

(21)申請案號：108126115

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 07 月 24 日

(51)Int. Cl. :

C07K16/32 (2006.01)

A61K9/08 (2006.01)

A61K47/18 (2006.01)

A61K47/22 (2006.01)

A61K47/26 (2006.01)

A61K47/68 (2017.01)

A61P35/00 (2006.01)

A61K31/4745 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2018/07/25 日本

2018-139633

(71)申請人：日商第一三共股份有限公司(日本)DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED

(JP)

日本

(72)發明人：山口達也 YAMAGUCHI, TATSUYA (JP)；櫻谷憲司 SAKURATANI, KENJI (JP)

(74)代理人：王彥評；賴碧宏

(56) 參考文獻：

EP 3315512A1

期刊 Xenopoulos A, et al. "Selectivity improvements in highly charged UF membranes" Desalination 199: Elsevier 2006; 538

審查人員：楊婷雅

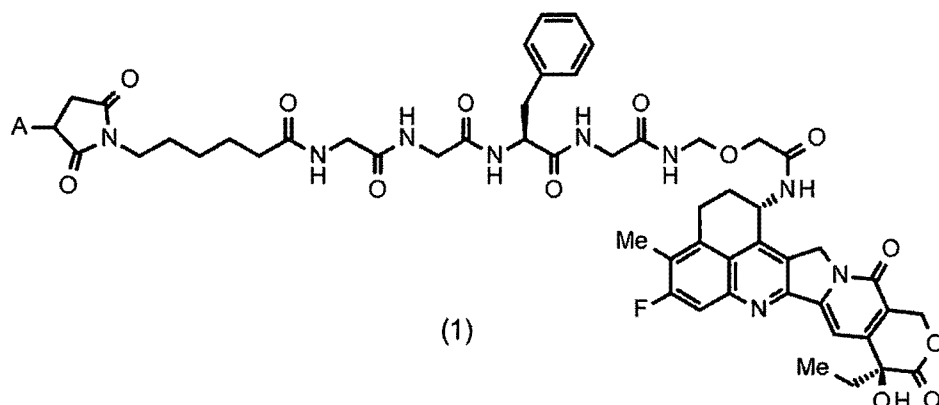
申請專利範圍項數：32 項 圖式數：10 共 146 頁

(54)名稱

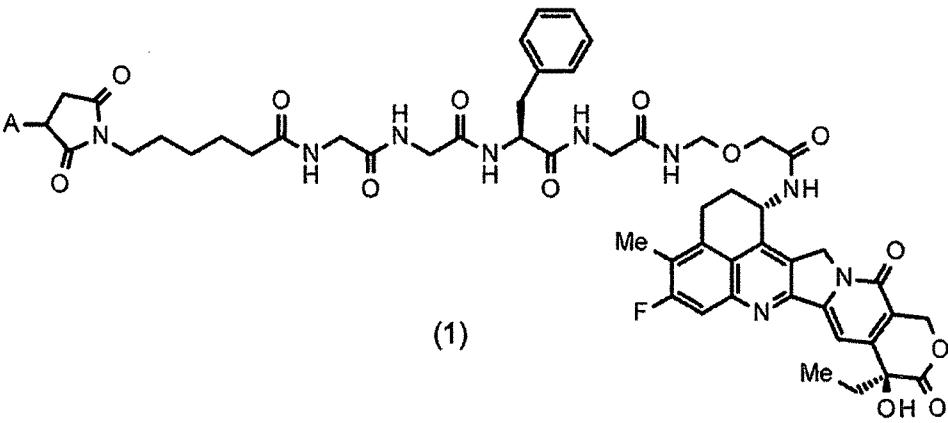
抗體-藥物結合物之有效的製造方法

(57)摘要

一種製造方法，其係由式(1)所示之藥物連接子(linker)(式中，A表示與抗體的結合位置)與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugate)的製造方法，其特徵在於，包含(i)以還原劑還原抗體的步驟、(ii)使藥物連接子中間體與由(i)步驟所還原的抗體進行反應的步驟、(iii)添加具有硫醇基的試劑而使與(ii)的步驟所殘留之藥物連接子中間體進行反應的步驟、接著(iv)藉由使用含有由強酸與強鹼而成的鹽的緩衝液的超過濾而去除源自藥物連接子中間體的副產物的步驟。以及，一種含有該抗體-藥物結合物之醫藥組成物的製造方法。



特徵化學式：



I847992

【發明摘要】

【中文發明名稱】

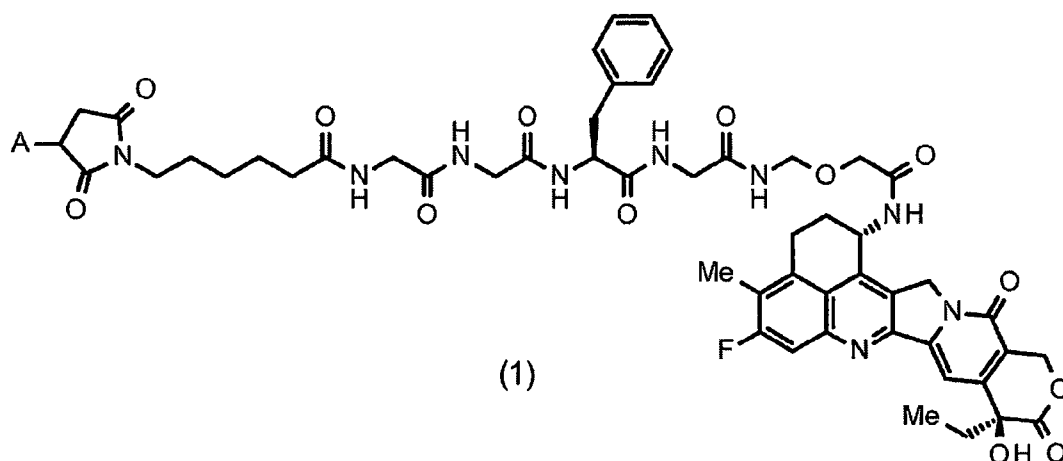
抗體-藥物結合物之有效的製造方法

【英文發明名稱】

EFFECTIVE MANUFACTURING METHOD OF
ANTIBODY-DRUG CONJUGATE

【中文】

一種製造方法，其係由式(1)所示之藥物連接子(linker)(式中，A表示與抗體的結合位置)與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體-藥物結合物(antibody-drug conjugate)的製造方法，其特徵在於，包含(i)以還原劑還原抗體的步驟、(ii)使藥物連接子中間體與由(i)步驟所還原的抗體進行反應的步驟、(iii)添加具有硫醇基的試劑而使與(ii)的步驟所殘留之藥物連接子中間體進行反應的步驟、接著(iv)藉由使用含有由強酸與強鹼而成的鹽的緩衝液的超過濾而去除源自藥物連接子中間體的副產物的步驟。以及，一種含有該抗體-藥物結合物之醫藥組成物的製造方法。



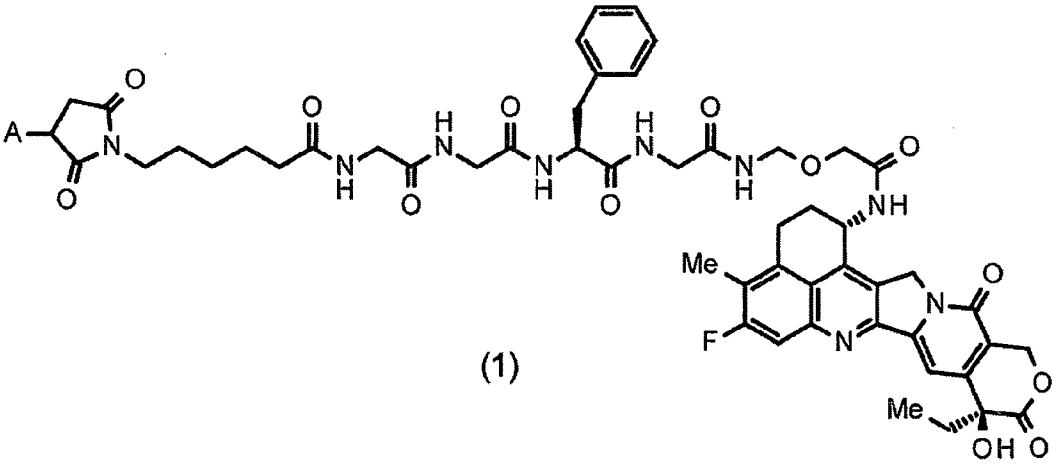
【指定代表圖】

無。

【代表圖之符號簡單說明】

無。

【特徵化學式】



(1)

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗體-藥物結合物之有效的製造方法

【英文發明名稱】

EFFECTIVE MANUFACTURING METHOD OF
ANTIBODY-DRUG CONJUGATE

【技術領域】

【0001】本發明係關於包含用於減少凝聚物的生成且同時有效地去除副產物的純化步驟之抗體-藥物結合物的製造方法、及包含該抗體-藥物結合物之醫藥組成物的製造方法。

【先前技術】

【0002】與癌細胞表面所表現的抗原結合，且使可內化進入細胞的抗體與具有細胞毒性的藥物結合之抗體-藥物結合物 (Antibody-Drug Conjugate; ADC)，藉由選擇性地將藥物送達癌細胞，而可期待使藥物累積在癌細胞內，使癌細胞消滅(非專利文獻 1～5)。

【0003】專利文獻 1～9 的實施例中記載有抗體-藥物結合物的製造方法。在此等製造方法中，包含利用疏水性層析法或凝膠過濾層析法等層析法的純化步驟。

【0004】作為抗體-藥物結合物的一例，已知有將抗體與為拓撲異構酶 I 抑制劑之依喜替康(Exatecan)的衍生物作為構成要素的抗體-藥物結合物(專利文獻 10～14、非專利文獻 6～9)。此等抗體-藥物結合物因具有優異的抗腫瘤效果與安全性，故現在正在進行臨床試驗。

【0005】專利文獻 10～14 中，作為用於製造上述抗體-藥

物結合物的方法，記載有將抗體與藥物連接子(linker)中間體進行結合的方法、及將所得的抗體-藥物結合物進行純化的方法。

【0006】專利文獻 11～13 的實施例中，記載有藉由使用含有山梨醇的乙酸緩衝液之超過濾，而將上述抗體-藥物結合物進行純化的見解。又，專利文獻 14 中，記載有藉由可使用乙酸緩衝液、組胺酸緩衝液、或磷酸緩衝液的超過濾，而將上述抗體-藥物結合物進行純化的見解。然而，正期望開發工業性更優異的抗體-藥物結合物的製造方法。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0007】

[專利文獻 1]國際公開第 2002/098883 號

[專利文獻 2]國際公開第 2005/037992 號

[專利文獻 3]國際公開第 2005/084390 號

[專利文獻 4]國際公開第 2006/086733 號

[專利文獻 5]國際公開第 2007/024536 號

[專利文獻 6]國際公開第 2010/141566 號

[專利文獻 7]國際公開第 2011/039724 號

[專利文獻 8]國際公開第 2012/135517 號

[專利文獻 9]國際公開第 2015/104359 號

[專利文獻 10]國際公開第 2014/057687 號

[專利文獻 11]國際公開第 2015/098099 號

[專利文獻 12]國際公開第 2015/115091 號

[專利文獻 13]國際公開第 2015/155998 號

[專利文獻 14]國際公開第 2017/002776 號

【0008】

[非專利文獻]

[非專利文獻 1]Ducry, L., et al., Bioconjugate Chem. (2010) 21, 5-13.

[非專利文獻 2]Alley, S. C., et al., Current Opinion in Chemical Biology (2010) 14, 529-537.

[非專利文獻 3]Damle N. K. Expert Opin. Biol. Ther. (2004) 4, 1445-452.

[非專利文獻 4]Senter P. D., et al., Nature Biotechnology (2012) 30, 631-637.

[非專利文獻 5]Howard A. et al., J Clin Oncol 29: 398-405.

[非專利文獻 6]Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research (2016) 22(20), 5097-5108.

[非專利文獻 7]Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046.

[非專利文獻 8]Doi T, et al., Lancet Oncol 2017; 18: 1512-22.

[非專利文獻 9]Takegawa N, et al., Int. J. Cancer: 141, 1682-1689 (2017).

【發明內容】

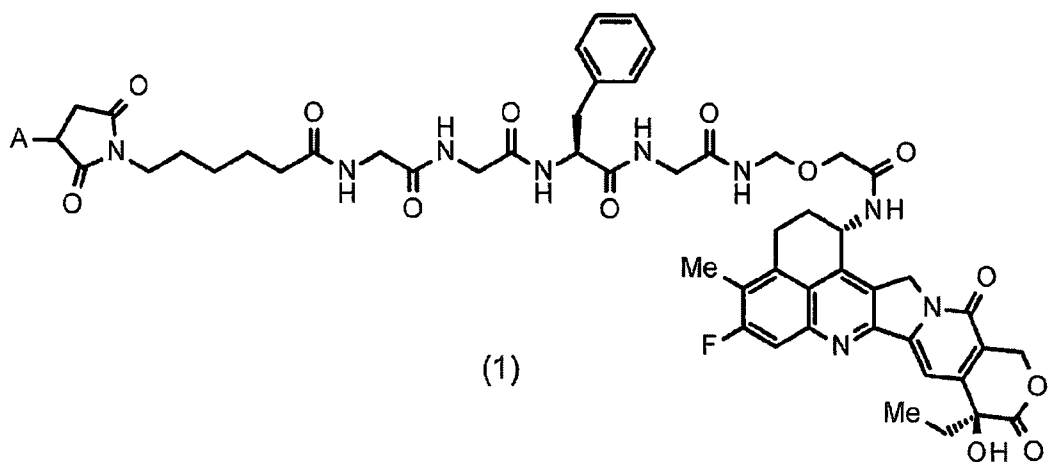
[發明概要]

[發明欲解決之課題]

【0009】

本發明的製造方法之抗體-藥物結合物係由式(1)所示之藥

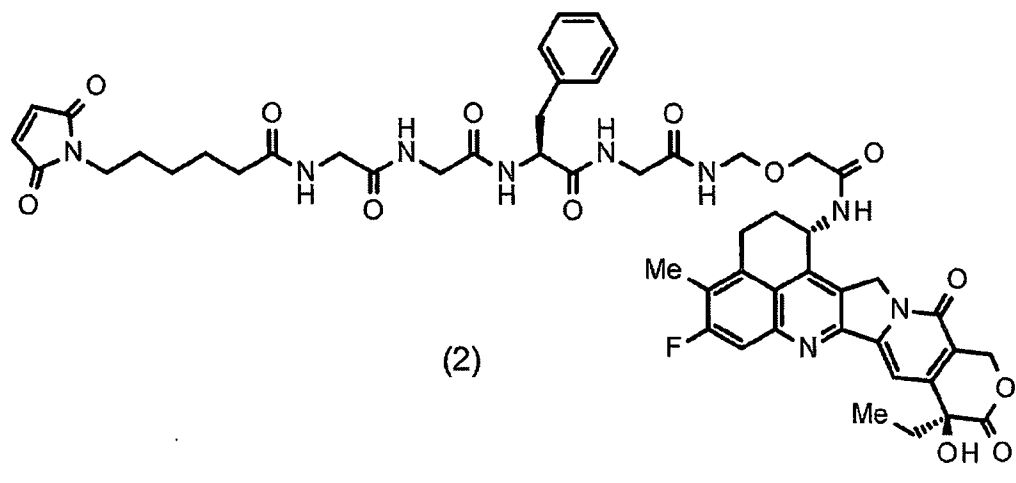
物連接子，與抗體藉由硫醚鍵而結合的抗體-藥物結合物，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

作為此抗體-藥物結合物的製造方法，可列舉包含以下步驟的製造方法：

- (i)以還原劑還原抗體的步驟；
- (ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟



接著，(iii)添加具有硫醇基的試劑，使其與(ii)的步驟所殘留之由式(2)所表示之化合物進行反應的步驟。

【0010】但是，為了製造該抗體-藥物結合物，尤其每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍之抗體-藥物結

合物，需要大量的由式(2)所表示之化合物，伴隨於此，能大量產生源自由式(2)所表示之化合物的副產物。又，製造抗體-藥物結合物時，被要求抑制凝聚物的生成，需要一併考慮抗體部分及藥物連接子部分各自特有的物性而探討反應、純化條件。

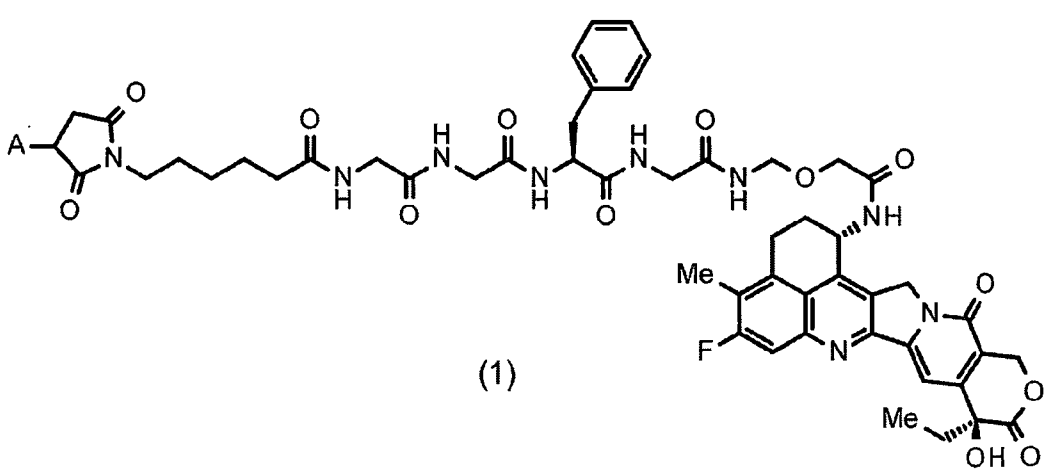
【0011】本發明的一個課題係提供包含用於有效地去除源自由式(2)所表示之化合物的副產物之純化步驟，且抑制凝聚物的生成之工業性優異的抗體-藥物結合物的製造方法。再者，另一課題為建立包含該抗體-藥物結合物的醫藥組成物之工業性優異的製造方法。

[用以解決課題之手段]

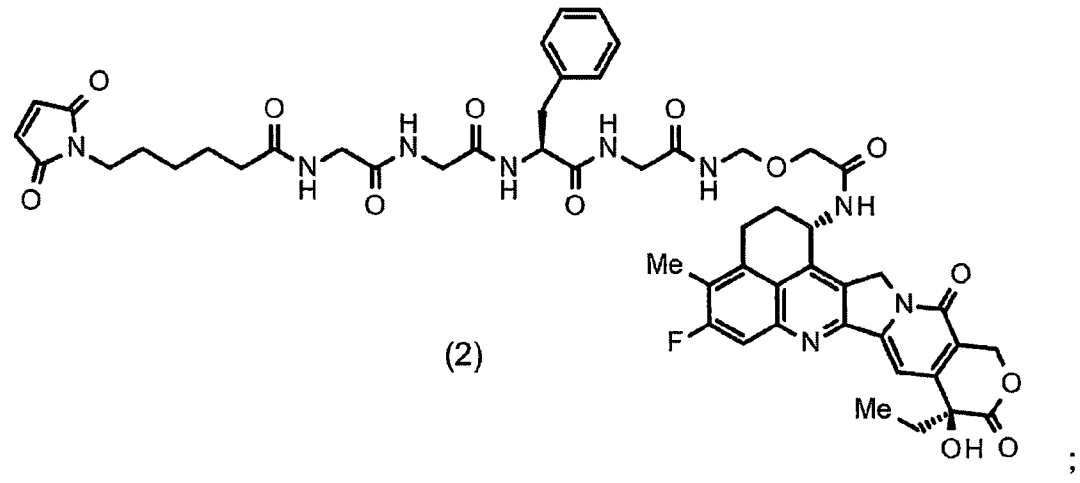
【0012】本發明人等為了解決上述課題而進行專心致志地探討，結果發現，藉由在抗體-藥物結合物的純化步驟中進行使用緩衝液的超過濾，且該緩衝液含有由強酸與強鹼而成的鹽，而可有效地去除源自由式(2)所表示之化合物的副產物。再者，發現在抗體-藥物結合物的製造步驟及純化步驟中可抑制凝聚物的生成之反應、純化條件。藉此，提供包含該抗體-藥物結合物的醫藥組成物之工業性優異的製造方法。

【0013】亦即，本發明提供以下[1]～[410]。

[1]一種製造方法，其係由式(1)所示之藥物連接子，與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體-藥物結合物的製造方法，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)，
其特徵在於，包含以下步驟：
(i)以還原劑還原抗體的步驟；
(ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體
進行反應的步驟



(iii)添加具有硫醇基的試劑，使其與(ii)的步驟所殘留之由
式(2)所表示之化合物進行反應的步驟；接著
(iv)藉由使用含有由強酸與強鹼而成的鹽的緩衝液的超過
濾，去除在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基
(maleimidy1)上加成有(i)的步驟所使用之還原劑的化合物、及

在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑的化合物的步驟。

[2]如[1]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦或其鹽。

[3]如[1]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽。

[4]如[1]至[3]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[5]如[4]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6～8 的緩衝液。

[6]如[4]或[5]所記載的製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

[7]如[1]至[6]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[8]如[7]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

[9]如[4]至[8]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[10]如[9]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[11]如[9]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[12]如[1]至[11]中任一項所記載的製造方法，其中，(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑為 N-乙醯半胱胺酸。

[13]如[1]至[12]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[14]如[1]至[12]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[15]如[1]至[12]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[16]如[1]至[12]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[17]如[1]至[12]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[18]如[1]至[17]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[19]如[1]至[18]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.2～1 重量%。

[20]如[1]至[18]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為約 0.5 重量%。

[21]如[1]至[18]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.4～0.6 重量%。

[22]如[1]至[18]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.5 重量%。

[23]如[1]至[22]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽為氯化鈉。

[24]如[1]至[23]中任一項所記載的製造方法，其在(iv)的步

驟後，包含(v)藉由使用緩衝液的超過濾，去除由強酸與強鹼而成的鹽的步驟。

[25]如[24]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4~6 的範圍。

[26]如[24]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[27]如[24]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7~5.3 的範圍。

[28]如[24]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8~5.2 的範圍。

[29]如[24]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9~5.1 的範圍。

[30]如[24]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[31]如[24]至[30]中任一項所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[32]如[1]至[31]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[33]如[1]至[31]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[34]如[1]至[33]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[35]如[34]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含

由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[36]如[34]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[37]如[1]至[33]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[38]如[37]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[39]如[38]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[40]如[1]至[33]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[41]如[40]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[42]如[41]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[43]如[1]至[33]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 CDH6 抗體。

[44]如[43]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而

成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[45]如[44]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[46]如[1]至[45]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[47]如[46]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[48]一種醫藥組合物的製造方法，其係藉由如[1]至[47]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[49]如[48]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[50]如[48]或[49]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[51]如[48]或[49]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

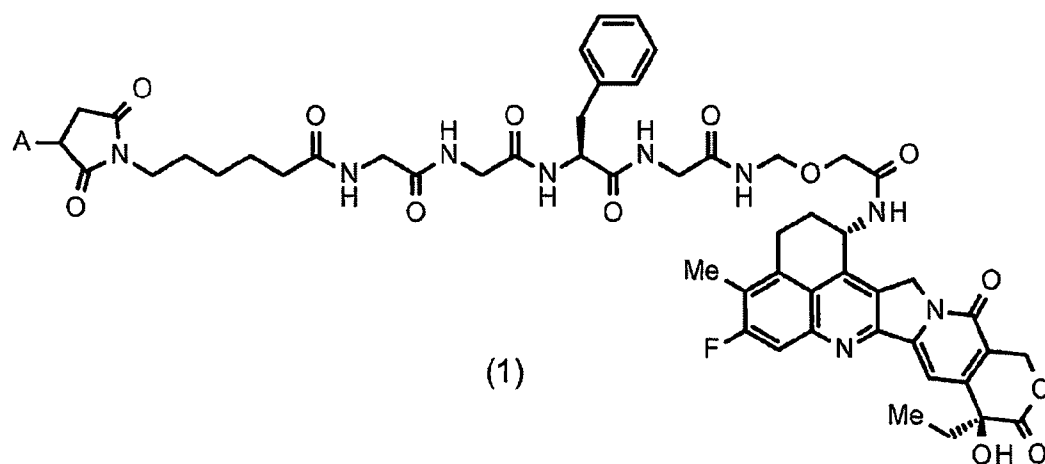
[52]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[48]至[51]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[53]如[52]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[54]如[52]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[55]一種製造方法，其係由式(1)所示之藥物連接子，與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體-藥物結合物的製造方法，

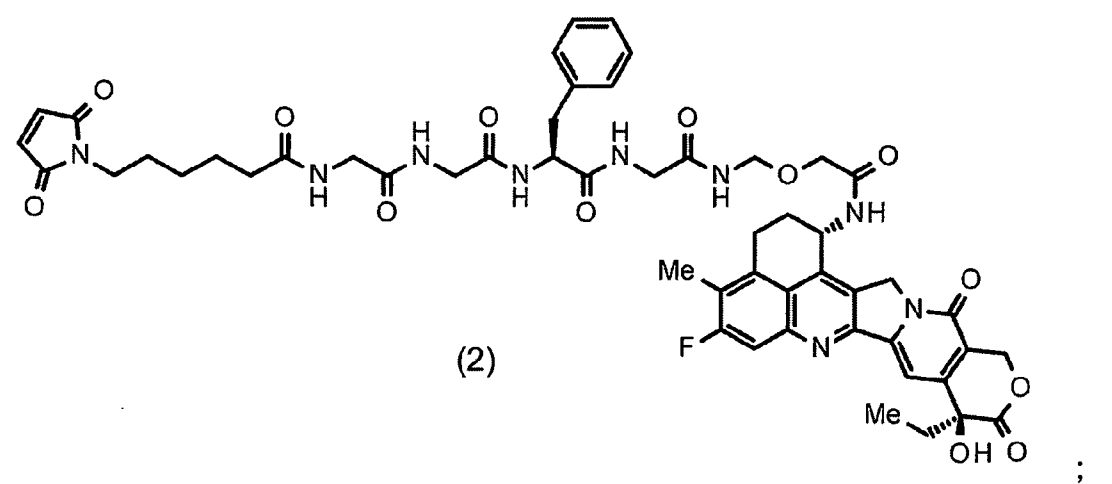


(式中，A 表示與抗體的結合位置)，

其特徵在於，包含以下步驟：

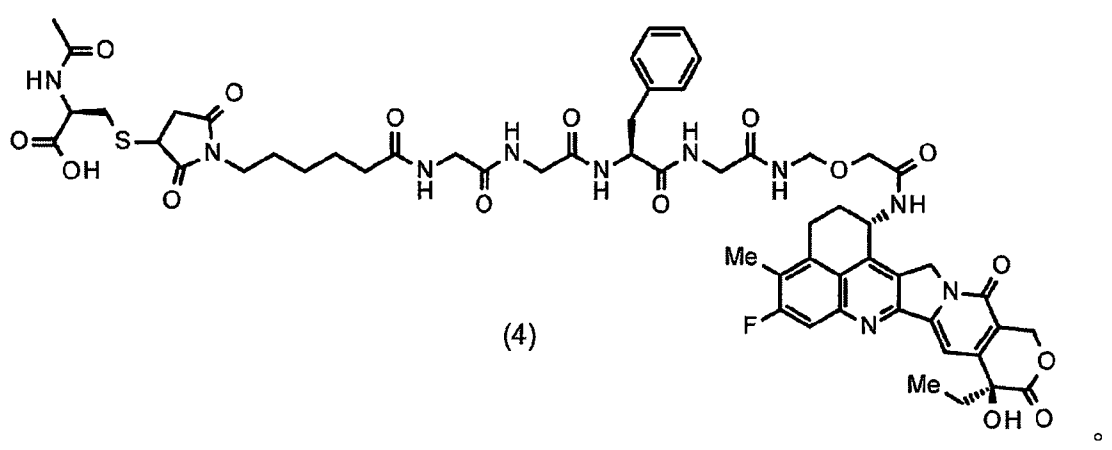
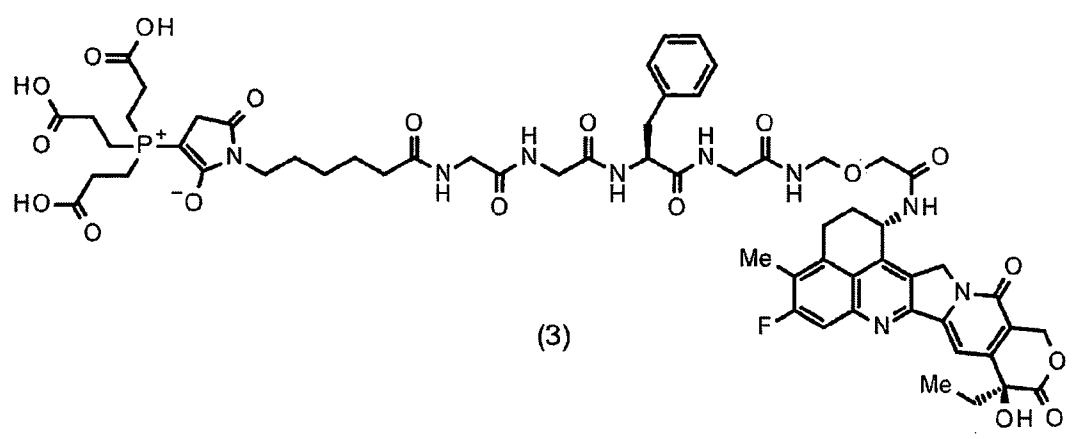
(i)以參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽還原抗體的步驟；

(ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，



(iii)添加 N-乙醯半胱胺酸，使其與(ii)的步驟所殘留之由式(2)所表示之化合物進行反應的步驟；接著

(iv)藉由使用含有氯化鈉的組胺酸緩衝液的超過濾，去除由式(3)所表示之化合物、及由式(4)所表示之化合物的步驟，



[56]如[55]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[57]如[56]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6～8 的緩衝液。

[58]如[56]或[57]所記載的製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

[59]如[55]至[58]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[60]如[59]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

[61]如[56]至[60]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[62]如[61]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[63]如[61]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[64]如[55]至[63]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[65]如[55]至[63]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[66]如[55]至[63]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[67]如[55]至[63]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[68]如[55]至[63]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)

的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[69]如[55]至[68]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.2~1 重量%。

[70]如[55]至[68]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為約 0.5 重量%。

[71]如[55]至[68]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.4~0.6 重量%。

[72]如[55]至[68]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.5 重量%。

[73]如[55]至[72]中任一項所記載的製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用組胺酸緩衝液的超過濾，去除氯化鈉的步驟。

[74]如[73]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4~6 的範圍。

[75]如[73]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[76]如[73]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7~5.3 的範圍。

[77]如[73]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8~5.2 的範圍。

[78]如[73]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩

衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[79]如[73]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[80]如[55]至[79]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[81]如[55]至[79]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[82]如[55]至[81]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[83]如[82]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[84]如[82]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[85]如[55]至[81]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[86]如[85]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[87]如[86]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[88]如[55]至[81]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[89]如[88]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[90]如[89]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[91]如[55]至[81]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 CDH6 抗體。

[92]如[91]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[93]如[92]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[94]如[55]至[93]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[95]如[94]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[96]一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如[55]至[95]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝

液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[97]如[96]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[98]如[96]或[97]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[99]如[96]或[97]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

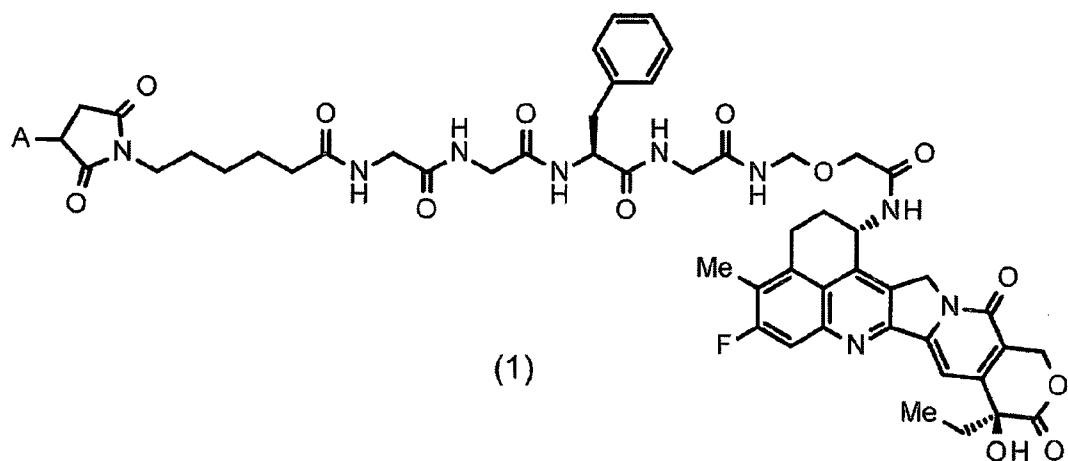
[100]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[96]至[99]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[101]如[100]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[102]如[100]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[103]一種製造方法，其係由式(1)所示之藥物連接子，與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體-藥物結合物的製造方法，

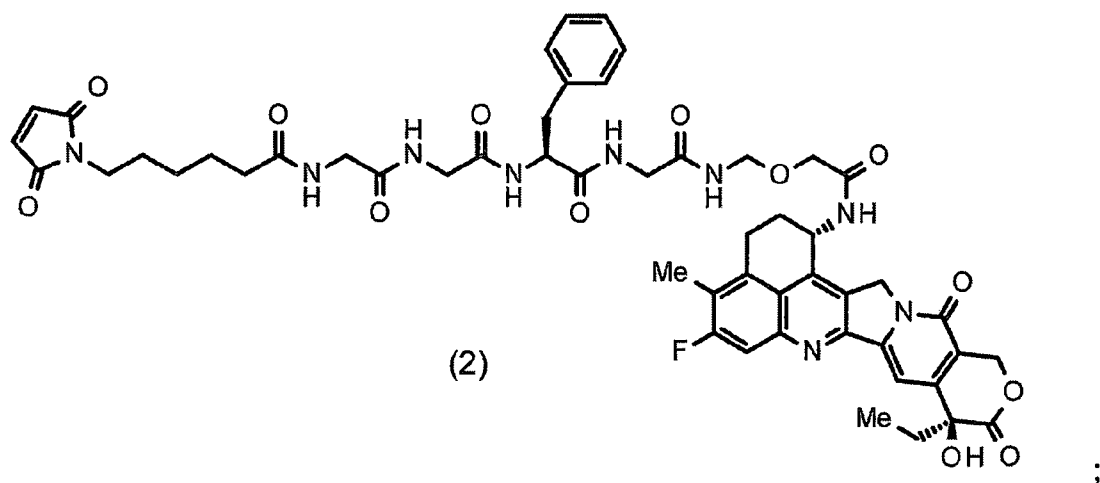


(式中，A 表示與抗體的結合位置)，

其特徵在於，將藉由(i)~(iii)步驟所得之包含該抗體-藥物結合物的未純化物或粗純化物之溶液，藉由(iv)步驟而進行純化：

(i)以還原劑還原抗體的步驟；

(ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，



(iii)添加具有硫醇基的試劑的步驟；

(iv)藉由使用含有由強酸與強鹼而成的鹽的緩衝液的超過濾，去除在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(i)的步驟所使用之還原劑的化合物、及在由式(2)所表示之化合物

的馬來醯亞胺基上加成有(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑的化合物的步驟。

[104]如[103]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦或其鹽。

[105]如[103]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽。

[106]如[103]至[105]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[107]如[106]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的緩衝液。

[108]如[106]或[107]所記載的製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

[109]如[103]至[108]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[110]如[109]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

[111]如[106]至[110]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[112]如[111]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[113]如[111]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[114]如[103]至[113]中任一項所記載的製造方法，其中，(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑為 N-乙醯半胱胺酸。

[115]如[103]至[114]中任一項所記載的製造方法，其中，

(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[116]如[103]至[114]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[117]如[103]至[114]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[118]如[103]至[114]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[119]如[103]至[114]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[120]如[103]至[119]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[121]如[103]至[120]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.2～1 重量%。

[122]如[103]至[120]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為約 0.5 重量%。

[123]如[103]至[120]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.4～0.6 重量%。

[124]如[103]至[120]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.5 重量%。

[125]如[103]至[124]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽為氯化鈉。

[126]如[103]至[125]中任一項所記載的製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用緩衝液的超過濾，去除由強酸與強鹼而成的鹽的步驟。

[127]如[126]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4~6 的範圍。

[128]如[126]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[129]如[126]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7~5.3 的範圍。

[130]如[126]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8~5.2 的範圍。

[131]如[126]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9~5.1 的範圍。

[132]如[126]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[133]如[126]至[132]中任一項所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[134]如[103]至[133]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[135]如[103]至[133]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[136]如[103]至[135]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[137]如[136]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[138]如[136]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[139]如[103]至[135]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[140]如[139]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[141]如[140]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[142]如[103]至[135]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[143]如[142]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[144]如[143]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[145]如[103]至[135]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 CDH6 抗體。

[146]如[145]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為

包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[147]如[146]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[148]如[103]至[147]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[149]如[148]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[150]一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如[103]至[149]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[151]如[150]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[152]如[150]或[151]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[153]如[150]或[151]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

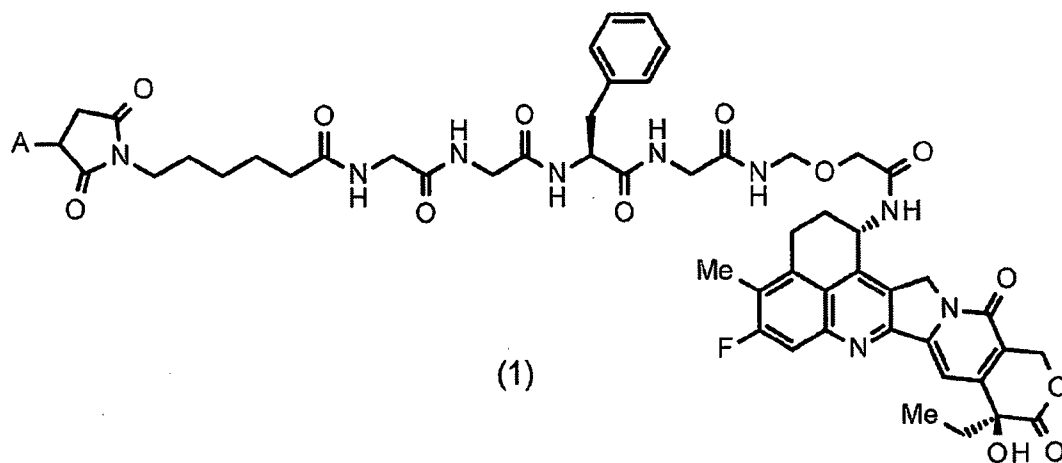
[154]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[150]至[153]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[155]如[154]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[156]如[154]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[157]一種製造方法，其係由式(1)所示之藥物連接子，與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體-藥物結合物的製造方法，

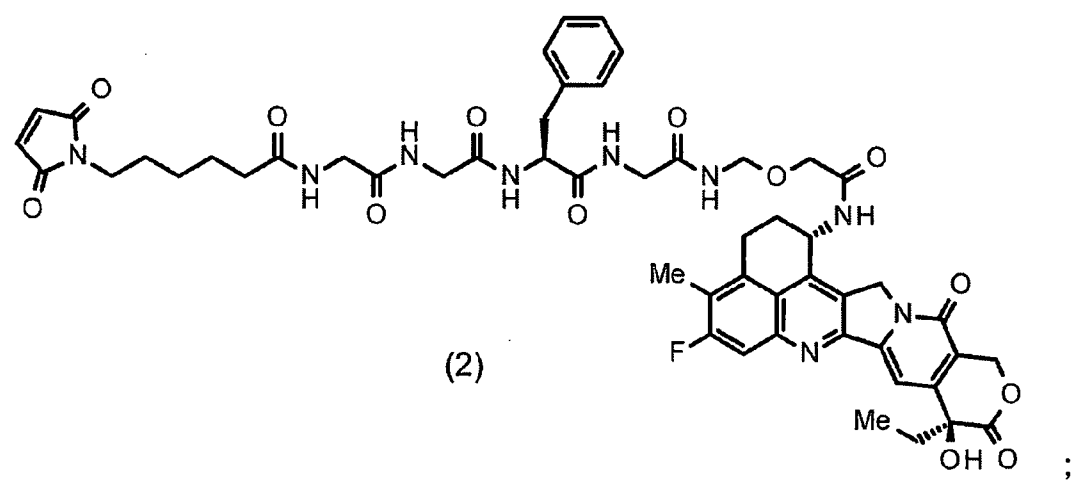


(式中，A 表示與抗體的結合位置)，

其特徵在於，將藉由(i)~(iii)步驟所得之包含該抗體-藥物結合物的未純化物或粗純化物之溶液，藉由(iv)步驟而進行純化：

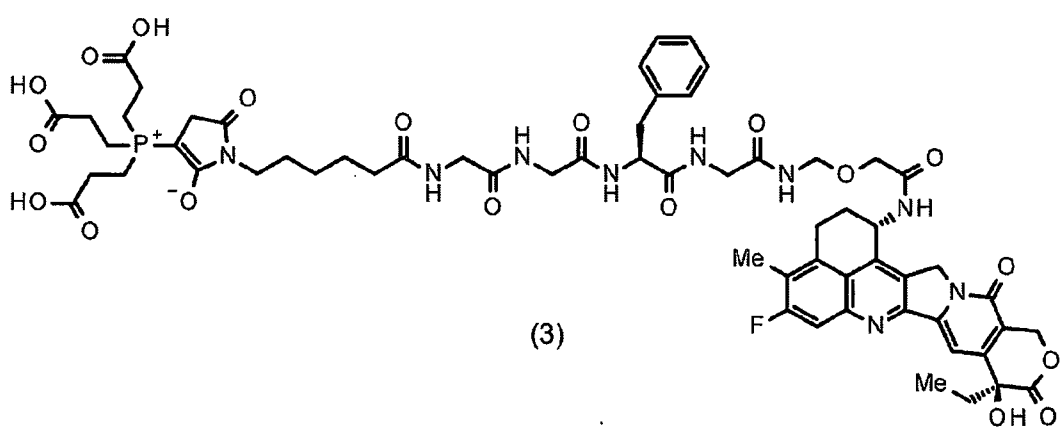
(i)以參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽還原抗體的步驟；

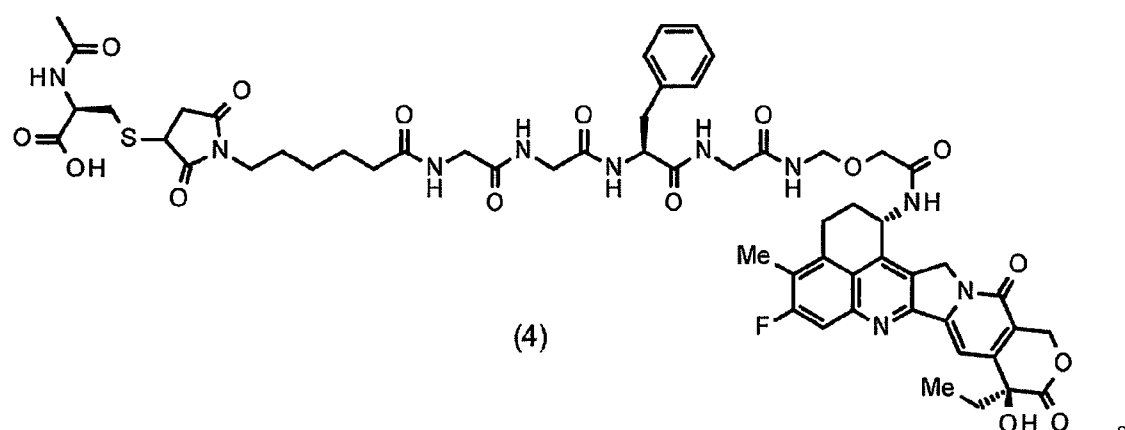
(ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟；



(iii)添加 N-乙醯半胱胺酸的步驟；

(iv)藉由使用含有氯化鈉的組胺酸緩衝液的超過濾，去除由式(3)所表示之化合物、及由式(4)所表示之化合物的步驟，





[158]如[157]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[159]如[158]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的緩衝液。

[160]如[158]或[159]所記載的製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

[161]如[157]至[160]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[162]如[161]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

[163]如[158]至[162]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[164]如[163]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[165]如[163]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[166]如[157]至[165]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[167]如[157]至[165]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[168]如[157]至[165]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[169]如[157]至[165]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[170]如[157]至[165]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[171]如[157]至[170]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.2～1 重量%。

[172]如[157]至[170]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為約 0.5 重量%。

[173]如[157]至[170]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.4～0.6 重量%。

[174]如[157]至[170]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.5 重量%。

[175]如[157]至[174]中任一項所記載的製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用組胺酸緩衝液的超過濾，去除氯化鈉的步驟。

[176]如[175]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4～6 的範圍。

[177]如[175]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[178]如[175]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[179]如[175]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[180]如[175]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[181]如[175]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[182]如[157]至[181]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[183]如[157]至[181]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[184]如[157]至[183]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[185]如[184]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[186]如[184]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[187]如[157]至[183]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[188]如[187]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[189]如[188]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[190]如[157]至[183]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[191]如[190]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[192]如[191]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[193]如[157]至[183]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 CDH6 抗體。

[194]如[193]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[195]如[194]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[196]如[157]至[195]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[197]如[196]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[198]一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如[157]至[197]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟之群組的至少一種步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[199]如[198]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[200]如[198]或[199]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[201]如[198]或[199]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

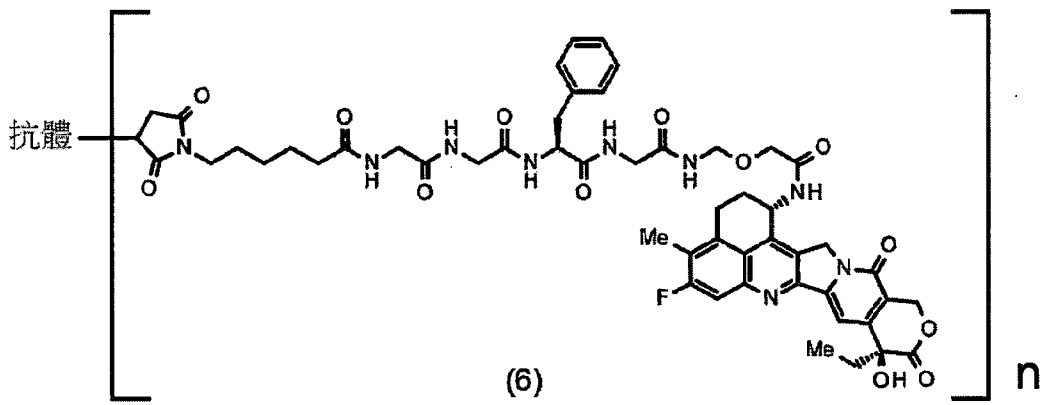
[202]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[198]至[201]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[203]如[202]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[204]如[202]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

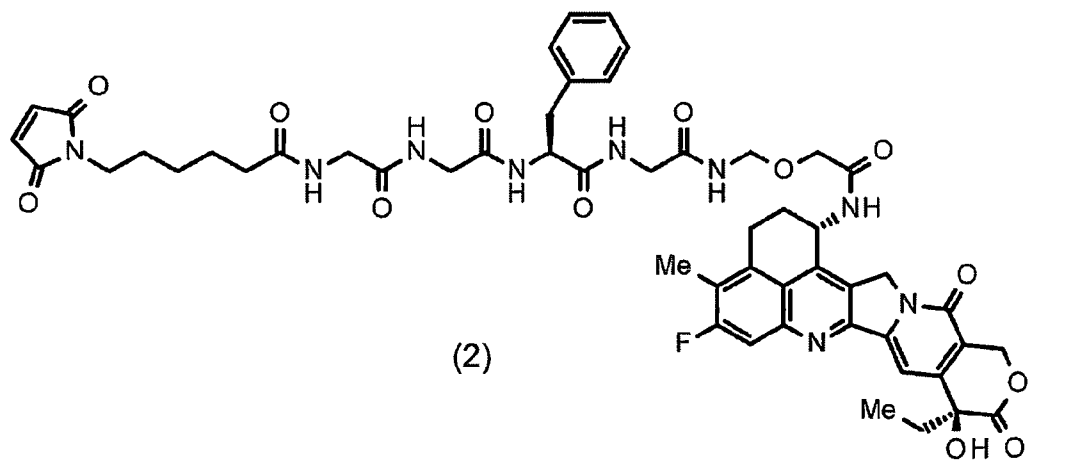
[205]一種製造方法，其係由式(6)所示之抗體-藥物結合物的製造方法，



(式中，藥物連接子與抗體藉由硫醚鍵而結合，n 表示每一抗體的藥物連接子的平均結合數)，其特徵在於，包含以下步驟：

(i)以還原劑還原抗體的步驟；

(ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，



(iii) 添加具有硫醇基的試劑，使其與(ii)的步驟所殘留之由式(2)所表示之化合物進行反應的步驟；接著

(iv) 藉由使用含有由強酸與強鹼而成的鹽的緩衝液的超過濾，去除在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(i)的步驟所使用之還原劑的化合物、及在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑的化合物的步驟。

[206] 如[205]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦或其鹽。

[207] 如[205]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽。

[208] 如[205]至[207]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[209] 如[208]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的緩衝液。

[210] 如[208]或[209]所記載的製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

[211] 如[205]至[210]中任一項所記載的製造方法，其中，

(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[212]如[211]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

[213]如[208]至[212]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[214]如[213]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[215]如[213]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[216]如[205]至[215]中任一項所記載的製造方法，其中，(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑為 N-乙醯半胱胺酸。

[217]如[205]至[216]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[218]如[205]至[216]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[219]如[205]至[216]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[220]如[205]至[216]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[221]如[205]至[216]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[222]如[205]至[221]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[223]如[205]至[222]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸

與強鹼而成的鹽的濃度為 0.2~1 重量%。

[224]如[205]至[222]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為約 0.5 重量%。

[225]如[205]至[222]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.4~0.6 重量%。

[226]如[205]至[222]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.5 重量%。

[227]如[205]至[226]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽為氯化鈉。

[228]如[205]至[227]中任一項所記載的製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用緩衝液的超過濾，去除由強酸與強鹼而成的鹽的步驟。

[229]如[228]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4~6 的範圍。

[230]如[228]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[231]如[228]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7~5.3 的範圍。

[232]如[228]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8~5.2 的範圍。

[233]如[228]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9~5.1 的範圍。

[234]如[228]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[235]如[228]至[234]中任一項所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[236]如[205]至[235]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[237]如[205]至[235]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[238]如[205]至[237]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[239]如[238]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[240]如[238]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[241]如[205]至[237]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[242]如[241]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[243]如[242]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重

鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[244]如[205]至[237]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[245]如[244]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[246]如[245]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[247]如[205]至[237]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 CDH6 抗體。

[248]如[247]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[249]如[248]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[250]如[205]至[249]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[251]如[250]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[252]一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如[205]至[251]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成

的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[253]如[252]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[254]如[251]或[252]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[255]如[251]或[252]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

[256]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[252]至[255]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

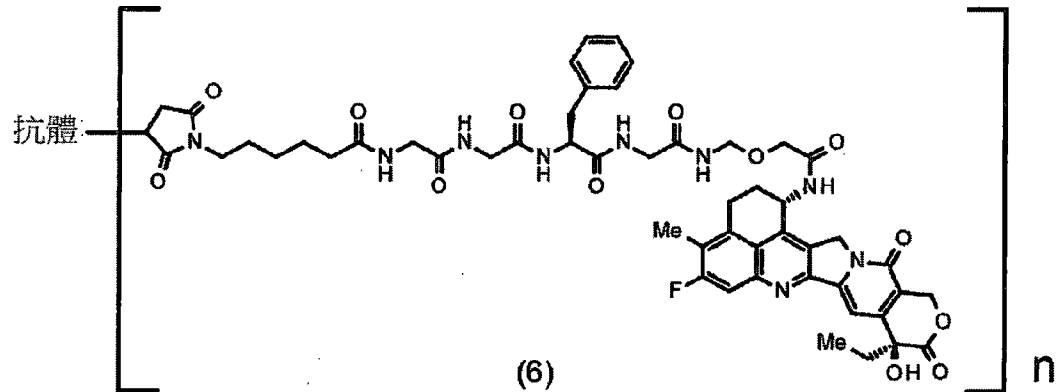
(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[257]如[256]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[258]如[256]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[259]一種製造方法，其係由式(6)所示之抗體-藥物結合物

的製造方法，

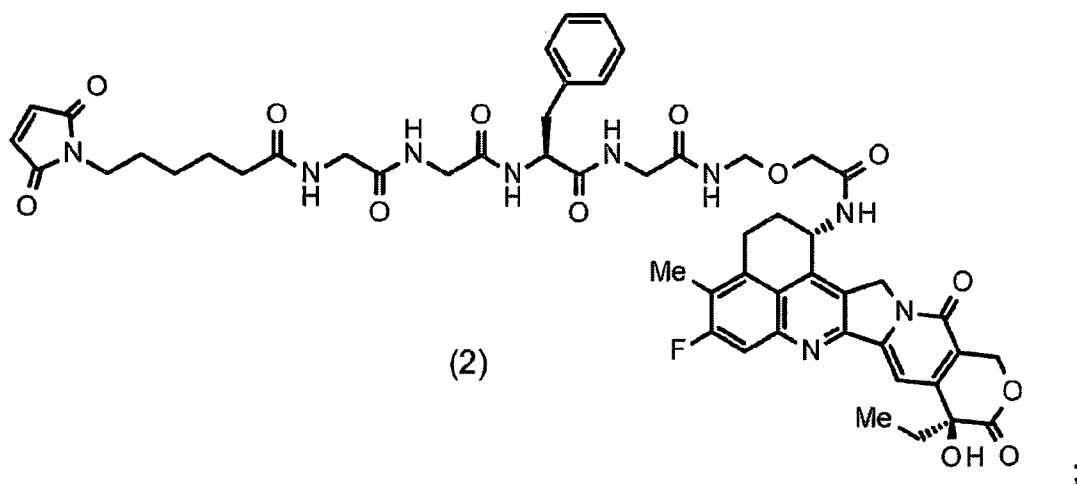


(式中，藥物連接子與抗體藉由硫醚鍵而結合， n 表示每一抗體的藥物連接子的平均結合數)，

其特徵在於，包含以下步驟：

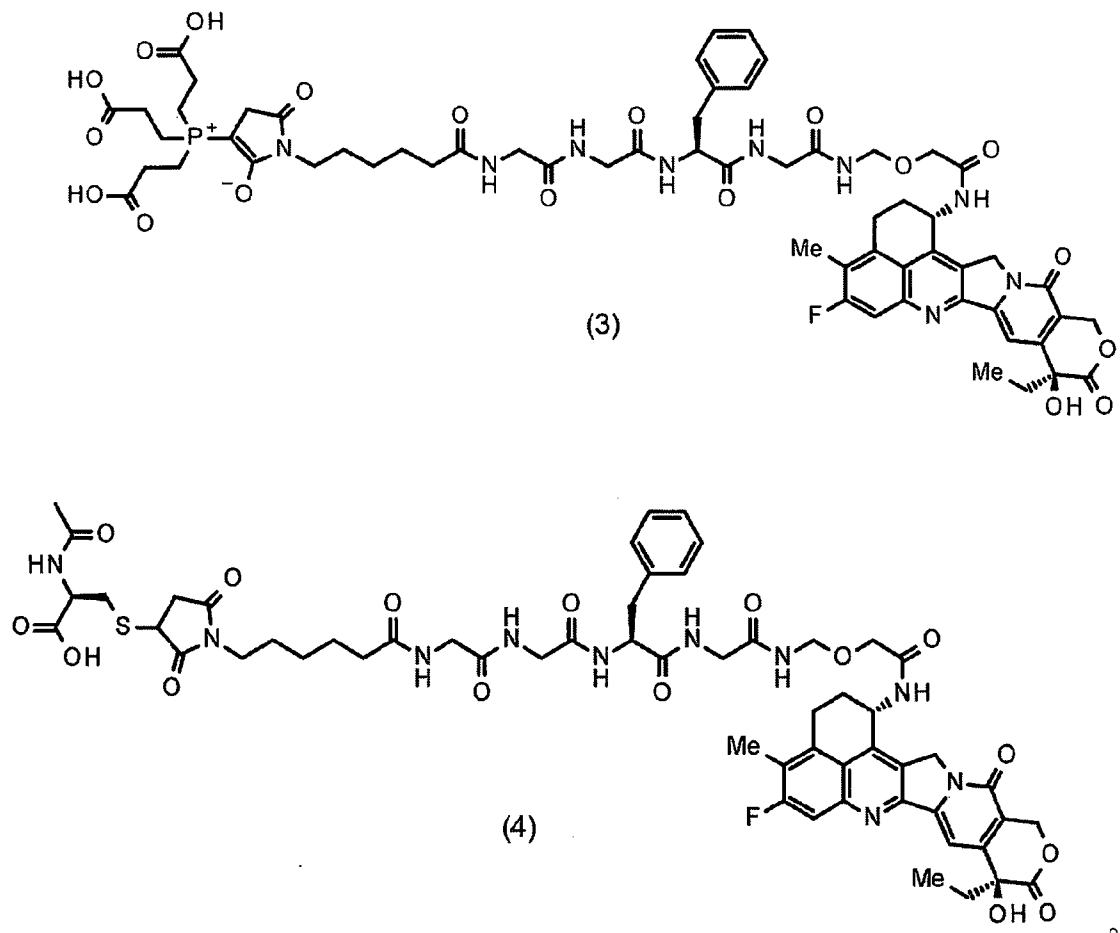
(i) 以參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽還原抗體的步驟；

(ii) 使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，



(iii) 添加 N-乙醯半胱胺酸，使其與(ii)的步驟所殘留之由式(2)所表示之化合物進行反應的步驟；接著

(iv) 藉由使用含有氯化鈉的組胺酸緩衝液的超過濾，去除由式(3)所表示之化合物、及由式(4)所表示之化合物的步驟，



[260]如[259]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[261]如[260]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的緩衝液。

[262]如[260]或[261]所記載的製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

[263]如[259]至[262]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[264]如[263]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

[265]如[260]至[264]中任一項所記載的製造方法，其中，

(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[266]如[265]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[267]如[265]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[268]如[259]至[267]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[269]如[259]至[267]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[270]如[259]至[267]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[271]如[259]至[267]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[272]如[259]至[267]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[273]如[259]至[272]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.2～1 重量%。

[274]如[259]至[272]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為約 0.5 重量%。

[275]如[259]至[272]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.4～0.6 重量%。

[276]如[259]至[272]中任一項所記載的製造方法，其中，

相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.5 重量%。

[277]如[259]至[276]中任一項所記載的製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用組胺酸緩衝液的超過濾，去除氯化鈉的步驟。

[278]如[277]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4~6 的範圍。

[279]如[277]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[280]如[277]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7~5.3 的範圍。

[281]如[277]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8~5.2 的範圍。

[282]如[277]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9~5.1 的範圍。

[283]如[277]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[284]如[259]至[283]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[285]如[259]至[283]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[286]如[259]至[285]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[287]如[286]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[288]如[286]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[289]如[259]至[285]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[290]如[289]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[291]如[290]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[292]如[259]至[285]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[293]如[292]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[294]如[293]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[295]如[259]至[285]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 CDH6 抗體。

[296]如[295]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為

包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[297]如[296]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[298]如[259]至[297]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[299]如[298]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[300]一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如[259]至[299]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[301]如[300]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[302]如[300]或[301]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[303]如[300]或[301]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

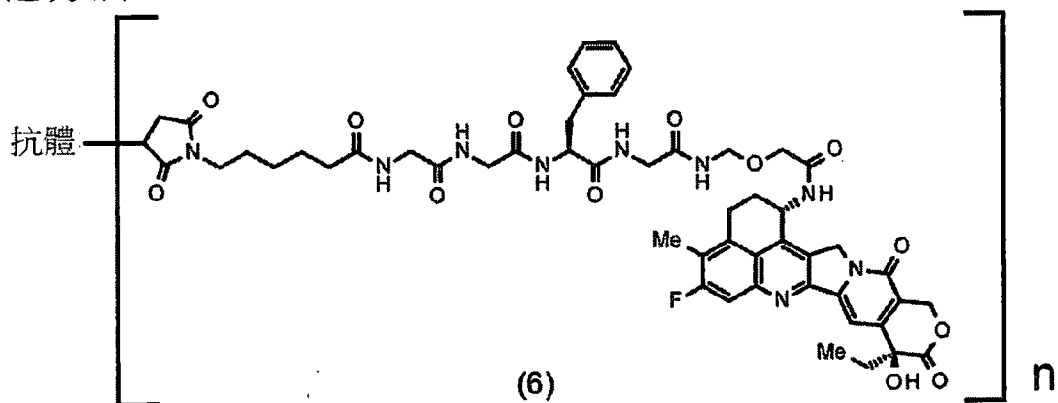
[304]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[300]至[303]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[305]如[304]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[306]如[304]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[307]一種製造方法，其係由式(6)所示之抗體-藥物結合物的製造方法，

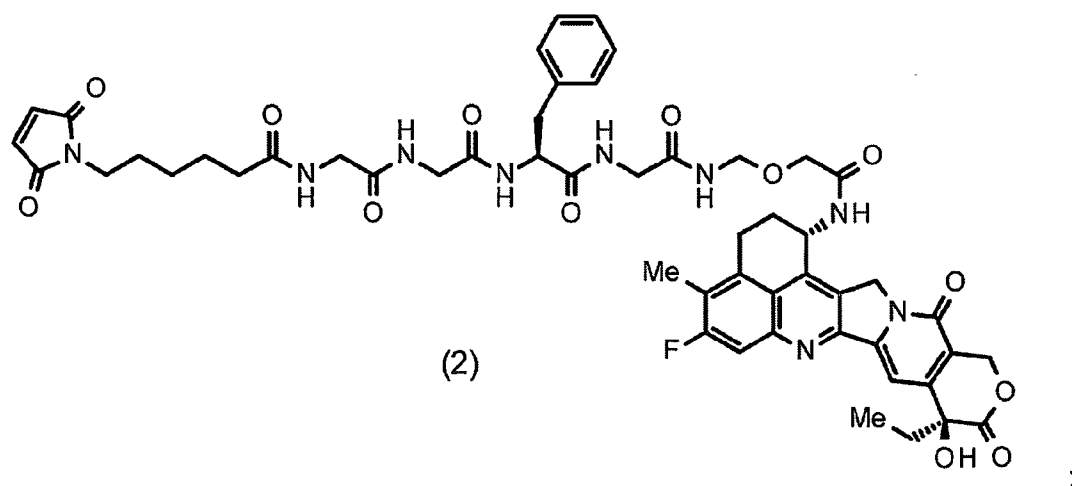


(式中，藥物連接子與抗體藉由硫醚鍵而結合， n 表示每一抗體的藥物連接子的平均結合數)，

其特徵在於，將藉由(i)~(iii)步驟所得之包含該抗體-藥物結合物的未純化物或粗純化物之溶液，藉由(iv)步驟而進行純化：

(i)以還原劑還原抗體的步驟；

(ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，



(iii)添加具有硫醇基的試劑的步驟；

(iv)藉由使用含有由強酸與強鹼而成的鹽的緩衝液的超過濾，去除在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(i)的步驟所使用之還原劑的化合物、及在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑的化合物的步驟。

[308]如[307]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦或其鹽。

[309]如[307]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽。

[310]如[307]至[309]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[311]如[310]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的緩衝液。

[312]如[310]或[311]所記載的製造方法，其中，緩衝液為

乙酸緩衝液。

[313]如[307]至[312]中任一項所記載的製造方法，其中，
(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[314]如[313]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

[315]如[310]至[314]中任一項所記載的製造方法，其中，
(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[316]如[315]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[317]如[315]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[318]如[307]至[317]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑為 N-乙醯半胱胺酸。

[319]如[307]至[318]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[320]如[307]至[318]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[321]如[307]至[318]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[322]如[307]至[318]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[323]如[307]至[318]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[324]如[307]至[323]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[325]如[307]至[324]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.2～1 重量%。

[326]如[307]至[324]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為約 0.5 重量%。

[327]如[307]至[324]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.4～0.6 重量%。

[328]如[307]至[324]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽的濃度為 0.5 重量%。

[329]如[307]至[328]中任一項所記載的製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之由強酸與強鹼而成的鹽為氯化鈉。

[330]如[307]至[329]中任一項所記載的製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用緩衝液的超過濾，去除由強酸與強鹼而成的鹽的步驟。

[331]如[330]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4～6 的範圍。

[332]如[330]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[333]如[330]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[334]如[330]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[335]如[330]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[336]如[330]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[337]如[330]至[336]中任一項所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

[338]如[307]至[337]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[339]如[307]至[337]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[340]如[307]至[339]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[341]如[340]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[342]如[340]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[343]如[307]至[339]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[344]如[343]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識

別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[345]如[344]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[346]如[307]至[339]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[347]如[346]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[348]如[347]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[349]如[307]至[339]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 CDH6 抗體。

[350]如[349]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[351]如[350]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[352]如[307]至[351]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[353]如[352]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[354]一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如[307]至

[353]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[355]如[354]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[356]如[354]或[355]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[357]如[354]或[355]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

[358]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[354]至[357]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

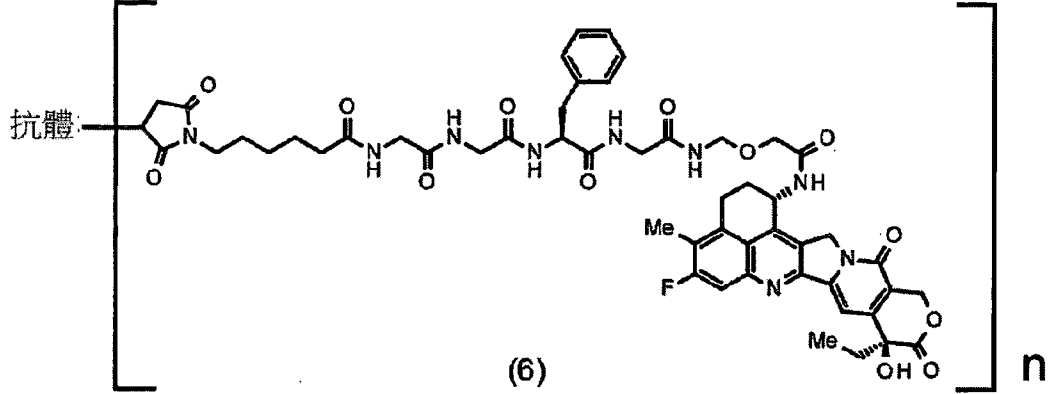
(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[359]如[358]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[360]如[358]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山

梨醇酯 20。

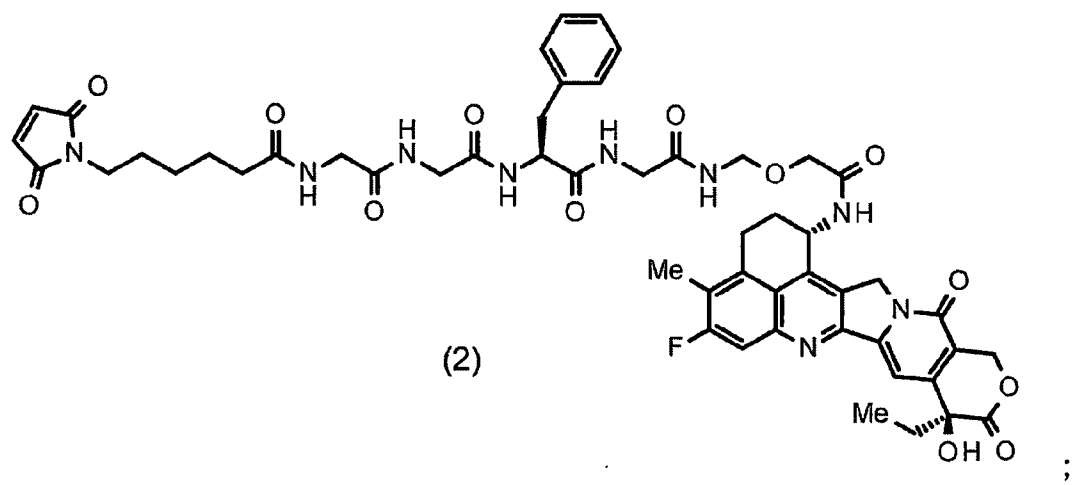
[361]一種製造方法，其係由式(6)所示之抗體-藥物結合物的製造方法，



(式中，藥物連接子與抗體藉由硫醚鍵而結合，n 表示每一抗體的藥物連接子的平均結合數)

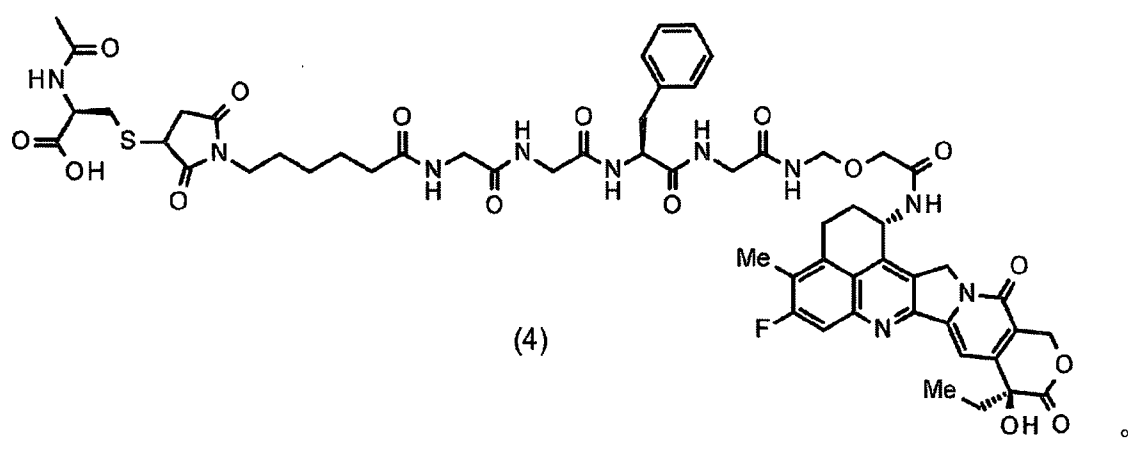
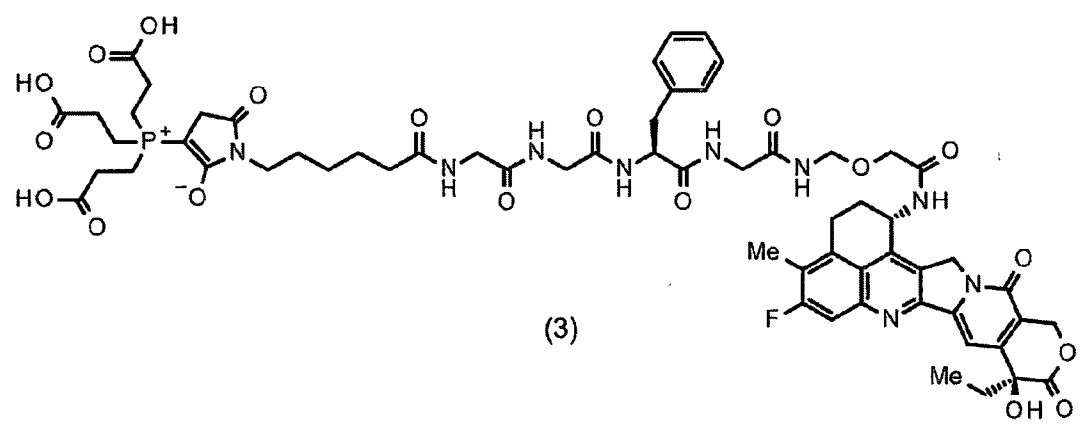
其特徵在於，將藉由(i)～(iii)步驟所得之包含該抗體-藥物結合物的未純化物或粗純化物之溶液，藉由(iv)步驟而進行純化：

- (i)以參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽還原抗體的步驟；
- (ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，



- (iii)添加 N-乙醯半胱胺酸的步驟；

(iv)藉由使用含有氯化鈉的組胺酸緩衝液的超過濾，去除由式(3)所表示之化合物、及由式(4)所表示之化合物的步驟，



[362]如[361]所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

[363]如[362]所記載的製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的緩衝液。

[364]如[362]或[363]所記載的製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

[365]如[361]至[364]中任一項所記載的製造方法，其中，(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

[366]如[365]所記載的製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四

乙酸。

[367]如[362]至[366]中任一項所記載的製造方法，其中，
(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

[368]如[367]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[369]如[367]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[370]如[361]至[369]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[371]如[361]至[369]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[372]如[361]至[369]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[373]如[361]至[369]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[374]如[361]至[369]中任一項所記載的製造方法，其中，
(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[375]如[361]至[374]中任一項所記載的製造方法，其中，
相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉
的濃度為 0.2～1 重量%。

[376]如[361]至[374]中任一項所記載的製造方法，其中，
相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉
的濃度為約 0.5 重量%。

[377]如[361]至[374]中任一項所記載的製造方法，其中，
相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉

的濃度為 0.4～0.6 重量%。

[378]如[361]至[374]中任一項所記載的製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用之氯化鈉的濃度為 0.5 重量%。

[379]如[361]至[378]中任一項所記載的製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用組胺酸緩衝液的超過濾，去除氯化鈉的步驟。

[380]如[379]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4～6 的範圍。

[381]如[379]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。

[382]如[379]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7～5.3 的範圍。

[383]如[379]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.8～5.2 的範圍。

[384]如[379]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.9～5.1 的範圍。

[385]如[379]所記載的製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 5.0。

[386]如[361]至[385]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍。

[387]如[361]至[385]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

[388]如[361]至[387]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER2 抗體。

[389]如[388]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[390]如[388]所記載的製造方法，其中，抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[391]如[361]至[387]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 HER3 抗體。

[392]如[391]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[393]如[392]所記載的製造方法，其中，抗 HER3 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[394]如[361]至[387]中任一項所記載的製造方法，其中，抗體為抗 GPR20 抗體。

[395]如[394]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[396]如[395]所記載的製造方法，其中，抗 GPR20 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[397]如[361]至[387]中任一項所記載的製造方法，其中，

抗體為抗 CDH6 抗體。

[398]如[397]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

[399]如[398]所記載的製造方法，其中，抗 CDH6 抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失。

[400]如[361]至[399]中任一項所記載的製造方法，其特徵在於，不包含利用層析法的純化步驟。

[401]如[400]所記載的製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

[402]一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如[361]至[401]中任一項所記載的製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

[403]如[402]所記載的製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

[404]如[401]或[402]所記載的製造方法，其中，賦形劑為蔗糖。

[405]如[401]或[402]所記載的製造方法，其中，賦形劑為海藻糖。

[406]一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如[402]至[405]中任一項所記載的製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

[407]如[406]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80。

[408]如[406]所記載的製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20。

[409]一種抗體-藥物結合物，其係藉由如[1]至[47]、[55]至[95]、[103]至[149]、[157]至[197]、[205]至[251]、[259]至[299]、[307]至[353]、及[361]至[401]中任一項所記載的製造方法而製造。

[410]一種醫藥組成物，其係藉由如[48]至[54]、[96]至[102]、[150]至[156]、[198]至[204]、[252]至[258]、[300]至[306]、[354]至[360]、及[402]至[408]中任一項所記載的製造方法而製造。

[發明之效果]

【0014】藉由本發明，可提供包含用於抑制凝聚物的生成且同時有效地去除源自由式(2)所表示之化合物的副產物的純化步

驟之抗體-藥物結合物的製造方法。再者，可提供包含該抗體-藥物結合物的醫藥組成物之工業性優異的製造方法。

【圖式簡單說明】

【0015】

圖 1 係顯示在使用組胺酸緩衝液(pH5.0)、或含有 0.5%氯化鈉的組胺酸緩衝液(pH5.0)進行超過濾之情形中化合物(3)及化合物(4)的含有率之圖。

圖 2 係顯示使用組胺酸緩衝液(pH5.0 或者 pH5.8)、或含有 0.4%氯化鈉的組胺酸緩衝液(pH5.0 或者 pH5.8)進行超過濾之情形中凝聚物的含有率之圖。

圖 3 係顯示抗 HER2 抗體重鏈的胺基酸序列(序列識別號 1)之圖。

圖 4 係顯示抗 HER2 抗體輕鏈的胺基酸序列(序列識別號 2)之圖。

圖 5 係顯示抗 HER3 抗體重鏈的胺基酸序列(序列識別號 3)之圖。

圖 6 係顯示抗 HER3 抗體輕鏈的胺基酸序列(序列識別號 4)之圖。

圖 7 係顯示抗 GPR20 抗體重鏈的胺基酸序列(序列識別號 5)之圖。

圖 8 係顯示抗 GPR20 抗體輕鏈的胺基酸序列(序列識別號 6)之圖。

圖 9 係顯示抗 CDH6 抗體重鏈的胺基酸序列(序列識別號 7)之圖。

圖 10 係顯示抗 CDH6 抗體輕鏈的胺基酸序列(序列識別號

8)之圖。

【實施方式】

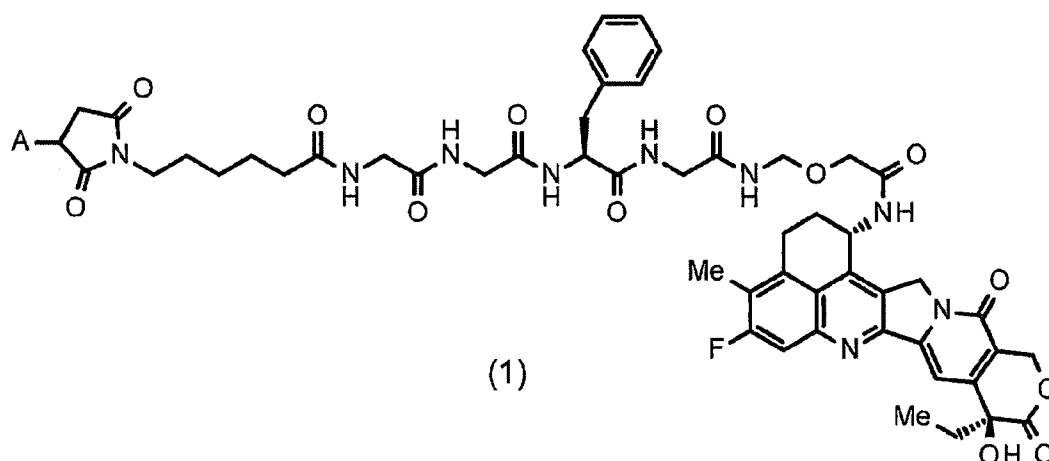
[用以實施發明的形態]

【0016】以下，針對用於實施本發明的較佳形態，一邊參照圖面一邊進行說明。此外，以下所說明的實施形態係揭示本發明的代表性實施形態的一例者，並不藉此限縮解釋本發明的範圍。

【0017】

1. 抗體-藥物結合物

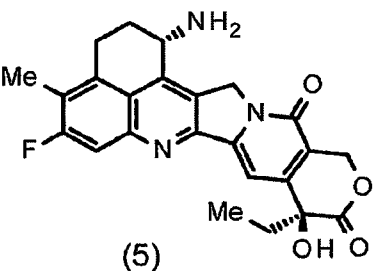
藉由本發明而製造的抗體-藥物結合物係由式(1)所示之藥物連接子，與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體-藥物結合物，



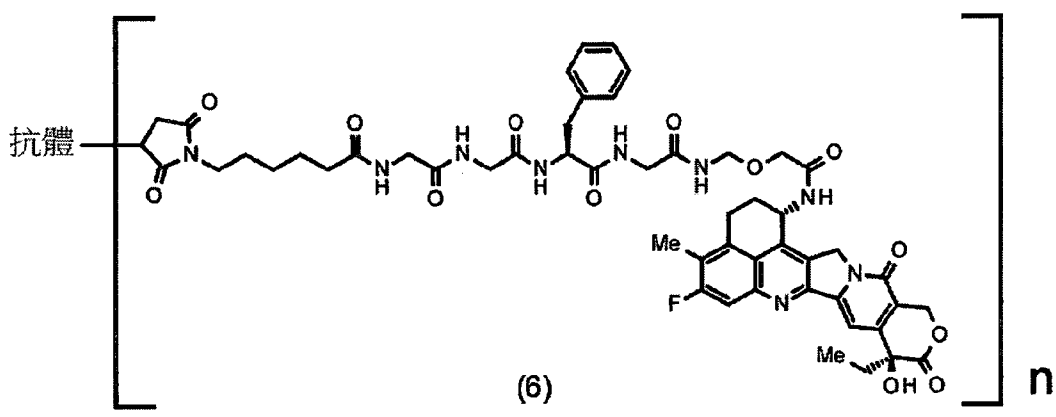
(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0018】本發明中，將抗體-藥物結合物之中包含連接子及藥物的部分結構稱為「藥物連接子」。此藥物連接子與在抗體的鏈間的雙硫鍵部位(2 處的重鏈-重鏈間、及 2 處的重鏈-輕鏈間)產生的硫醇基(換言之，半胱胺酸殘基的硫原子)結合。

【0019】藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物的藥物連接子，將為拓撲異構酶 I 抑制劑之依喜替康作為構成要素。依喜替康係由式(5)所示之具有抗腫瘤效果的喜樹鹼衍生物，

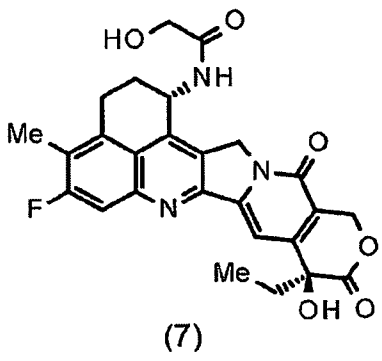


【0020】藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物，亦可由式(6)表示，



【0021】於此，藥物連接子與抗體藉由硫醚鍵結合。又，n與所謂平均藥物結合數(DAR; Drug-to-Antibody Ratio)同意義，表示每一抗體的藥物連接子的平均結合數。

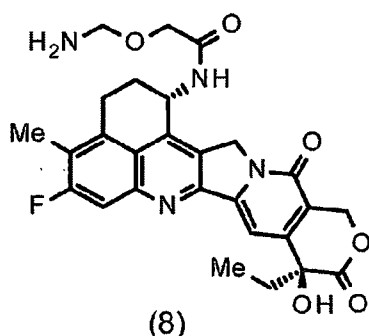
【0022】藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物，在移動至癌細胞內後，游離出由式(7)所表示之化合物，



【0023】式(7)所表示之化合物被認為是藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物的抗腫瘤活性的本體，被確認具有拓撲異構

酶 I 阻礙作用(Ogitani Y. et al., Clinical Cancer Research, 2016, Oct 15;22(20):5097-5108, Epub 2016 Mar 29)。

【0024】式(7)所表示之化合物被認為是藉由將藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物的連接子部分進行剪切而產生之由式(8)所表示之化合物的胺縮醛結構進行分解而產生，



【0025】藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物，亦已知具有旁觀者效應(bystander effect)(Ogitani Y. et al., Cancer Science (2016) 107, 1039-1046)。此旁觀者效應係在藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物內化進入目標表現癌細胞後，由式(7)所表示之化合物被游離，對於未表現目標的鄰近癌細胞亦造成抗腫瘤效果，藉此而發揮。

【0026】

2. 抗體-藥物結合物的製造所使用之抗體

本發明的抗體-藥物結合物的製造所使用之抗體，可源自任一物種，但較佳為源自人類、大鼠、小鼠、及兔子的抗體。抗體源自人類以外的物種之情形，較佳為使用周知的技術，進行嵌合化或人源化(humanized)。本發明的抗體可為多株抗體，亦可為單株抗體，但較佳為單株抗體。

【0027】本發明的抗體-藥物結合物的製造所使用之抗體，

較佳為具有可將癌細胞作為目標的性質者，較佳為具備可辨識癌細胞的特性、可與癌細胞結合的特性、被捕捉進癌細胞內而內化的特性、及/或對癌細胞的殺細胞活性等者。

【0028】抗體對癌細胞的結合性，可使用流動式細胞測量術進行確認。往癌細胞內的抗體的捕捉，可使用以下方法進行確認：(1)使用與治療抗體結合的二級抗體(螢光標記)，利用螢光顯微鏡，將被捕捉進細胞內的抗體進行可視化的分析(*Cell Death and Differentiation* (2008) 15, 751-761)；(2)使用與治療抗體結合的二級抗體(螢光標記)，測定被捕捉進細胞內的螢光量的分析(*Molecular Biology of the Cell* Vol. 15, 5268-5282, December 2004)；或(3)使用與治療抗體結合的免疫毒素，所謂當被捕捉至細胞內便釋放毒素而抑制細胞增殖的 Mab-ZAP 分析(*Bio Techniques* 28:162-165, January 2000)。作為免疫毒素，亦能使用白喉毒素的觸媒區域與蛋白質 G 的重組複合蛋白質。

【0029】抗體的抗腫瘤活性，在活體外可藉由測定細胞的增殖的抑制活性而確認。例如，可培養過度表現抗體的目標蛋白質的癌細胞株，在培養系統中以各種濃度添加抗體，測定對於灶形成(focus formation)、群落形成及球體增殖的抑制活性。在活體內，例如藉由將抗體投與至已移植高表現目標蛋白質的癌細胞株的裸鼠，測定癌細胞的變化，而可確認抗腫瘤活性。

【0030】抗體本身具有抗腫瘤效果一事，較佳為抗體-藥物結合物因結合發揮抗腫瘤效果的化合物，故抗體本身的抗腫瘤效果為非必要。由使抗腫瘤性化合物的細胞毒性在癌細胞中特異性、選擇性發揮之目的而言，較佳為重點在於抗體具有進行內化

而移動至癌細胞內的性質。

【0031】本發明的抗體-藥物結合物的製造所使用之抗體，可藉由周知手段而取得。例如，可使用此領域所通常實施的方法，將成為抗原的多肽對動物進行免疫，採取活體內所產生的抗體並進行純化，藉此而得。抗原的來源不限定於人類，亦可將源自小鼠、大鼠等人類以外的動物的抗原對動物進行免疫。在此情形中，藉由試驗與所取得之異種抗原結合的抗體與人類抗原的交叉性，可篩選能適用於人類疾病的抗體。

【0032】又，亦可遵循周知方法（例如 Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p.495-497; Kennet, R. ed., *Monoclonal Antibodies*, p.365-367, Plenum Press, N.Y.(1980)），使產生對於抗原的抗體之抗體產生細胞與骨髓瘤細胞進行融合而建立融合瘤，獲得單株抗體。

【0033】此外，抗原可藉由利用基因操作使編碼抗原蛋白質的基因在宿主細胞中產生而獲得。具體而言，只要製作能表現抗原基因的載體，將其導入宿主細胞，使該基因表現，並純化所表現的抗原即可。使用將由上述基因操作所致之抗原表現細胞、或表現抗原之細胞株對動物進行免疫的方法，藉此亦可取得抗體。

【0034】本發明的抗體-藥物結合物的製造所使用之抗體，較佳為以使對人類的異種抗原性降低等為目的而人為改變的基因重組型抗體，例如嵌合(Chimeric)抗體、人源化(Humanized)抗體，或較佳為僅具有源自人類的抗體的基因序列之抗體，亦即人類抗體(human antibody)。此等抗體可使用既知方法進行製造。

【0035】作為嵌合抗體，可列舉抗體的可變區與恆定區域互

為異種的抗體，例如將源自小鼠或大鼠的抗體的可變區與源自人類的恆定區域接合的嵌合抗體(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 6851-6855,(1984))。

【0036】作為人源化抗體，可列舉僅將異種抗體的互補決定區(CDR;complementarity determining region)組入源自人類的抗體的抗體(Nature(1986) 321, p.522-525)、藉由 CDR 移植法而除了異種抗體的 CDR 的序列以外亦將異種抗體的一部分架構的胺基酸殘基移植至人類抗體的抗體(國際公開第 90/07861 號)、使用基因置換突變誘發(gene conversion mutagenesis)策略而人源化的抗體(美國專利第 5821337 號)。

【0037】作為人類抗體，可列舉使用具有包含人類抗體的重鏈與輕鏈的基因之人類染色體片段的人類抗體產生小鼠所作成的抗體(參照 Tomizuka, K. et al., Nature Genetics(1997) 16, p.133-143;Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res.(1998) 26, p.3447-3448;Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology:Basic and Applied Aspects vol.10, p.69-73(Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999;Tomizuka, K. et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA(2000) 97, p.722-727 等)。或者，亦可列舉藉由由人類抗體庫所篩選的噬菌體顯示(phage display)而取得的抗體(參照 Wormstone, I. M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002)43 (7), p.2301-2308;Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics(2002), 1(2), p.189-203;Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology(2002) 109(3), p.427-431 等)。

【0038】本發明的抗體-藥物結合物的製造所使用之抗體中，亦包含抗體的修飾物。所謂該修飾物，意指對本發明的抗體施以化學性或生物學性修飾而成者。在化學性修飾物中，包含具有對胺基酸骨架的化學部分的結合、對 N-鍵或 O-鍵碳水化合物鏈的化學部分的結合之化學修飾物等。在生物學性修飾物中，包含經轉譯後修飾(例如 N-鍵或 O-鍵型糖鏈的加成、N 端或 C 端的加工、脫醯胺化、天冬醯胺酸的異構化、甲硫胺酸的氧化等)者、藉由使用原核生物宿主細胞使其表現而在 N 端加成甲硫胺酸殘基者等。又，為了能偵測或分離本發明之抗體或抗原能而標記者，例如酵素標記物、螢光標記物、親和力標記物亦包含在此修飾物的意義中。此各種本發明之抗體的修飾物，有用於抗體的穩定性及血中滯留性的改善、抗原性的減低、抗體或抗原的偵測或分離等。

【0039】又，藉由調節與本發明之抗體結合的糖鏈修飾(醣苷化、去海藻糖化等)，能增強抗體依賴性細胞毒性活性。作為抗體的糖鏈修飾的調節技術，已知有國際公開第 99/54342 號、國際公開第 00/61739 號、國際公開第 02/31140 號等，但不限於此等。本發明之抗體中，亦包含經調節該糖鏈修飾的抗體。

【0040】此外，在哺乳類培養細胞所生產的抗體，已知其重鏈的羧基末端的離胺酸殘基缺失(*Journal of Chromatography A*, 705: 129-134(1995))、又，已知同樣地重鏈羧基末端的甘胺酸、離胺酸的 2 個胺基酸殘基缺失，且新位於羧基末端的脯胺酸殘基被醯胺化(*Analytical Biochemistry*, 360: 75-83(2007))。但是，此等重鏈序列的缺失及修飾，不對抗體的抗原結合能及效應子功能(effector function)(補體的活化、抗體

依賴性細胞毒性作用等)造成影響。因此，在本發明之抗體中，亦包含接受該修飾的抗體及該抗體的機能性片段，亦包含在重鏈羧基末端 1 或 2 個胺基酸缺失的缺失體、及被醯胺化的該缺失體(例如羧基末端部位的脯胺酸殘基被醯胺化的重鏈)等。但是，只要保留抗原結合能及效應子功能，則本發明之抗體的重鏈的羧基末端的缺失體不限於上述種類。構成本發明之抗體的 2 條重鏈，可為選自包含全長及上述缺失體之群組的重鏈之任一種，亦可為組合任二種者。各缺失體的量比能受到產生本發明之抗體的哺乳類培養細胞的種類及培養條件影響，但本發明之抗體，較佳可列舉在 2 條重鏈雙方的羧基末端的一個胺基酸殘基缺失者。

【0041】作為本發明之抗體的同型，可列舉例如 IgG(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)等，但較佳可列舉 IgG1 或 IgG2。

【0042】本發明的抗體-藥物結合物的製造所能使用之抗體，並未特別限制，但可列舉例如抗 HER2 抗體、抗 HER3 抗體、抗 TROP2 抗體、抗 B7-H3 抗體、抗 CD3 抗體、抗 CD30 抗體、抗 CD33 抗體、抗 CD37 抗體、抗 CD56 抗體、抗 CD98 抗體、抗 DR5 抗體、抗 EGFR 抗體、抗 EPHA2 抗體、抗 FGFR2 抗體、抗 FGFR4 抗體、抗 FOLR1 抗體、抗 VEGF 抗體、抗 CD20 抗體、抗 CD22 抗體、抗 CD70 抗體、抗 PSMA 抗體、抗 CEA 抗體、抗間皮素(Mesothelin)抗體、抗 A33 抗體、抗 CanAg 抗體、抗 Cripto 抗體、抗 G250 抗體、抗 MUC1 抗體、抗 GPNMB 抗體、抗整合素(Integrin)抗體、抗肌腱蛋白-C(Tenascin-C)抗體、抗 SLC44A4 抗體、抗 GPR20 抗體、及抗 CDH6 抗體，較佳可列舉抗 HER2 抗體、抗 HER3 抗體、抗 TROP2 抗體、抗 B7-H3 抗體、抗 GPR20 抗體、及抗 CDH6 抗體，更佳可列舉抗

HER2 抗體、抗 HER3 抗體、抗 GPR20 抗體、及抗 CDH6 抗體。

【0043】本發明中，所謂「抗 HER2 抗體」，表示具有與 HER2(Human Epidermal Growth Factor Receptor Type 2; ErbB-2)特異性結合，較佳為藉由與 HER2 結合而內化至 HER2 表現細胞的活性的抗體。

【0044】作為抗 HER2 抗體，可列舉例如曲妥珠單抗 (Trastuzumab)(美國特許第 5821337 號)、及帕妥珠單抗 (Pertuzumab)(國際公開第 01/00245 號)，較佳可列舉曲妥珠單抗。

【0045】本發明中，所謂「抗 HER3 抗體」，表示具有與 HER3(Human Epidermal Growth Factor Receptor Type 3; ErbB-3)特異性結合，較佳為藉由與 HER3 結合而內化至 HER3 表現細胞的活性的抗體。

【0046】作為抗 HER3 抗體，可列舉例如帕曲妥單抗 (Patritumab; U3-1287)、U1-59(國際公開第 2007/077028 號)、MM-121(絲里班圖單抗 (Seribantumab))、國際公開 2008/100624 號所記載的抗 ERBB3 抗體、RG-7116(倫雪珠單抗 (Lumretuzumab))、及 LJM-716(依根妥單抗 (Elgemtumab))，較佳可列舉帕曲妥單抗、及 U1-59。

【0047】本發明中，所謂「抗 TROP2 抗體」，表示具有與 TROP2(TACSTD2: 腫瘤關聯鈣訊息傳遞因子 (Tumor-associated calcium signal transducer 2); EGP-1)特異性結合，較佳為藉由與 TROP2 結合而內化至 TROP2 表現細胞的活性的抗體。

【0048】作為抗 TROP2 抗體，可列舉例如 hTINA1-H1L1(國際公開第 2015/098099 號)。

【0049】本發明中，所謂「抗 B7-H3 抗體」，表示具有與 B7-H3(B 細胞抗原#7 同系物 3; PD-L3; CD276)特異性結合，較佳為藉由與 B7-H3 結合而內化至 B7-H3 表現細胞的活性的抗體。

【0050】作為抗 B7-H3 抗體，可列舉例如 M30-H1-L4(國際公開第 2014/057687 號)。

【0051】本發明中，所謂「抗 GPR20 抗體」，表示具有與 GPR20(蛋白偶聯受體 20(G Protein-coupled receptor 20))特異性結合，較佳為藉由與 GPR20 結合而內化至 GPR20 表現細胞的活性的抗體。

【0052】作為抗 GPR20 抗體，可列舉例如 h046-H4e/L7(國際公開第 2018/135501 號)。

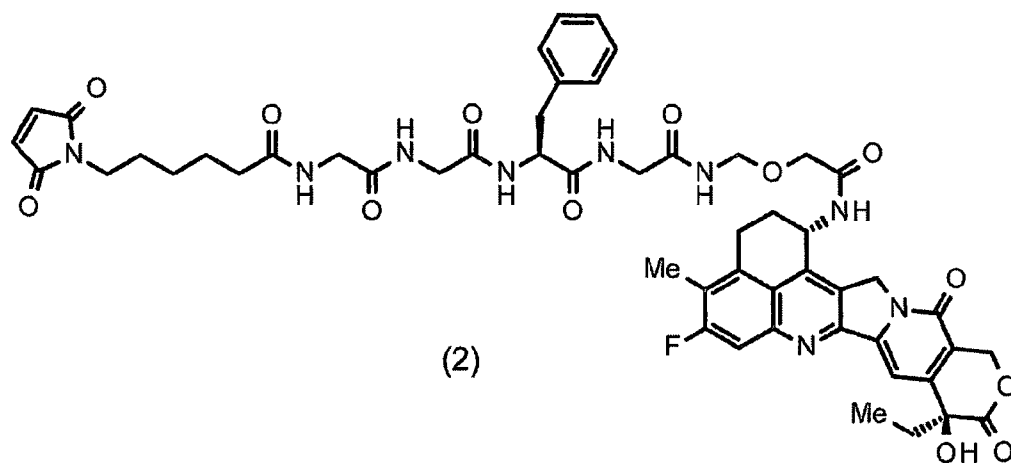
【0053】本發明中，所謂「抗 CDH6 抗體」，表示具有與 CDH6(黏附蛋白-6(Cadherin-6))特異性結合，較佳為藉由與 CDH6 結合而內化至 CDH6 表現細胞的活性的抗體。

【0054】作為抗 CDH6 抗體，可列舉例如 H01L02(國際公開第 2018/212136 號)。

【0055】

3. 抗體-藥物結合物的製造所使用之藥物連接子中間體

本發明的抗體-藥物結合物的製造所使用之藥物連接子中間體係由式(2)所表示之化合物，



【0056】由式(2)所表示之化合物，可參考國際公開第 2014/057687 號、國際公開第 2015/098099 號、國際公開第 2015/115091 號、國際公開第 2015/155998 號、及國際公開第 2019/044947 號等的記載而進行製造。

【0057】

4. 抗體與藥物連接子中間體的接合(conjugation)

在本發明的抗體-藥物結合物的製造中之抗體與藥物連接子中間體的接合，包含：

- (i)以還原劑還原抗體的步驟、
- (ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟、
- (iii)添加具有硫醇基的試劑，使其與(ii)的步驟所殘留之由式(2)所表示之化合物進行反應的步驟。

【0058】(i)的步驟所使用之還原劑，只要可將抗體的鏈間雙硫鍵進行還原者則未被特別限定，但例如可使用參(2-羧乙基)膦或其鹽、二硫蘇糖醇、或 2-巯乙醇，較佳可使用參(2-羧乙基)膦或其鹽，更佳可使用參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽。

【0059】(i)的步驟所使用之還原劑的每一分子抗體的當量

(以下，本發明中所謂「當量」，意指莫耳當量)，可依據所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數、及抗體的種類而適當選擇。

【0060】例如，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER2 抗體(較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，還原劑相對於一分子抗體較佳可使用 4.1~5.1 當量，更佳為 4.4~4.8 當量，再佳為約 4.6 當量。於此，所謂「約 4.6 當量」，較佳為 4.5~4.7 當量，更佳為 4.6 當量。

【0061】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER3 抗體(較佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，還原劑相對於一分子抗體較佳可使用 5.5~6.5 當量，更佳為 5.8~6.2 當量，再佳為約 6 當量。於此，所謂「約 6 當量」，較佳為 5.9~6.1 當量，更佳為 6.0 當量。

【0062】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 GPR20 抗體(較佳為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至

234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，還原劑相對於一分子抗體較佳可使用 4.3～5.3 當量，更佳為 4.6～5 當量，再佳為約 4.8 當量。於此，所謂「約 4.8 當量」，較佳為 4.7～4.9 當量，更佳為 4.8 當量。

【0063】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 CDH6 抗體(較佳為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，還原劑相對於一分子抗體較佳可使用 4.3～5.3 當量，更佳為 4.6～5 當量，再佳為約 4.8 當量。於此，所謂「約 4.8 當量」，較佳為 4.7～4.9 當量，更佳為 4.8 當量。

【0064】(i)的步驟較佳為可在緩衝液中進行。

【0065】(i)的步驟所使用之緩衝液的 pH 較佳為 6～8，更佳為 6.5～7.5，再佳為 6.9～7.4，再佳為 7.0～7.3。

【0066】(i)的步驟所使用之緩衝液，只要為抗體的鏈間雙硫鍵的還原之際所能使用者則未被特別限制，但例如可使用乙酸緩衝液、組胺酸緩衝液、磷酸緩衝液、哌啶-1,4-雙(2-乙磺酸)(Piperazine-1,4-bis(2-ethanesulfonic acid)，以下亦稱為「PIPES」)緩衝液、4-(2-羥乙基)-1-哌啶乙磺酸(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid，以下亦稱為「HEPES」)。

【0067】例如，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥

物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER2 抗體(較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，較佳為可使用已調整成 pH6~8 的乙酸緩衝液，更佳為可使用已利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的乙酸緩衝液，再佳為可使用已利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6.8~7.8 的乙酸緩衝液，再佳為利用磷酸氫二鈉水溶液而 pH 已調整成約 7.3 的乙酸緩衝液。於此，所謂「約 7.3」，較佳為 7.1~7.5 的範圍，更佳為 7.2~7.4 的範圍，再佳為 7.3。

【0068】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER3 抗體(較佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，較佳為可使用已調整成 pH6~8 的乙酸緩衝液，更佳為可使用已利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的乙酸緩衝液，再佳為可使用已利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6.5~7.5 的乙酸緩衝液，再佳為利用磷酸氫二鈉水溶液而 pH 已調整成約 7 的乙酸緩衝液。於此，所謂「約 7」，較佳為 6.8~7.2 的範圍，更佳為 6.9~7.1 的範圍，再佳為 7.0。

【0069】藉由使用此緩衝液，可最小化凝聚物的生成。此外，(i)的步驟所使用之緩衝液亦可含有源自製造抗體的緩衝液。

【0070】(i)的步驟較佳為在螯合劑的存在進行。螯合劑只要為在抗體的鏈間雙硫鍵的還原之際所能使用者則未被特別限制，但可使用例如乙二胺四乙酸(以下亦稱為「EDTA」)、二乙烯三胺五乙酸、或二醇醚二胺四乙酸，較佳為可使用乙二胺四乙酸。

【0071】螯合劑較佳為相對於一分子抗體可使用 1~20 當量，更佳為相對於一分子抗體 1 分子可使用 3~8 當量，再佳為相對於一分子抗體可使用 4~6 當量，再佳為相對於一分子抗體可使用 5 當量。

【0072】(i)的步驟所使用之緩衝液亦可含有界面活性劑。本發明中，所謂「界面活性劑」，表示具有親水性基與疏水性基，且能被使用作為醫藥品製劑的構成成分之一的物質。作為此種界面活性劑，可列舉例如聚山梨醇酯(包含聚山梨醇酯 80(Tween80)、聚山梨醇酯 20(Tween20)、及聚山梨醇酯 60(Tween60))、聚氧乙烯(polyoxyethylene)(160)聚氧丙烯(30)二醇、聚氧乙烯硬化蓖麻油 60、聚氧乙烯蓖麻油、或硫酸月桂酯鈉，更佳可列舉聚山梨醇酯 20、或聚山梨醇酯 80。

【0073】(i)的步驟所使用之緩衝液是否含有界面活性劑、及界面活性劑的種類，可依據所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數、及抗體的種類而適當選擇。

【0074】例如，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER2 抗體(較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列

識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，(i)的步驟所使用之緩衝液，較佳為不含有界面活性劑。

【0075】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER3 抗體(較佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，(i)的步驟所使用之緩衝液，含有聚山梨醇酯 20，且可較佳地使用。

【0076】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 GPR20 抗體(較佳為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，(i)的步驟所使用之緩衝液，含有聚山梨醇酯 80，且可較佳地使用。

【0077】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 CDH6 抗體(較佳為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，(i)的步驟所使用之緩衝液，含有聚山梨醇酯 80，且可較佳地使用。

【0078】(i)的步驟較佳為可在 25~50℃的內溫下進行。

【0079】所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接

子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER2 抗體(較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，(i)的步驟較佳為可在 30~40℃的內溫下進行，更佳為可在約 35℃的內溫下進行。於此，所謂「約 35℃」，較佳為 33℃~37℃，更佳為 34℃~36℃，再佳為 35℃。

【0080】所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER3 抗體(較佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，(i)的步驟較佳為可在 30~40℃的內溫下進行，更佳為可在約 35℃的內溫下進行。於此，所謂「約 35℃」，較佳為 33℃~37℃，更佳為 34℃~36℃，再佳為 35℃。

【0081】所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 GPR20 抗體(較佳為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，(i)的步驟較佳為可在 25~35℃的內溫下進行，更佳為可在約 30℃的內溫下進行。於此，所謂「約 30℃」，較佳為 28℃~32℃，更佳為 29℃~31℃，

再佳為 30°C。

【0082】所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 CDH6 抗體(較佳為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，(i)的步驟較佳為可在 25～35°C 的內溫下進行，更佳為可在約 30°C 的內溫下進行。於此，所謂「約 30°C」，較佳為 28°C～32°C，更佳為 29°C～31°C，再佳為 30°C。

【0083】(i)的步驟的反應時間較佳為 1～4 小時。

【0084】(ii)的步驟所使用之由式(2)所表示之化合物的每一分子抗體的當量，可依據所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數、及抗體的種類而適當選擇。

【0085】例如，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER2 抗體(較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，由式(2)所表示之化合物較佳為相對於一分子抗體可使用 8～10 當量，更佳為 8.2～9.2 當量，再佳為約 8.7 當量。於此，所謂「約 8.7 當量」，較佳為 8.5～8.9 當量，更佳為 8.6～8.8 當量，再佳為 8.7 當量。

【0086】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物

連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER3 抗體 (較佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體) 之情形，由式 (2) 所表示之化合物較佳為相對於一分子抗體可使用 8~10 當量，更佳為 9~10 當量，再佳為約 9.5 當量。於此，所謂「約 9.5 當量」，較佳為 9.3~9.7 當量，更佳為 9.4~9.6 當量，再佳為 9.5 當量。

【0087】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 GPR20 抗體 (較佳為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體) 之情形，由式 (2) 所表示之化合物較佳為相對於一分子抗體可使用 8~10 當量，更佳為 8.3~9.3 當量，再佳為約 8.8 當量。於此，所謂「約 8.8 當量」，較佳為 8.6~9.0 當量，更佳為 8.7~8.9 當量，再佳為 8.8 當量。

【0088】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 CDH6 抗體 (較佳為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體) 之情形，由式 (2) 所表示之化合物較佳為相對於一分子抗體可使用 8~10 當量，更佳為 8.6~9.6 當量，再佳為約 9.1 當量。於此，所謂「約 9.1 當量」，較

佳為 8.9~9.3 當量，更佳為 9.0~9.2 當量，再佳為 9.1 當量。

【0089】由式(2)所表示之化合物較佳為可在已溶解於溶劑的狀態下添加至由(i)的步驟所得的反應液。作為此溶劑，只要為在與抗體的結合反應之際所能使用者則未特別限制，但較佳可使用二甲亞砷、二甲亞砷水溶液、丙酮、或丙酮水溶液，更佳可使用二甲亞砷水溶液，再佳可使用 80%二甲亞砷水溶液。再者，此等溶劑較佳為可在含有乙酸的狀態使用。該乙酸較佳為相對於一分子抗體可使用 9~10 當量。

【0090】(ii)的步驟較佳為可在 5~25℃的內溫下進行，更佳為可在 10~20℃的內溫下進行，再佳為可在約 15℃的內溫下進行。於此，所謂「約 15℃」，較佳為 13℃~17℃，更佳為 14℃~16℃，再佳為 15℃。

【0091】(ii)的步驟的反應時間較佳為 0.5~2 小時。

【0092】(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑，可為了使與(ii)的步驟所殘留之由式(2)所表示之化合物進行反應而使用。換言之，(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑，可為了使多餘的由式(2)所表示之化合物進行淬火而使用。

【0093】作為(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑，只要為可與由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基進行反應者則未被特別限制，但可使用例如 N-乙醯半胱胺酸及半胱胺酸，較佳可使用 N-乙醯半胱胺酸。

【0094】(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑較佳為相對於一分子抗體可使用 10~50 當量，更佳可使用 10~30 當量。

【0095】(iii)的步驟較佳為可在 5~25℃的內溫下進行，更佳為可在 10~20℃的內溫下進行，再佳為可在約 15℃的內溫下

進行。於此，所謂「約 15°C」，較佳為 13°C~17°C，更佳為 14°C~16°C，再佳為 15°C。

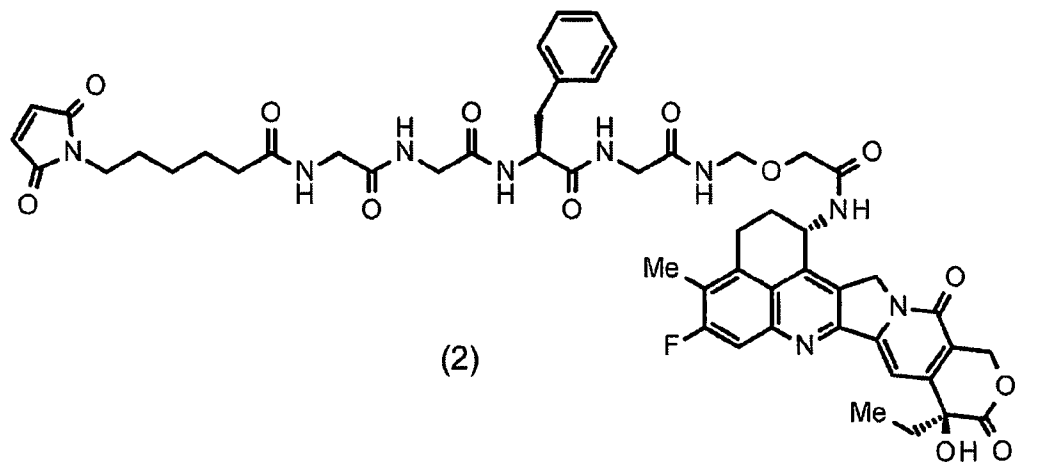
【0096】(iii)的步驟的反應時間較佳為 0.5~2 小時。

【0097】

5. 抗體-藥物結合物的純化

本發明的抗體-藥物結合物的製造方法，其特徵在於，藉由以下步驟而純化：(i)以還原劑還原抗體的步驟；

(ii)使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，



接著，(iii)添加具有硫醇基的試劑的步驟；

將藉此所得之該包含抗體-藥物結合物的未純化物或粗純化物之溶液，進行

(iv)藉由使用含有由強酸與強鹼而成的鹽的緩衝液的超過濾，去除在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(i)的步驟所使用之還原劑的化合物、及在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑的化合物的步驟。

【0098】本發明中，所謂「抗體-藥物結合物的未純化物或

粗純化物」，意指在剛進行完(i)～(iii)的步驟後之未純化狀態的抗體-藥物結合物、或利用層析法以外的操作(例如超過濾以外的簡易過濾)而呈粗純化狀態的抗體-藥物結合物。作為超過濾以外的簡易過濾，可列舉例如精密過濾(膜過濾器過濾)。

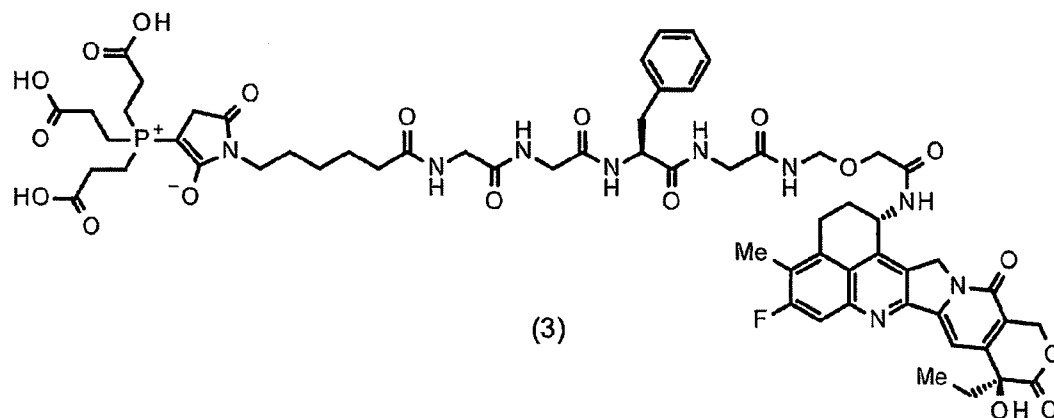
【0099】又，上述「抗體-藥物結合物的未純化物或粗純化物」，亦可為以(iv)的步驟所使用之緩衝液成為適當 pH 之方式調整 pH 者。此 pH 調整較佳為可使用乙酸水溶液進行，更佳為可使用 10%乙酸水溶液進行。

【0100】本發明中，所謂「超過濾」，意指藉由通過具有約 $0.001\mu\text{m}$ 至約 $0.05\mu\text{m}$ 的範圍的細孔徑的膜(超過濾膜)進行過濾，而區分大的溶質分子與小的溶質分子，或區分溶質分子與溶劑分子之純化方法。超過濾膜，一般具有 $1\text{kDa}\sim 1000\text{kDa}$ 的範圍的截留分子量(Molecular Weight Cut Off, MWCO)。MWCO，一般被定義為藉由此膜而保持 90%的球狀溶質的分子量。本發明的超過濾較佳為可使用 MWCO 為 $1\text{kDa}\sim 100\text{kDa}$ 的超過濾膜進行，更佳為可使用 30kDa 的超過濾膜進行。又，作為超過濾膜的材質，可列舉例如再生纖維素、乙酸纖維素、芳香族聚醯胺、聚乙烯醇、聚砵、聚醚砵、聚偏二氟乙烯、聚乙烯、聚丙烯腈、耐綸、及陶瓷。本發明的超過濾較佳為可使用將再生纖維素作為材質的超過濾膜進行，但不限於此。作為本發明所使用之超過濾膜的例子，可列舉 Pellicon(註冊商標)XL Cassette Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製)、Pellicon(註冊商標)2 Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製)、及 Pellicon(註冊商標)3 Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製)。此外，超過濾就狹義而言，亦有意指藉由壓力操作或離心操作而強制進行過濾的方法之情

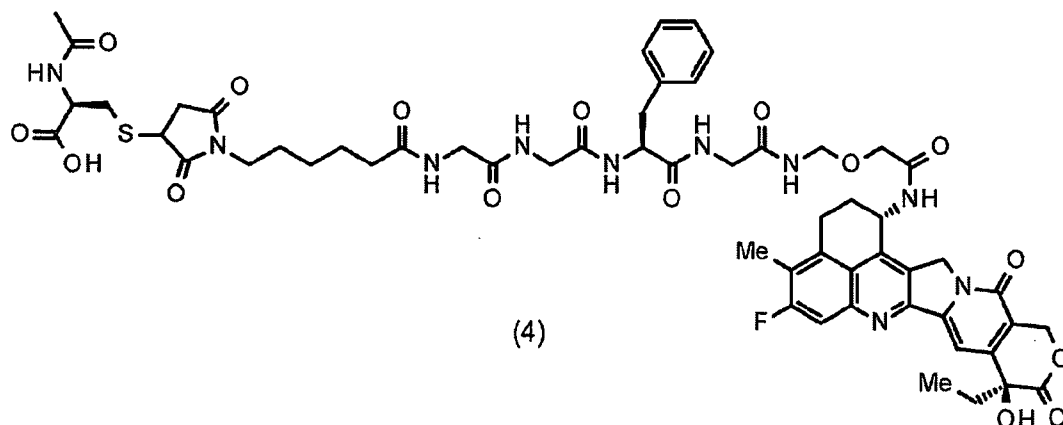
形，另一方面，藉由被動擴散而進行過濾的方法亦有一般被稱為「透析過濾」之情形，但只要是使用超過濾膜，則任一情形皆包含在本發明中的「超過濾」。

【0101】本發明中，所謂「凝聚物」，意指能在廣範圍的 pH 及導電率的條件下穩定之包含蛋白質分子的集合體與其他任意成分之微粒。抗體-藥物結合物製劑中之凝聚物的形成，會成為對接受該製劑的投與的患者造成免疫原性或靜脈疾病的主要原因等，在醫療上，會造成不被期望的影響。因此，在抗體-藥物結合物的製劑化時，要求抑制凝聚物的形成。

【0102】(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽之情形，去除在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(i)的步驟所使用之還原劑的化合物，係由式(3)所表示之化合物，



【0103】(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑為 N-乙醯半胱氨酸之情形，在由式(2)所表示之化合物的馬來醯亞胺基上加成有(iii)的步驟所使用之具有硫醇基的試劑的化合物，係由式(4)所表示之化合物，



【0104】藉由進行(iv)的步驟，相較於進行(iv)的步驟前，式(3)所表示之化合物、及式(4)所表示之化合物，較佳為可去除 97%，更佳為可去除 98%，再佳為可去除 99%，再佳為可去除 100%。

【0105】(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為約 5。於此，所謂「為約 5」，較佳為 4.7~5.3 的範圍，更佳為 4.8~5.2 的範圍，再佳為 4.9~5.1 的範圍，再佳為 5.0。藉由以此 pH 進行超過濾，可抑制凝聚物的生成。本步驟後的凝聚物量較佳為 4% 以下，更佳為 2% 以下。此外，原料的抗體本身也含有一定程度的凝聚物，本步驟中的凝聚物量係以包含此等在內的合計量進行偵測。

【0106】(iv)的步驟所使用之緩衝液，可列舉例如含有由強酸與強鹼而成的鹽之組胺酸緩衝液、含有由強酸與強鹼而成的鹽之乙酸緩衝液、或含有由強酸與強鹼而成的鹽之磷酸緩衝液，較佳可列舉含有由強酸與強鹼而成的鹽之組胺酸緩衝液。

【0107】由強酸與強鹼而成的鹽的濃度，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，較佳為 0.2~1 重量%，更佳為 0.3~0.9 重量%，再佳為 0.3~0.8 重量%，再佳為 0.4~0.7 重量%，再佳為

約 0.5 重量%。於此，所謂「大約為 0.5 重量%」，較佳為 0.4～0.6 重量%，再佳為 0.5 重量%。

【0108】(iv)的步驟所使用之緩衝液所含的由強酸與強鹼而成的鹽，只要表現本發明效果則未被特別限制，但例如為選自包含氯化鈉、氯化鉀、硫酸鈉、及硫酸鉀之群組的至少任一種鹽、或二種以上的組合的鹽，較佳為氯化鈉。

【0109】本發明的製造方法較佳為在(iv)的步驟後包含(v)藉由使用緩衝液的超過濾，去除由強酸與強鹼而成的鹽的步驟。

【0110】(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH，只要表現本發明效果則未被特別限制，但例如為 4～6 的範圍，較佳為大約為 5。於此，所謂「大約為 5」，較佳為 4.7～5.3 的範圍，再佳為 4.8～5.2 的範圍，再佳為 4.9～5.1 的範圍，再佳為 5.0。

【0111】作為(v)的步驟所使用之緩衝液，只要表現本發明效果則未被特別限制，但較佳為可使用組胺酸緩衝液。此組胺酸緩衝液實質上不含有由強酸與強鹼而成的鹽。

【0112】根據以上方法，藉由超過濾，可去除源自由式(2)所表示之化合物的副產物，再者，因凝聚物的生成亦可最小化，故可提供不需利用層析法(例如選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種)的純化的工業上優異的純化方法。

【0113】

6. 抗體-藥物結合物的平均藥物結合數的計算

所製造的抗體-藥物結合物的每一分子抗體的平均藥物結合數的計算，例如可利用藉由測定在 280nm 及 370nm 此二波長的抗體-藥物結合物與其接合前驅物的 UV 吸光度而計算的方法

(UV 法)、藉由 HPLC 測定而定量並計算利用還原劑處理抗體-藥物結合物而得之各片段的方法(HPLC 法)而進行。

【0114】抗體-藥物結合物的每一分子抗體的平均藥物結合數的計算，可參考國際公開第 2014/057687 號、國際公開第 2015/098099 號、國際公開第 2015/115091 號、國際公開第 2015/155998 號、國際公開第 2018/135501 號、及國際公開第 2018/212136 號等的記載而實施。

【0115】HPLC 法例如可藉由以下方法進行。

【0116】

(1)HPLC 分析用樣本的製備(抗體-藥物結合物的還原)

將抗體-藥物結合物溶液(約 1mg/mL，60 μ L)與二硫蘇糖醇(DTT)水溶液(100mM，15 μ L)進行混合。將混合物在 37 $^{\circ}$ C 培養 30 分鐘，將藉此而已剪切抗體-藥物結合物的鏈間的雙硫鍵的樣本用於 HPLC 分析。

【0117】

(2)HPLC 分析

HPLC 分析可利用依據各抗體性質的測定條件進行。

【0118】例如，抗體為抗 HER2 抗體(包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)、或抗 HER3 抗體(包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，可利用下述測定條件進行 HPLC 分析。

【0119】HPLC 系統：Agilent 1290 HPLC 系統(Agilent

Technologies)

偵測器：紫外線吸光度計(測定波長：280nm)

管柱：PLRP-S(2.1×50mm、8μm、1000 Å；Agilent Technologies，P/N PL1912-1802)

管柱溫度：80°C

移動相 A：0.04%三氟乙酸(TFA)水溶液

移動相 B：包含 0.04% TFA 的乙腈溶液

梯度程序：29%～36%(0 分鐘～12.5 分鐘)、36%～42%(12.5～15 分鐘)、42%～29%(15 分鐘～15.1 分鐘)、29%～29%(15.1 分鐘～25 分鐘)

樣本注入量：15μL

【0120】又，抗體為抗 GPR20 抗體(包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)、或抗 CDH6 抗體(包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，可利用下述條件進行 HPLC 分析。

【0121】HPLC 系統：Agilent 1290 HPLC 系統(Agilent Technologies)

偵測器：紫外線吸光度計(測定波長：280nm)

管柱：ACQUITY UPLC BEH Phenyl(2.1×50mm、1.7μm、130 Å；Waters，P/N 186002884)

管柱溫度：80°C

移動相 A：0.10%三氟乙酸(TFA)、包含 15%2-丙醇的水溶

液

移動相 B：0.075%TFA、包含 15% 2-丙醇的乙腈溶液

梯度程序：14%~36%(0 分鐘~15 分鐘)、36%~80%(15 分鐘~17 分鐘)、80%~14%(17 分鐘~17.01 分鐘)、14%(17.01 分鐘~25 分鐘)

樣本注入量：10 μ L

【0122】

(3)資料分析

相對於未結合藥物的抗體的輕鏈(L₀)及重鏈(H₀)，結合藥物的輕鏈(結合一個藥物的輕鏈：L₁)及重鏈(結合一個藥物的重鏈：H₁，結合二個藥物的重鏈：H₂，結合三個藥物的重鏈：H₃)，疏水性與所結合的藥物數量呈比例增加，保持時間變大，因此依序溶出 L₀、L₁、H₀、H₁、H₂、H₃。藉由與 L₀ 及 H₀ 的保持時間比較，可將偵測峰分配至 L₀、L₁、H₀、H₁、H₂、H₃ 的任一者。

【0123】因藥物連接子具有 UV 吸收，故依據藥物連接子的結合數，使用輕鏈、重鏈及藥物連接子的莫耳吸光係數並遵照下述公式進行峰面積值的補正。

【0124】

輕鏈峰面積補正值 (L_i)

= 峰面積

$$\times \frac{\text{輕鏈的莫耳吸光係數}}{\text{輕鏈的莫耳吸光係數} + \text{藥物結合數} \times \text{藥物連結子的莫耳吸光係數}}$$

【0125】

重鏈峰面積補正值 (H_i)

= 峰面積

$$\times \frac{\text{重鏈的莫耳吸光係數}}{\text{重鏈的莫耳吸光係數} + \text{藥物結合數} \times \text{藥物連結子的莫耳吸光係數}}$$

【0126】於此，各抗體中的輕鏈及重鏈的莫耳吸光係數(280nm)，可使用藉由既知的計算方法(Protein Science, 1995, vol.4, 2411-2423)，從各抗體的輕鏈及重鏈的胺基酸序列所推定的值。

【0127】例如，抗體為抗 HER2 抗體(包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，可使用 26150 作為輕鏈的莫耳吸光係數的推定值，使用 81290 作為重鏈的莫耳吸光係數的推定值。

【0128】又，抗體為抗 HER3 抗體(包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，可使用 34690 作為輕鏈的莫耳吸光係數的推定值，可使用 95000 作為重鏈的莫耳吸光係數的推定值。

【0129】又，抗體為抗 GPR20 抗體(包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，可使用 26210 作為輕鏈的莫耳吸光係數的推定值，可使用 68990 作為重鏈的莫耳吸光係數的推定值。

【0130】又，抗體為抗 CDH6 抗體(包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，可使用 31710 作為輕鏈的莫耳吸光係數的推定值，可使用 79990 作為重鏈的莫耳吸光係數的推定值。

【0131】藥物連接子的莫耳吸光係數(280nm)，可使用利用巰乙醇或 N-乙醯半胱胺酸使各藥物連接子中間體進行反應，而將馬來醯亞胺基轉換成琥珀醯亞胺基硫醚(succinimide thioether)的化合物的實測莫耳吸光係數(280nm)。

【0132】遵照下述公式計算相對於峰面積補正值合計的各鏈峰面積比(%)。

【0133】

$$\text{輕鏈峰面積比} = \frac{A_{Li}}{A_{L0} + A_{L1}} \times 100$$

$$\text{重鏈峰面積比} = \frac{A_{Hi}}{A_{H0} + A_{H1} + A_{H2} + A_{H3}} \times 100$$

A_{Li} 、 A_{Hi} ： L_i 、 H_i 各峰面積補正值。

【0134】遵照下述公式計算抗體-藥物結合物中的平均藥物結合數。

【0135】平均藥物結合數 = (L_0 峰面積比 $\times 0 + L_1$ 峰面積比 $\times 1 + H_0$ 峰面積比 $\times 0 + H_1$ 峰面積比 $\times 1 + H_2$ 峰面積比 $\times 2 + H_3$ 峰面積比 $\times 3$)/100 $\times 2$

【0136】本發明中，所謂「抗 HER2 抗體-藥物結合物」，表示藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物中的抗體為抗 HER2 抗體之抗體-藥物結合物。

【0137】抗 HER2 抗體較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重

鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體。

【0138】抗 HER2 抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數較佳為 7 至 8，再佳為 7.5 至 8，再佳為約 8。

【0139】本發明中，所謂「抗 HER3 抗體-藥物結合物」，表示藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物中的抗體為抗 HER3 抗體之抗體-藥物結合物。

【0140】抗 HER3 抗體較佳為包含以下重鏈及輕鏈的抗體：含有由序列識別號 3 中胺基酸編號 26 至 35 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH1、由序列識別號 3 中胺基酸編號 50 至 65 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH2、及由序列識別號 3 中胺基酸編號 98 至 106 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH3 之重鏈；含有由序列識別號 4 中胺基酸編號 24 至 39 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL1、由序列識別號 4 中胺基酸編號 56 至 62 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL2、及由序列識別號 4 中胺基酸編號 95 至 103 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL3 之輕鏈，

【0141】更佳為包含以下重鏈及輕鏈的抗體：含有由序列識別號 3 中胺基酸編號 1 至 117 所記載的胺基酸序列而成的重鏈可變區之重鏈；含有由序列識別號 4 中胺基酸編號 1 至 113 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈可變區之輕鏈的抗體，

【0142】再佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體。

【0143】抗 HER3 抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數較佳為 7 至 8，再佳為 7.5 至 8，再佳為約 8。

【0144】本發明中，所謂「抗 GPR20 抗體-藥物結合物」，表示藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物中的抗體為抗 GPR20 抗體之抗體-藥物結合物。

【0145】抗 GPR20 抗體較佳為包含以下重鏈及輕鏈的抗體：含有由序列識別號 5 中胺基酸編號 45 至 54 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH1、由序列識別號 5 中胺基酸編號 69 至 78 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH2、及由序列識別號 5 中胺基酸編號 118 至 131 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH3 之重鏈；含有由序列識別號 6 中胺基酸編號 44 至 54 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL1、由序列識別號 6 中胺基酸編號 70 至 76 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL2、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 109 至 117 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL3 之輕鏈，

更佳為包含以下重鏈及輕鏈的抗體：含有由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 142 所記載的胺基酸序列而成的重鏈可變區之重鏈；含有由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 129 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈可變區之輕鏈，

【0146】再佳為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體。

【0147】抗 GPR20 抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數較佳為 2 至 8，更佳為 3 至 8，再佳為 7 至 8，再佳為 7.5 至 8，再佳為約 8。

【0148】本發明中，所謂「抗 CDH6 抗體-藥物結合物」，表示藉由本發明而製造之抗體-藥物結合物中的抗體為抗 CDH6

抗體之抗體-藥物結合物。

【0149】抗 CDH6 抗體較佳為包含以下重鏈及輕鏈的抗體：含有由序列識別號 7 中胺基酸編號 45 至 54 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH1、由序列識別號 7 中胺基酸編號 69 至 78 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH2、及由序列識別號 7 中胺基酸編號 118 至 130 所記載的胺基酸序列而成的 CDRH3 之重鏈；含有由序列識別號 8 中胺基酸編號 44 至 54 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL1、由序列識別號 8 中胺基酸編號 70 至 76 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL2、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 109 至 116 所記載的胺基酸序列而成的 CDRL3 之輕鏈，

【0150】更佳為包含以下重鏈及輕鏈的抗體：含有由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 141 所記載的胺基酸序列而成的重鏈可變區之重鏈；含有由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 128 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈可變區之輕鏈，

【0151】再佳為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體。

【0152】抗 CDH6 抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數較佳為 2 至 8，更佳為 3 至 8，再佳為 7 至 8，再佳為 7.5 至 8，再佳為約 8。

【0153】

7. 醫藥組成物的製造

本發明之醫藥組成物係包含本發明之抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物。

【0154】此醫藥組成物係可將藉由上述方法所製造(包含純化)之抗體-藥物結合物，進一步施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)的步驟而進行製造：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、
(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及
(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整至指定 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

【0155】(vi)的步驟所添加的緩衝液較佳為與(v)的步驟所能使用的緩衝液相同。因此，作為(vi)的步驟所能使用的緩衝液，較佳為可使用組胺酸緩衝液。

【0156】(viii)的步驟所進行之 pH 的調整，在(vi)的步驟所能使用的緩衝液為組胺酸緩衝液之情形，較佳為可使用組胺酸水溶液。

【0157】本發明中，所謂「賦形劑」，表示為了提高醫藥品的成形、處理、及服藥的便利性，以做成一定的大小或濃度為目的所添加的物質。作為此種賦形劑，只要表現本發明效果則未被特別限制，但可列舉例如蔗糖、海藻糖、山梨醇。

【0158】作為(ix)的步驟所添加的賦形劑，較佳為可使用蔗糖。

【0159】再者，本發明之醫藥組成物較佳為進一步包含界面活性劑。亦即，本發明之醫藥組成物，更佳為包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑、及界面活性劑的醫藥組成物。

【0160】此醫藥組成物，可藉由在上述(ix)的步驟之後進一

步施以包含(x)添加界面活性劑的步驟之步驟，而進行製造。

【0161】作為(x)的步驟所添加的界面活性劑，較佳為可使用聚山梨醇酯 80、或聚山梨醇酯 20。

【0162】醫藥組成物中的緩衝液、賦形劑、界面活性劑、及抗體-藥物結合物的濃度、以及、醫藥組成物的 pH，可依據所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數、及抗體的種類而適當選擇。

【0163】例如，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER2 抗體(較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，作為醫藥組成物中的緩衝液、賦形劑、及界面活性劑，較佳為可使用組胺酸緩衝液(較佳為 25mM 組胺酸緩衝液)、蔗糖(較佳為 9%蔗糖)、及聚山梨醇酯 80(較佳為 0.03%聚山梨醇酯 80)，醫藥組成物中的抗體-藥物結合物的濃度較佳為 20mg/mL，醫藥組成物的 pH 較佳為 5.5。

【0164】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER3 抗體(較佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，作為醫藥組成物中的緩衝液、賦形劑、及界面活性劑，較佳為可使用

組胺酸緩衝液(較佳為 25mM 組胺酸緩衝液)、蔗糖(較佳為 9% 蔗糖)、及聚山梨醇酯 20(較佳為 0.03%聚山梨醇酯 20)，醫藥組成物中的抗體-藥物結合物的濃度較佳為 20mg/mL，醫藥組成物的 pH 較佳為 5.4。

【0165】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 GPR20 抗體(較佳為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，作為醫藥組成物中的緩衝液、賦形劑、及界面活性劑，較佳為可使用組胺酸緩衝液(較佳為 10mM 組胺酸緩衝液)、蔗糖(較佳為 9%蔗糖)、及聚山梨醇酯 80(較佳為 0.03%聚山梨醇酯 80)，醫藥組成物中的抗體-藥物結合物的濃度較佳為 20mg/mL，醫藥組成物的 pH 較佳為 5.4。

【0166】又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 CDH6 抗體(較佳為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，作為醫藥組成物中的緩衝液、賦形劑、及界面活性劑，較佳為可使用組胺酸緩衝液(較佳為 10mM 組胺酸緩衝液)、蔗糖(較佳為 9%蔗糖)、及聚山梨醇酯 80(較佳為 0.03%聚山梨醇酯 80)，醫藥組成物中的抗體-藥物結合物的濃度較佳為 20mg/mL，醫藥組成物的 pH 較佳為

5.4。

【0167】

8.醫藥組成物的使用

本發明的醫藥組成物，除了適用作為對患者的全身療法以外，亦可局部適用於癌組織並期待治療效果。

【0168】 本發明的醫藥組成物，可較佳地對哺乳動物使用，更佳為可對人類使用。

【0169】 作為用於投與本發明的醫藥組成物所能使用的導入路徑，可列舉例如靜脈內、皮內、皮下、肌肉內、及腹腔內的路徑，但較佳為靜脈內。

【0170】 本發明的醫藥組成物為水性注射劑之情形，較佳為可利用適當稀釋液進行稀釋後，在靜脈內進行點滴投與。作為稀釋液，可列舉葡萄糖溶液、生理食鹽水等，較佳可列舉葡萄糖溶液，更佳可列舉 5%葡萄糖溶液。

【0171】 本發明的醫藥組成物為冷凍乾燥注射劑之情形，較佳為可藉由注射用水進行溶解後，將必要量利用適當稀釋液進行稀釋後，在靜脈內進行點滴投與。作為稀釋液，可列舉葡萄糖溶液、生理食鹽水等，較佳可列舉葡萄糖溶液，更佳可列舉 5%葡萄糖溶液。

【0172】 本發明的醫藥組成物，在對於本發明的抗體-藥物結合物的抗原之親和性，亦即，對於抗原的解離常數(K_d 值)的點中，親和性愈高(K_d 值愈低)，愈即使為少量的投與量亦可發揮藥效。因此，本發明的醫藥組成物的投與量，亦可基於與抗原的親和性的狀況而設定。在將本發明的醫藥組成物對於人類進行投與之際，例如作為抗體-藥物結合物，只要 1 次或以 1~180 日 1 次

的間隔複數次投與約 0.001~100mg/kg(於此，所謂「mg/kg」，意指每 1kg 人類體重的抗體-藥物結合物的投與量)即可，但較佳為可列舉將 0.8mg/kg~8mg/kg 以 3 週 1 次進行投與的方法。

【0173】抗體-藥物結合物的投與量及投與間隔，可依據所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數、及抗體的種類而適當選擇。例如，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER2 抗體(較佳為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或包含由序列識別號 1 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)之情形，較佳可列舉將 0.8mg/kg、1.6mg/kg、3.2mg/kg、5.4mg/kg、6.4mg/kg、7.4mg/kg、或 8mg/kg 的抗體-藥物結合物以 3 週 1 次進行投與的方法，更佳可列舉將 5.4mg/kg、6.4mg/kg、7.4mg/kg、或 8mg/kg 的抗體-藥物結合物以 3 週 1 次進行投與的方法，再佳可列舉將 5.4mg/kg、或 6.4mg/kg 的抗體-藥物結合物以 3 週 1 次進行投與的方法。又，所製造的抗體-藥物結合物的每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍且抗體為抗 HER3 抗體(較佳為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體、或該抗體的重鏈羧基末端的離胺酸殘基缺失抗體)之情形，較佳可列舉將 1.6mg/kg、3.2mg/kg、4.8mg/kg、5.6mg/kg、6.4mg/kg、8.0mg/kg、9.6mg/kg、或 12.8mg/kg 的抗體-藥物結合物以 3 週 1 次進行投與的方法，更佳可列舉將

4.8mg/kg、5.6mg/kg、或 6.4mg/kg 的抗體-藥物結合物以 3 週 1 次進行投與的方法。

【0174】本發明的醫藥組成物，可為了癌的治療而使用，較佳為了選自包含乳癌、胃癌(亦稱為胃腺癌)、大腸癌(亦有稱為結腸直腸癌，包含結腸癌及直腸癌)、肺癌(包含小細胞肺癌及非小細胞肺癌)、食道癌、頭頸部癌(包含唾液腺癌及咽喉癌)、胃食道接合部腺癌、膽道癌(包含膽管癌)、佩吉特氏病(Paget's disease)、胰臟癌、卵巢癌、子宮癌肉瘤、尿道上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、消化道間質瘤、子宮頸癌、扁平上皮癌、腹膜癌、肝臟癌、肝細胞癌、子宮體癌、腎臟癌、外陰部癌、甲狀腺癌、陰莖癌、白血病、惡性淋巴瘤、漿細胞瘤、骨髓瘤、多形性神經膠質母細胞瘤、骨肉瘤、及黑色素瘤之群組的至少一種的癌的治療而使用。

【0175】本發明的醫藥組成物，可作為用於為癌治療的主要治療法之藥物療法的藥劑而選擇使用，作為其結果，使癌細胞的成長緩慢、抑制增殖，進一步可破壞癌細胞。藉由此等作用，在癌患者中，從由癌所致之症狀的解放、可達成 QOL 的改善、保持癌患者的生命而達成治療效果。即使是未達到破壞癌細胞之情形，藉由癌細胞的增殖的抑制或控制，亦可在癌患者中達成更高的 QOL 且達成更長期的生存。

【0176】除了在此種藥物療法中的以藥物單獨的使用以外，本發明的醫藥組成物亦可在輔助治療中與其他療法組合使用，可與外科手術、放射線療法、荷爾蒙療法等組合。再者，亦可作為術前輔助治療(Neoadjuvant therapy)中的藥物療法而使用。

【0177】除了如以上的治療的使用以外，本發明的醫藥組成

物亦可期待壓抑細微的轉移癌細胞的增殖，甚至進行破壞等預防效果。例如，可期待抑制並破壞在轉移過程中位於體液中的癌細胞之效果、剛在任一組織著床後對於細微的癌細胞的抑制、破壞等效果。因此，特別可期待在外科性去除癌後的癌轉移的抑制、預防效果。

【0178】本發明的醫藥組成物，亦可與其他癌治療劑併用而投與，藉此可使抗腫瘤效果增強。以此各種目的所使用之其他癌治療劑，亦可與本發明的醫藥組成物同時且分別或連續投與至個體，亦可改變個別的投與間隔而投與。作為此各種癌治療劑，只要為具有抗腫瘤活性的藥劑便無限制，但可列舉例如選自包含愛萊諾迪肯(Irinotecan，CPT-11)、順鉑(Cisplatin)、卡鉑(Carboplatin)、奧沙利鉑(Oxaliplatin)、氟尿嘧啶(Fluorouracil，5-FU)、吉西他濱(Gemcitabine)、卡培他濱(Capecitabine)、紫杉醇(Paclitaxel)、歐洲紫杉醇(Docetaxel)、阿黴素(Doxorubicin)、泛艾黴素(Epirubicin)、環磷醯胺(Cyclophosphamide)、絲裂黴素 C(Mitomycin C)、替加氟(Tegafur)-吉美拉西(Gimeracil)-奧替拉西(Oteracil)複合劑、西妥昔單抗(Cetuximab)、帕尼單抗(Panitumumab)、貝伐單抗(Bevacizumab)、雷莫蘆單抗(Ramucirumab)、瑞格非尼(Regorafenib)、三氟胸苷(Trifluridine)-胸苷磷酸化酶抑制劑(Tipiracil)複合劑、吉非替尼(Gefitinib)、厄洛替尼(Erlotinib)、阿法替尼(Afatinib)、氨甲蝶呤(Methotrexate)、培美曲塞(Pemetrexed)、曲妥珠單抗美坦辛(Trastuzumab emtansin)、曲妥珠單抗(Trastuzumab)、帕妥珠單抗(Pertuzumab)、泰莫西芬(Tamoxifen)、托瑞米芬

(Toremifene)、氟維司群(Fulvestrant)、亮丙瑞林(Leuprorelin)、戈舍瑞林(Goserelin)、來曲唑(Letrozole)、阿那曲唑(Anastrozole)、及黃體素製劑(Progesterone formulation)之群組的至少一種。

[實施例]

【0179】以下舉出實施例更詳細地說明本發明，但本發明不受限於此等。

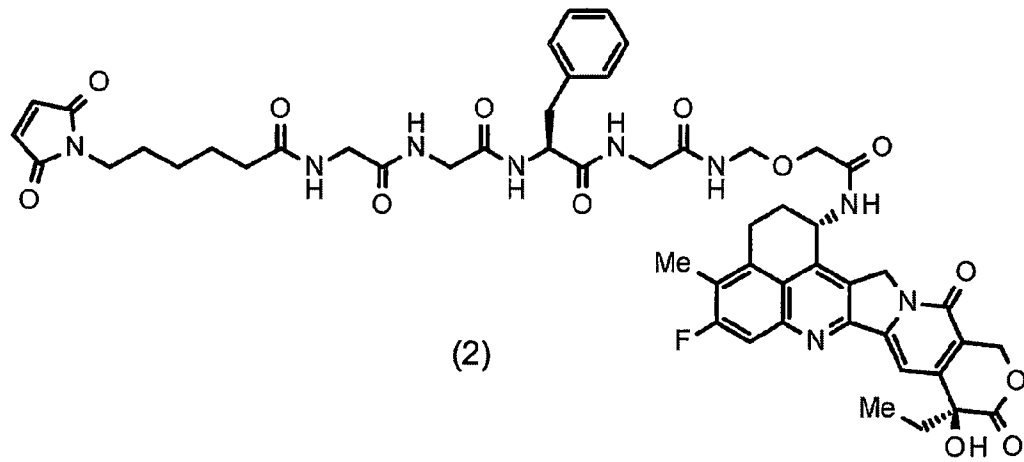
【0180】

[實施例 1]緩衝液的探討

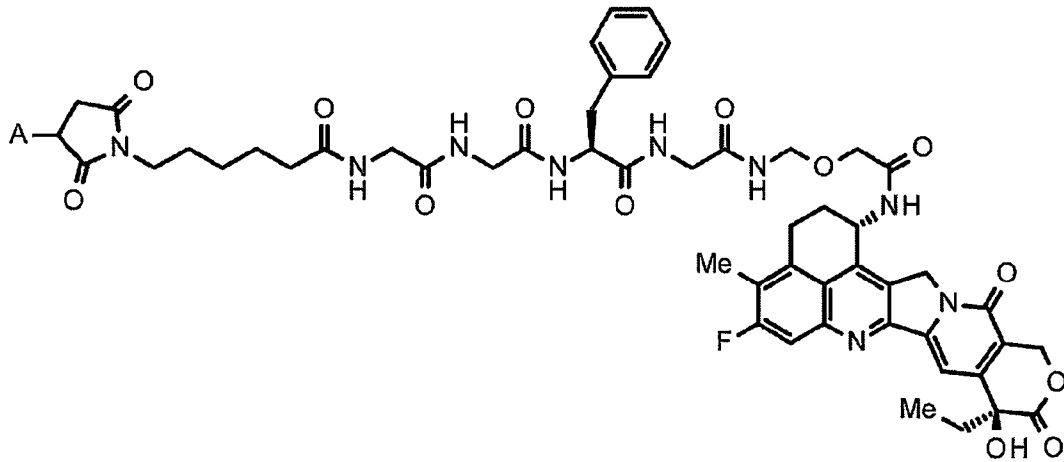
將包含抗 HER2 抗體(包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液，利用各種緩衝液(10mM 乙酸緩衝液、10mM 磷酸緩衝液、或 20mM PIPES 緩衝液)進行稀釋，添加 0.5mol/L 的 EDTA 水溶液後，添加各種弱鹼性水溶液(0.3mol/L 的磷酸氫二鈉水溶液(以下亦稱為「aq.Na₂HPO₄」)、飽和乙酸鈉水溶液(以下亦稱為「aq.CH₃COONa」)、或 0.5mol/L 的碳酸氫鈉水溶液(以下亦稱為「aq.NaHCO₃」)，調整成 pH7。在 37°C 攪拌下，相對於一分子抗體，添加 4.8 當量或 4.9 當量的參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽(以下亦稱為「TCEP」)水溶液(1mg/mL)並進行攪拌，還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0181】一邊將所得之反應液在內溫 15°C 或 25°C 進行攪拌，一邊在溶解於 80%二甲亞砷水溶液的狀態下添加相對於一分子抗體為 9.2 當量或 9.8 當量的由式(2)所表示之化合物(亦稱為化合物(2))，使其與抗體結合。接著，添加 50mmol/L 的 N-乙

鹽半胱胺酸水溶液，使多餘的化合物(2)進行淬火，



藉此，獲得由下式所示之藥物連接子與抗 HER2 抗體藉由硫醚鍵而結合的抗 HER2 抗體-藥物結合物，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0182】利用 HPLC 法測定所得之抗 HER2 抗體-藥物結合物的 DAR。又，利用 SEC 測定凝聚物的含有率。

【0183】將結果揭示於表 1。

【0184】[表 1]

緩衝液	pH 調整	還原步驟		接合步驟		DAR	凝聚物
		TCEP	內溫	化合物(2)	內溫		
乙酸緩衝液	aq. Na ₂ HPO ₄	4.8 當量	37°C	9.2 當量	15°C	7.89	0.66%
乙酸緩衝液	aq. Na ₂ HPO ₄	4.8 當量	37°C	9.2 當量	25°C	7.88	0.92%
磷酸緩衝液	aq. Na ₂ HPO ₄	4.8 當量	37°C	9.2 當量	15°C	7.89	1.54%
PIPES 緩衝液	aq. Na ₂ HPO ₄	4.8 當量	37°C	9.2 當量	15°C	7.89	1.61%
乙酸緩衝液	aq. CH ₃ COONa	4.9 當量	37°C	9.8 當量	15°C	7.80	1.13%
乙酸緩衝液	aq. NaHCO ₃	4.9 當量	37°C	9.8 當量	15°C	7.81	2.13%

【0185】在表 1 的結果中，使用以磷酸氫二鈉水溶液調整 pH 調整的乙酸緩衝液之情形，凝聚物的含有率顯示為最低值。

【0186】

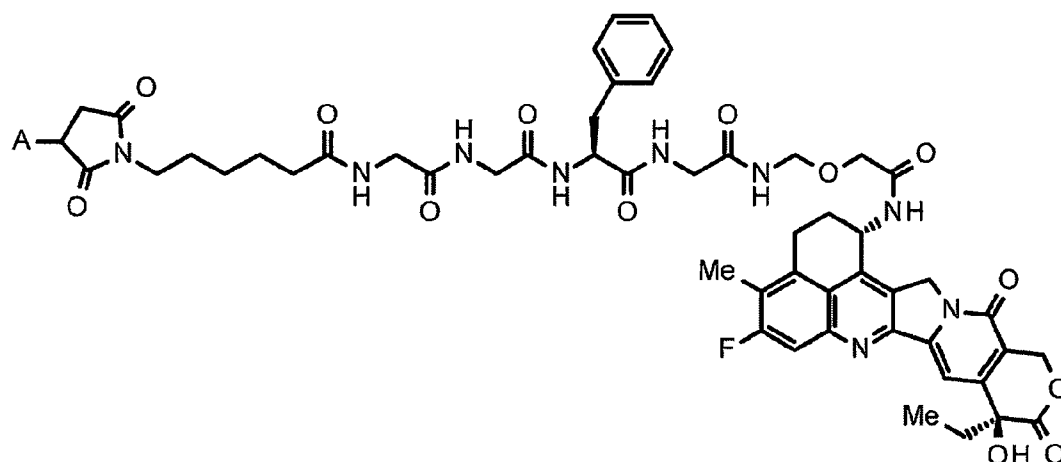
[實施例 2]超過濾步驟的探討(1)

將包含抗 HER2 抗體(包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液，利用 10mM 乙酸緩衝液(pH5.5)進行稀釋，添加 0.5mol/L 的 EDTA 水溶液(相對於一分子抗體為 5 當量)後，添加 0.3mol/L 的磷酸氫二鈉水溶液，調整成 pH7.4。

【0187】在 35~39°C 攪拌下，添加 0.010mol/L 的參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽水溶液(相對於一分子抗體為 6 當量)，在內溫 35~39°C 攪拌 2.5 小時，還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0188】一邊將所得之反應液在內溫 13~17°C 進行攪拌，一邊以溶解於 80%二甲亞砷水溶液的狀態添加化合物(2)(相對於一分子抗體為 12.5 當量)，使其與抗體結合。接著，添加 0.1mol/L 的 N-乙醯半胱胺酸水溶液(相對於一分子抗體為 35 當量)，進一步在相同溫度攪拌 1 小時，使多餘的化合物(2)淬火後，

使用 10% 乙酸水溶液，將反應液調整成 pH5.0。藉此，獲得包含由下式所示之藥物連接子與抗 HER2 抗體藉由硫醚鍵而結合的抗 HER2 抗體-藥物結合物之反應液，

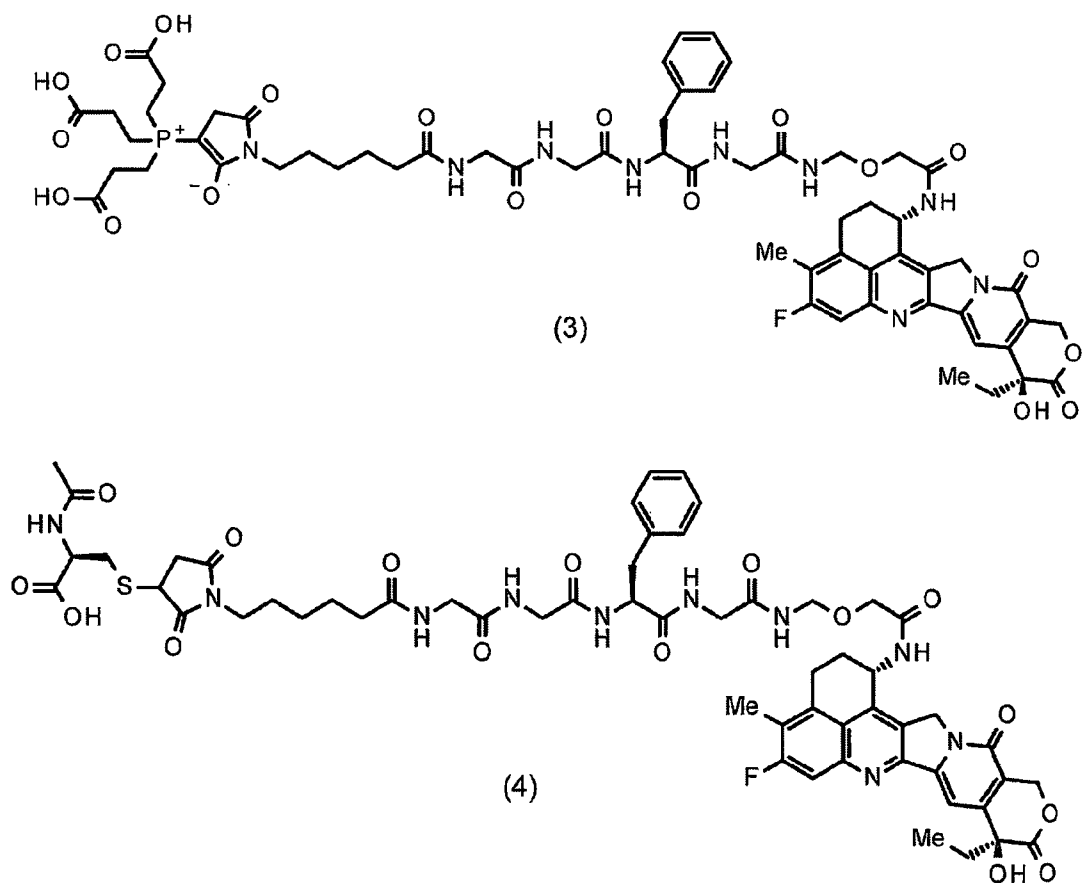


(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0189】將所得之反應液，使用為超過濾膜之 Pellicon(註冊商標)XL Cassette Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製)，利用滾筒幫浦，一邊添加 26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)、或含有 0.5% 氯化鈉的 26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，進行超過濾。26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)、及含有 0.5% 氯化鈉的 26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)，相對於所得之反應液，分別使用 5 倍、10 倍、或 15 倍的量，測定超過濾後之源自化合物(2)的副產物相對於抗體-藥物結合物的含有率。又，作為比較，測定未進行超過濾之情形之源自化合物(2)的副產物的含有率(此情形，將使用的緩衝液量表示為 0)。

【0190】於此，作為源自化合物(2)的副產物，可列舉在化合物(2)的馬來醯亞胺基加成參(2-羧乙基)膦的化合物，亦即，由式(3)所表示之化合物(亦稱為化合物(3))、及在化合物(2)的馬來醯亞胺基加成 N-乙醯半胱胺酸的化合物，亦即，由式(4)所表示

之化合物(亦稱為化合物(4))，



【0191】源自化合物(2)的副產物的含有率的測定，係藉由利用 HPLC 法測定化合物(3)及化合物(4)分別對於抗體-藥物結合物的含有率而進行。將結果揭示於表 2 及圖 1。

【0192】[表 2]

緩衝液量 /反應液量	組胺酸緩衝液		含有 0.5%氯化鈉的 組胺酸緩衝液	
	化合物(3)的 含有率(%)	化合物(4)的 含有率(%)	化合物(3)的 含有率(%)	化合物(4)的 含有率(%)
0	23.37	27.12	23.25	26.78
5	10.03	8.19	3.53	4.67
10	4.91	2.76	0.58	0.98
15	2.60	1.04	0.11	0.25

【0193】在表 2 的結果中，以相同緩衝液量/反應液量進行比較之情形，相較於使用組胺酸緩衝液之情形，使用含氯化鈉的

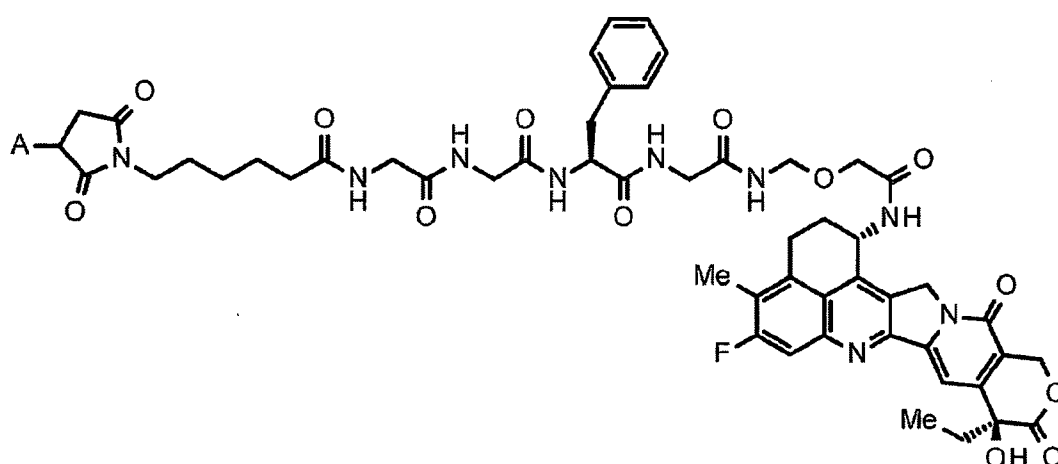
組胺酸緩衝液之情形的化合物(3)及化合物(4)的含有率顯示為低值。

【0194】

[實施例 3]超過濾步驟的探討(2)

將包含抗 HER2 抗體(包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液，利用 10mM 乙酸緩衝液進行稀釋，添加 0.5mol/L 的 EDTA 水溶液後，添加 0.3mol/L 的磷酸氫二鈉水溶液，調整成 pH7.3。添加 1mg/mL 的參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽水溶液並進行攪拌，還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0195】在所得之反應液中，在溶解於 80%二甲亞砷水溶液的狀態下添加化合物(2)，使其與抗體結合。接著，添加 50mmol/L 的 N-乙醯半胱胺酸水溶液，使多餘的化合物(2)進行淬火。藉此，獲得包含由下式所示之藥物連接子與抗 HER2 抗體藉由硫醚鍵而結合的抗 HER2 抗體-藥物結合物之反應溶液，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0196】將所得之反應溶液，使用 Pellicon(註冊商標)XL

Cassette Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製)，利用滾筒幫浦，一邊添加組胺酸緩衝液(pH5.0 或者 pH5.8)、或含有 0.4%氯化鈉的組胺酸緩衝液(pH5.0 或者 pH5.8)一邊使其循環，進行超過濾。此外，組胺酸緩衝液的濃度皆使用 10.8mM 者。又，組胺酸緩衝液(pH5.0 及 pH5.8)，相對於所得之反應溶液，分別使用 15 倍的量。含有 0.4%氯化鈉的組胺酸緩衝液(pH5.0 及 pH5.8)，相對於所得之反應溶液，分別使用 10 倍的量。利用 SEC 測定超過濾後的凝聚物的含有率。又，作為比較，測定未進行超過濾之情形的凝聚物的含有率(此情形，將使用的緩衝液量表現為 0)。將結果揭示於表 3 及圖 2。

【0197】[表 3]

緩衝液	pH	緩衝液量 /反應液量	凝聚物的 含有率
組胺酸緩衝液	5.8	0	1.36
		15	1.62
組胺酸緩衝液	5.0	0	1.36
		15	1.3
含有 0.4%氯化鈉的組胺酸緩衝液	5.8	0	1.49
		10	2.72
含有 0.4%氯化鈉的組胺酸緩衝液	5.0	0	1.39
		10	1.59

【0198】在表 3 的結果中，相較於使用 pH5.8 的緩衝液進行超過濾之情形、使用組胺酸緩衝液之情形，使用含氯化鈉的組胺酸緩衝液之情形其凝聚物的含有率顯示為高值。另一方面，即使為使用 pH5.0 的緩衝液進行超過濾之情形、使用組胺酸緩衝液之情形，或使用含氯化鈉的組胺酸緩衝液之情形，凝聚物的含有率皆顯示相同程度的值。

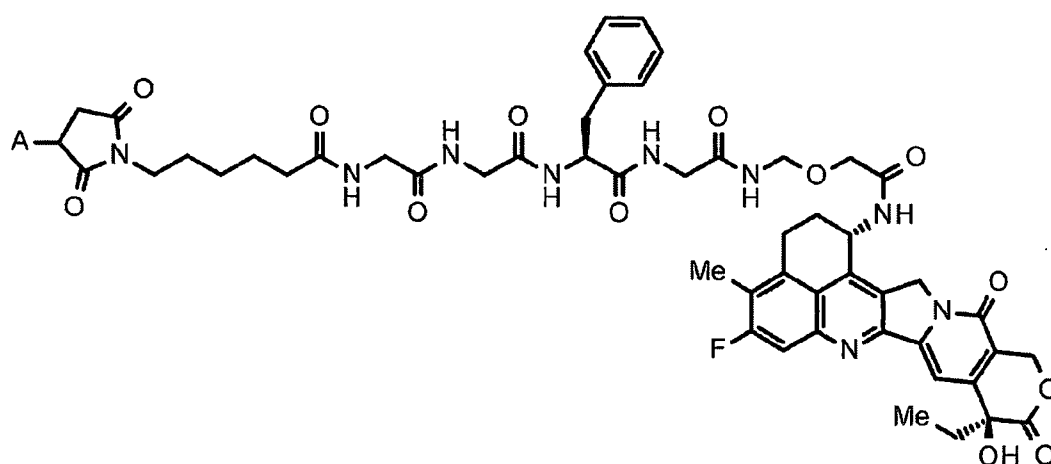
【0199】

[實施例 4]包含抗 HER2 抗體-藥物結合物的醫藥組成物的製

造(1)

將包含抗 HER2 抗體(包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液(液重量 5.4kg：相當抗體 120g)置入玻璃反應容器，再者，添加 0.01mol/L 乙酸緩衝液(4.3L，pH5.5)。在本溶液中添加 0.5mol/L EDTA 水溶液(8.3mL；相對於抗體為 5 當量)後，添加 0.3mol/L 磷酸氫二鈉水溶液，調整成 pH7.3。在 35～39℃攪拌下，添加 0.010mol/L 參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽水溶液(390mL；相對於一分子抗體為 4.7 當量)，在內溫 35～39℃攪拌 2 小時，還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0200】冷卻所得的反應液，在內溫 13～17℃的攪拌下，將利用 80%二甲亞碲水溶液(900mL)使化合物(2)(8.2g；相對於一分子抗體為 9.7 當量)溶解者，耗費 20 分鐘進行添加，在相同溫度攪拌 1 小時，使其與抗體結合。接著，添加 0.1mol/L N-乙醯半胱胺酸水溶液(210mL；相對於一分子抗體為 25 當量)，進一步在相同溫度攪拌 1 小時，使多餘的化合物(2)淬火後，使用 10%乙酸水溶液，調整成 pH5.0。藉此，獲得包含由下式所示之藥物連接子與抗 HER2 抗體藉由硫醚鍵而結合的抗 HER2 抗體-藥物結合物之溶液，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0201】將所得之溶液，使用三片 Pellicon(註冊商標)2 Mini Cassette Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製， 0.1m^2)，利用滾筒幫浦，一邊添加含有 0.5%氯化鈉的 26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除源自化合物(2)的副產物。再者，一邊添加 26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除氯化鈉。接著，利用組胺酸水溶液調正成 pH5.5，再進行濃縮，藉此取得約 4L 之含有抗 HER2 抗體-藥物結合物的溶液。

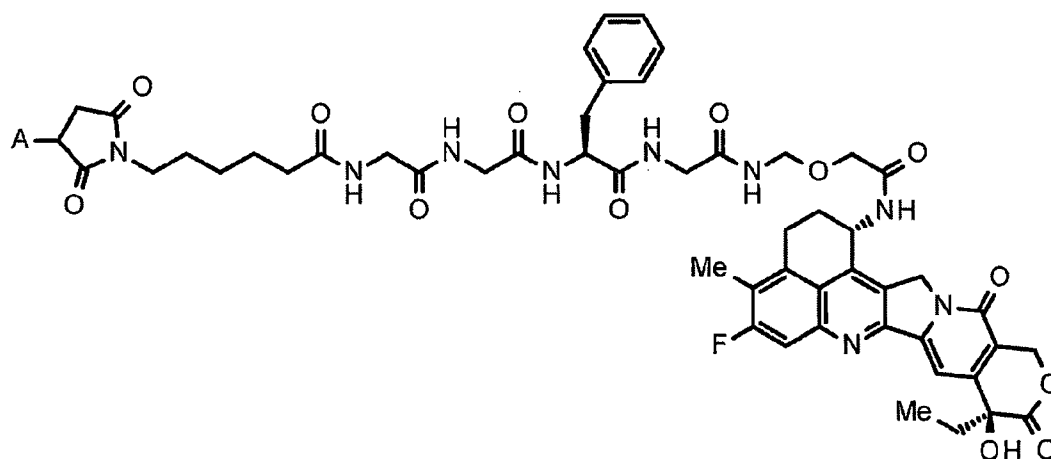
【0202】再者，相對於上述溶液中 3.86kg 份量，添加蔗糖 364g 並使其溶解。再者，添加含有 9%蔗糖的組胺酸緩衝液(pH5.5)，將蛋白質濃度調整成約 20mg/mL，獲得包含抗 HER2 抗體-藥物結合物的醫藥組成物(5.7kg)。所得之醫藥組成物，其蛋白質濃度：20.4mg/mL，蛋白質產量：112g，每一分子抗體的平均藥物結合數(n)：7.7。

【0203】

[實施例 5]包含抗 HER2 抗體-藥物結合物的醫藥組成物的製造(2)

將包含抗 HER2 抗體(包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液(液重量 89g；相當抗體 2.0g)置入玻璃反應容器，再者，添加 0.01mol/L 乙酸緩衝液(72mL、pH5.5)。在本溶液中添加 0.5mol/L EDTA 水溶液(0.14mL；相對於抗體為 5 當量)後，添加 0.3mol/L 磷酸氫二鈉水溶液，調整成 pH7.3。在 35~39℃ 攪拌下，添加 0.010mol/L 參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽水溶液(6.3mL；相對於一分子抗體為 4.6 當量)，在內溫 35~39℃ 攪拌 2 小時，還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0204】冷卻所得的反應液，在內溫 13~17℃ 的攪拌下，添加利用 80%二甲亞砷水溶液(13mL)使化合物(2)(140mg；相對於一分子抗體為 9.6 當量)溶解者，在相同溫度攪拌 1 小時，使其與抗體結合。接著，添加 0.1mol/L N-乙醯半胱胺酸水溶液(3.4mL；相對於一分子抗體為 25 當量)，進一步在相同溫度攪拌 40 分鐘，使多餘的化合物(2)淬火後，使用 10%乙酸水溶液，調整成 pH5.0。藉此，獲得包含由下式所示之藥物連接子與抗 HER2 抗體藉由硫醚鍵而結合的抗 HER2 抗體-藥物結合物之溶液，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0205】在所得之溶液中添加氯化鈉 1g 後，使用 Pellicon(註冊商標)XL Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製，50cm²)，利用滾筒幫浦，一邊添加含有 0.5%氯化鈉的 26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除源自化合物(2)的副產物。再者，一邊添加 26mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除氯化鈉。接著，一邊利用組胺酸水溶液調整成 pH5.5 一邊進行濃縮，藉此取得約 65g 之含有抗 HER2 抗體-藥物結合物的溶液(64.5g，64.1mL，蛋白質濃度：28.5mg/mL，蛋白質產量：1.83g)。

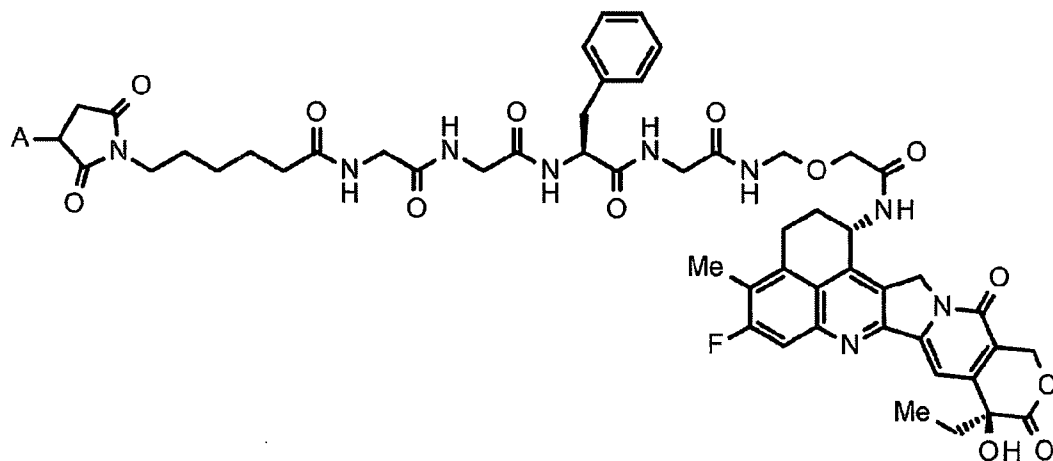
【0206】再者，對於上述溶液之中 64g 份量，添加含有蔗糖 7.7g 的組胺酸緩衝液(pH5.5)19mL，再添加含有 9%蔗糖的組胺酸緩衝液(pH5.5)，將蛋白質濃度調整成約 20mg/mL，獲得包含抗 HER2 抗體-藥物結合物的醫藥組成物(93g)。所得之醫藥組成物，其蛋白質濃度：20.3mg/mL，蛋白質產量：1.8g，每一分子抗體的平均藥物結合數(n)：7.8。

【0207】

[實施例 6]包含抗 HER3 抗體-藥物結合物的醫藥組成物的製造

將包含抗 HER3 抗體(包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液(液重量 43.95kg；相當抗體 3.00kg)置入 400L 單次使用反應器，再者，添加包含聚山梨醇酯 20(60.0g)、0.5mol/L EDTA 水溶液(224.5g；相對於抗體為 5 當量)的 0.01mol/L 乙酸緩衝液(pH5.5，255kg)。在本溶液中添加 0.3mol/L 磷酸氫二鈉水溶液並調整成 pH7.0。在 33~37°C 攪拌下，添加包含參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽(35.1g；相對於一分子抗體為 6.0 當量)的水溶液(12.3kg)，在內溫 33~37°C 攪拌 2.5 小時，還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0208】冷卻所得的反應液，在內溫 12~17°C 的攪拌下，將利用包含 10% 乙酸水溶液(116.4g)的 80% 二甲亞碲水溶液(21.1kg)使化合物(2)(200.5g；相對於一分子抗體為 9.5 當量)溶解者，耗費 50 分鐘進行添加，在相同溫度攪拌 0.5 小時，使其與抗體結合。接著，添加 0.1mol/L N-乙醯半胱胺酸水溶液(3.11kg；相對於一分子抗體為 15 當量)，進一步在相同溫度攪拌 0.5 小時，使多餘的化合物(2)淬火後，使用 10% 乙酸水溶液，調整成 pH5.0。藉此，獲得包含由下式所示之藥物連接子與抗 HER3 抗體藉由硫醚鍵而結合的抗 HER3 抗體-藥物結合物之溶液，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0209】將所得之溶液，使用四片 Pellicon(註冊商標)2 Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製， 2.5m^2)，利用自動超過濾裝置，一邊添加含有 0.5% 氯化鈉的 26.5mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除源自化合物(2)的副產物。再者，一邊添加 26.5mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除氯化鈉。接著，一邊利用 26.5mM 組胺酸水溶液調整成 pH5.4 一邊進行濃縮，藉此取得 97.4kg 之含有抗 HER3 抗體-藥物結合物的溶液(96.5L，蛋白質濃度：30.5mg/mL，蛋白質產量：2.94kg)。

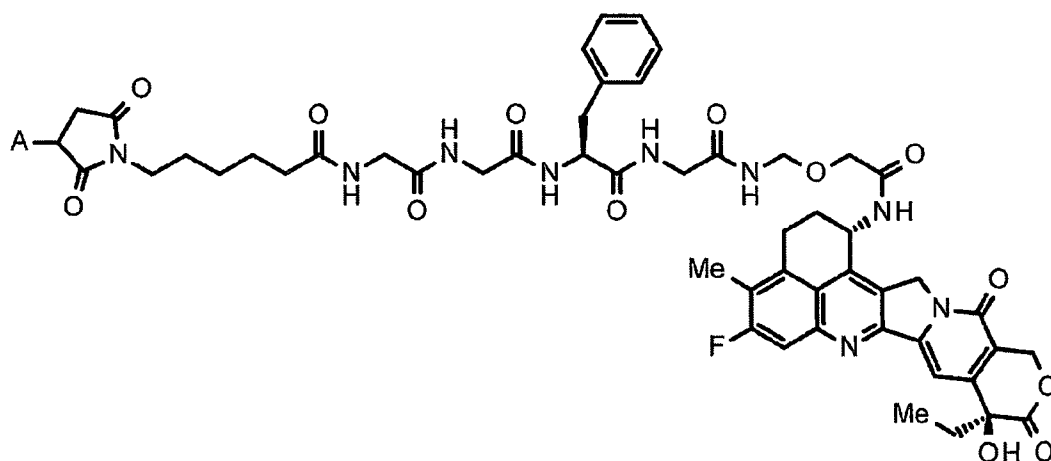
【0210】再者，對於上述溶液中 48.6kg 份量，添加包含蔗糖 6.29kg 的組胺酸緩衝液(pH5.4，24.3kg)，再添加包含聚山梨醇酯 20(7.6g)之含有 9% 蔗糖的組胺酸緩衝液(pH5.4，4.25kg)，將蛋白質濃度調整成約 20mg/mL，獲得包含抗 HER3 抗體-藥物結合物的醫藥組成物(77.1kg)。所得之醫藥組成物，其蛋白質濃度：19.9mg/mL，蛋白質產量：1.49kg，每一分子抗體的平均藥物結合數(n)：7.6。

【0211】

[實施例 7]包含抗 GPR20 抗體-藥物結合物的醫藥組成物的製造

將包含抗 GPR20 抗體(包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液(液重量 24.2kg:相當抗體 0.94kg)置入 200L 反應器,進一步添加包含聚山梨醇酯 80(14.4g)的 26mM 組胺酸水溶液(57.6kg)。升溫至 30°C,添加包含參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽(9.06g;相對於一分子抗體為 4.9 當量)的水溶液(3.17kg),在內溫 30°C 攪拌 3 小時,還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0212】冷卻所得的反應液,在內溫 15°C 的攪拌下、將利用包含乙酸(3.7g)的 80%二甲亞碲水溶液(7.26kg)使化合物(2)(63.5g;相對於一分子抗體為 9.0 當量)溶解者,耗費 55 分鐘進行添加,在相同溫度攪拌 0.5 小時,使其與抗體結合。接著,添加 0.1M N-乙醯半胱胺酸水溶液(1.00kg;相對於一分子抗體為 15 當量),進一步在相同溫度攪拌 0.5 小時,使多餘的化合物(2)淬火後,使用 10%乙酸水溶液,調整成 pH5.0。藉此,獲得包含由下式所示之藥物連接子與抗 GPR20 抗體藉由硫醚鍵而結合之抗 GPR20 抗體-藥物結合物的溶液,



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0213】將所得之溶液，使用二片 Pellicon(註冊商標)2 Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製， 2.5m^2)，利用超過濾裝置，一邊添加含有 0.5%氯化鈉的 11mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除源自化合物(2)的副產物。再者，一邊添加 11mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除氯化鈉。接著一邊利用 11mM 組胺酸水溶液調整成 pH5.4 一邊進行濃縮，藉此取得含有抗 GPR20 抗體-藥物結合物的溶液(31.8kg，蛋白質濃度：29.9mg/mL，蛋白質產量：0.94kg)。

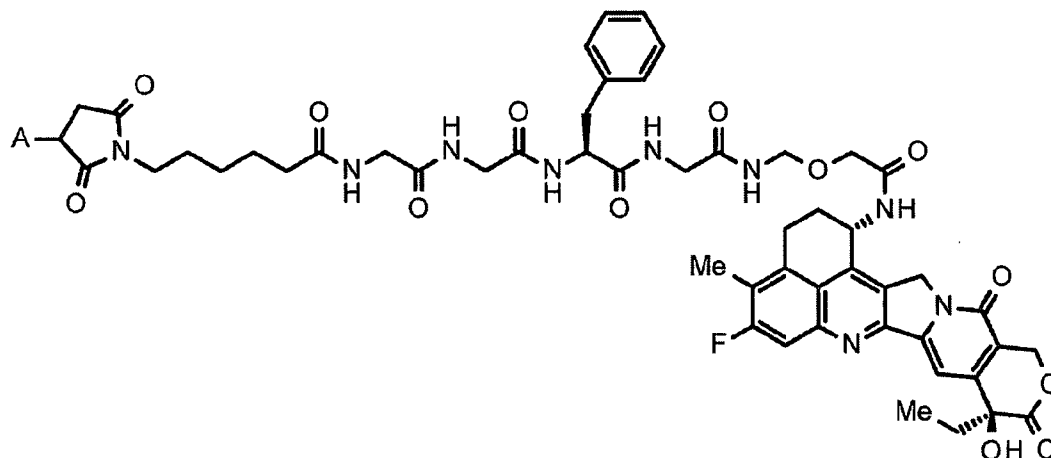
【0214】再者，對上述溶液添加包含蔗糖 4.00kg 的組胺酸緩衝液(pH5.4，14.9kg)，再添加包含聚山梨醇酯 80(4.5g)之含有 9%蔗糖的組胺酸緩衝液(pH5.4，3.00kg)，將蛋白質濃度調整成約 20mg/mL，獲得包含抗 GPR20 抗體-藥物結合物的醫藥組成物(49.3kg)。所得之醫藥組成物，其蛋白質濃度：19.9mg/mL，蛋白質產量：0.94kg，每一分子抗體的平均藥物結合數(n)：7.8。

【0215】

[實施例 8]包含抗 CDH6 抗體-藥物結合物的醫藥組成物的製造

將包含抗 CDH6 抗體(包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體)的溶液(液重量 2.56kg：相當抗體 100g)置入 14L 反應器，再添加包含聚山梨醇酯 80(1.50g)、0.5M EDTA 水溶液(7.54g；相對於抗體為 5 當量)的 100mM 組胺酸水溶液(6.00kg)。升溫至 30°C，添加包含參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽(945mg；相對於一分子抗體為 4.8 當量)的水溶液(330g)，在內溫 30°C 攪拌 3 小時，還原抗體的鏈間雙硫鍵。

【0216】冷卻所得的反應液，在內溫 15°C 的攪拌下，將利用包含 10% 乙酸水溶液(3.89g)的 80% 二甲亞碲水溶液(687g)使化合物(2)(6.96g，相對於一分子抗體為 9.1 當量)溶解者，耗費 41 分鐘進行添加，利用相同溫度攪拌 0.4 小時，使其與抗體結合。接著，添加 0.1M N-乙醯半胱胺酸水溶液(103g，相對於一分子抗體為 15 當量)，再利用相同溫度攪拌 0.6 小時，在使多餘的化合物(2)淬火後，使用 10% 乙酸水溶液，調整成 pH5.0。藉此，獲得包含由下式所示之藥物連接子與抗 CDH6 抗體藉由硫醚鍵而結合之抗 CDH6 抗體-藥物結合物的溶液，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)。

【0217】將所得之溶液，使用一片 Pellicon(註冊商標)2 Ultracel(註冊商標)(Merck 公司製， 0.5m^2)，利用超過濾裝置，一邊添加含有 0.5%氯化鈉的 11mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除源自化合物(2)的副產物。再者，一邊添加 11mM 組胺酸緩衝液(pH5.0)一邊使其循環，藉此進行超過濾，去除氯化鈉。接著一邊利用 11mM 組胺酸水溶液調整成 pH5.4 一邊進行濃縮，藉此取得含有抗 CDH6 抗體-藥物結合物的溶液(2.97kg，蛋白質濃度：31.8mg/mL，蛋白質產量：93.7g)。

【0218】再者，對於上述溶液，添加包含蔗糖(401g)的組胺酸緩衝液(pH5.4，1.67kg)，再添加包含聚山梨醇酯 80(437mg)之含有 9%蔗糖的組胺酸緩衝液(pH5.4，276g)，將蛋白質濃度調整至約 20mg/mL，獲得包含抗 CDH6 抗體-藥物結合物的醫藥組成物(4.81kg)。所得之醫藥組成物，其蛋白質濃度：20.2mg/mL，蛋白質產量：93.2g，每一分子抗體的平均藥物結合數(n)：7.8。

[序列表非關鍵詞文字]

【0219】

序列識別號 1：抗 HER2 抗體重鏈的胺基酸序列

序列識別號 2：抗 HER2 抗體輕鏈的胺基酸序列

序列識別號 3：抗 HER3 抗體重鏈的胺基酸序列

序列識別號 4：抗 HER3 抗體輕鏈的胺基酸序列

序列識別號 5：抗 GPR20 抗體重鏈的胺基酸序列

序列識別號 6：抗 GPR20 抗體輕鏈的胺基酸序列

序列識別號 7：抗 CDH6 抗體重鏈的胺基酸序列

序列識別號 8：抗 CDH6 抗體輕鏈的胺基酸序列

【符號說明】

無。

序列表

- <110> 第一三共股份有限公司
- <120> 抗體-藥物結合物之有效的製造方法
- <130> FP1910
- <150> JP2018-139633
- <151> 2018-07-25
- <160> 8
- <170> PatentIn 版本 3.5
- <210> 1
- <211> 450
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 抗 HER2 抗體的重鏈
- <400> 1

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 Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile 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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 2
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 HER2 抗體的輕鏈

<400> 2

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 Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65

70

75

80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro

859095

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100105110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115120125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130135140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145150155160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165170175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180185190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195200205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 3

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗 HER3 抗體的重鏈

<400> 3

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

151015

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

202530

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Glu Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Arg Asp Lys Trp Thr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg 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 Arg 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 Lys
435 440 445

<210> 4
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 HER3 抗體的輕鏈

<400> 4

Asp Ile Glu Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Ser Asn Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

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

Tyr Tyr Ser Thr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210215220

<210> 5<211> 472<212> PRT<213> 人工序列<220><223> 抗 GPR20 抗體的重鏈<400> 5Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp15105Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys202530Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe354045Thr Ser Tyr Tyr Ile Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu505560Lys Tyr Met Gly Phe Ile Asn Pro Gly Ser Gly His Thr Asn Tyr Asn65707580Glu Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser859095Thr Ala Thr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val100105110Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Ala Gly Gly Phe Leu Arg Ile Ile Thr Lys115120125Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser130135140Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr145150155160Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro165170175

Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val
			180					185					190		
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser
		195					200					205			
Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile
	210					215					220				
Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val
225					230					235					240
Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
				245					250					255	
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro
			260					265						270	
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val
		275					280					285			
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val
	290					295					300				
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln
305					310					315					320
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln
				325					330					335	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala
			340					345					350		
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
		355					360					365			
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr
	370					375					380				
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
385					390					395					400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 6
<211> 234
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 GPR20 抗體的輕鏈

<400> 6

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Thr Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser
35 40 45

Val Ser Thr Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Gln Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Gly Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

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

100

105

110

Glu

Leu

Pro

Tyr

Thr

Phe

Gly

Gln

Gly

Thr

Lys

Val

Glu

Ile

Lys

Arg

115

120

125

Thr

Val

Ala

Ala

Pro

Ser

Val

Phe

Ile

Phe

Pro

Pro

Ser

Asp

Glu

Gln

130

135

140

Leu

Lys

Ser

Gly

Thr

Ala

Ser

Val

Val

Cys

Leu

Leu

Asn

Asn

Phe

Tyr

145

150

155

160

Pro

Arg

Glu

Ala

Lys

Val

Gln

Trp

Lys

Val

Asp

Asn

Ala

Leu

Gln

Ser

165

170

175

Gly

Asn

Ser

Gln

Glu

Ser

Val

Thr

Glu

Gln

Asp

Ser

Lys

Asp

Ser

Thr

180

185

190

Tyr

Ser

Leu

Ser

Ser

Thr

Leu

Thr

Leu

Ser

Lys

Ala

Asp

Tyr

Glu

Lys

195

200

205

His

Lys

Val

Tyr

Ala

Cys

Glu

Val

Thr

His

Gln

Gly

Leu

Ser

Ser

Pro

210

215

220

Val

Thr

Lys

Ser

Phe

Asn

Arg

Gly

Glu

Cys

225

230

<210> 7
<211> 471
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 CDH6 抗體的重鏈

<400> 7

Met

Lys

His

Leu

Trp

Phe

Phe

Leu

Leu

Leu

Val

Ala

Ala

Pro

Arg

Trp

1

5

10

15

Val

Leu

Ser

Glu

Val

Gln

Leu

Val

Gln

Ser

Gly

Ala

Glu

Val

Lys

Lys

20

25

30

Pro

Gly

Ala

Ser

Val

Lys

Val

Ser

Cys

Lys

Ala

Ser

Gly

Tyr

Thr

Phe

35

40

45

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

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
275 280 285

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
290 295 300

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
305 310 315 320

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
325 330 335

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
340 345 350

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
355 360 365

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
370 375 380

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
385 390 395 400

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
405 410 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 8
<211> 233
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗 CDH6 抗體的輕鏈

<400> 8

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn
35 40 45

Ile Tyr Lys Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Asn Thr Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Tyr
100 105 110

Ser Gly Trp Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
115 120 125

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
130 135 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
145 150 155 160

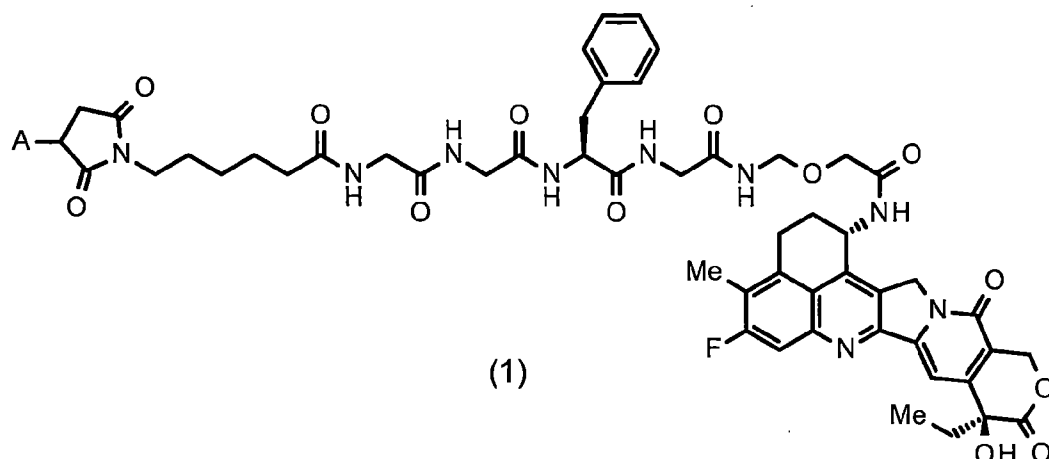
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
165 170 175

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

【發明申請專利範圍】

【第 1 項】一種抗體 - 藥物結合物 (antibody-drug conjugate) 的製造方法，其係由式(1)所示之藥物連接子 (drug-linker)，與抗體藉由硫醚鍵而結合之抗體 - 藥物結合物的製造方法，



(式中，A 表示與抗體的結合位置)，

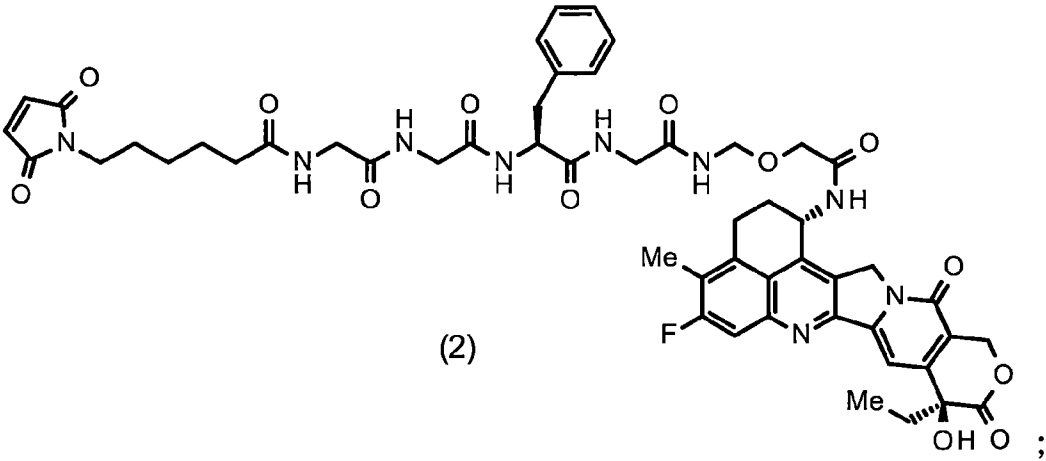
其中抗體 - 藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7 至 8 個的範圍；

其中該方法包含以下步驟：

(i) 以參(2-羧乙基)膦或其鹽還原抗體的步驟；

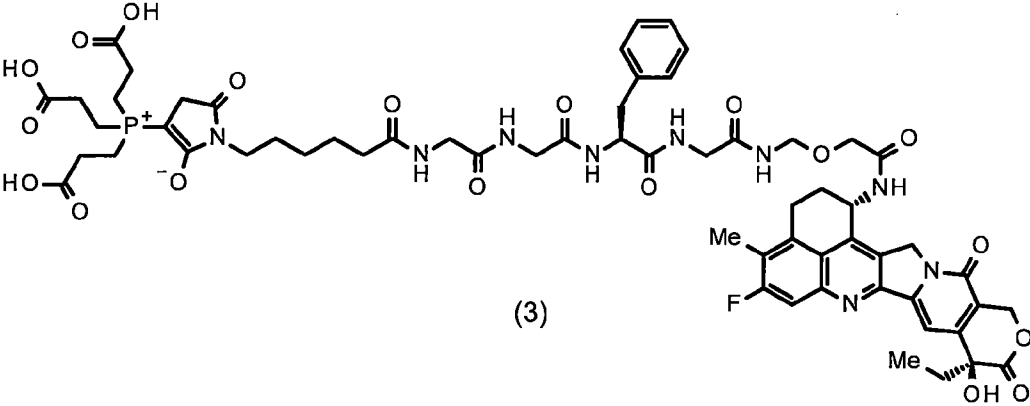
(ii) 使由式(2)所表示之化合物與由(i)的步驟所還原之抗體進行反應的步驟，

修正本
(2023 年 10 月 13 日)



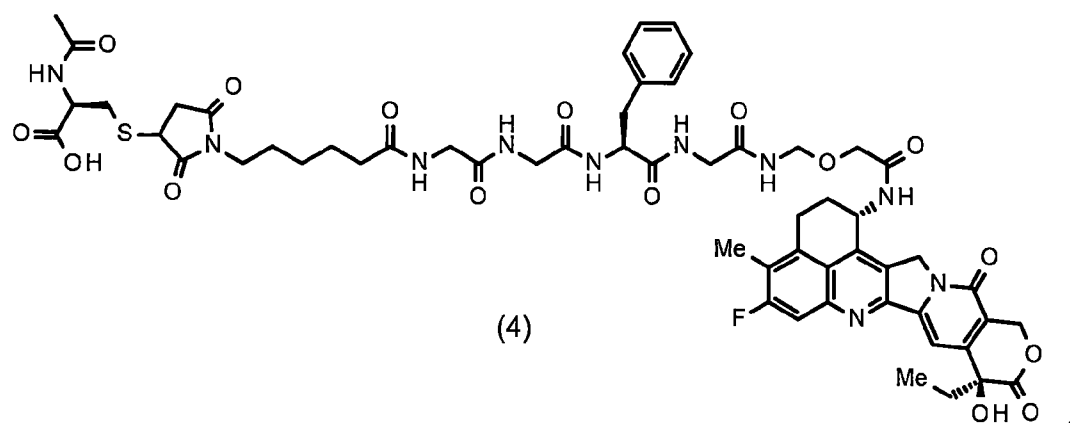
(iii)添加 N-乙 醯半胱胺酸，使其與(ii)的步驟所殘留之由式(2)所表示之化合物進行反應的步驟；接著

(iv)藉由使用含有選自由氯化鈉、氯化鉀、硫酸鈉、及硫酸鉀所組成的至少一種鹽、或包含此等之兩種以上的組合的鹽的緩衝液的超過濾，去除式(3)所表示之化合物



、及式(4)所表示之化合物

修正本
(2023 年 10 月 13 日)



【第 2 項】如請求項 1 之製造方法，其中，(i)的步驟所使用之還原劑為參(2-羧乙基)膦鹽酸鹽。

【第 3 項】如請求項 1 之製造方法，其中，(i)的步驟在緩衝液中進行。

【第 4 項】如請求項 3 之製造方法，其中，緩衝液為利用磷酸氫二鈉水溶液調整成 pH6~8 的緩衝液。

【第 5 項】如請求項 3 之製造方法，其中，緩衝液為乙酸緩衝液。

【第 6 項】如請求項 3 之製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

【第 7 項】如請求項 1 之製造方法，其中，(i)的步驟在螯合劑的存在下進行。

【第 8 項】如請求項 7 之製造方法，其中，螯合劑為乙二胺四乙酸。

【第 9 項】如請求項 3 之製造方法，其中，(i)的步驟所使用之緩衝液含有界面活性劑。

【第 10 項】如請求項 9 之製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 20 或聚山梨醇酯 80。

修正本
(2023 年 10 月 13 日)

【第 11 項】如請求項 1 之製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7 至 5.3。

【第 12 項】如請求項 1 之製造方法，其中，(iv)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

【第 13 項】如請求項 1 之製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用的鹽的濃度為 0.2～1 重量%。

【第 14 項】如請求項 1 之製造方法，其中，相對於(iv)的步驟所使用之緩衝液，(iv)的步驟所使用的鹽的濃度為 0.4 至 0.6 重量%。

【第 15 項】如請求項 1 之製造方法，其中，(iv)的步驟所使用的鹽為氯化鈉。

【第 16 項】如請求項 1 之製造方法，其中，在(iv)的步驟後，包含(v)藉由使用緩衝液的超過濾，去除步驟(iv)中使用的鹽的步驟。

【第 17 項】如請求項 16 之製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4～6 的範圍。

【第 18 項】如請求項 16 之製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液的 pH 為 4.7 至 5.3。

【第 19 項】如請求項 16 之製造方法，其中，(v)的步驟所使用之緩衝液為組胺酸緩衝液。

【第 20 項】如請求項 1 至 19 中任一項之製造方法，其中，抗體-藥物結合物中之每一抗體的藥物連接子的平均結合數為 7.5 至 8 個的範圍。

【第 21 項】如請求項 1 至 19 中任一項之製造方法，其

修正本
(2023 年 10 月 13 日)

中，抗體為抗 HER2 抗體、抗 HER3 抗體、抗 GPR20 抗體或抗 CDH6 抗體。

【第 22 項】如請求項 21 之製造方法，其中，該抗體為抗 HER2 抗體，且該抗 HER2 抗體為包含由序列識別號 1 中胺基酸編號 1 至 449 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 2 中胺基酸編號 1 至 214 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體，或包含由序列識別號 1 所表示的胺基酸序列所組成的重鏈、及由序列識別號 2 所表示的胺基酸序列所組成的輕鏈而成之抗體。

【第 23 項】如請求項 21 之製造方法，其中，該抗體為抗 HER3 抗體，且該抗 HER3 抗體為包含由序列識別號 3 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 4 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體，或抗體之重鏈的羧基末端的離胺酸殘基缺失的變異體。

【第 24 項】如請求項 21 之製造方法，其中，該抗體為抗 GPR20 抗體，且該抗 GPR20 抗體為包含由序列識別號 5 中胺基酸編號 20 至 472 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 6 中胺基酸編號 21 至 234 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體，或抗體之重鏈的羧基末端的離胺酸殘基缺失的變異體。

【第 25 項】如請求項 21 之製造方法，其中，該抗體為抗 CDH6 抗體，且該抗 CDH6 抗體為包含由序列識別號 7 中胺基酸編號 20 至 471 所記載的胺基酸序列而成的重鏈、及由序列識別號 8 中胺基酸編號 21 至 233 所記載的胺基酸序列而成的輕鏈而成之抗體，或抗體之重鏈的

羧基末端的離胺酸殘基缺失的變異體。

【第 26 項】如請求項 1 至 19 中任一項之製造方法，其不包含利用層析法的純化步驟。

【第 27 項】如請求項 26 之製造方法，其中，層析法為選自包含凝膠過濾層析法、離子交換層析法、疏水性層析法、及親和性層析法之群組的至少一種。

【第 28 項】一種醫藥組成物的製造方法，其係藉由如請求項 1 至 19 中任一項之製造方法而製造抗體-藥物結合物，再者，藉由施以包含選自由以下步驟(vi)、(vii)、及(viii)所組成的群組之至少一者的步驟及包含(ix)步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、及賦形劑的醫藥組成物之方法，其中該步驟(vi)、(vii)、(viii)及(ix)分別為：

(vi)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加緩衝液的步驟、

(vii)將包含抗體-藥物結合物的溶液進行濃縮的步驟、及

(viii)將包含抗體-藥物結合物的溶液調整成指定的 pH 的步驟；以及，

(ix)在包含抗體-藥物結合物的溶液中添加賦形劑的步驟。

【第 29 項】如請求項 28 之製造方法，其中，緩衝液為組胺酸緩衝液。

【第 30 項】如請求項 28 之製造方法，其中，賦形劑為蔗糖或海藻糖(trehalose)。

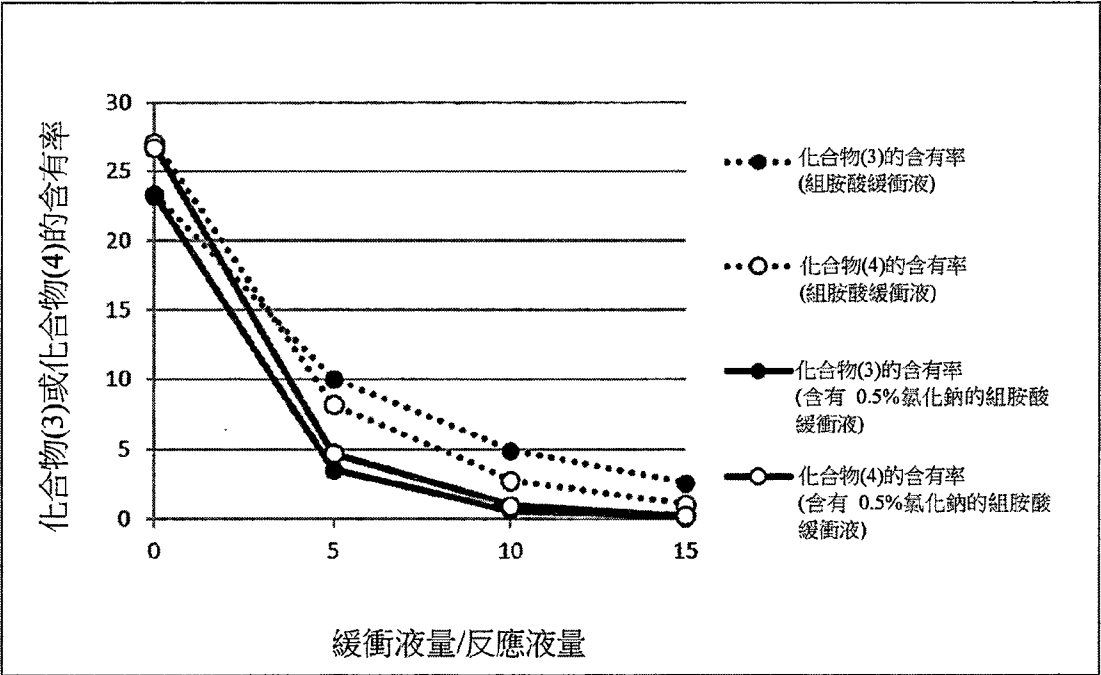
修正本
(2023 年 10 月 13 日)

【第 31 項】一種醫藥組成物的製造方法，其藉由如請求項 28 之製造方法而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液及賦形劑的醫藥組成物，再者，藉由施以包含以下步驟的步驟而製造包含抗體-藥物結合物、緩衝液、賦形劑及界面活性劑的醫藥組成物：

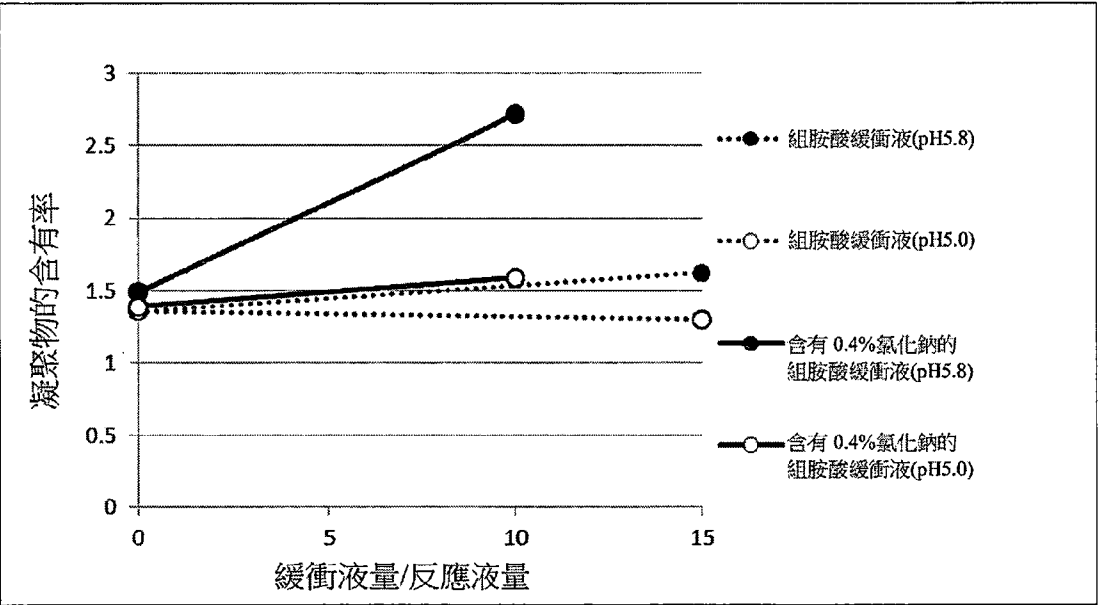
(x)在該醫藥組成物中添加界面活性劑的步驟。

【第 32 項】如請求項 31 之製造方法，其中，界面活性劑為聚山梨醇酯 80 或聚山梨醇酯 20。

【發明圖式】



【圖 1】



【圖 2】

序列識別號 1：抗 HER2 抗體重鏈的胺基酸序列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVR
QAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWQQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【圖 3】

序列識別號 2：抗 HER2 抗體輕鏈的胺基酸序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQ
KPGKAPKLLIYSASFLLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【圖 4】

序列識別號 3 抗 HER3 抗體重鏈的胺基酸序列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIR
 QPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVETSKN
 QFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVT
 VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS
 SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
 SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
 PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【圖 5】

序列識別號 4 抗 HER3 抗體輕鏈的胺基酸序列

DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNY
 LAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD
 FTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKR
 TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
 QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA
 DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【圖 6】

序列識別號 5 抗 GPR20 抗體重鏈的胺基酸序列

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSEVQLVQSGAEVKKPGASVK
VSCKASGYTFTSYYSWIRQAPGQGLKYMGFINPGSGH
TNYNEKFKGRVTITADKSSSTATMELSSLRSED TAVYY
CARGAGGFLRIITKFDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK

訊息序列 (1-19)、可變區 (20-142)、恆定區 (143-472)

【圖 7】

序列識別號 6 抗 GPR20 抗體輕鏈的胺基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDTQLTQSPSSLSASVGDR
VTITCRASKSVSTYIHWYQQKPGKQPKLLIYSAGNLES
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFANYYCQQINEL
PYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS
FNRGEC

訊息序列 (1-20)、可變區 (21-129)、恆定區 (130-234)

【圖 8】

序列識別號 7 抗 CDH6 抗體重鏈的胺基酸序列

MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSEVQLVQSGAEVKKPGASVK
VSCKASGYTFTRNFMHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGE
TEYAQKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYY
CARGVYGGFAGGYFDFWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPL
APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH
KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE
YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
PPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

訊息序列 (1-19)、可變區 (20-141)、恆定區 (142-471)

【圖 9】

序列識別號 8 抗 CDH6 抗體輕鏈的胺基酸序列

MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDR
VTITCKASQNIYKNLAWYQQKPGKAPKLLIYDANTLQT
GVPSRFSGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYYSG
WAFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV
CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF
NRGEC

訊息序列 (1-20)、可變區 (21-128)、恆定區 (129-233)

【圖 10】