



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 201925224 A

(43)公開日： 中華民國 108(2019)年07月01日

(21)申請案號：107129307 (22)申請日： 中華民國 107(2018)年08月22日

(51)Int. Cl. : C07K16/18 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)
A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/08/25 美國 62/550,328

(71)申請人：美商歐米諾斯公司 (美國) OMEROS CORPORATION (US)
美國

(72)發明人：戴莫普勒 格雷戈里 DEMOPULOS, GREGORY A. (US) ; 佛格森 肯尼斯 FERGUSON, KENNETH M. (US) ; 藍伯特 威廉 LAMBERT, WILLIAM JOSEPH (US) ; 懷塔克 約翰 WHITAKER, JOHN STEVEN (US)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：15 項 圖式數：7 共 138 頁

(54)名稱

高濃縮低黏度MA S P - 2抑制性抗體製劑、試劑盒和治療患有非典型溶血綜合症的受試者的方法
HIGHLY CONCENTRATED LOW VISCOSITY MASP-2 INHIBITORY ANTIBODY FORMULATIONS, KITS, AND METHODS OF TREATING SUBJECTS SUFFERING FROM ATYPICAL HEMOLYTIC SYNDROME

(57)摘要

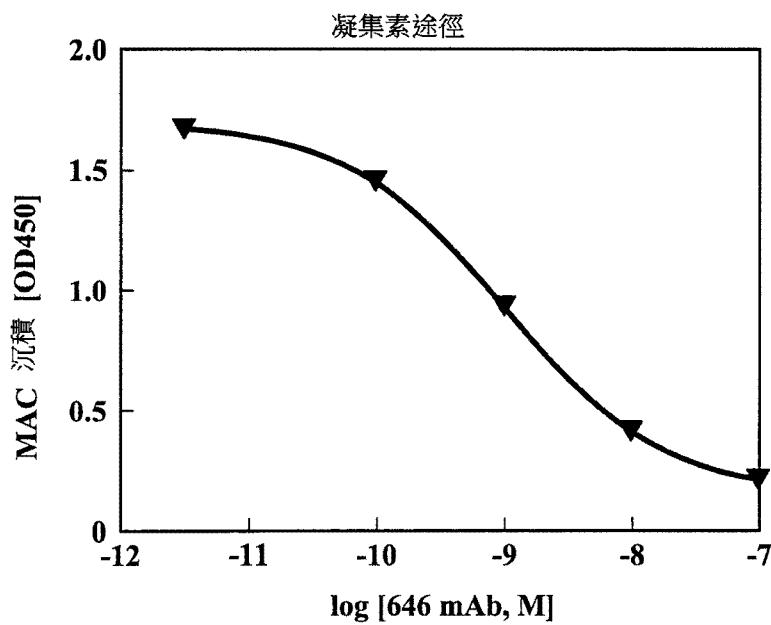
本發明涉及使用 MASP-2 抑制性抗體的穩定、高濃度低黏度製劑的治療方法，以及包含用於治療患有非典型溶血性尿毒癥綜合症(aHUS)的受試者的製劑的試劑盒。

The present invention relates to therapeutic methods of using stable, high-concentration low-viscosity formulations of MASP-2 inhibitory antibodies, and kits comprising the formulations for treating subjects suffering from atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS).

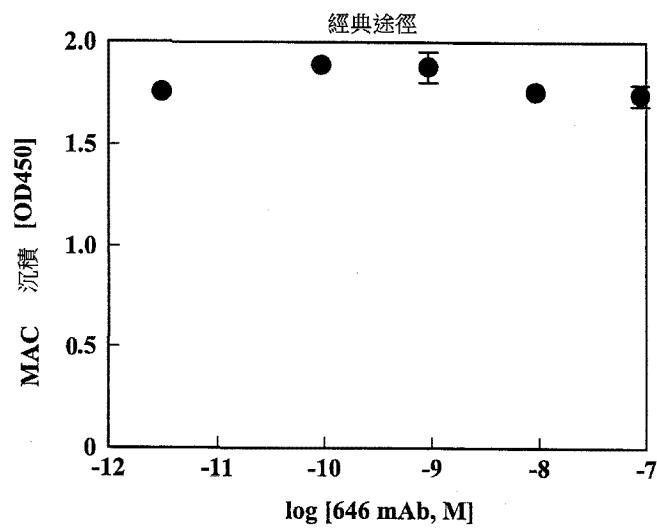
指定代表圖：

201925224

TW 201925224 A



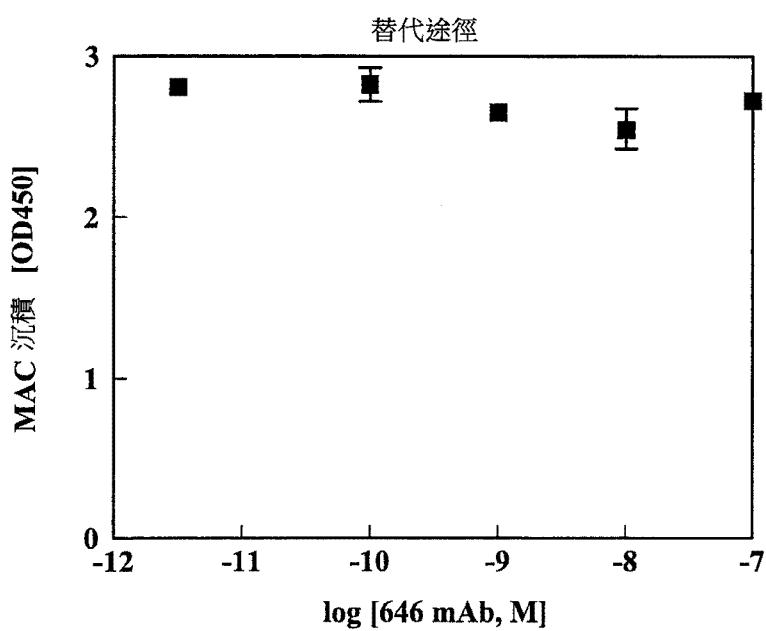
【圖 1A】



【圖 1B】

201925224

TW 201925224 A



【圖 1C】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

高濃縮低黏度 M A S P - 2 抑制性抗體製劑、試劑盒
和治療患有非典型溶血綜合症的受試者的方法

【英文發明名稱】

HIGHLY CONCENTRATED LOW VISCOSITY MASP-2 INHIBITORY
ANTIBODY FORMULATIONS, KITS, AND METHODS OF
TREATING SUBJECTS SUFFERING FROM ATYPICAL HEMOLYTIC
SYNDROME

【技術領域】

本發明涉及穩定的、高濃度低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑、包含該製劑的試劑盒和使用該製劑和試劑盒以抑制 MASP-2 依賴性補體啟動的副作用的治療方法。

相關申請的交叉引用

本申請要求 2017 年 8 月 25 日提交的美國臨時申請號 62/550,328 的權益，其通過引用整體併入本文。

關於序列表的聲明

與本申請相關的序列表以文本格式提供以代替紙質拷貝，且通過引用結合到本說明書中。包含序列表的文字檔的名稱是 MP_1_0262_US2_SequenceListing_20180727

_ST25.txt。文字檔是 17KB；創建於 2018 年 7 月 27 日；並經由 EFS-Web 與說明書提交一起提交。

【先前技術】

基於抗體的療法通常定期施用且通常需要通過注射給藥數 mg/kg。用於治療慢性病症的優選遞送形式是經由皮下 (SC) 注射門診施用高劑量單克隆抗體 (數 mg/kg)(Stockwin 和 Holmes , Expert Opin Biol Ther 3 : 1133-1152(2003) ; Shire 等 , J Pharm Sci 93 : 1390-1402(2004))。治療性抗體的高度濃縮的藥物製劑是合乎需要的，因為它們允許較低體積的施用和 / 或較少的施用，因此意味著患者較少的不適。另外，這種較低體積允許將治療劑量的單克隆抗體包裝在單獨的單劑量、預先填充注射器中以進行自我施用。經由預先填充注射器或自動注射器技術的 SC 遞送允許家庭施用並改善患者對藥物施用的依從性。

然而，具有高蛋白質濃度的製劑的開發提出與蛋白質的物理和化學穩定性相關的挑戰，以及蛋白質製劑的製造、儲存和遞送的困難性(例如參見 Wang 等 , J of Pharm Sci vol 96(1) : 1-26 , (2007))。高蛋白質濃度製劑開發中的挑戰是濃度依賴性溶液黏度。在給定的蛋白質濃度下，黏度隨製劑的變化而顯著變化。特別地，已知單克隆抗體表現出獨特且多樣的黏度 - 濃度曲線，其顯示出溶液黏度隨著單克隆抗體濃度的增加而急劇呈指數增加(例如參

見，Connolly B.D.等，*Biophysical Journal* vol 103 : 69-78，(2012))。液體製劑在高單克隆抗體濃度下的另一個挑戰是蛋白質物理穩定性(Alford等，*J. Pharm Sci* 97 : 3005-3021(2008)；Salinas等，*J Pharm Sci* 99 : 82-93(2010)；Sukumar等，*Pharm Res* 21 : 1087-1093(2004))。因此，高濃度的單克隆抗體藥物製劑的高黏度以及降低穩定性的可能性可阻礙它們作為適合於皮下和/或靜脈內遞送的產品的開發。

補體系統在炎症反應中起作用且由於組織損傷或微生物感染而被啟動。必須嚴格調節補體啟動以確保選擇性靶向入侵的微生物並避免自身造成的損害(Ricklin等，*Nat. Immunol.* 11 : 785-797，2010)。目前，普遍認為補體系統可以通過三種不同的途徑啟動：經典途徑，凝集素途徑和替代途徑。經典途徑通常通過由與外來粒子(即抗原)結合的宿主抗體組成的複合物觸發，且通常需要先前暴露於抗原以產生特異性抗體反應。由於經典途徑的啟動取決於宿主的先前的適應性免疫應答，經典途徑是獲得性免疫系統的一部分。相反，凝集素和替代途徑都不依賴於適應性免疫，且是先天免疫系統的一部分。

甘露聚糖結合凝集素相關絲氨酸蛋白酶-2(MASP-2)顯示是凝集素途徑功能所必需的，凝集素途徑是主要補體啟動途徑之一(Vorup-Jensen等，*J. Immunol* 165 : 2093-2100，2000；Ambrus等，*J Immunol.* 170 : 1374-1382，2003；Schwaeble等，*PNAS* 108 : 7523-7528，2011)。重

要的是，MASP-2的抑制似乎不會干擾抗體依賴性經典補體啟動途徑，其是感染的獲得性免疫應答的關鍵組成部分。如美國專利號9,011,860(轉讓給Omeros公司)所述，其通過引用併入本文，已經產生OMS646，一種靶向人MASP-2的完全人單克隆抗體，其以高親和力結合到人MASP-2並阻斷凝集素途徑補體活性且因此可用於治療各種凝集素補體途徑相關的疾病和病症。

如美國專利號7,919,094，美國專利號8,840,893，美國專利號8,652,477，美國專利號8,951,522，美國專利號9,011,860和美國專利號9,644,035，美國專利申請公開號US2013/0344073，US2013/0266560，US 2015/0166675；US2017/0189525；和共同未決的美國專利申請序號15/476154、15/347,434、15/470,647、62/315,857、62/275,025和62/527,926(每個專利均轉讓給本申請的受讓人Omeros Corporation，其各自通過引用併入本文)中進一步描述，暗示MASP-2依賴性補體啟動有助於許多急性和慢性疾病狀態的發病機理。因此，需要一種穩定的、高濃度、低黏度的MASP-2單克隆抗體製劑，其適合於腸胃外(例如，皮下)施用，用於治療患有MASP-2補體途徑相關疾病和病症的受試者。

【發明內容】

在一個方面，本公開提供適合於腸胃外施用到哺乳動物受試者的穩定藥物製劑，其包含：(a)包含pH為5.0至7.0

的緩衝系統的水溶液；和(b)以約50mg/mL至約250mg/mL的濃度特異性結合到人MASP-2的單克隆抗體或其片段，其中所述抗體或其片段包含(i)包含SEQ ID NO：2的CDR-H1，CDR-H2和CDR-H3的重鏈可變區和(ii)包含SEQ ID NO：3的CDR-L1，CDR-L2和CDR-L3的輕鏈可變區，或其包含與SEQ ID NO：2具有至少95%同一性的重鏈可變區和與SEQ ID NO：3具有至少95%同一性的輕鏈可變區的變體；其中所述製劑具有2-50厘泊(cP)的黏度，且其中所述製劑在2°C -8°C下儲存至少一個月時是穩定的。在一些實施方案中，製劑中的抗體的濃度為約150mg/mL至約200mg/mL。在一些實施方案中，製劑的黏度小於25cP。在一些實施方案中，緩衝系統包含組氨酸。在一些實施方案中，緩衝系統包含檸檬酸鹽。在一些實施方案中，製劑還包含足以使製劑高滲的量的賦形劑，例如張力調節劑。在一些實施方案中，製劑還包含表面活性劑。在一些實施方案中，製劑還包含可有效增加皮下施用後抗體的分散和/或吸收的量的透明質酸酶。

在另一方面，製劑包含在皮下施用設備，例如預先填充注射器內。

在另一方面，本公開提供一種試劑盒，其包含含有所述製劑的預先填充容器。

在另一方面，本公開提供用於治療患有MASP-2依賴性疾病或病症或有發展MASP-2依賴性疾病或病症風險的患者的藥物組合物，其中所述組合物是無菌的一次性劑

型，其包含約 350mg 至 約 400mg(即 350mg，360mg，370mg，380mg，390mg或400mg)MASP-2抑制性抗體，其中所述組合物包含約 1.8mL至 約 2.2mL(即 1.8mL，1.9mL，2.0mL，2.1mL或 2.2mL)185mg/mL抗體製劑，例如本文公開的，其中所述抗體或其片段包含(i)包含 SEQ ID NO：2 中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和(ii)包含 SEQ ID NO：3 中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；且其中所述製劑在 2 °C 至 8 °C 下儲存至少 6 個月時是穩定的。在一些實施方案中，MASP-2 依賴性疾病或病症選自 aHUS、HSCT-TMA、IgAN 和狼瘡性腎炎(LN)。

在另一方面，本公開提供治療患有適合用 MASP-2 抑制性抗體治療的疾病或病症的受試者的方法，所述方法包括施用包含如本文所公開的 MASP-2 抗體的製劑。

在另一方面，本公開提供治療患有 aHUS 或有發展 aHUS 風險的受試者的方法，包括向受試者施用有效量的抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：2 中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和(ii)包含 SEQ ID NO：3 中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；其中所述方法包括施用週期，所述施用週期包括誘導期和維持期，其中：

(a) 誘導期包括一周的時間，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段在第 1 天和第 4 天以約 370mg 的劑量施用；和

(b) 維持期包括至少 26 周的時間，在誘導期的第 1 天開

始，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段以約 150mg 的每日劑量施用。

【圖式簡單說明】

當結合附圖時通過參考以下詳述，本發明的前述方面和許多附帶優點將變得更容易理解，其中：

圖 1A 圖示在不同量的人 MASP-2 單克隆抗體(OMS646)存在下凝集素途徑依賴性膜攻擊複合物(MAC)沉積的量，證明 OMS646 以約 1nM 的 IC₅₀ 值抑制凝集素介導的 MAC 沉積，如實施例 1 中所述；

圖 1B 圖示在不同量的人 MASP-2 單克隆抗體(OMS646)存在下經典途徑依賴性 MAC 沉積的量，證明 OMS646 不抑制經典途徑介導的 MAC 沉積，如實施例 1 中所述；

圖 1C 圖示在人 MASP-2 單克隆抗體(OMS646)存在下替代途徑依賴性 MAC 沉積的量，證明 OMS646 不抑制替代途徑介導的 MAC 沉積，如實施例 1 中所述；

圖 2A 圖示用於 OMS646 製劑賦形劑篩選的動態光散射(DLS)分析的結果，顯示對於含有各種候選賦形劑的製劑觀察到的總粒徑，如實施例 2 中所述；

圖 2B 圖示用於 OMS646 製劑賦形劑篩選的 DLS 分析的結果，顯示對於含有各種候選賦形劑的製劑觀察到的總多分散性，如實施例 2 中所述；

圖 3 圖示如在 pH5.0 和 pH6.0 下測量的各種製劑中一系列 OMS646 濃度的黏度分析結果，如實施例 2 中所述；

圖 4 圖示用各種候選製劑進行 OMS646 溶解度 / 黏度研究的緩衝液交換後蛋白質回收百分比，如實施例 2 中所述；

圖 5 圖示黏度 (通過黏度數據的指數擬合確定) 與用各種候選製劑進行的 OMS646 溶解度 / 黏度研究的蛋白質濃度，如實施例 2 中所述；

圖 6 圖示用各種候選 OMS646 製劑進行黏度研究的蛋白質濃度 - 歸一化黏度數據，如實施例 2 中所述；

圖 7A 圖示如實施例 3 中所述的使用 27 GA(1.25")、25GA(1") 和 25GA 薄壁 (1") 針的可注入性研究中三種候選 OMS646 製劑的平均負荷 (1bf)；和

圖 7B 圖示如實施例 3 中所述的使用 27 GA(1.25")、25GA(1") 和 25GA 薄壁 (1") 針的可注入性研究中三種候選 OMS646 製劑的最大負荷 (1bf)。

序列表說明

SEQ ID NO : 1 : 人 MASP-2 蛋白 (成熟)

SEQ ID NO : 2 : OMS646 重鏈可變區 (VH) 多肽

SEQ ID NO : 3 : OMS646 輕鏈可變區 (VL) 多肽

SEQ ID NO : 4 : OMS646 重鏈 IgG4 突變的重鏈全長多肽

SEQ ID NO : 5 : OMS646 輕鏈全長多肽

SEQ ID NO : 6 : 編碼 OMS646 全長重鏈多肽的 DNA

SEQ ID NO : 7 : 編碼 OMS646 全長輕鏈多肽的 DNA。

【實施方式】

I. 定義

除非本文具體定義，否則本文使用的所有術語具有與本發明領域的普通技術人員將理解的含義相同的含義。提供以下定義是為了提供關於在說明書和權利要求中使用的術語的明確性來描述本發明。

標準技術可用於重組DNA、寡核苷酸合成和組織培養和轉化(例如，電穿孔，脂質轉染)。酶促反應和純化技術可以根據製造商的說明書進行，或如本領域通常實現的或如本文所述進行。這些和相關的技術和程式通常可以根據本領域熟知的常規方法進行，且如在本說明書通篇引用和討論的各種一般和更具體的參考文獻中所述。例如參見Sambrook等，2001，MOLECULAR CLONING：A LABORATORY MANUAL，3d ed.，Cold Spring Harbor Laboratory Press，Cold Spring Harbor，N.Y.；Current Protocols in Molecular Biology(Greene Publ. Assoc. Inc. & John Wiley & Sons，Inc.，NY，NY)；Current Protocols in Immunology(由以下主編：John E. Coligan，Ada M. Kruisbeek，David H. Margulies，Ethan M. Shevach，Warren Strober 2001 John Wiley & Sons，NY，NY)；或其他相關的Current Protocol出版物和其他類似的參考文獻。除非提供具體的定義，否則關於本文所述的分子生物學、分析化學、合成有機化學以及醫藥和藥物化學中利用的命

名法及其實驗室程式和技術是本領域公知和常用的那些。標準技術可用於重組技術、分子生物學、微生物學、化學合成、化學分析、藥物製備、配製和遞送以及患者的治療。

術語“藥物製劑”是指這樣的形式的製劑，其允許活性劑(例如，MASP-2抑制性抗體)的生物活性對治療有效，且不含有對於將要施用製劑的受試者不可接受的毒性的其他組分。這種製劑是無菌的。在一個實施方案中，藥物製劑適用於腸胃外施用，例如皮下施用。

術語“MASP-2”是指甘露聚糖結合凝集素相關的絲氨酸蛋白酶-2。人MASP-2蛋白(成熟)如SEQ ID NO：1所示。

術語“MASP-2依賴性補體啟動”包括凝集素途徑的MASP-2依賴性啟動，其在生理條件下(即，在Ca⁺⁺存在下)發生，導致凝集素途徑C3轉化酶C4b2a形成且在積累C3裂解產物C3b時隨後是C5轉化酶C4b2a(C3b)_n。

術語“凝集素途徑”是指經由血清和非血清碳水化合物結合蛋白的特異性結合而發生的補體啟動，包括甘露聚糖結合凝集素(MBL)、CL-11和纖維膠凝蛋白(ficolin)(H-纖維膠凝蛋白、M-纖維膠凝蛋白或L-纖維膠凝蛋白)。

術語“經典途徑”是指通過與外來粒子結合的抗體觸發的補體啟動，且需要識別分子C1q的結合。

術語“MASP-2抑制性抗體”是指抗體或其抗原結合片段，其結合到MASP-2並有效抑制MASP-2依賴性補體啟動(例如，OMS646)。可用于本發明的方法的MASP-2抑制性

抗體可使 MASP-2 依賴性補體啟動減少大於 20%，例如大於 30%，或大於 40%，或大於 50%，或大於 60%，或大於 70%，或大於 80%，或大於 90%，或大於 95%。

術語“OMS646單克隆抗體”是指包含 SEQ ID NO : 2 中所示的重鏈可變區氨基酸序列的 CDR-H1，CDR-H2 和 CDR-H3 和包含 SEQ ID NO : 3 中所示的輕鏈可變區氨基酸序列的 CDR-L1，CDR-L2 和 CDR-L3 的單克隆抗體。該特定抗體是 MASP-2 抑制性抗體的實例，其特異性結合到 MASP-2 並抑制 MASP-2 依賴性補體啟動。

“單克隆抗體”是指同源抗體群體，其中單克隆抗體由參與表位選擇性結合的氨基酸(天然存在的和非天然存在的)組成。單克隆抗體對靶抗原具有高度特異性。術語“單克隆抗體”不僅包括完整的單克隆抗體和全長單克隆抗體，還包括其片段(例如 Fab，Fab'，F(ab')₂，Fv)，單鏈(scFv)，其變體，包含抗原結合部分的融合蛋白，人源化單克隆抗體，嵌合單克隆抗體和包含具有所需特異性和結合到表位的能力的抗原結合片段(表位識別位點)的免疫球蛋白分子的任何其他修飾構型。不旨在限制抗體來源或其製備方式(例如，通過雜交瘤，噬菌體選擇，重組表達，轉基因動物等)。該術語包括完整免疫球蛋白以及上文在“抗體”定義下描述的片段等。

術語“抗體片段”是指衍生自全長抗體或與全長抗體相關的部分，所述全長抗體例如是 MASP-2 抑制性抗體，通常包括其抗原結合區或可變區。抗體片段的說明性實例包

括 Fab，Fab'，F(ab)₂，F(ab')₂和 Fv 片段，scFv 片段，雙抗體，線性抗體，單鏈抗體分子和由抗體片段形成的多特異性抗體。

如本文所用，“單鏈 Fv”或“scFv”抗體片段包含抗體的 V_H 和 V_L 結構域，其中這些結構域在單一多肽鏈中存在。通常，Fv 多肽還包含 V_H 和 V_L 結構域之間的多肽接頭，其使得 scFv 能夠形成用於抗原結合的所需結構。

術語“CDR 區”或“CDR”旨在指示由 Kabat 等，1991 定義的免疫球蛋白的重鏈和輕鏈的高變區 (Kabat, E. A. 等, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版及後續版本。抗體通常包含 3 個重鏈 CDR 和 3 個輕鏈 CDR。本文使用術語 CDR 或 CDRs 以根據情況指示含有大部分氨基酸殘基的這些區域中的一個，或這些區域的幾個，或甚至全部，這些氨基酸殘基負責通過抗體對其識別的表位抗原的親和力進行結合。

術語“特異性結合”是指抗體優先結合到存在於不同分析物的均勻混合物中的特定分析物的能力。在某些實施方案中，特異性結合相互作用將區分樣品中的期望和不期望的分析物，在一些實施方案中，大於約 10 至 100 倍或更多（例如，大於約 1000 或 10,000 倍）。在某些實施方案中，捕獲劑和分析物在它們在捕獲劑/分析物複合物中特異性結合時的親和力的特徵在於小於約 100 nM，或小於約 50 nM，或小於約 25 nM，或小於約 10 nM，或小於約 5 nM，或小於約 1 nM 的 K_D（解離常數）。

術語“分離的抗體”是指已經從其天然環境或細胞培養表達系統的組分中鑑定和分離和/或回收和/或純化的抗體。在優選的實施方案中，將抗體純化(1)至大於95%重量的抗體，且最優選大於99%重量；如通過測量蛋白質濃度的合適方法測定，例如Lowry方法，或在OD280的吸光度，(2)至足以通過使用轉杯式測序儀獲得至少15個殘基的N-末端或內部氨基酸序列的程度；或(3)使用考馬斯藍或優選銀染色在還原或非還原條件下通過SDS-PAGE至均勻性。通常，通過至少一個純化步驟製備用於本文公開的製劑的分離的抗體。

如本文所用，氨基酸殘基縮寫如下：丙氨酸(Ala；A)，天冬醯胺(Asn；N)，天冬氨酸(Asp；D)，精氨酸(Arg；R)，半胱氨酸(Cys；C)，谷氨酸(Glu；E)，穀氨醯胺(Gln；Q)，甘氨酸(Gly；G)，組氨酸(Hush)，異亮氨酸(Ilia)，亮氨酸(Lull)，賴氨酸(Lys；K)，蛋氨酸(Met；M)，苯丙氨酸(Phe；F)，脯氨酸(Pro；P)，絲氨酸(Ser；S)，蘇氨酸(Thr；T)，色氨酸(Trp；W)，酪氨酸(Tyr；Y)和缬氨酸(Val；V)。

在最廣泛的意義上，天然存在的氨基酸可以基於各氨基酸側鏈的化學特徵分成組。“疏水性”氨基酸是指Ile、Leu、Met、Phe、Trp、Tyr、Val、Ala、Cys或Pro。“親水性”氨基酸是指Gly、Asn、Gln、Ser、Thr、Asp、Glu、Lys、Arg或His。這種氨基酸分組可以進一步分類如下。“不帶電的親水性”氨基酸是指Ser、Thr、Asn或Gln。“酸

性”氨基酸是指 Glu 或 Asp。“鹼性”氨基酸是指 Lys、Arg 或 His。

如本文所用，術語“保守氨基酸取代”通過以下各組中的氨基酸之間的取代來說明：(1)甘氨酸，丙氨酸，纈氨酸，亮氨酸和異亮氨酸，(2)苯丙氨酸，酪氨酸和色氨酸，(3)絲氨酸和蘇氨酸，(4)天冬氨酸和谷氨酸，(5)穀氨醯胺和天冬醯胺，和(6)賴氨酸，精氨酸和組氨酸。

如本文所用，“受試者”包括所有哺乳動物，包括但不限於人、非人靈長類動物、狗、貓、馬、綿羊、山羊、牛、兔、豬和齧齒動物。

關於藥物製劑中的賦形劑，術語“藥學上可接受的”是指賦形劑適合於施用到人受試者。

術語“皮下施用”是指在受試者皮膚的所有層下施用製劑。

術語“緩衝液”是指通過其酸-堿共軛組分的作用抵抗 pH 變化的緩衝溶液。本發明的緩衝液的 pH 值為約 4 至約 8；優選約 5 至約 7 範圍；且最優選的 pH 為約 5.5 至約 6.5 範圍。控制該範圍內的 pH 的緩衝劑的實例包括乙酸鹽(例如乙酸鈉)，琥珀酸鹽(例如琥珀酸鈉)，葡萄糖酸鹽，組氨酸，檸檬酸鹽和其他有機酸緩衝液。“緩衝劑”是用於產生緩衝溶液的化合物。

除非另有說明，術語“組氨酸”特別包括 L-組氨酸。

術語“等滲”是指具有與人血液基本相同的滲透壓的製劑。等滲製劑通常具有約 250 至約 350 mOsmol/Kg H₂O 的滲

透壓。例如，可以使用蒸氣壓或冰點降低滲透壓計測量等滲性。

術語“高滲”是指滲透壓高於人的滲透壓(即，大於350mOsm/KgH₂O)的製劑。

術語“張力調節劑”是指適合於提供等滲的藥學上可接受的試劑，或在一些實施方案中，是高滲製劑。

術語“無菌”是指消毒的或不含活細菌、真菌或其他微生物的藥物產品，其可通過任何合適的方式實現，例如，已經無菌加工和填充，或在製劑配製之前或之後，通過無菌過濾膜過濾並填充的製劑。

術語“穩定製劑”是指在一段時間內維持製劑的起始純度水準。換句話說，如果製劑在時間0相對於給定的抗體物類(例如，MASP-2抑制性抗體)為至少95%純度，例如至少96%純度，至少97%純度，至少98%純度或至少99%純度，穩定性是製劑保持基本上這種純度水準的程度和持續時間的量度(例如，沒有形成其他物類，例如片段化部分(LMW)或純物類的聚集體(HMW))。如果在給定的時間段(例如至少6個月，至少9個月，至少12個月或至少24個月)中在約2-8°C下儲存時純度水準沒有顯著降低，則製劑是穩定的。“沒有顯著降低”是指每個時間段(例如，超過6個月，超過9個月或超過12個月或超過24個月)，製劑的純度水準變化小於5%，例如小於4%，或小於3%，或小於2%或小於1%。在一個實施方案中，穩定的製劑在2-8°C的溫度下穩定至少六個月的時間。在一個優選的實施方案中，穩

定的製劑在 2-8°C 的溫度下穩定至少一年的時間，或至少兩年的時間。在一個實施方案中，如果 MASP-2 抑制性抗體在 2°C 至 8°C 儲存至少一個月，或至少六個月，或至少 12 個月期間保持至少 95% 單體，如由 SEC-HPLC 確定，則製劑是穩定的。

術語“防腐劑”是指可以包含在製劑中以基本上減少細菌生長或污染的化合物。潛在防腐劑的非限制性實例包括十八烷基二甲基苄基氯化銨，六甲氯銨，苯紮氯銨(烷基苄基二甲基氯化銨的混合物，其中烷基為長鏈化合物)和苄索氯銨。其他類型的防腐劑包括芳族醇如苯酚，丁醇和苄醇，對羥基苯甲酸烷基酯如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯，兒茶酚，間苯二酚，環己醇，3-戊醇和間甲酚。

術語“賦形劑”是指製劑中的惰性物質，其賦予製劑有益的物理性質，例如增加的蛋白質穩定性和/或降低的黏度。合適的賦形劑的實例包括但不限於蛋白質(例如血清白蛋白)，氨基酸(例如天冬氨酸，谷氨酸，賴氨酸、精氨酸，甘氨酸和組氨酸)，糖類(例如葡萄糖，蔗糖，麥芽糖和海藻糖)，多元醇(例如甘露醇和山梨糖醇)，脂肪酸和磷脂(例如礦酸烷基酯和辛酸酯)。

術語“基本上不含”是指不存在物質或僅存在微量的痕量物質，其對組合物的性質沒有任何實質性影響。如果沒有提及某個物質的量，則應將其理解為“無法檢測到的量”。

術語“黏度”是指通過剪切應力或拉伸應力而變形的流體的阻力的量度。可以使用黏度計(例如滾球黏度計)或流變儀來評估它。除非另有說明，黏度測量值(厘泊，cP)是在約25°C下的剪切速率在100,000至250,000 1/s的範圍內的測量值。

術語“腸胃外施用”是指除通過腸之外的施用途徑，且包括通過注射器或其他機械設備如輸液泵將劑型注射到體內。腸胃外途徑可包括靜脈內，肌肉內，皮下和腹膜內施用途徑。皮下注射是優選的施用途徑。

術語“治療”是指治療性治療和/或預防性或防止性措施。需要治療的受試者包括已患有該疾病的受試者以及要預防該疾病的受試者。因此，本文中待治療的患者可能已被診斷為患有該疾病或可能易感染或易患該疾病。

術語“有效量”是指提供所需效果的物質的量。在藥用藥物物質的情況下，它是有效治療患者疾病的活性成分的量。在製劑成分例如透明質酸酶的情況下，有效量是增加共同施用的MASP-2抑制性抗體的分散和吸收所必需的量，以這種方式使得MASP-2抑制性抗體能夠以上文概述的治療有效方式起作用。

如本文所用，如本文所用的術語“約”是指規定所提供的具體值可在一定程度上變化，例如 $\pm 10\%$ ，優選 $\pm 5\%$ ，最優選 $\pm 2\%$ 範圍的變化包含在給定值中。例如，短語“具有約200mg/mL MASP-2抑制性抗體的藥物製劑”應理解為意指製劑可具有180mg/mL至220mg/mL MASP-2抑制性抗體

(例如，OMS646)。在陳述範圍的情況下，除非另有說明或從上下文中顯而易見，否則端點包括在該範圍內。

除非上下文另有明確規定，否則如本文所用的單數形式“一”、“一個”和“該”包括複數方面。因此，例如，提及“賦形劑”包括多種這樣的賦形劑及其本領域技術人員已知的等同物，提及“試劑”包括一種試劑，以及兩種或多種試劑；提及“抗體”包括多個這樣的抗體，且提及“框架區”包括提及一個或多個框架區及其本領域技術人員已知的等同物，等等。

除非另有明確說明，否則本說明書中的每個實施方案在必要的變更後適用於每個其他實施方案。預期本說明書中討論的任何實施方案可以關於本發明的任何方法、試劑盒、試劑或組合物實施，反之亦然。此外，本發明的組合物可用于實現本發明的方法。

II. 發明概述

本公司提供穩定的、高濃度低黏度 MASP-2 抑制性抗體藥物製劑，其適合於腸胃外施用(例如，皮下施用)且還適合於在靜脈內施用之前進行稀釋。治療性抗體的高度濃縮的藥物製劑是合乎需要的，因為它們允許較低體積的施用和/或較少的施用，因此意味著患者較少的不適。另外，這種較低體積允許在單獨的單劑量、預先填充注射器或小瓶中包裝治療劑量的 MASP-2 抑制性抗體用於自我施用。本公司提供的高濃度、低黏度製劑包含含有 pH 為 4.0 至

8.0，更優選 pH 為約 5.0 至約 7.0 的緩衝系統的水溶液，和濃度為約 50mg/mL 至約 250mg/mL 的 MASP-2 抑制性單克隆抗體(例如，OMS646)或其抗原結合片段。在優選的實施方案中，MASP-2 抑制性抗體(例如，OMS646)以適合於皮下施用的高濃度製劑存在，濃度為約 100mg/mL 至約 250mg/mL。在具體實施方案中，MASP-2 抑制性抗體(例如，OMS646)以高濃度製劑存在，濃度為約 150mg/mL 至約 200mg/mL，例如約 175mg/mL 至約 195mg/mL，例如約 185mg/mL。

在各種實施方案中，除高濃度 MASP-2 抑制性抗體和緩衝系統外，藥物製劑還包含一種或多種賦形劑，例如張力調節劑(例如，帶電荷的側鏈的氨基酸)，和任選地，非離子表面活性劑。在一些實施方案中，根據本公開的藥物製劑還包含透明質酸酶。

本發明的 MASP-2 抑制性抗體的高濃縮藥物製劑的顯著優點是它們在高蛋白質濃度下的低黏度。如本領域技術人員已知的，濃度 $\geq 100\text{mg/mL}$ 的高黏度單克隆抗體藥物製劑可阻礙其作為適合於皮下和/或靜脈內遞送的產品的開發。因此，具有較低黏度的藥物製劑由於其易於製造性(例如但不限於加工、過濾和填充)而非常需要。如本文實施例 2 和 3 中所述，包含 100mg/mL 至 200mg/mL MASP-2 抑制性抗體 OMS646 的本公開的製劑具有令人驚訝的低黏度，例如黏度小於約 50cP，例如 2cP 至 50cP，例如 2cP 至 40cP，例如 2cP 至 30cP，或 2cP 至 25cP，或 2cP 至 20cP，或

2cP至18cP。

另外，本發明的低黏度、高濃縮 MASP-2 抑制性抗體藥物製劑允許藥物製劑經由本領域已知的標準注射器和針、自動注射器設備和微量輸注設備施用。如實施例3中所述，確定本文公開的高濃度低黏度的 MASP-2 抑制性抗體藥物製劑具有適合於皮下施用的可注入性和可注射性。可注入性和可注射性是旨在用於任何腸胃外施用(例如肌肉內或皮下)的藥物製劑的關鍵產品性能參數，且允許通過經由通常用於這種注射的小孔針，例如 29GA 常規或薄壁，27GA(1.25")常規或薄壁，或 25GA(1")常規或薄壁針進行肌內或皮下注射來施用這樣的製劑。在一些情況下，如本文所公開的 MASP-2 抑制性抗體藥物製劑的低黏度允許施用可接受的(例如，1-3cc)注射體積，同時在單次注射中在單個注射部位遞送有效量的 MASP-2 抑制性抗體 OMS646。

本公司公開的製劑的另一個顯著優點是 MASP-2 抑制性抗體的高濃度低黏度製劑(即， $\geq 100\text{mg/mL}$ 至 200mg/mL)在 2°C 至 8°C 儲存時穩定至少 30 天，至多 9 個月，或至多 12 個月或更長，如實施例 2 和 4 中的穩定性研究中所述。

本公司公開還提供用於製備高濃度低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑的方法、包含所述製劑的容器、包含所述製劑的治療試劑盒；以及使用這種製劑、容器和試劑盒以治療患有 MASP-2 依賴性補體啟動相關疾病或病症或有發展該疾病或病症風險的受試者的治療方法。

MASP-2抑制性抗體

如本文詳述，本發明涉及包含特異性結合到 MASP-2 並抑制 MASP-2 依賴性補體啟動的單克隆抗體及其抗原結合片段的製劑。在某些實施方案中，用於要求保護的製劑中的 MASP-2 抑制性抗體或其抗原結合片段是如 WO2012/151481(在此引入作為參考)中所述的被稱為“OMS646”的 MASP-2 抑制性抗體，其包含含有 SEQ ID NO：2 的氨基酸序列的重鏈多肽和含有 SEQ ID NO：3 的氨基酸序列的輕鏈多肽。如 WO2012/151481 中所述和實施行例 1 中所述，OMS646 以高親和力特異性結合到人 MASP-2，並具有阻斷凝集素途徑補體活性的能力。在某些實施方案中，用於要求保護的製劑中的 MASP-2 抑制性抗體或其抗原結合片段是 MASP-2 抑制性抗體，其包含重鏈可變區，所述重鏈可變區包含(i)包含來自 SEQ ID NO：2 的 31-35 的氨基酸序列的 CDR-H1，(ii)包含來自 SEQ ID NO：2 的 50-65 的氨基酸序列的 CDR-H2，和(iii)包含來自 SEQ ID NO：2 的 95-107 的氨基酸序列的 CDR-H3；和(b)輕鏈可變區，所述輕鏈可變區包含：i)包含來自 SEQ ID NO：3 的 24-34 的氨基酸序列的 CDR-L1，ii)包含來自 SEQ ID NO：3 的 50-56 的氨基酸序列的 CDR-L2，和 iii)包含來自 SEQ ID NO：3 的 89-97 的氨基酸序列的 CDR-L3。在一些實施方案中，用於要求保護的製劑中的 MASP-2 抑制性抗體包含 OMS646 的變體，其包含與 SEQ ID NO：2 具有至少 95% 同一性的重鏈可

變區且包含與 SEQ ID NO : 3 具有至少 95% 同一性的輕鏈可變區。在一些實施方案中，用於要求保護的製劑中的 MASP-2 抑制性抗體包含 OMS646 的變體，其包含與 SEQ ID NO : 2 具有至少 95% 同一性的氨基酸序列，其中殘基 31 是 R，殘基 32 是 G，殘基 33 是 K，殘基 34 是 M，殘基 35 是 G，殘基 36 是 V，殘基 37 是 S，殘基 50 是 L，殘基 51 是 A，殘基 52 是 H，殘基 53 是 I，殘基 54 是 F，殘基 55 是 S，殘基 56 是 S，殘基 57 是 D，殘基 58 是 E，殘基 59 是 K，殘基 60 是 S，殘基 61 是 Y，殘基 62 是 R，殘基 63 是 T，殘基 64 是 S，殘基 65 是 L，殘基 66 是 K，殘基 67 是 S，殘基 95 是 Y，殘基 96 是 Y，殘基 97 是 C，殘基 98 是 A，殘基 99 是 R，殘基 100 是 I，殘基 101 是 R，殘基 102 是 R 或 A，殘基 103 是 G，殘基 104 是 G，殘基 105 是 I，殘基 106 是 D 和 殘基 107 是 Y；和 b) 輕鏈可變區，其包含與 SEQ ID NO : 3 具有至少 95% 同一性的氨基酸序列，其中殘基 23 是 S，殘基 24 是 G，殘基 25 是 E 或 D，殘基 26 是 K，殘基 27 是 L，殘基 28 是 G，殘基 29 是 D，殘基 30 是 K，殘基 31 是 Y 或 F，殘基 32 是 A，殘基 33 是 Y，殘基 49 是 Q，殘基 50 是 D，殘基 51 是 K 或 N，殘基 52 是 Q 或 K，殘基 53 是 R，殘基 54 是 P，殘基 55 是 S，殘基 56 是 G，殘基 88 是 Q，殘基 89 是 A，殘基 90 是 W，殘基 91 是 D，殘基 92 是 S，殘基 93 是 S，殘基 94 是 T，殘基 95 是 A，殘基 96 是 V 且 殘基 97 是 F。

在一些實施方案中，用於要求保護的製劑中的單克隆 MASP-2 抑制性抗體（例如，OMS646 或其變體）是全長單克

隆抗體。在一些實施方案中，單克隆 MASP-2抑制性抗體是人 IgG4全長抗體。在一些實施方案中，IgG4在鉸鏈區中包含點突變以增強抗體的穩定性。

在一些實施方案中，MASP-2抑制性抗體(例如，OMS646或其變體)包含與人 IgG4重鏈和λ輕鏈恒定區融合的人源可變區，其中重鏈在鉸鏈區中包含點突變(例如，其中 IgG4分子包含 S228P突變)以增強抗體的穩定性。在一些實施方案中，MASP-2抑制性抗體是由具有 SEQ ID NO : 4中所示的氨基酸序列的兩條相同重鏈和具有 SEQ ID NO : 5中所示的氨基酸序列的兩條相同輕鏈組成的四聚體。

在一些實施方案中，製劑中 MASP-2抑制性抗體的濃度為約 100mg/mL至約 250mg/mL，例如約 150mg/ml至約 220mg/mL，例如約 175mg/mL至約 200mg/mL，或約 175mg/mL至約 195mg/mL。在某些實施方案中，MASP-2抑制性抗體以約 175mg/ml至約 195mg/ml，例如約 180mg/mL至約 190mg/mL，例如約 175mg/mL，例如約 180mg/mL，約 181mg/mL，約 182mg/mL，約 183mg/mL，約 184mg/mL，約 185mg/mL，約 186mg/mL，約 187mg/mL，約 188mg/mL，約 189mg/mL或例如約 190mg/mL的濃度存在於製劑中。

在一些實施方案中，預期 MASP-2抑制性抗體或其片段的氨基酸序列中的微小變化被要求保護的製劑包括，條件是氨基酸序列中的變化維持與本文所述的 MASP-2抑制性抗體或其抗原結合片段的至少 90%，至少 95%，至少

96%，至少 97%，至少 98%，或至少 99% 的序列同一性(即，與 SEQ ID NO : 2 的至少 90%，至少 95%，至少 96%，至少 97%，至少 98% 或至少 99% 的序列同一性和/或與 SEQ ID NO : 3 的至少 90%，至少 95%，至少 96%，至少 97%，至少 98% 或至少 99% 的序列同一性)，並保留抑制 MASP-2 依賴性補體啟動的能力。

如將瞭解的，可以使用本領域熟知的技術(例如，重組技術，噬菌體展示技術，合成技術或這些技術或本領域中容易瞭解的其他技術的組合)生產在本公開的上下文中配製的 MASP-2 抑制性抗體或其抗原結合片段。產生和純化抗體和抗原結合片段的方法是本領域熟知的，且可以在例如 Harlow and Lane(1988)Antibodies , A Laboratory Manual , Cold Spring Harbor Laboratory Press , Cold Spring Harbor , New York , 第 5-8 和 15 章中找到。

例如，MASP-2 抑制性抗體，例如 OMS646，可以在合適的哺乳動物細胞系中表達。編碼特定目標抗體如 OMS646 的重鏈可變區和輕鏈可變區的序列(例如，SEQ ID NO : 6 和 SEQ ID NO : 7)可用於轉化合適的哺乳動物宿主細胞。將異源多核苷酸引入到哺乳動物細胞中的方法是本領域熟知的，且包括葡聚糖介導的轉染，磷酸鈣沉澱，聚凝胺介導的轉染，原生質體融合，電穿孔，多核苷酸在脂質體中的包封，以及 DNA 直接微量注射到核中。

可用作表達宿主的哺乳動物細胞系是本領域公知的，且包括可從美國典型培養物保藏中心(ATCC)獲得的許多

永生化細胞系，包括但不限於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，HeLa細胞，幼倉鼠腎(BNK)細胞，猴腎細胞(COS)，人肝細胞癌細胞(例如HepG2)，人上皮腎293細胞(HEK293)和許多其他細胞系。

在細胞培養過程的蛋白質生產階段之後，使用本領域技術人員瞭解的技術從細胞培養基中回收MASP-2抑制性抗體。特別地，在一些實施方案中，MASP-2抑制性抗體重鏈和輕鏈多肽作為分泌多肽從培養基中回收。

MASP-2抑制性抗體可以使用例如羥基磷灰石層析，凝膠電泳，透析和親和層析以及已知或待發現的純化技術的任何組合來純化，包括但不限於蛋白A層析，離子交換柱上的分級分離，乙醇沉澱，反相HPLC，二氧化矽上的層析，肝素SEPHAROSET®上的層析，陰離子或陽離子交換樹脂層析(如聚天冬氨酸柱)，層析聚焦，SDS-PAGE和硫酸銨沉澱。純化方法可以進一步包括滅活和/或去除可能潛在地存在於哺乳動物細胞系的細胞培養基中的病毒和/或逆轉錄病毒的額外步驟。大量病毒清除步驟可用，包括但不限於用離液劑例如尿素或胍，洗滌劑，額外的超濾/滲濾步驟，常規分離，如離子交換或尺寸排阻層析，pH極值，熱量，蛋白酶，有機溶劑或其任何組合處理。

純化的MASP-2抑制性抗體通常在儲存或進一步加工之前需要濃縮和緩衝液交換。作為非限制性實例，可以使用切向流過濾(TFF)系統來濃縮和用藥物所需的最終緩衝液交換來自先前純化柱的洗脫緩衝液。

本文配製的單克隆 MASP-2 抑制性抗體優選基本上是純的且理想地基本上是均勻的(即，沒有污染蛋白質等)。“基本上純的”抗體是指包含至少 90%重量的抗體的組合物，基於組合物的總重量，優選至少 95%重量。“基本上均勻的”抗體是指包含至少約 99%重量的抗體的組合物，基於組合物的總重量。

水溶液

本公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑包含含有 4.0 至 8.0 的 pH(例如，具有約 5.0 至 約 7.0 的 pH，或具有約 5.5 至 約 6.5 的 pH)的緩衝系統和約 50mg/mL 至 約 250mg/mL(例如，約 100mg/mL 至 約 250mg/mL)的濃度 MASP-2 抑制性抗體(例如，OMS646 或其變體)或其抗原結合片段的水溶液。用於本公開的製劑的水溶液是藥學上可接受的(對人施用是安全且無毒的)水溶液且可用於製備液體製劑。在一些實施方案中，水溶液是水，例如無菌注射用水(WFI)，其是無菌、無溶質的蒸餾水製劑。或者，可以使用適合於治療施用且不會不利地影響製劑穩定性的其他水溶液，例如去離子水。其他合適的水溶液包括抑菌性注射用水(BWFI)，無菌鹽水溶液，林格氏溶液或用於藥物溶液的其他類似水溶液。

緩衝系統

將本公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑

通過使用檸檬酸和一種或多種鹽的適當混合物以達到相同的 pH 值來製備。在另一個實施方案中，檸檬酸鹽緩衝液可以通過用稀鹽酸溶液滴定檸檬酸三鈉溶液至適當的 pH 來製備。在這種情況下，由於在溶液中產生額外的鈉和氯的離子，離子強度可能略高於從檸檬酸開始的離子強度。在某些實施方案中，檸檬酸鹽緩衝液的 pH 為約 5.0 至約 7.0，例如約 5.5 至約 6.0，例如約 5.8 或約 5.9。在一些實施方案中，緩衝劑是琥珀酸鹽緩衝液。在某些實施方案中，琥珀酸鹽緩衝液的 pH 為約 5.5 至約 6.0，例如約 5.8 或約 5.9。

在一些實施方案中，緩衝劑是檸檬酸鈉緩衝液，其中檸檬酸鈉以約 10mM 至約 50mM，例如約 10mM 至約 25mM，例如約 20mM 的濃度存在於製劑中。在一些實施方案中，緩衝劑是 L-組氨酸緩衝液，其中 L-組氨酸以約 10mM 至約 50mM，例如約 10mM 至約 25mM，例如約 20mM 的濃度存在於製劑中。在一些實施方案中，製劑包含約 20mM 檸檬酸鈉且具有約 5.0 至約 7.0 的 pH。在一些實施方案中，製劑包含約 20mM L-組氨酸且具有約 5.0 至約 7.0 的 pH。

賦形劑

在一些實施方案中，本公司公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑還包含至少一種賦形劑。合適的賦形劑的實例包括但不限於蛋白質(例如血清白蛋白)，氨基酸(例如天冬氨酸，谷氨酸，賴氨酸，精氨酸，甘氨酸和組氨酸)，糖類(例如葡萄糖，蔗糖，麥芽糖和海藻糖)，多元醇

(例如甘露醇和山梨糖醇)，脂肪酸和磷脂(例如礦酸烷基酯和辛酸酯)。

在一些實施方案中，所述製劑包含選自具有帶電荷的側鏈的氨基酸、糖或其他多元醇和鹽的賦形劑。在一些實施方案中，製劑包含糖或其他多元醇，例如蔗糖，海藻糖，甘露糖醇或山梨糖醇。在一些實施方案中，製劑包含鹽，例如NaCl或氨基酸的鹽。

在一些實施方案中，製劑包含賦形劑，其是張力調節劑。在一些實施方案中，張力調節劑以適合於提供等滲製劑的濃度包含在製劑中。在一些實施方案中，張力調節劑以適合於提供高滲製劑的濃度包含在製劑中。在一些實施方案中，用於製劑的張力調節劑選自具有帶電荷的側鏈的氨基酸、糖或其他多元醇和鹽。在一些實施方案中，張力調節劑是濃度為約50mM至約300mM的具有帶電荷的側鏈(即，帶負電荷的側鏈或帶正電荷的側鏈)的氨基酸。在一些實施方案中，張力調節劑是具有帶負電荷的側鏈的氨基酸，例如谷氨酸。在一些實施方案中，製劑包含濃度為約50mM至約300mM的谷氨酸。在一些實施方案中，張力調節劑是具有帶正電荷的側鏈的氨基酸，例如精氨酸。在一些實施方案中，製劑包含濃度為約50mM至約300mM，例如約150mM至約225mM的精氨酸(例如精氨酸HCL)。

優選地，如本文公開的藥物製劑是高滲的(即，具有比人血液更高的滲透壓)。如本文所述，出人意料地觀察到高滲性導致樣品黏度降低，這例如用精氨酸濃度的適度

增加來實現。如實施例2中所述，出乎意料地觀察到用檸檬酸鹽/精氨酸和組氨酸/精氨酸高濃度MASP-2抑制性抗體製劑實現低黏度(例如，小於25cP)，所述製劑在沒有CaCl₂的情況下包含200mM或更高的精氨酸濃度。因此，在一些實施方案中，製劑包含高滲水平為約200mM至約300mM的精氨酸(例如精氨酸HCL)。

如實施例2中進一步描述的，還觀察到與不包含CaCl₂或MgCl₂添加劑的製劑相比，包含二價陽離子(CaCl₂或MgCl₂)的製劑具有升高的高分子量材料。因此，在一個實施方案中，本公開的高濃度、低黏度MASP-2抑制性抗體製劑基本上不含CaCl₂添加劑。在一個實施方案中，本公開的高濃度、低黏度MASP-2抑制性抗體製劑基本上不含MgCl₂添加劑。

如實施例2中進一步描述的，對於高濃度MASP-2抗體製劑確定在所有測試的緩衝系統中蔗糖的包含伴隨提高的多分散性。因此，在一個實施方案中，本公開的高濃度低黏度MASP-2抑制性抗體製劑基本上不含蔗糖。

如實施例2中所述，對於高濃度MASP-2抗體製劑還確定在所有測試的緩衝系統中包含山梨糖醇伴隨提高的多分散性。因此，在一個實施方案中，本公開的高濃度低黏度MASP-2抑制性抗體製劑基本上不含山梨糖醇。

表面活性劑

任選地，在一些實施方案中，本公開的高濃度、低黏

度 MASP-2 抑制性抗體製劑還包含藥學上可接受的表面活性劑。合適的藥學上可接受的表面活性劑的非限制性實例包括聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯(例如 Tween)，聚乙二醇-聚丙二醇，聚氧乙烯-硬脂酸酯，聚氧乙烯烷基醚(例如聚氧乙烯單月桂基醚)，烷基苯基聚氧乙烯醚(例如 Triton-X)，聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物(例如 Poloxamer 和 Pluronic)和十二烷基硫酸鈉(SDS)。在某些實施方案中，藥學上可接受的表面活性劑是聚氧乙烯山梨糖醇酐-脂肪酸酯(聚山梨醇酯)，例如聚山梨醇酯 20(以商標 Tween 20TM出售)和聚山梨醇酯 80(以商標 Tween 80TM出售)。在一些實施方案中，本公司公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑包含非離子表面活性劑。非離子表面活性劑可以是聚山梨醇酯(例如，選自聚山梨醇酯 20，聚山梨醇酯 80 和聚乙二醇-聚丙烯共聚物)。在一些實施方案中，表面活性劑的濃度為約 0.001 至 0.1%(w/v)，或 0.005% 至 0.1%(w/v)，或 0.01 至 0.1%(w/v)，或 0.01 至 0.08%(w/v)，或 0.025 至 0.075%(w/v)，或更具體地約 0.01%(w/v)，約 0.02%(w/v)，約 0.04%(w/v)，或約 0.06%(w/v)，或約 0.08%(w/v)，或約 0.10%(w/v)。在一些實施方案中，製劑包含濃度為約 0.001 至 0.1%(w/v)，或 0.005% 至 0.1%(w/v)，或 0.01 至 0.1%(w/v)，或 0.01 至 0.08%(w/v)，或 0.025 至 0.075%(w/v)，或更具體地約 0.01%(w/v)，約 0.02%(w/v)，約 0.04%(w/v)，或約 0.06%(w/v)，或約 0.08%(w/v)，或約 0.10%(w/v) 的非離子表面活性劑(例如，聚山梨醇酯 80)。

如實施例 2 中所述，出乎意料地觀察到包含非離子表面活性劑聚山梨醇酯 80(PS-80)導致黏度進一步降低，同時還保持蛋白質回收，從而允許高濃度的 OMS646 抗體在保持低黏度的同時適用於注射設備，例如自動注射器。

穩定劑

任選地，在一些實施方案中，本公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑還包含穩定劑。穩定劑(與本文中術語“穩定試劑”同義使用)可以是由管理機構許可作為藥物製劑中合適的添加劑或賦形劑的碳水化合物或糖類或糖，例如海藻糖或蔗糖。穩定劑的典型濃度為 15 至 250 mM，或 150 至 250 mM，或約 210 mM。製劑可含有第二穩定劑，例如蛋氨酸，例如濃度為 5 至 25 mM 或濃度為 5 至 15 mM(例如，濃度為約 5 mM，約 10 mM 或約 15 mM 的蛋氨酸)。

防腐劑

任選地，在一些實施方案中，本公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑還包含防腐劑(例如，抗微生物劑)。對於旨在多次給藥的腸胃外產品通常需要抗微生物劑。類似地，如果一種或多種活性成分不具有殺菌或抑菌性質或促進生長，則將防腐劑加入到無菌包裝在單劑量小瓶中的藥物製劑中。使用的一些典型防腐劑是苯甲醇(0.9% 至 1.5%)，對羥基苯甲酸甲酯(0.18% 至 0.2%)，對羥

基苯甲酸丙酯(0.02%)，苯紮氯銨(0.01%至0.02%)和硫柳汞(0.001%至0.01%)。

可注入性

皮下施用途徑需要使用注射設備，例如注射器，自動注射器，可穿戴泵或其他設備注射，這在注射體積和溶液黏度方面限制產品製劑。此外，在注射力和注射遞送所需的時間方面，產品製劑必須適合用於注射設備。如本文所用，“可注入性(Syringeability)”是指可注射治療劑在注射之前從小瓶轉移時容易通過皮下注射針的能力。如本文所用，“可注射性(Injectability)”是指在注射期間製劑的性能(參見，例如，Cilurzo F, Selmin F, Minghetti P等. Injectability Evaluation : An Open Issue. AAPS PharmSciTech. 2011 ; 12(2) : 604-609)。可注入性包括諸如易於取出、堵塞和起泡傾向以及劑量測量的準確性等因素。可注射性包括注射所需的壓力或力，流動的均勻性，以及不會堵塞(即，注射器針沒有堵塞)。可注入性和可注射性可能受針的幾何形狀，即內徑、長度、開口形狀以及注射器的表面光潔度的影響，特別是在自我注射設備如筆和自動注射器(例如，配備有29-31 GA針)中，以及在用於皮下給藥的預先填充注射器(例如，配備有24-27 GA針)中。注射力(或滑動力)是受溶液黏度、針的尺寸(即針規格)和容器/封蓋的表面張力影響的複雜因素。較小的針，例如≥規格，將對患者造成較少的疼痛感。基於Hagen-

Poiseuille 方程 (Overcashier 等， Am Pharm Rev 9(6) : 77-83(2006)， Overcashier 及其同事建立黏度-滑動力關係作為針規格的函數。例如，在 27 號薄壁針的情況下，液體黏度應保持在 20cP 以下，以不超過 25 牛頓 (N) 的滑動力。

在某些實施方案中，本發明的藥物製劑的特徵在於當在室溫下通過 27GA(1.25") 針注射時具有約 25N 或更小的注射滑動力。

在某些實施方案中，本發明的藥物製劑的特徵在於當在室溫下通過 25GA(1") 針注射時具有約 20N 或更小的注射滑動力。

如實施例 3 中例示的，本公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體 (例如，OMS646) 製劑具有令人驚訝的良好的可注入性和可注射性。如本文所公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑允許通過經由通常用於這種注射的小孔針，例如 27G(1.25")，27G 薄壁，25G 薄壁 (1") 或 25G(1") 針進行肌肉內或皮下注射來施用這種製劑。在一些情況下，如本文所公開的 MASP-2 抑制性抗體製劑的低黏度允許施用可耐受的 (例如，1-3cc) 注射體積，同時在單次注射中在單個注射部位遞送有效量的 MASP-2 抑制性抗體。

穩定性

對於任何前述內容，應注意製劑中的 MASP-2 抑制性抗體或其抗原結合片段保留抑制 MASP-2 依賴性補體啟動

的能力。例如，MASP-2抑制性抗體保留結合MASP-2和抑制如實施例1中所述的凝集素途徑活性，或例如WO2012/151481中所述的其他凝集素途徑測定的能力。除了效力測定之外，可以使用各種物理-化學測定來評估穩定性，包括等電聚焦，聚丙烯醯胺凝膠電泳，尺寸排阻層析以及可見和亞可見粒子評估。

在某些實施方案中，本公開的製劑在-20°C至8°C的溫度範圍下表現出至少30天，達到至少9個月或更長，或達到至少12個月或更長的穩定性，如實施例2和4中的穩定性研究中所述。另外或可替代地，在某些實施方案中，製劑在-20°C至8°C，例如2°C至8°C的溫度下穩定至少6個月，至少1年，或至少2年或更長。在某些實施方案中，可以評估穩定性，例如，通過隨時間維持純度水準。例如，在某些實施方案中，本公開的製劑當在2°C至8°C下儲存時對於純度，每月、6個月、9個月或1年具有小於5%的降低，例如小於4%的降低，例如小於3%的降低，例如小於2%，例如小於1%的降低，如通過尺寸排阻層析(SEC)測定，其監測片段(LMW)和/或聚集物類(HMW)的存在與否。

在某些實施方案中，本公開的製劑促進低至不可檢測的聚集和/或片段化水準，並在儲存一段確定的時間後保持效力。換句話說，本文公開的製劑能夠維持在溶液中以高濃度，例如以大於150mg/mL，或大於175mg/mL或至少185mg/mL的濃度存在的MASP-2抑制性抗體OMS646的結構完整性，使得MASP-2抑制性抗體在約2°C至8°C下儲存

限定的時間後能夠保持主要是單體的(即，至少95%或更高)。優選地，不超過5%，不超過4%，不超過3%，不超過2%，不超過1%，且最優選不超過0.5%的抗體形成片段(LMW)或聚集體形式(HMW)，如在約2°C至8°C下儲存限定時間後通過SEC測量的。

如本文所述的實施例4中例示的，本發明人提供適合於在約2°C至8°C下將約185mg/mL的MASP-2抑制性抗體OMS646以主要單體形式維持至少12個月的製劑。

組織滲透性調節劑

在另一個實施方案中，本公開的高濃度、低黏度MASP-2抑制性抗體製劑還包含組織滲透性調節劑，其在腸胃外施用(例如，皮下注射)後增加MASP-2抑制性抗體的吸收或分散。在一些實施方案中，組織滲透性調節劑是透明質酸酶，其充當組織滲透性調節劑並增加注射的MASP-2抑制性抗體的分散和吸收。特別有用的組織滲透性調節劑是透明質酸酶(例如，重組人透明質酸酶)。透明質酸酶作為組織滲透性調節劑通過暫時破壞透明質酸屏障以開放進入淋巴管和毛細血管的通路，使注射的藥物和流體迅速被吸收進入體循環起作用。透明質酸自然地重建，且屏障例如在48小時內完全恢復。在注射用藥物製劑中添加透明質酸酶增加了腸胃外施用，特別是皮下施用後MASP-2抑制性抗體的生物利用度。它還允許在更少的疼痛和不適的情況下更大的注射部位體積(即，大於1mL)，且最小化注

射部位反應的發生率(例如，使注射部位隆起變平)。

在一些實施方案中，本公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體(例如，OMS646)製劑包含約 100U/mL 至約 20,000U/mL 的透明質酸酶。透明質酸酶的實際濃度取決於用於製備本發明的 MASP-2 抑制性抗體製劑的透明質酸酶的類型。有效量的透明質酸酶可由本領域技術人員確定。應當以足夠的量提供以便共同施用或順序施用的 MASP-2 抑制性抗體的分散和吸收的增加是可能的。透明質酸酶的最小量大於 100U/mL。更具體地，透明質酸酶的有效量為約 150U/mL 至約 20,000U/mL，其中所述量對應於約 0.01mg 至 0.16mg 蛋白質，基於假定的 100,000U/mg 的比活性。在一些實施方案中，藥物製劑包含濃度為約 1,000 至約 20,000U/ml，例如約 1,000 至約 16,000U/ml 的透明質酸酶。或者，透明質酸酶的濃度為約 1,500 至約 12,000U/mL，或更具體地為約 2,000U/mL 至約 12,000U/mL。本文指定的量對應於最初添加到藥物製劑中的透明質酸酶的量。在一些實施方案中，透明質酸酶與 MASP-2 抑制性抗體的比率(w/w)在 1 : 1,000 至 1 : 8,000 的範圍內，或在 1 : 4,000 至 1 : 6,000 的範圍內或在約 1 : 4,000 至 1 : 5000 的範圍內。

透明質酸酶可以作為本公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑的組分存在，或它可以作為部分試劑盒(kit of parts)中的單獨溶液提供。因此，在一個實施方案中，MASP-2 抑制性抗體與透明質酸酶共同配製。在另一個實施方案中，MASP-2 抑制性抗體和透明質酸酶分別配

製並恰在皮下施用之前混合。在另一個實施方案中，MASP-2抑制性抗體和透明質酸酶各自分別配製和施用，例如透明質酸酶在施用包含 MASP-2抑制性抗體的製劑之前或之後直接作為單獨注射施用。在一些情況下，在將本公開的包含 MASP-2抑制性抗體的藥物製劑注射到相同的注射部位區域之前，從約 5秒至約 30分鐘皮下施用透明質酸酶。在某些實施方案中，MASP-2抑制性抗體的藥物製劑和透明質酸酶溶液包含在藥物設備的單獨室中，其同時(例如，使用雙筒注射器)或順序地自動遞送。

預先填充容器

在本公開的另一方面，如本文所公開的高濃度、低黏度 MASP-2抑制性抗體製劑以足以施用到哺乳動物受試者的量包含在預先填充的密封容器中。因此，與希望施用到哺乳動物受試者的 MASP-2抑制性抗體的量相等或比其僅稍微更多(即，不超過 25% 過量，例如不超過 10% 過量)的根據本公開配製的足夠量的藥物組合物包含在預先填充的容器內，該容器有助於分配抗體製劑用於腸胃外施用(即注射或輸注)。在一些實施方案中，預先填充容器包含 MASP-2抑制性抗體的至少一種藥物單位劑型。

例如，所需一次性使用的量的高濃度、低黏度 MASP-2抑制性抗體製劑可以包裝在預先填充的容器，例如用塞子或包括通過其可以插入皮下注射針以取出製劑的隔膜的其他封閉物封閉的玻璃小瓶中，或可以包裝在預先填充注

射器或適合於注射(例如，皮下注射)或輸注的其他預先填充容器中。這種容器的實例包括但不限於小瓶，注射器，安瓿，瓶子，藥筒和小袋。優選地，所述容器均為一次性使用的預先填充注射器，其可適當地由玻璃或聚合物材料，例如環烯烴聚合物或丙烯腈丁二烯苯乙烯(ABS)，聚碳酸酯(PC)，聚甲醛(POM)，聚苯乙烯(PS)，聚對苯二甲酸丁二醇酯(PBT)，聚丙烯(PP)，聚乙烯(PE)，聚醯胺(PA)，熱塑性彈性體(TPE)及它們的組合形成。這種注射器的筒用彈性體柱塞操作，彈性體柱塞可以沿著筒推動，以經由與其連接的針噴射液體內容物。在本發明的一些實施方案中，每個注射器包括固定在其上的針。

在一些實施方案中，如本文所公開的高濃度、低黏度MASP-2抑制性抗體製劑包含在預先填充的容器中，所述容器選自：注射器(例如，單筒或雙筒注射器)，筆式注射器，密封的小瓶(例如，雙室小瓶)，自動注射器，盒子和泵設備(例如，體上(on-body)貼片泵，系留泵(tethered pump)或滲透泵)。對於皮下遞送，製劑可以包含在適合於皮下遞送的預先填充設備，例如預先填充注射器，自動注射器，注射設備(例如，INJECT-EASETM或GENJECTTM設備)，注射器筆(如GENPENTM)或適合皮下施用的其他設備內。

本公開的製劑可以製備成預先填充容器中的單位劑型，其特別適合於自我施用。例如，每個小瓶、藥筒或其他預先填充容器(例如，預先填充注射器或一次性筆)的單

位劑量可包含約 0.1mL，0.2mL，0.3mL，0.4mL，0.5mL，0.6mL，0.7mL，0.8mL，0.9mL，1mL，1.1mL，1.2mL，1.3mL，1.4mL，1.5mL，1.6mL，1.7mL，1.8mL，1.9mL，2.0mL，2.1mL，2.2mL，2.3mL，2.4mL，2.5mL，2.6mL，2.7mL，2.8mL，2.9mL，3.0mL，3.5mL，4.0mL，4.5mL，5.0mL，5.5mL，6.0mL，6.5mL，7.0mL，7.5mL，8.0mL，8.5mL，9.0mL，9.5mL，或約 10.0mL 或更大體積的含有各種濃度的 MASP-2 抑制性抗體(例如，OMS646)的高濃度製劑，範圍為約 100mg/mL 至約 250mg/mL，約 150mg/mL 至約 200mg/mL，約 175mg/mL 至約 200mg/mL，例如約 185mg/mL，導致每個容器的 OMS646 的總單位劑量範圍為約 20mg 至約 1000mg 或更高。

在一些實施方案中，本公開的製劑在預先填充容器(例如小瓶或注射器)中製備為單位劑型，單位劑量為約 350mg 至 400mg，例如約 350mg，約 360mg，約 370mg，約 380mg，約 390mg，或約 400mg。

在一些實施方案中，本公開的製劑在預先填充注射器中製備為單位劑型，體積為 0.1mL 至 3.0mL，例如約 0.1mL，0.2mL，0.3mL，0.4mL，0.5mL，0.6mL，0.7mL，0.8mL，0.9mL，1mL，1.1mL，1.2mL，1.3mL，1.4mL，1.5mL，1.6mL，1.7mL，1.8mL，1.9mL，2.0mL，2.1mL，2.2mL，2.3mL，2.4mL，2.5mL，2.6mL，2.7mL，2.8mL，2.9mL，或約 3.0mL，包含約

20mg至750mg的MASP-2抑制性抗體(例如，OMS646)。如本文所述，作為單位劑量製備的穩定製劑可以直接施用到受試者(例如，經由皮下注射)，或可替代地製備成適合於在靜脈內施用前稀釋。

本公開的製劑可以通過適用於抗體製劑的各種滅菌方法，例如無菌過濾滅菌。在某些實施方案中，抗體製劑經過過濾滅菌，例如，用預滅菌的0.2微米篩檢程式。可以將本公開的滅菌製劑施用到受試者以預防、治療或改善與MASP-2依賴性補體啟動相關的疾病或病症。

在相關方面，本公開提供製備製品的方法，其包括用本公開的高濃度MASP-2抑制性抗體製劑填充容器。

在一個實施方案中，本公開提供用於治療患有MASP-2依賴性疾病或病症或有發展MASP-2依賴性疾病或病症風險的患者的藥物組合物，其中所述組合物是包含約350mg至約400mg(即350mg，360mg，370mg，380mg，390mg或400mg)MASP-2抑制性抗體的無菌一次性使用的劑型，其中組合物包含約1.8mL至約2.2mL(即1.8mL，1.9mL，2.0mL，2.1mL或2.2mL)185mg/mL抗體製劑，例如如本文公開的，其中所述抗體或其片段包含(i)包含SEQ ID NO：2中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和(ii)包含SEQ ID NO：3中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；且其中製劑在2°C至8°C下儲存至少6個月時是穩定的。在一些實施方案中，MASP-2依賴性疾病或病症選自aHUS，HSCT-TMA，IgAN和狼瘡性腎炎(LN)。

包含高濃度、低黏度的 MASP-2 抑制性抗體製劑的試劑盒。

本公開的特徵還在於包含至少一個容器的治療試劑盒，所述容器包含如本文公開的高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑。

在一些實施方案中，本公開提供試劑盒，其包含(i)包含含有本文所述的 MASP-2 抑制性抗體的任何製劑的容器；和(ii)將製劑遞送到有需要的患者的合適工具。在本文所述的任何試劑盒的一些實施方案中，所述工具適合於將製劑皮下遞送到患者。

各種類型的容器適用於包含在本發明的試劑盒中包含的 MASP-2 抑制性抗體的藥物製劑。在本發明的試劑盒的某些實施方案中，容器是預先填充注射器(例如，單筒或雙筒注射器)或預先填充的密封小瓶。

在一些實施方案中，包含含有 MASP-2 抑制性抗體的製劑的容器是預先填充的容器，其選自：注射器(例如，單筒或雙筒注射器)，筆式注射器，密封的小瓶(例如，雙腔室小瓶)，自動注射器，盒子和泵設備(例如，體上貼片泵或系留泵或滲透泵)。對於皮下遞送，製劑可以包含在適合於皮下遞送的預先填充設備，例如預先填充注射器，自動注射器，注射設備(例如，INJECT-EASETM 和 GENJECTTM 設備)，注射器筆(如 GENPENTM)或適合皮下使用的其他設備內。

除了預先填充有單劑量藥物製劑的容器之外，本發明

的試劑盒還可以包括外容器，這種預先填充容器放置在該外容器中。例如，外容器可以包括塑膠或紙板託盤，其中形成凹槽(recess)，該凹槽容納預先填充容器並在使用前的運輸和處理期間將其固定。在一些實施方案中，外容器適當地是不透明的且用於保護預先填充容器免受光照以防止光誘導的藥物製劑組分的降解。例如，容納預先填充容器的塑膠或紙板託盤可以進一步包裝在提供光遮罩的紙板箱內。本發明的試劑盒還可以包括一組用於施用和使用根據本發明的 MASP-2 抑制性抗體製劑的說明書，其可以印刷在外容器上或印刷在包含在外容器內的一張紙上。

在一些實施方案中，試劑盒包含含有有效劑量的透明質酸酶的第二容器(例如，預先填充注射器)。

該試劑盒可以進一步包括從商業和用戶角度所需的其他材料，包括針，注射器，包裝插頁等。

示例性製劑

如上所述，本公開的穩定的、高濃度、低黏度 MASP-2 抑制性抗體製劑包括在包含 pH 為 4.0 至 8.0 的緩衝劑的水溶液中濃度為 50mg/mL 至 250mg/mL 的 MASP-2 抑制性抗體。

適當地包括緩衝系統，例如組氨酸、檸檬酸鹽或琥珀酸鹽，其濃度為約 10mM 至約 50mM，且優選約 20mM。在一些優選的實施方案中，製劑還包含濃度為 50mM 至 300mM 的具有帶電荷的側鏈的氨基酸。在一些實施方案

中，製劑包含濃度為 50mM至 300mM的具有帶正電荷的側鏈的氨基酸，例如精氨酸。在一些優選的實施方案中，製劑還包含非離子表面活性劑，例如聚山梨醇酯 80，其量為 0.001%(w/v) 至 0.1%(w/v)，例如約 0.05%(w/v) 至 約 0.1%(w/v)。在一些實施方案中，製劑還包含透明質酸酶，其量有效增加皮下施用後 MASP-2抑制性抗體的分散和/或吸收。

在一些實施方案中，本公開的穩定的高濃度、低黏度 MASP-2抑制性抗體製劑包含以下組合物之一，由其組成或基本上由其組成：

a) 100至 200mg/mL MASP-2抑制性抗體；10至 50mM的約 5.0至 約 7.0的 pH的組氨酸緩衝液；100mM至 225mM精氨酸；和任選 100至 20,000U/mL的透明質酸酶。

b) 100至 200mg/mL MASP-2抑制性抗體；10至 50mM的約 5.0至 約 7.0的 pH的組氨酸緩衝液；100mM至 225mM精氨酸，約 0.01%至 0.08%(w/v)的非離子表面活性劑；和任選 100至 20,000U/mL的透明質酸酶。

c) 100至 200mg/mL MASP-2抑制性抗體；10至 50mM的約 5.0至 約 7.0的 pH的檸檬酸鹽緩衝液；100mM至 225mM精氨酸，和任選 100至 20,000U/mL的透明質酸酶。

d) 100至 200mg/mL MASP-2抑制性抗體；10至 50mM的約 5.0至 約 7.0的 pH的檸檬酸鹽緩衝液；100mM至 225mM精氨酸，約 0.01%至 0.08%(w/v)的非離子表面活性劑；和任選 100至 20,000U/mL的透明質酸酶。

e) 100至200mg/mL MASP-2抑制性抗體；10至50mM的約5.0至約7.0的pH的琥珀酸鹽緩衝液；100mM至225mM精氨酸，和任選100至20,000U/mL的透明質酸酶。

f) 100至200mg/mL MASP-2抑制性抗體；10至50mM的約5.0至約7.0的pH的琥珀酸鹽緩衝液；100mM至225mM精氨酸，約0.01%至0.08%(w/v)的非離子表面活性劑；和任選100至20,000U/mL的透明質酸酶。

在某些實施方案中，本公開的穩定的高濃度、低黏度 MASP-2抑制性抗體製劑包含以下組合物之一，由其組成或基本上由其組成：

g) 185 ± 18.5 mg/mL MASP-2抑制性抗體； 20 ± 2 mM的約5.8的pH的檸檬酸鹽緩衝液； 200 ± 20 mM精氨酸，和任選100至20,000U/mL的透明質酸酶。

h) 185 ± 18.5 mg/mL MASP-2抑制性抗體； 20 ± 2 mM的約5.8的pH的檸檬酸鹽緩衝液； 200 ± 20 mM精氨酸，約0.01%(w/v)聚山梨醇酯80，和任選100至20,000U/mL透明質酸酶。

i) 185 ± 18.5 mg/mL MASP-2抑制性抗體； 20 ± 2 mM的約5.9的pH的組氨酸緩衝液， 200 ± 20 mM精氨酸和任選100至20,000U/mL的透明質酸酶。

j) 185 ± 18.5 mg/mL MASP-2抑制性抗體； 20 ± 2 mM的約5.9的pH的組氨酸緩衝液， 200 ± 20 mM精氨酸，約0.01%聚山梨醇酯80，和任選100至20,000U/mL的透明質酸酶。

產生高濃度、低黏度 MASP-2抑制性抗體製劑的方法

另一方面，本公司提供產生包含 100mg/mL 或更高的 MASP-2 抑制性抗體的製劑的方法，該方法包括：(a) 提供包含純化的 OMS646 的第一藥物製劑，所述第一藥物製劑具有第一製劑，且包含不超過 50mg/mL 的 OMS646 蛋白質；(b) 對第一藥物製劑進行過濾，從而產生第二藥物製劑，其中第二藥物製劑由於過濾而具有第二製劑；和(c) 濃縮第二藥物製劑以產生包含 100mg/mL 或更高的 OMS646 的濃縮抗體溶液。配製的本體溶液通常設定在固定的蛋白質濃度，以使所需的填充體積可以保持恒定。液體藥物產品製造過程通常包括將 MASP-2 抑制性抗體與緩衝系統、賦形劑和任選的表面活性劑混合，然後無菌過濾並填充在小瓶(或其他容器，例如注射器)中和密封(例如，加塞，加蓋等)。

表 1：示例製劑 1

加入到注射用水的組分(USP)	濃度
OMS646 抗體	185 mg/mL
檸檬酸鈉	20 mM
L-精氨酸HCL	200 mM
聚山梨醇酯80	0.01%

表 2：示例製劑 2

加入到注射用水的組分(USP)	濃度
OMS646 抗體	185 mg/mL
L-組氨酸	20 mM
L-精氨酸HCL	200 mM
聚山梨醇酯 80	0.01%

治療方法

在另一方面，本公司提供治療患有 MASP-2 依賴性補體相關疾病或病症或有發展 MASP-2 依賴性補體相關疾病或病症風險的患者的方法，包括施用包含如本文所公開的 MASP-2 抑制性抗體(例如，OMS646)的高濃度低黏度製劑。

如美國專利號 7,919,094；美國專利號 8,840,893；美國專利號 8,652,477；美國專利號 8,951,522，美國專利號 9,011,860，美國專利號 9,644,035，美國專利申請公開號 US2013/0344073，US2013/0266560，US 2015/0166675，US2017/0137537，US2017/0189525和共同未決的美國專利申請序號 15/476,154，15/347,434，15/470,647，62/315,857，62/275,025 和 62/527,926(其各自轉讓給本申請的受讓人 Omeros Corporation，其各自在此通過引用結合)中所述，暗示 MASP-2 依賴性補體啟動有助於許多急性和慢性疾病狀態的發病機理。例如，如美國專利號 8,951,522 中所述，補體系統的主要功能(先天免疫系統的一部分)是保護宿主免受感染因數，然而，補體系統的不適當或過度啟動可導致嚴重疾病，例如血栓性微血管病(TMA，包括 aHUS，TTP 和 HUS)，其中微血管中的內皮損傷以及富含纖維蛋白和血小板的血栓導致器官損傷。凝集素途徑在啟動內皮細胞應激或損傷的環境中的補體，和阻止 MASP-2 的啟動中起主導作用且凝集素途徑終止導致膜攻擊複合物形成、血小板啟動和白細胞募集的連續酶促反應。如美國專利號 8,652,477 中所述，除了啟動凝集素途徑

之外，MASP-2還可以啟動凝血系統且能夠將凝血酶原裂解成凝血酶。

如實施例1和美國專利號9,011,860中所述，OMS646是凝集素依賴性補體啟動的有效抑制劑。該抗體與其他補體途徑絲氨酸蛋白酶C1r，C1s，MASP-1和MASP-3沒有顯示顯著的結合(至多為其親和力的1/5000)，且不抑制經典途徑依賴性補體啟動。

因此，在一些實施方案中，該方法包括向患有MASP-2依賴性補體相關疾病或病症或有發展MASP-2依賴性補體相關疾病或病症的風險的患者施用一定量的本文公開的任何高濃度、低黏度MASP-2抑制性抗體製劑，其量足以抑制所述哺乳動物受試者中MASP-2依賴性補體啟動，從而治療所述疾病或病症。在一些實施方案中，可以使用本文所述的任何試劑盒或預先填充容器(例如，預先填充注射器或小瓶)進行所述方法。在一些實施方案中，該方法可以進一步包括，在將製劑施用到患者之前，確定患者患有凝集素補體相關的疾病或病症。在一些實施方案中，該方法還包括施用組織滲透性調節劑(例如，透明質酸酶)，其在腸胃外施用後增加MASP-2抑制性抗體的吸收或分散。組織滲透性調節劑可以與MASP-2抑制性抗體製劑共同施用或順序施用(例如，在相同注射部位或附近施用MASP-2抑制性抗體製劑的5分鐘內)。

在一些實施方案中，該方法包括從含有包含MASP-2抑制性抗體(例如，OMS646)的高濃度低黏度製劑的第一

預先填充注射器注射有此需要的受試者以抑制MASP-2依賴性補體啟動。在一些實施方案中，該方法還包括從含有組織滲透性調節劑的第二預先填充注射器注射受試者，其中注射在MASP-2抑制性抗體的注射部位處或附近。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是血栓性微血管病(TMA)，包括血栓性血小板減少性紫癜(TTP)，難治性TTP，Upshaw-Schulman綜合症(USS)，溶血性尿毒癥綜合症(HUS)，非典型溶血綜合症(aHUS)，非因數H依賴性非典型溶血綜合症，繼發於感染的aHUS，抗血漿治療的aHUS，繼發於癌症的TMA，繼發於化療的TMA，繼發於移植的TMA或與造血幹細胞移植相關的TMA。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是腎病，包括但不限於，系膜增生性腎小球腎炎，膜性腎小球腎炎，膜增生性腎小球腎炎(腎小球膜毛細血管腎小球腎炎)，急性感染後腎小球腎炎(鏈球菌感染後腎小球腎炎)，C3腎小球病，冷球蛋白血症性腎小球腎炎，少免疫性壞死性新月體性腎小球腎炎，狼瘡性腎炎，Henoch-Schonlein紫癜性腎炎和IgA腎病。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是患有或有發展慢性腎病，慢性腎衰竭，腎小球疾病(例如，局灶性節段性腎小球硬化)的風險的受試者中的腎纖維化(例如，腎小管間質纖維化)和/或蛋白尿，免疫複合物病症(例如，IgA腎病，膜性腎病)，狼瘡性腎炎，腎病

綜合症，糖尿病性腎病，腎小管間質損傷和腎小球腎炎(例如，C3腎小球病)，或與蛋白尿相關的疾病或病症，包括但不限於腎病綜合症，先兆子癇，子癇，腎臟的毒性損害，澱粉樣變性，膠原血管疾病(例如，系統性紅斑狼瘡)，脫水，腎小球疾病(例如，膜性腎小球腎炎，局灶節段性腎小球腎炎，C3腎小球病，微小病變疾病，脂質性腎病)，劇烈運動，應力，良性直立位(姿勢)蛋白尿，局灶性節段性腎小球硬化，IgA腎病(即，貝格爾氏病)，IgM腎病，膜增生性腎小球腎炎，膜性腎病，微小病變疾病，肉樣瘤病，Alport綜合症，糖尿病(糖尿病性腎病)，藥物誘導的毒性(例如，NSAIDS，尼古丁，青黴胺，碳酸鋰，金和其他重金屬，ACE抑制劑，抗生素(如阿黴素)或阿片類(如海洛因)或其他腎毒素)；法布裡病，感染(如HIV，梅毒，甲型、乙型或丙型肝炎，後鏈球菌感染，尿血吸蟲病)；氨基酸尿，Fanconi綜合症，高血壓性腎硬化，間質性腎炎，鐮狀細胞病，血紅蛋白尿，多發性骨髓瘤，肌紅蛋白尿，器官排斥(例如，腎移植排斥)，埃博拉出血熱，指甲齶骨綜合症，家族性地中海熱，HELLP綜合症，系統性紅斑狼瘡，Wegener肉芽腫病，類風濕性關節炎，1型糖原貯積病，Goodpasture綜合症，Henoch-Schönlein紫癜，已經擴散到腎臟的尿路感染，Sjögren綜合症和感染後腎小球腎炎。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是由組織或實體器官移植引起的炎性反應，包括但不限

限於整個器官(例如，腎，心臟，肝臟，胰腺，肺，角膜等)或組織移植植物(例如，瓣膜，肌腱，骨髓等))的同種異體移植或異種移植。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關病症是缺血再灌注損傷(I/R)，包括但不限於心肌I/R，胃腸I/R，腎I/R和主動脈瘤修復後的I/R，與心肺分流術相關的I/R，腦I/R，中風，器官移植或切斷或受創傷的肢體或手指的重新連接；移植物和/或再植物(replant)的血管重建，以及休克和/或外科手術後的血液動力學復蘇。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是與非肥胖糖尿病(1型糖尿病或胰島素依賴性糖尿病)相關的併發症和/或與1型或2型(成人發病)糖尿病相關的併發症，包括但不限於糖尿病性血管病、糖尿病性神經病、糖尿病性視網膜病或糖尿病性黃斑水腫。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是心血管疾病或病症，包括但不限於Henoch-Schonlein紫癜性腎炎，系統性紅斑狼瘡相關性血管炎，與類風濕性關節炎相關的血管炎(也稱為惡性類風濕病關節炎)，免疫複合性血管炎和Takayasu病；擴張型心肌病；糖尿病血管病；川崎病(動脈炎)；靜脈氣栓(VGE)；和支架置入、旋磨術(rotational atherectomy)和/或經皮冠狀動脈腔內血管成形術(PTCA)後抑制再狹窄。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是炎性胃腸病症，包括但不限於胰腺炎，憩室炎和腸

病，包括克羅恩病，潰瘍性結腸炎，腸易激綜合症和炎性腸病(IBD)。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是肺病，包括但不限於急性呼吸窘迫綜合症，輸血相關急性肺損傷，缺血/再灌注急性肺損傷，慢性阻塞性肺病，哮喘，韋格納肉芽腫病，抗腎小球基底膜疾病(Goodpasture病)，胎糞吸入綜合症，吸入性肺炎，閉塞性細支氣管炎綜合症，特發性肺纖維化，繼發於燒傷的急性肺損傷，非心源性肺水腫，輸血相關呼吸抑制和肺氣腫。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是體外暴露引發的炎症反應，且該方法包括治療經歷體外迴圈程式的受試者，所述體外迴圈程式包括但不限於血液透析，血漿去除術，白細胞去除術，體外膜氧合(ECMO)，肝素誘導的體外膜氧合 LDL沉澱(HELP)和心肺分流術(CPB)。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是炎性或非炎性關節炎(arthritis)和其他肌肉骨骼病症，包括但不限於骨關節炎，類風濕性關節炎，幼年類風濕性關節炎，痛風，神經性關節病，銀屑病關節炎，強直性脊柱炎或其他脊柱關節病和結晶性關節病，肌營養不良症和系統性紅斑狼瘡(SLE)。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是皮膚病，包括但不限於銀屑病，自身免疫性大皰性皮膚病，嗜酸細胞性海綿樣水腫，大皰性類天皰瘡，獲得

性大皰性表皮松解症，特應性皮炎，妊娠期皰疹和其他皮膚病，以及用於治療熱和化學燒傷，包括由此引起的毛細血管滲漏。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是外周神經系統(PNS)和/或中樞神經系統(CNS)病症或損傷，包括但不限於多發性硬化(MS)，重症肌無力(MG)，Huntington病(HD)，肌萎縮側索硬化症(ALS)，格林巴厘綜合症，中風後再灌注，退行性椎間盤，腦外傷，帕金森病(PD)，阿爾茨海默病(AD)，米勒費舍爾綜合症，腦外傷和/或出血，創傷性腦損傷，脫髓鞘和腦膜炎。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是敗血症或由敗血症引起的病症，包括但不限於嚴重敗血症，敗血症性休克，由敗血症引起的急性呼吸窘迫綜合症，溶血性貧血，全身性炎症反應綜合症，或失血性休克。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是泌尿生殖系統病症，包括但不限於疼痛性膀胱疾病，感覺性膀胱疾病，慢性非細菌性膀胱炎和間質性膀胱炎，男性和女性不育，胎盤功能障礙和流產和先兆子癇。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是用化療和/或放射療法治療的受試者中的炎性反應，包括但不限於癌症病症的治療。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是血管生成依賴性癌症，包括但不限於實體瘤，血源

性腫瘤，高風險類癌和腫瘤轉移。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是血管生成依賴性良性腫瘤，包括但不限於血管瘤，聽神經瘤，神經纖維瘤，沙眼，類癌瘤和化膿性肉芽腫。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是內分泌病症，包括但不限於橋本氏甲狀腺炎，壓力，焦慮和涉及調節釋放催乳素、生長或胰島素樣生長因數的其他潛在激素病症，和來自垂體的促腎上腺皮質激素。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是眼科疾病或病症，包括但不限於年齡相關性黃斑變性、青光眼和眼內炎。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是眼部血管生成疾病或病症，包括但不限於年齡相關性黃斑變性，葡萄膜炎，眼黑素瘤，角膜新血管形成，原發性翼狀胬肉，HSV基質角膜炎，HSV-1誘導的角膜淋巴管生成，增殖性糖尿病性視網膜病變，糖尿病性黃斑水腫，早產兒視網膜病變，視網膜靜脈阻塞，角膜移植排斥，新生血管性青光眼，繼發于增生性糖尿病視網膜病變的玻璃體出血，視神經脊髓炎和發紅症。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症是彌散性血管內凝血(DIC)或其他補體介導的凝血障礙，包括繼發於敗血症的DIC，嚴重創傷，包括神經損傷(例如，急性頭部損傷，見Kumura等，Acta

Neurochirurgica 85 : 23-28(1987)，感染(細菌，病毒，真菌，寄生蟲)，癌症，產科併發症，肝臟疾病，嚴重毒性反應(如蛇咬，昆蟲叮咬，輸血反應)，休克，中暑，移植排斥，血管動脈瘤，肝衰竭，化療或放射療法的癌症治療，燒傷或意外輻射暴露。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症選自急性放射綜合症，緻密沉積病，德戈斯病，災難性抗磷脂綜合症(CAPS)，白塞病，冷球蛋白血症；陣發性睡眠性血紅蛋白尿(“PNH”)和冷凝集素疾病。

在一些實施方案中，MASP-2依賴性補體相關疾病或病症選自aHUS，HSCT-TMA，IgAN和狼瘡性腎炎(LN)。

非典型溶血性尿毒癥綜合症(aHUS)

非典型溶血性尿毒癥綜合症(aHUS)是稱為“血栓性微血管病變”的一組病症的一部分。在非典型形式的HUS(aHUS)中，該疾病與補體調節缺陷有關，且可以是散發性或家族性的。家族性aHUS病例與編碼補體啟動或補體調節蛋白的基因突變相關，包括補體因數H，因數I，因數B，膜輔因數CD46以及補體因數H相關蛋白1(CFHR1)和補體因數H相關蛋白3(CFHR3)。(Zipfel, P.F.等，*PLoS Genetics* 3(3) : e41(2007))。與aHUS相關的該各種各種的基因突變的統一特點是增強細胞或組織表面上的補體啟動的傾向。受試者在至少一種或多種指示aHUS的症狀(例如，貧血、血小板減少和/或腎功能不全的存在)出現時和/

或血栓性微血管病在由受試者獲得的活檢中存在時有發展 aHUS 的風險。確定受試者是否有發展 aHUS 的風險包括確定受試者是否具有發展 aHUS 的遺傳傾向，這可以通過評估遺傳信息(例如來自包含受試者基因型的資料庫)或對受試者進行至少一次遺傳篩選測試來進行，以經由基因組測序或基因特異性分析(例如 PCR 分析)確定是否存在與 aHUS 相關的遺傳標記(即，確定與編碼補體因數 H(CFH)，因數 I(CFI)，因數 B(CFB)，膜輔因數 CD46，C3，補體因數 H 相關蛋白 1(CFHR1)或 THBD(編碼抗凝血蛋白血栓調節蛋白(thrombodulin))或補體因數 H 相關蛋白 3(CFHR3)或補體因數 H 相關蛋白 4(CFHR4)的基因中的 aHUS 相關的基因突變的存在與否)，和/或確定受試者是否具有 aHUS 的家族史。與 aHUS 相關的遺傳突變的存在或不存在的遺傳篩選方法已經很好地建立，例如，參見 Noris M 等。“Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome,” 2007 Nov 16 [Updated 2011 Mar 10]. In : Pagon RA, Bird TD, Dolan CR 等，editors. GeneReviewsTM，Seattle(WA)：University of Washington，Seattle。

如 US2015/0166675 中所述，在血栓性微血管病(TMA)的人離體實驗模型中，OMS646 在急性期和緩解期二者中在暴露于來自 aHUS 患者的血清樣品的微血管內皮細胞上抑制補體啟動和血栓形成。如 US2017/0137537 中進一步描述，在開放標記的 2 期臨床試驗中獲得的資料(靜脈內施用 2-4 mg/kg MASP-2 抑制性抗體 OMS646，每週一次，連續 4

周)，在患有 aHUS 的患者用 OMS646 治療顯示功效。中劑量和高劑量組中的所有三名 aHUS 患者(中劑量中的兩個和高劑量組中的一個)的血小板計數恢復正常，平均值從基線顯著增加約 68,000 個血小板/mL($p=0.0055$)。

造血幹細胞移植相關 TMA(HSCT-TMA)

造血幹細胞移植相關 TMA(HSCT-TMA)是一種由內皮損傷引發的危及生命的併發症。腎臟是最常受影響的器官，儘管 HSCT-TMA 可能是一種多系統疾病，其也涉及肺、腸、心臟和大腦。甚至輕度 TMA 的發生與長期腎損害有關。基於不同的診斷標準和調節以及移植植物抗宿主病預防方案，異基因後 HSCT 相關 TMA 的發生頻率不同，且鈣依賴磷酸酶抑制劑是涉及的最常見的藥物(Ho VT 等，Biol Blood Marrow Transplant, 11(8) : 571-5, 2005)。

如 US2017/0137537 中所述，在 2 期臨床試驗中(靜脈內施用 4 mg/kg MASP-2 抑制性抗體 OMS646，每週一次，連續 4 至 8 周)，用 OMS646 治療改善患有 HSCT-TMA 的患者的 TMA 標誌物，包括 LDH 和觸珠蛋白水準的統計學顯著改善。用 OMS646 治療的 HSCT-TMA 患者代表一些最難治療的患者，從而證明 OMS646 對患有 HSCT-TMA 的患者的治療效果的臨床證據。

免疫球蛋白 A 腎病(IgAN)

免疫球蛋白 A 腎病(IgAN)是一種自身免疫性腎病，導

致腎內炎症和腎損傷。IgAN是全球最常見的原發性腎小球疾病。年發病率約為每10萬人2.5例，據估計，美國每1400人中就有1人會患IgAN。多達40%的IgAN患者會發展為終末期腎病(ESRD)。患者通常表現為具有輕度至中度蛋白尿和不同水準的腎功能不全的顯微鏡血尿(Wyatt R.J.等，N Engl J Med 368(25)：2402-14，2013)。臨床標誌物如腎功能受損，持續性高血壓和重度蛋白尿(每天超過1g)與預後不良有關(Goto M等，Nephrol Dial Transplant 24(10)：3068-74，2009；Berthoux F. et al.，J Am Soc Nephrol 22(4)：752-61，2011)。在多項大型觀察性研究和前瞻性試驗中，蛋白尿是獨立於其他危險因素的最強預後因素(Coppo R.等，J Nephrol 18(5)：503-12，2005；Reich H. N.等，J Am Soc Nephrol 18(12)：3177-83，2007)。據估計，如果不進行治療，15-20%的患者在疾病發作的10年內達到ESRD(D'Amico G.，Am J Kidney Dis 36(2)：227-37，2000)。IgAN的診斷標誌是在腎小球系膜中IgA沉積物占主導，單獨或與IgG、IgM或二者一起。

如US2017/0189525中所述，在2期開放標籤腎試驗中(靜脈內施用4mg/kg MASP-2抑制性抗體OMS646，每週一次，連續12周)，用OMS646治療的IgA腎病患者表現出在整個試驗中尿白蛋白與肌酐比率(uACR)的臨床有意義的和統計學顯著的降低以及從基線到治療結束時24小時尿蛋白水準的降低。

狼瘡性腎炎(LN)

系統性紅斑狼瘡(SLE)的主要併發症是腎炎，也稱為狼瘡性腎炎，其被歸類為腎小球腎炎的繼發形式。高達60%的SLE成年人在疾病過程後期具有某種形式的腎臟受累(Koda-Kimble等，Koda-Kimble and Young's Applied Therapeutics : the clinical use of drugs，第10版，Lippincott Williams & Wilkins：第792-9頁，2012)，且在美國每10萬人患病率為20-70個。狼瘡性腎炎通常在患者中出現活動性SLE的其他症狀，包括疲勞，發燒，皮疹，關節炎，漿膜炎或中樞神經系統疾病(Pisetsky DS等，Med Clin North Am 81(1)：113-28，1997)。一些患者具有無症狀的狼瘡性腎炎；然而，在定期隨訪期間，實驗室異常如血清肌酐水準升高，低白蛋白水準或尿蛋白或沉澱物表明活動性狼瘡性腎炎。

如美國專利申請號15/470,647中所述，在2期開放標籤腎試驗中(靜脈內施用4mg/kg MASP-2抑制性抗體OMS646，每週一次，連續12周)，用抗MASP-2抗體治療的5個狼瘡性腎炎(LN)患者中的4個表明從基線到治療結束時24小時尿蛋白水準的臨床意義降低。

施用

本文所述的高濃度低黏度MASP-2抑制性抗體製劑可以使用本領域已知的方法施用到需要治療的受試者，例如以合適的方式在一段時間內通過單次或多次注射或輸注，

例如通過皮下、靜脈內、腹膜內、肌內注射或輸注。如本文所述，腸胃外製劑可以以劑量單位形式製備以便於施用和劑量均勻。如本文所用，術語“單位劑型”是指適合作為待治療受試者的單位劑量的物理上離散的單位；每個單位含有預定量的活性化合物，經計算可與所選的藥物水溶液聯合產生所需的治療效果。

為了預防或治療疾病，MASP-2抑制性抗體的合適劑量將取決於待治療的疾病類型、疾病的嚴重性和進程。抗體適合地以一次或在一系列治療中施用到患者。根據疾病的類型和嚴重性，MASP-2抑制性抗體可以固定劑量或毫克/千克(mg/kg)劑量施用。本文描述的製劑中包含的MASP-2抑制性抗體的示例性劑量包括例如約0.05mg/kg至約20mg/kg，例如約1mg/kg，2mg/kg，3mg/kg，4mg/kg，5mg/kg，6mg/kg，7mg/kg，8mg/kg，9mg/kg，10mg/kg，11mg/kg，12mg/kg，13mg/kg，14mg/kg，15mg/kg，16mg/kg，17mg/kg，18mg/kg，19mg/kg或20mg/kg，其可每日，每週兩次，每週一次，每兩周或每月施用。

MASP-2抑制性抗體的示例性固定劑量，例如本文所述的製劑包括，例如，約10mg至約1000mg，例如約50mg至約750mg，例如約100mg至約500mg，例如約200mg至約400mg，例如約200mg，約225mg，約250mg，約275mg，約300mg，約325mg，約350mg，約375mg或約400mg，其可每日，每週兩次，每週一次，每兩周或每月施用。

關於製劑的遞送體積，基於以對患者耐受和對患者具

有治療價值的劑量和體積提供抗體來確定用於治療應用的製劑中抗體的濃度。對於通過注射施用的治療性抗體製劑，抗體濃度將取決於注射體積(通常為0.5mL至3mL)。基於抗體的療法可能需要每天，每週，每月或每幾個月給藥數mg/kg。因此，如果以1mg/kg至5mg/kg(例如，1mg/kg，2mg/kg，3mg/kg，4mg/kg或5mg/kg)患者體重提供MASP-2抑制性抗體，且平均患者體重為75kg，那麼將需要以0.5mL至3.0mL的注射體積遞送75mg至375mg的抗體。或者，製劑以適合於每次治療在多於一個注射部位遞送的濃度提供。

在其中製劑中OMS646抗體的濃度為約185mg/mL的一個優選的實施方案中，對於1mg/kg至5mg/kg患者體重的劑量(假設75kg)，製劑將以約0.40mL至約2.0mL注射體積皮下遞送。

如本文所述，本公開的製劑適用於靜脈內(i.v.)給藥和皮下(s.c.)施用二者。

根據疾病的類型和嚴重性，MASP-2抑制性抗體可以以固定劑量或以毫克/千克(mg/kg)劑量靜脈內施用。本文所述製劑中包含的MASP-2抑制性抗體的示例性劑量可通過在施用前用藥學上可接受的稀釋劑稀釋適當量的本文所述的高濃度製劑來靜脈內遞送，使得施用MASP-2抑制性抗體到人受試者，劑量為例如約0.05mg/kg至約20mg/kg，例如約1mg/kg，2mg/kg，3mg/kg，4mg/kg，5mg/kg，6mg/kg，7mg/kg，8mg/kg，9mg/kg，10mg/kg，

11mg/kg，12mg/kg，13mg/kg，14mg/kg，15mg/kg，16mg/kg，17mg/kg，18mg/kg，19mg/kg或20mg/kg，其可每日，每週兩次，每週一次，每兩周或每月施用。

MASP-2抑制性抗體也可以在施用前通過用藥學上可接受的稀釋劑稀釋適當量的本文所述的高濃度製劑以固定劑量靜脈內遞送，使得 MASP-2抑制性抗體施用到人受試者，劑量為約 10mg 至 約 1000mg，例如 約 50mg 至 約 750mg，例如 約 100mg 至 約 500mg，例如 約 200mg 至 約 400mg，例如 約 200mg，約 225mg，約 250mg，約 275mg，約 300mg，例如 約 300mg 至 約 400mg，例如 約 310mg，約 320mg，約 325mg，約 330mg，約 340mg，約 350mg，約 360mg，約 370mg，約 375mg，約 380mg，約 390mg 或 約 400mg，其可每日，每週兩次，每週一次，每兩周或每月施用。

在一些實施方案中，在全身(例如，靜脈內)遞送之前，將包含 MASP-2抑制性抗體的製劑稀釋到藥學上可接受的稀釋劑中。可以使用的示例性稀釋劑包括注射用水，5%葡萄糖，0.9%鹽水，林格氏溶液和適合於靜脈內遞送的其它藥學上可接受的稀釋劑。雖然決不是限制性的，靜脈內施用以治療患有 MASP-2依賴性補體疾病或病症的受試者的 MASP-2抑制性抗體的示例性劑量包括例如約 0.05mg/kg 至 約 20mg/kg，例如 約 1mg/kg，2mg/kg，3mg/kg，4mg/kg，5mg/kg，6mg/kg，7mg/kg，8mg/kg，9mg/kg，10mg/kg，11mg/kg，12mg/kg，13mg/kg，

14mg/kg，15mg/kg，16mg/kg，17mg/kg，18mg/kg，19mg/kg或20mg/kg，其可每日，每週兩次，每週一次，每兩周或每月施用。靜脈內遞送以治療患有MASP-2依賴性補體疾病或病症的受試者的MASP-2抑制性抗體的示例性固定劑量包括例如約10mg至約1000mg，例如約50mg至約750mg，例如約100mg至約500mg，例如約200mg至約400mg，例如約200mg，約225mg，約250mg，約275mg，約300mg，約325mg，約350mg，約375mg，或約400mg，其可每日，每週兩次，每週一次，每兩周或每月施用。

在一些實施方案中，將製劑稀釋到藥學上可接受的稀釋劑中，並以初始i.v.負荷劑量(例如，約300mg至約750mg，例如約400mg至約750mg，例如約300mg至約500mg，例如約300mg至約400mg，例如約300mg，約310mg，約320mg，約330mg，約340mg，約350mg，約360mg，約370mg，約380mg，約390mg，或約400mg)，然後以1mg/kg至5mg/kg體重的劑量，或約100mg至約400mg，例如約100mg，約150mg，約200mg，約250mg，約300mg，約350mg，或約400mg的固定劑量進行一次或多
次製劑的皮下注射施用到有需要的受試者。例如，在特定情況下，例如當患者在醫院或診所中且患有需要初始負荷劑量然後用皮下注射製劑維持給藥的急性病症(例如，aHUS)時，初始i.v.負荷劑量可以是優選的施用途徑。

實施例

在以下實施例中進一步說明本發明，這些實施例不應解釋為進一步的限制。本文中的所有文獻引用均明確地通過引用併入。

實施例 1

該實施例證明 OMS646(一種靶向人 MASP-2 的單克隆抗體)以高親和力結合到人 MASP-2 並阻斷凝集素途徑補體活性。

背景

如 WO2012/151481 中所述產生靶向人 MASP-2 的完全人單克隆抗體(如 SEQ ID NO : 1 所述)，稱為“OMS646”，其通過引用併入本文。OMS646 單克隆抗體包含如 SEQ ID NO : 2 中所示的重鏈可變區(VH)和如 SEQ ID NO : 3 中所示的輕鏈可變區(VL)。OMS646 包含與人 IgG4 重鏈和 λ 輕鏈恒定區融合的人源可變區，並作為二硫化物連接的糖基化四聚體分泌，所述四聚體由兩個相同的重鏈(具有顯示為 4 的氨基酸序列)和 2 個相同的 λ 輕鏈(具有 SEQ ID NO : 5 所示的氨基酸序列)組成。重鏈(SEQ ID NO : 4)的第 295 位的天冬醯胺殘基(N)是糖基化的，並用粗體和底線標出。

重鏈可變區

下麵給出 OMS646 的重鏈可變區(VH)序列。Kabat CDRs(31-35(H1), 50-65(H2) 和 95-107(H3))用粗體表示；

且 Chothia CDRs(26-32(H1) , 52-56(H2)和 95-101(H3))標有底線。

OMS646重鏈可變區(VH)(SEQ ID NO : 2)

QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSRGKMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSSDEKSYRTS
LKSRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARIRRGIDYWQGQTLVTVSS

輕鏈可變區

下麵給出 OMS646 的輕鏈可變區 (VL) 序列。Kabat CDRs(24-34(L1) ; 50-56(L2)和 89-97(L3)標有底線。無論是否由 Kabat 或 Chothia 系統編號，這些區域都是相同的。

OMS646輕鏈可變區(VL)(SEQ ID NO : 3)

QPVLTQPPSLSVSPGQTASITCSGEKLGDKYAYWYQQKPGQSPVLVMYQDKQRPSGIPERFSGS
NSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTKLTVL

OMS646重鏈IgG4突變的重鏈全長多肽(445aa)(SEQ ID NO : 4)

QVTLKESGPVLVKPTETLTLTCTVSGFSLSRGKMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSSDEKSYRTSLKSRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARIRRGIDYWQGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT
VWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSVVTPSSSLGTKTTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCCPAPEFLG
GPSVFLFFFPKDLMISRTPETCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKGKPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLGK

OMS646輕鏈全長多肽(212 aa)(SEQ ID NO : 5)

QPVLTQPPSLSVSPGQTASITCSGEKLGDKYAYWYQQKPGQSPVLVMYQDKQRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTAVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

如 WO2012/151481 中所述，OMS646 結合到 MASP-2 並選擇性地抑制凝集素途徑且基本上不抑制經典途徑(即，抑制凝集素途徑同時保持經典補體途徑完整)且還表現出至少一個或多個以下特徵：所述抗體以 10nM 或更低的 K_D

結合人 MASP-2，所述抗體結合 MASP-2 的 CCP1 結構域中的表位元，所述抗體在 1% 人血清中的體外測定中以 10 nM 或更低的 IC₅₀ 抑制 C3b 沉積，所述抗體在 90% 人血清中以 30 nM 或更低的 IC₅₀ 抑制 C3b 沉積，其中所述抗體是選自 Fv，Fab，Fab'，F(ab)₂ 和 F(ab')₂ 的抗體片段，其中所述抗體是單鏈分子，其中所述抗體是 IgG2 分子，其中所述抗體是 IgG1 分子，其中所述抗體是 IgG4 分子，其中 IgG4 分子包含 S228P 突變。

如 WO2012/151481 中所述，當與 C1s、C1r、MASP-1 或 MASP-3 相比時，確定 OMS646 與人 MASP-2 (SEQ ID NO : 1) 以 >5000 倍的選擇性緊密結合。如該實施例所示，OMS646 以高親和力特異性結合到人 MASP-2，並具有阻斷凝集素途徑補體活性的能力。

如上所示，OMS646 包含 (a) 重鏈可變區，其包含 (i) 包含來自 SEQ ID NO : 2 的 31-35 的氨基酸序列的 CDR-H1，ii) 包含來自 SEQ ID NO : 2 的 50-65 的氨基酸序列的 CDR-H2，和 iii) 包含來自 SEQ ID NO : 2 的 95-107 的氨基酸序列的 CDR-H3；和 (b) 輕鏈可變區，其包含：i) 包含來自 SEQ ID NO : 3 的 24-34 的氨基酸序列的 CDR-L1，ii) 包含來自 SEQ ID NO : 3 的 50-56 的氨基酸序列的 CDR-L2，和 iii) 包含來自 SEQ ID NO : 3 的 89-97 的氨基酸序列的 CDR-L3。

如在 WO2012/151481 中進一步描述，具有與 SEQ ID NO : 2 具有至少 95% 同一性的重鏈可變區和與 SEQ ID NO : 3 具有至少 95% 同一性的輕鏈可變區的 OMS646 的變

體，證明具有與 OMS646 類似的功能活性。WO2012/151481 中描述的 OMS646 變體包含 a) 重鏈可變區，其包含：SEQ ID NO : 2，或其包含與 SEQ ID NO : 2 具有至少 95% 同一性的氨基酸序列的變體，其中殘基 31 是 R，殘基 32 是 G，殘基 33 是 K，殘基 34 是 M，殘基 35 是 G，殘基 36 是 V，殘基 37 是 S，殘基 50 是 L，殘基 51 是 A，殘基 52 是 H，殘基 53 是 I，殘基 54 是 F，殘基 55 是 S，殘基 56 是 S，殘基 57 是 D，殘基 58 是 E，殘基 59 是 K，殘基 60 是 S，殘基 61 是 Y，殘基 62 是 R，殘基 63 是 T，殘基 64 是 S，殘基 65 是 L，殘基 66 是 K，殘基 67 是 S，殘基 95 是 Y，殘基 96 是 Y，殘基 97 是 C，殘基 98 是 A，殘基 99 是 R，殘基 100 是 I，殘基 101 是 R，殘基 102 是 R 或 A，殘基 103 是 G，殘基 104 是 G，殘基 105 是 I，殘基 106 是 D 且殘基 107 是 Y；和 b) 輕鏈可變區，其包含：SEQ ID NO : 3 或其包含與 SEQ ID NO : 3 具有至少 95% 同一性的氨基酸序列的變體，其中殘基 23 是 S，殘基 24 是 G，殘基 25 是 E 或 D，殘基 26 是 K，殘基 27 是 L，殘基 28 是 G，殘基 29 是 D，殘基 30 是 K，殘基 31 是 Y 或 F，殘基 32 是 A，殘基 33 是 Y，殘基 49 是 Q，殘基 50 是 D，殘基 51 是 K 或 N，殘基 52 是 Q 或 K，殘基 53 是 R，殘基 54 是 P，殘基 55 是 S，殘基 56 是 G，殘基 88 是 Q，殘基 89 是 A，殘基 90 是 W，殘基 91 是 D，殘基 92 是 S，殘基 93 是 S，殘基 94 是 T，殘基 95 是 A，殘基 96 是 V 且殘基 97 是 F。

1. OMS646 特異性阻斷末端補體組分的凝集素依賴性啟動

方法：

使用針對凝集素途徑、經典途徑和替代途徑的途徑特異性條件分析 OMS646 對膜攻擊複合物 (MAC) 沉積的影響。為此目的，按照製造商的說明使用 Wieslab Comp300 補體篩選試劑盒 (Wieslab, Lund, Sweden)。

結果：

圖 1A 圖示在不同量的人 MASP-2 抑制性抗體 (OMS646) 存在下凝集素途徑依賴性 MAC 沉積的量。圖 1B 圖示在人 MASP-2 抑制性抗體 (OMS646) 存在下經典途徑依賴性 MAC 沉積的量。圖 1C 圖示在不同量的人 MASP-2 抑制性抗體 (OMS646) 存在下替代途徑依賴性 MAC 沉積的量。如圖 1A 所示，OMS646 阻斷 MAC 沉積的凝集素途徑介導的啟動， IC_{50} 值為約 1 nM。然而，OMS646 對由經典途徑介導的啟動 (圖 1B) 或由替代途徑介導的啟動 (圖 1C) 產生的 MAC 沉積沒有影響。

實施例 2

OMS646 預配製研究

背景/基本原理：

通過考慮幾種因素來確定黏度降低的蛋白質製劑的組成，所述因素包括但不限於：蛋白質的性質，蛋白質的濃度，所需的 pH 範圍，蛋白質製劑儲存的溫度，蛋白質製劑儲存的時間段，以及如何將製劑施用到患者。對於通過注射施用的黏度降低的製劑，蛋白質濃度取決於注射體積

(通常為 1.0mL至 2.25mL)。如果以 2至 4mg/kg體重患者提供蛋白質，且平均患者體重為 75kg，則需要以 1.0mL至 1.62mL注射體積遞送 150mg至 300mg的蛋白質。理想地，黏度保持低於約 25cP以確保實際可注入的皮下治療產品。在一些實施方案中，黏度維持低於約 20cP以允許用注射設備遞送治療產品，且還允許各種類型的生物加工，例如切向流過濾。

這些研究的主要目的是確定製劑組分，使 OMS646抗體在液體製劑中具有最佳的化學、物理和結構穩定性，從而得到黏度小於 25 cP，如小於 20 cP的穩定製劑，具有高濃度的 OMS646(100mg/mL或更高)，適合於皮下注射到人受試者中。

分析方法：

為了測試各種緩衝液和賦形劑組合，將純化的 OMS646抗體製劑(102mg/mL，在 20mM乙酸鈉，50mg/mL山梨糖醇中，pH 5.0)在選定的製劑溶液中稀釋至約 1mg/mL，並將 4mL體積置於用適當緩衝液預先沖洗的濃縮器中。將每個單元以 3200×g旋轉至約 1mL。重複該過程共進行三輪緩衝液交換。

針對水使用 Eisai Machinery Observation Lamp，Model MIH-DX，使用白色和黑色背景評估製劑外觀。測試每種製劑樣品的顏色、透明度(乳白色)和粒子物質的存在。

使用 $1.49 \text{ mL/mg}^* \text{cm}$ 的消光係數測定 OMS646製劑的蛋

白質含量。使用一次性 UVettes 和 0.2 cm 的路徑長度測量 280 nm 處的吸光度並校正 320 nm 處的吸光度。通過用 1x Dulbecco 磷酸鹽緩衝鹽水 (DPBS) 稀釋至最終濃度約 2 mg/mL，一式兩份製備樣品。對於高濃度樣品，首先將純溶液在製劑緩衝液中 1:1 稀釋，且然後在 1x DPBS 中稀釋至約 2 mg/mL。對每個樣品的重複測量進行平均，並計算百分比相對標準差 (RSD)。對於顯示 >5% RSD 的任何重複樣品，製備並測量另外的稀釋組。

蛋白質濃度計算如下：

$$\text{校正的 A280} = \text{A280} - \text{A320}$$

$$\text{蛋白質濃度 (mg/mL)} = (\text{校正的 A280} * \text{稀釋因數}) / 1.49 \text{ mL} / \text{mg} * \text{cm}$$

為了評估樣品濁度/光散射，使用 1 cm 路徑長度在一次性 UVette 中在 320 nm 下測量 100 μL 未稀釋的樣品。對於每個樣品，用不存在蛋白質的適當緩衝液交換溶液對分光光度計進行空白化。在測量後，回收樣品並用於 pH 分析。為了使樣品濃度的濁度測量歸一化，還將 A320 除以濃度 (mg/mL)，並以 mAU * mL/mg 報告得到的值。

所有制劑和溶液的 pH 測量在室溫下使用具有自動溫度補償電極的校準的 SevenMulti Meter (Mettler Toledo) 進行。

通過差示掃描量熱法 (DSC) 監測 OMS646 製劑的熱穩定性。使用 MicroCal Capillary DSC 收集 mAb 的熔解溫度 (T_m) 資料。在適當的緩衝液交換溶液中將蛋白質樣品稀釋至約

2mg/ml的最終濃度。通過在1°C /分鐘或2°C /分鐘下從20-110°C掃描進行通過DSC的樣品評價。預掃描恒溫器設定為10分鐘，掃描後恒溫器設定為0分鐘，且迴圈後恒溫器設定為25°C。對於T_m資料分析，從緩衝液-樣品掃描中減去緩衝液-緩衝液掃描，且然後使用150kDa的分子量估計將熱分析圖歸一化為蛋白質濃度(摩爾)。生成漸進基線並從資料中減去以促進T_m確定。使用相關Origin®科學軟體的拾取峰函數(pick peaks function)確定熔解溫度。

動態光散射(DLS)測量樣品中粒子散射光強度隨時間的變化，其中Stokes Einstein方程用於計算溶液中粒子的流體動力學半徑。使用DynaPro™ Plate Reader II儀器(Wyatt)，用重複的未稀釋樣品(30-40μL)進行OMS646製劑的DLS實驗。在25°C下進行總共10次單獨掃描，採集時間為5秒。黏度設定為磷酸鹽緩衝鹽水的黏度，1.019cP。比較得到的強度分佈圖以通過強度(總直徑)、全域尺寸分佈寬度參數(總多分散性百分比，或%Pd)、OMS646單體的平均峰直徑(峰2直徑)和峰值寬度參數(峰2%Pd)評估各種製劑組分對平均細微性的影響。多分散性百分比(總體或峰2)是反映在強度分佈圖中檢測到的異質性的寬度參數，其中%Pd <20%指示近單分散溶液和/或物類構象。

使用AVIA Isothermal Chemical Denaturation System (Model 2304)評估針對化學變性的穩定性，其通過將恒定體積的配製蛋白質與製劑緩衝液和含有尿素的製劑緩衝液混合產生變性劑梯度，以自動方式測試環境條件下的化學

穩定性。簡言之，將配製的蛋白質在製劑緩衝液中稀釋至 0.33 mg/mL。對於給定的製劑，還製備含有 10M 尿素的第二製劑緩衝液。由於溶解度問題，對於含有蔗糖和山梨糖醇的製劑，製備 9M 尿素溶液。在一致的孵育時間(約 30 分鐘)後，測量每個數據點的內在蛋白質螢光(即色氨酸螢光)，其中蛋白質的化學解折疊導致埋藏的色氨酸暴露於溶劑中，伴隨著螢光信號的相關紅移。對於每種製劑，獲得總共 24 種尿素濃度的資料(對於 10M 尿素儲液為 0-9.0M，且對於 9M 尿素儲液為 0-8.1M)，且 Abs350/Abs330 的比率用於背景螢光變化的基線減去，且使用 2 狀態或 3 狀態模型採用與解折疊轉變資料擬合的非線性最小二乘法。

使用滾球黏度計或流變儀測定製劑的黏度。所有黏度測量均在 25°C 下在 0.5s^{-1} 至 1000s^{-1} 的剪切速率下進行。使用 Anton Paar AMVn 黏度計進行滾球測量。對於滾球黏度測量，在將毛細管傾斜到預定角度(80 度)之後測量金球在填充有樣品的毛細管中通過一段距離所花費的時間。將毛細管總共傾斜三次並將結果平均以確定最終動態黏度，該值不依賴於樣品密度。對於滾球測量，首先使用去離子水和甲醇清潔毛細管。通過測量 10cP、50cP 和 / 或 100cP Brookfield 黏度標準，確認儀器 / 毛細管的校準。在每次樣品測量之前和之間用去離子水和甲醇重新清洗毛細管。

使用 DV-III Ultra Programmable Rheometer 進行基於流變儀的黏度測量，該流變儀用 Brookfield Viscosity Standard Fluid # 10 和 # 50 校準。在各種錠速(剪切速率)下

測量 0.5mL 的每種樣品。對於所有剪切速率，顯示黏度 (cP) 讀數 < 10% RSD 的樣品在該範圍內被認為是牛頓的，而樣品是剪切速率依賴性的黏度，被認為是非牛頓的。

使用 Anton Paar DMA 4500M 密度計進行密度測量。簡言之，將儀器用去離子水沖洗數次，然後通過甲醇沖洗。在測量作為樣品的水的密度之前，對於空氣和水校準儀器。再次用水和甲醇洗滌儀器，並對從幾種製劑合併的約 175mg/mL 材料進行單個樣品測量。報告的值用作高濃度 OMS646 製劑的合理密度近似值，用於重量含量測量。

使用冰點降低滲透壓計 (Multi-Osmette Osmometer, Precision Systems model 2430) 進行摩爾滲透壓濃度測量，其測量溶質濃度增加時溶液冰點的降低。

液體粒子計數系統 (Hach Model 9703, Sensor Model : HRLD-150) 用於測定 OMS646 製劑樣品中的粒子尺寸和豐度。使用單個 500μL 樣品抽取 (200μL 皮重體積) 獲得樣品資料。簡言之，使儀器溫熱約 30 分鐘，且在使用前將注射器 (1mL) 和系統用去離子水沖洗至少 10 個迴圈。通過表明 25mL 去離子水含有不超過 25 個尺寸 $\geq 10\text{ }\mu\text{m}$ 的粒子來測試環境適應性。通過使用適當的通道尺寸分析 2、5、10 和 15μM 標準品的單個 500μL 抽取物 (draw)，確認系統適用性。如果檢測到的累積計數 /mL 落在標準品給出的規格內，則該系統被認為適合於樣品測試。在第一次樣品測量之前，用 1x 磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS) 沖洗系統一次，以確保樣品在與去離子水接觸時不會沉澱。使用單個 500μL 抽取

物分析樣品，且確定 $2\mu\text{m}$ ， $5\mu\text{m}$ ， $10\mu\text{m}$ 和 $25\mu\text{m}$ 通道的累積計數/ mL 至最接近的整數。

尺寸排阻層析(SEC)用於評估OMS646製劑中存在的聚集體和降解產物的量。簡言之，Agilent 1100 HPLC系統配有G3000SW \times 1 SEC柱(Tosoh， $7.8\times300\text{mm}$ ， $5\mu\text{m}$ 細微性)。將OMS646製劑樣品在SEC流動相(140mM 磷酸鉀， 75mM 氯化鉀， $\text{pH}7.0$)中稀釋至 2.5mg/mL ，並將 $20\mu\text{L}$ 樣品注入HPLC柱中。使用 0.4mL/min 的流速運行系統，且通過在 280nm (頻寬 4nm)處的吸收檢測洗脫的蛋白質，沒有參考校正。為了評估系統適用性，所有樣品都通過流動相空白和凝膠過濾標準注射分類(bracketed)，且在順序開始時將參考材料一式兩份注射。除單體百分比和總積分峰面積外，還測定單個和總高分子量(HMW)物類和低分子量(LMW)物類的百分比豐度。

使用SDS-MW分析試劑盒，用Beckman Coulter PA 800 Plus毛細管電泳系統和PDA檢測模組進行還原的SDS毛細管凝膠(SDS-CE)電泳分析。首先將樣品和參照物在SDS-MW樣品緩衝液中稀釋至 1.0mg/mL 。向 $95\mu\text{L}$ 該工作溶液中加入 $5\mu\text{L}$ β-巯基乙醇和 $2\mu\text{L}$ 內標(10kDa)。將所有樣品以 $300\times g$ 離心1分鐘，在 $70\pm2^\circ\text{C}$ 下加熱約10分鐘，並轉移至PCR小瓶並保持在 25°C 直至分析。通過在毛細管上施加 15kV (反極性)30分鐘並在入口和出口二者處施加 20.0psi 的壓力來進行分離。在 220nm 獲得資料，收集速率為 4Hz 。在每個序列的開始處將參考物(未加工的OMS646)注射兩

次。報告 LC、HC 和 IgG 百分比。

如針對還原的 CE-SDS 所述進行非還原的 SDS 毛細管凝膠電泳分析，不同之處在於使用新製備的 250mM 碘乙醯胺代替還原劑，並進行分離 35 分鐘。報告總電泳圖面積和 %IgG。

使用 WO2012/151481 中描述的重組方法產生純化的 OMS646 抗體製劑 (102mg/mL)，其通過引用併入本文。簡言之，在含有編碼 OMS646 的重鏈和輕鏈多肽的表達構建體的 CHO 細胞中產生 OMS646 抗體，並使用標準技術純化。

1. 候選緩衝系統的比較：

方法：

在預配製研究中，MASP-2 抑制性抗體 OMS646 的穩定性最初針對一組候選緩衝液進行評估，包括常用於治療性抗體製劑 (檸檬酸鹽，組氨酸，磷酸鹽) 的候選緩衝液，以及更多非常規緩衝液 (乙酸鹽，琥珀酸鹽) 以覆蓋廣泛的 pH 範圍 (pH 4.0-pH 8.0)。對於本研究，將蛋白質使用 Amicon Ultra-4 (10kDa MWCO) 濃縮器換成 20mM 琥珀酸鹽 (pH 4.0、5.0 和 5.5)，乙酸鹽 (pH 4.0、5.0 和 5.5)，檸檬酸鹽 (pH 5.0、6.0 和 7.0)，組氨酸 (pH 6.0 和 7.0) 和磷酸鹽 (pH 6.0、7.0 和 8.0) 緩衝液。將純化的 OMS646 抗體製劑 (102mg/mL，在 20mM 乙酸鈉，50mg/mL 山梨糖醇中，pH 5.0) 在 14 種製劑溶液的每一種中稀釋至約 1mg/mL，並將 4.0mL 體積置於用

適當的緩衝液預先沖洗的濃縮器中。將每個單元以 $3200 \times g$ 旋轉至約 1 mL。重複該過程共進行三輪緩衝液交換。在最後一輪濃縮期間，將蛋白質過濃縮至 <1 mL。在每個迴圈後記錄每種溶液的大致體積和離心時間。

結果：總體而言，五種緩衝液類型產生的資料在緩衝液交換速率、蛋白質含量回收率、差示掃描比色法(DSC)、動態光散射(DLS)和化學穩定性(資料未顯示)方面是可比較的。基於在 5.5-6.0 的 pH 範圍內的表觀總體最佳熱和構象 OMS646 性質選擇乙酸鹽、檸檬酸鹽和組氨酸用於進一步評估。主要由於優異的熱穩定性，在 pH 5.5 下選擇乙酸鹽而不是琥珀酸鹽，而基於 DLS 資料，在 pH 6.0 下選擇組氨酸和檸檬酸鹽而不是磷酸鹽。

2. 賦形劑篩選

使用在基線緩衝液篩選期間確定的緩衝系統(20 mM 乙酸鹽，pH 5.5；檸檬酸鹽，pH 6.0 和組氨酸，pH 6.0)，在具有報告的抗體穩定性質的各種賦形劑存在下評估 OMS646 的穩定性。對於本研究，使用 Amicon Ultra-4(10 kDa MWCO)濃縮器將 OMS646 緩衝液交換到含有 150 mM NaCl、250 mM 山梨糖醇、250 mM 蔗糖、150 mM L-精氨酸、150 mM L-谷氨酸或 250 mM L-脯氨酸的每種候選緩衝液中。如緩衝系統比較中所述進行樣品製備，其中目標蛋白質濃度為 2.0 mg/mL。

結果：

關於蛋白質回收率，估計的蛋白質回收率為約 72-106%，這表示在不存在賦形劑的情況下對回收率的適度改善。組氨酸緩衝液似乎對於大多數賦形劑是優選的，且乙酸鹽和檸檬酸鹽顯示混合的結果。

關於 DSC，觀察到檸檬酸鹽緩衝液導致所有測試的賦形劑的 OMS646 熱穩定化。圖 2A 圖示用於 OMS646 製劑賦形劑篩選的動態光散射(DLS)分析的結果，顯示對於含有各種候選賦形劑的製劑觀察到的總粒徑。圖 2B 圖示 OMS646 製劑賦形劑篩選的 DLS 分析結果，顯示對含有各種候選賦形劑的製劑觀察到的總多分散性。如圖 2A 和 2B 所示，關於 DLS，大多數製劑產生相當的結果。然而，對於所有緩衝系統，蔗糖與提高的多分散性和最大的總體和單體直徑相關。在蔗糖之後，山梨糖醇是 DLS 最不優選的，顯示更大的平均尺寸和增加的多分散性。剩餘的製劑通常可通過 DLS 比較，單體直徑為 10-12 nm(參見圖 2A)，且多分散性 <20%，表明單分散群體(參見圖 2B)。關於針對化學變性的穩定性，如使用 AVIA 等溫化學變性系統評估，清楚地觀察到緩衝液/pH 趨勢，其中對於所有測試的賦形劑，乙酸鹽 pH 5.5 製劑在比檸檬酸鹽和組氨酸 pH 6.0 製劑低約 0.5 M 的尿素濃度下變性。對於所有賦形劑，檸檬酸鹽和組氨酸相當。

總之，資料支援檸檬酸鹽在約 pH 6.0 下作為最佳緩衝液/pH 組合，將其繼續用於溶解度篩選研究。鑑於在所有

緩衝液類型中觀察到差的DLS資料，蔗糖被排除在進一步考慮之外。

3.溶解度/黏度篩選

第一黏度研究：

方法：

為了建立最大OMS646溶解度的條件，在NaCl、山梨糖醇、精氨酸、谷氨酸和脯氨酸的幾種等滲組合的存在下使用20mM檸檬酸鹽(pH5.0和6.0)和20mM琥珀酸鹽(pH4.0)。使用Amicon 15濃縮器單元在多個迴圈中對OMS646進行緩衝液交換，且在最終迴圈中，將每種溶液的體積減少至約1mL。記錄和分析所有制劑和交換迴圈的緩衝液交換速率。在緩衝液交換後，測量蛋白質含量，計算回收百分比並將樣品在5°C下儲存過夜。在儲存期間，觀察到琥珀酸鹽/谷氨酸鹽製劑沉澱且未進一步評估。將剩餘的製劑加入到Amicon 4濃縮器單元中並濃縮直至達到約200mg/mL的目標濃度，或直至離心不再導致體積減少和/或樣品黏度(經由樣品操作)被認為是難以控制的。

結果：

關於緩衝液交換速率，在pH 4.0樣品中清楚地觀察到最高的交換速率，其中琥珀酸鹽/山梨糖醇總體上顯示最快的交換速率。pH 5.0和6.0的交換速率是可比較的，其中僅含有帶電荷的氨基酸賦形劑的製劑顯示比其他製劑更高

的速率。在 pH6.0 下觀察到檸檬酸鹽/山梨糖醇製劑的最慢交換速率。該製劑是 pH \geq 5.0 的單獨樣品和不帶電荷的賦形劑組分。在假設交換速率是 OMS646 自我締合的替代指標的情況下，似乎帶電物類對於在更中性的 pH 下減輕這種行為是重要的。關於 DLS，所有高濃度製劑顯示相當的約 12 nm 的總直徑，不同之處在於琥珀酸鹽/精氨酸 pH4.0，其顯示在 >18 nM 下升高的整體尺寸分佈。

將緩衝液交換的樣品濃縮直至溶液由於高黏度而在物理上不可操作。對於兩種 pH4.0 製劑，實現超過 225 mg/mL 的最大濃度。對於 pH 值較高的製劑，最大 OMS646 蛋白質濃度範圍為 160.5 至 207.6 mg/mL。如上所述，使用具有 0.5s^{-1} 至 1000s^{-1} 的剪切速率的滾球黏度計評估大多數製劑的黏度。圖 3 圖示在 pH5.0 和 pH6.0 下測量的各種製劑中蛋白質濃度範圍內 OMS646 溶解度篩選的黏度分析結果。如圖 3 中所示，當針對蛋白質濃度作圖時，觀察到製劑的黏度呈指數增加，對於檸檬酸鹽/精氨酸/谷氨酸鹽 pH 5.0 記錄到最高黏度（對於 196.6 mg/mL 溶液為 161.1 cP）。在 pH 6.0 和相當的 OMS646 蛋白質濃度下，檸檬酸鹽/山梨糖醇製劑顯示比山梨糖醇/谷氨酸鹽或脯氨酸/谷氨酸鹽製劑高得多的黏度。在較高的蛋白質含量下，檸檬酸鹽/精氨酸/谷氨酸鹽 pH 6.0 製劑（95.3 mg/mL）顯示為檸檬酸鹽/NaCl pH 6.0 樣品（87.5 mg/mL）的黏度的約一半（5.8 相對於 9.3 cP），表明帶電荷氨基酸相對於離子賦形劑的重要性。

重要的是注意，在給定濃度（即 125 mg/mL）下，黏度隨

製劑的變化而顯著變化。理想地，黏度保持低於約 25cP 以確保實際可注入的皮下治療產品。在 OMS646 製劑的一些實施方案中，黏度保持低於約 20cP 以允許用注射設備遞送治療產品，且還允許各種類型的生物加工，例如切向流過濾。

第二黏度研究

為了降低 OMS646 製劑的黏度，且從而使給定製劑中的 OMS646 濃度最大化，進行另外的研究。基於初始結果，選擇最可能以高濃度產生黏度降低的製劑的製劑，即：琥珀酸鹽/山梨糖醇 pH 4.0 和含谷氨酸和精氨酸的檸檬酸鹽製劑 pH 6.0。基於先前的研究，帶電荷的氨基酸在中性 pH 下與幾種有益性質相關，包括提高的緩衝液交換速率，增加的樣品加工回收率和降低的黏度。在一系列濃度 (50mM 至 150mM) 下評估具有帶正電荷的側鏈的氨基酸 (例如精氨酸) 或具有帶負電荷的側鏈的氨基酸 (例如谷氨酸) 的影響，以測量賦形劑電荷和濃度對黏度的影響。最後， CaCl_2 用作等滲和高滲檸檬酸鹽/谷氨酸鹽溶液中的添加劑，這是由於其潛在的黏度降低性能，如美國專利號 7,390,786 中所述。

如上所述將樣品緩衝液交換並濃縮。在緩衝液交換後，計算所有制劑的蛋白質含量。例外是含有 50mM 谷氨酸和 50mM CaCl_2 的製劑，其在緩衝液交換後沉澱且未進一步評估。這可能部分是由於檸檬酸鹽和二價陽離子如 Ca^{2+}

的溶解度有限。

結果：

圖 4 圖示用各種候選製劑進行 OMS646 溶解度 / 黏度研究的緩衝液交換後蛋白質回收百分比。如圖 4 中所示，觀察到隨著精氨酸濃度增加而回收率增加的趨勢，其中 150 mM 精氨酸製劑在 85% 下顯示最高的蛋白質回收率。剩餘製劑的回收率是可比較的，且範圍為 64-75%。然後如上所述濃縮樣品直至它們變得手動不可操作。如上所述評估所有制劑的黏度，且結果顯示在下表 3 中。

表 3：來自預配製研究的黏度數據的總結

樣品	緩衝液	賦形劑	添加劑	pH	濃度 (mg/mL)	黏度 (cP)
100 cP 標準品(97.2 cP Claim)				-		97.1
50 cP 標準品(49.2 Claim)				-		49.1
S1	20 mM 琥珀酸鹽	250 mM 山梨糖醇	-	4.0	209.3	109.6
S2	20 mM 檸檬酸鹽	150 mM 精氨酸	-	6.0	181.2	70.5
S3	20 mM 檸檬酸鹽	100 mM 精氨酸	-	6.0	170.8	102.8
S4	20 mM 檸檬酸鹽	50 mM 精氨酸	-	6.0	158.3	140.1
S5	20 mM 檸檬酸鹽	150 mM 谷氨酸鹽	-	6.0	180.3	71.2
S6	20 mM 檸檬酸鹽	100 mM 谷氨酸鹽	-	6.0	170.7	74.6
S7	20 mM 檸檬酸鹽	50 mM 谷氨酸鹽	-	6.0	152.7	137.0
S8	20 mM 檸檬酸鹽	150 mM 谷氨酸鹽	50 mM CaCl ₂	6.0	202.8	73.4

如上表 3 中所示，所有制劑的黏度均 >70 cP，且儘管最終濃度範圍很寬，仍觀察到明顯的趨勢。從該初步資料可以看出，增加的精氨酸或谷氨酸濃度導致黏度降低。琥珀酸鹽 / 山梨糖醇製劑的黏度似乎與 150 mM 氨基酸製劑相當。包含 CaCl₂ 顯示黏度降低，其中該製劑的黏度與低 10%

的蛋白質含量的樣品相當。

選擇四種製劑(表3中所示的S1，S2，S5和S8)用於更詳細的黏度分析，其中回收的純樣品在25mg/mL的製劑緩衝液中遞增稀釋。圖5圖示用各種候選製劑進行的OMS646溶解度/黏度研究的黏度(如通過黏度數據的指數擬合確定)與蛋白質濃度的關係。黏度數據的指數擬合根據Connolly B.等，*Biophysical Journal* vol 103 : 69-78，2012中描述的方法測定。如圖5中所示，150mM谷氨酸鹽和精氨酸製劑顯示幾乎相同的曲線，其顯示每單位濃度最高黏度，25cP的黏度等於約150mg/mL OMS646。琥珀酸山梨糖醇製劑表現稍好，25cP對應於估計的約160mg/mL的OMS646含量。在含CaCl₂的製劑中觀察到最低的總黏度，其中25cP的估計含量為約175mg/mL。該分析最有趣的結果是包含150mM谷氨酸鹽和50mM CaCl₂的高滲製劑顯著降低樣品黏度。考慮到期望盡可能最高濃度的液體製劑，應用二價陽離子和高滲性以得到黏度降低繼續進入另外的黏度研究中。

第三黏度研究

基於來自上述初始黏度研究的結果，進行另外的研究以確定CaCl₂的表觀黏度降低性質是否與二價Ca²⁺或高滲性有關。由於對含精氨酸的製劑觀察到改善的緩衝液交換速率，進行從谷氨酸鹽到精氨酸的主要賦形劑的變化。由於Ca²⁺被檸檬酸鹽可能螯合(可能導致沉澱)，進行組氨酸

的摻入。樣品子集還評估 pH 和表面活性劑對樣品黏度的影響，以及 CaCl_2 和高滲性對琥珀酸鹽 / 山梨醇 pH 4.0 製劑的影響。如先前黏度研究所述，將樣品進行緩衝液交換和濃縮。使用如上所述的滾球儀器測量所有制劑的黏度。將黏度數據歸一化為 170 mg/mL 的樣品蛋白質濃度。這通過首先使用來自檸檬酸鹽 / 精氨酸 pH 6.0 製劑的先前計算的黏度 / 溶解度黏度數據的指數回歸 ($y = 0.0917 e^{0.0361x}$)，由測量的蛋白質含量計算理論黏度來進行。通過將 170 mg/mL (42.4 cP) 的檸檬酸鹽 / 精氨酸 pH 6.0 的理論黏度乘以測量的黏度 / 理論黏度來計算歸一化黏度 (參見表 4，註腳 b)。通過平滑濃度相關的可變性，得到的歸一化黏度表現出更清晰的趨勢 (參見表 4 和圖 6)。

表 4. OMS646(170mg/mL)製劑的黏度數據匯總

形式 #	緩衝液/pH	賦形劑	添加劑	PS- 80	黏度 (cP)	平均歸一化濃度 (mg/mL)	理論 黏度 (cP) ^a	近似歸一化 黏度，170 mg/mL(cP) ^b
100 cP標準品(97.2 cP Claim)				96.9			-	
1A	20 mM 檸檬酸鹽 pH 6.0	112.5 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	-	38.8	165.5	36.0	45.7
1B		112.5 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	0.05 %	41.7	168.5	40.2	44.0
2		150 mM精氨酸	-	-	20.8	155.7	25.3	34.9
3		150 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	-	20.1	157.0	26.5	32.2
4		200 mM精氨酸	-	-	22.3	169.1	41.0	23.1
5		225 mM精氨酸	-	-	20.2	169.0	40.9	20.9
6A	20 mM 檸檬酸鹽 pH 5.0	112.5 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	-	34.1	165.4	35.9	40.4
6B		112.5 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	0.05 %	31.0	170.0	42.4	31.1
7		150 mM精氨酸	-	-	22.1	158.9	28.4	33.0
8		150 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	-	17.4	153.9	23.7	31.1
9	20 mM 組氨酸 pH 6.0	75 mM精氨酸	50mM CaCl ₂	-	19.9	174.5	49.9	16.9
10A		112.5 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	-	27.9	169.6	41.8	28.4
10B		112.5 mM精氨酸	25mM CaCl ₂	0.05 %	28.1	184.6	71.8	16.6
11		135 mM精氨酸	10mM CaCl ₂	-	34.1	167.1	38.2	37.9
12		150 mM精氨酸	-	-	35.5	156.6	26.1	57.7
13		200 mM精氨酸	-	-	20.2	167.2	38.3	22.3
14		225 mM精氨酸	-	-	16.4	161.9	31.6	22.0
15		150 mM精氨酸	50mM CaCl ₂	-	15.9	164.9	35.2	19.1
16A	20 mM 琥珀酸鹽 pH 4.0	125 mM山梨糖醇	50mM CaCl ₂	-	19.5	172.7	46.7	17.7
16B		125 mM山梨糖醇	50mM CaCl ₂	0.05 %	18.1	168.7	40.4	19.0
17		250 mM山梨糖醇	50mM CaCl ₂	-	15.5	157.2	26.8	24.6
18		250 mM山梨糖醇	-	-	16.8	161.3	31.0	23.0

^a使用測量的含量檸檬酸鹽/精氨酸pH 6.0黏度曲線($y=0.0917^{e0.0361x}$)的回歸計算理論黏度^b理論黏度170mg/mL檸檬酸鹽/精氨酸pH 6.0(42.4 cP)*(測量黏度/理論黏度)

圖 6圖示基於來自表 4的資料，用各種候選OMS646製劑的黏度研究的濃度歸一化黏度數據。如圖6和表4所示，對於檸檬酸鹽和組氨酸製劑，歸一化資料集的檢查清楚地顯示高滲性導致樣品黏度降低，其中觀察到大部分影響，只有適度的精氨酸濃度增加。例如，與含有200和225 mM

精氨酸的組氨酸製劑的分別為 22.3 和 22.0 cP 的黏度相比，製劑 12 (20 mM 組氨酸與 150 mM 精氨酸) 的歸一化黏度為 57.7 cP。對檸檬酸鹽 / 精氨酸製劑觀察到類似的趨勢。 CaCl_2 包含沒有明顯的益處。相反，令人驚訝地發現，在不存在 CaCl_2 的情況下，用檸檬酸鹽 / 精氨酸和組氨酸 / 精氨酸製劑 (精氨酸濃度為 200 mM 或更高) 實現低黏度 (例如，小於 25 cP)。包含 0.05% PS-80 導致在 $\text{pH} \geq 5.0$ 下評價的三種製劑中的兩種中顯著降低黏度。最後，在 $\text{pH} 5.0$ 的黏度似乎略低於在 $\text{pH} 6.0$ 的可比製劑的黏度。

鑑於從黏度研究中獲得的結果，高滲精氨酸、二價陽離子的存在或不存在以及琥珀酸鹽 / 山梨醇 pH 4.0 製劑被繼續用於表面活性劑篩選研究中以進一步評估對 OMS646 物理、構象和化學穩定性的影響。

4. 表面活性劑篩選

使用本文所述的先前研究中確定的候選製劑評估表面活性劑對 OMS646 穩定性的影響。對於表面活性劑篩選研究，如下分析六種製劑：

$\text{pH} 5.0$ 的 20 mM 檸檬酸鹽，200 mM 精氨酸

$\text{pH} 6.0$ 的 20 mM 檸檬酸鹽，200 mM 精氨酸；

$\text{pH} 4.0$ 的 20 mM 琥珀酸鹽，250 mM 山梨糖醇；

$\text{pH} 6.0$ 的 20 mM 組氨酸，200 mM 精氨酸；

$\text{pH} 6.0$ 的 20 mM 組氨酸，75 mM 精氨酸 / 50 mM CaCl_2 ；

$\text{pH} 6.0$ 的 20 mM 組氨酸，75 mM 精氨酸 / 50 mM MgCl_2

對於總共十二種獨特的製劑條件，在沒有表面活性劑的情況下或在0.01%PS-80存在下，評價上文顯示的六種製劑中的每一種。對於每種製劑，將OMS646交換到緩衝液交換溶液(無PS-80)中，濃縮，測量含量並將樣品歸一化為175mg/mL蛋白質。然後將每種製劑分開並將PS-80加入到適當的樣品中至最終濃度為0.01%(w/v)。

通過攪拌和冷凍/解凍迴圈使配製的樣品各自經受機械應力。對於兩種類型的應力，將0.5mL樣品轉移到四個1型硼矽酸鹽玻璃小瓶(2.0mL)中並使用FluroTec®塞子密封。對於攪拌應力，將樣品在室溫下以600rpm在微孔板振盪器中放置約60小時。將攪拌對照樣品保持在振盪器旁邊經攪拌應力的持續時間。對於冷凍/解凍迴圈，將樣品在-80°C下冷凍≥60分鐘，且然後在室溫下解凍，總共進行5次冷凍/解凍迴圈。在應力後，將樣品儲存在2-8°C直至分析。剩下的樣品保持在2-8°C，作為無應力對照。進行外觀、A280測量、DLS和SEC以評估表面活性劑對OMS646聚集和穩定性的影響。

結果：

在對六種OMS646製劑施加應力之後，沒有樣品顯示產品相關的顆粒物質的證據。對於給定製劑的所有樣品，蛋白質含量基本上是恒定的。冷凍/解凍和攪拌樣品的DLS資料分析顯示製劑和應力類型之間僅存在細微差異，在PS-80包含方面沒有觀察到明顯的全域趨勢。一個例外是

琥珀酸鹽/山梨糖醇 pH4.0 製劑，其中包含 PS-80 導致用於冷凍/解凍和 5°C 對照樣品的高總體多分散性(即，多模態)。該酸性製劑還顯示在攪拌時在不存在 PS-80 的情況下通過 DLS 聚集/自結合的證據。

進行 SEC 資料分析以評估樣品應力期間產生的任何聚集和/或降解產物。結果總結在表 5A-5D 中。

表5A：OMS646製劑表面活性劑篩選的SEC資料匯總(2-8°C)

製劑	緩衝液	賦形劑	添加劑	pH	PS-80(%)	平均總 HMW (%)	平均單體 (%)	平均總 LMW (%)
平均未加工的參考樣品						3.7	96.3	-
1	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	5.0	-	3.0	96.3	-
2					0.01	3.1	96.9	-
3	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.2	96.8	-
4					0.01	3.3	96.7	-
5	20 mM 組氨酸	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.3	96.7	-
6					0.01	3.4	96.6	-
7	20 mM 琥珀酸鹽	250 mM 山梨糖醇	-	4.0	-	3.2	96.6	0.2
8					0.01	3.2	96.5	0.2
9	20 mM 組氨酸	75mM 精氨酸	50 mM CaCl ₂	6.0	-	3.3	96.7	-
10					0.01	3.4	96.6	-
11	20 mM 組氨酸	75mM 精氨酸	50 mM MgCl ₂	6.0	-	3.4	96.6	-
12					0.01	3.5	96.5	-

表5B：OMS646製劑表面活性劑篩選(凍結/解凍)的SEC資料匯總

製劑	緩衝液	賦形劑	添加劑	pH	PS-80(%)	平均總HMW(%)	平均單體(%)	平均總LMW(%)
平均未加工的參考樣品					3.7	96.3	-	
1	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	5.0	-	3.1	96.9	-
2					0.01	3.2	96.8	-
3	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.3	96.7	-
4					0.01	3.3	96.7	-
5	20 mM 組氨酸	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.3	96.7	-
6					0.01	3.4	96.6	-
7	20 mM 琥珀酸鹽	250 mM 山梨糖醇	-	4.0	-	3.2	96.6	0.2
8					0.01	3.2	96.6	0.2
9	20 mM 組氨酸	75 mM 精氨酸	50 mM CaCl ₂	6.0	-	3.4	96.6	-
10					0.01	3.4	96.6	-
11	20 mM 組氨酸	75 mM 精氨酸	50 mM MgCl ₂	6.0	-	3.5	96.6	-
12					0.01	3.5	96.6	-

表 5C：OMS646 製劑表面活性劑篩選的 SEC 資料匯總(25°C)

製劑	緩衝液	賦形劑	添加劑	pH	PS-80(%)	平均總HMW(%)	平均單體(%)	平均總LMW(%)
平均未加工的參考樣品					3.7	96.3	-	
1	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	5.0	-	3.1	96.9	-
2					0.01	3.2	96.8	-
3	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.3	96.7	-
4					0.01	3.4	96.6	-
5	20 mM 組氨酸	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.3	96.7	-
6					0.01	3.4	96.6	-
7	20 mM 琥珀酸鹽	250 mM 山梨糖醇	-	4.0	-	3.3	96.5	0.2
8					0.01	3.3	96.5	0.2
9	20 mM 組氨酸	75 mM 精氨酸	50 mM CaCl ₂	6.0	-	3.4	96.6	-
10					0.01	3.5	96.5	-
11	20 mM 組氨酸	75 mM 精氨酸	50 mM MgCl ₂	6.0	-	3.5	96.5	-
12					0.01	3.5	96.5	-

表5D：OMS646製劑表面活性劑篩選(攪拌)的SEC資料匯總

製劑	緩衝液	賦形劑	添加劑	pH	PS-80(%)	平均總HMW(%)	平均單體(%)	平均總LMW(%)
平均未加工的參考樣品					3.7	96.3	-	
1	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	5.0	-	3.0	97.0	-
2					0.01	3.2	96.8	-
3	20 mM 檸檬酸鹽	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.3	96.7	-
4					0.01	3.4	96.6	-
5	20 mM 組氨酸	200 mM 精氨酸	-	6.0	-	3.3	96.7	-
6					0.01	3.4	96.6	-
7	20 mM 蒂伯酸鹽	250 mM 山梨糖醇	-	4.0	-	2.8	97.0	0.2
8					0.01	3.3	96.5	0.2
9	20 mM 組氨酸	75 mM 精氨酸	50 mM CaCl ₂	6.0	-	3.4	96.3	0.3
10					0.01	3.5	96.5	-
11	20 mM 組氨酸	75 mM 精氨酸	50 mM MgCl ₂	6.0	-	3.4	96.6	-
12					0.01	3.6	96.5	-

如在上表 5A-5D 中所示，總體而言，SEC資料表明 OMS646分子通常對包含 PS-80和冷凍/解凍(表 5B)和攪拌應力(表 5D)二者都不敏感，而與表面活性劑無關。觀察到表現最差的 OMS646製劑是含有二價陽離子添加劑(CaCl₂和MgCl₂)的那些，其中這些樣品的高分子量(HMW)材料相對於其他樣品明顯升高，且觀察到最低水準的單體。

5. 在應力和無應力條件下進行 28天的穩定性分析

在通過上述預配製研究縮小潛在緩衝液、賦形劑和表面活性劑組合後，使用 200mM精氨酸在 pH範圍 5.5-6.5內在 175 mg/mL 和 200mg/mL OMS646 的高濃度下配製檸檬酸鹽和組氨酸緩衝液以在應力(40°C)和無應力(5°C)條件下鑑定

最合適的製劑。由於在該升高的濃度下的黏度降低性質，精氨酸被包括在高滲水平(200mM)下。基於預配製資料的統計數值優化，確定最合適的OMS646製劑為20mM檸檬酸鹽和200mM精氨酸。還製備一組樣品以評估0.01%PS-80對檸檬酸鹽和組氨酸製劑的影響。

如上所述進行緩衝液交換，濃縮樣品並稀釋以達到175或200mg/mL OMS646的目標濃度。在該最終歸一化期間，對於合適的製劑，將PS-80加入至0.01%。使用Millipore Ultrafree-CL GV 0.22 μ M無菌濃縮器將製劑無菌過濾。將一個小瓶的每種製劑置於5°C，且一種置於40°C孵育28天的時間。在濃度、外觀、濁度、摩爾滲透壓濃度、pH、DLS、DSC和黏度方面，在To和28天分析樣品。在孵育28天後，觀察到在40°C下儲存的175和200mg/mL OMS646琥珀酸鹽/山梨糖醇製劑形成凝膠狀稠度，且因此未進行分析。

結果：

關於穩定性分析，無論製劑和儲存條件如何，pH值在研究持續時間內保持穩定。在28天後，SEC和SDS-CE分析二者均表明酸性pH 5.0和pH 4.0製劑的LMW含量顯著增加，排除這些製劑而不進一步考慮。對於用0.01%PS-80配製的pH 6.0檸檬酸鹽/精氨酸和組氨酸/精氨酸，大多數反應幾乎與相關的不含表面活性劑樣品無法區分。然而，相對於不含表面活性劑的對應製劑，SEC顯示HMW含量降低

0.2%-0.6%。與表面活性劑的表觀黏度降低性質相結合，選擇聚山梨醇酯-80(PS-80)以包括在進一步的製劑研究中。

在5°C下在28天後測試總共10種製劑的濃度和黏度。代表性的結果在表6中顯示。

表6. 在5°C下在28天後製劑的黏度

樣品	製劑	濃度 28天， 5°C(mg/mL)	黏度 (cP)
1	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，pH 6.0，175 mg/mL OMS646	153.4	10.6
2	20 mM組氨酸，200 mM精氨酸，pH 6.0，175 mg/mL OMS646	151.3	12.7
3	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，pH 6.0，200 mg/mL OMS646	170.5	27.4
4	20 mM組氨酸，200 mM精氨酸，pH 6.0，200 mg/mL OMS646	184.2	18.1
5	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，0.01%PS-80，pH 6.0，175 mg/mL OMS646	159.2	9.0
6	20 mM組氨酸，200 mM精氨酸，0.01%PS-80，pH 6.0，175 mg/mL OMS646	156.0	7.8
7	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，pH 5.0，175 mg/mL OMS646	143.2	9.8
8	20 mM組氨酸，200 mM精氨酸，pH 5.0，200 mg/mL OMS646	182.4	15.9
9	20 mM琥珀酸鹽，250 mM山梨糖醇，pH 4.0，175 mg/mL OMS646	150.6	14.5
10	20 mM琥珀酸鹽，250 mM山梨糖醇，pH 4.0，200 mg/mL	184.3	18.0

如上表6中所示，較高濃度的製劑表現出較高的黏度。相當令人感興趣的是，觀察到包含PS-80導致檸檬酸鹽(10.6對9.0cP)和組氨酸(12.7對7.8cP)製劑的黏度降低，同時還保持蛋白質回收。包含PS-80時黏度的這種降低是有益的，允許更高濃度的OMS646，同時保持低黏度，其被認為是在臨床環境中可注射的且也適用於自動注射器和其他注射設備。

結果匯總

這些研究的主要目的是確定將導致液體製劑中高濃度

OMS646 抗體的最佳化學、物理和結構穩定性的製劑組分。此外，進行幾項黏度特定的研究，目的是獲得具有最大 OMS646 抗體濃度的最終製劑，其可通過皮下施用可行地遞送。

在針對緩衝系統、賦形劑、溶解度、黏度和表面活性劑篩選研究的評估的研究過程中，以反覆運算方式評估幾種緩衝液類型、pH 條件、賦形劑和表面活性劑濃度。最初的基線緩衝液評估研究在 pH 範圍 4.0-8.0 內測試五種不同的緩衝液類型(乙酸鹽、檸檬酸鹽、琥珀酸鹽、組氨酸和磷酸鹽)。通過 DSC、DLS 和 AVIA 化學變性系統分析表明更多的酸性和鹼性條件最不適合於 OMS646 抗體穩定性。基於該結果，選擇乙酸鹽、檸檬酸鹽和組氨酸緩衝系統用於進一步評估。

賦形劑篩選評估 NaCl、L-精氨酸、L-谷氨酸、L-脯氨酸、蔗糖和山梨糖醇對三種選擇的緩衝系統的每一種中的 OMS646 抗體穩定性的影響。將檸檬酸鹽(pH 6.0)單獨繼續用於進一步研究以最大化設計空間以進行額外的賦形劑評估。僅排除蔗糖(由於光散射資料較差)作為潛在的賦形劑。溶解度篩選評估含有 NaCl、山梨糖醇、精氨酸、谷氨酸和脯氨酸的等滲組合的檸檬酸鹽(pH 5.0 和 pH 6.0)製劑支援高溶液濃度的 OMS646 抗體的能力。將所有制劑濃縮至超過 150 mg/mL OMS646，沒有聚集跡象。然而，琥珀酸鹽/精氨酸和琥珀酸鹽/谷氨酸鹽製劑在短期儲存後顯示沉澱/聚集的證據，且未進一步評估。檸檬酸鹽製劑的生物物理

分析顯示在 pH6.0 的賦形劑之間僅有微小差異以及在對應的 pH5.0 製劑中的僅適度降低的 HMW 含量。

有趣的資料來自該樣品子集的黏度測量，這表明檸檬酸鹽/谷氨酸鹽和琥珀酸鹽/山梨糖醇賦予最低的黏度。鑑於賦形劑之間觀察到類似的生物物理穩定性以及獲得具有最大 OMS646 含量的製劑的重要性，進行額外的黏度研究。這些黏度研究確定二價陽離子和/或適度高滲性作為在更中性 pH 下降低 OMS646 抗體製劑黏度的重要因素。在 200 mM 精氨酸存在下評估檸檬酸鹽 (pH5.0 和 6.0) 和組氨酸 (pH6.0) 二者。還在 75 mM 精氨酸和 50 mM CaCl₂ 或 50 mM MgCl₂ 存在下評估組氨酸 pH 6.0。最後，測試琥珀酸鹽/山梨糖醇 pH 4.0。在不存在或存在 0.01% PS-80 的情況下測試所有緩衝液/賦形劑組合以確定表面活性劑是否在攪拌和冷凍/解凍應力條件下促進 OMS646 抗體穩定性。無論表面活性劑如何，所有制劑對所施加的環境應力都顯得穩定。一個引人注目的觀察結果是通過 SEC 觀察到含有二價陽離子的製劑的 OMS646 HMW 含量的增加。因此，CaCl₂ 和 MgCl₂ 作為賦形劑被排除而不進一步考慮。琥珀酸鹽/山梨糖醇也顯示降低的 OMS646 抗體純度，這主要歸因於 LMW 雜質的明顯增加。雖然含有和缺少 0.01% PS-80 的製劑之間的差異很小，但含有表面活性劑的樣品相對於其不含表面活性劑的對應物似乎確實顯示適度增加的 HMW 含量 (約 0.1%)。

實施例 3

該實施例描述一項研究，其中基於實施例 2 中所述的預配製研究確定的三種候選高濃度低黏度 OMS646 製劑在注射性方面進行比較。

背景/基本原理：

手動注射所需的時間和力(或使用自動注射器注射所需的時間)是重要的，且可能影響最終使用者對產品的易用性並因此影響順應性。經由預定規格和長度的針以給定的注射速率注射溶液所需的力被稱為“可注入性”(參見例如 Burckbuchler , V. ; et al. , Eur. J. Pharm. Biopharm. 76(3) , 351-356 , 2010)。關於對人受試者施用的可注入性，通常不希望超過 25N 的力(儘管存在比這更黏稠的市售製劑)。27GA 針或 27GA 薄壁針通常被認為是用於皮下注射單克隆抗體的標準針。27GA 薄壁針的 ID 大致等於 25GA 針(較小的 G 值是較大的直徑)。

進行以下研究以確定三種候選高濃度低黏度 OMS646 製劑的可注入性。

方法：

基於實施例 2 中描述的預配製研究，選擇並進一步研究以下三種候選高濃度 OMS646 製劑，如表 7 中所示。在該實施例中，使用鹽酸精氨酸、聚山梨醇酯 80(如果指出)，和檸檬酸三鈉或組氨酸製備製劑，且使用鹽酸將 pH 調節至約 5.8 至 6.0。

表7：候選高濃度OMS646製劑

製劑	緩衝液/賦形劑/表面活性劑/pH	OMS646的濃度	蛋白質濃度
1	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，0.01%PS-80，pH 5.8	185 mg/mL	187.1
2	20 mM組氨酸，200 mM精氨酸，0.01%PS-80，pH 5.9	185 mg/mL	188.2
3	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，pH 5.8	185 mg/mL	193.3

1. OMS646候選製劑的摩爾滲透壓濃度和黏度

使用實施例2中描述的方法測定如表7中所示產生的三種候選製劑的摩爾滲透壓濃度和黏度。如果在測試的剪切速率內 $\%RSD > 10$ ，則認為製劑的流體行為是非牛頓的。結果在表8中顯示。

表8. 摩爾滲透壓濃度和黏度

製劑	緩衝液/賦形劑/表面活性劑/pH	濃度	摩爾滲透壓濃度 (mOsm/kg)	黏度 (cP)	流體行為
1	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，0.01%PS-80，pH 5.8	185 mg/mL	473	16.1	牛頓
2	20 mM組氨酸，200 mM精氨酸，0.01%PS-80，pH 5.9	185 mg/mL	440	15.9	牛頓
3	20 mM檸檬酸鹽，200 mM精氨酸，pH 5.8	185 mg/mL	468	21.3	牛頓

2. OMS646候選製劑的可注入性

方法：

使用27GA(1.25")、25GA(1")和25GA薄壁(1")針對平均負荷和最大負荷進行三種OMS646製劑的可注入性分析。每種製劑的一式三份重複各注射一次。可注入性樣品的結果是三次重複的平均值。

結果：

使用 27GA(1.25")、25GA 薄壁(1") 和 25GA(1") 鈎評估表 7 中所示的三種製劑(含有 185 mg/mL 的 OMS646)的可注入性。報告的結果是一式三份重複的平均值。結果顯示在表 9 中，並在圖 7A 和 7B 中圖示。圖 7A 圖示使用 27GA、25GA 和 25GA 薄壁針的三種候選 OMS646 製劑的平均負荷(lbf)。圖 7B 圖示使用 27GA、25GA 和 25GA 薄壁針的三種候選 OMS646 製劑的最大負荷(lbf)。

表9. 候選高濃度OMS646製劑的可注入性

製劑	條件	平均負荷 (lbf)	最大負荷 (lbf)	平均負荷 (N)	最大負荷 (N)
1	27 GA	4.72	5.07	20.99	22.55
	25GA	1.88	2.03	8.36	9.03
	25GA(薄壁)	1.27	1.36	5.65	6.05
2	27 GA	4.51	4.85	20.06	21.57
	25GA	1.84	1.99	8.18	8.85
	25GA(薄壁)	1.26	1.32	5.60	5.80
3	27 GA	5.58	5.83	24.82	25.93
	25GA	2.29	2.51	10.18	11.16
	25GA(薄壁)	1.50	1.60	6.67	7.11

如上所述，關於對人受試者施用的可注入性，通常不希望超過 25N 的力。如上表 9 中所示，當通過 25GA 或 25GA 薄壁注射器注射時，所有三種候選高濃度 OMS646 製劑具有可接受的可注入性(即，不超過 25N 的力)。當通過 27G 鈎注射時，製劑 # 2 也具有可接受的可注入性。PS-80 0.01% 的添加引起可注入性的意想不到的改善。

3. 注射後 OMS646 候選製劑的 SEC 分析

尺寸排阻層析(SEC)用於評估注射後三種OMS646候選製劑中存在的聚集體和降解產物的量。簡言之，Agilent 1100 HPLC 系統配有 G3000SW_x1 SEC 柱 (Tosoh，7.8×300 mm，5 μm 細微性)。在 SEC 流動相 (140 mM 磷酸鉀，75 mM 氯化鉀，pH 7.0) 中將 OMS646 樣品稀釋至 2.5 mg/mL，並將 20 μL 樣品注入 HPLC 柱中。使用 0.4 mL/min 的流速運行系統，且通過在 280 nm (頻寬 4 nm) 處的吸收檢測洗脫的蛋白質，沒有參考校正。為了評估系統適用性，所有樣品都通過流動相空白和凝膠過濾標準注射分類，且在順序開始時將參考材料一式兩份注射。除了單體百分比和總積分峰面積，報告單個和總高分子量(HMW)物類和低分子量(LMW)物類的百分比豐度。

結果：

在表 10 中顯示注射後高濃度 OMS646 候選製劑的 SEC 分析結果。

表10.注射後高濃度OMS646製劑的SEC分析

製劑	條件	%純度	%HMW	%LMW
1	對照	96.5	3.3	0.1
	27 GA	96.4	3.5	0.2
	25 GA	96.4	3.4	0.2
	25GA(薄壁)	96.4	3.4	0.2
2	對照	96.6	3.4	未檢出
	27 GA	96.5	3.5	未檢出
	25 GA	96.5	3.5	未檢出
	25 GA(薄壁)	96.5	3.5	未檢出
3	對照	96.5	3.4	0.2
	27 GA	96.3	3.5	0.2
	25 GA	96.4	3.5	0.2
	25 GA(薄壁)	96.3	3.5	0.2

這些結果表明，在通過針排出後，SEC的純度變化很小或沒有變化。

結果匯總：可注入性分析的結果表明，當使用適合於皮下施用的針測試時，所有三種候選高濃度OMS646製劑具有可接受的可注入性，且在通過針排出後OMS646的純度幾乎沒有或沒有變化。PS-80 0.01%的添加提供含檸檬酸精氨酸的製劑的可注入性的意想不到的改善。

實施例4

該實施例描述一項研究，進行該研究以評估候選高濃度低黏度OMS646抗體製劑在長期儲存期間的穩定性。

方法：

進行該研究以評估用於皮下注射的高濃度OMS646抗

體製劑在長期儲存後的穩定性。

兩種候選製劑評估如下：

A) 20mM 檸檬酸鹽，200mM 精氨酸，0.01% PS-80，pH 5.8(185mg/mL OMS646)

B) 20mM 組氨酸，200mM 精氨酸，0.01% PS-80，pH 5.9(185mg/mL OMS646)

將樣品填充到 13mm，2mL 尺寸的 USP I型 Schott 玻璃管小瓶(West Pharmaceuticals)中，用 1.0mL 樣品填充，用 13mm Fluorotec 塞子(West Pharmaceuticals)密封，並用具有按鈕的 13FO 鋁蓋(West Pharmaceuticals 或等效物)蓋上。將樣品小瓶儲存在 $-75 \pm 10^\circ\text{C}$ 、 $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ 、 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ 、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ / $60 \pm 5\%$ RH 和 $40 \pm 2^\circ\text{C}$ / $75 \pm 5\%$ RH 受控溫度的可及式(reach-in)穩定室中。對於本研究，每種製劑存儲至少 40 個樣品小瓶的目標。儲存為液體的樣品以倒置方向儲存，而冷凍樣品直立儲存。在相關的時間點和條件下抽取所需數量的小瓶，並通過以下方法表徵樣品：通過目視檢查的外觀，通過 A280 的蛋白質含量，摩爾滲透壓濃度，SEC-HPLC，pH 和 MASP-2 ELISA。示例性 SEC-HPLC 資料總結於表 11 中，並顯示 OMS646 抗體在 5°C 下儲存 6、9 和 12 個月後保持其完整性。ELISA 資料證實抗體在 5°C 下儲存 6、9 和 12 個月後保持其功能。

結果：該研究的結果在下表 11 中匯總。

表11.如通過SEC分析的製劑的穩定性

製劑	時間點	條件	總HMW (低聚物) (%)	主要峰 (單體) (%)	總 LMW(%)
185 mg/mL OMS646 20 mM檸檬酸鹽 200mM精氨酸 0.01%聚山梨醇酯 80 pH 5.8	T0	NA	3.9	96.1	-
	1個月	-20°C	2.5	97.5	-
		5°C	2.6	97.4	-
		25°C/60%RH	2.7	97.3	-
	2個月	-20°C	2.9	97.1	-
		5°C	3.1	96.9	-
		25°C/60%RH	3.4	96.6	-
	3個月	-20°C	2.8	97.2	-
		5°C	2.9	97.1	-
		25°C/60%RH	3.3	96.0	0.7
	6個月	-20°C	1.7	98.3	-
		5°C	1.9	98.1	-
		25°C/60%RH	2.0	98.0	-
	9個月	5°C	3.4	96.6	-
		25°C/60%RH	4.0	95.7	0.2
	12個月	5°C	3.4	96.6	-
185 mg/mL OMS646 20 mM組氨酸 200mM精氨酸 0.01%聚山梨醇酯 80 pH 5.9	T0	NA	3.8	96.2	-
	1個月	-20°C	2.7	97.3	-
		5°C	2.7	97.3	-
		25°C/60%RH	2.9	97.1	-
	2個月	-20°C	2.9	97.1	-
		5°C	3.3	96.7	-
		25°C/60%RH	3.3	96.7	-
	3個月	-20°C	2.8	97.1	0.1
		5°C	3.0	96.9	0.1
		25°C/60%RH	3.1	96.1	0.8
	6個月	-20°C	1.8	98.2	-
		5°C	1.9	98.1	-
		25°C/60%RH	2.0	98.0	-

如表 11 中所示，在 -20°C 下儲存長達 9 個月或在 5°C 下儲存長達 12 個月的樣品中觀察到純度變化很小或沒有變化。在 25°C 下儲存的樣品的純度也保持 2 個月，然而，在儲存 9 個月觀察到 25°C 下的純度略有變化。

實施例 5

通過將 OMS646(185 mg/mL)與檸檬酸鹽(20 mM)、精氨酸(200 mM)和聚山梨醇酯80(0.01%)組合，製備 pH 5.8的含有MASP-2抑制性抗體OMS646的示例性製劑。使用檸檬酸鈉二水合物(4.89 mg/mL)和檸檬酸一水合物(0.71 mg/mL)製備檸檬酸鹽緩衝液，且鹽酸和/或氫氧化鈉用於根據需要調節pH。

用毛細管黏度計測量該製劑的黏度，且結果在表12中顯示。在較高剪切速率下黏度略有下降，所有值均低於13 cP。

表12：在不同剪切速率下測量的示例性OMS646製劑的黏度

製劑	溫度(°C)	剪切速率(1/s)	黏度(cP)
185 mg/mL OMS646	25.0	103000	12.2
20 mM檸檬酸鹽	25.0	156000	11.5
200mM精氨酸			
0.01%聚山梨醇酯80	25.0	211000	11.0
pH 5.8			

確定給予人受試者本實施例中描述的示例性185mg/mL OMS646製劑(通過皮下注射和稀釋後靜脈內施用二者)導致持續和高程度的凝集素途徑抑制。

確定給予人受試者本實施例中描述的示例性185mg/mL OMS646製劑(通過皮下注射和稀釋後靜脈內施用二者)導致持續和高程度的凝集素途徑抑制。

實施例6

該實施例描述評估OMS646在患有aHUS的受試者中的功效的臨床研究。

背景/基本原理

非典型溶血性尿毒癥綜合症(aHUS)是一種罕見的危及生命的疾病，如果不治療，50%的患者在診斷一年內會導致終末期腎病(Loirat C.等，Orphanet J Rare Dis 6：60，2011)。補體系統的失調是aHUS發病機制的核心，且已經在大約50%的所有aHUS患者中鑒定補體基因的遺傳異常。編碼補體因數H、因數I、因數B和C3的基因的某些突變體變體已被確定為主要危險因素；這些等位基因導致補體活性增加。認為需要某些誘發因數以觸發aHUS，如感染，惡性腫瘤，使用內皮損傷藥物，移植和懷孕。許多這些誘發因數與內皮細胞啟動、應力或損傷有關。

如本文所述，OMS646抑制人凝集素途徑，但對經典或替代補體途徑沒有顯著影響。如US2015/0166675中所述，在血栓性微血管病(TMA)的人離體實驗模型中，OMS646在急性期和緩解期二者中在暴露于來自aHUS患者的血清樣品的微血管內皮細胞上抑制補體啟動和血栓形成。如US2017/0137537中進一步描述，在開放標記的2期臨床試驗中獲得的資料(靜脈內施用2-4mg/kg MASP-2抑制性抗體OMS646，每週一次，連續4周)，用OMS646治療顯示在患有aHUS的患者中的功效。中劑量和高劑量組中的所有三名aHUS患者(中劑量中的兩個和高劑量組中的一個)的血小板計數恢復正常，平均值從基線在統計學上顯著增加約68,000個血小板/mL(p 值=0.0055)。

進行該實施例中描述的研究以評估OMS646在患有

aHUS的患者中的功效。

結果度量：

主要結果度量：

- 如通過血小板計數從基線變化(時間範圍：26周)測量，OMS646在患有aHUS的患者中的影響。

次要結果度量：

- TMA反應(時間範圍：26周)，其中完全TMA反應定義為在最初的26周期間通過在至少連續4周內至少連續測量2次血小板計數歸一化，血清LDH歸一化，和血清肌酐降低>25%。

- TMA無事件狀態(時間範圍：26周)，定義為在最初的26周期間在至少連續12周內血小板計數沒有從基線降低>25%，無血漿交換或血漿輸注，和未開始新的透析。

- 估計腎小球過濾率(eGFR)增加(時間範圍：26周)，定義為通過MDRD方程¹計算的eGFR中增加大於15mL/min/1.73 m²。

- 血液學歸一化(時間範圍：26周)，定義為在最初的26周期間通過在至少連續4周內連續測量2次血小板計數歸一化和血清LDH歸一化。

- TMA緩解期(時間範圍：26周)，定義為在最初的26周期間至少連續2周內血小板計數大於或等於150,000 /μL。

- 血清肌酐從基線變化(時間範圍：26周)。

- 血清LDH從基線變化(時間範圍：26周)。

- 觸珠蛋白從基線變化(時間範圍：26周)。

¹MDRD 方程 : eGFR(mL/min/1.73m²) = 175 × (SCr)^{-1.154} × (年齡)^{-0.203} × (如果是雌性則 0.742) × (如果是非洲裔美國人為 1.212)。注意：SCr = 血清肌酐測量值應為 mg/dL。

資格

具有抗血漿療法的 aHUS 和血漿療法反應性 aHUS 的受試者將有資格。如果受試者在篩選時患有血小板減少症(儘管先前在 7 天內接受至少 4 次血漿療法(血漿輸注血漿交換)治療而沒有消除血小板減少症)，則被認為是抗血漿療法。受試者被認為是血漿療法反應，如果他們具有需要血漿療法來預防 aHUS 惡化的記錄歷史，包括記錄當血漿療法頻率降低(包括停止血漿療法)時血小板計數減少和 LDH 增加。

在第一次 OMS646 治療的 3 個月篩選內接受依庫麗單抗(eculizumab)的任何受試者需要在停用依庫麗單抗和第一次 OMS646 治療之間進行至少一次血漿交換。

入選標準：

- 有能力提供知情同意書，或如果未成年人，至少有一名家長或法定監護人提供知情同意書與受試者的書面同意。

- 篩選時至少 12 歲(訪問 1)。

- 臨床診斷為原發性非典型溶血性尿毒綜合症(aHUS)，血漿中 ADAMTS13 活性大於 5%。

- 抗血漿療法的 aHUS 患者必須篩選血小板計數低於 150,000/uL，微血管病性溶血證據和血清肌酐高於正常上限。

- 血漿療法反應性 aHUS 患者必須具有需要血漿療法以預防 aHUS 惡化的記錄歷史且在 OMS646 的第一劑量之前以不變的頻率每 2 周至少接受一次血漿療法，持續至少 8 周。

排除標準：

- 具有 STEC-HUS，直接陽性 Coombs 測試，造血幹細胞移植史和/或來自確定藥物的 HUS。

- 維生素 B12 缺乏相關的 HUS，系統性紅斑狼瘡和/或抗磷脂綜合症的歷史。

- 篩選 5 年內活動性癌症或癌症史(非黑色素瘤皮膚癌除外)。

- 已進行血液透析或腹膜透析超過或等於 12 周。

- 有活躍的全身細菌或真菌感染，需要全身抗菌治療(允許預防性抗菌療法作為標準護理施用)。

- 基線靜息心率低於每分鐘 45 次心跳或超過每分鐘 115 次心跳。

- 基線 QTcF 大於 470 毫秒。

- 患有惡性高血壓(眼底檢查時採用雙側出血或“藥棉”滲出物的舒張壓大於 120 mM Hg)。

- 研究者認為，預後不良，預期壽命不到三個月。

- 懷孕或哺乳期。

- 在篩選前四周內接受用研究藥物或設備的治療。
- 肝功能測試異常定義為 ALT 或 AST > ULN 的 5 倍。
- 具有 HIV 感染。
- 肝硬化史。

研究設計：

這是 OMS646 在患有 aHUS 的成人和青少年的 3 期多中心研究。不受控制的開放標籤研究將評估 OMS646 在具有抗血漿療法的 aHUS 和血漿療法反應性 aHUS 的受試者的影響。該研究具有四個階段：篩選，治療誘導，治療維持和隨訪。大約招募 80 個受試者。在 40 個受試者完成 26 周治療後，將進行中期分析。

篩選：篩選訪問是訪問 1。在篩選時，實驗室測量包括血小板計數，LDH，肌酸酐，觸珠蛋白，ALT，AST 和裂紅細胞計數。

治療誘導：

第一治療訪問是訪問 2。在治療誘導期期間，抗血漿療法和血漿療法反應性受試者將經歷不同的程式。血漿療法反應性受試者將繼續接受通過治療誘導期的血漿療法，其中補充的 OMS646 劑量與血漿療法同時施用以允許受試者獲得穩態 OMS646 血漿濃度。可以將訪問 1 和訪問 2 組合用於抗血漿療法的受試者。

在治療誘導期期間，受試者將在第 1 天和第 4 天接受 OMS646 370 mg IV。在第一劑量(第 1 天)的那天開始，受試

者也將開始每天一次用 OMS646 150mg SC 治療。

對於使用 185mg/mL 製劑的 IV 施用，2mL OMS646 藥物產品 (185mg/mL OMS646, pH 5.8, 檸檬酸鹽 (20mM), 精氨酸 (200mM) 和聚山梨醇酯 80 (0.01%)) 在含有標稱體積 2mL 溶液的一次性玻璃 2-mL 小瓶中供應) 將使用聚丙烯注射器從 1 個小瓶中取出用於劑量製備。將 OMS646 劑量加入到含有 50mL 注射或生理鹽水溶液的 5% 葡萄糖的聚氯乙烯或聚烯烴輸液袋中，並通過溫和倒置混合。將輸液袋保持在室溫下直至準備施用，且應在製備的 4 小時內施用。稀釋的研究藥物應在 30 分鐘時間內輸注。

對於 SC 級藥，使用 185mg/mL 製劑 (185mg/mL OMS646, pH 5.8, 檸檬酸鹽 (20mM), 精氨酸 (200mM) 和聚山梨醇酯 80 (0.01%))。通過在 1-mL 聚丙烯注射器中從 1 小瓶 OMS646 中取出 0.8mL 來製備 SC 劑量。針將換成 27G 薄壁針進行 SC 注射。SC 注射應在將劑量吸入注射器的 30 分鐘內進行。

治療維持期

在治療誘導期期間完成 IV 級藥後，受試者將進入治療維持期。在此期間，受試者將繼續每天一次接受 OMS646 150mg SC。該給藥方案將在整個治療期間持續。

對於血漿療法反應性受試者，在治療誘導期的最後 IV 級藥時，血漿療法的頻率將通過每週一次血漿療法治療而減少 (對於接受血漿療法的受試者停止，頻率 ≤ 每週一次)

直至血漿療法停止。

在研究者的判斷下，對於經歷 TMA 復發的任何血漿療法反應性受試者或抗血漿療法的受試者，可以重新開始每 3 天 IV 施用一次 OMS646 370mg 和 / 或血漿療法。OMS646 SC 注射應在此期間繼續。

治療誘導和治療維持期的總時間為兩年。

隨訪期：

在完成治療維持期或早期停止後，受試者將接受兩次隨訪。完成治療維持期的受試者可能有資格根據未來的方案修訂或擴展獲取(同情使用(compassionate use))繼續治療。

根據前述，在一個方面，本發明提供治療患有 aHUS 或有發展 aHUS 風險的受試者的方法，包括向受試者施用有效量的抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段，包含含有 SEQ ID NO：2 中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和(ii)含有 SEQ ID NO：3 中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；其中所述方法包括包含誘導期和維持期的施用週期，其中：

(a) 誘導期包括一周的時間，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段在第 1 天和第 4 天以約 370mg 的劑量施用；和

(b) 維持期包括至少 26 周的時間，在誘導期的第 1 天開始，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段以約 150mg 的每日劑量施用。

在一個實施方案中，在誘導期期間靜脈內施用抗 MASP-2 抗體。在一個實施方案中，在維持期期間皮下施用抗 MASP-2 抗體。在一個實施方案中，維持期包括 26 周或由 26 周組成。在一個實施方案中，維持期持續超過 26 周 (6 個月)，例如至少 39 周 (9 個月)，或至少 52 周 (12 個月)，或至少 78 周 (18 個月)，或至少 104 周 (24 個月)。在一個實施方案中，維持期持續至少 6 個月直至 2 年。

在一個實施方案中，抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段在誘導期期間以約 370 mg 的劑量在第 1 天和第 4 天靜脈內施用到受試者；其中包含抗 MASP-2 抗體的靜脈內組合物通過組合適量的本文公開的高濃度製劑而產生。在一個實施方案中，在維持期期間以約 150 mg 包含抗 MASP-2 抗體的高濃度製劑的每日劑量將抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段皮下施用到受試者。

在一個實施方案中，該方法包括皮下施用適合於腸胃外施用到哺乳動物受試者的穩定藥物製劑到患有 aHUS 的受試者，每日劑量為約 150 mg，持續至少 26 周的時間段，包括：(a) 包含 pH 為 5.0 至 7.0 的緩衝系統的水溶液；和 (b) 以約 50 mg/mL 至約 250 mg/mL 的濃度特異性結合到人 MASP-2 的單克隆抗體或其片段，其中所述抗體或其片段包含 (i) 包含 SEQ ID NO : 2 中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和 (ii) 包含 SEQ ID NO : 3 中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；其中所述製劑的黏度為 2-50 厘泊 (cP)，且其中所述製劑在 2°C - 8°C 下儲存至少 6 個月時是穩定的。

在一個實施方案中，該方法包括皮下施用穩定的藥物製劑到患有 aHUS 的受試者，每日劑量為約 150mg，持續至少 26 周的時間，所述穩定的藥物製劑包含 185mg/mL OMS646，pH 5.8，檸檬酸鹽 (20mM)，精氨酸 (200mM) 和聚山梨醇酯 80 (0.01%)。在一些實施方案中，通過在 1-mL 聚丙烯注射器中從 1 個小瓶中取出 0.8mL OMS646 來製備 SC 劑量。在一些實施方案中，將針更換為用於 SC 注射的 27G 薄壁針。

在一個實施方案中，該方法包括治療患有血漿療法反應性 aHUS 的受試者。在一個實施方案中，該方法包括治療患有抗血漿療法的 aHUS 的受試者。

在一個實施方案中，該方法包括治療患有 aHUS 或有發展 aHUS 風險的受試者的方法，包括向受試者施用有效量的抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO：2 中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和 (ii) 含有 SEQ ID NO：3 中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；其中所述方法包括維持期，其中所述維持期包括至少 26 周的時間，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段以約 150mg 的每日劑量皮下施用。

儘管已經說明和描述本發明的優選實施方案，應當理解，在不脫離本發明的精神和範圍的情況下，可以對其公開的製劑和方法進行各種改變。因此，對其授予的專利證書的範圍僅由所附權利要求的定義限制。

根據前述，本發明的特點在於以下實施方案。

1. 一種治療患有 aHUS 或有發展 aHUS 風險的受試者的方法，包括向受試者施用有效量的抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO : 2 中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和(ii)含有 SEQ ID NO : 3 中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；其中所述方法包括施用週期，所述施用週期包括誘導期和維持期，其中：

(a) 誘導期包括一周的時間，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段在第 1 天和第 4 天以約 370mg 的劑量施用；和

(b) 維持期包括至少 26 周的時間，在誘導期的第 1 天開始，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段以約 150mg 的每日劑量施用。

2. 段落 1 的方法，其中所述抗 MASP-2 抗體在誘導期期間在適合於靜脈內遞送的溶液中靜脈內施用。

3. 段落 1 的方法，其中在所述維持期期間皮下施用抗 MASP-2 抗體。

4. 段落 1-3 中任一段的方法，其中所述維持期包括 26 周或由 26 周組成。

5. 段落 1-3 中任一段的方法，其中所述維持期持續超過 26 周(6 個月)，例如至少 39 周(9 個月)，或至少 52 周(12 個月)，或至少 78 周(18 個月)，或至少 104 周(24 個月)。

6. 段落 1-3 中任一段的方法，其中所述維持期持續至少 6 個月直至 2 年。

7. 段落 2 的方法，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原

結合片段在誘導期期間以約370mg的劑量在第1天和第4天靜脈內施用到受試者。

8. 段落1-7中任一段的方法，其中所述方法包括治療患有血漿療法反應性aHUS的受試者。

9. 段落1-7中任一段的方法，其中所述方法包括治療患有抗血漿療法的aHUS的受試者。

10. 段落3的方法，其中所述方法包括皮下施用適合於腸胃外施用到哺乳動物受試者的穩定藥物製劑到患有aHUS的受試者，每日劑量為約150mg，持續至少26周的時間段，所述製劑包含：(a)含有pH為5.0至7.0的緩衝系統的水溶液；和(b)以約50mg/mL至約250mg/mL的濃度特異性結合到人MASP-2的單克隆抗體或其片段；其中所述製劑的黏度為2-50厘泊(cP)，且其中所述製劑在2°C -8°C下儲存至少6個月時是穩定的。

11. 段3的方法，其中所述方法包括皮下施用穩定的藥物製劑到患有aHUS的受試者，每日劑量為約150mg，持續至少26周的時間段，所述穩定的藥物製劑包含185mg/mL的單克隆抗體，pH 5.8，檸檬酸鹽(20mM)，精氨酸(200mM)和聚山梨醇酯80(0.01%)。

12. 段落3的方法，其中SC施用是經由注射。

13. 段落12的方法，其中注射用具有27G薄壁針的注射器進行。

14. 段落2的方法，其中通過在施用前組合適當量的包含185mg/mL單克隆抗體，pH 5.8，檸檬酸鹽(20mM)，

精氨酸(200mM)和聚山梨醇酯80(0.01%)的穩定藥物製劑與藥學上可接受的稀釋劑來產生包含抗MASP-2抗體的靜脈內溶液。

15. 段落10的方法，其中所述製劑包含：

- (a)聚山梨醇酯80，濃度為約0.01至約0.08%w/v；
- (b)L-精氨酸HCl，濃度為約150mM至約200mM；
- (c)檸檬酸鈉，濃度為約10mM至約50mM；和
- (d)約150mg/mL至約200mg/mL的抗體。

雖然已經說明和描述本發明的優選實施方案，應當瞭解在不脫離本發明的精神和範圍的情況下，可以在其中進行各種改變。

【序列表】

<110> 美商歐米諾斯公司 (Omeros Corporation)

<120> 高濃縮低黏度MASP-2抑制性抗體製劑、試劑盒和治療患有非典型溶血綜合症的受試者的方法

<140> TW 107129307

<141> 2018-08-22

<150> US 62/550,328

<151> 2017-08-25

<160> 7

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 671

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

Thr Pro Leu Gly Pro Lys Trp Pro Glu Pro Val Phe Gly Arg Leu Ala
1 5 10 15

Ser Pro Gly Phe Pro Gly Glu Tyr Ala Asn Asp Gln Glu Arg Arg Trp
20 25 30

Thr Leu Thr Ala Pro Pro Gly Tyr Arg Leu Arg Leu Tyr Phe Thr His
35 40 45

Phe Asp Leu Glu Leu Ser His Leu Cys Glu Tyr Asp Phe Val Lys Leu
50 55 60

Ser Ser Gly Ala Lys Val Leu Ala Thr Leu Cys Gly Gln Glu Ser Thr
65 70 75 80

Asp Thr Glu Arg Ala Pro Gly Lys Asp Thr Phe Tyr Ser Leu Gly Ser
85 90 95

Ser Leu Asp Ile Thr Phe Arg Ser Asp Tyr Ser Asn Glu Lys Pro Phe
100 105 110

Thr Gly Phe Glu Ala Phe Tyr Ala Ala Glu Asp Ile Asp Glu Cys Gln
115 120 125

Val Ala Pro Gly Glu Ala Pro Thr Cys Asp His His Cys His Asn His
130 135 140

Leu Gly Gly Phe Tyr Cys Ser Cys Arg Ala Gly Tyr Val Leu His Arg
145 150 155 160

Asn Lys Arg Thr Cys Ser Ala Leu Cys Ser Gly Gln Val Phe Thr Gln
 165 170 175
 Arg Ser Gly Glu Leu Ser Ser Pro Glu Tyr Pro Arg Pro Tyr Pro Lys
 180 185 190
 Leu Ser Ser Cys Thr Tyr Ser Ile Ser Leu Glu Gly Phe Ser Val
 195 200 205
 Ile Leu Asp Phe Val Glu Ser Phe Asp Val Glu Thr His Pro Glu Thr
 210 215 220
 Leu Cys Pro Tyr Asp Phe Leu Lys Ile Gln Thr Asp Arg Glu Glu His
 225 230 235 240
 Gly Pro Phe Cys Gly Lys Thr Leu Pro His Arg Ile Glu Thr Lys Ser
 245 250 255
 Asn Thr Val Thr Ile Thr Phe Val Thr Asp Glu Ser Gly Asp His Thr
 260 265 270
 Gly Trp Lys Ile His Tyr Thr Ser Thr Ala Gln Pro Cys Pro Tyr Pro
 275 280 285
 Met Ala Pro Pro Asn Gly His Val Ser Pro Val Gln Ala Lys Tyr Ile
 290 295 300
 Leu Lys Asp Ser Phe Ser Ile Phe Cys Glu Thr Gly Tyr Glu Leu Leu
 305 310 315 320
 Gln Gly His Leu Pro Leu Lys Ser Phe Thr Ala Val Cys Gln Lys Asp
 325 330 335
 Gly Ser Trp Asp Arg Pro Met Pro Ala Cys Ser Ile Val Asp Cys Gly
 340 345 350
 Pro Pro Asp Asp Leu Pro Ser Gly Arg Val Glu Tyr Ile Thr Gly Pro
 355 360 365
 Gly Val Thr Thr Tyr Lys Ala Val Ile Gln Tyr Ser Cys Glu Glu Thr
 370 375 380
 Phe Tyr Thr Met Lys Val Asn Asp Gly Lys Tyr Val Cys Glu Ala Asp
 385 390 395 400
 Gly Phe Trp Thr Ser Ser Lys Gly Glu Lys Ser Leu Pro Val Cys Glu
 405 410 415
 Pro Val Cys Gly Leu Ser Ala Arg Thr Thr Gly Gly Arg Ile Tyr Gly
 420 425 430

Gly Gln Lys Ala Lys Pro Gly Asp Phe Pro Trp Gln Val Leu Ile Leu
 435 440 445

Gly Gly Thr Thr Ala Ala Gly Ala Leu Leu Tyr Asp Asn Trp Val Leu
 450 455 460

Thr Ala Ala His Ala Val Tyr Glu Gln Lys His Asp Ala Ser Ala Leu
 465 470 475 480

Asp Ile Arg Met Gly Thr Leu Lys Arg Leu Ser Pro His Tyr Thr Gln
 485 490 495

Ala Trp Ser Glu Ala Val Phe Ile His Glu Gly Tyr Thr His Asp Ala
 500 505 510

Gly Phe Asp Asn Asp Ile Ala Leu Ile Lys Leu Asn Asn Lys Val Val
 515 520 525

Ile Asn Ser Asn Ile Thr Pro Ile Cys Leu Pro Arg Lys Glu Ala Glu
 530 535 540

Ser Phe Met Arg Thr Asp Asp Ile Gly Thr Ala Ser Gly Trp Gly Leu
 545 550 555 560

Thr Gln Arg Gly Phe Leu Ala Arg Asn Leu Met Tyr Val Asp Ile Pro
 565 570 575

Ile Val Asp His Gln Lys Cys Thr Ala Ala Tyr Glu Lys Pro Pro Tyr
 580 585 590

Pro Arg Gly Ser Val Thr Ala Asn Met Leu Cys Ala Gly Leu Glu Ser
 595 600 605

Gly Gly Lys Asp Ser Cys Arg Gly Asp Ser Gly Gly Ala Leu Val Phe
 610 615 620

Leu Asp Ser Glu Thr Glu Arg Trp Phe Val Gly Gly Ile Val Ser Trp
 625 630 635 640

Gly Ser Met Asn Cys Gly Glu Ala Gly Gln Tyr Gly Val Tyr Thr Lys
 645 650 655

Val Ile Asn Tyr Ile Pro Trp Ile Glu Asn Ile Ile Ser Asp Phe
 660 665 670

<210> 2
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> 人工序列

201925224

<220>

<223> 合成

<400> 2

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Gly
20 25 30

Lys Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr Arg Thr Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Arg Arg Gly Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3

<211> 103

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 3

Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Glu Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Met Tyr
35 40 45

Gln Asp Lys Gln Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
 85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
 100

<210> 4
 <211> 445
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 4

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Gly
 20 25 30

Lys Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Ser Asp Glu Lys Ser Tyr Arg Thr Ser
 50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ile Arg Arg Gly Gly Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

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

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140

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

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

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

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser

195

200

205

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

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240

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

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270

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

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335

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

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

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380

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

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 5
 <211> 212
 <212> PRT
 <213> 人工序列

201925224

<220>

<223> 合成

<400> 5

Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Glu Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Met Tyr
35 40 45

Gln Asp Lys Gln Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala Val
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130 135 140

Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145 150 155 160

Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165 170 175

Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180 185 190

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

Thr Glu Cys Ser
210

<210> 6

<211> 1395

<212> DNA

<213> 人工序列

201925224

<220>

<223> 合成

<400> 6	atgatgtcct ttgtctctt gtcctgggtt ggcatccat tccatgccac ccaggcccag	60
gtcaccttga aggagtctgg tcctgtgtg gtgaaaccca cagagaccct cacgctgacc	120	
tgcacccgtct ctgggttctc actcagcagg ggtaaaatgg gtgtgagctg gatccgtcag	180	
cccccaggga aggccctggta gtggcttgca cacattttt cgagtgacga aaaatccatc	240	
aggacatcg tgaagagcag gtcaccatc tccaaggaca cctccaaaaa ccaggtggtc	300	
cttacaatga ccaacatggta ccctgtggac acagccacgt attactgtgc acggatacga	360	
cgtggaggaa ttgactactg gggccaggga accctggta ctgtctctc agcctccacc	420	
aaggccccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacccctcgaa gagcacagcc	480	
gccctgggct gcctggtaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggactca	540	
ggcgccctga ccagcggcgt gcacacccctc cccggctgtcc tacagtcctc aggactctac	600	
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgcccctc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc	660	
aacgttagatc acaagcccaag caacaccaag gtggacaaga gagttgagtc caaatatgg	720	
cccccatgcc caccatgccc agcacctgag ttccctgggg gaccatcagt cttccgttgc	780	
cccccaaaac ccaaggacac tctcatgatc tcccgaccc ctgaggtcac gtgcgtggg	840	
gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggta cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag	900	
gtgcataatg ccaagacaaa gcccgccccag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggc	960	
agcgtccctca ccgtccctgca ccaggactgg ctgaacggca aggactacaa gtgcacggc	1020	
tccaaacaaag gcctcccgta ctccatcgag aaaaccatct cccaaagccaa agggcagccc	1080	
cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggc	1140	
agcctgaccc gcctggtaa aggcttctac cccagcgaca tcgcccgtgga gtggagagc	1200	
aatggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc	1260	
ttcttcctct acagcaggct aaccgtggac aagagcagggt ggcaggaggaa gaatgtctc	1320	
tcatgctccg tcatgcatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg	1380	
tctctcggtt aatga	1395	

<210> 7

<211> 696

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<220>

<221> misc_特徵

<222> (303)..(303)

<223> n 是 a, c, g, 是 t

<400> 7	
atgatgtcct ttgtctct gctcctggtt ggcatcctat tccatgccac ccaggcccag	60
ccagtgctga ctcaaaaa ctcactgtcc gtgtccccag gacagacagc cagcatcacc	120
tgcctggag agaaattggg ggataaatat gcttactggt atcagcagaa gccaggccag	180
tccctgtgt tggtcatgtt tcaagataaa cagcgccct cagggatccc tgagcgattc	240
tctggctcca actctggaa cacagccact ctgaccatca gcgggaccca ggctatggat	300
gangctgact attactgtca ggcgtggac agcagcactg cggtattcgg cggagggacc	360
aagctgaccg tcctaggcca gcctaaggcg gcgcctcg tcaccctgtt cccgcctcc	420
tctgaggagc ttcaagccaa caaggccaca ctggtgtgtc tcataagtga cttctacccg	480
ggagccgtga cagtggcctg gaaggcagat agcagcccg tcaaggcggg agtggagacc	540
accacaccct ccaaacaag caacaacaag tacgcggcca gcagctatct gagcctgacg	600
cctgagcagt ggaagtccca cagaagctac agctgccagg tcacgcatga agggagcacc	660
gtggagaaga cagtggccccc tacagaatgt tcata	696



201925224

【發明摘要】

【中文發明名稱】

高濃縮低黏度 M A S P - 2 抑制性抗體製劑、試劑盒
和治療患有非典型溶血綜合症的受試者的方法

【英文發明名稱】

HIGHLY CONCENTRATED LOW VISCOSITY MASP-2 INHIBITORY
ANTIBODY FORMULATIONS, KITS, AND METHODS OF
TREATING SUBJECTS SUFFERING FROM ATYPICAL HEMOLYTIC
SYNDROME

【中文】

本發明涉及使用 MASP-2 抑制性抗體的穩定、高濃度
低黏度製劑的治療方法，以及包含用於治療患有非典型溶
血性尿毒癥綜合症(aHUS)的受試者的製劑的試劑盒。

【英文】

The present invention relates to therapeutic methods of using stable, high-concentration low-viscosity formulations of MASP-2 inhibitory antibodies, and kits comprising the formulations for treating subjects suffering from atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS).

201925224

【指定代表圖】第(1A~1C)圖。

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種治療患有 aHUS 或有發展 aHUS 風險的受試者的方法，包括向受試者施用有效量的抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段，其包含含有 SEQ ID NO : 2 中所示的氨基酸序列的重鏈可變區和 (ii) 含有 SEQ ID NO : 3 中所示的氨基酸序列的輕鏈可變區；其中所述方法包括施用週期，所述施用週期包括誘導期和維持期，其中：

(c) 誘導期包括一周的時間，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段在第 1 天和第 4 天以約 370mg 的劑量施用；和

(d) 維持期包括至少 26 周的時間，在誘導期的第 1 天開始，其中所述抗 MASP-2 抗體或其抗原結合片段以約 150mg 的每日劑量施用。

【第2項】

如請求項 1 的方法，其中所述抗 MASP-2 抗體在誘導期期間在適合於靜脈內遞送的溶液中靜脈內施用。

【第3項】

如請求項 1 的方法，其中所述抗 MASP-2 抗體在維持期期間皮下施用。

【第4項】

如請求項 1-3 中任一項的方法，其中所述維持期包括 26 周或由 26 周組成。

【第5項】

如請求項1-3中任一項的方法，其中所述維持期持續超過26周(6個月)，例如至少39周(9個月)，或至少52周(12個月)，或至少78周(18個月)，或至少104周(24個月)。

【第6項】

如請求項1-3中任一項的方法，其中所述維持期持續至少6個月至至多2年。

【第7項】

如請求項2的方法，其中所述抗MASP-2抗體或其抗原結合片段在誘導期期間以約370mg的劑量在第1天和第4天靜脈內施用到受試者。

【第8項】

如請求項1-7中任一項的方法，其中所述方法包括治療患有血漿療法反應性aHUS的受試者。

【第9項】

如請求項1-7中任一項的方法，其中所述方法包括治療患有抗血漿療法的aHUS的受試者。

【第10項】

如請求項3的方法，其中所述方法包括皮下施用適合於腸胃外施用到哺乳動物受試者的穩定藥物製劑到患有aHUS的受試者，每日劑量為約150mg，持續至少26周的時間段，所述製劑包含：(a)含有pH為5.0至7.0的緩衝系統的水溶液；和(b)以約50mg/mL至約250mg/mL的濃度特異性結合到人MASP-2的單克隆抗體或其片段；其中所述製劑的黏度為2-50厘泊(cP)，且其中所述製劑在2°C -8°C下儲存

至少6個月時是穩定的。

【第11項】

如請求項3的方法，其中所述方法包括皮下施用穩定的藥物製劑到患有aHUS的受試者，每日劑量為約150mg，持續至少26周的時間段，所述穩定的藥物製劑包含185mg/mL的單克隆抗體，pH 5.8，檸檬酸鹽(20mM)，精氨酸(200mM)和聚山梨醇酯80(0.01%)。

【第12項】

如請求項3的方法，其中SC施用是經由注射。

【第13項】

如請求項12的方法，其中所述注射使用具有27G薄壁針的注射器進行。

【第14項】

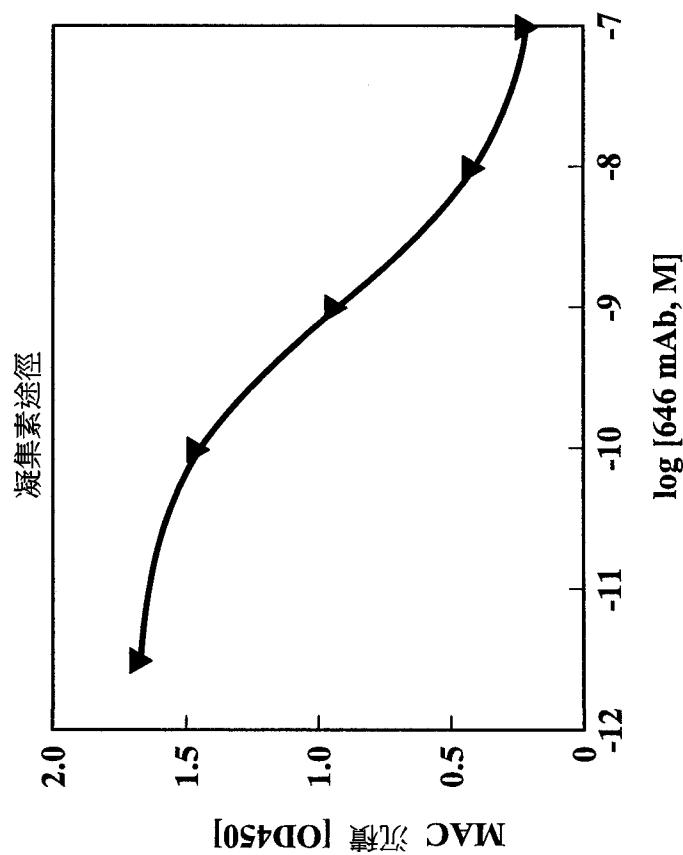
如請求項2的方法，其中通過在施用前組合適當量的包含185mg/mL單克隆抗體，pH 5.8，檸檬酸鹽(20mM)，精氨酸(200mM)和聚山梨醇酯80(0.01%)的穩定藥物製劑與藥學上可接受的稀釋劑來產生包含抗MASP-2抗體的靜脈內溶液。

【第15項】

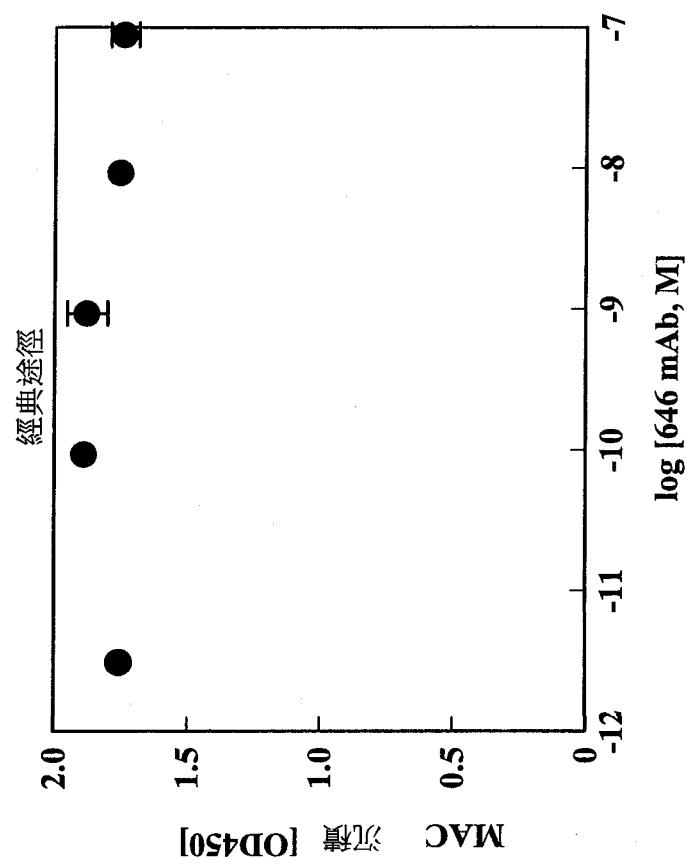
如請求項10的方法，其中所述製劑包含：

- (a)聚山梨醇酯80，濃度為約0.01至約0.08%w/v；
- (b)L-精氨酸HCl，濃度為約150mM至約200mM；
- (c)檸檬酸鈉，濃度為約10mM至約50mM；和
- (d)約150mg/mL至約200mg/mL的抗體。

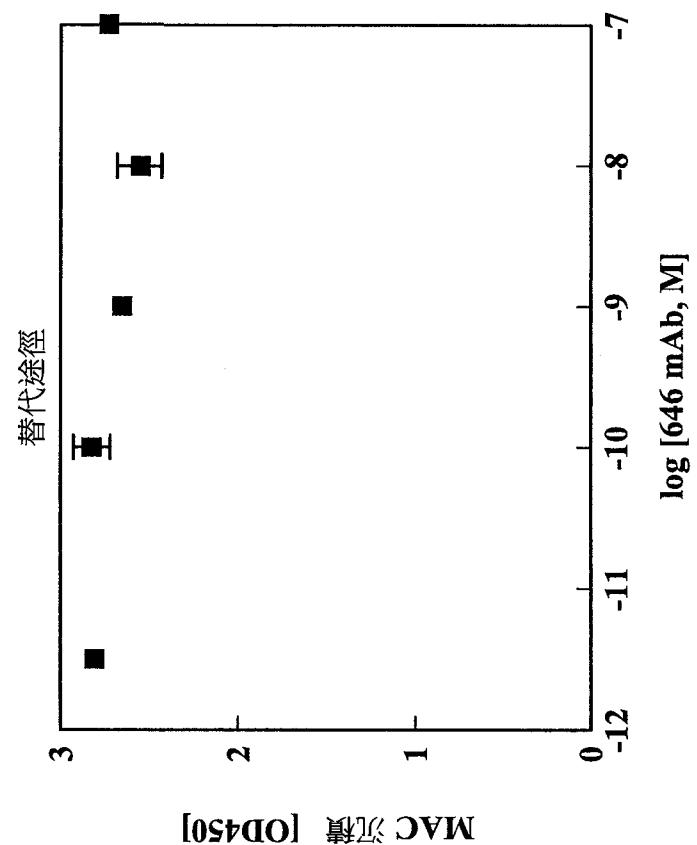
【發明圖式】



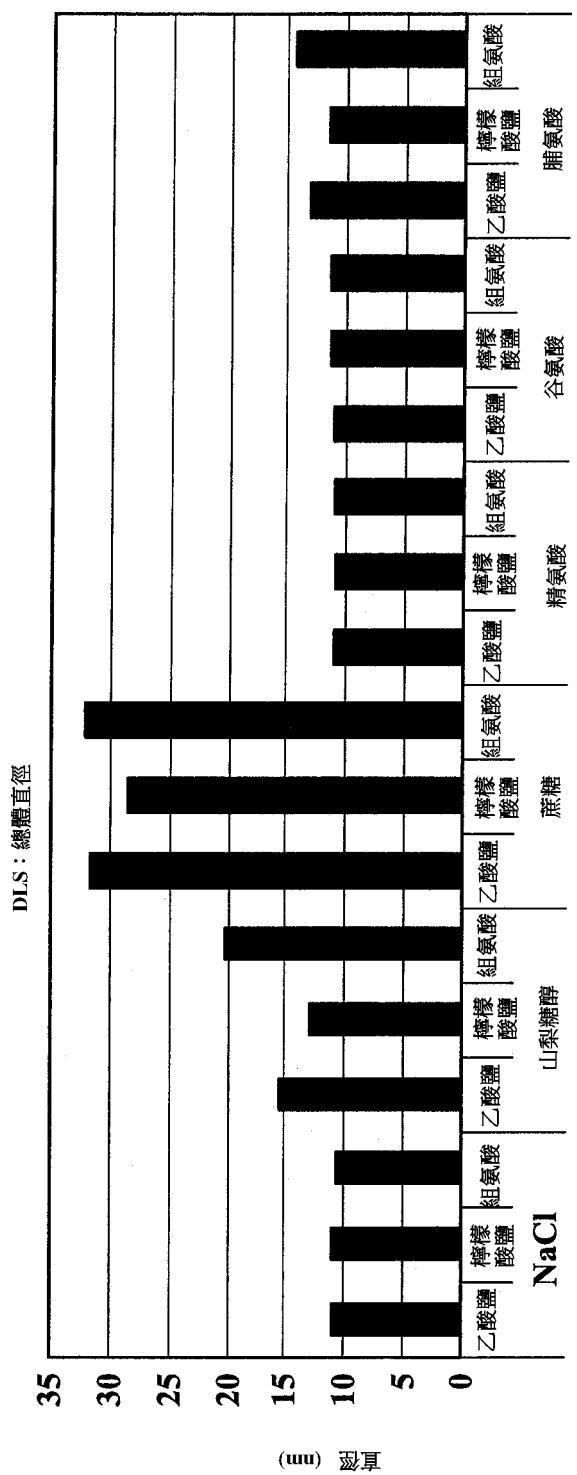
【圖 1A】



【圖 1B】

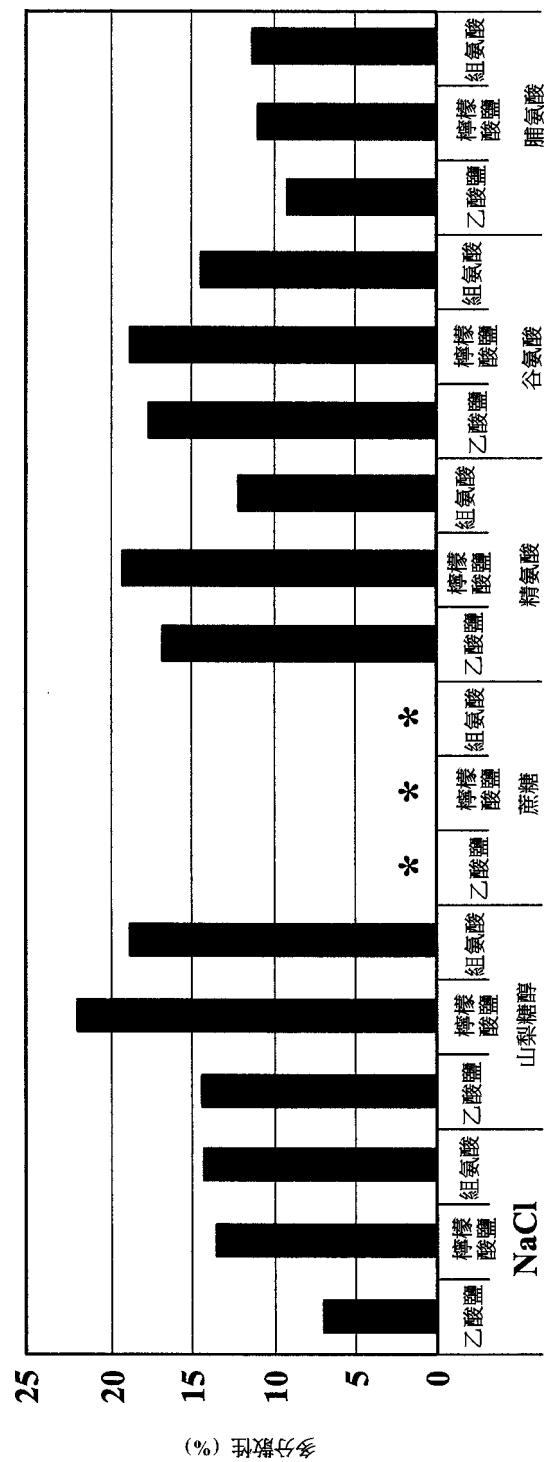


【圖 1C】



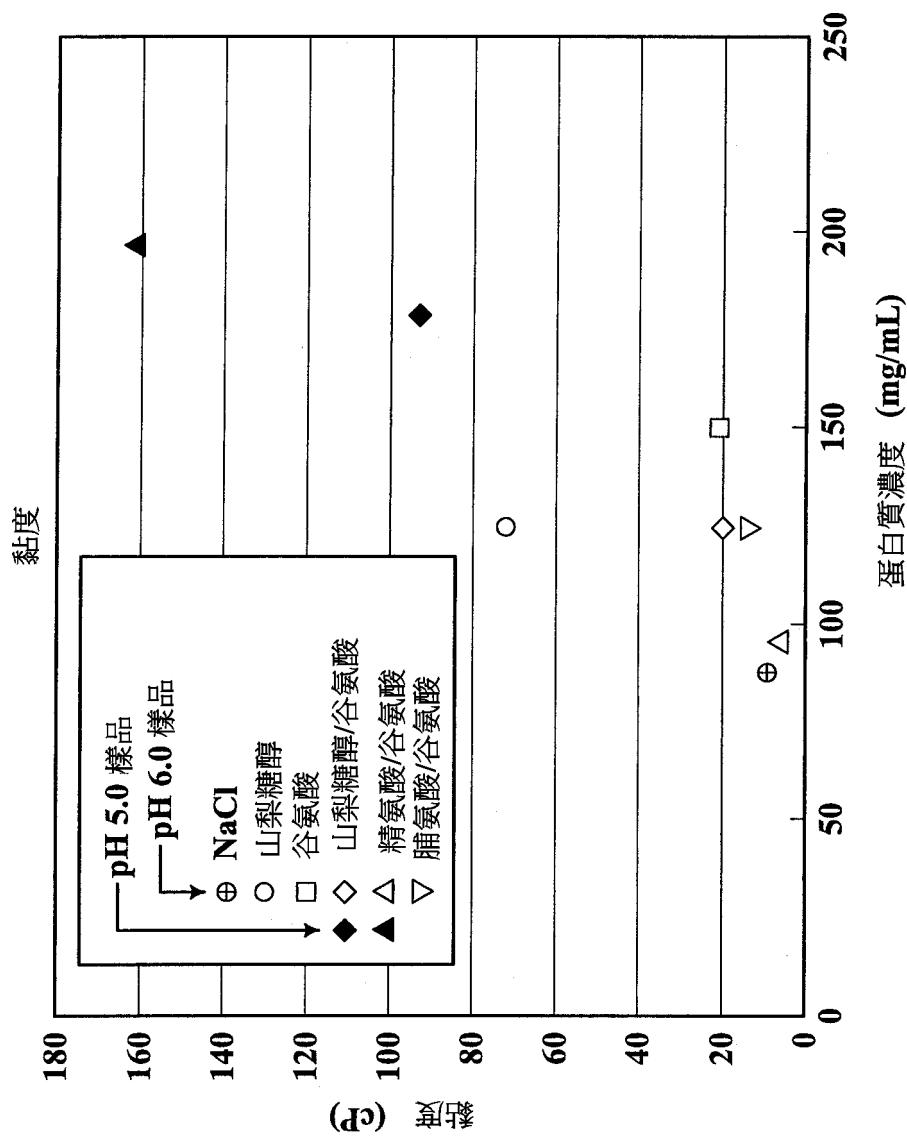
[圖 2A]

DLS：總體多分散性

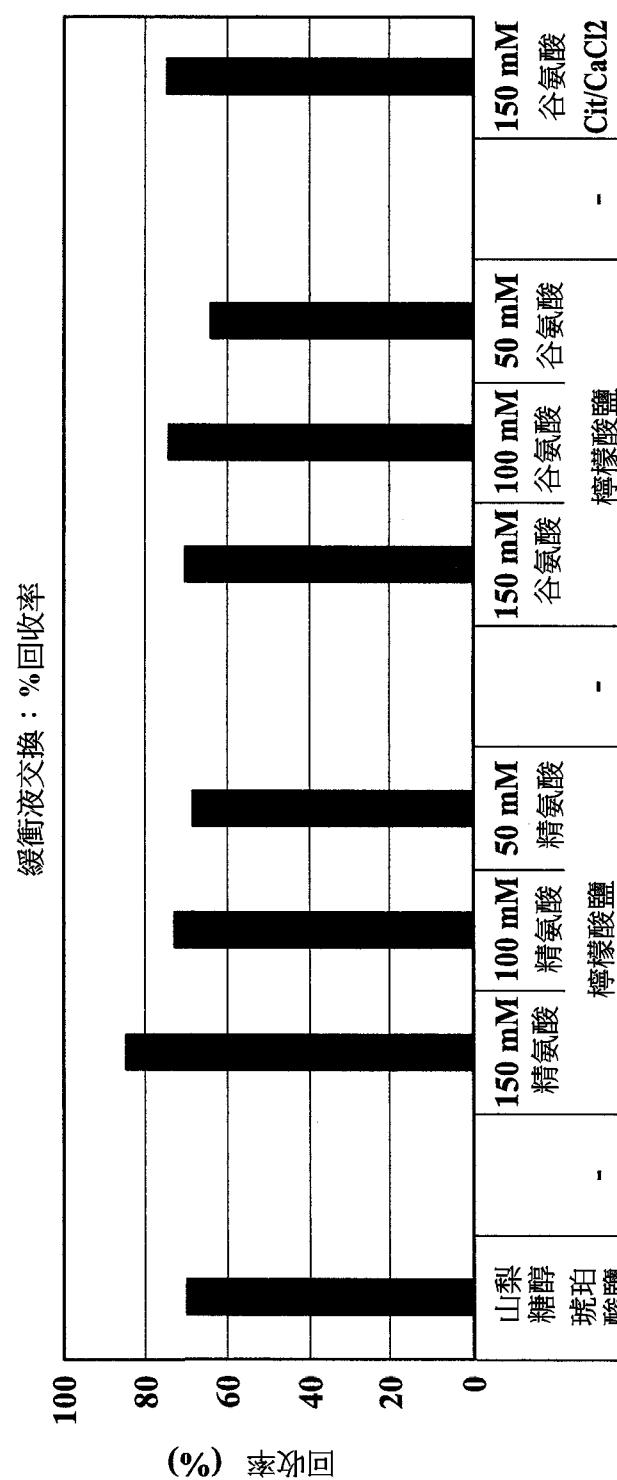


*: 多模態

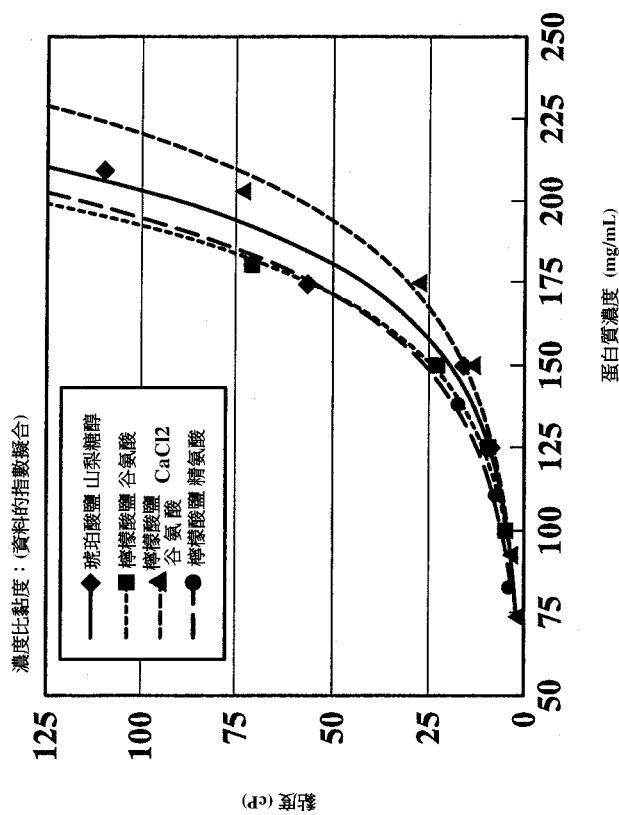
【圖 2B】



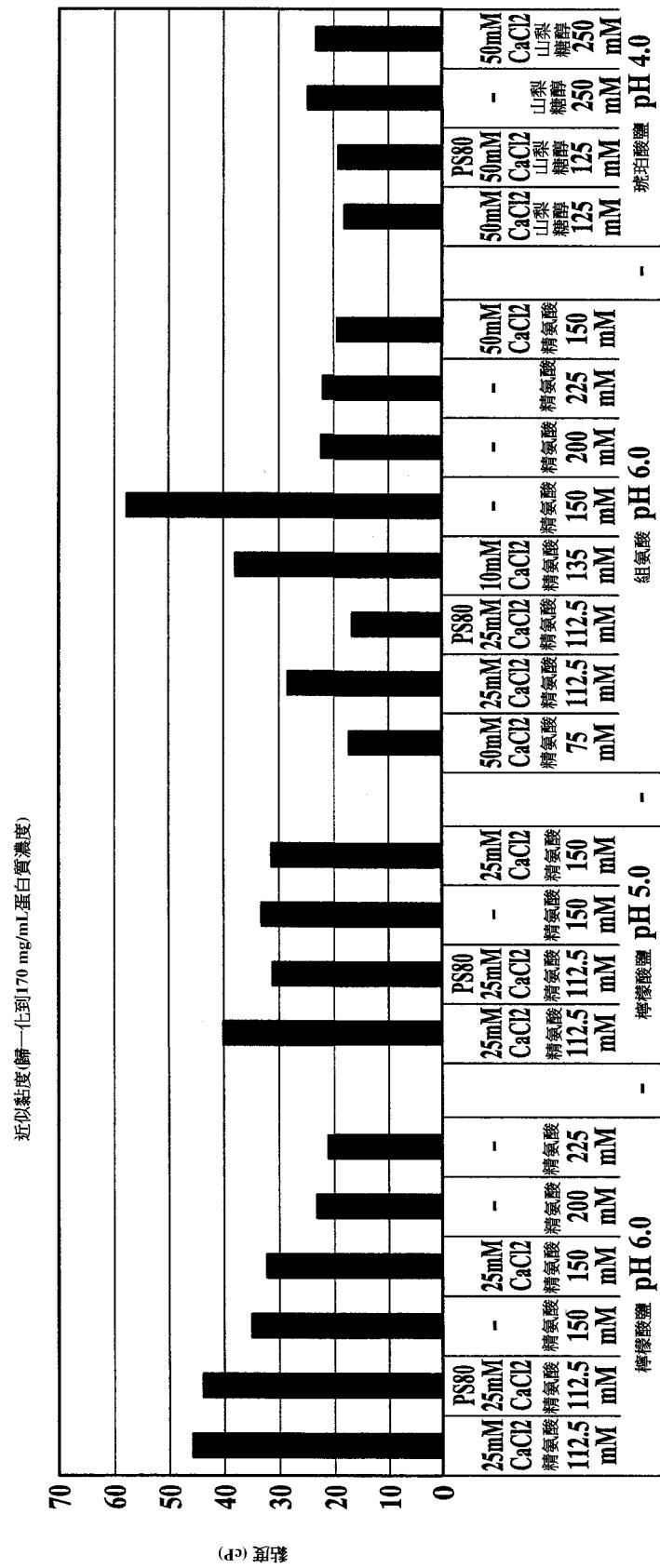
【圖 3】



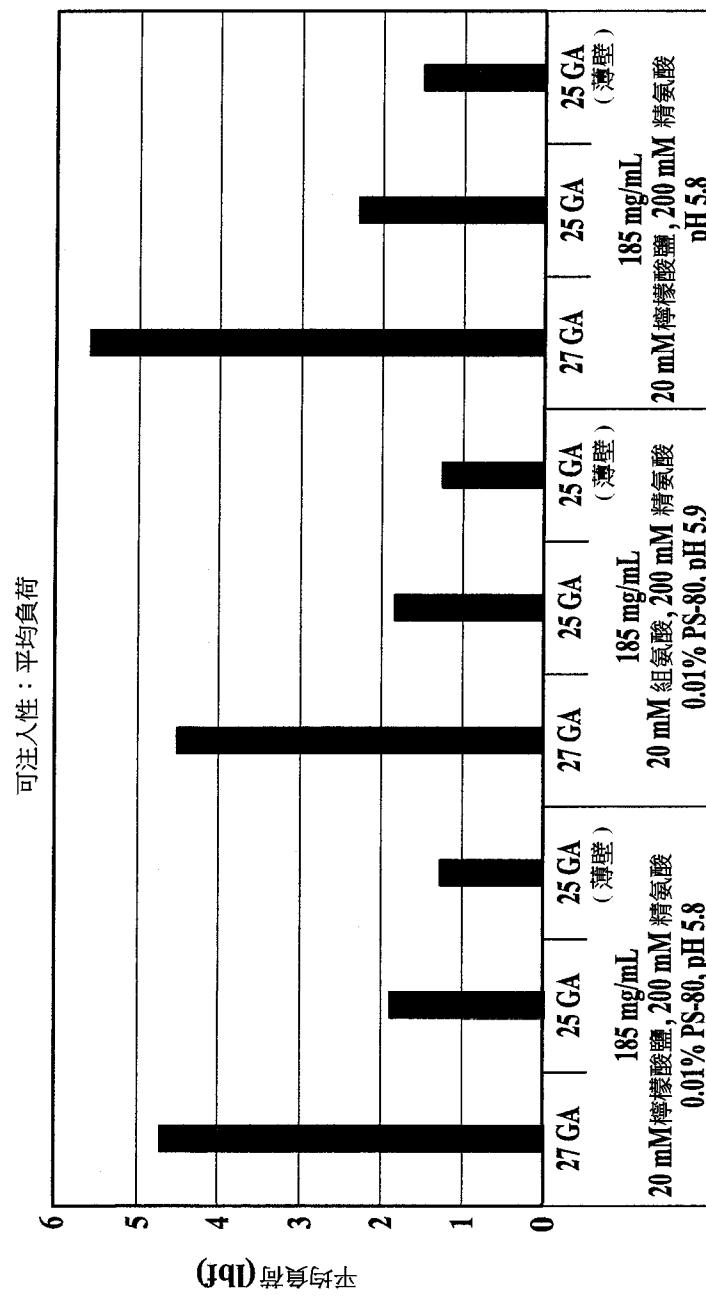
【圖 4】



【圖 5】

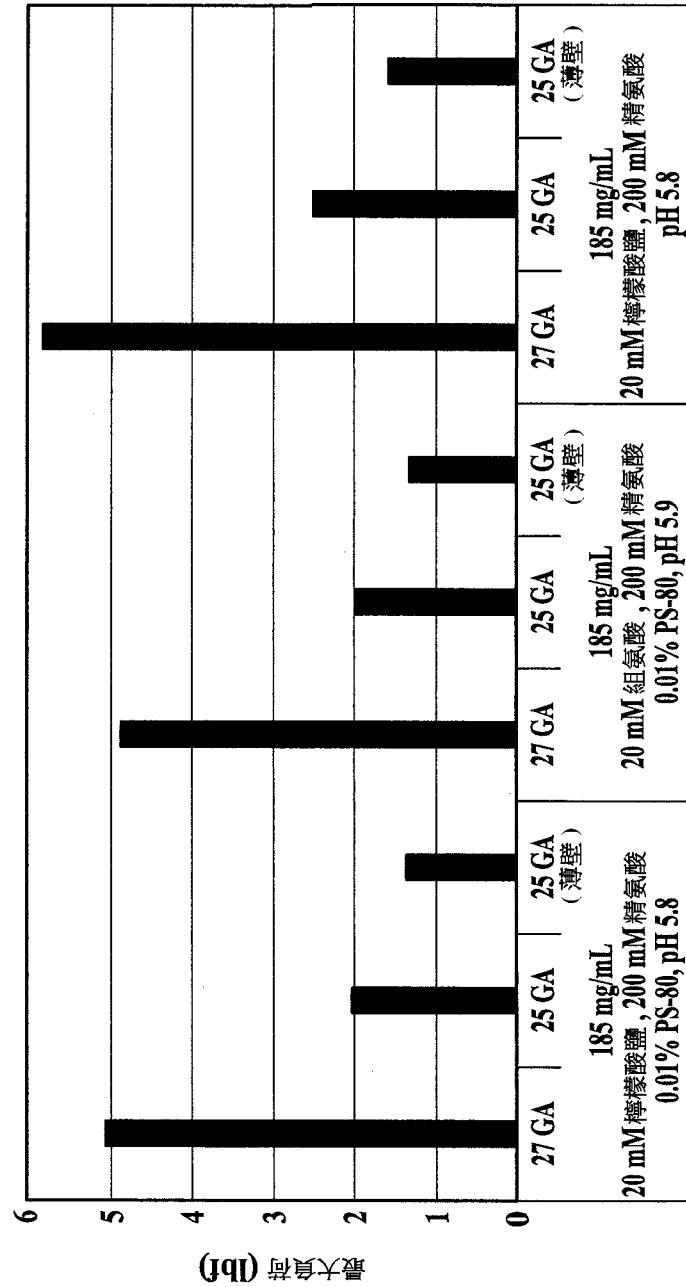


【圖 6】



【圖 7A】

可注入性：最大負荷



【圖 7B】