(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118382458 A
(43)申请公布日 2024.07.23

(21)申请号 202280080939.6
(22)申请日 2022.12.14
(30)优先权数据
PA202170621 2021.12.15 DK
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.06.06
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/DK2022/050279 2022.12.14
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/110044 EN 2023.06.22
(71)申请人 Y—单克隆抗体制药有限公司
地址 美国纽约州
(72)发明人 托班·朗德-汉生
尼科·莱本伯格
马蒂亚斯·M·莫腾森
斯蒂恩·利斯比 李苹
(74)专利代理机构 北京泰吉知识产权代理有限公司 11355
专利代理师 史瞳 谢琼慧
(51)Int.Cl.
*A61K 39/395*(2006.01)
*A61K 33/00*(2006.01)
*C07K 14/47*(2006.01)

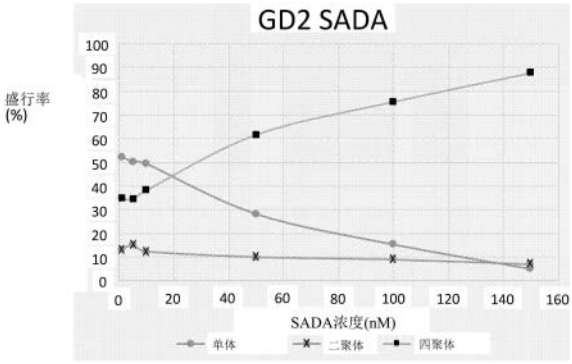
权利要求书3页 说明书28页
序列表（电子公布） 附图5页

(54)发明名称

# 包含SADA复合物的制剂

(57)摘要

本发明揭露包含SADA复合物的制剂。所述制剂提供令人满意的储放时限而无该SADA复合物的过度分解或多聚化。进一步揭露该制剂用于治疗癌症的用途。




CN 118382458 A

1.一种水性组成物,其包含

a.呈5-50g/L的量的一SADA复合物,其包含一SADA区域、一第一结合位点、一第二结合位点;

b.一缓冲系统;

c.一或多种稳定剂;及

d.一或多种表面活性剂。

2.根据权利要求1所述的组成物,其中pH在5-6范围内。

3.根据权利要求1或2所述的组成物,其中离子强度在5-150mM范围内。

4.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该离子强度在选自5-150mM、15-135mM、20-120mM及25-100mM的范围内。

5.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其包含呈选自以下的量的SADA复合物:5-50g/L、6.25-45g/L、7.5-40g/L、9.75-35g/L、10-30g/L、11.25-25g/L、12.5-20g/L、13.75-17.5g/L,且较佳15g/L。

6.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该第一结合位点能够结合至一肿瘤抗原。

7.根据权利要求6所述的组成物,其中该第一结合位点能够结合至GD2、B7-H3、CD20、GPA33或CD38。

8.根据权利要求7所述的组成物,其中该第一结合位点能够结合GD2、包含SEQ ID NO:1-6中所示的CDR序列,且与SEQ ID NO:7具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性。

9.根据权利要求7所述的组成物,其中该第一结合位点能够结合GD2,且包含:

a.一多肽,其包含与SEQ ID NO:8具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性的一序列,及

b.一多肽,其包含与SEQ ID NO:9具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性的一序列。

10.根据权利要求7所述的组成物,其中该第一结合位点能够结合CD38、包含SEQ ID NO:29-34中所示的CDR序列,且与SEQ ID NO:35具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性。

11.根据权利要求7所述的组成物,其中该第一结合位点能够结合CD38且包含:

a.一多肽,其包含与SEQ ID NO:36具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性的一序列,及

b.一多肽,其包含与SEQ ID NO:37具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性的一序列。

12.根据权利要求6至11中任一项所述的组成物,其中该第二结合位点能够结合至一螯合剂或与一金属离子络合的一螯合剂。

13.根据权利要求12所述的组成物,其中该第二结合位点能够结合至DOTA、苯甲基-DOTA、包含DOTA环系统的一化合物;或能够结合与例如镥的一金属离子络合的DOTA。

14.根据权利要求13所述的组成物,其中该第二结合位点包含一多肽,其具有一包含SEQ ID NO:23-28的CDR序列的序列。

15.根据权利要求14所述的组成物,其中该第二结合位点包含:

a.一多肽,其包含与SEQ ID NO:10具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性的一序列,及

b.一多肽,其包含与SEQ ID NO:11具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少99%序列一致性的一序列。

16.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该SADA区域包含一多肽,其具有根据SEQ ID NO:12-19的一序列或与SEQ ID NO:12-19中的一者有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个取代的差异的一序列。

17.根据权利要求16所述的组成物,其中该SADA区域包含一多肽,其具有SEQ ID NO:12中的氨基酸6-36的序列。

18.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该SADA复合物进一步包含一或多个连接子。

19.根据权利要求18所述的组成物,其中该SADA复合物包含具有一序列的一或多个连接子,该序列选自SEQ ID NO:20乘以1-6之间的一整数,及SEQ ID NO:21。

20.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该SADA复合物包含根据SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40或SEQ ID NO:41的一序列。

21.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该缓冲系统包含一有机酸或其一碱金属盐。

22.根据权利要求21所述的组成物,其中该有机酸选自:乙酸盐、柠檬酸盐、组氨酸、柠檬酸盐-组氨酸、乙酸盐-组氨酸及丁二酸盐。

23.根据权利要求21或22所述的组成物,其中缓冲剂包含乙酸钠。

24.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其包含呈选自5-100mM、15-50mM且较佳20mM的量的缓冲剂。

25.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该一或多种稳定剂选自多元醇、糖醇及非还原糖。

26.根据权利要求25所述的组成物,其中该稳定剂为蔗糖。

27.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其包含呈选自200-350mM、250-300mM且较佳275mM的量的稳定剂。

28.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该一或多种表面活性剂选自非离子表面活性剂,诸如聚乙二醇山梨糖醇酐单月桂酸酯、聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)或聚乙二醇山梨糖醇酐单油酸酯。

29.根据权利要求28所述的组成物,其中该表面活性剂为聚乙二醇山梨糖醇酐单月桂酸酯。

30.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其包含呈选自0.1-0.3g/L、0.15-0.25g/l且较佳0.20g/L的量的表面活性剂。

31.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中pH选自5-6、5.2-5.8、5.4-5.6且较佳5.5。

32.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其进一步包含一抗氧化剂。

33.根据权利要求32所述的组成物,其中该抗氧化剂为甲硫氨酸。

34.根据权利要求32或33所述的组成物,其包含呈选自5-15mM、8-12mM且较佳10mM的量的抗氧化剂。

35.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该组成物不包含NaCl或包含一低浓度的NaCl。

36.根据权利要求35所述的组成物,其中NaCl的浓度低于50mM。

37.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其包含

a.呈约15g/L的量的一SADA复合物,其包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列或由所述氨基酸序列组成;

b.呈约20mM的量的乙酸钠;

c.呈约275mM的量的蔗糖;

d.呈约0.2g/L的量的聚山梨醇酯20;及

e.10mM甲硫氨酸;

其中pH为5.5。

38.如前述权利要求中任一项所述的组成物,其中该组成物为一医药组成物。

39.一种如前述权利要求中任一项所述的组成物的用途,其用于治疗或诊断癌症。

40.根据权利要求40的用途,其用于治疗或诊断表达GD2、B7-H3、CD20、GPA33或CD38的一癌症。

41.根据权利要求39或40的用途,其中该癌症选自神经母细胞瘤、黑色素瘤、肉瘤、脑肿瘤或癌瘤。

42.根据权利要求39至41中任一项的用途,其中该癌症选自骨肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、平滑肌肉瘤、梭状细胞肉瘤、脑瘤、小细胞肺癌、视网膜母细胞瘤、HTLV-1感染的T细胞白血病及其他GD2或CD38阳性肿瘤。

43.根据权利要求39至42中任一项的用途,其用于包含以下步骤的一方法:

a.向需要该治疗或诊断的一患者给药一根据权利要求1至38中任一项所述的组成物;及

b.在一时段之后,给药一包含一放射性核素的DOTA化合物。

44.根据权利要求43的用途,其中该方法进一步包含在步骤a.之后且在步骤b.之前给药一清除剂。

45.根据权利要求43或44的用途,其中该放射性核素选自一发射α、β及正电子的放射性核素。

46.根据权利要求45的用途,其中该放射性核素选自由以下组成的群:$^{177}$Lu、$^{99}$mTc、$^{64}$Cu、$^{90}$Y及$^{89}$Zr。

47.一种药盒,其包含根据权利要求1至38所述的组成物及一DOTA化合物。

48.根据权利要求47的药盒,其进一步包含一放射性核素。

# 包含SADA复合物的制剂

## 技术领域

[0001] 本说明书包含与本申请案一起提交的呈计算机可读格式的序列表。序列表形成本揭露内容的一部分且整体并入说明书中。

[0002] 本发明涉及包含SADA复合物的组成物,其中该SADA复合物在四聚体形式中保持稳定。较佳地,组成物为医药组成物。

[0003] 本发明进一步涉及使用本发明的组成物治疗癌症。

## 背景技术

[0004] 蛋白质药物通常调配为水性制剂,其包含使蛋白质稳定的成分以确保令人满意的储放时限。

[0005] 自组装及分解(self-assembling and disassembling,SADA)技术最初揭露于WO 2018204873A1中,且利用具有取决于浓度而组装及分解的特性的SADA区域。包含SADA区域的复合物通常以至少两种不同形式,亦即高浓度下的四聚形式及低浓度下的单体形式存在。

[0006] SADA复合物可经设计,使得四聚形式具有远高于肾清除极限的分子量且单体形式具有低于肾清除极限的分子量,意谓四聚体形式将具有高血浆半衰期且单体形式具有低血浆半衰期。

[0007] 由于SADA复合物主要以四聚形式给药,因此对其制剂提出挑战,因为制剂不仅应提供令人满意的蛋白质稳定性,亦应确保SADA复合物保持四聚形式而不过度分解成单体或附聚成多聚体。

## 发明内容

[0008] 发明概要

[0009] 本揭露内容提供包含SADA区域作为SADA复合物的一部分的组成物,允许将有效负载有效递送至感兴趣的目标位点,同时使脱靶相互作用的风险降至最低。为了最佳递送有效负载,期望呈四聚体形式的SADA复合物在组成物/溶液中高度稳定。然而,确保所述组成物的稳定性是一项挑战。挑战是确保组成物包含主要呈高阶四聚化状态的SADA复合物,所述SADA复合物保持四聚体形式且同时避免其多聚化(multimerization)、聚集及沉淀以及产物损失。

[0010] 期望SADA复合物以四聚形式给药,因为大小远高于肾清除极限的四聚形式将保留在血液循环中持续足以允许结合至感兴趣的位点的时间,而单体形式将因为其大小低于肾清除极限而迅速自循环中损失。总体而言,此提供SADA复合物的特定期望特性,亦即当以四聚形式给药时在循环中保留足够长的时间以结合至感兴趣的位点,且不结合目标的复合物将逐渐分解成单体,所述单体将经由肾脏损失。本揭露内容提供一种确保SADA复合物的所需稳定性的组成物。

[0011] 在第一态样中,本发明涉及一种水性组成物,其包含

[0012] a.呈5-50g/L的量的SADA复合物,其包含SADA区域及至少一个额外区域;

[0013] b.缓冲系统;

[0014] c.一或多种稳定剂;及

[0015] d.一或多种表面活性剂;

[0016] 其中pH在5-6范围内,且SADA复合物主要呈四聚形式,且离子强度在5-150mM范围内。

[0017] 已意外地意识到,该制剂能够在储存时使SADA复合物稳定且进一步维持SADA复合物主要呈四聚形式。

[0018] SADA复合物较佳包含SADA区域及两个结合位点,一个结合位点能够结合肿瘤抗原,另一结合位点能够结合与金属离子络合的螯合剂。螯合剂可为DOTA或包含DOTA环系统的化合物。

[0019] 在第二态样中,本发明涉及根据本发明的组成物用于治疗或诊断癌症的用途。

[0020] 在一较佳实施例中,本发明涉及根据本发明的组成物在包含以下步骤的方法中的用途:

[0021] a.向需要治疗或诊断的患者给药根据本发明的组成物;及

[0022] b.在一时段之后,给药结合放射性核素的DOTA化合物。

[0023] 在第三态样中,本发明涉及一种药盒(kit),其包含本发明的组成物,且较佳包含使用说明书及/或结合放射性核素的DOTA。

[0024] 其他态样提供于权利要求中。

[0025] 详细说明

[0026] 本发明涉及已以引用的方式并入本文中的公开案第WO 2018204873A1号的国际专利申请案中已描述的自组装及分解(SADA)技术。该技术基于SADA区域,亦即具有取决于浓度而自组装及分解的特性的小多肽。SADA多肽的实例为包含p53、p63、p76、hnRNPC、SNAP-23、半胱氨酸蛋白酶抑制剂(Stefin)B、KCNQ4、CBFA2T1的四聚化区域的多肽及该国际专利申请案中提供的此类多肽的任何其他实例,但不限于此。

[0027] 根据本说明书,SADA复合物意欲意谓包含SADA区域及至少一个额外区域的多肽。

[0028] SADA复合物将在高浓度下自组装且形成多聚体,尤其四聚体,且在低浓度下分解成单体。此具有以下结果:当向患者给药时,呈四聚形式的SADA复合物将在血浆中稀释且逐渐分解成单体。若SADA复合物经设计以使得多聚形式具有高于肾清除极限的大小且单体具有低于肾清除极限的大小,则多聚体将具有长血浆半衰期而单体具有低血浆半衰期。

[0029] 对于包含结合至组织抗原的结合位点的SADA复合物,SADA复合物将快速结合至抗原目标且定位于目标组织,而未结合SADA复合物将快速分解且通过肾清除作用自血浆中清除。

[0030] 本发明的一些实施例提供于权利要求中。

[0031] 根据一实施例,本发明涉及一种水性组成物,其包含

[0032] a.呈5-50g/L的量的SADA复合物,其包含SADA区域及至少一个额外区域;

[0033] b.缓冲系统;

[0034] c.一或多种稳定剂;及

[0035] d.一或多种表面活性剂;

[0036] 其中pH在5-6范围内,且离子强度在5-150mM范围内。

[0037] 较佳地,SADA复合物主要为多聚/四聚形式。

[0038] 本发明的制剂具有确保组成物稳定性的优点。诸位发明人已意识到,本发明的制剂确保SADA复合物的高稳定性,且能够在储存时维持SADA复合物呈四聚形式,且进一步保护蛋白质免于蛋白质降解。因此,本发明的组成物提供四聚SADA复合物的溶液,所述复合物保持四聚形式且减少储存之后及储存期间的蛋白质降解。因此,本发明的制剂提供具有期望的高储放时限的SADA分子。

[0039] 根据一实施例,本发明涉及本发明的组成物,其中离子强度在5-150mM、10-135mM、20-120mM或25-100mM范围内。

[0040] 根据一实施例,本发明涉及本发明的组成物,其包含呈选自5-50g/L、6.25-45g/L、7.5-40g/L、9.75-35g/L、10-20g/L,且较佳10-15g/L的量的SADA复合物。

[0041] 根据一实施例,SADA复合物包含两个结合位点及一个SADA区域,其中第一结合位点能够结合至目标抗原且第二结合位点能够结合至有效负载,诸如细胞毒性剂、放射性核素或能够结合有效负载的化合物。

[0042] 在一些实施例中,第一及/或第二结合位点为或包含抗体组分,诸如抗体的抗原结合片段、scFv或纳米抗体。较佳地,第一及/或第二结合位点为scFv。

[0043] 在一些实施例中,第一结合位点对细胞表面目标,诸如肿瘤抗原具有特异性。

[0044] 根据一实施例,对肿瘤抗原具有特异性的结合位点为抗GD2、抗CD20、抗CD38、抗Globo H、抗GPA33、抗PSMA、抗聚唾液酸、抗路易体(Lewy)、抗LiCAM、抗HER2、抗B7H3、抗CD33、抗肽/MHC、抗磷脂肌醇蛋白聚醣3(glypican3)或抗GD3结合区域。

[0045] 因此,本发明涉及本发明的组成物,其中第一结合位点能够结合至肿瘤抗原。

[0046] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第一结合位点能够结合至GD2、B7-H3、CD20、GPA33或CD38。

[0047] GD2为双唾液酸神经节苷脂,其可视为肿瘤相关抗原。

[0048] B7-H3亦称为CD276,是一种免疫检查点分子及共刺激性/共抑制性免疫调节蛋白,其可视为肿瘤相关抗原。

[0049] CD20为膜嵌入表面分子,其可视为肿瘤相关抗原。

[0050] GPA33为糖蛋白及细胞表面抗原,其可视为肿瘤相关抗原。

[0051] CD38亦称为环状ADP核糖水解酶,是一种糖蛋白,其可视为肿瘤相关抗原。

[0052] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第一结合位点包含序列

[0053] a.包含SEQ ID NO:1-6的CDR序列,及

[0054] b.与SEQ ID NO:7具有至少90％、95％、96％、97％、98％或较佳至少95％序列一致性。

[0055] 根据一个较佳实施例,第一结合位点能够结合GD2且包含SEQ ID NO:7的序列。

[0056] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第一结合位点包含序列

[0057] a.与SEQ ID NO:8具有至少90％、95％、96％、97％、98％或较佳至少95％序列一致性;及序列

[0058] b.与SEQ ID NO:9具有至少90％、95％、96％、97％、98％或较佳至少95％序列一致性。

[0059] CD38亦称为环状ADP核糖水解酶,是一种糖蛋白,其可视为肿瘤相关抗原。

[0060] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第一结合位点包含序列

[0061] a.包含SEQ ID NO:29-34的CDR序列,及

[0062] b.与SEQ ID NO:35具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少95%序列一致性。

[0063] 较佳地,此实施例的第一结合位点能够结合CD38。

[0064] 在一较佳实施例中,第一结合位点能够结合CD38且包含SEQ ID NO:35的序列。

[0065] 根据另一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第一结合位点包含序列

[0066] a.与SEQ ID NO:36具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少95%序列一致性,及序列

[0067] b.与SEQ ID NO:37具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少95%序列一致性。

[0068] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第二结合位点能够结合至螯合剂。

[0069] 原则上,根据本发明可使用任何螯合剂,其限制条件为第二结合位点能够结合该螯合剂。

[0070] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第二结合位点能够结合至DOTA或包含DOTA环系统的化合物,或当DOTA与金属离子,例如镥(诸如$^{175}Lu^{3+}$或$^{177}Lu^{3+}$)螯合时,能够结合DOTA或包含DOTA环系统的化合物。

[0071] 十二烷四乙酸(Dodecane Tetraacetic Acid,DOTA)亦称为1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸,且具有式$(CH_2CH_2NCH_2CO_2H)_4$,亦称为$C_{16}H_{28}N_4O_8 \cdot xH_2O$。

[0072] 包含DOTA环系统的化合物在本说明书中意欲意谓包含与额外基团或部分连接的DOTA的化合物。此类化合物的实例包括苯甲基-DOTA及以引用的方式并入的WO2019010299A中所揭露的双特异性螯合剂。

[0073] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第二结合位点:

[0074] a.包含SEQ ID NO:23-28的CDR序列,及

[0075] b.包含与SEQ ID NO:35具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少95%序列一致性的多肽。

[0076] 较佳地,此实施例的第二结合位点能够结合DOTA-金属,亦即螯合金属离子,诸如镥,较佳$Lu^{3+}$的DOTA。

[0077] 根据此实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中第二结合位点能够结合DOTA-金属且包含序列

[0078] a.与SEQ ID NO:10具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少95%序列一致性,及序列

[0079] b.与SEQ ID NO:11具有至少90%、95%、96%、97%、98%或较佳至少95%序列一致性。

[0080] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中SADA区域包含SEQ ID No.12-19中所揭露的序列或与序列SEQ ID NO:12-19中的一者有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个取代的差异的序列。

[0081] 包含SEQ ID NO:12的序列,更佳SEQ ID NO:12的氨基酸6-36的p53四聚化区域为较佳SADA区域。

[0082] SADA复合物可根据本发明包含额外元件,包括但不限于分隔复合物的不同部分的连接子、除结合位点以外的抗体片段,诸如恒定区及结合至效应子且能够引发效应子或免疫反应的抗原片段。

[0083] 根据一实施例,SADA复合物包含连接子。

[0084] 连接子有时亦称为间隔子,是短氨基酸序列,其经创建以分隔单一多肽中的两个区域,从而允许两个区域在没有来自相邻区域的位阻的情况下折叠且起作用。连接子为此项技术中已知的且本发明不限于连接子的任何特定序列。一般而言,连接子的目的为连接及/或分隔复合物的不同元件,且通常主要由诸如甘氨酸、丝氨酸及苏氨酸等小的亲水性氨基酸构成。

[0085] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其中SADA复合物包含具有选自SEQ ID NO:20乘以1-6之间的整数的序列的连接子。

[0086] 根据本发明可使用的另一适合连接子为IgG3间隔区域,诸如IgG3间隔区域揭露于SEQ ID NO:21中。

[0087] 在一些实施例中,SADA复合物由SADA区域及2个结合位点(诸如scFv)组成。在一些实施例中,SADA复合物包含由连接子及/或间隔子连接的抗GD2 scFv-抗DOTA scFv-p53四聚化区域。在一些实施例中,SADA复合物具有以下结构:由连接子及/或间隔子连接的抗GD2轻链Fv-抗GD2重链Fv-抗DOTA重链Fv-抗DOTA轻链Fv-p53四聚化区域。

[0088] 根据本发明的适合SADA复合物的实例包括包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的GD2-SADA结合物、包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的CD38-SADA结合物、包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的B7-H3-SADA结合物、包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的CD20-SADA结合物及包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的GPA33-SADA结合物。

[0089] 根据本发明,根据本发明的组成物包含缓冲系统,诸如有机酸或其碱金属盐。

[0090] 较佳地,缓冲剂选自乙酸盐、柠檬酸盐、组氨酸、柠檬酸盐-组氨酸、乙酸盐-组氨酸及丁二酸盐。

[0091] 较佳实例包括乙酸盐缓冲剂,其包含乙酸及乙酸钠。

[0092] 乙酸钠亦称为乙酸钠盐且具有式$CH_3COONa$。

[0093] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其包含呈选自5-30mM、10-25mM且较佳20mM的量的缓冲剂。

[0094] 根据一实施例,稳定剂选自多元醇,尤其糖醇及非还原糖。

[0095] 较佳实例包括蔗糖、海藻糖、山梨醇、甘油及肌醇。

[0096] 稳定剂维持或延长时间,其中活性医药成分在储存期间维持期望特性。

[0097] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物,其包含稳定剂,较佳蔗糖,其量选自200-600mM、225-500mM、250-300mM,且较佳275mM。

[0098] 本发明亦关于一种组成物,其中表面活性剂为非离子表面活性剂。

[0099] 非离子表面活性剂可包含长链聚合物/由长链聚合物组成,所述聚合物不解离,由亲水性头基及疏水性尾部组成。

[0100] 根据一实施例,本发明涉及一种组成物,其中表面活性剂为聚乙二醇山梨糖醇酐

单月桂酸酯、聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)或聚乙二醇山梨糖醇酐单油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯。

[0101] 聚乙二醇山梨糖醇酐单月桂酸酯,亦称为聚氧乙烯山梨糖醇酐单月桂酸酯,是此项技术中已知的。较佳聚乙二醇山梨糖醇酐单月桂酸酯可以Polysorbate® 20或TWEEN®20商购。

[0102] 聚乙二醇山梨糖醇酐单油酸酯,亦称为聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯,亦为此项技术中已知的。较佳聚乙二醇山梨糖醇酐单油酸酯可以Polysorbate®80或TWEEN®80商购。

[0103] 聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)亦为此项技术中已知的。较佳聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)可以Kolliphor® P188或Poloxamer® 188商购。

[0104] 聚乙二醇山梨糖醇酐单月桂酸酯为根据本发明使用的较佳表面活性剂。

[0105] 根据一实施例,本发明涉及组成物,其包含呈选自0.1-0.3g/L、0.15-0.25g/L、0.16-0.24g/L、0.17-0.23g/L、0.18-0.22g/L、0.19-0.21g/L且较佳0.20g/L的量的表面活性剂。

[0106] 本发明的组成物可具有选自5-6、5.1-5.9、5.2-5.8、5.3-5.7、5.4-5.6且较佳5.5的pH。

[0107] 根据本发明的组成物可进一步包含抗氧化剂。

[0108] 可将抗氧化剂添加至组成物中以保护内含物免受由氧化压力引起的损害。对于包含对氧化敏感的氨基酸的蛋白质,尤其对于包含对氧化敏感的氨基酸(所述氨基酸暴露于蛋白质表面上)的蛋白质,此可为有利的。对氧化敏感的氨基酸的实例包括诸如甲硫氨酸及(游离)半胱氨酸等残基。

[0109] 根据本发明使用的较佳抗氧化剂为甲硫氨酸。

[0110] 根据一实施例,本发明涉及组成物,其包含抗氧化剂,诸如甲硫氨酸,其量选自5-15mM、6-14mM、7-13mM、8-12mM、9-11mM且较佳10mM。

[0111] 本发明进一步关于根据本发明的组成物,其不包含盐,或仅包含低浓度(例如低于50mM)的盐。

[0112] 诸位发明人已意识到,盐一般使SADA复合物不稳定,且因此较佳限制组成物中的盐,诸如NaCl、KCl或类似盐的量。

[0113] 根据本发明的较佳组成物包含

[0114] a.呈15g/L的量的SADA复合物

[0115] b.呈20mM的量的乙酸钠

[0116] c.呈275mM的量的蔗糖

[0117] d.呈0.2g/L的量的聚山梨醇酯20

[0118] 其中pH为5.5且SADA复合物主要呈四聚形式。

[0119] 任择地,组成物进一步包含10mM甲硫氨酸。

[0120] 术语主要呈四聚体形式在本说明书及权利要求中意欲意谓大部分SADA复合物呈四聚体形式,例如至少50%w/w;至少60%w/w;至少70%w/w;至少80%w/w;至少90%w/w;或

至少95％w/w。

[0121] 根据一实施例,根据本发明的组成物为医药组成物。

[0122] 本发明的SADA复合物可使用此项技术中已知的方法制备。

[0123] 在一较佳实施例中,通过编码复合物的所需氨基酸序列的核酸。制备包含核酸序列的构建体,该核酸序列具备引导所选宿主生物体中表达的必需调控元件,诸如启动子、信号序列、核糖体识别位点Kozak序列、增强子、终止子、聚腺苷酸化位点等,且将该构建体插入所选宿主生物体中,该生物体在引起SADA复合物表达的条件下生长。最后,使用熟知分离及回收技术自生长培养液回收SADA复合物。

[0124] 本发明的制剂可通过使用此项技术中已知的方法将SADA复合物及其他成分溶解于无菌水中来制备。

[0125] 本发明进一步关于根据本发明的组成物用于治疗或诊断癌症的用途。

[0126] 根据一实施例,根据本发明的组成物可用于治疗或诊断表达由SADA结合物识别的肿瘤抗原,诸如GD2、CD38、B7-H3、CD20或GPA33的癌症。

[0127] 癌症可选自神经母细胞瘤、黑色素瘤、肉瘤、脑肿瘤或癌瘤。

[0128] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物的用途,其中该癌症选自骨肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤、恶性纤维组织细胞瘤、平滑肌肉瘤、梭状细胞肉瘤、脑瘤、小细胞肺癌、视网膜母细胞瘤、HTLV-1感染的T细胞白血病及其他对GD2、CD38、B7-H3、CD20或GPA33呈阳性的肿瘤。

[0129] 根据一实施例,本发明涉及如前述技术方案中任一项的组成物在包含以下步骤的方法中的用途:

[0130] a.向需要治疗或诊断的患者给药根据本发明的组成物;及

[0131] b.在一时段之后,给药包含放射性核素的DOTA化合物。

[0132] 步骤b.中的时段通常在48小时至72小时,诸如50小时至65小时,或55小时至60小时之间选择。较佳地,该时段经选择以允许大部分未结合SADA复合物分解且自血流中清除。

[0133] 本发明的方法可进一步包含在步骤a.之后且在步骤b.之前给药清除剂。

[0134] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的组成物的用途,其中放射性核素选自发射α、β及正电子的放射性核素。

[0135] 根据一实施例,本发明涉及本发明的用途,其中放射性核素选自由以下组成的群:$^{211}$At、$^{51}$Cr、$^{57}$Co、$^{58}$Co、$^{67}$Cu、$^{152}$Eu、$^{67}$Ga、$^{111}$In、$^{59}$Fe、$^{212}$Pb、$^{177}$Lu、$^{223}$Ra、$^{224}$Ra、$^{186}$Re、$^{188}$Re、$^{75}$Se、$^{99m}$Tc、$^{227}$Th、$^{89}$Zr、$^{90}$Y、$^{94m}$Tc、$^{64}$Cu、$^{68}$Ga、$^{66}$Ga、$^{86}$Y、$^{82}$Rb、$^{110m}$In、$^{209}$Bi、$^{211}$Bi、$^{212}$Bi、$^{213}$Bi、$^{210}$Po、$^{211}$Po、$^{212}$Po、$^{214}$Po、$^{215}$Po、$^{216}$Po、$^{218}$Po、$^{211}$At、$^{215}$At、$^{217}$At、$^{218}$At、$^{221}$Fr、$^{223}$Ra、$^{224}$Ra、$^{226}$Ra、$^{225}$Ac、$^{227}$Ac、$^{227}$Th、$^{228}$Th、$^{229}$Th、$^{230}$Th、$^{232}$Th、$^{231}$Pa、$^{233}$U、$^{234}$U、$^{235}$U、$^{236}$U、$^{238}$U、$^{237}$Np、$^{238}$Pu、$^{239}$Pu、$^{240}$Pu、$^{244}$Pu、$^{241}$Am、$^{244}$Cm、$^{245}$Cm、$^{248}$Cm、$^{249}$Cf及$^{252}$Cf。

[0136] 根据本发明使用的放射性核素的较佳实例包括$^{177}$Lu、$^{99}$mTc、$^{64}$Cu、$^{90}$Y及$^{89}$Zr。

[0137] 根据一实施例,本发明涉及包含本发明的组成物及DOTA化合物的药盒。

[0138] 通常,药盒进一步包含使用说明书,或至少关于在何处找到此类信息的用户信息。

[0139] 根据一实施例,本发明涉及根据本发明的药盒,其进一步包含放射性核素。

[0140] 定义

[0141] 抗体片段:抗体片段为抗体的一部分,诸如F(ab')2、F(ab)2、Fab'、Fab、Fv、sFv及

其类似物。不论结构,抗体片段均与完整抗体所识别的相同抗原结合。举例而言,3F8单克隆抗体片段与3F8所识别的表位结合。术语「抗体片段」亦包括通过结合至特定抗原以形成复合物而如同抗体一样起作用的任何合成或基因工程化蛋白质。举例而言,抗体片段包括由可变区组成的经分离的片段,诸如由重链及轻链的可变区组成的「Fv」片段;其中轻链与重链可变区通过肽连接子连接的重组单链多肽分子(「scFv蛋白」);以及由模拟高变区的氨基酸残基组成的最小识别单元。

[0142] DOTA:十二烷四乙酸(DOTA)亦称为1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸,且具有式$(CH_2CH_2NCH_2CO_2H)_4$,亦称为$C_{16}H_{28}N_4O_8 \cdot xH_2O$。

[0143] DOTA金属螯合物:意谓具有络合结合金属离子的DOTA。

[0144] DOTA的衍生物:意欲意谓包含DOTA环系统且能够螯合金属离子的化合物。此类化合物的实例包括苯甲基-DOTA及WO2019010299A中所揭露的双特异性螯合剂。其他DOTA衍生物揭露于WO2010099536 A1中。

[0145] 放射性同位素:可与抗体结合的用于诊断或治疗的放射性同位素实例包括但不限于$^{211}At$、$^{14}C$、$^{51}Cr$、$^{57}Co$、$^{58}Co$、$^{67}Cu$、$^{152}Eu$、$^{67}Ga$、$^{3}H$、$^{111}In$、$^{59}Fe$、$^{177}Lu$、$^{32}P$、$^{223}Ra$、$^{224}Ra$、$^{186}Re$、$^{188}Re$、$^{75}Se$、$^{35}S$、$^{99m}Tc$、$^{227}Th$、$^{89}Zr$、$^{90}Y$、$^{123}I$、$^{124}I$、$^{125}I$、$^{131}I$、$^{94m}Tc$、$^{64}Cu$、$^{68}Ga$、$^{66}Ga$、$^{76}Br$、$^{86}Y$、$^{82}Rb$、$^{110m}In$、$^{13}N$、$^{11}C$、$^{18}F$及发射α的粒子。发射α的粒子的非限制性实例包括$^{209}Bi$、$^{211}Bi$、$^{212}Bi$、$^{213}Bi$、$^{212}Pb$、$^{210}Po$、$^{211}Po$、$^{212}Po$、$^{214}Po$、$^{215}Po$、$^{216}Po$、$^{218}Po$、$^{211}At$、$^{215}At$、$^{217}At$、$^{218}At$、$^{218}Rn$、$^{219}Rn$、$^{220}Rn$、$^{222}Rn$、$^{226}Rn$、$^{221}Fr$、$^{223}Ra$、$^{224}Ra$、$^{226}Ra$、$^{225}Ac$、$^{227}Ac$、$^{227}Th$、$^{228}Th$、$^{229}Th$、$^{230}Th$、$^{232}Th$、$^{231}Pa$、$^{233}U$、$^{234}U$、$^{235}U$、$^{236}U$、$^{238}U$、$^{237}Np$、$^{238}Pu$、$^{239}Pu$、$^{240}Pu$、$^{244}Pu$、$^{241}Am$、$^{244}Cm$、$^{245}Cm$、$^{248}Cm$、$^{249}Cf$及$^{252}Cf$。

[0146] 治疗:如本文所用,术语「治疗(treatment)」、「治疗(treat)」、「治疗(treated)」或「治疗(treating)」是指预防及/或治疗,尤其是其中目标是预防或减缓(减轻)非所需的生理变化或病症,诸如多发性硬化症进展。有益或所需的临床结果包括但不限于症状缓解、疾病程度减轻、疾病状态稳定(亦即,未恶化)、疾病进展延迟或减缓、疾病状态改善或缓和及缓解(部分抑或全部缓解),无论可检测抑或不可检测。「治疗」亦可意谓与在未接受治疗的情况下的预计存活期相比延长存活期。需要治疗的人包括已患有病状或病症的人,以及易于患有病状或病症的人,或欲预防病状或病症的人。

[0147] 医药组成物:如本文所用,术语「医药组成物」意欲意谓用于作为药物或医药给药有需要的患者的组成物。医药组成物由医药级成分(例如,如欧洲药典(European Pharmacopoeia)第10版中所描述)使用医药或药剂师领域中已知的方法及技术制备。

[0148] 序列一致性:术语序列一致性意欲意谓两个核酸或氨基酸序列的相关性的量度。序列一致性是通过比对两个序列且找出最长重叠、对重叠中的匹配数进行计数及通过将匹配数除以重叠中的核苷酸或氨基酸残基数来计算序列一致性来确定。序列一致性通常以百分比(%)表示。

[0149] 多种计算算法可供技术人员用于产生序列比对及计算序列一致性。如本文所用,序列比对是指成对比对。若干算法执行此操作,包括序列比对程序Clustal Omega[doi:10.1038/msb.2011.75]。

[0150] 如本文所用,使用以下算法执行序列比对:

[0151] 算法:Clustal Omega(1.2.4),

[0152] (http://www.clustal.org/omega/)。

## 附图说明

[0153] 附图

[0154] 图1显示呈100nM及5nM的浓度的GD2-SADA构建体的两次质量光度测定的测量结果。关于其他细节,参见实例1。

[0155] 图2显示依赖于浓度的GD2-SADA构建体的单体、二聚体及四聚体的分布。关于其他细节,参见实例1。

[0156] 图3显示A部分,GD2-SADA的I期试验的设计。关于其他细节,参见实例10。

[0157] 图4显示四聚化对GD2-SADA结合物的肿瘤杀伤作用的影响。关于其他细节,参见实例9。

[0158] 图5显示植入肿瘤的IMR-32无胸腺裸鼠的SPECT影像,所述裸鼠已给予GD2-SADA(>90%四聚体,10mg/kg,IV)(上图)、GD2单体(2.4mg/kg,IV)(中图)及GD2单体(9.6mg/kg)(下图);随后给药$^{177}$Lu-DOTA。在各图中,第一小鼠在给药$^{177}$Lu-DOTA后2小时扫描,后续小鼠分别在给药$^{177}$Lu-DOTA后24、48及120小时扫描。关于其他细节,参见实例9。

## 具体实施方式

[0159] 序列

[0160] SEQ ID NO:1-6:GD2结合抗体3F8的CDR序列等于GD2-scFv的CDR序列;

[0161] SEQ ID NO:7:抗GD2 scFv;

[0162] SEQ ID NO 8:抗GD2 VL

[0163] SEQ ID NO 9:抗GD2 VH

[0164] SEQ ID NO:10:huC825 VL;

[0165] SEQ ID NO:11:huC825 VH

[0166] SEQ ID NO:12-19:WO 2018204873A1中所揭露的SADA区域;

[0167] SEQ ID NO:20:连接子序列;

[0168] SEQ ID NO:21:IgG3间隔子序列;

[0169] SEQ ID NO:22:GD2-SADA复合物。

[0170] SEQ ID NO:23-28C825的CDR序列

[0171] SEQ ID NO:29-34:CD38结合抗体的CDR序列

[0172] SEQ ID NO:35:抗CD38 scFV

[0173] SEQ ID NO:36:抗CD38 VL

[0174] SEQ ID NO:37:抗CD38 VH

[0175] SEQ ID NO:38:CD38-SADA复合物

[0176] SEQ ID NO:39:B7-H3-SADA复合物

[0177] SEQ ID NO:40:CD20-SADA复合物

[0178] SEQ ID NO:41:GPA33-SADA复合物。

[0179] 所引述的全部参考文献均以引用的方式并入本文中。

[0180] 附图及实例是为了解释而非限制本发明而提供。本领域技术人员将了解,本发明的态样、实施例、权利要求及任何项目可以组合。

[0181] 除非另外提及,否则所有百分比均以重量/重量计。除非另外提及,否则所有测量

皆在标准条件(环境温度及压力)下进行。除非另外提及,否则测试条件是根据欧洲药典10.0。

[0182] 方法及材料

[0183] GD2-SADA复合物:该复合物包含抗GD2 scFv区域、人源化C825区域及P53 SADA区域。该复合物在WO 2018/204873A1中揭露为SEQ ID NO:31,且在本专利申请案中揭露为SEQ ID NO:22。

[0184] CD38-SADA复合物:该复合物包含抗CD38 scFv区域、人源化C825区域及P53 SADA区域。该复合物在(未公开的丹麦专利申请案)DK PA 2021 70621中揭露为SEQ ID NO:41,且在本专利申请案中揭露为SEQ ID NO:38。

[0185] B7-H3-SADA复合物:该复合物包含抗B7-H3 scFv区域、人源化C825区域及P53 SADA区域。该复合物具有SEQ ID NO:39中所示的氨基酸序列。

[0186] CD20-SADA复合物:该复合物包含抗CD20 scFv区域、人源化C825区域及P53 SADA区域。该复合物在(未公开的丹麦专利申请案)DK PA 2021 70621中揭露为SEQ ID NO:42,且在本专利申请案中揭露为SEQ ID NO:40。

[0187] GPA33-SADA复合物:该复合物包含抗GPA33 scFv区域、人源化C825区域及P53 SADA区域。该复合物在(未公开的丹麦专利申请案)DK PA 2021 70621中揭露为SEQ ID NO:61,且在本专利申请案中揭露为SEQ ID NO:41。

[0188] 表面活性剂

[0189] • 聚山梨醇酯20:TWEEN 20®、聚乙二醇山梨糖醇酐单月桂酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐单月桂酸酯。

[0190] • 聚山梨醇酯80:TWEEN 80®、聚乙二醇山梨糖醇酐单油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯。泊洛沙姆(Poloxamer)188:聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)

[0191] • 科利佛(Kollifor):聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)

[0192] 实例

[0193] 实例1.SADA浓度对GD2-SADA所测量到的寡聚形式的相对数量的影响。

[0194] 对于此实例,根据制造商说明书使用Refeyn质量光度计(Refeyn Ltd,Oxford UK),具有以下设置:

[0195]

| | |
|---|---|
| ●测量原理 | 无标记/干涉光散射 |
| ●质量范围 | 4 kDa - 5 MDa |
| ●测量精度 | +/- 2% |
| ●单次测量质量误差 | +/- 5% |
| ●分辨率(FWHM) | 在 66 kDa 下 25 kDa，在 660 kDa 下 88 kDa (25 kDa@66kDa, 88kDa@660kDa) |
| ●浓度范围 | 100 pM-100 nM (粒子浓度) |
| ●灵敏度 | <1 ng 蛋白质 |
| ●样品体积 | 5-20 µl |
| ●帧率(标准设置) | 1 kHz (原始)，100 Hz (集成) |
| ●视场 | 3×10 µm (在 1 kHz 下)直至 10×10 µm (在 300 Hz 下) (3 x 10 µm (@ 1 kHz) up to 10 x 10 µm (@300 Hz)) |
| ●波长 | 525 nm |
| ●像素尺寸 | 21 nm |

[0196] 将GD2-SADA构建体在PBS中稀释,且在37℃下培育60分钟,随后测量大小分布。制备以下稀释液:150nM、100nM、50nM、10nM、5nM、1nM及100pM,且使用Refeyn质量光度计对其进行质量光度测定。

[0197] 图1显示了例示性光谱图,上图关于100nM且下图关于5nM。在光谱图中,可见代表单体、二聚体及四聚体GD2-SADA的三个峰,且对于100nM浓度,可见大约500kDa处的另一宽峰,其代表GD2-SADA的更高多聚体。可进一步看出,在高浓度(100nM)下,高比例的GD2-SADA构建体以四聚形式存在,而在低浓度下,大部分以单体形式存在。

[0198] 图2显示了依赖于浓度的GD2-SADA构建体的分布。

[0199] 实例2.缓冲剂及pH的影响

[0200] 在下表中指定的pH下,在20mM缓冲剂中制备GD2-SADA。通过nanoDSF确定构建体的稳定性,其中Tm表示50%蛋白质展开时的温度,意谓较高温度指示较高稳定性。测量一式四份进行。获得以下结果:

[0201] 表1.GD2-SADA;缓冲剂及pH的影响

[0202]

| 缓冲剂 | pH | Tm (℃) | |
|---|---|---|---|
| | | 平均值 | SD |
| 乙酸盐 | 4.5 | 60.5 | 0.9 |
| | 5.0 | 60.7 | 0.2 |
| | 5.5 | 61.7 | 1.3 |
| 柠檬酸盐 | 4.5 | 58.4 | 0.3 |
| | 5.0 | 60.7 | 1.2 |
| | 5.5 | 60.4 | 0.2 |
| 组氨酸 | 5.5 | 60.8 | 0.9 |
| | 6.0 | 62.3 | 0.4 |
| | 6.5 | 62.3 | 0.5 |
| 柠檬酸盐-组氨酸 | 5.5 | 61.9 | 0.3 |
| | 6.0 | 61.5 | 0.2 |
| | 6.5 | 61.7 | 0.2 |
| 乙酸盐-组氨酸 | 5.5 | 61.9 | 0.3 |
| | 6.0 | 61.5 | 0.2 |
| | 6.5 | 61.7 | 0.2 |
| 丁二酸盐 | 4.5 | 59.7 | 0.6 |
| | 5.0 | 60.9 | 0.3 |
| | 5.5 | 61.2 | 0.4 |

[0203] 结果表明乙酸盐及组氨酸提供比柠檬酸盐及丁二酸盐缓冲剂更高的稳定性。发现>5.5的pH值提供最佳稳定性。

[0204] 实例3.盐及蔗糖的影响

[0205] 在pH 5.5的20mM缓冲剂中制备GD2-SADA,且如所指示添加盐(氯化钠)或蔗糖。通过nanoDSF确定构建体的稳定性,其中Tm表示50%蛋白质展开时的温度,意谓较高温度指示较高稳定性。测量一式四份进行。获得以下结果:

[0206] 表2:GD2-SADA:nanoDSF结果:盐及蔗糖的影响

[0207]

| 缓冲剂(20 mM, pH 5.5) | NaCl (mM) | 蔗糖(mM) | Tm (℃) | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 平均值 | SD |

[0208]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 乙酸盐 | 150 | 0 | 60.9 | 0.2 |
| 柠檬酸盐 | 150 | 0 | 60.4 | 0.5 |
| 组氨酸 | 150 | 0 | 60.7 | 0.7 |
| 柠檬酸盐-组氨酸 | 150 | 0 | 60.7 | 0.6 |
| 乙酸盐-组氨酸 | 150 | 0 | 60.6 | 0.7 |
| 丁二酸盐 | 150 | 0 | 60.8 | 0.2 |
| 乙酸盐 | 0 | 275 | 62.7 | 0.5 |
| 柠檬酸盐 | 0 | 275 | 61.4 | 0.3 |
| 组氨酸 | 0 | 275 | 62.7 | 0.3 |
| 柠檬酸盐-组氨酸 | 0 | 275 | 61.1 | 0.0 |
| 乙酸盐-组氨酸 | 0 | 275 | 63.8 | 0.3 |
| 丁二酸盐 | 0 | 275 | 62.5 | 0.4 |

[0209] 结果表明显示蔗糖使构建体稳定,而盐(氯化钠)使构建体不稳定。

[0210] 实例4.表面活性剂在加速老化研究中的影响

[0211] 制备例示性制剂,其各自包含20mM乙酸盐缓冲剂及275mM蔗糖且进一步包含:

[0212] 表3GD2-SADA:用于加速老化研究的制剂

[0213]

| # | pH | 表面活性剂 | GD2-SADA 浓度(mg/ml) |
|---|---|---|---|
| 1 | 5.5 | 0.2 g/l 聚山梨醇酯 20 | 15 |
| 2 | 5.5 | 3.0 g/l 聚山梨醇酯 20 | 15 |
| 3 | 5.5 | 0.2 g/l 聚山梨醇酯 80 | 15 |
| 4 | 5.5 | 3.0 g/l 聚山梨醇酯 80 | 15 |
| 5 | 5.0 | 0.2 g/l 泊洛沙姆 188 | 15 |
| 6 | 5.5 | 0.2 g/l 泊洛沙姆 188 | 15 |
| 7 | 6.0 | 0.2 g/l 泊洛沙姆 188 | 15 |
| 8 | 5.5 | 3.0 g/l 泊洛沙姆 188 | 15 |
| 9 | 5.5 | 0.2 g/l 泊洛沙姆 188 | 10 |
| 10 | 5.5 | 3.0 g/l 泊洛沙姆 188 | 10 |
| 11 | 5.5 | 0 | 15 |

[0214]

| | | | |
|---|---|---|---|
| 12 | 5.5 | 0 | 10 |

[0215] 将溶液在40℃下储存一或两周,且其后通过粒径排阻HPLC分析纯度,且计算主峰的纯度下降及基于培育前回收率的主要回收率。结果显示于下表4及5中。

[0216] 表4.GD2-SADA:在40℃下1周后通过SE-HPLC测量的加速储存数据

[0217]

| # | 浓度 (mg/ml) | pH | 聚山梨醇酯 20 (g/l) | 聚山梨醇酯 80 (g/l) | 泊洛沙姆 188 (g/l) | 纯度下降 | 平均回收率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 15 | 5.5 | 0.2 | 0 | 0 | 3.4 | 96.5 |
| 2 | 15 | 5.5 | 3.0 | 0 | 0 | 3.4 | 92.5 |
| 3 | 15 | 5.5 | 0 | 0.2 | 0 | 3.5 | 96.0 |
| 4 | 15 | 5.5 | 0 | 3.0 | 0 | 3.5 | 97.3 |
| 5 | 15 | 5.0 | 0 | 0 | 0.2 | 4.3 | 85.3 |
| 6 | 15 | 5.5 | 0 | 0 | 0.2 | 3.5 | 81.7 |
| 7 | 15 | 6.0 | 0 | 0 | 0.2 | 3.1 | 82.5 |
| 8 | 15 | 5.5 | 0 | 0 | 3.0 | 3.3 | 90.9 |
| 9 | 10 | 5.5 | 0 | 0 | 0.2 | 1.8 | 86.2 |
| 10 | 10 | 5.5 | 0 | 0 | 3.0 | 2.0 | 95.6 |
| 11 | 15 | 5.5 | 0 | 0 | 0 | 3.8 | 77.7 |
| 12 | 10 | 5.5 | 0 | 0 | 0 | 2.4 | 82.2 |

[0218] 表5.GD2-SADA:在40℃下2周后通过SE-HPLC测量的加速储存数据

[0219]

| # | 浓度 (mg/ml) | pH | 聚山梨醇酯 20 (g/l) | 聚山梨醇酯 80 (g/l) | 泊洛沙姆 188 (g/01) | 纯度下降 | 平均回收率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 15 | 5.5 | 0.2 | 0 | 0 | 4.9 | 98.6 |
| 2 | 15 | 5.5 | 3.0 | 0 | 0 | 4.9 | 92.2 |
| 3 | 15 | 5.5 | 0 | 0.2 | 0 | 5.3 | 97.3 |

[0220]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4 | 15 | 5.5 | 0 | 3.0 | 0 | 5.2 | 97.5 |
| 5 | 15 | 5.0 | 0 | 0 | 0.2 | 7.6 | 83.4 |
| 6 | 15 | 5.5 | 0 | 0 | 0.2 | 5.4 | 86.1 |
| 7 | 15 | 6.0 | 0 | 0 | 0.2 | 5.6 | 79.2 |
| 8 | 15 | 5.5 | 0 | 0 | 3.0 | 5.4 | 87.2 |
| 9 | 10 | 5.5 | 0 | 0 | 0.2 | 2.4 | 81.1 |
| 10 | 10 | 5.5 | 0 | 0 | 3.0 | 2.6 | 96.5 |
| 11 | 15 | 5.5 | 0 | 0 | 0 | 5.2 | 73.8 |
| 12 | 10 | 5.5 | 0 | 0 | 0 | 3.0 | 77.4 |

[0221] 结果表明,表面活性剂改良平均回收率。在此实例中,使用聚山梨醇酯20/80或高

浓度泊洛沙姆188获得较佳回收率。

[0222] 实例5:GD2-SADA制剂

[0223] 利用实例1-4中的结论制备GD2-SADA的例示性制剂。添加另外的甲硫氨酸作为抗氧化剂以保护M199及聚山梨醇酯免于氧化。

[0224] 表6.GD2-SADA制剂

[0225]

| 组分 | 量 | 功能 |
|---|---|---|
| GD2-SADA | 15g/l | API |
| 乙酸钠 | 20mM | 缓冲剂 |
| 蔗糖 | 275mM | 稳定剂 |
| 聚山梨醇酯20 | 0.2g/l | 表面活性剂 |
| 甲硫氨酸 | 10mM | 抗氧化剂 |
| pH | 5.5 | |

[0226] 实例6:GD2-SADA制剂的兼容性

[0227] 为了证明制剂在临床给药期间的兼容性,进行了使用中稳定性研究以证明根据实例6的GD2-SADA制剂在室温下4小时(包括给药时间)的适合的产物回收率及稳定性。

[0228] 研究涵盖0.05mg/mL至10mg/mL的浓度范围。GD2-SADA的稀释在生理食盐水(NaCl 0.9%)中进行。将含有GD2-SADA稀释液的50mL IV袋连接至输注装置及输注过滤器。通过使GD2-SADA稀释液自50mL IV袋通过输注装置及过滤器来采集样品。

[0229] 纯度、效力、物理化学及粒子结果均在预期范围内且在T=0小时及T=4小时之间相当。

[0230] 表7:GD2-SADA制剂的稳定性研究结果:

[0231]

| 分析方法 | 0.05 mg/mL | | 10 mg/mL | |
|---|---|---|---|---|
| | T=0 小时 | T=4 小时 | T=0 小时 | T=4 小时 |
| 可见粒子 | 基本上不含可见粒子及气泡 | 基本上不含可见粒子及气泡 | 基本上不含可见粒子及气泡 | 基本上不含可见粒子及气泡 |
| ≥25 μm 的亚可见粒子 | 5 个粒子/mL | 3 个粒子/mL | 4 个粒子/mL | 4 个粒子/mL |
| ≥10 μm 的亚可见粒子 | 29 个粒子/mL | 29 个粒子/mL | 52 个粒子/mL | 22 个粒子/mL |
| 相对效力(通过 GD2 SPR) | 与参考标准相当，(相对)效力在 50%至 150%之间 [b] | 与参考标准相当，(相对)效力在 50%至 150%之间 | 与参考标准相当，(相对)效力在 50%至 150%之间 | 与参考标准相当，(相对)效力在 50%至 150%之间 |
| A280 (蛋白质含量) | 0.06 mg/mL | 0.056 mg/mL | 9.89 mg/mL | 9.89 mg/mL |
| | 113%回收率 | 106%回收率 | 99%回收率 | 99%回收率 |
| 非还原 SDS cGE 二聚体 | 20.3% | 20.3% | 20.7% | 20.7% |
| 非还原 SDS cGE 单体 | 72.5% | 72.5% | 71.9% | 71.9% |
| 非还原 SDS cGE 单体+二聚体 | 92.8% | 92.7% | 92.6% | 92.6% |
| 相对效力(通过 GD2 SPR) | 106% [b] | 87% | 101% | 101% |
| 相对效力(通过 DOTA SPR) | 95% | 102% | 104% | 106% |
| 非还原 SDS-cGE HMWS | 6.4% | 6.5% | 6.7 | 6.7% |

[0232]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 非还原 SDS-cGE LMWS | 0.8% | 0.8% | 0.7 | 0.7% |
| 还原 SDS-cGE HMWS | 1.5% | 1.4% | 1.4% | 1.5% |
| 还原 SDS-cGE LMWS | 3.3% | 3.2% | 3.4% | 3.4% |
| 还原 SDS-cGE 纯度 | 95.2% | 95.4% | 95.1% | 95.1% |
| SE-HPLC HMWS | 4.4% | 4.9% | 4.9% | 5.3% |
| SE-HPLC LMWS 1 | 0.7% | 0.6% | 0.7% | 0.7% |
| SE-HPLC 四聚体 | 94.5% | 94.0% | 93.9% | 93.5% |
| SE-HPLC 其他 LMWS | 0.5% | 0.6% | 0.5% | 0.5% |
| 渗透压 | 288 mOsm/kg | 288 mOsm/kg | 337 mOsm/kg | 338 mOsm/kg |
| pH | 5.5 | 5.8 | 5.5 | 5.5 |

[0233] 测试浓度的蛋白质回收率为99％及106％。回收率按观测到的浓度与预期理论浓度之间的百分比差异计算。

[0234] 为了评估在最坏状况下表面黏附对输注材料的潜在影响,使用精密移液管制备最低剂量浓度(0.05mg/mL)以最小化来自制备程序的变化,此通常将不影响临床给药的剂量,其中输注全部体积。此实验鉴别出蛋白质回收率为106％,表明GD2-SADA表面与给药材料的黏附可忽略。

[0235] 总之,所使用的制剂经评估在0.05mg/mL至10mg/mL的测试浓度范围内以及GD2-SADA在室温下储存及处置长达4小时期间稳定。

[0236] 实例7:支持储放时限的稳定性

[0237] 长期稳定性研究(5±3℃)的支持性储放时限研究的稳定性结果概述于表8中,且加速条件(25±2℃)的结果概述于表9中。

[0238] 长期稳定性研究显示出,在含有20mM乙酸钠缓冲剂、275mM蔗糖及0.2g/L聚山梨醇酯20,pH为5.5的制剂中,GD2-SADA在2-8℃下以四聚体形式(>94％)稳定至少9个月。另外,加速稳定性数据显示出,GD2-SADA在25℃下以四聚体形式(>94％)稳定至少3个月。

[0239] 另外,稳定性数据显示出,GD2-SADA在当前制剂中在效力、纯度及杂质方面稳定。

[0240] 表8GD2-SADA制剂的长期稳定性数据(储存在5±3℃下)

[0241]

| 测试方法 | 单位 | 0 个月(M) | 3 M | 6 M | 9 M |
|---|---|---|---|---|---|
| 乳白程度，澄清度 | N/A | 略微乳白色 | 略微乳白色 | 略微乳白色 | 略微乳白色 |
| 澄清度 | NTU | 5 | 6 | 6 | 6 |
| | N/A | <参考悬浮液 II | =参考悬浮液 II | =参考悬浮液 II | =参考悬浮液 II |
| 液体着色程度 | BY 标度 | <BY6 | <BY6 | <BY6 | <BY6 |
| 可见粒子 | N/A | 基本上不含可见粒子 | 未测试 | 基本上不含可见粒子 | 未测试 |
| A280 (蛋白质含量) | mg/mL | 14.5 | 14.7 | 14.7 | 14.7 |
| 非还原 SDS-cGE | 单体% | 71.4 | 72.6 | 71.9 | 71.4 |
| | 二聚体% | 20.8 | 20.2 | 20.7 | 20.9 |
| | 单体%+二聚体% | 92.3 | 92.8 | 92.6 | 92.4 |
| 相对效力 SPR (DOTA) | % | 99 | 106 | 106 | 111 |
| 相对效力 SPR (GD2) | % | 112 | 108 | 99 | 99 |

[0242]

| 测试方法 | 单位 | 0 个月(M) | 3 M | 6 M | 9 M |
|---|---|---|---|---|---|
| 还原 SDS-cGE | 纯度% | 94.9 | 95.8 | 95.0 | 94.7 |
| | LMW 物种% | 3.9 | 3.1 | 3.7 | 4.3 |
| | HMW 物种% | 1.2 | 1.1 | 1.2 | 1.1 |
| 非还原 SDS-cGE | HMW 物种% | 6.9 | 6.5 | 6.7 | 6.8 |
| | LMW 物种% | 0.9 | 0.7 | 0.7 | 0.8 |
| SE-HPLC | 四聚体% | 94.7 | 94.4 | 95.4 | 94.5 |
| | HMW 物种% | 4.1 | 4.4 | 3.2 | 4.2 |
| | LMW 物种 1% | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.7 |
| | 其他 LMW% | 0.6 | 0.5 | 0.6 | 0.6 |
| 生物负荷 | cfu/ 10 mL | 0 | 未测试 | 未测试 | 未测试 |
| 渗透压 | mOsmol/kg | 362 | 未测试 | 367 | 未测试 |
| pH | N/A | 5.5 | 5.5 | 5.5 | 5.5 |

[0243] 表9GD2-SADA制剂的加速稳定性数据(储存在25±2℃下)

[0244]

| 测试方法 | 单位 | 0 个月(M) | 1 M | 2 M | 3 M |
|---|---|---|---|---|---|
| 乳白程度，澄清度 | N/A | 参考悬浮液 II | 参考悬浮液 II | 参考悬浮液 II | 参考悬浮液 II |
| 澄清度 | NTU | 6 | 6 | 6 | 6 |
| | N/A | 略微乳白色 | 略微乳白色 | 略微乳白色 | 略微乳白色 |
| 液体着色程度 | BY-标度 | <BY6 | <BY5 | <BY6 | <BY6 |
| 容器及封闭 | N/A | 无染料进入 | 未测试 | 未测试 | 未测试 |
| 可见粒子 | N/A | 基本上不含可见粒子 | 未测试 | 基本上不含可见粒子 | 基本上不含可见粒子 |
| 亚可见粒子(SvP) | N/A | ≥2 μm：3494<br>≥5 μm：413<br>≥10 μm：合格<br>≥25 μm：合格 | 未测试 | 未测试 | ≥2 μm：3737<br>≥5 μm：393<br>≥10 μm：合格<br>≥25 μm：合格 |
| A280 (蛋白质含量) | mg/mL | 14.8 | 14.8 | 14.8 | 14.8 |

[0245]

| 测试方法 | 单位 | 0 个月(M) | 1 M | 2 M | 3 M |
|---|---|---|---|---|---|
| 非还原 SDS-cGE | 单体% | 72.9 | 72.2 | 71.6 | 71.4 |
| | 二聚体% | 20.2 | 20.6 | 20.3 | 20.2 |
| | 单体%+二聚体% | 93.1 | 92.8 | 91.9 | 91.6 |
| 相对效力 SPR (DOTA) | % | 102 | 105 | 103 | 112 |
| 相对效力 SPR (GD2) | % | 100 | 97 | 96 | 94 |
| 还原 SDS-cGE | 纯度% | 96.5 | 95.0 | 91.2 | 90.0 |
| | LMW 物种% | 2.5 | 3.9 | 6.3 | 8.1 |
| | HMW 物种% | 1.0 | 1.1 | 2.5 | 1.9 |
| 非还原 SDS-cGE | HMW 物种% | 6.2 | 6.5 | 6.1 | 6.0 |
| | LMW 物种% | 0.7 | 0.7 | 0.8 | 0.9 |
| SE-HPLC | 四聚体% | 95.1 | 95.6 | 94.7 | 94.4 |
| | HMW 物种% | 4.1 | 3.0 | 3.6 | 3.8 |
| | LMW 物种 1% | 0.5 | 0.9 | 1.2 | 1.3 |
| | 其他 LMW% | 0.3 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| 渗透压 | mOsmol/kg | 368 | 未测试 | 未测试 | 未测试 |
| pH | N/A | 5.5 | 5.5 | 5.5 | 5.5 |

[0246] 实例8.其他SADA结合物的热稳定性

[0247] 将样品溶液在台式离心机中在20,000×g,4℃下离心1h。将上清液缓冲交换至储备缓冲液(含或不含150mM NaCl的组氨酸及乙酸盐)中,且将样品进一步稀释至10μM。在具有目标蔗糖浓度的所有条件下外加蔗糖。通过nanoDSF以一式两份测量各样品(对于蛋白质展开$T_m$,比率350/330nm)。此研究中包括五种分子。此等分子具有相同DOTA结合及P53序列,但具有不同抗原结合位点,诸如GD2、CD38、B7H3、CD20及GPA33。

[0248] 如表10及11中所示,150mM NaCl对所有研究的SADA分子的热稳定性具有负面影响,如与缓冲剂组(pH 5.5乙酸盐及pH 6.0组氨酸)相比降低的Tm值所指示。另外,275mM蔗糖对所有研究的SADA分子的热稳定性具有正面影响,如与缓冲剂组(pH 5.5乙酸盐及pH 6.0组氨酸)相比提高的Tm值所指示。此种盐不稳定及糖稳定作用对所有研究的SADA分子通用,即使抗原结合位点不同。因此,我们推断盐不稳定及糖稳定作用主要由DOTA结合及P53部分驱动。

[0249] 表10测试SADA分子在不含盐及糖的pH 5.5乙酸盐缓冲剂中的热稳定性(Tm)概述

[0250]

| | 乙酸盐缓冲剂 (pH 5.5) | 乙酸盐+150 mM NaCl (pH 5.5) | 乙酸盐+275 mM 蔗糖(pH 5.5) |
|---|---|---|---|
| CD38-SADA (Tm，℃) | 60.41 | 59.92 | 61.27 |
| B7H3-SADA (Tm，℃) | 53.78 | 52.86 | 55.05 |
| CD20-SADA ($Tm_1$，℃) | 55.85 | 54.67 | 57.2 |
| CD20-SADA ($Tm_2$，℃) | 71.2 | 68.55 | 72.37 |
| GD2-SADA (Tm，℃) | 60.74 | 60.42 | 61.91 |
| GPA33-SADA ($Tm_1$，℃) | 59.87 | 60.62 | 61.02 |
| GPA33-SADA ($Tm_2$，℃) | 70.10 | 65.43 | 71.35 |

[0251] 表11测试SADA分子在不含盐及糖的pH 6.0组氨酸缓冲剂中的热稳定性(Tm)概述

[0252]

| | 组氨酸缓冲剂 (pH 6.0) | 组氨酸+150 mM NaCl (pH 6.0) | 组氨酸+275 mM 蔗糖(pH 6.0) |
|---|---|---|---|
| CD38-SADA (Tm，℃) | 60.68 | 60.09 | 61.10 |
| B7H3-SADA (Tm，℃) | 53.93 | 53.69 | 55.07 |
| CD20-SADA ($Tm_1$，℃) | 56.05 | 54.9 | 57.3 |
| CD20-SADA ($Tm_2$，℃) | 71.7 | 68.56 | 72.35 |
| GD2-SADA (Tm，℃) | 60.8 | 60.5 | 62.04 |
| GPA33-SADA ($Tm_1$，℃) | 59.93 | 60.19 | 61.21 |
| GPA33-SADA ($Tm_2$，℃) | 70.26 | 65.71 | 71.53 |

[0253] 实例9.GD2-SADA四聚体具有较佳PK概况,且因此具有较佳肿瘤更新以及肿瘤杀伤作用。

[0254] 为了更好地评估四聚作用,我们比较GD2-SADA候选药物与称为(P53-/-)GD2-SADA的绝对单体型式,其中消除整个SADA区域,得到大约54kDa的最终蛋白质大小。

[0255] 关于血浆药物动力学及抗肿瘤功效比较GD2-SADA与(P53-/-)GD2-SADA。概言之,结果证明,与呈单体形式之GD2-SADA,(P53-/-)GD2-SADA相比,GD2-SADA四聚体改变血浆暴露概况(表12),且改善GD2-SADA的治疗功效(图4)。此亦得到SPECT/CT成像(图5)支持,其证明与(P53-/-)GD2-SADA单体相比,GD2-SADA的肿瘤结合及持久性实质上更高。因此,重要的是通过当前所主张的组成物保持GD2-SADA呈四聚体形式。

[0256] 表12.(P53-/-)GD2-SADA药物动力学数据概述(n＝6)

[0257]

| 研究组 | 剂量位准 (每只小鼠) | 半衰期 (hr) | Tmax | Cmax (%ID/g) | AUC0.5-72 (h×%ID/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| ($P53^{-/-}$)GD2-SADA (高剂量) | 9.6 mg/kg (240 μg) | 7.8 | 0.5 h | 17.2±3.4 | 125.5±3.7 |
| ($P53^{-/-}$)GD2-SADA (低剂量) | 2.4 mg/kg (60 μg) | 6.9 | 0.5 h | 18.5±1.4 | 138.8±2.6 |
| GD2-SADA (参考剂量) | 10 mg/kg (250 μg) | 8.8 | 0.5 h | 45.6±19.0 | 330.3±21.5 |
| GD2-SADA (低剂量) | 2.5 mg/kg (62.5 μg) | 5.8 | 0.5 h | 41.4±0.6 | 362.6±6.4 |

[0258] 实例10.GD2-SADA:$^{177}$Lu-DOTA药物复合物患有已知表达GD2的复发性或难治性转移性实体肿瘤,包括小细胞肺癌、肉瘤及恶性黑色素瘤的患者中的I期试验。

[0259] 试验将分为3个独立部分:

[0260] A.GD2-SADA剂量递增以优化安全的肿瘤靶向蛋白质组分(GD2-SADA)剂量及GD2-SADA与$^{177}$Lu-DOTA给药之间的给药间隔。

[0261] B.$^{177}$Lu-DOTA剂量递增以建立疗法的最佳、安全的有效负载给药。

[0262] C.重复给药以评估重复给药之后的累积毒性信号及安全概况且确定建议2期剂量。

[0263] 患者群体将由患有已知表达GD2的复发性或难治性转移性实体肿瘤,包括小细胞肺癌(SCLC)、肉瘤及恶性黑色素瘤的成年及青少年患者组成。

[0264] 试验的目标为建立安全给药时程。

[0265] A部分的试验设计可见于图3及下表13中。

[0266] 表13.A部分治疗时程:

[0267]

| | 成像部分 | | | 治疗部分 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | GD2-SADA剂量 | 间隔(h) | $^{177}$Lu-DOTA剂量 | GD2-SADA剂量 | 间隔(h) | $^{177}$Lu-DOTA剂量 |
| 群组 1 | 0.3 mg/kg | 120 | 1.1 GBq/ 30 mCi | 0.3 mg/kg | 120 | 7.4 GBq/ 30 mCi |
| 群组 2 | 0.3 mg/kg | 48 | 1.1 GBq/ 30 mCi | 0.3 mg/kg | 48 | 7.4 GBq/ 30 mCi |
| 群组 3 | 1 mg/kg | 48 或 120 | 1.1 GBq/ 30 mCi | 1 mg/kg | 48 或 120 | 7.4 GBq/ 30 mCi |
| 群组 4 | 3 mg/kg | 48 或 120 | 1.1 GBq/ 30 mCi | 3 mg/kg | 48 或 120 | 7.4 GBq/ 30 mCi |
| 群组 5 | 10 mg/kg | 48 或 120 | 1.1 GBq/ 30 mCi | 10 mg/kg | 48 或 120 | 7.4 GBq/ 30 mCi |

[0268] 群组1:患者将在第1天给药GD2-SADA的静脉内输注,随后在第6天给药$^{177}$Lu-DOTA成像剂量的静脉内输注。在第15天将给药重复剂量的GD2-SADA,随后在第20天给药治疗剂量的$^{177}$Lu-DOTA。

[0269] 群组2:患者将在第1天给药GD2-SADA的静脉内输注,随后在第3天给药$^{177}$Lu-DOTA成像剂量的静脉内输注。在第15天将给药重复剂量的GD2-SADA,随后在第17天给药治疗剂量的$^{177}$Lu-DOTA。

[0270] 群组3-5:患者将与群组1或群组2同日给药,取决于分析来自前两个群组的数据后选择的GD2-SADA与$^{177}$Lu-DOTA之间的给药间隔。

[0271] 在A部分中,将评估剂量测定,包括肿瘤吸收剂量及全身、所选器官吸收剂量及血液剂量测定。

[0272] A部分将由6周DLT观测期及第一次治疗后持续长达24周的随访期组成。

[0273] 假定在A部分中选择GD2-SADA与$^{177}$Lu-DOTA之间的48小时间隔,患者将在第1天给药GD2-SADA的静脉内输注,随后在第3天给药$^{177}$Lu-DOTA的静脉内输注。在第15天,将给药重复剂量的GD2-SADA,随后在第17天给药治疗剂量的$^{177}$Lu-DOTA。

[0274] 在第43天(GD2-SADA)及第45天($^{177}$Lu-DOTA),将给药第二治疗周期。

[0275] B部分的试验设计可见于下表14中。

[0276] 表14:B部分治疗时程

[0277]

| | 成像部分 | | | 治疗部分 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | GD2-SADA剂量(第1天) | 间隔(h) | $^{177}$Lu-DOTA剂量(第3天) | GD2-SADA剂量(第15天及第43天) | 间隔(h) | $^{177}$Lu-DOTA剂量(第17天及第45天) |
| 群组1 | A部分中选择的剂量 | 48 | 1.1 GBq/ 30 mCi | A部分中选择的剂量 | 48 | 14.8 GBq/ 400 mCi |
| 群组2 | A部分中选择的剂量 | 48 | 1.1 GBq/ 30 mCi | A部分中选择的剂量 | 48 | 22.2 GBq/ 600 mCi |
| 群组3 | A部分中选择的剂量 | 48 | 1.1 GBq/ 30 mCi | A部分中选择的剂量 | 48 | 27.8 GBq/ 750 mCi |

[0278] B部分将由6周DLT观测期及第一次治疗后持续长达24周的随访期组成。

[0279] C部分中排定的治疗假定在A部分中已选择GD2-SADA与$^{177}$Lu-DOTA之间的48小时间隔。患者将在第1天给药GD2-SADA的静脉内输注,随后在第3天给药$^{177}$Lu-DOTA成像剂量的静脉内输注。

[0280] 在第15天,将给药重复剂量的GD2-SADA,随后在第17天给药治疗剂量的$^{177}$Lu-DOTA。

[0281] 第一治疗周期(成像部分后接治疗部分)计划具有6周的持续时间,且后续周期(第2周期-第5周期)计划为4周(或当自发生的辐射毒性恢复时,此方案内允许8周的最大延迟),其中在各周期的第1天进行GD2-SADA给药,且在第3天进行$^{177}$Lu-DOTA给药。

[0282] 关于治疗时程,参见表15。

[0283] 表15.C部分治疗时程:

[0284]

| | 成像部分 | | | 第1治疗周期-第5治疗周期 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | GD2-SADA剂量(第1天) | 间隔(h) | $^{177}$Lu-DOTA剂量(第3天) | GD2-SADA剂量(第1周期的第15天及第2周期-第5周期的第1天) | 间隔(h) | $^{177}$Lu-DOTA剂量(第1周期的第17天及第2周期-第5周期的第3天) |
| 所有患者 | A部分中选择的剂量 | 48 | 1.1 GBq/ 30 mCi | A部分中选择的剂量 | 48 | B部分中选择的剂量 |

[0285] C部分将由6周治疗周期(第1周期)后接多达4个各自具有4周持续时间的治疗周期(第2周期-第5周期)及第一次治疗后持续长达52周的随访期组成。

[0286] 包括镇痛剂的治疗前药品是必选的,且根据基于抗GD2 IgG单克隆抗体的经验引入。给药方案可见于下表16中。

[0287] 表16.GD2-SADA治疗前及治疗后药品

[0288]

| 天 | 药品 |
|---|---|
| -1 | 镇痛剂：加巴喷丁(Gabapentin) 300 mg×1 |
| 0 | 镇痛剂：加巴喷丁 300 mg×2 |
| 1 (SADA 输注前 0.5-1 h) | 镇痛剂：硫酸吗啡(50 微克/公斤)，在 GD2 |

[0289]

| | |
|---|---|
| | SADA 输注起始前 30 min |
| | 抗炎剂：地塞米松(dexamethasone) 10 mg IV (或等效物) |
| | 抗恶心剂：昂丹司琼(Ondansetron) (枢复宁(Zofran))，8 mg PO 或等效物。 |
| | 解热剂：对乙酰氨基酚(朴热息痛) 1 g PO (或等效物) |
| 2 | 镇痛剂：加巴喷丁 300 mg×3 |
| | 抗炎剂：地塞米松 10 mg PO (或等效物) |
| 3 | 镇痛剂：加巴喷丁 300 mg×3 |

[0290] 序列：

[0291] SEQ ID NO.1:KASQSVSNDVT

[0292] SEQ ID NO.2:SASNRYS

[0293] SEQ ID NO.3:QQDYSS

[0294] SEQ ID NO.4:NYGVH

[0295] SEQ ID NO.5:VIWAGGITNYNSAFMS

[0296] SEQ ID NO.6:RGGHYGYALDY

[0297] SEQ ID NO.7:

[0298] EIVMTQTPATLSVSAGERVTITCKASQSVSNDVTWYQQKPGQAPRLLIYSASNRYSGVPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQQDYSSFGCGTKLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGPGVVQPGRSLRISCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKCLEWLGVIWAGGITNYNSAFMSRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAMYYCASRGGHYGYALDYWGQGTLVTVSS

[0299] SEQ ID NO.8:

[0300] EIVMTQTPATLSVSAGERVTITCKASQSVSNDVTWYQQKPGQAPRLLIYSASNRYSGVPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQQDYSSFGCGTKLEIKR

[0301] SEQ ID NO.9:

[0302] QVQLVESGPGVVQPGRSLRISCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKCLEWLGVIWAGGITNYNSAFMSRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAMYYCASRGGHYGYALDYWGQGTLVTVSS

[0303] SEQ ID NO.10:

[0304] QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTASNYANWVQQKPGQCPRGLIGGHNNRPPGVPARFSGSLLGGKAALTLLGAQPEDEAEYYCALWYSDHWVIGGGTKLTVLG

[0305] SEQ ID NO.11:

[0306] HVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTDYGVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGSYPYNYFDAWGCGTLVTVSS

[0307] SEQ ID NO.12:

[0308] KPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEP

[0309] SEQ ID NO.13:

[0310] RSPDDELLYLPVRGRETYEMLLKIKESLELMQYLPQHTIETYRQQQQQQHQHLLQK

[0311] SEQ ID NO.14:

[0312] RHGDEDTYYLQVRGRENFEILMKLKESLELMELVPQPLVDSYRQQQQLLQRP

[0313] SEQ ID NO.15:QAIKKELTQIKQKVDSLLENLEKIEKE

[0314] SEQ ID NO.16:

[0315] STRRILGLAIESQDAGIKTITMLDEQKEQLNRIEEGLDQINKDMRETEKTLTEL

[0316] SEQ ID NO.17:

[0317] MCGAPSATQPATAETQHIADQVRSQLEEKENKKFPVFKAVSFKSQVVAGTNYFIKVHVGDEDFVHLRVFQSLPHENKPLTLSNYQTNKAKHDELTYF

[0318] SEQ ID NO.18:DEISMMGRVVKVEKQVQSIEHKLDLLLGFY

[0319] SEQ ID NO.19:

[0320] TVAEAKRQAAEDALAVINQQEDSSESCWNCGRKASETCSGCNTARYCGSFCQHKDWEKHH

[0321] SEQ ID NO.20:GGGGS

[0322] SEQ ID NO.21:TPLGDTTHT

[0323] SEQ ID NO.22:

[0324] EIVMTQTPATLSVSAGERVTITCKASQSVSNDVTWYQQKPGQAPRLLIYSASNRYSGVPARFSGSGYGTEFTFTISSVQSEDFAVYFCQQDYSSFGCGTKLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGPGVVQPGRSLRISCAVSGFSVTNYGVHWVRQPPGKCLEWLGVIWAGGITNYNSAFMSRLTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAMYYCASRGGHYGYALDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTDYGVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGSYPYNYFDAWGCGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTASNYANWVQQKPGQCPRGLIGGHNNRPPGVPARFSGSLLGGKAALTLLGAQPEDEAEYYCALWYSDHWVIGGGTKLTVLGTPLGDTTHTSGKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPGGSGGA

[0325] SEQ ID NO.23:TGAVTASNY

[0326] SEQ ID NO.24:GHN

[0327] SEQ ID NO.25:ALWYSDHWV

[0328] SEQ ID NO.26:GFSLTDYG

[0329] SEQ ID NO.27:IWSGGGT

[0330] SEQ ID NO.28:ARRGSYPYNYFDA

[0331] SEQ ID NO.29:EDIYNR

[0332] SEQ ID NO.30:GAT

[0333] SEQ ID NO.31:QQYWSNPYT

[0334] SEQ ID NO.32:GFSLTSYG

[0335] SEQ ID NO.33:MWRGGST

[0336] SEQ ID NO.34:AKSMITTGFVMDS

[0337] SEQ ID NO.35:

[0338] QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFKSRVTI
SKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKSMITTGFVMDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKDYTFT
ISSLQPEDFATYYCQQYWSNPYTFGQGTKLEIK

[0339] SEQ ID NO.36:

[0340] DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGK
DYTFTISSLQPEDFATYYCQQYWSNPYTFGQGTKLEIK

[0341] SEQ ID NO.37:

[0342] QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFKSRVTI
SKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKSMITTGFVMDSWGQGTLVTVSS

[0343] SEQ ID NO.38:

[0344] QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWIGVMWRGGSTDYNAAFKSRVTI
SKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKSMITTGFVMDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLTWYQQKPGKAPKLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKDYTFT
ISSLQPEDFATYYCQQYWSNPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAA
SGFSLTDYGVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGSY
PYNYFDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAV
TASNYANWVQQKPGQAPRGLIGGHNNRPPGVPARFSGSLLGGKAALTLLGAQPEDEAEYYCALWYSDHWVIGGGTKL
TVLGTPLGDTTHTSGKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPGGSGGAP

[0345] SEQ ID NO:39:

[0346] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYDINWVRQATGQGLEWMGWIFPGDGSTQYNEKFQGRVT
MTTNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQTTATWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG
GSEIVMTQSPATLSVTPKEKVTITCRASQSISDYLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSISGVPSRFSGSGSGSDFTLTI
NSLEAEDAATYYCQNGHSFPLTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
GFSLTDYGVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGSYP
YNYFDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVT
ASNYANWVQQKPGQAPRGLIGGHNNRPPGVPARFSGSLLGGKAALTLLGAQPEDEAEYYCALWYSDHWVIGGGTKLT
VLGTPLGDTTHTSGKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPGGSGGAP

[0347] SEQ ID NO:40:

[0348] QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTS
YSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQQPGAE
LVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLT
SEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCA
ASGFSLTDYGVHWVRQAPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGS
YPYNYFDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGA
VTASNYANWVQQKPGQAPRGLIGGHNNRPPGVPARFSGSLLGGKAALTLLGAQPEDEAEYYCALWYSDHWVIGGGTK

LTVLGTPLGDTTHTSGKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPGGSGGA

[0349] SEQ ID NO:41:

[0350] EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFAFSTYDMSWVRQAPGKCLEWVSTISSGGSYTYYADSVKGRFT ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAPTTVVPFAYWGQGTLVTVSAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVRT

[0351] VVAWYQQKPGKAPKTLIYLASNRHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISN

[0352] LQPEDFATYYCLQHWSYPLTFGCGTKLEVKRGGGGSGGGGSGGG

[0353] GSGGGGSHVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSLTDYGVHWV

[0354] RQAPGKGLEWLGVIWSGGGTAYNTALISRFTISRDNSKNTLYLQM

[0355] NSLRAEDTAVYYCARRGSYPYNYFDAWGCGTLVTVSSGGGGSGG

[0356] GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC

[0357] GSSTGAVTASNYANWVQQKPGQCPRGLIGGHNNRPPGVPARFSGS

[0358] LLGGKAALTLLGAQPEDEAEYYCALWYSDHWVIGGGTKLTVLGT

[0359] PLGDTTHTSGKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQA

[0360] GKEPGGSGGAP

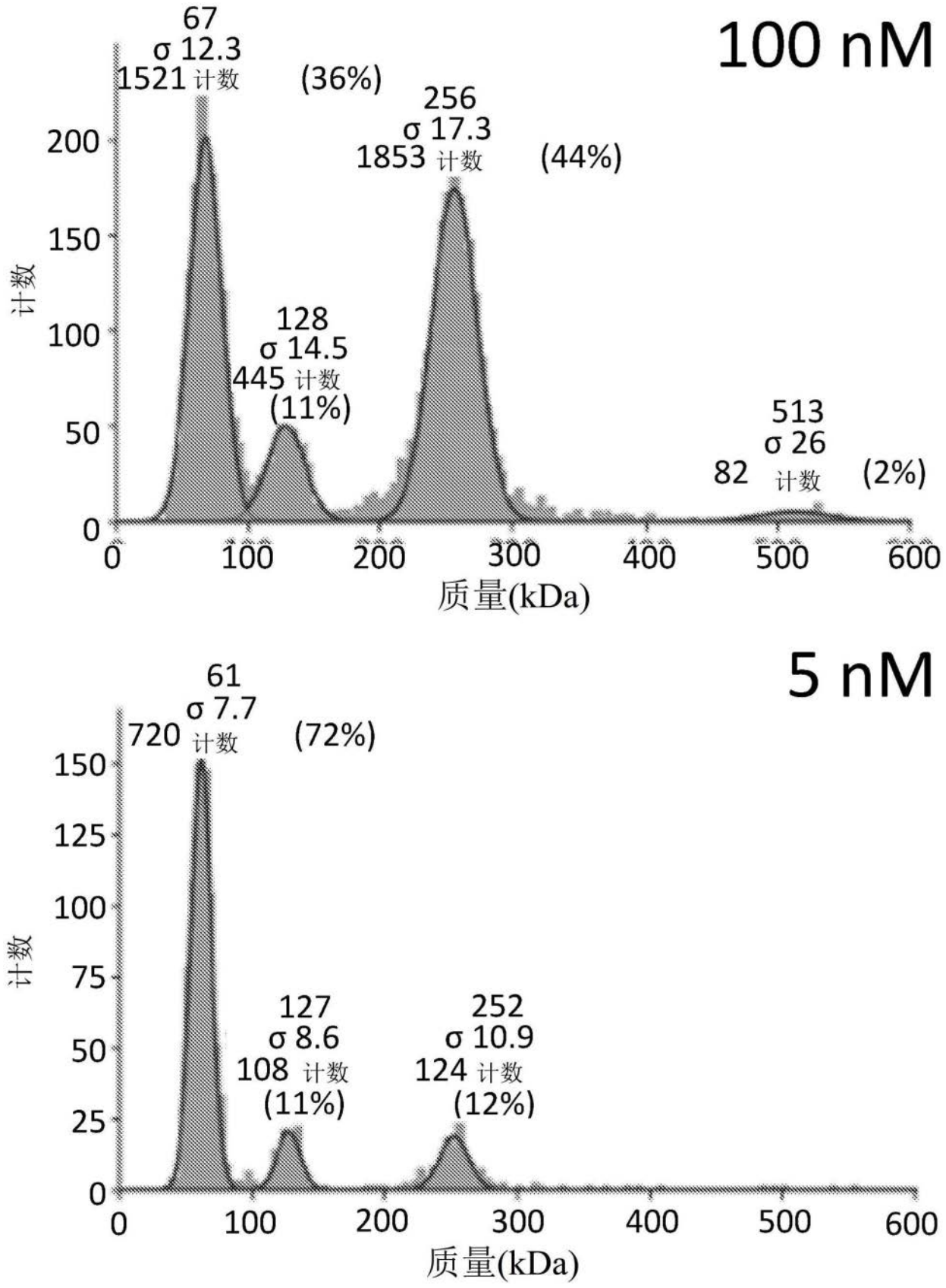

100 nM
67
σ 12.3
1521 计数
(36%)
256
σ 17.3
1853 计数
(44%)
128
σ 14.5
445 计数
(11%)
513
σ 26
82 计数
(2%)
计数
质量(kDa)
5 nM
61
σ 7.7
720 计数
(72%)
127
σ 8.6
108 计数
(11%)
252
σ 10.9
124 计数
(12%)
计数
质量(kDa)

图1

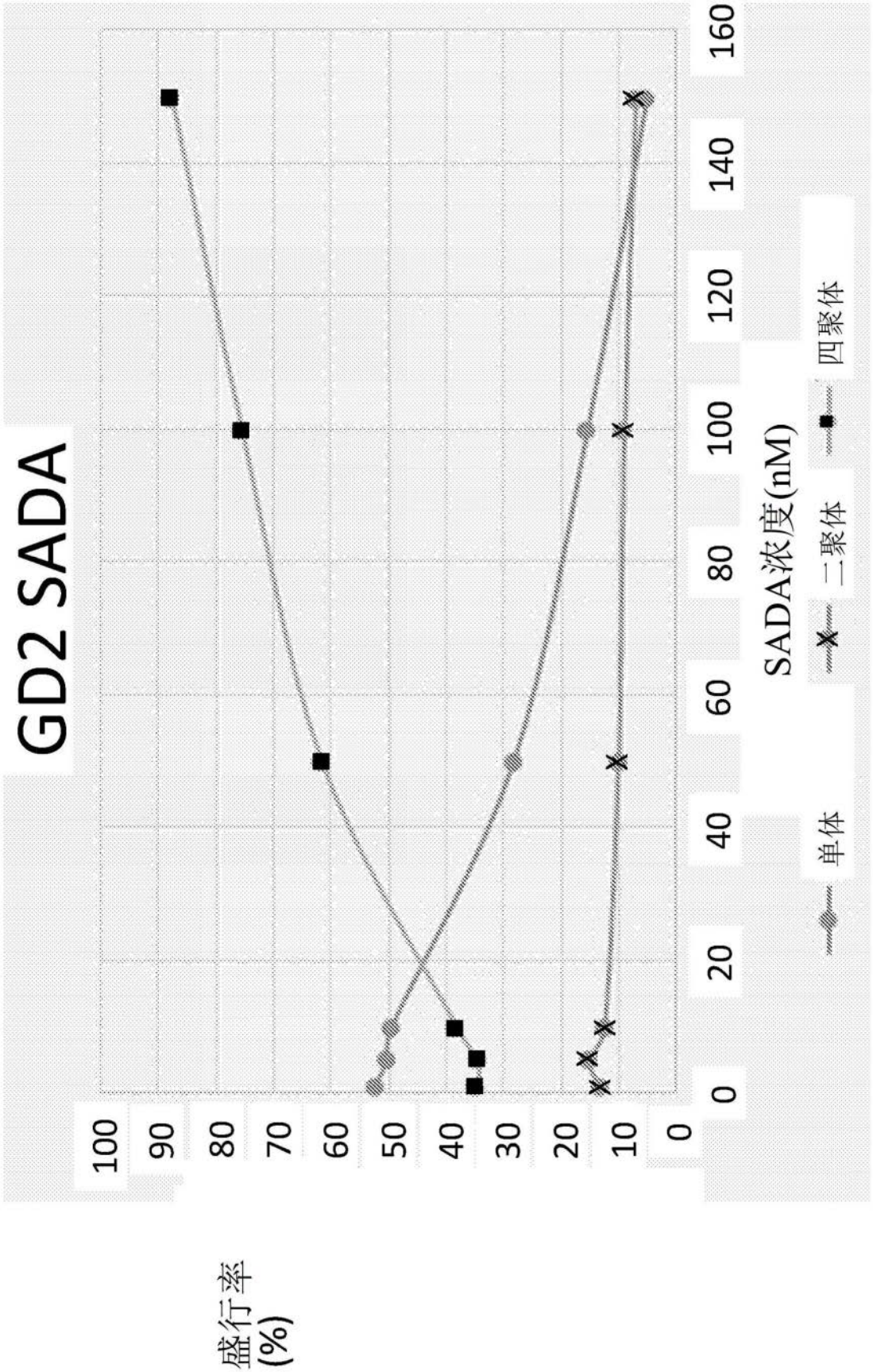

GD2 SADA
盛行率(%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
20
40
60
80
100
120
140
160
SADA浓度(nM)
单体
二聚体
四聚体

图2

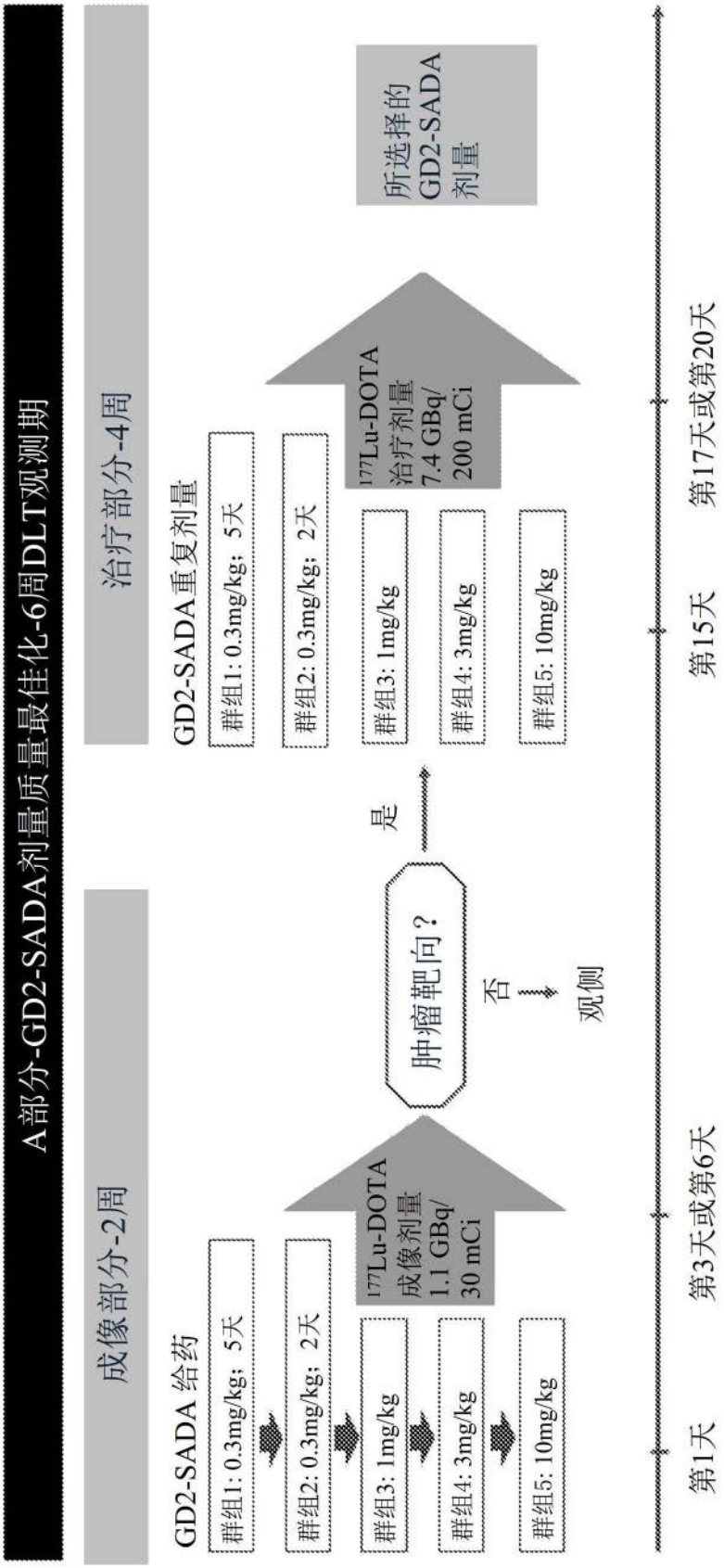

A部分-GD2-SADA剂量质量最佳化-6周DLT观测期
成像部分-2周
治疗部分-4周
GD2-SADA 给药
群组1: 0.3mg/kg；5天
群组2: 0.3mg/kg；2天
群组3: 1mg/kg
群组4: 3mg/kg
群组5: 10mg/kg
177Lu-DOTA 成像剂量 1.1 GBq/ 30 mCi
肿瘤靶向？
是
否
观侧
GD2-SADA重复剂量
群组1: 0.3mg/kg；5天
群组2: 0.3mg/kg；2天
群组3: 1mg/kg
群组4: 3mg/kg
群组5: 10mg/kg
177Lu-DOTA 治疗剂量 7.4 GBq/ 200 mCi
所选择的 GD2-SADA 剂量
第1天
第3天或第6天
第15天
第17天或第20天

图3

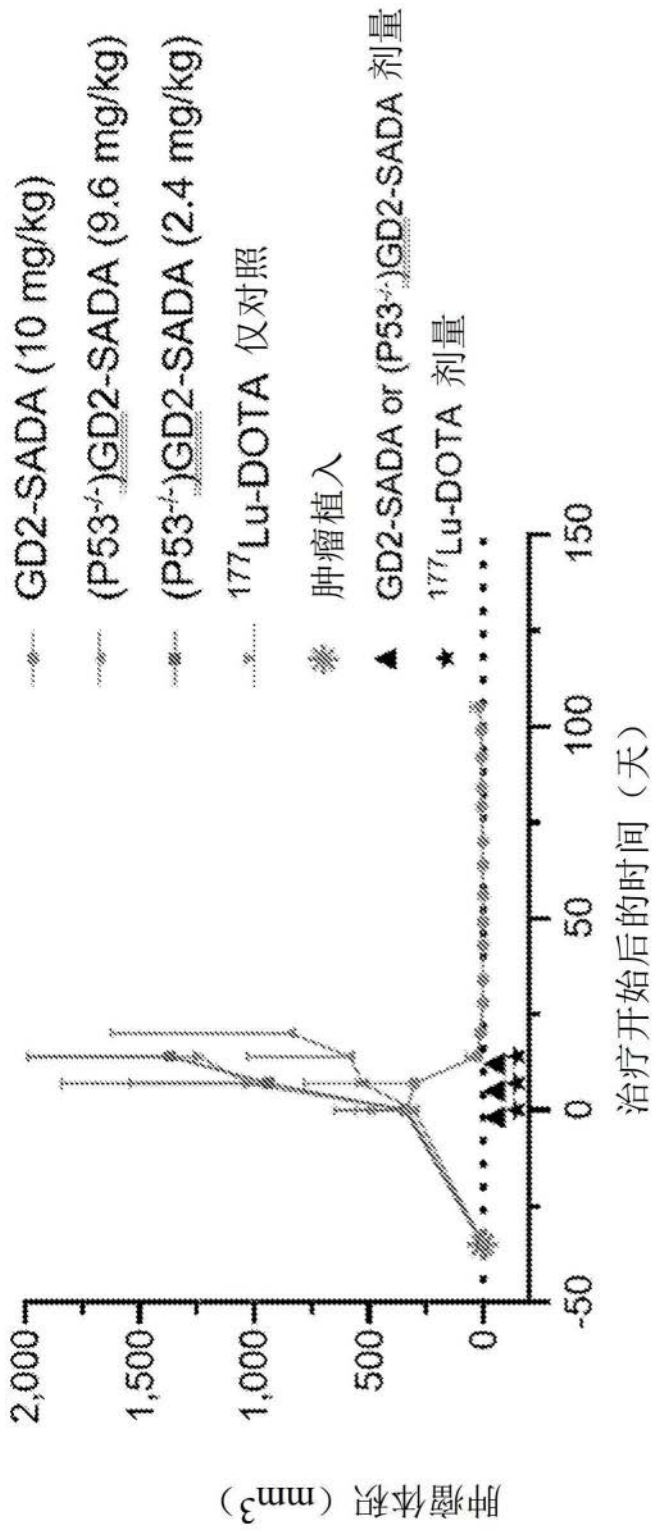

GD2-SADA (10 mg/kg)
(P53-/-)GD2-SADA (9.6 mg/kg)
(P53-/-)GD2-SADA (2.4 mg/kg)
177Lu-DOTA 仅对照
肿瘤植入
GD2-SADA or (P53-/-)GD2-SADA 剂量
177Lu-DOTA 剂量
肿瘤体积（mm3）
2,000
1,500
1,000
500
0
-50
0
50
100
150
治疗开始后的时间（天）

图4

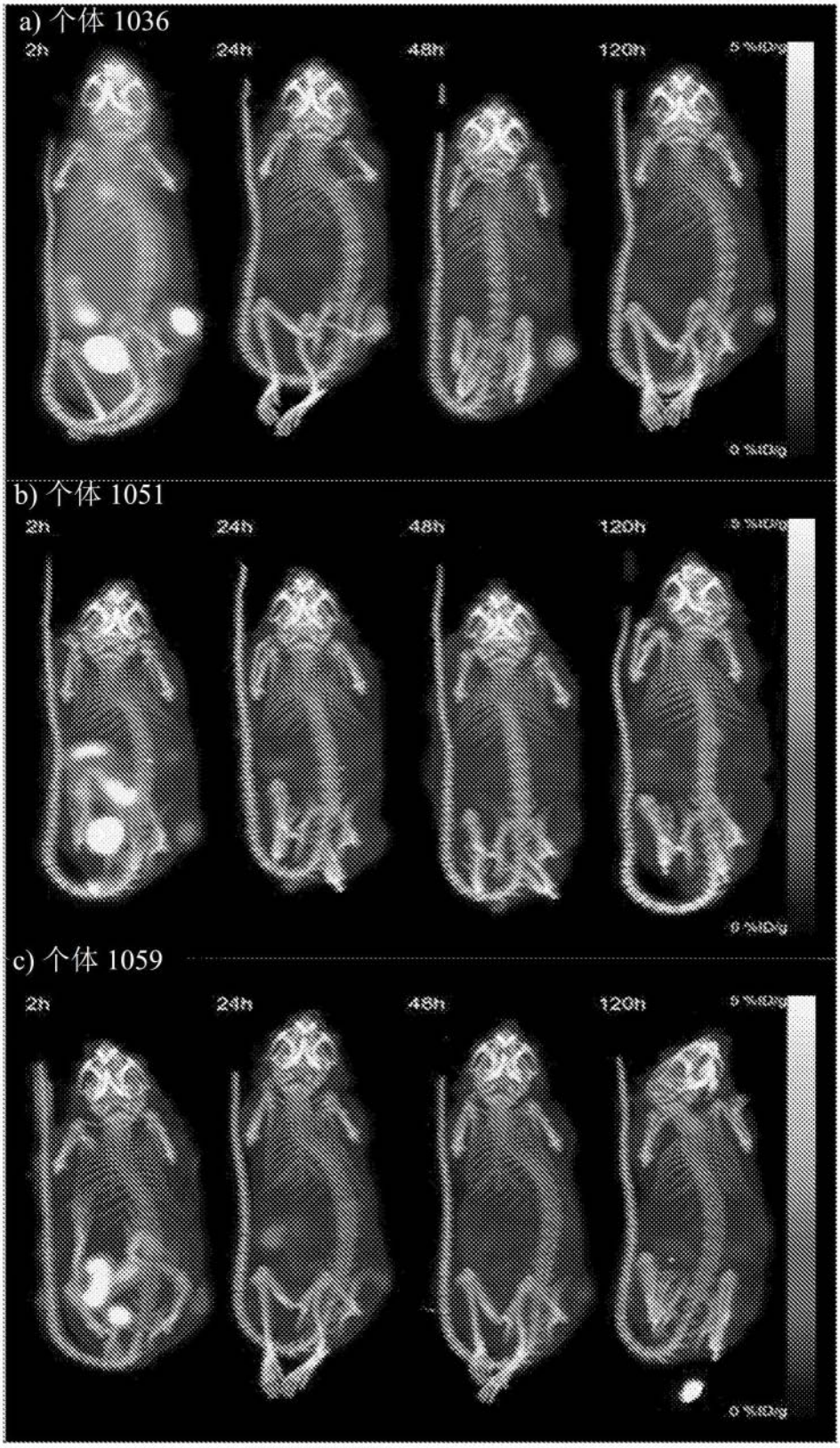

a) 个体 1036
2h
24h
48h
120h
b) 个体 1051
2h
24h
48h
120h
c) 个体 1059
2h
24h
48h
120h

图5