

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成30年12月27日 (2018.12.27)

【公表番号】特表2018-505128(P2018-505128A)

【公表日】平成30年2月22日 (2018.2.22)

【年通号数】公開・登録公報2018-007

【出願番号】特願2017-525940(P2017-525940)

【国際特許分類】

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

C 0 7 K 16/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/46 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/537 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 47/68 Z N A

C 0 7 K 16/00

C 0 7 K 16/46

C 1 2 P 21/08

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 31/537

A 6 1 K 39/395 L

【手続補正書】

【提出日】平成30年11月13日 (2018.11.13)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

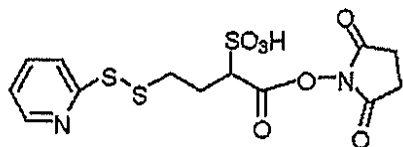
【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下のステップ：

(a) 緩衝剤を含む緩衝溶液中で細胞毒性剤を以下の構造式によって表される二官能性架橋試薬：

【化 1】



またはその塩と反応させて、細胞毒性剤 - リンカー化合物を含む第 1 の混合物を得ることであって、前記緩衝溶液は、高緩衝能を有する；

(b) ステップ (a) から得られた前記第 1 の混合物中の前記細胞毒性剤 - リンカー化

合物を、4～9のpHを有する溶液中の細胞結合剤と反応させて、前記細胞結合剤細胞毒性剤コンジュゲートを含む第2の混合物を得ること

を含む、細胞結合剤細胞毒性剤コンジュゲートを調製するためのプロセス。

【請求項2】

前記細胞結合剤が、断片化される傾向がある、請求項1に記載のプロセス。

【請求項3】

前記細胞毒性剤が、マイタンシノイドである、請求項1または2に記載のプロセス。

【請求項4】

前記細胞毒性剤が、DM4である、請求項3に記載のプロセス。

【請求項5】

前記緩衝剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、1.5 : 1 ~ 12.5 : 1、2 : 1 ~ 8 : 1、または4 : 1 ~ 6 : 1である、請求項1～4のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項6】

前記緩衝剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、5 : 1である、請求項5に記載のプロセス。

【請求項7】

前記緩衝溶液が、4～9、7.5～8.5、7.9～8.5、8.0～8.4、または8.1～8.3のpHを有する、請求項1～6のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項8】

前記緩衝溶液が、8.2のpHを有する、請求項7に記載のプロセス。

【請求項9】

前記緩衝剤が、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、コハク酸緩衝液、及びリン酸緩衝液からなる群から選択される、または

前記緩衝剤が、HEPPSO(N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-(2-ヒドロキシプロパンスルホン酸))、POPSO(ピペラジン-1,4-ビス-(2-ヒドロキシ-プロパン-スルホン酸)無水物)、HEPES(4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-エタンスルホン酸)、EPPS(4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-プロパンスルホン酸)、TES(N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]-2-アミノエタンスルホン酸)、MES(2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、

請求項1～8のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項10】

前記緩衝溶液が、塩化ナトリウムをさらに含む、請求項1～9のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項11】

前記緩衝溶液が、有機溶媒をさらに含む、請求項1～10のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項12】

前記二官能性架橋試薬に対してモル過剰量の前記細胞毒性剤をステップ(a)の前記反応で使用する、請求項1～11のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項13】

ステップ(b)の前記溶液が、5.0～9.0、5.5～9.0、6.0～9.0、6.5～9.0、7.5～8.5、8.0～8.4、または8.1～8.3のpHを有する、またはpHが8.2である、請求項1～12のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項14】

ステップ(b)の前記溶液が、

クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、コハク酸緩衝液、及びリン酸緩衝液からなる群から選択される緩衝剤、または

HEPPSO(N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'-(2-ヒドロキシプロパンスルホン酸))、POPSO(ピペラジン-1,4-ビス-(2-ヒドロキシ-プロ

ロパン - スルホン酸) 無水物)、H E P E S (4 - (2 - ヒドロキシエチル) ピペラジン - 1 - エタンスルホン酸)、E P P S (4 - (2 - ヒドロキシエチル) ピペラジン - 1 - プロパンスルホン酸)、T E S (N - [トリス (ヒドロキシメチル) メチル] - 2 - アミノエタンスルホン酸)、M E S (2 - (N - モルホリノ) エタンスルホン酸)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される緩衝剤

を含む、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか 1 項に記載のプロセス。

【請求項 1 5】

ステップ (b) の前記溶液が、有機溶媒をさらに含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか 1 項に記載のプロセス。

【請求項 1 6】

ステップ (b) の前記溶液中の前記細胞結合剤の濃度が、 $5 \text{ g/L} \sim 100 \text{ g/L}$ 、 $5 \text{ g/L} \sim 50 \text{ g/L}$ 、 $10 \text{ g/L} \sim 40 \text{ g/L}$ 、 $15 \text{ g/L} \sim 25 \text{ g/L}$ 、 $18 \text{ g/L} \sim 22 \text{ g/L}$ 、または $19 \text{ g/L} \sim 21 \text{ g/L}$ である、請求項 1 ~ 1 5 のいずれか 1 項に記載のプロセス。

【請求項 1 7】

前記二官能性架橋試薬対前記細胞結合剤のモル比が、 $2 \sim 10$ 、 $3 \sim 6$ 、 $3.5 \sim 5$ 、または 4.0 である、請求項 1 ~ 1 6 のいずれか 1 項に記載のプロセス。

【請求項 1 8】

前記プロセスが、前記溶液の pH を 5 以下に調整することによって、ステップ (b) の前記反応を反応停止するステップをさらに含む、請求項 1 ~ 1 7 のいずれか 1 項に記載のプロセス。

【請求項 1 9】

前記細胞結合剤が、抗体、モノクローナル抗体、またはヒト化モノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか 1 項に記載のプロセス。

【請求項 2 0】

前記抗体が、huN901、huMy9-6、huB4、huC242、トラスツズマブ、ビバツズマブ、シプロツズマブ、CNT095、huDS6、リツキシマブ、抗Her2抗体、抗EGFR抗体、抗CD27L抗体、抗EGFRvIII抗体、抗Cripto抗体、抗CD138抗体、抗CD38抗体、抗EphA2抗体、インテグリン標的化抗体、抗CD37抗体、抗葉酸受容体抗体、抗Her3抗体、及び抗IGFIR抗体から選択される、請求項 1 9 に記載のプロセス。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0090

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0090】

実施例 2

配列番号 10 のアミノ酸配列を持つ軽鎖と配列番号 9 のアミノ酸配列を持つ重鎖を有する抗体 2、抗FGFR3抗体を 30 mg/mL に濃縮し、透析濾過して、10 透析容量の反応緩衝液 (50 mM EPPS、 20 mM 塩化ナトリウム、 2 mM EDTA、 $\text{pH } 8.2$) にし、 45 g/L にさらに濃縮した。スルホ - SPDB (10 mM) に対して 1.2 モル比の DM4 (12 mM) は、 167 mM EPPS、 66.7 mM NaCl、 2 mM EDTA、 $\text{pH } 8.2$ 、及び 70.0% (v/v) DMA 中の抗体に対して 4.68 モル比のスルホ - SPDB と反応させた。in-situ 反応を 20 ± 3 で 10 ± 4 時間実施した後、DMA を有する抗体 2 に添加し、 50 mM EPPS、 20 mM NaCl、 2 mM EDTA、 $\text{pH } 8.2 \pm 0.2$ 、及び 5.0% DMA (v/v) 中の 20 mg/mL の最終 Ab 濃度を達成した。コンジュゲーション反応は、 20.0 ± 3.0 で 16 ± 8 時間実施した。反応後、 6.5% (v/v) の 1 M 酢酸を添加することによって、コンジュゲーション混合物の pH を 5.0 に迅速に調整した。pH 調整した混合物を

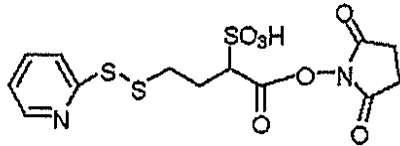
20 mg/mL に濃縮し、16 ダイヤ容量の基礎配合緩衝液 (10 mM 酢酸塩、pH 5.0 ± 0.1) に対して透析フィルター濾過した。精製されたコンジュゲートを、スクロース (45%、w/v) 及びポリソルベート-20 (10%、w/v) の原液を用いて、10 mM 酢酸塩、9% (w/v) スクロース、0.01% (w/v) ポリソルベート-20 (Tween-20)、pH 5.0 中に 5.0 mg/mL で配合した。

本明細書は以下の発明の開示を包含する。

[1] 以下のステップ：

(a) 緩衝剤を含む緩衝溶液中で細胞毒性剤を以下の構造式によって表される二官能性架橋試薬：

【化9】



またはその塩と反応させて、細胞毒性剤-リンカー化合物を含む第1の混合物を得ること、前記緩衝溶液は、高緩衝能を有し；

(b) ステップ(a)から得られた前記第1の混合物中の前記細胞毒性剤-リンカー化合物を、4~9のpHを有する溶液中の細胞結合剤と反応させて、前記細胞結合剤細胞毒性剤コンジュゲートを含む第2の混合物を得ること

を含む、細胞結合剤細胞毒性剤コンジュゲートを調製するためのプロセス。

[2] 前記細胞結合剤が、断片化される傾向がある、[1]に記載のプロセス。

[3] 前記細胞毒性剤が、マイタンシノイドである、[1]または[2]に記載のプロセス。

[4] 前記細胞毒性剤が、DM4である、[3]に記載のプロセス。

[5] 前記緩衝剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、1.5 : 1 ~ 12.5 : 1である、[1] ~ [4]のいずれかに記載のプロセス。

[6] 前記緩衝剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、2 : 1 ~ 8 : 1である、[5]に記載のプロセス。

[7] 前記緩衝剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、4 : 1 ~ 6 : 1である、[5]に記載のプロセス。

[8] 前記緩衝剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、5 : 1である、[5]に記載のプロセス。

[9] 前記緩衝溶液が、4~9のpHを有する、[1] ~ [8]のいずれかに記載のプロセス。

[10] 前記緩衝溶液が、7.5 ~ 8.5のpHを有する、[9]に記載のプロセス。

[11] 前記緩衝溶液が、7.9 ~ 8.5、8.0 ~ 8.4、または8.1 ~ 8.3のpHを有する、[10]に記載のプロセス。

[12] 前記緩衝溶液が、8.2のpHを有する、[9]に記載のプロセス。

[13] 前記緩衝剤が、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、コハク酸緩衝液、及びリン酸緩衝液からなる群から選択される、[1] ~ [12]のいずれかに記載のプロセス。

[14] 前記緩衝剤が、HEPPSO (N-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-N'- (2-ヒドロキシプロパンスルホン酸))、POPPSO (ピペラジン-1,4-ビス-(2-ヒドロキシ-プロパン-スルホン酸)無水物)、HEPES (4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-エタンスルホン酸)、EPPS (4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-プロパンスルホン酸)、TES (N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]-2-アミノエタンスルホン酸)、MES (2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、[1] ~ [12]のいずれかに記載のプロセス。

[1 5] 前記緩衝剤が、E P P Sである、[1 4]に記載のプロセス。

[1 6] 前記緩衝溶液が、塩化ナトリウムをさらに含む、[1] ~ [1 5]のいずれかに記載のプロセス。

[1 7] 前記緩衝溶液が、有機溶媒をさらに含む、[1] ~ [1 6]のいずれかに記載のプロセス。

[1 8] 前記有機溶媒が、D M Aである、[1 7]に記載のプロセス。

[1 9] 前記有機溶媒が、前記緩衝溶液の容量で、1 ~ 9 9 %、5 0 % ~ 9 9 %、6 0 % ~ 9 9 %、または7 0 % ~ 9 9 %の量で存在する、[1 7]または[1 8]に記載のプロセス。

[2 0] 前記有機溶媒が、前記緩衝溶液の容量で、5 0 % ~ 9 0 %、5 5 % ~ 8 5 %、6 0 % ~ 8 0 %、または6 5 % ~ 7 5 %の量で存在する、[1 9]に記載のプロセス。

[2 1] 前記有機溶媒が、前記緩衝溶液の容量で、7 0 %の量で存在する、[1 9]に記載のプロセス。

[2 2] 前記二官能性架橋試薬に対してモル過剰量の前記細胞毒性剤をステップ (a) の前記反応で使用する、[1] ~ [2 1]のいずれかに記載のプロセス。

[2 3] 前記細胞毒性剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、1 . 1 : 1 ~ 2 0 : 1、1 . 1 : 1 ~ 1 0 : 1、1 . 1 : 1 ~ 5 : 1、または1 . 1 : 1 ~ 2 : 1である、[2 2]に記載のプロセス。

[2 4] 前記細胞毒性剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、1 : 1 : 1 ~ 1 . 3 : 1である、[2 3]に記載のプロセス。

[2 5] 前記細胞毒性剤対前記二官能性架橋試薬のモル比が、1 . 2 : 1である、[2 3]に記載のプロセス。

[2 6] ステップ (a) の前記反応を1時間 ~ 2時間実施する、[1] ~ [2 5]のいずれかに記載のプロセス。

[2 7] ステップ (a) の前記反応を2時間 ~ 5時間実施する、[1] ~ [2 5]のいずれかに記載のプロセス。

[2 8] ステップ (a) の前記反応を5時間 ~ 2 0時間実施する、[1] ~ [2 5]のいずれかに記載のプロセス。

[2 9] ステップ (a) の前記反応を5時間 ~ 1 5時間実施する、[2 8]に記載のプロセス。

[3 0] ステップ (a) の前記反応を4時間 ~ 8時間、または5時間 ~ 7時間実施する、[2 8]に記載のプロセス。

[3 1] ステップ (a) の前記反応を6時間実施する、[2 8]に記載のプロセス。

[3 2] ステップ (a) の前記反応を1 5 ~ 2 5 の温度で実施する、[1] ~ [3 1]のいずれかに記載のプロセス。

[3 3] ステップ (a) の前記反応を1 7 ~ 2 3、1 8 ~ 2 2、または1 9 ~ 2 1 の温度で実施する、[3 2]に記載のプロセス。

[3 4] ステップ (a) の前記反応を2 0 の温度で実施する、[3 2]に記載のプロセス。

[3 5] ステップ (b) の前記溶液が、5 . 0 ~ 9 . 0、5 . 5 ~ 9 . 0、6 . 0 ~ 9 . 0、または6 . 5 ~ 9 . 0のp Hを有する、[1] ~ [3 2]のいずれかに記載のプロセス。

[3 6] ステップ (b) の前記溶液が、7 . 5 ~ 8 . 5のp Hを有する、[3 5]に記載のプロセス。

[3 7] ステップ (b) の前記溶液が、8 . 0 ~ 8 . 4、または8 . 1 ~ 8 . 3のp Hを有する、[3 5]に記載のプロセス。

[3 8] ステップ (b) の前記溶液が、8 . 2のp Hを有する、[3 5]に記載のプロセス。

[3 9] ステップ (b) の前記溶液が、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、コハク酸緩衝液、及びリン酸緩衝液からなる群から選択される緩衝剤を含む、[1] ~ [3 8]のいずれ

かに記載のプロセス。

[4 0] ステップ (b) の前記溶液が、H E P P S O (N - (2 - ヒドロキシエチル) ピペラジン - N ' - (2 - ヒドロキシプロパンスルホン酸))、P O P S O (ピペラジン - 1 , 4 - ビス - (2 - ヒドロキシ - プロパン - スルホン酸) 無水物)、H E P E S (4 - (2 - ヒドロキシエチル) ピペラジン - 1 - エタンスルホン酸)、E P P S (4 - (2 - ヒドロキシエチル) ピペラジン - 1 - プロパンスルホン酸)、T E S (N - [トリス (ヒドロキシメチル) メチル] - 2 - アミノエタンスルホン酸)、M E S (2 - (N - モルホリノ) エタンスルホン酸)、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される緩衝剤を含む、

[1] ~ [3 8] のいずれかに記載のプロセス。

[4 1] 前記緩衝剤が、E P P S である、[4 0] に記載のプロセス。

[4 2] ステップ (b) の前記溶液が、有機溶媒をさらに含む、[1] ~ [4 1] のいずれかに記載のプロセス。

[4 3] 前記有機溶媒が、D M A である、[4 2] に記載のプロセス。

[4 4] 前記有機溶媒が、前記溶液の容量で、1 ~ 2 5 %、2 ~ 2 0 %、2 ~ 1 5 %、または 2 ~ 1 0 % の量で存在する、[4 2] または [4 3] に記載のプロセス。

[4 5] 前記有機溶媒が、前記溶液の容量で、2 . 5 ~ 7 . 5 %、3 ~ 7 %、4 ~ 6 %、または 4 . 5 ~ 5 . 5 % の量で存在する、[4 4] に記載のプロセス。

[4 6] 前記有機溶媒が、前記溶液の容量で、5 % の量で存在する、[4 5] に記載のプロセス。

[4 7] ステップ (b) の前記溶液中の前記細胞結合剤の濃度が、5 g / L ~ 1 0 0 g / L である、[1] ~ [4 6] のいずれかに記載のプロセス。

[4 8] 前記細胞結合剤の濃度が、5 g / L ~ 5 0 g / L である、[4 7] に記載のプロセス。

[4 9] 前記細胞結合剤の濃度が、1 0 g / L ~ 4 0 g / L である、[4 7] に記載のプロセス。

[5 0] 前記細胞結合剤の濃度が、1 5 g / L ~ 2 5 g / L、1 8 g / L ~ 2 2 g / L、または 1 9 g / L ~ 2 1 g / L である、[4 7] に記載のプロセス。

[5 1] 前記細胞結合剤の濃度が、2 0 g / L である、[5 0] に記載のプロセス。

[5 2] ステップ (b) の前記反応を 1 0 時間 ~ 3 0 時間実施する、[1] ~ [5 1] のいずれかに記載のプロセス。

[5 3] ステップ (b) の前記反応を 1 5 時間 ~ 2 5 時間実施する、[5 2] に記載のプロセス。

[5 4] ステップ (b) の前記反応を 8 時間 ~ 2 4 時間、1 2 時間 ~ 2 0 時間、1 4 時間 ~ 1 8 時間、または 1 5 時間 ~ 1 7 時間実施する、[5 2] に記載のプロセス。

[5 5] ステップ (b) の前記反応を 1 6 時間実施する、[5 4] に記載のプロセス。

[5 6] ステップ (b) の前記反応を 1 8 時間 ~ 2 6 時間、2 0 時間 ~ 2 4 時間、または 1 9 時間 ~ 2 3 時間実施する、[5 2] に記載のプロセス。

[5 7] ステップ (b) の前記反応を 2 2 時間実施する、[5 2] に記載のプロセス。

[5 8] ステップ (b) の前記反応を 1 5 ~ 2 5 の温度で実施する、[1] ~ [5 7] のいずれかに記載のプロセス。

[5 9] ステップ (b) の前記反応を 2 0 の温度で実施する、[5 8] に記載のプロセス。

[6 0] 前記二官能性架橋試薬対前記細胞結合剤のモル比が、2 ~ 1 0 である、[1] ~ [5 9] のいずれかに記載のプロセス。

[6 1] 前記二官能性架橋試薬対前記細胞結合剤のモル比が、3 ~ 6 である、[6 0] に記載のプロセス。

[6 2] 前記二官能性架橋試薬対前記細胞結合剤のモル比が、3 . 5 ~ 5 である、[6 1] に記載のプロセス。

[6 3] 前記二官能性架橋試薬対前記細胞結合剤のモル比が、4 . 0 である、[6 2]

に記載のプロセス。

[6 4] 前記プロセスが、前記溶液の pH を 5 以下に調整することによって、ステップ (b) の前記反応を反応停止するステップをさらに含む、[1] ~ [6 3] のいずれかに記載のプロセス。

[6 5] 前記プロセスが、前記第 2 の混合物を精製して、精製された細胞結合剤細胞毒性剤コンジュゲートを得ることをさらに含む、[1] ~ [6 4] のいずれかに記載のプロセス。

[6 6] 前記第 2 の混合物にタンジェント流濾過、選択的析出、吸着濾過、吸着クロマトグラフィー、非吸着クロマトグラフィー、またはそれらの組み合わせを施すことによって、前記混合物を精製する、[6 5] に記載のプロセス。

[6 7] 前記第 2 の混合物にタンジェント流濾過を施すことによって、前記混合物を精製する、[6 6] に記載のプロセス。

[6 8] 前記細胞結合剤が、抗体である、[1] ~ [6 7] のいずれかに記載のプロセス。

[6 9] 前記抗体が、モノクローナル抗体である、[6 7] に記載のプロセス。

[7 0] 前記抗体が、ヒト化モノクローナル抗体である、[6 9] に記載のプロセス。

[7 1] 前記抗体が、h u N 9 0 1、h u M y 9 - 6、h u B 4、h u C 2 4 2、トラスツズマブ、ビバツズマブ、シプロツズマブ、C N T 0 9 5、h u D S 6、リツキシマブ、抗 H e r 2 抗体、抗 E G F R 抗体、抗 C D 2 7 L 抗体、抗 E G F R v I I I 抗体、抗 C r i p t o 抗体、抗 C D 1 3 8 抗体、抗 C D 3 8 抗体、抗 E p h A 2 抗体、インテグリン標的化抗体、抗 C D 3 7 抗体、抗葉酸受容体抗体、抗 H e r 3 抗体、及び抗 I G F I R 抗体から選択される、[7 0] に記載のプロセス。