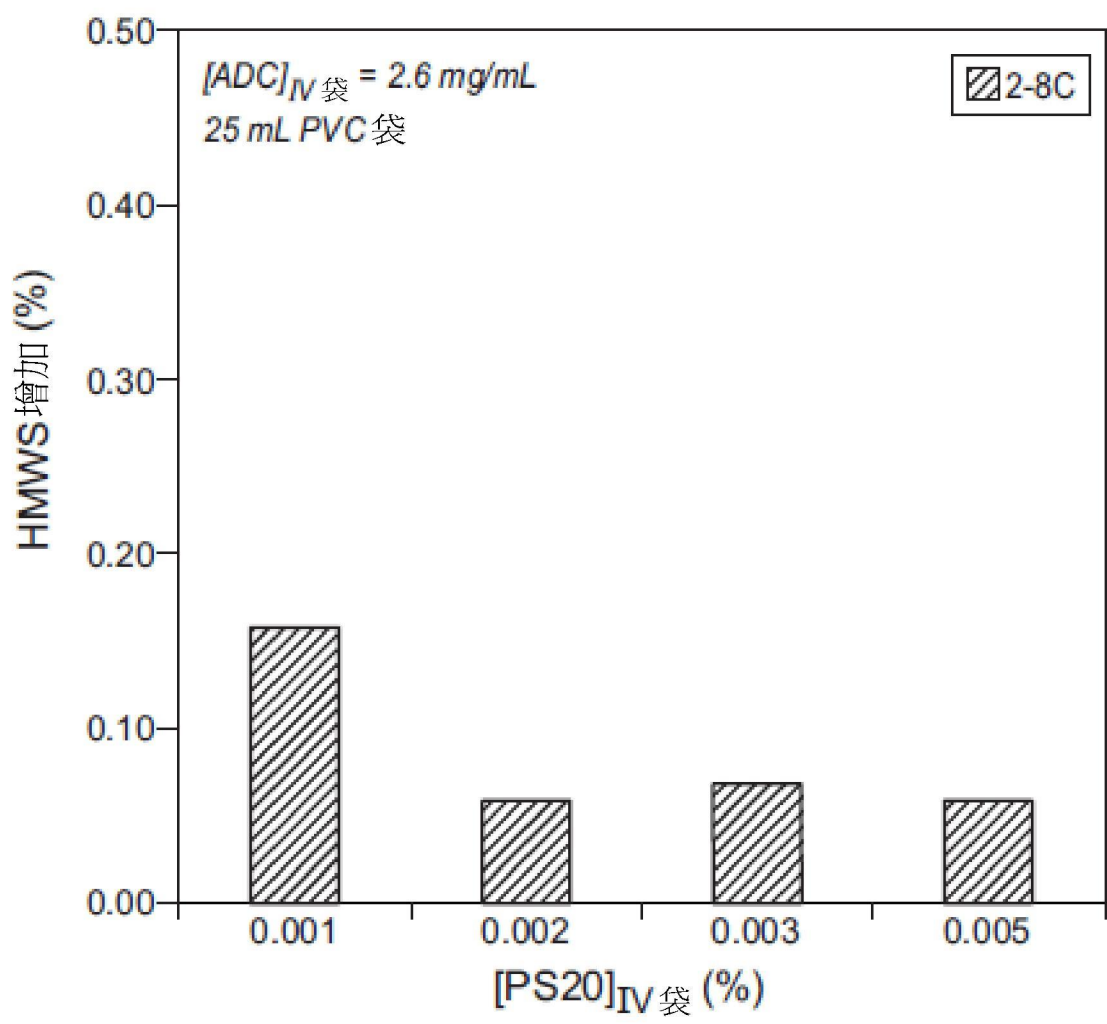
【圖 1】



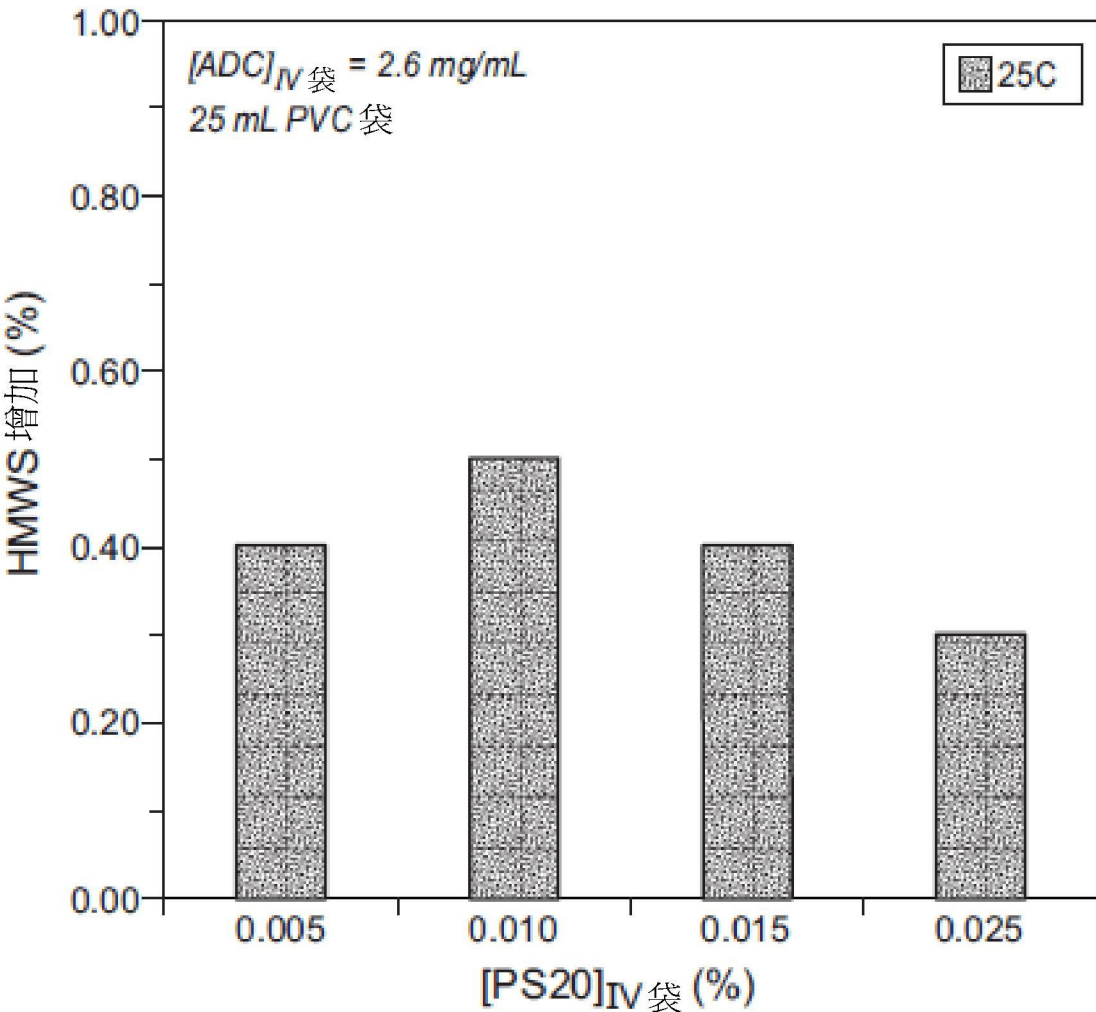
【圖 2】



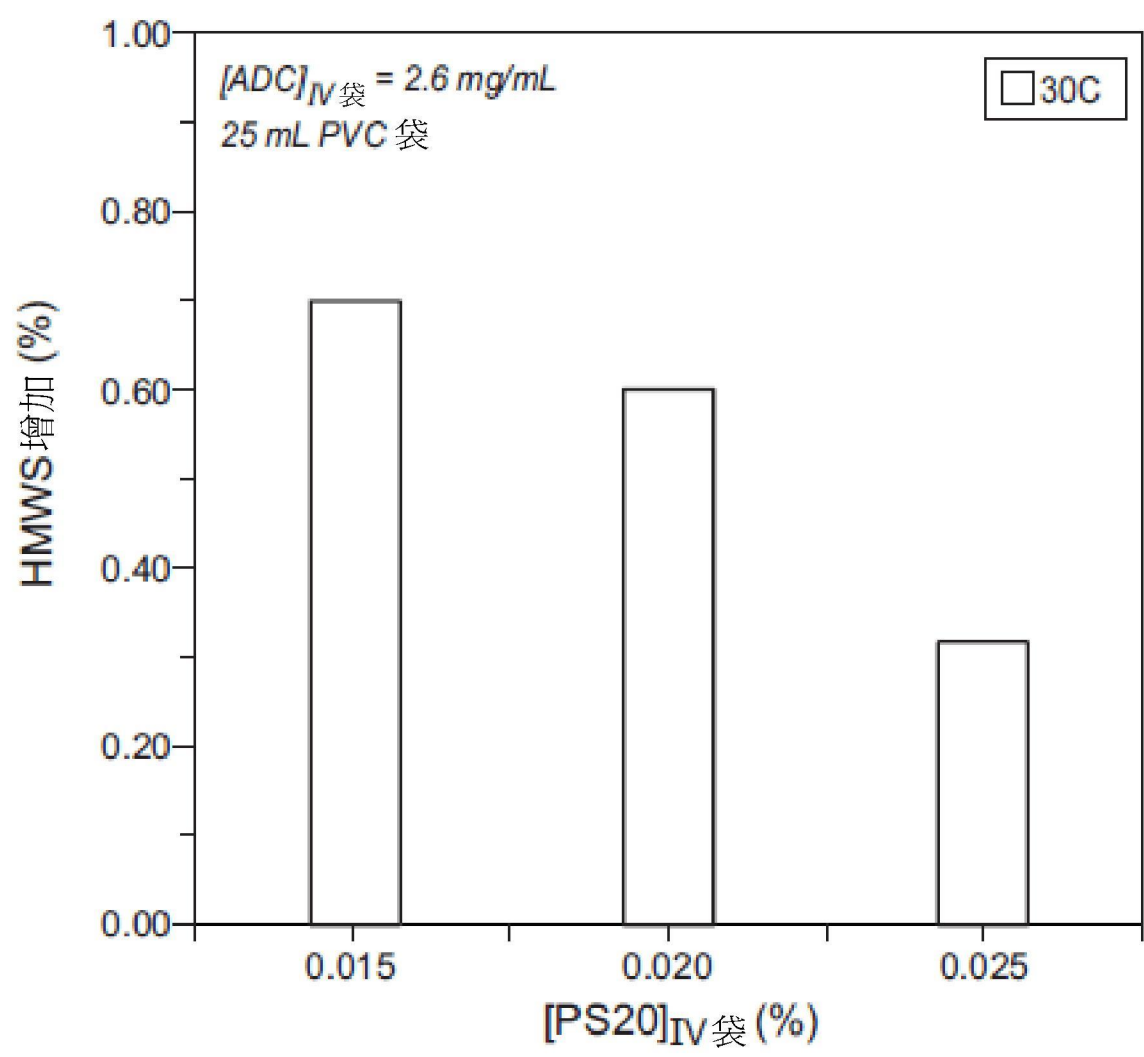




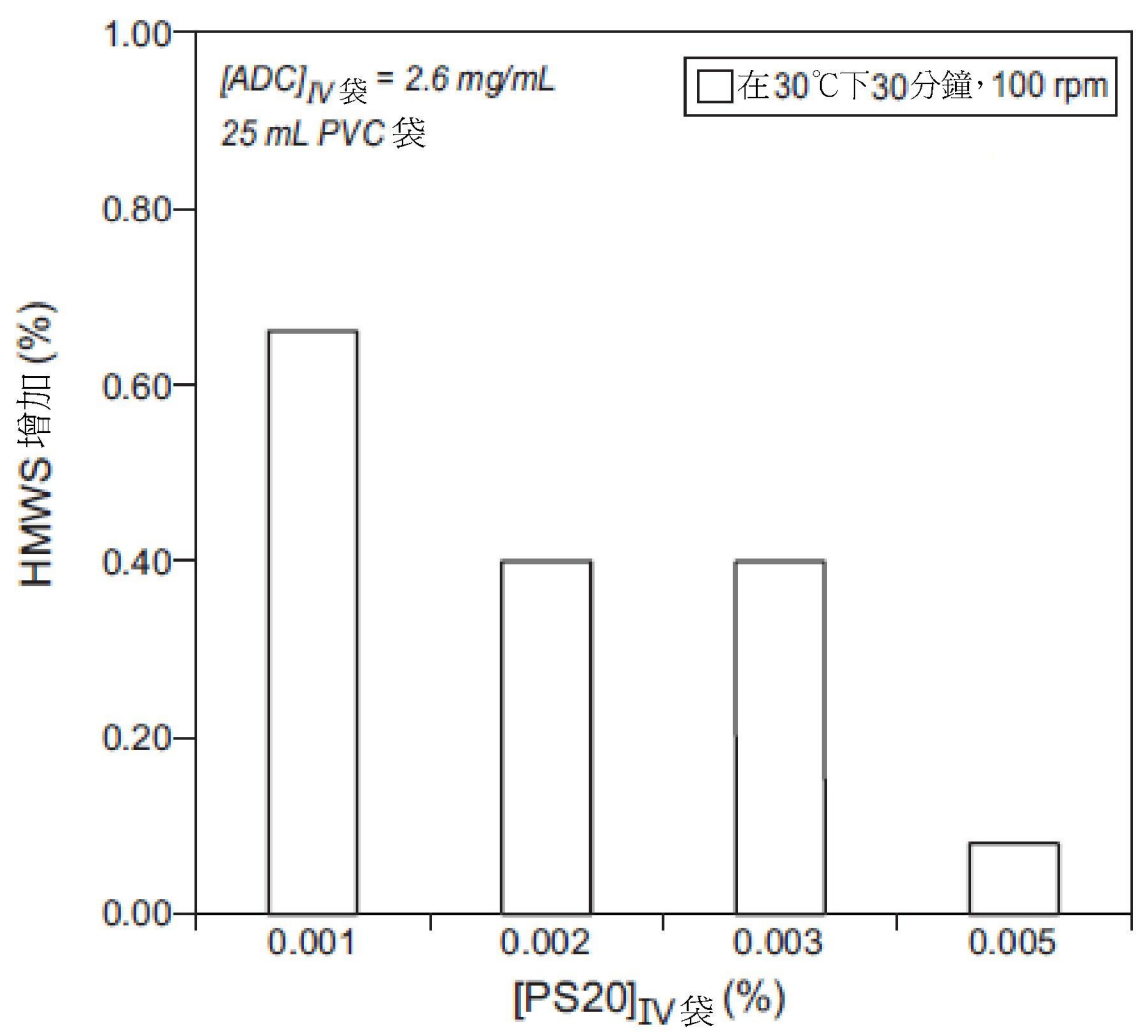
【圖 5A】



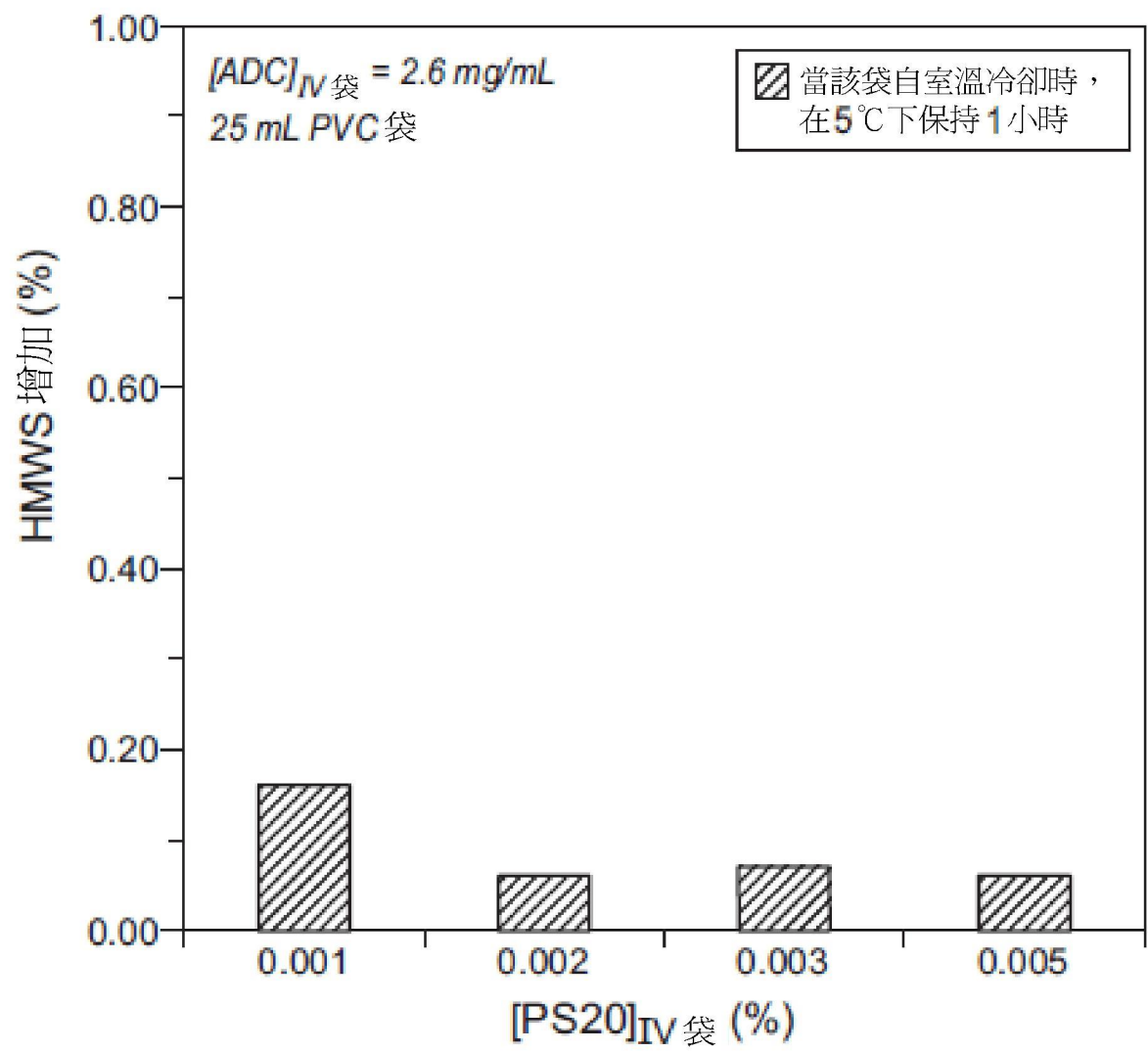
【圖 5B】



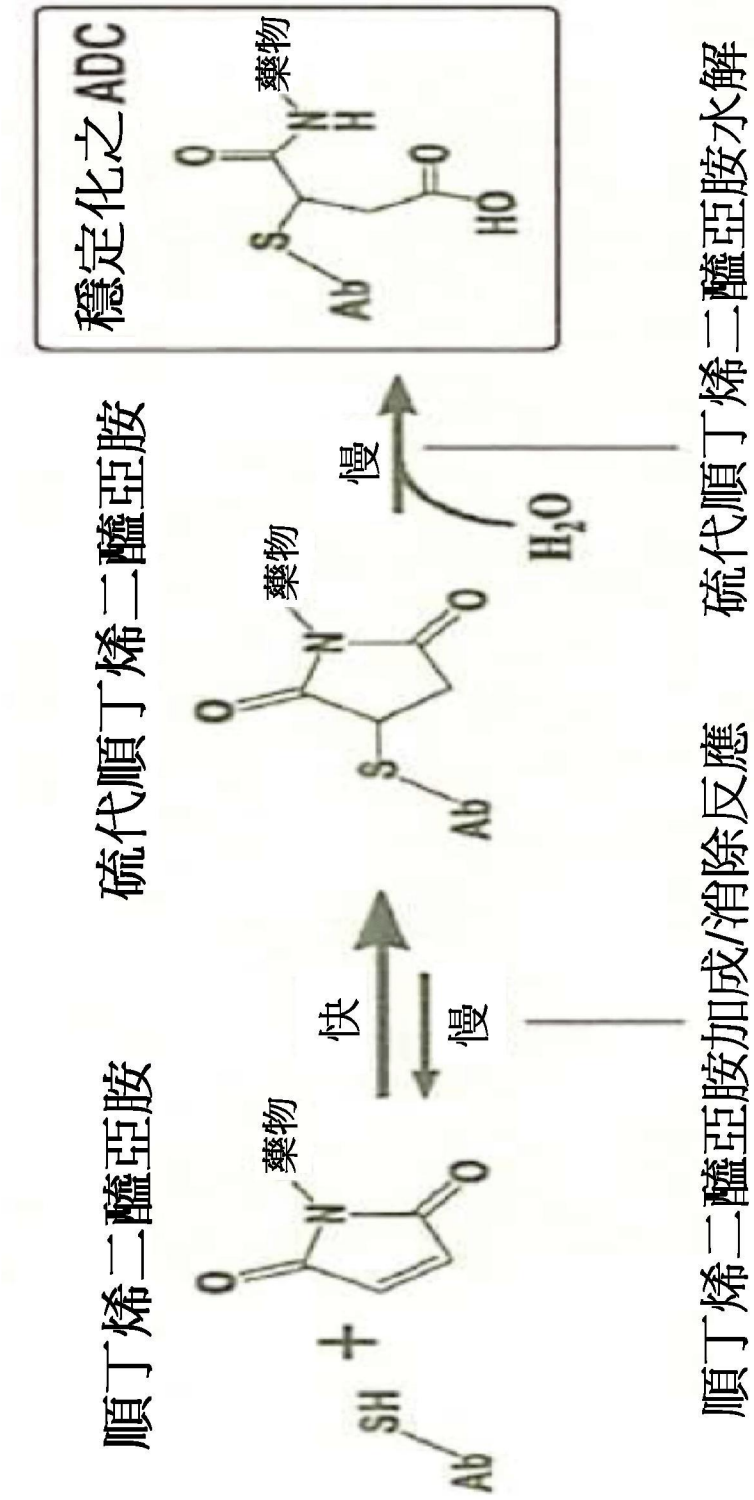
【圖 5C】



【圖 6】

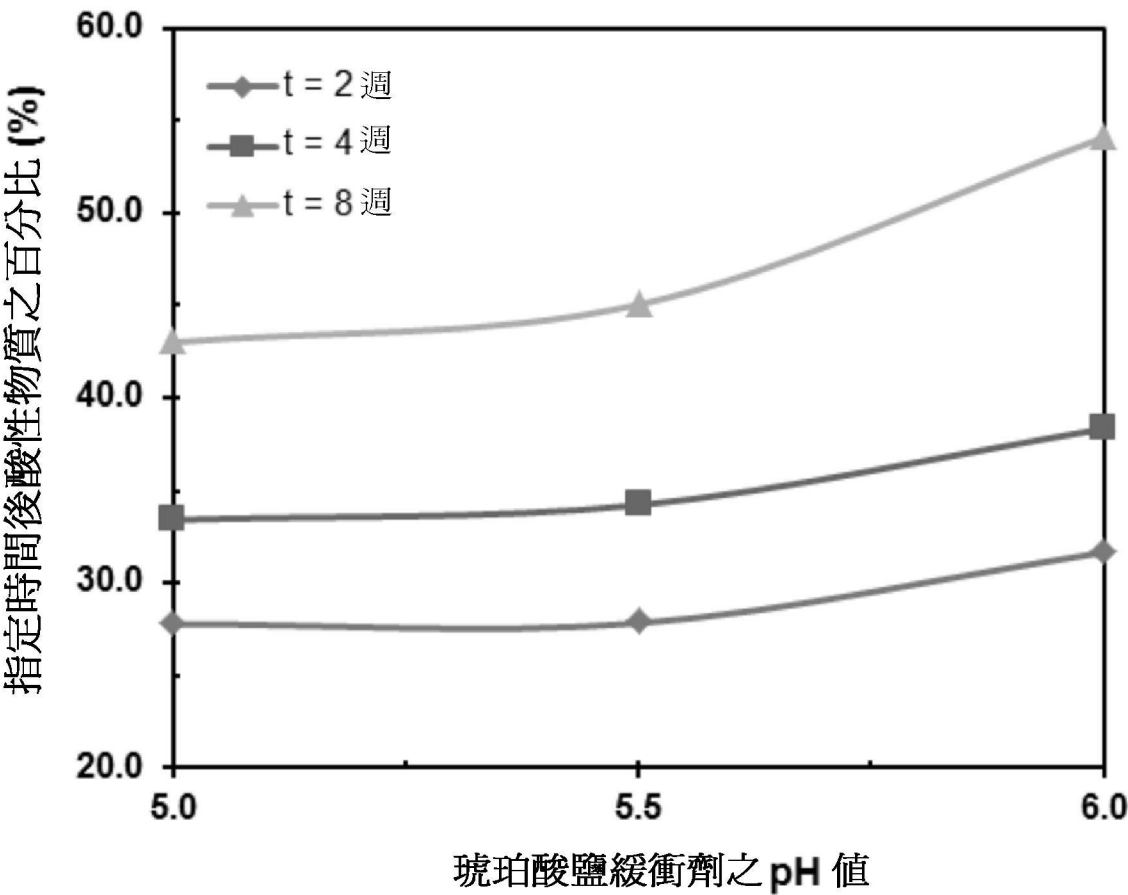


【圖 7】



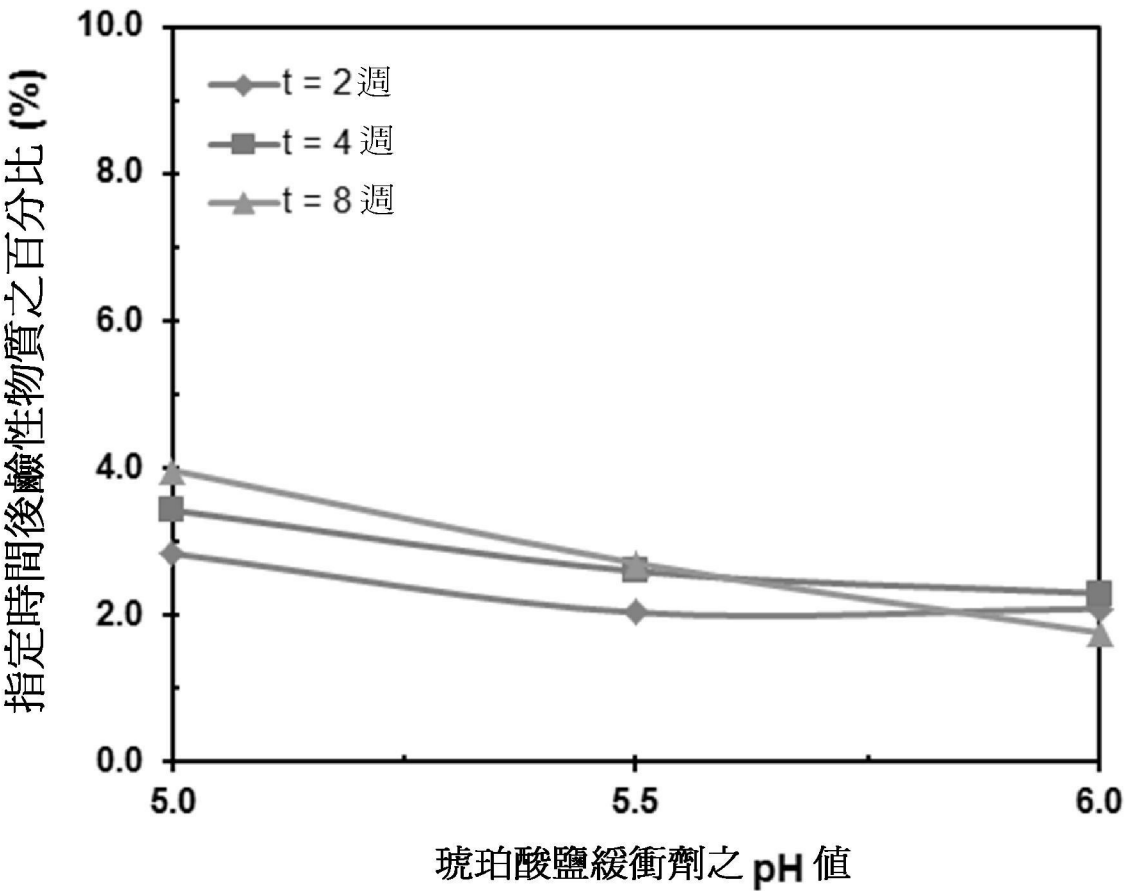
【圖 8】

在 30 °C 下酸性變異體形成之 pH 依賴性

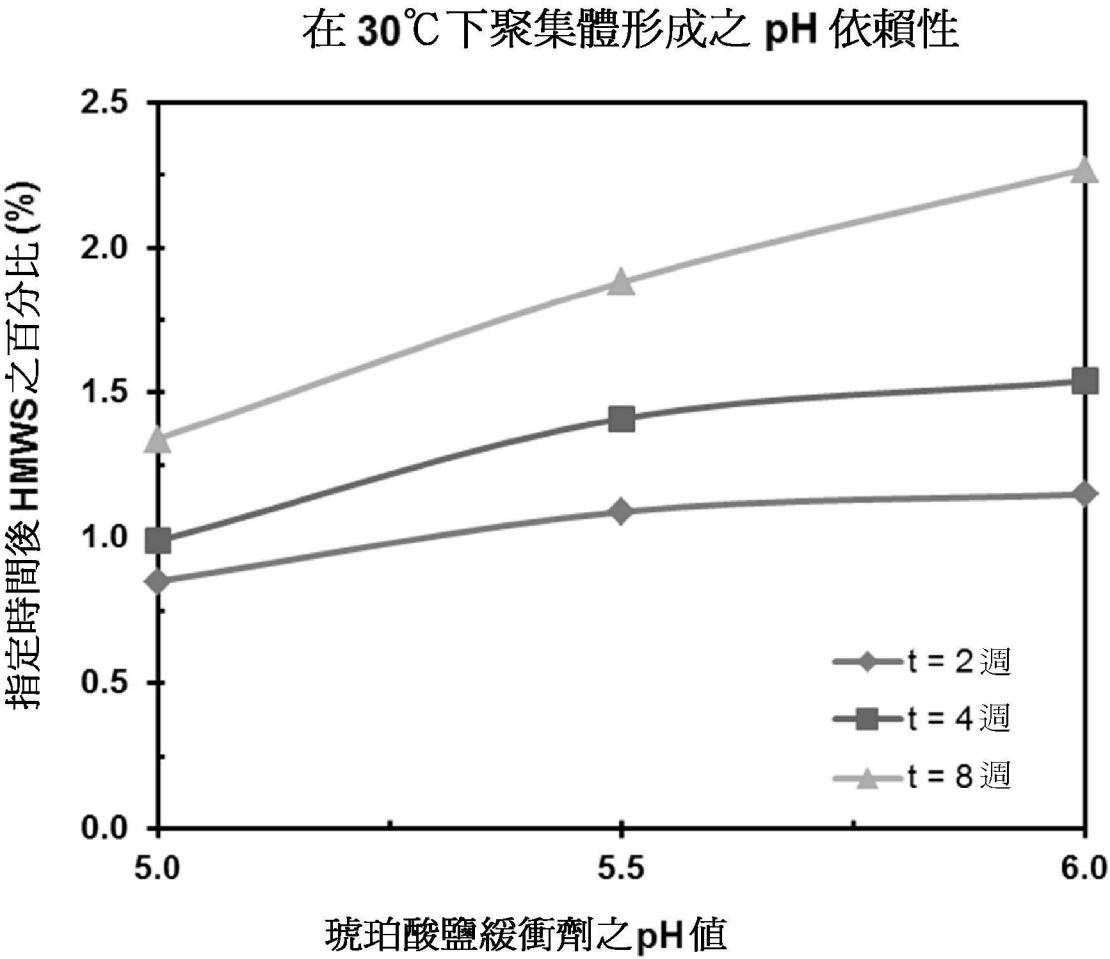


【圖 9】

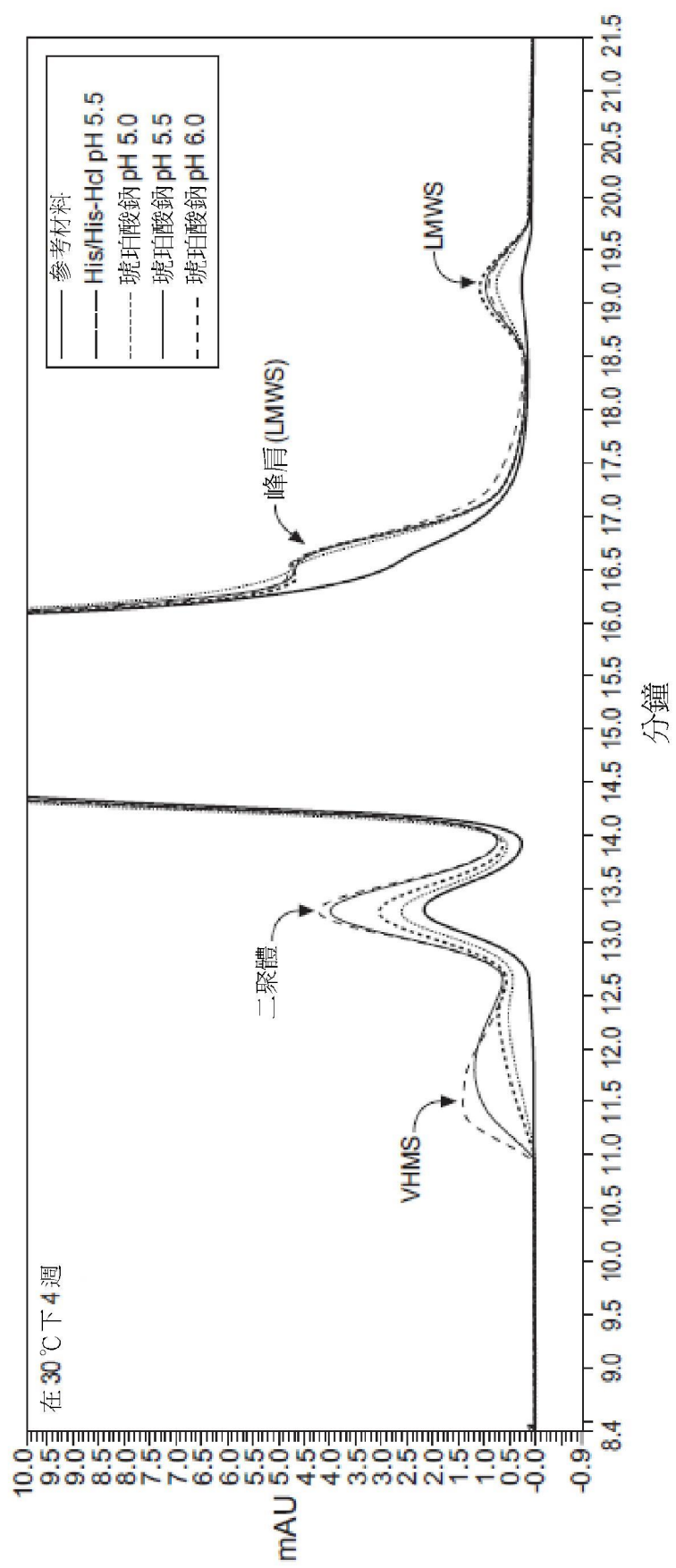
在 30℃ 下鹼性變異體形成之 pH 依賴性



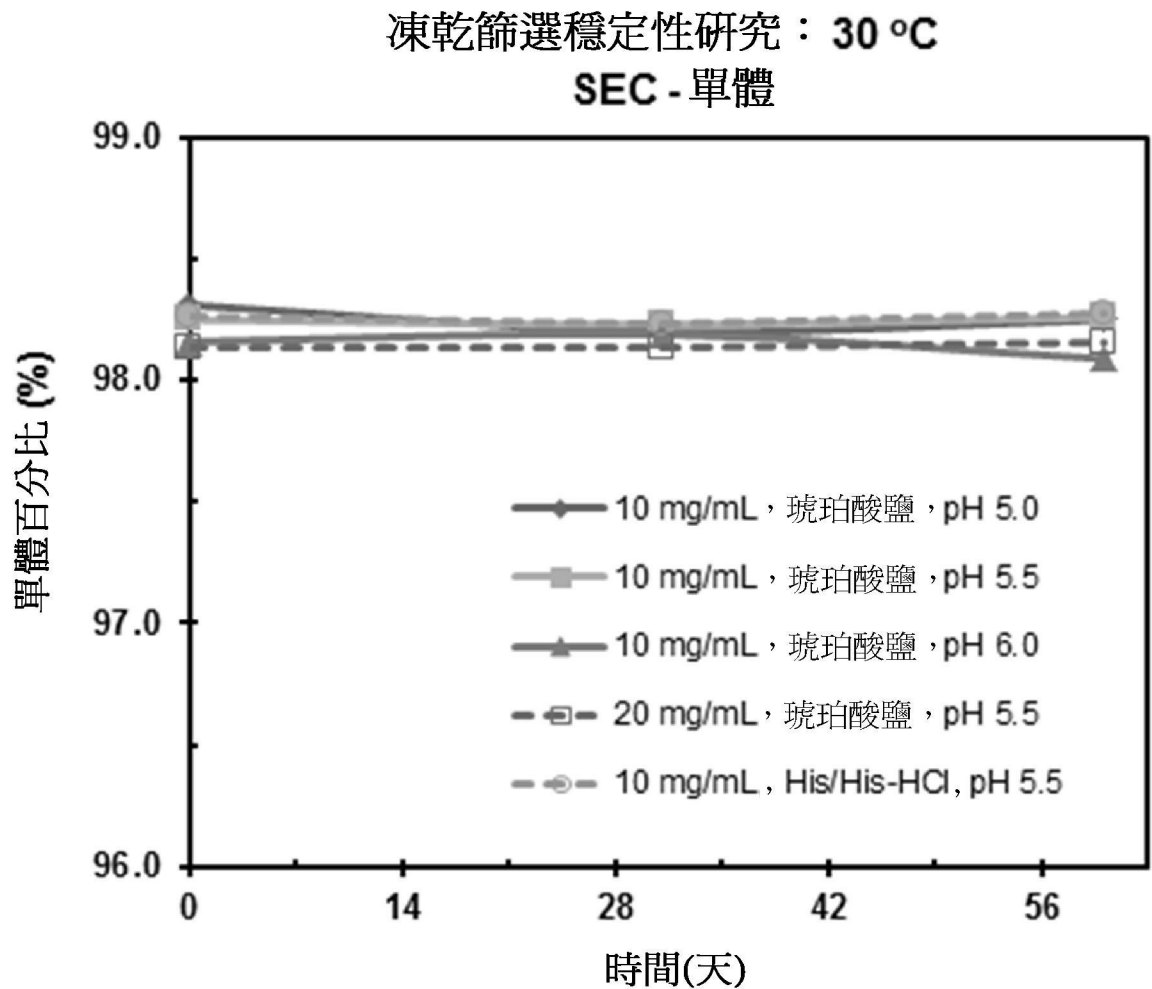
【圖 10】



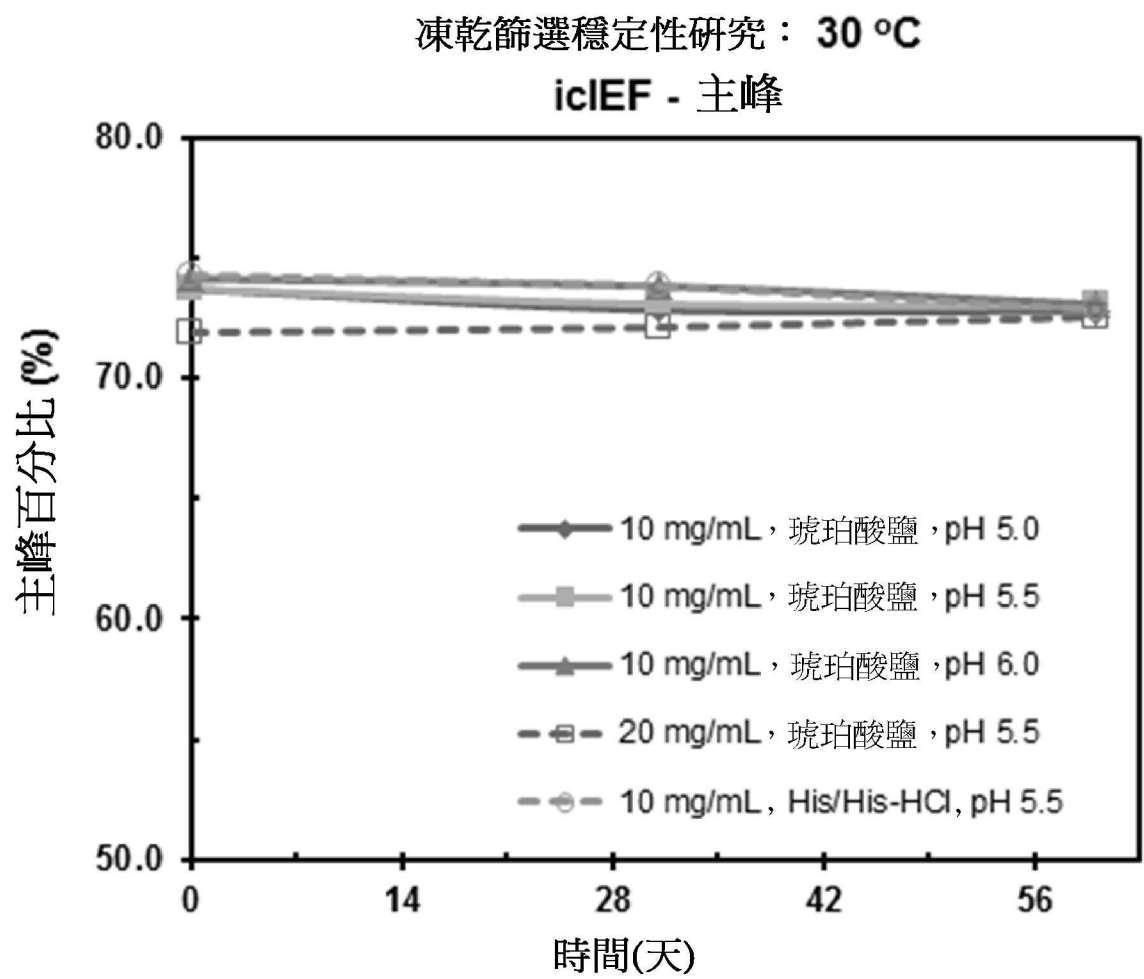
【圖 11】



【圖 12】



【圖 13】



【圖 14】



10 mg/mL
120mM 蔗糖
水分約1.5%

【圖 15C】



10 mg/mL
180 mM 蔗糖
水分約1.9%

【圖 15B】

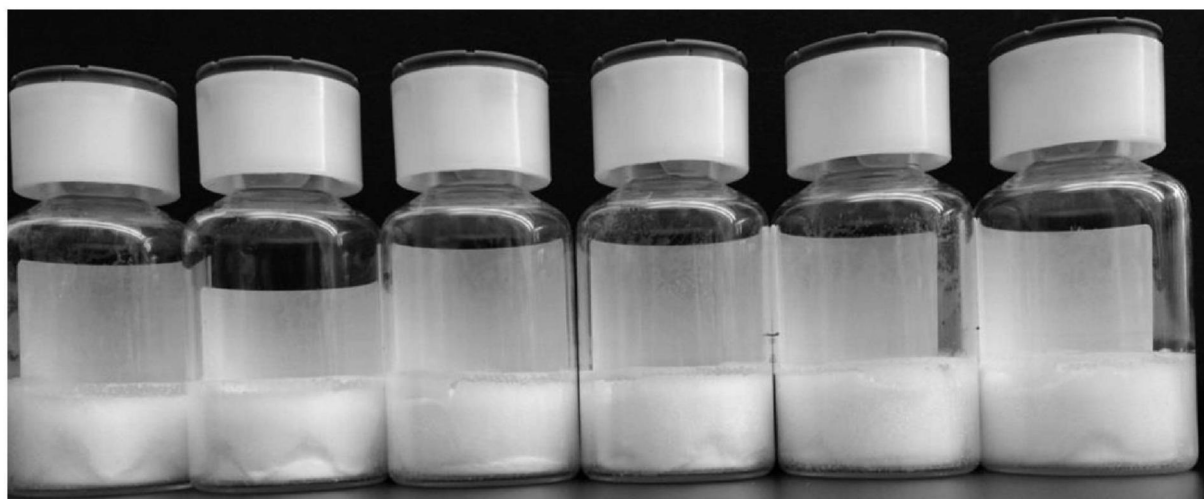


10 mg/mL
260mM 蔗糖
水分約2.4%

【圖 15A】

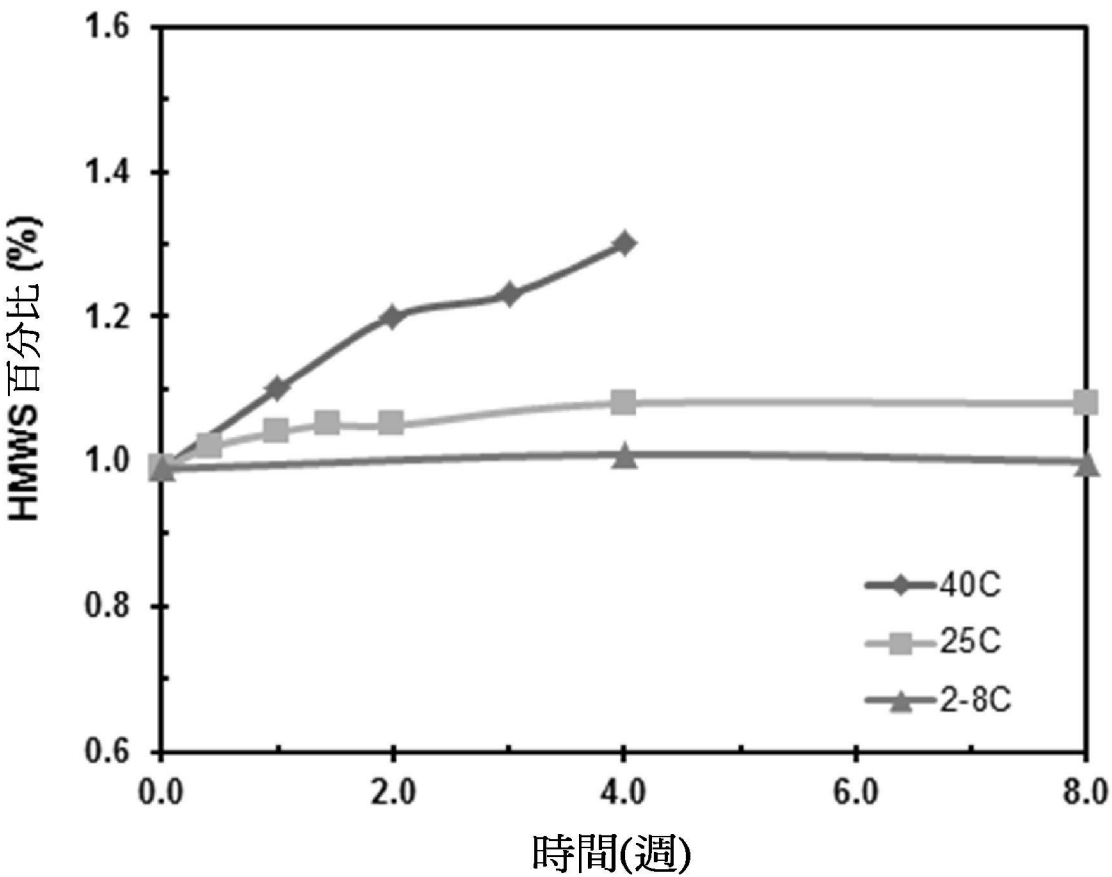


【圖 16A】

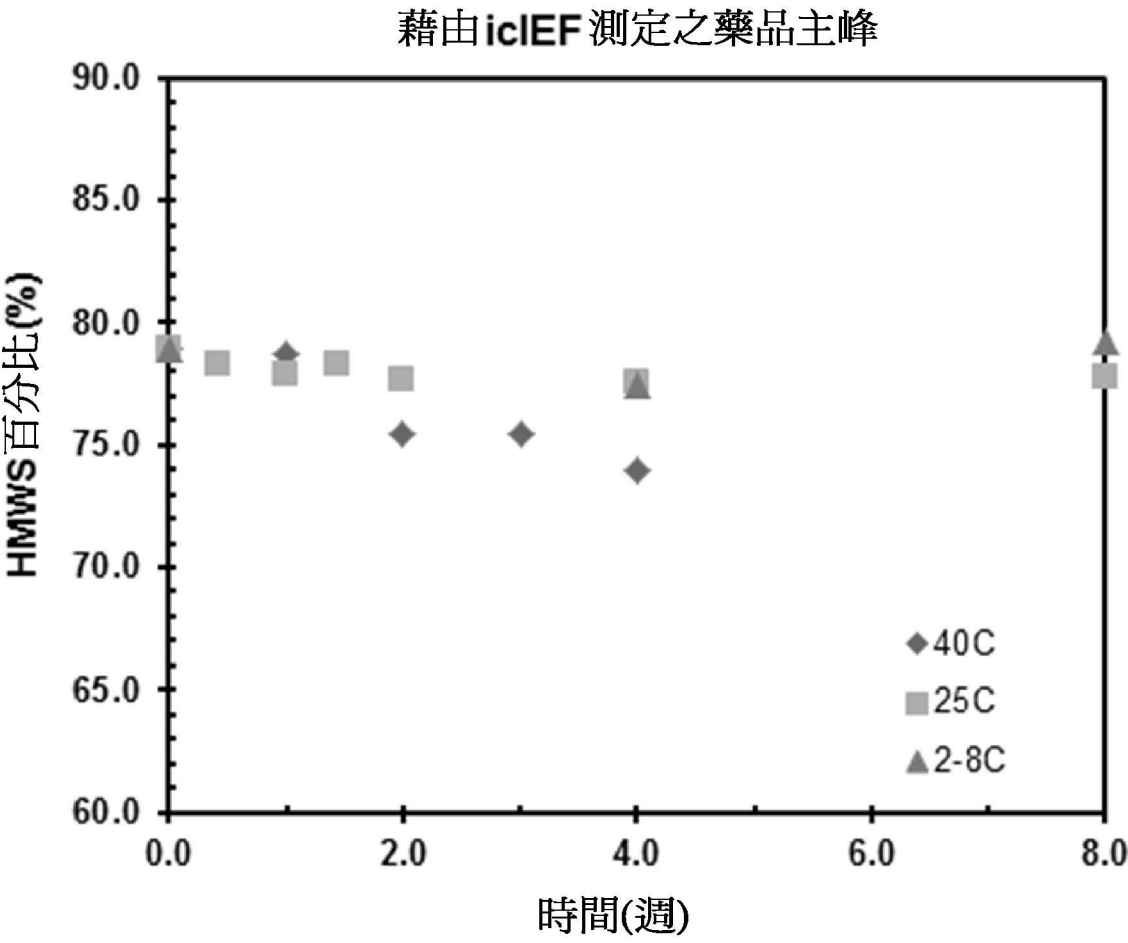


【圖 16B】

藥品聚集體形成



【圖 17】



【圖 18】