

【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】

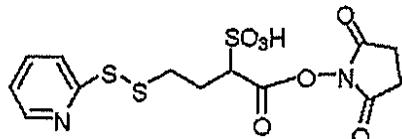
【特許請求の範囲】

【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-プロパンスルホン酸))、

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緩衝剤

を含む、請求項1～13のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項15】

ステップ(b)の前記溶液が、有機溶媒をさらに含む、請求項1～14のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項16】

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

【請求項17】

前記二官能性架橋試薬対前記細胞結合剤のモル比が、2～10、3～6、3.5～5、または4.0である、請求項1～16のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項18】

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1～17のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項19】

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1～18のいずれか1項に記載のプロセス。

【請求項20】

前記抗体が、huN901、huMy9-6、huB4、huC242、トラスツズマブ、ビバツズマブ、シブロツズマブ、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Cripito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19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30mg/mLに濃縮し、透析濾過して、10透析容量の反応緩衝液(50mM EPPS、20mM塩化ナトリウム、2mM EDTA、pH8.2)にし、45g/Lにさらに濃縮した。スルホ-S P D B(10mM)に対して1.2モル比のDM4(12mM)は、167mM EPPS、66.7mM NaCl、2mM EDTA、pH8.2、及び70.0%(v/v)DMA中の抗体に対して4.68モル比のスルホ-S P D B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、50mM EPPS、20mM NaCl、2mM EDTA、pH8.2±0.2、及び5.0%DMA(v/v)中の20mg/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1M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

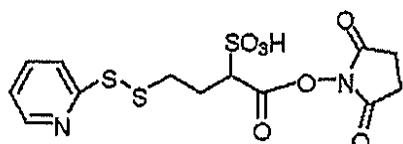
20 mg / mL に濃縮し、16ダイア容量の基礎配合緩衝液(10 mM 酢酸塩、pH 5.0 ± 0.1)に対して透析フィルター濾過した。精製されたコンジュゲートを、スクロース(45%、w/v)及びポリソルベート-20(10%、w/v)の原液を用いて、10 mM 酢酸塩、9%(w/v)スクロース、0.01%(w/v)ポリソルベート-20(Tween-20)、pH 5.0 中に 5.0 mg / mL で配合した。

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))、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、[1]~[12]のいずれかに記載のプロセス。

[15] 前記緩衝剤が、EPPSである、[14]に記載のプロセス。

[16] 前記緩衝溶液が、塩化ナトリウムをさらに含む、[1]～[15]のいずれかに記載のプロセス。

[17] 前記緩衝溶液が、有機溶媒をさらに含む、[1]～[16]のいずれかに記載のプロセス。

[18] 前記有機溶媒が、DMAである、[17]に記載のプロセス。

[19] 前記有機溶媒が、前記緩衝溶液の容量で、1～99%、50%～99%、60%～99%、または70%～99%の量で存在する、[17]または[18]に記載のプロセス。

[20] 前記有機溶媒が、前記緩衝溶液の容量で、50%～90%、55%～85%、60%～80%、または65%～75%の量で存在する、[19]に記載のプロセス。

[21] 前記有機溶媒が、前記緩衝溶液の容量で、70%の量で存在する、[19]に記載のプロセス。

[22] 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]～[21]のいずれかに記載のプロセス。

[23] 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、[22]に記載のプロセス。

[24] 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、[23]に記載のプロセス。

[25] 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、[23]に記載のプロセス。

[26] ステップ(a)の前記反応を1時間～2時間実施する、[1]～[25]のいずれかに記載のプロセス。

[27] ステップ(a)の前記反応を2時間～5時間実施する、[1]～[25]のいずれかに記載のプロセス。

[28] ステップ(a)の前記反応を5時間～20時間実施する、[1]～[25]のいずれかに記載のプロセス。

[29] ステップ(a)の前記反応を5時間～15時間実施する、[28]に記載のプロセス。

[30] 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、[28]に記載のプロセス。

[31] ステップ(a)の前記反応を6時間実施する、[28]に記載のプロセス。

[32] ステップ(a)の前記反応を15～25の温度で実施する、[1]～[31]のいずれかに記載のプロセス。

[33] ステップ(a)の前記反応を17～23、18～22、または19～21の温度で実施する、[32]に記載のプロセス。

[34] ステップ(a)の前記反応を20の温度で実施する、[32]に記載のプロセス。

[35] 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pHを有する、[1]～[32]のいずれかに記載のプロセス。

[36] ステップ(b)の前記溶液が、7.5～8.5のpHを有する、[35]に記載のプロセス。

[37] ステップ(b)の前記溶液が、8.0～8.4、または8.1～8.3のpHを有する、[35]に記載のプロセス。

[38] ステップ(b)の前記溶液が、8.2のpHを有する、[35]に記載のプロセス。

[39] 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]～[38]のいずれ

かに記載のプロセス。

[40]ステップ(b)の前記溶液が、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-[ト里斯(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緩衝剤を含む。

[1]～[38]のいずれかに記載のプロセス。

[41]前記緩衝剤が、EPPSである、[40]に記載のプロセス。

[42]ステップ(b)の前記溶液が、有機溶媒をさらに含む、[1]～[41]のいずれかに記載のプロセス。

[43]前記有機溶媒が、DMAである、[42]に記載のプロセス。

[44]前記有機溶媒が、前記溶液の容量で、1～25%、2～20%、2～15%、または2～10%の量で存在する、[42]または[43]に記載のプロセス。

[45]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、[44]に記載のプロセス。

[46]前記有機溶媒が、前記溶液の容量で、5%の量で存在する、[45]に記載のプロセス。

[47]ステップ(b)の前記溶液中の前記細胞結合剤の濃度が、5g/L～100g/Lである、[1]～[46]のいずれかに記載のプロセス。

[48]前記細胞結合剤の濃度が、5g/L～50g/Lである、[47]に記載のプロセス。

[49]前記細胞結合剤の濃度が、10g/L～40g/Lである、[47]に記載のプロセス。

[50]前記細胞結合剤の濃度が、15g/L～25g/L、18g/L～22g/L、または19g/L～21g/Lである、[47]に記載のプロセス。

[51]前記細胞結合剤の濃度が、20g/Lである、[50]に記載のプロセス。

[52]ステップ(b)の前記反応を10時間～30時間実施する、[1]～[51]のいずれかに記載のプロセス。

[53]ステップ(b)の前記反応を15時間～25時間実施する、[52]に記載のプロセス。

[54]ステップ(b)の前記反応を8時間～24時間、12時間～20時間、14時間～18時間、または15時間～17時間実施する、[52]に記載のプロセス。

[55]ステップ(b)の前記反応を16時間実施する、[54]に記載のプロセス。

[56]ステップ(b)の前記反応を18時間～26時間、20時間～24時間、または19時間～23時間実施する、[52]に記載のプロセス。

[57]ステップ(b)の前記反応を22時間実施する、[52]に記載のプロセス。

[58]ステップ(b)の前記反応を15～25の温度で実施する、[1]～[57]のいずれかに記載のプロセス。

[59]ステップ(b)の前記反応を20の温度で実施する、[58]に記載のプロセス。

[60]前記二官能性架橋試薬対前記細胞結合剤のモル比が、2～10である、[1]～[59]のいずれかに記載のプロセス。

[61]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、[60]に記載のプロセス。

[62]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、[61]に記載のプロセス。

[63]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、[62]

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、huN901、huMy9-6、huB4、huC242、トラスツズマブ、ビバツズマブ、シブロツズマブ、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Cripito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、[7 0] に記載のプロセス。