



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111093635 A

(43)申请公布日 2020.05.01

(21)申请号 201880059373.2

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

(22)申请日 2018.09.11

11105

(30)优先权数据

17192260.2 2017.09.20 EP

代理人 曹立莉

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

(51)Int.Cl.

2020.03.12

A61K 9/16(2006.01)

A61K 39/00(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2018/074520 2018.09.11

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/057562 EN 2019.03.28

(71)申请人 蒂洛特斯制药股份有限公司

地址 瑞士莱茵费尔登

(72)发明人 F.瓦朗 L.冯罗乔 C.韦策尔

R.布拉沃

权利要求书2页 说明书43页 附图11页

(54)发明名称

通过溶液/混悬液层积制备包含抗体的固体制剂

(57)摘要

本发明涉及：一种用于通过溶液/混悬液层积以制备速释和缓释固体制剂的方法，该固体制剂包含抗体及其功能性片段，可选地使用迟释包衣对该速释和缓释固体制剂进行包衣；通过该方法制备的固体制剂；以及该固体制剂在患者胃肠道的局部治疗中的用途。

1. 一种用于制备固体制剂的方法,所述固体制剂包括:i) 惰性芯单元;和ii) 药物包衣,所述药物包衣包括至少一种作为活性剂的抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂,并通过药物层积而沉积在所述惰性芯单元上;所述方法包括以下步骤:

a) 作为水溶液或混悬液而制备活性剂包衣液,所述活性剂包衣液包括所述至少一种抗体或其功能性片段、所述缓冲剂和所述至少一种聚合物粘合剂;

b) 利用喷雾包衣从而用所述活性剂包衣液层积所述惰性芯单元;

c) 与步骤b) 同时或在步骤b) 完成之后,将湿药物层积的惰性芯单元干燥,以产生干燥的固体制剂。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括1-50mg/ml的所述至少一种抗体或其功能性片段。

3. 根据前述权利要求中任何项所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括:

i) 0.5-5重量%的抗体或其功能性片段;

ii) 1-20重量%的聚合物粘合剂;和

iii) 0-2重量%的抗粘剂。

4. 根据前述权利要求中任何项所述的方法,其中,在流化床喷雾包衣的过程中,喷嘴处的雾化空气压力低于200kPa,优选为10至100kPa。

5. 根据前述权利要求中任何项所述的方法,其中,在步骤a) 和c) 期间的任何时间,所述至少一种抗体或其功能性片段的温度低于所述至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。

6. 根据前述权利要求中任何项所述的方法,其中,所述药物包衣中的所述聚合物粘合剂选自羟丙基甲基纤维素(HPMC)、甲基纤维素(MC)、羟丙基纤维素(HPC)、聚乙二醇聚乙烯醇接枝共聚物、聚乙烯基吡咯烷酮(PVP)及其组合。

7. 根据前述权利要求中任何项所述的方法,其中,所述药物包衣适合于所述活性剂的速释,并且其中,所述湿药物层积的惰性芯单元与步骤b) 同时使用流化床的进气流进行干燥,并且其中,所述进气温度最高60°C。

8. 根据权利要求1至5中任何项所述的方法,其中,所述药物包衣中的所述聚合物粘合剂包括至少一种缓释聚合物粘合剂,并且其中,在步骤b) 完成后将所述湿药物层积的惰性芯单元在不高于65°C、优选最高60°C的温度下干燥。

9. 根据权利要求8所述的方法,其中,所述至少一种缓释聚合物粘合剂(S)和所述至少一种抗体或其功能性片段(A)以S/A(w/w)为0.5至100的比率存在于所述活性剂包衣液中。

10. 根据以上权利要求中任何项所述的方法,在步骤c) 之后进一步包括如下步骤:

d) 通过使用喷雾包衣、优选流化床喷雾包衣将步骤c) 的所述固体制剂与缓释包衣液层积,从而以缓释包衣的形式施加至少一种额外的包衣,然后使用流化床或烘箱干燥湿的层积的固体制剂。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中,相对于所述缓释包衣液的总重量,所述缓释包衣液包括5-20重量%的缓释聚合物,并且其中,相对于步骤d) 之前的固体制剂,步骤d) 之后的固体制剂包括2.5-25重量%的聚合物增重。

12. 根据权利要求8至11中任何项所述的方法,其中,所述至少一种缓释的聚合物粘合剂和/或所述缓释的聚合物选自由以下组成的组:聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1;聚

(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1;聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1;聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2;乙基纤维素;聚乙酸乙烯酯;及其组合。

13. 根据权利要求8至12中任何项所述的方法,其中,所述活性剂包衣液和/或所述缓释包衣液进一步包括抗粘剂、表面活性剂、填料、增塑剂和/或聚结剂。

14. 根据权利要求13所述的方法,其中,所述活性剂包衣液和/或所述缓释包衣液包括相对于所述活性剂包衣液中的聚合物粘合剂固体和/或所述缓释包衣液中的聚合物固体的总重量的5-50重量%的抗粘剂、10-30重量%的增塑剂和/或2-15重量%的聚结促进剂,和/或相对于所述活性剂包衣液和/或所述缓释包衣液的总重量的0.01-2重量%的表面活性剂。

15. 根据前述权利要求中任何项所述的方法,其中,所述至少一种抗体或其功能性片段选自:对肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 具有特异性的抗体及其功能性片段、对 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白具有特异性的抗体及其功能性片段、对CD3、CD4或CD20具有特异性的抗体及其功能性片段、对白介素6 (IL-6)、白介素12 (IL-12)、白介素13 (IL-13)、白介素23 (IL-23) 或对其受体具有特异性的抗体及其功能性片段、对CXCL10/IP-10具有特异性的抗体及其功能性片段,和对p40蛋白亚基具有特异性的抗体及其功能性片段。

16. 根据前述权利要求中任一项所述的方法,如果施加了至少一种缓释包衣形式的额外的包衣作为步骤d),在步骤c)之后或在步骤d)之后进一步包括施加至少一种迟释包衣的形式的额外包衣的步骤,其中,所述固体制剂用于口服。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中,所述迟释包衣包括选自由以下组成的组中的至少一种组分:聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯,乙酸偏苯三酸纤维素,羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯HP-50、HP-55或HP-55S,乙酸邻苯二甲酸纤维素,羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯(HPMCAS),聚(甲基丙烯酸,丙烯酸乙酯)1:1 (Eudragit $\circledR$  L100-55, Eudragit $\circledR$  L30D-55),聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:1 (Eudragit $\circledR$  L-100, Eudragit $\circledR$  L12.5),聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:2 (Eudragit $\circledR$  S-100, Eudragit $\circledR$  S12.5, Eudragit $\circledR$  FS30D),硫酸软骨素,果胶,瓜尔胶,壳聚糖,菊粉,乳果糖,棉子糖,水苏糖,海藻酸盐,右旋糖酐,黄原胶,刺槐豆胶,阿拉伯半乳聚糖,直链淀粉,环糊精,普鲁兰多糖,角叉菜胶,硬葡聚糖,甲壳素,凝胶多糖,果聚糖,支链淀粉,淀粉,抗性淀粉,由偶氮键分裂细菌分解的偶氮化合物,及其组合。

18. 根据权利要求16或17所述的方法,其中,当口服施用所述固体制剂时,所述抗体或其功能性片段的释放开始于回肠末端、回结肠区、升结肠、横结肠或降结肠。

19. 一种通过根据权利要求1至18中任何项所述的方法制备的固体制剂。

20. 根据权利要求19所述的固体制剂,其用于治疗患有胃肠道疾病的患者。

## 通过溶液/混悬液层积制备包含抗体的固体制剂

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种通过溶液/混悬液层积制备速释和缓释固体制剂的方法,所述固体制剂包含抗体及其功能性片段,可选地使用迟释包衣对该速释和缓释固体制剂进行包衣;通过该方法制备的固体制剂;以及该固体制剂在患者胃肠道的局部治疗中的用途。

### 背景技术

[0002] 通过各种方法制备的不同药物组合物已经被提出,并且在某些情况下实现了包含生物活性多肽如酶或激素的药物组合物。此类生物活性多肽,特别是具有抗原结合活性的大型多肽(large polypeptides),例如抗体及其功能性片段,由于其固有性质而对其环境的任何变化敏感,从而引起固有的不稳定性。因此,由于这些抗体在产生治疗应用时的使用量的高昂的费用,在掺入药物组合物中时确保其稳定性和活性以及治疗上有效的释放是非常具有挑战性和仍然极其重要的。通常,抗体固有的不稳定性与它们是否用于制备液体、凝胶状、半固体、固体或任何其他形式的药物组合物无关。但是,特别是对于固体制剂,制剂中的许多加工步骤可能不利于抗体或其功能性片段的稳定性和活性。

[0003] 对于计划用于肠内给药的药物组合物,固体制剂的使用是非常普遍的。近年来,包含生物活性多肽的固体制剂的肠内给药,特别是口服给药,变得越来越重要,因为它除了可以用于全身治疗外,还可以用于局部治疗胃肠道疾病的症状,例如炎症性肠病(IBD)、大肠癌、腹泻或微生物感染。

[0004] 在掺入固体制剂期间,许多因素可能影响化学和物理稳定性,从而影响大型生物活性多肽的活性,例如抗体及其功能性片段的活性。大型多肽的化学不稳定性,例如以碎片、氧化、脱氨基、异构化、二硫键形成或形成酸性/碱性物质的形式直接受到固体制剂中所用赋形剂的影响,以及制备过程中及以后的pH、物理应力和温度固体制剂的储存。剪切、温度变化或在制备和后期存储过程中的高压可能导致物理不稳定性(例如变性、聚集或吸附等形式)发生。例如,已经表明,高于55°C的适度升高的温度会引起免疫球蛋白G(IgG)的某些变性,从而影响多肽的完整性,而抗原结合片段(Fab)是对该升高的温度最敏感的一部分(Vermeer等, *Biophys J.*, 2000年1月, 78(1):394-404)。生物不稳定性,例如蛋白水解消化或翻译后修饰的形式,能够由暴露于蛋白酶和其他酶以及其他能够影响大型多肽的完整性的生物学因素而引起的。为了将它们掺入固体制剂中,对大型生物活性多肽(例如抗体及其功能性片段)的加工提出了重大挑战,特别是在选择单个赋形剂方面以及在加工参数方面。除了直接影响大型生物活性多肽的稳定性和活性外,制备固体制剂的方法的选择还将影响所得固体制剂的性质,即其稳定性、完整性、质量和溶解行为。

[0005] 固体制剂可以通过药物层积制备。例如,使用粉末层积的药物层积可以用于将包含活性剂的包衣施加到芯上。使用粉末基层的药物基层涉及使用粉末(例如包含活性剂)例如在包衣锅内通过利用粘合剂液体对芯进行层积。使用粉末层积的药物层积方法是本领域已知的,并且例如公开在US 9,107,804、US.6,354,728或WO 2005/115340中。然而,粉末层积的过程耗时,需要多次重复。粉末层积还具有其他缺点,包括发生芯的团聚,所得层积芯

的不平坦表面和活性剂的低负载。此外,粉末层积需要蛋白质(抗体事先经过喷雾干燥或冻干,这增加了进一步的制造步骤)。

[0006] 另一方面,使用溶液/悬浮层(或包衣)进行的药物层积涉及将溶解或分散在溶剂中的物质沉积在基质表面上。在基质上沉积物质的一种方式是使用喷雾包衣,例如通过空气悬浮液包衣或流化床喷雾包衣。在流化床喷雾包衣中,将一种或多种物质溶解或分散在溶剂形式的液体载体中。然后将该溶液或分散体喷雾包衣到例如悬浮在流化床喷雾包衣机的流化床中的惰性芯(蔗糖或微晶纤维素球等)。流化床喷雾包衣在本领域中是已知的,用于将功能性包衣施加到芯单元上,芯单元可选地包含活性剂。在此上下文中,功能性包衣可以是指密封包衣,例如用于保护芯免受机械和化学应力的作用,或者是指缓释包衣,例如用于更改芯中所含活性剂的释放时间或释放速率(例如缓释包衣或迟释包衣)。通过流化床喷雾包衣来施加功能包衣的这种方法公开在例如WO 2004/062577、EP 1684729、WO 2005/046561或WO 2005/115340中。

[0007] 使用溶液/混悬液层积的药物层积允许制备具有均匀大小分布和光滑表面形态的固体制剂。与制备固体制剂的其他方法例如粉末层积相比,使用喷雾包衣的药物层积因此具有确保一致且可再现的药物溶解的潜力,这对于缓释固体制剂是特别期望的。使用对物理和化学应力低敏感性的较小分子形式的活性剂的溶液/悬浮层积的药物层积方法在本领域中是已知的,并且包括例如EP1643977、W02004/062577、EP1037968或EP1643977中公开的那些,以及诸如Sporanox®或Entocort®的商业化产品。

[0008] 使用本领域已知的溶液/混悬液层积的这些药物层积方法往往不适合与抗体及其功能性片段一起使用。特别地,包括进气温度、搅拌、流速、雾化压力和干燥温度的加工参数可能影响所使用的抗体或其功能性片段的稳定性和活性。而且,抗体或其功能性片段可能与所用的某些赋形剂不相容。最后,在这些方法中用于包衣溶液中的活性剂与赋形剂的质量比可能非常低,因此不允许将足够量的大型生物活性多肽(如抗体及其功能性片段)沉积在基质上,用于使用固体制剂向人类患者通过口服或直肠施用治疗有效剂量的抗体及其功能性片段。重要的是,特别是对于抗体及其功能性片段,溶液或混悬液中的高浓度通常不利于抗体及其功能性片段的稳定性和活性。

[0009] 在IBD中,如溃疡性结肠炎或克罗恩氏病那样,要使发炎的结肠粘膜暴露于有效局部治疗的抗体浓度下,抗体必须保持足够的稳定性和活性,直到被目标粘膜吸收为止。为了最小化结肠腔液中的抗体降解(Yadav等,International Journal of Pharmaceutics, 2016.502 (1-2) :第181-187页),缓慢或受控地释放抗体或其功能性片段固体制剂是理想的。这将确保抗体或功能性片段从固体制剂中的释放,其释放速率允许在数小时至一天之内有效吸收到粘膜中并连续提供抗体或其功能性片段。此外,由于其将允许固体制剂在沿着胃肠道内部移动时释放抗体或其功能性片段,因此将允许治疗更大的发炎的粘膜目标区域。然而,通过使用适合于抗体或其功能性片段的延长释放的聚合物(即缓释的聚合物粘合剂),可以进一步减少从固体制剂中抗体或功能性片段的回收率。

[0010] 胃肠道转运,特别是固体制剂的结肠转运,显示出个体间和个体内广泛的变异性(Varum等,Int.J.Pharm., 2010.395 (1-2) :第26-36页)。此外,诸如溃疡性结肠炎或克罗恩氏病的IBD也会影响转运时间。已经显示出,在某些情况下,溃疡性结肠炎中在发炎的粘膜附近的区域中结肠转运延长。因此,制剂在到达发炎的粘膜之前将在那些区域停留更长的

时间。如果未以足够稳定的形式提供抗体,则可能意味着抗体过早降解,导致到达远端结肠粘膜的抗体水平降低。另一方面,在某些情况下可以加速通过发炎区域的转运,这进一步使将抗体有效地递送至回肠和大肠的制剂设计复杂化。

[0011] 由于多颗粒的生物制药优势优于单个单位,例如结肠转运要比单个单位更长,并且在多个小单位中剂量分布更广(Varum等,Int.J.Pharm.,2010.395(1-2):第26-36页),多颗粒药物递送系统将是首选。可以设计这种多颗粒药物递送系统的单个单元以实现持续的抗体释放。

[0012] 因此,需要一种通过药物层积来制备包含抗体或其功能性片段的药物层积的固体制剂的方法,该方法使用于制备固体制剂的抗体或其功能性片段的生物学活性的损失最小。特别地,该方法应使固体制剂的加工时间减至最少,在制备的各个步骤中保持抗体或其功能性片段的稳定性和活性,允许在短时间内或长时间内释放,并减少抗体或其功能性片段与限制抗体回收率的固体制剂其他成分的相互作用。

## 发明内容

[0013] 在测试各种加工条件和赋形剂之后,本发明人发现了一种有利的方法,用于通过药物层积制备包含至少一种抗体或其功能性片段的固体制剂。该方法确保了固体制剂的快速直接制备,保留了用于制备的抗体或其功能性片段的稳定性和活性,并确保以受控方式溶解后可以从固体制剂中回收最佳量的抗体或其功能性片段。此外,该方法允许制备缓释的固体制剂,其确保在限定的时间段内,例如在一天的过程中,从固体制剂中持续和控制释放;用于制备防止在患者胃肠道的靶位点之前释放的迟释口服剂型。

[0014] 因此,本发明提供一种制备固体制剂的新方法,该固体制剂通过药物层积制备,包含至少一种抗体或其功能性片段作为活性剂。本发明涉及在如下项目1-161中定义的主题:

[0015] [1]一种固体制剂的制备方法,所述固体制剂包括:i)惰性芯单元;以及ii)通过药物层积而沉积在惰性芯单元上的药物包衣,所述药物包衣包含至少一种作为活性剂的抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂;该方法包括以下步骤

[0016] a)作为水溶液或混悬液制备活性剂包衣液,其包含至少一种抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂;

[0017] b)通过喷雾包衣,优选流化床喷雾包衣,施用活性剂包衣液对惰性芯单元进行层积;以及

[0018] c)与步骤b)同时或在步骤b)完成后,干燥湿药物层积的惰性芯单元,以产生干燥的固体制剂。

[0019] [2]根据项目1所述的方法,其中在步骤a)期间,在添加至少一种聚合物粘合剂之前或之后,将粉末形式的至少一种抗体或其功能性片段添加到水溶液或混悬液中。

[0020] [3]根据项目1或2所述的方法,其中将至少一种抗体或其功能性片段溶解在步骤a)的活性剂包衣液中。

[0021] [4]根据项目1至3中任一项所述的方法,其中所述活性剂包衣液是水性混悬液,其中所使用的溶剂的100%是水。

[0022] [5]根据前述项目中任一项所述的方法,其中在步骤b)期间使用流化床喷雾包衣或锅式喷雾包衣,优选流化床喷雾包衣。

[0023] [6]根据前述项目中任一项所述的方法,其中使用顶喷或底喷流化床喷雾包衣机将活性剂包衣液喷雾包衣到惰性芯单元上。

[0024] [7]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述活性剂包衣液包含0.01-100mg/ml、优选0.1-50mg/ml、更优选0.5-50mg/ml、进一步更优选1-50mg/ml、进一步更优选1-30mg/ml、进一步更优选1-25mg/ml、进一步更优选5-25mg/ml、最优选约25mg/ml、或者最优选约15mg/ml的至少一种抗体或其功能性片段。

[0025] [8]根据前述项目中任一项所述的方法,其中相对于活性剂包衣液中聚合物粘合剂固体的总重量,所述活性剂包衣液包含5-300重量%、优选20-200重量%、更优选50-150重量%、进一步更优选50-115重量%、进一步更优选85-115重量%、最优选约90-105重量%、或者最优选约45-60重量%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0026] [9]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述活性剂包衣液包括:

[0027] i) 0.001-10重量%、优选0.01-7重量%、更优选0.05-5重量%、进一步更优选0.1-3.5重量%、进一步更优选0.5-2.5重量%、最优选约1.4重量%、或者最优选约4.7重量%的至少一种抗体或其功能片段;

[0028] ii) 0.1-20重量%、优选0.5-10重量%、更优选1-5重量%、进一步更优选1-3重量%、进一步更优选2-3重量%、最优选约2.5重量%的聚合物粘合剂,或者最优选约7-7.5重量%的聚合物粘合剂;以及

[0029] iii) 0-5重量%、优选0.01-3重量%、更优选0.1-2重量%、进一步更优选0.1-1重量%、进一步更优选0.2-0.6重量%、最优选约0.25重量%的抗粘剂。

[0030] [10]根据项目9所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括:

[0031] i) 0.5-5重量%的抗体或其功能性片段;

[0032] ii) 1-5重量%的聚合物粘合剂;和

[0033] iii) 0-1.25重量%的抗粘剂。

[0034] [11]根据项目9所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括:

[0035] i) 0.5-2.5重量%的抗体或其功能性片段;

[0036] ii) 1-3重量%的聚合物粘合剂;和

[0037] iii) 0.2-0.6重量%的抗粘剂。

[0038] [12]根据项目9所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括:

[0039] i) 约2.5重量%的抗体或其功能性片段;

[0040] ii) 约2.5重量%的聚合物粘合剂;和

[0041] iii) 约0.25重量%的抗粘剂。

[0042] [13]根据项目9所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括:

[0043] i) 约1.5重量%的抗体或其功能性片段;

[0044] ii) 约2.5重量%的聚合物粘合剂;和

[0045] iii) 约0.25重量%的抗粘剂。

[0046] [14]根据项目9所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括:

[0047] i) 0.01-5重量%的抗体或其功能性片段;

[0048] ii) 0.5-10重量%的聚合物粘合剂;和

[0049] iii) 0.01-5重量%的抗粘剂。

- [0050] [15]根据项目9所述的方法,其中,所述活性剂包衣液包括:
- [0051] i) 0.5重量%的抗体或其功能性片段;
- [0052] ii) 1-3重量%的聚合物粘合剂;和
- [0053] iii) 0.2-0.6重量%的抗粘剂。
- [0054] [16]根据前述项目中任一项所述的方法,其中活性剂包衣液包含0.01-20重量%、优选0.1-10重量%、更优选0.5-5重量%、进一步更优选1-5重量%、最优选约4.5%重量、或者最优选约15%重量的缓冲剂。
- [0055] [17]根据前述项目中任一项所述的方法,其中在喷雾包衣过程中,喷嘴处的雾化气压低于200kPa,优选为100kPa,更优选为10至100kPa,进一步更优选为10至50kPa,进一步更优选25至50kPa,进一步更优选为约25kPa。
- [0056] [18]根据前述项目中任一项所述的方法,其中使用流化床喷雾包衣机,并且在所述喷雾包衣机中,进气温度低于65°C,优选为25°C至60°C,更优选为35°C至55°C,进一步更优选40°C至50°C,进一步更优选42°C至50°C。
- [0057] [19]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述活性剂包衣液包含0.1-20重量%、优选0.5-10重量%、更优选0.5-5重量%、进一步更优选1-5重量%、进一步更优选地为1-3重量%、进一步更优选地为约2.5重量%、或者最优选地为约7-7.5重量%的聚合物粘合剂。
- [0058] [20]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述惰性芯单元是惰性小丸、微型片剂、片剂、颗粒、芯、珠、微型球或球。
- [0059] [21]根据前述项目中任一项所述的方法,其中惰性芯单元包含单糖、二糖、寡糖、多糖、二氧化硅、酒石酸、碳酸钙或其组合作为主要成分。
- [0060] [22]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述惰性芯单元是具有至少0.6、优选至少0.7、更优选至少0.8、进一步更优选至少0.9、进一步更优选至少0.95的球形度的小丸。
- [0061] [23]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述惰性芯单元是颗粒,其中值粒径为50-10000μm、优选为100-3000μm、更优选为350-2000μm、进一步更优选为500-1500μm、最优选为700-1200μm。
- [0062] [24]根据前述项目中任一项所述的方法,其中惰性芯单元是具有粒度分布的小丸,使得至少85%的小丸具有50-3000μm、优选100-1500μm、更优选350-1400μm、进一步更优选500-1200μm、最优选700-1200μm的粒度。
- [0063] [25]根据前述项目中任一项所述的方法,其中惰性芯单元是包含由微晶纤维素、蔗糖、淀粉、甘露醇、碳酸钙、二氧化硅、酒石酸、乳糖或其组合组成的球的小丸。
- [0064] [26]根据前述项目中任一项所述的方法,其中惰性芯单元是包含由微晶纤维素组成的球的小丸。
- [0065] [27]根据前述项目中任一项所述的方法,其中惰性芯单元在药理学上是惰性的,并且包含单糖、二糖、寡糖、多糖、二氧化硅、酒石酸或其组合作为主要成分。
- [0066] [28]根据项目1-27中任一项所述的方法,其中惰性芯单元是由微晶纤维素、蔗糖、淀粉甘露醇、碳酸钙、二氧化硅、酒石酸、乳糖或其组合组成的球形的小丸,优选由微晶纤维素组成的球形的小丸。

- [0067] [29]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述惰性芯单元是药学非活性的。
- [0068] [30]根据项目1-26中任一项所述的方法,其中所述惰性芯单元包含至少一种活性剂。
- [0069] [31]根据项目30所述的方法,其中所述至少一种活性剂为至少一种抗体或其功能性片段的形式。
- [0070] [32]根据项目31所述的方法,其中所述至少一种抗体或其功能性片段与所述药物包衣中的所述至少一种抗体相同或不同。
- [0071] [33]根据项目30-32中任一项所述的方法,其中当将固体制剂浸入水性环境中时,惰性芯单元的至少一种活性剂与在药物包衣中的至少一种抗体同时释放。
- [0072] [34]根据项目30-32中任一项所述的方法,其中当将固体制剂浸入水性环境中时,惰性芯单元的至少一种活性剂的释放比药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段更晚开始和/或以较快/较慢的释放速率开始。
- [0073] [35]根据项目20至35中任一项所述的方法,其中所述小丸包含沉积在所述球体上的包衣(例如,密封包衣)。
- [0074] [36]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述药物包衣中的聚合物粘合剂选自羟丙基甲基纤维素(HPMC);甲基纤维素(MC);聚乙烯基吡咯烷酮(PVP);羟丙基纤维素(HPC);聚乙二醇(乙烯醇)接枝共聚物(例如Kollidon® IR);及其组合;优选HPMC或MC;更优选HPMC。
- [0075] [37]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述药物包衣中的聚合物粘合剂适用于速释药物包衣。
- [0076] [38]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述湿药物层积的惰性芯单元与步骤b)同时干燥,优选使用流化床的进气流干燥。
- [0077] [39]根据项目38所述的方法,其中入口空气的温度最高为65℃,优选最高为60℃,更优选最高为55℃,更优选为40至50℃,进一步更优选为约45℃。
- [0078] [40]根据项目1-35中任一项所述的方法,其中所述药物包衣中的聚合物粘合剂包括至少一种缓释的聚合物粘合剂。
- [0079] [41]根据项目40所述的方法,其中所述药物包衣中的聚合物粘合剂适合于缓释药物包衣。
- [0080] [42]根据项目40或41所述的方法,其中将至少一种缓释的聚合物粘合剂以水混悬液(水分散体)的形式加入到活性剂包衣液中。
- [0081] [43]根据项目40或42中任一项所述的方法,其中在步骤b)完成之后将湿药物层积的惰性芯单元干燥。
- [0082] [44]根据项目43所述的方法,其中干燥温度不高于65℃,优选不高于60℃,更优选不高于55℃,并且干燥优选在烘箱或流化床设备中进行,更优选在大型流化床设备中进行。
- [0083] [45]根据项目43或44所述的方法,其中将所述湿药物层积的惰性芯单元干燥30分钟至30小时,优选干燥约30分钟至24小时。
- [0084] [46]根据项目40至45中任一项所述的方法,其中所述至少一种缓释聚合物粘合剂选自由以下组成的组:聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit® NM 30D,Eudragit® NE 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:

2:0.1(例如Eudragit®RS 30D)；聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit®RL 30D)；乙基纤维素(例如Surelease®或Aquacoat®ECD),聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat®SR 30D)；及其组合。

[0085] [47]根据项目40至46中任一项所述的方法,其中所述至少一种缓释聚合物粘合剂与所述至少一种抗体或其功能性片段的比率(w/w)改变了所述至少一种抗体或功能性片段的释放速率,使得该比率越高,释放速率越慢。

[0086] [48]根据项目40至47中任一项所述的方法,其中所述至少一种缓释聚合物粘合剂(S)和所述至少一种抗体或其功能性片段(A)以S/A(w/w)为0.5至100、优选10至30、更优选15至25的比率存在于所述活性剂包衣液中。

[0087] [49]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述活性剂包衣液还包含抗粘剂。

[0088] [50]根据项目49所述的方法,其中所述抗粘剂选自胶体二氧化硅、中孔二氧化硅、甘油单硬脂酸酯(GMS)、硬脂酸、硬脂酸镁和滑石,优选中孔二氧化硅或GMS,更优选中孔二氧化硅。

[0089] [51]根据项目49或50所述的方法,其中相对于所述聚合物粘合剂固体的总重量,所述活性剂包衣液包含0.1-50重量%、优选1-30重量%、更优选10-20重量%或5-50重量%的抗粘剂。

[0090] [52]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述活性剂包衣液还包含增塑剂。

[0091] [53]根据项目52所述的方法,其中所述增塑剂选自柠檬酸三乙酯(TEC)、聚乙二醇、乙酰基柠檬酸三乙酯、柠檬酸丁酯、聚山梨酸酯、1,2-聚丙二醇和癸二酸二丁酯(DBS)。

[0092] [54]根据项目52或53所述的方法,其中相对于活性剂包衣液中的聚合物粘合剂固体的总重量,活性剂包衣液包含5-35重量%、优选10-30重量%、更优选约20-25重量%的增塑剂。

[0093] [55]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述活性剂包衣液包含聚结促进剂。

[0094] [56]根据项目55所述的方法、其中所述聚结促进剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯28、聚山梨酯40、聚山梨酯60、聚山梨酯65、聚山梨酯80、聚山梨酯81、聚山梨酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、脂肪醇(如鲸蜡醇或油醇)、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚环氧乙烷、烷基糖苷、烷基多糖苷、辛基葡萄糖苷、癸基麦芽糖苷、单月桂酸丙二醇酯(例如月桂二醇90)及其组合,优选聚山梨酸酯,例如聚山梨酸酯20、28、40、60、65、80、81和85；泊洛沙姆,例如泊洛沙姆124、181、188、237、331、338和407；烷基聚葡萄糖苷(例如辛基葡萄糖苷和癸基麦芽糖苷)；或单月桂酸丙二醇酯(例如月桂二醇90)；更优选丙二醇单月桂酸酯(例如月桂二醇90)。

[0095] [57]根据项目55或56所述的方法,其中相对于活性剂包衣液中的聚合物粘合剂固体的总重量,所述活性剂包衣液包含1-20重量%、优选2-15重量%、更优选5-10重量%的聚结促进剂。

[0096] [58]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述缓冲剂(缓冲盐)选自乙酸盐缓

冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂、磷酸盐缓冲剂、羟甲基氨基甲烷 (TRIS) 缓冲剂及其组合, 优选为在与至少一种抗体或其功能性片段相容的 pH 下的缓冲剂, 或者优选在生理 pH 下的缓冲剂。

[0097] [59] 根据前述项目中任一项所述的方法, 其中所述固体制剂是小丸、珠、球、微球、颗粒、片剂或微型片剂, 优选小丸。

[0098] [60] 根据前述项目中任一项所述的方法, 其中步骤 c) 之后的药物包衣的平均厚度为 0.5–300 μm, 优选 0.5–100 μm, 更优选 1–50 μm, 进一步更优选 1–30 μm。

[0099] [61] 根据前述项目中任一项所述的方法, 其中步骤 c) 之后的药物包衣和干燥的固体制剂包含 0.01–25 重量 %、优选 0.05–15 重量 %、更优选 0.1–10 重量 %、进一步更优选 0.5–5 重量 %, 进一步更优选 0.7–3 重量 %, 进一步更优选 0.9–2.5 重量 % 的至少一种抗体或其功能性片段。

[0100] [62] 根据前述项目中任一项所述的方法, 其中相对于干燥的药物包衣的总重量, 所述药物包衣包含 0.5–60 重量 % 的抗体或其功能性片段, 1–90 重量 % 的粘合剂, 0.001–70 重量 % 的缓冲剂和 0–20 重量 % 的抗粘剂; 优选 5–50 重量 % 的抗体或其功能性片段, 10–90 重量 % 的粘合剂, 0.1–60 重量 % 的缓冲剂和 0–15 重量 % 的抗粘剂; 更优选 10–50 重量 % 的抗体或其功能性片段, 20–85 重量 % 的粘合剂, 0.1–60 重量 % 的缓冲剂和 0.5–10 重量 % 的抗粘剂; 最优选 20–50 重量 % 的抗体或其功能性片段, 30–80 重量 % 粘合剂, 1–60 重量 % 缓冲剂和 0–8 重量 % 抗粘剂。

[0101] [63] 根据前述项目中任一项所述的方法, 还包括在步骤 c) 之后的如下步骤:

[0102] d) 通过喷雾包衣, 优选流化床喷雾包衣, 用缓释包衣液层积步骤 c) 的固体制剂从而施加至少一种缓释包衣形式的额外包衣, 然后干燥湿的层积的固体制剂, 优选使用流化床或烘箱。

[0103] [64] 根据项目 63 所述的方法, 其中所述缓释包衣液包含至少一种选自聚(丙烯酸乙酯, 甲基丙烯酸甲酯) 2:1 (例如, Eudragit® NM 30D, Eudragit® NE 30D); 聚(丙烯酸乙酯, 甲基丙烯酸甲酯, 甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵) 1:2:0.1 (例如 Eudragit® RS 30D); 聚(丙烯酸乙酯, 甲基丙烯酸甲酯, 甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵) 1:2:0.2 (例如 Eudragit® RL 30D); 乙基纤维素 (例如 Surelease® 或 Aquacoat® ECD), 聚乙酸乙烯酯 (例如 Kollicoat® SR 30D); 及其组合的缓释聚合物。

[0104] [65] 根据项目 63 或 64 所述的方法, 其中相对于步骤 d) 之前的固体制剂, 步骤 d) 之后的固体制剂包括 1–35 重量 %、优选 2.5–25 重量 %、例如 4.5–25 重量 %、5–20 重量 % 或 10–20 重量 % 的聚合物增重。

[0105] [66] 根据项目 63–65 中任一项所述的方法, 其中相对于缓释包衣液的总重量, 所述缓释包衣液包含 0.1–20 重量 %、优选 1–15 重量 %、更优选 2–10 重量 %、进一步更优选 5–10 重量 %、进一步更优选 6–9 重量 %、例如约 7–9 重量 %、约 6–8.5 重量 %、6.5–8 重量 %、约 7–7.5 重量 % 或约 8 重量 % 的缓释聚合物。

[0106] [67] 根据项目 63–66 中任一项所述的方法, 其中在步骤 d) 中, 在干燥期间, 流化床或烘箱的温度为 40–65 °C, 优选为约 40–60 °C。

[0107] [68] 根据项目 63–67 中任一项所述的方法, 其中所述缓释包衣液还包含抗粘剂。

[0108] [69] 根据项目 63–68 中任一项所述的方法, 其中所述缓释包衣液还包含增塑剂。

[0109] [70]根据项目63-69中任一项所述的方法,其中所述增塑剂选自柠檬酸三乙酯(TEC)、聚乙二醇、乙酰基柠檬酸三乙酯、柠檬酸丁酯、聚山梨酸酯、1,2-聚丙二醇和癸二酸二丁酯(DBS)。

[0110] [71]根据项目63-70中任一项所述的方法,其中相对于缓释包衣液中缓释聚合物固体的总重量,所述缓释包衣液包含5-35重量%、优选10-30重量%、更优选约20-25重量%的增塑剂。

[0111] [72]根据项目63-71中任一项所述的方法,其中所述缓释包衣液包含聚结促进剂。

[0112] [73]根据项目63-72中任一项所述的方法,其中所述聚结促进剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯28、聚山梨酯40、聚山梨酯60、聚山梨酯65、聚山梨酯80、聚山梨酯81、聚山梨酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、脂肪醇(如鲸蜡醇或油醇)、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚环氧乙烷、烷基糖苷、烷基多糖苷、辛基葡萄糖苷、麦芽糖基癸基糖苷、单月桂酸丙二醇酯(例如月桂二醇90)及其组合,优选聚山梨酸酯,例如聚山梨酸酯20、28、40、60、65、80、81和85;泊洛沙姆,例如泊洛沙姆124、181、188、237、331、338和407;烷基聚葡萄糖苷(例如辛基葡萄糖苷和癸基麦芽糖苷);或单月桂酸丙二醇酯(例如月桂二醇90);更优选丙二醇单月桂酸酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)。

[0113] [74]根据项目63-73中任一项所述的方法,其中相对于缓释包衣液中缓释聚合物固体的总重量,所述缓释包衣液包含1-20重量%、优选2-15重量%、更优选5-10重量%的聚结促进剂。

[0114] [75]根据项目63-74中任一项所述的方法,其中在步骤d)期间在喷雾包衣机中的进气温度不高于65°C,优选为35-60°C,并且喷嘴处的雾化压力为25-100kPa。

[0115] [76]根据项目63-75中任一项所述的方法,其中所述至少一种缓释聚合物是聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit<sup>®</sup> RS 30D)或聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit<sup>®</sup> RL 30D)或其混合物,并且其中将湿的层积固体制剂在流化床或烘箱中于35至45°C、优选约40°C干燥30分钟至30小时,优选30分钟至24小时。

[0116] [77]根据项目76所述的方法,其中相对于缓释包衣液的总质量,所述缓释包衣液包含约6-8.5重量%、优选6.5-8重量%、更优选约7-7.5重量%的聚合物。

[0117] [78]根据项目76-77中任一项所述的方法,其中在喷雾包衣期间入口空气温度为约40°C。

[0118] [79]根据项目76-78中任一项所述的方法,其中在喷雾包衣期间,喷嘴处的雾化空气压力为约25至100kPa,优选为25至50kPa。

[0119] [80]根据项目76-79中任一项所述的方法,其中相对于步骤d)之前的固体制剂,步骤d)之后的固体制剂包含16.5-20重量%、优选约19重量%的聚合物增重,并且没有聚结促进剂。

[0120] [81]根据项目76-79所述的方法,其中相对于所述缓释包衣液中的缓释聚合物固

体的总重量,所述缓释包衣液包含5-10重量%的聚结促进剂。

[0121] [82]根据项目81所述的方法,其中所述聚结促进剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯28、聚山梨酯40、聚山梨酯60、聚山梨酯65、聚山梨酯80、聚山梨酯81、聚山梨酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、脂肪醇(例如鲸蜡醇或油醇)、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚环氧乙烷、烷基糖苷、烷基多糖苷、辛基葡萄糖苷、癸基麦芽糖苷、单月桂酸丙二醇酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)及其组合,优选聚山梨酸酯,例如聚山梨酸酯20、28、40、60、65、80、81和85;泊洛沙姆,例如泊洛沙姆124、181、188、237、331、338和407;烷基聚葡萄糖苷(例如辛基葡萄糖苷和癸基麦芽糖苷);或单月桂酸丙二醇酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90);更优选丙二醇单月桂酸酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)。

[0122] [83]根据项目81或82所述的方法,其中相对于步骤d)之前的固体制剂,步骤d)之后的固体制剂包含3-10重量%、优选约5-20重量%的缓释包衣的聚合物增重。

[0123] [84]根据项目81-83中任一项所述的方法,其中将所述湿固体制剂在约40℃下干燥。

[0124] [85]根据项目81-84中任一项所述的方法,其中所述缓释包衣还包含抗粘剂。

[0125] [86]根据项目85所述的方法,其中所述抗粘剂是中孔二氧化硅。

[0126] [87]根据项目85或86所述的方法,其中相对于缓释包衣液中缓释聚合物固体的总重量,所述缓释包衣包含5-25重量%、优选约10重量%的抗粘剂。

[0127] [88]根据项目76-87中任一项所述的方法,其中所述缓释包衣还包含增塑剂,并且其中所述增塑剂优选为DBS或TEC,更优选为TEC。

[0128] [89]根据项目88所述的方法,其中相对于在缓释包衣液中缓释聚合物的总重量,所述缓释包衣包含为5-35重量%、优选为15-25重量%、更优选为约20重量%的增塑剂。

[0129] [90]根据项目63-75中任一项所述的方法,其中所述至少一种缓释聚合物是乙基纤维素水分散体,并且其中将所述湿的层积固体制剂在55至65℃、优选约60℃下干燥至多30小时,优选30分钟至24小时,更优选约30分钟至24小时。

[0130] [91]根据项目90所述的方法,其中相对于所述缓释包衣液的总质量,所述缓释包衣液包含(w/w)6-9重量%、优选约8重量%的聚合物。

[0131] [92]根据项目90或91所述的方法,其中在喷雾包衣过程中使用流化床包衣机,并且其中入口空气温度优选为约55至60℃。

[0132] [93]根据项目90-92中任一项所述的方法,其中在喷雾包衣期间,喷嘴处的雾化空气压力为25至100kPa,优选为约25至50kPa。

[0133] [94]根据项目90-93中任一项所述的方法,其中相对于步骤d)之前的固体制剂,步骤d)之后的固体制剂包含3-30重量%、优选约15-25重量%的缓释包衣,并且没有聚结促进剂。

[0134] [95]根据项目90-94中任一项所述的方法,其中相对于缓释包衣液中的缓释聚合物固体的总重量,缓释包衣液包含5至15重量%、优选约10重量%的聚结促进剂。

[0135] [96]根据项目95所述的方法,其中所述聚结促进剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯28、

聚山梨酯40、聚山梨酯60、聚山梨酯65、聚山梨酯80、聚山梨酯81、聚山梨酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、脂肪醇(例如鲸蜡醇或油醇)、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚环氧乙烷、烷基糖苷、烷基多糖苷、辛基葡萄糖苷、癸基麦芽糖苷、单月桂酸丙二醇酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)及其组合,优选聚山梨酸酯,例如聚山梨酸酯20、28、40、60、65、80、81和85;泊洛沙姆,例如泊洛沙姆124、181、188、237、331、338和407;烷基聚葡萄糖苷(例如辛基葡萄糖苷和癸基麦芽糖苷);或单月桂酸丙二醇酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90);更优选丙二醇单月桂酸酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)。

[0136] [97]根据项目95或96中任一项所述的方法,其中相对于步骤d)之前的固体制剂,步骤d)之后的固体制剂包括3-20重量%的聚合物增重。

[0137] [98]根据项目95-97中任一项所述的方法,其中将湿的固体制剂在约60℃下干燥30分钟至24小时,优选30分钟至10小时。

[0138] [99]根据项目90-98中任一项所述的方法,其中所述缓释包衣还包含增塑剂。

[0139] [100]根据项目99所述的方法,其中所述增塑剂是TEC或DBS,优选DBS。

[0140] [101]根据项目90-100中任一项所述的方法,其中相对于缓释包衣液中的缓释聚合物固体的总重量,所述缓释包衣包含5-35重量%、优选10-25重量%、更优选约25重量%的增塑剂。

[0141] [102]根据项目40-101中任一项所述的方法,其中,当连续搅拌下将固体制剂连续浸入水溶液中时,缓释包衣或药物包衣中的缓释聚合物粘合剂产生至少一种抗体或其片段的释放曲线,其中在4-30小时、优选8-24小时、更优选16-24小时、进一步更优选24小时内,以基本上恒定的释放速率实现至少80%、优选至少90%的至少一种抗体或其片段的缓释。

[0142] [103]根据项目40-102中任一项所述的方法,其中,相对于步骤d)之后的固体制剂总重量的缓释包衣的量或相对于药物包衣总重量的药物包衣中缓释聚合物粘合剂的量与至少一种抗体或其功能性片段从固体制剂中释放的速率直接相关,使得药物包衣中较高量的缓释包衣或较高量的缓释聚合物粘合剂导致释放速率变慢。

[0143] [104]根据前述项目中任一项所述的方法,其中步骤a)中的活性剂包衣液和/或步骤d)中的缓释包衣液包含至少一种表面活性剂。

[0144] [105]根据项目104所述的方法,其中所述活性剂包衣液和/或所述缓释包衣液包含0.005-2.0重量%、0.01-1重量%、更优选0.05-0.8重量%、进一步更优选约0.1-0.5重量%的表面活性剂。

[0145] [106]根据项目104或105所述的方法,其中所述表面活性剂选自聚山梨酸酯20、聚山梨酸酯28、聚山梨酸酯40、聚山梨酸酯60、聚山梨酸酯65、聚山梨酸酯80、聚山梨酸酯81、聚山梨酸酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、鲸蜡醇、油醇、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚(环氧乙烷)、烷基糖苷、烷基多糖

昔、辛基葡萄糖昔、癸基麦芽糖昔及其组合。

[0146] [107]根据前述项目任一项所述的方法,其中步骤a)中的活性剂包衣液和/或步骤d)中的缓释包衣液包含选自抗氧化剂、湿润剂、保护性胶体、染料、填料、蛋白酶抑制剂、渗透促进剂及其组合的至少一种其他赋形剂。

[0147] [108]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述固体制剂包含一定量的所述至少一种抗体或其功能性片段,该量允许将治疗有效剂量的所述至少一种抗体或其功能性片段作为单个单元给药剂量。

[0148] [109]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述功能抗体片段是Fab片段、F(ab')2片段、Fab'片段、scFv、dsFv、VHH、双抗体、三抗体、四抗体、Fc融合蛋白或微型抗体。

[0149] [110]根据前述项目中任一项所述的方法,其中至少一种抗体或其功能性片段选自对肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) 特异的抗体及其功能性片段,对 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白特异的抗体及其功能性片段,对CD3、CD4或CD20特异的抗体及其功能性片段,对白介素6 (IL-6) 、白介素12 (IL-12) 、白介素13 (IL-13) 、白介素23 (IL-23) 或对其受体特异的抗体及其功能性片段,对CXCL10/IP-10特异的抗体及其功能性片段,以及对p40蛋白亚基特异的抗体及其功能性片段。

[0150] [111]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述抗体或其功能性片段适合用于治疗炎性肠病 (IBD) ,例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎。

[0151] [112]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述至少一种抗体或其功能性片段选自英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普、聚乙二醇化赛妥珠单抗、戈利木单抗、维西珠单抗、依地珠单抗、阿布鲁单抗、卡那基单抗、托珠单抗、尤特克单抗、那他珠单抗、etrolizumab、普利珠单抗、维多珠单抗及其功能性片段;选自具有轻链可变域和/或重链可变域的抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段,该轻链可变域和/或重链可变域包括具有如原始提交的PCT/EP2017/056218的权利要求2、PCT/EP2017/056246的权利要求2、PCT/EP2017/056237的权利要求2、和/或PCT/EP2017/056227的权利要求2中公开的氨基酸序列的互补决定区 (CDR) ;选自抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段,该抗体或其功能性片段包括根据原始提交的PCT/EP2017/056218的权利要求4、PCT/EP2017/056246的权利要求5和6、PCT/EP2017/056237的权利要求5和6、和/或PCT/EP2017/056227的权利要求4的重链可变域氨基酸序列和/或轻链可变域氨基酸序列;及其组合。

[0152] [113]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述抗体或其功能性片段选自对TNF $\alpha$ 特异的抗体及其功能性片段。

[0153] [114]根据项目113所述的方法,其中对TNF $\alpha$ 特异的抗体或其功能性片段选自英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普、聚乙二醇化赛妥珠单抗、戈利木单抗及其功能性片段;选自具有轻链可变域和/或重链可变域的抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段,该轻链可变域和/或重链可变域包括具有如原始提交的PCT/EP2017/056218的权利要求2、PCT/EP2017/056246的权利要求2、PCT/EP2017/056237的权利要求2、和/或PCT/EP2017/056227的权利要求2中公开的氨基酸序列的互补决定区 (CDR) ;选自抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段,该抗体或其功能性片段包括根据原始提交的PCT/EP2017/056218的权利要求4、PCT/EP2017/056246的权利要求5和6、PCT/EP2017/056237的权利要求5和6、和/或PCT/EP2017/056227的权利要求4的重链可变域氨基酸序列和/或轻链可变域氨基酸序列;及其组合。

[0154] [115]根据前述项目中任一项所述的方法,其中在步骤a) 和c) 期间的任何时间,至少一种抗体或其功能性片段的温度低于该至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。

[0155] [116]根据前述项目中任一项所述的方法,其中在步骤a) 和c) 期间的任何时间,该抗体或其功能性片段的温度低于65°C,优选不高于60°C,更优选不高于55°C,更优选约45-50°C。

[0156] [117]根据项目63-116中任一项所述的方法,其中步骤d) 在不高于65°C、优选不高于60°C的温度下进行。

[0157] [118]根据项目63-117中任一项所述的方法,其中步骤d) 在低于所述固体制剂中至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )的温度下进行。

[0158] [119]根据项目63-116中任一项所述的方法,其中在步骤a) 和d) 期间的任何时间,所述至少一种抗体或其功能性片段的温度低于所述至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。

[0159] [120]根据项目63-119中任一项所述的方法,其中在步骤d) 期间使用乙基纤维素水分散体,并且其中步骤d) 在低于65°C、优选不高于60°C的温度下进行。

[0160] [121]根据项目63-119中任一项所述的方法,其中在步骤d)期间,使用聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit®RS 30D)或聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit®RL 30D)或其混合物的水分散体,并且其中步骤d) 在低于55°C、优选不高于50°C、更优选不高于45°C的温度下进行。

[0161] [122]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述固体制剂是缓释剂型,当在连续搅拌下将固体制剂连续浸入水溶液中时,其允许在至少5小时、优选至少10小时、更优选至少12小时、进一步更优选至少15小时、进一步更优选至少20小时、最优选至少24小时的时间段内缓释至少一种抗体或其功能性片段。

[0162] [123]根据前述项目中任一项所述的方法,其中在步骤c) 中干燥之后,或在步骤d) (如果施加了至少一种缓释包衣形式的额外包衣作为步骤d))之后,固体制剂中的水分相对于步骤c) 之后或步骤d) 之后的固体制剂的总重量分别小于10重量%、优选小于8重量%、更优选小于5重量%、进一步更优选小于3重量%、进一步更优选小于1.5重量%、最优选小于1重量%。

[0163] [124]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述固体制剂旨在用于口服给药。

[0164] [125]根据前述项目中任一项所述的方法,在步骤c) 之后或在步骤d) (如果施加了至少一种缓释包衣形式的额外包衣作为步骤d))之后,其进一步包括施加至少一种迟释包衣形式的额外包衣的步骤,并且其中所述固体制剂用于口服。

[0165] [126]根据项目125所述的方法,其中所述迟释包衣通过喷雾包衣、优选通过流化床喷雾包衣来施加。

[0166] [127]根据项目125或126所述的方法,其中所述迟释包衣包含至少一种选自pH依赖性崩解的包衣材料、时间依赖性崩解的包衣材料、由于肠内环境中的酶促触发作用而崩解的包衣材料、及其组合的组分。

[0167] [128]根据项目127所述的方法,其中

[0168] -pH依赖性崩解的包衣材料选自聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯;偏苯三酸酯乙酸纤维

素;羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯HP-50、HP-55或HP-55S;邻苯二甲酸乙酸纤维素;羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯(HPMCAS);聚(甲基丙烯酸,丙烯酸乙酯)1:1(Eudragit®L100-55, Eudragit®L30D-55);聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:1(Eudragit®L-100, Eudragit®L12.5);聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:2(Eudragit®S-100, Eudragit®S12.5, Eudragit®FS30D),及其组合;

[0169] -时间依赖性崩解的包衣材料选自聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit®NM 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit®RS 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit®RL 30D);聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat®SR 30D);及其组合;并且

[0170] -由于肠内环境中的酶促触发作用而崩解的包衣材料选自硫酸软骨素;环糊精;果胶;瓜尔胶;壳聚糖;菊粉;乳果糖;棉子糖;水苏糖;海藻酸盐;右旋糖酐;黄原胶;刺槐豆胶;阿拉伯半乳聚糖;直链淀粉;普鲁兰多糖;角叉菜胶;硬葡聚糖;甲壳素;凝胶多糖;果聚糖;支链淀粉;淀粉;抗性淀粉;由偶氮键分裂细菌分解的偶氮化合物;及其组合。

[0171] [129]根据项目125-128中任一项所述的方法,其中所述迟释包衣包含至少一种pH依赖性崩解的包衣材料和至少一种由于肠内环境中的酶促触发作用而崩解的包衣材料的组合。

[0172] [130]根据项目125-129中任一项所述的方法,其中所述迟释包衣包含至少一种肠溶性聚合物和至少一种多糖的组合,所述肠溶性聚合物优选聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:2(例如Eudragit®S),所述多糖选自硫酸软骨素、环糊精、壳聚糖、葡聚糖、阿拉伯半乳聚糖、直链淀粉、普鲁兰多糖、角叉菜胶、硬葡聚糖、甲壳素、凝胶多糖、果聚糖、支链淀粉、淀粉、抗性淀粉及其组合,优选抗性淀粉。

[0173] [131]根据项目125-130中任一项所述的方法,其中所述迟释包衣包括:i)内包衣,所述内包衣包含调节至pH 8的部分中和的肠溶聚合物,例如调节至pH 8的部分中和的聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:2(例如Eudragit®S),并包含缓冲盐,以及ii)外包衣,所述外包衣包含至少一种肠溶性聚合物和至少一种多糖的组合,所述肠溶性聚合物优选聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:2(例如Eudragit®S),所述多糖选自硫酸软骨素、环糊精、壳聚糖、葡聚糖、阿拉伯半乳聚糖、直链淀粉、普鲁兰多糖、角叉菜胶、硬葡聚糖、甲壳素、凝胶多糖、果聚糖、支链淀粉、淀粉、抗性淀粉及其组合,优选抗性淀粉。

[0174] [132]根据项目130或131所述的方法,其中所述至少一种组分,例如至少一种肠溶性聚合物和至少一种多糖的组合,所述肠溶性聚合物优选聚(甲基丙烯酸,甲基丙烯酸甲酯)1:2(例如Eudragit®S),所述多糖选自硫酸软骨素、环糊精、壳聚糖、葡聚糖、阿拉伯半乳聚糖、直链淀粉、普鲁兰多糖、角叉菜胶、硬葡聚糖、甲壳素、凝胶多糖、果聚糖、支链淀粉、淀粉、抗性淀粉及其组合,优选抗性淀粉,分散于有机溶剂、有机溶剂的混合物或有机溶剂和水的混合物种,其例如通过喷雾包衣、优选流化床喷雾包衣施加于所述固体制剂。

[0175] [133]根据项目132所述的方法,其中将该组合分散于至少一种有机溶剂和水的混合物中,该混合物通过混合溶于有机溶剂的肠溶性聚合物与至少一种多糖的水性再分散体来制备。

[0176] [134]根据项目125-133中任一项所述的方法,其中所述迟释包衣通过喷雾包衣、优选流化床喷雾包衣来施加。

[0177] [135]根据项目125-134中任一项所述的方法,其包括用于在末端回肠、回肠结肠区域、升结肠、横结肠或降结肠中开始的至少一种抗体或其功能性片段的靶向释放的迟释包衣。

[0178] [136]根据前述项目中任一项所述的方法,其中以二聚体和其他聚集体形式存在于固体制剂中的抗体或其功能性片段的总含量的比例不超过15%、优选12%、更优选10%、进一步更优选8%、进一步更优选7%、进一步更优选5%、进一步更优选3%、2%或1.5%的在将该抗体或其功能性片段添加至活性剂包衣液中的时间时以二聚体和其他聚集体形式存在的总的抗体或其功能性片段的比例。

[0179] [137]根据前述项目中任一项所述的方法,其中在固体制剂中作为全长抗体的片段或其功能性片段存在的抗体或其功能性片段的总含量的比例与将该抗体或其功能性片段添加至活性剂包衣液中的时间相比基本上没有增加。

[0180] [138]根据前述项目中任一项所述的方法,其中在固体制剂中作为全长抗体的片段或其功能性片段存在的抗体或其功能性片段的总含量的比例不超过15%、优选12%、更优选10%、进一步更优选8%、进一步更优选7%、进一步更优选5%、进一步更优选3%、2%或1.5%的在将该抗体或其功能性片段添加至活性剂包衣液中的时间时以作为全长抗体的片段或其功能性片段存在的总的抗体或其功能性片段的比例。

[0181] [139]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述固体制剂包含速释药物包衣,其允许在连续搅拌下将具有药物包衣作为最外层包衣的固体制剂连续浸没在水溶液中1小时内回收至少70%、优选至少80%、更优选至少90%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少99%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0182] [140]根据前述项目中任一项所述的方法,其中所述药物包衣中的聚合物粘合剂包括至少一种缓释聚合物粘合剂,其在连续搅拌下将该固体制剂连续浸没在水溶液中的4小时、或6小时、或8小时、或10小时、或12小时、或14小时、或16小时、或18小时、或20小时、或22小时、或24小时、或26小时、或28小时、或30小时等时间内允许回收至少为40%、优选至少50%、更优选至少为60%、进一步更优选70%、进一步更优选至少80%、进一步更优选至少85%、进一步更优选至少90%、进一步更优选至少93%、最优选至少95%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0183] [141]根据前述项目中任一项所述的方法,其包括提供多颗粒药物递送系统的额外步骤,该多颗粒药物递送系统例如是袋/棒状包装、吸管装置(XStraw®)、片剂/微型片剂或胶囊,优选包含适合于对人类患者口服施用的至少一种抗体或其功能性片段的总量。

[0184] [142]一种固体制剂,可通过根据项目1至141中任一项所述的方法获得。

[0185] [143]根据项目142所述的固体制剂,用于局部治疗胃肠道疾病,优选IBD、大肠癌、小肠癌、腹腔疾病、胃肠道感染(例如艰难梭菌感染),更优选IBD。

[0186] [144]根据项目143使用的固体制剂,其中IBD为克罗恩氏病或溃疡性结肠炎。

[0187] [145]根据项目142-144中任一项所述的固体制剂,其用于患者的末端回肠、回肠结肠区域、升结肠、横结肠或降结肠的局部治疗。

[0188] [146]一种多颗粒药物递送系统,其包含多种固体制剂,每种固体制剂可通过项目

1-141中任一项的方法获得,其中所述多颗粒药物递送系统优选为袋/棒状包装、吸管装置(XStraw®)、胶囊或片剂/微型片剂。

[0189] [147]一种多颗粒药物递送系统,其包含多个固体制剂单元,每个固体制剂单元包含:i)惰性芯单元,和ii)药物包衣,所述药物包衣包含至少一种抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂,以及任选的抗粘剂和/或表面活性剂,并且每个固体制剂单元优选具有预定的轴和相同的预定横截面轮廓,其中至少80%、优选90%、更优选95%数量的那些固体制剂单元的中位长径比在0.7至1.7之间,长径比定义为沿着预定轴的固体制剂单元的长度除以最小横截面尺寸。

[0190] [148]根据项目147所述的多颗粒药物递送系统,其中中位长径比大于0.8、优选大于0.9,并且小于1.6、优选小于1.5、更优选1.4、进一步更优选小于1.3、进一步更优选小于1.2、最优选约为1。

[0191] [149]根据项目147或148所述的多颗粒药物递送系统,其中所述固体制剂单元的长径比的跨度小于0.9、优选小于0.8、更优选小于0.7、进一步更优选小于0.6、最优选小于0.5。

[0192] [150]根据项目147-149中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其允许至少一种抗体或其功能性片段从固体制剂单元的回收率为至少80%、优选至少85%、更优选至少93%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%。

[0193] [151]根据第147-150项中任一项所述的多颗粒药物递送系统,在连续搅拌(速释)下将固体制剂连续浸入水溶液中的30分钟或1小时或2小时内,其允许至少一种抗体或其功能性片段从固体制剂单元的回收率为至少80%、优选至少85%、更优选至少93%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%。

[0194] [152]根据项目147-150中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中包含在多颗粒药物递送系统中的固体制剂单元是缓释固体制剂单元。

[0195] [153]根据项目150或152中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其在连续搅拌(缓释)下将固体制剂连续浸入水溶液中的4小时、或6小时、或8小时、或10小时、或12小时、或14小时、或16小时、或18小时、或20小时、或22小时、或24小时、或26小时、或28小时、或30小时、或32小时、或34小时、或36小时等内允许回收至少80%、优选至少85%、更优选至少93%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0196] [154]根据项目147-153中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中所述固体制剂单元在药物包衣中包含抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂,所述药物包衣通过喷雾包衣被施加至惰性芯单元。

[0197] [155]根据项目147或154中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中所述固体制剂单元包含至少一种缓释包衣形式的额外包衣,并且其中所述缓释包衣优选具有根据项目64-75中任一项中定义的性质。

[0198] [156]根据项目147或155中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中所述固体制剂单元是根据项目1-141中任一项所述的方法通过药物层积制备的固体制剂。

[0199] [157]根据项目147-156中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中所述多颗粒药物递送系统由多个固体制剂单元通过压缩、包封制备。

[0200] [158]根据项目147-157中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中所述至少一种抗体或其功能性片段如在项目109-114中任一项中所定义;和/或其中缓冲剂如项目58所定义;和/或其中至少一种聚合物粘合剂如项目36-37和46-48中任一项所定义,和/或其中任选的抗粘剂和/或表面活性剂和/或其他添加剂如项目49-50、52-53、55-56和106中的任何一项中所定义。

[0201] [159]根据项目147-158中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中所述单个剂型单元具有如项目61、62和108中任一项所定义的性质。

[0202] [160]根据项目147-159中任一项所述的多颗粒药物递送系统,其中所述多颗粒药物递送系统或各个固体制剂单元还包含被用作额外包衣的迟释包衣,并且其中所述迟释包衣优选为在项目126-135中的任何一项中所定义。

[0203] [161]一种固体制剂,其由在根据147-160项中任一项所述的多颗粒药物递送系统中包含的单个剂型单元组成。

## 附图说明

[0204] 图1:包衣混悬液的组成概要以及对阿达木单抗的工艺影响。从总蛋白质含量、聚集和片段化方面评估了一些工艺变化对含有5mg/mL阿达木单抗的HPMC-Syloid®244FP混悬液中阿达木单抗的影响(图1A-C)。在此过程中收集的样品与阳性对照(1.0mg/mL标准品)相比,二聚体含量(图1B)没有显著增加。类似地,与阳性对照(图1C)相比,未观察到片段的显著增加。

[0205] 图2:显示在柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7中,从HPMC层积微晶(实施例1)和蔗糖小丸(实施例2)释放的阿达木单抗。在柠檬酸盐-TRIS pH 7溶解缓冲液中回收的蛋白通过总蛋白测定进行定量。在这两种情况下,阿达木单抗的完全释放都非常迅速地达到。显示了3个测量值的平均值和标准偏差。

[0206] 图3: (A)显示了通过HPLC-SEC测定的随时间变化从在柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7中的HPMC层积小丸中释放的相对于阿达木单抗单体的阿达木单抗的相对二聚体的含量。与阳性对照相比,溶解后没有观察到二聚体含量的显著增加,而与阿达木单抗的负载量和初始浓度无关(实施例3、4和5)。(B)显示随着时间在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中释放的阿达木单抗的相对片段化特征。与实施例3、4和5的阳性对照相比,没有观察到明显的片段化。

[0207] 图4: (A)显示了用增加的阿达木单抗浓度制备的包衣混悬液的组成。(B)显示了来自使用不同包衣混悬液层积的小丸的包衣小丸在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中释放的阿达木单抗(实施例14、实施例15、实施例16和实施例17)。(C)显示了与阿达木单抗标准品相比,来自实施例14的小丸的溶出样品的相对阿达木单抗聚集和片段化曲线。

[0208] 图5:阿达木单抗包衣小丸的Eudragit®RS 30D包衣。(A)批次概要。(B)显示了与速释阿达木单抗层积的小丸(比较例1)相比的在柠檬酸-TRIS pH 7缓冲液中从Eudragit®RS 30D包衣的小丸中释放的阿达木单抗(实施例6、7和8)。结果表示为3次重复的平均值并带有相应的标准偏差。(C)显示了与阿达木单抗标准品相比的来自实施例8的小丸的溶出样品的相对阿达木单抗聚集和片段化曲线。

[0209] 图6: (A)乙基纤维素包衣的阿达木单抗小丸的批次概要。(B)显示了用DBS(疏水增塑剂)包衣的小丸和TEC(25重量%,基于聚合物固体)包衣的小丸,二者均包衣至约17%的

聚合物增重。对于施加在小丸上的相同量的聚合物,用DBS(实施例10)代替TEC(实施例9)作为增塑剂会导致在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中阿达木单抗的释放速度慢得多。(C)显示了来自实施例9和实施例10的包衣小丸的溶出样品的相对阿达木单抗聚集和破碎曲线。独立于所用的增塑剂,与阿达木单抗标准品相比,在来自于溶出样品的阿达木单抗中未观察到聚集体和片段的显著增加。

[0210] 图7: (A) 使用和不使用聚结促进剂的Eudragit®RS 30D包衣小丸的批次概要。(B) 如图所示,与不使用聚结促进剂的包衣相比,加入聚结促进剂Lauroglycol™90(实施例12)显著改善了阿达木单抗的缓释特性,即使聚合物增重较低(实施例6,图7B)。

[0211] 图8: (A) 从包括Lauroglycol™90且在60℃下干燥/固化1、2.5小时和24小时的乙基纤维素包衣小丸在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中的阿达木单抗释放。(B) 与阿达木单抗标准品相比,来自实施例11的包衣小丸的溶出样品的相对阿达木单抗聚集和片段化曲线。向乙基纤维素配方中添加Lauroglycol™或包括包括长达24小时的固化(干燥)步骤的工艺条件不会导致溶解后收集的样品中聚集体或碎片的显著增加(图8B)。

[0212] 图9: (A) 在柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7中溶解实施例8(Eudragit®RS 30D包衣的小丸)期间回收的阿达木单抗的ELISA分析。(B) 在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中溶解实施例13(21.67%聚合物 Aquacoat® ECD增重包衣的小丸)期间回收的阿达木单抗的ELISA分析。图9A-B显示了阿达木单抗的完整性得以保持,并且阿达木单抗能够与TNF $\alpha$ 结合。出于比较的原因,总蛋白定量(B)和ELISA(E)的结果如图9A-B所示。

## 具体实施方式

[0213] 本发明涉及制备固体制剂的方法,该固体制剂包括:i) 惰性芯单元;ii) 药物包衣,所述药物包衣包含至少一种作为活性剂的抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂,并通过药物层积而沉积在所述惰性芯单元上;所述方法包括以下步骤:a) 制备活性剂包衣液,其包含所述至少一种抗体或其功能性片段、所述缓冲剂和所述至少一种聚合物粘合剂,作为水溶液或混悬液;b) 通过喷雾包衣用所述活性剂包衣液层积所述惰性芯单元;c) 与步骤b) 同时或在步骤b) 完成之后,将湿药物层积的惰性芯单元干燥,以产生干燥的固体制剂。

[0214] 本文所用的术语“固体制剂”应理解为等同于“固体药物剂型”或“配制成固体制剂的药物组合物”,包括例如小丸、胶囊剂、颗粒剂、片剂、微型片剂等。在本发明的一个实施方案中,固体制剂是小丸、球形微型球、小珠、颗粒、片剂或小片剂。在本发明的优选实施方案中,固体制剂是小丸。本发明的多种固体制剂可以组合成单一单元的制剂,例如片剂、硬明胶胶囊、小袋、囊片或丸剂的形式。

[0215] 本文所用的术语“惰性芯单元”没有特别限制。本文所用的术语“惰性芯单元”可以理解为是指由一种或多种可溶或不可溶的惰性材料等组成的都不具有药理活性的惰性小丸、微型片、片剂、颗粒、芯、珠、微型球或小球。或者,术语“惰性芯单元”可以理解为是指已经包含至少一种活性剂的惰性小丸、微型片、片剂、颗粒、芯、珠、微型球或小球。如果惰性芯单元包含至少一种活性剂,则所述至少一种活性剂优选为至少一种抗体或其功能性片段的形式。惰性芯单元中包含的该至少一种抗体或其功能性片段可以与药物包衣中的相同或不同。惰性芯单元可以可选地被密封包衣以增加芯的强度用以承受加工期间的机械压力。

[0216] 惰性芯单元相对于药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段是“惰性的”。也就是说，在通过本发明的方法制备固体制剂、其储存以及随后的给药和溶解过程中使用的条件下，它不会降低药物包衣中至少一种抗体或其功能性片段的稳定性和活性。

[0217] 如本文所用，术语“约”表示给定量的值或范围可包括在所述值或范围的10%以内，或可选地在该值或范围的5%以内，或在一些实施方案中在该值或范围的1%以内的量。在惰性芯单元包含至少一种活性剂的实施方案中，通过本发明方法制备的固体制剂可以设计为与药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段同时释放，或者设计为以不同的速率和/或时间释放。根据本发明的一个实施方案，惰性芯单元中的活性剂与药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段同时释放。根据本发明的另一个实施方案，惰性芯单元中的活性剂不与药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段同时释放。例如，如果惰性芯单元中的活性剂不与药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段同时释放，则其释放可以比药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段更晚开始和/或以更快/更慢的释放速率释放。

[0218] 惰性芯单元可以是小丸、微型丸、球、微型球、颗粒、珠、微型片剂或片剂，例如由赋形剂和任选的活性剂的混合物通过压缩、挤出滚圆或包囊制备。在本发明的一个实施方案中，惰性芯单元包含单糖、二糖、寡糖、多糖、二氧化硅、酒石酸、碳酸钙或其组合作为主要成分。在一个具体的实施方案中，惰性芯单元包含微晶纤维素、蔗糖、淀粉、甘露醇、碳酸钙、二氧化硅、酒石酸、乳糖或其组合作为主要成分。在本发明的另一个实施方案中，惰性芯单元是无药理学活性的，并且包含单糖、二糖、寡糖、多糖、二氧化硅、酒石酸、碳酸钙或其组合，优选微晶纤维素、蔗糖、淀粉、甘露醇、钙碳酸盐、二氧化硅、酒石酸、乳糖或其组合，作为主要成分。在本文中，“主要组分”是指惰性芯单元包含至少50重量%、优选至少70重量%、更优选至少90重量%、进一步更优选至少95重量%的所述成分。如以上在惰性芯单元的语境中所使用的，“重量%”是指相对于惰性芯单元重量的物质重量的百分比。

[0219] 通常，除非另有说明，否则本文所用的“重量%”是指相对于整个固体制剂的总重量的物质重量的百分比。在指出的某些情况下，“重量%”可以指物质在其制备中特别指出的步骤之后相对于固体制剂重量的重量百分比。

[0220] 在一个实施方案中，惰性芯单元是小丸。小丸的中值粒径可以为50-10000 $\mu\text{m}$ 、优选为100-3000 $\mu\text{m}$ 、更优选为350-2000 $\mu\text{m}$ 、进一步更优选为500-1500 $\mu\text{m}$ 、最优选为700-1200 $\mu\text{m}$ 。在另一个实施方案中，惰性芯单元是具有粒度分布的小丸，使得至少85%的小丸具有50-3000 $\mu\text{m}$ 、优选100-1500 $\mu\text{m}$ 、更优选350-1400 $\mu\text{m}$ 、进一步更优选500-1200 $\mu\text{m}$ 、最优选700-1200 $\mu\text{m}$ 的粒度。

[0221] 小丸的形状没有特别限制。在一个实施方案中，惰性芯单元是具有至少0.6、优选至少0.7、更优选至少0.8、进一步更优选至少0.9、进一步更优选至少0.95的球形度的小丸。在一个优选的实施方案中，惰性芯单元是包含球的小丸。如本文所用，术语“球”是指球形度至少为0.8的颗粒。该球可以用沉积在球上的包衣涂覆，例如密封包衣。该球体可以由微晶纤维素、蔗糖、淀粉、甘露醇、碳酸钙、二氧化硅、酒石酸、乳糖或其组合组成。在另一个实施方案中，惰性芯单元是由球组成的丸，该球由微晶纤维素、蔗糖、淀粉、甘露醇、碳酸钙、二氧化硅、酒石酸、乳糖或其组合组成，优选由微晶纤维素组成。市售的惰性芯单元的实例包括CELLETS® (Pharmatrans-Sanaq AG) 和SUGLETS® 糖球 (Colorcon® Ldt)。

[0222] 如本文所用，术语“药物包衣”是指包含至少一种以至少一种抗体或其功能性片段

形式存在的活性剂的包衣或涂层,其被沉积在惰性芯单元上。本文所用的术语“包衣”是指包含一层或多层的膜。通过其独特的理化性质,可以将特定的包衣与惰性芯单元分开,或者可以单独施加其他包衣。因此,可以通过其独特的理化性质将药物包衣与惰性芯单元以及在药物包衣之后单独施加的其他包衣分开。

[0223] 在本发明的上下文中,术语“抗体”是指“免疫球蛋白”(Ig),其定义为属于IgG、IgM、IgE、IgA或IgD类(或其任何亚类)的蛋白质,并且包括所有常规已知的抗体及其功能性片段。用于本发明的至少一种抗体或其功能性片段是活性剂,即由于该抗体或其功能性片段在患者中的药理活性,该至少一种抗体或其功能性片段被并入固体制剂中。

[0224] 在本发明的上下文中,抗体/免疫球蛋白的“功能性片段”定义为基本上保持这种亲本抗体的性质的亲本抗体的抗原结合片段或其他衍生物。抗体/免疫球蛋白的“抗原结合片段”定义为保留抗原结合区的片段(例如IgG的可变区)。通常在抗体的一个或多个高变区,即CDR-1、CDR-2和/或CDR-3区中发现抗体的“抗原结合区”。根据本发明的“抗原结合片段”包括 $F(ab')_2$ 片段和Fab片段的结构域。本发明的“功能性片段”包括Fab片段、 $F(ab')_2$ 片段、Fab'片段、scFv、dsFv、VHH、双抗体、三抗体、四抗体、Fc融合蛋白和微抗体。可以对 $F(ab')_2$ 或Fab结构域进行改造,以使CH1和CL结构域之间发生的分子间二硫键相互作用减至最小或完全消除。用于本发明的抗体或其功能性片段可以是双功能或多功能构建体的一部分。

[0225] 用半胱氨酸蛋白酶如木瓜蛋白酶(EC 3.4.22.2)消化抗体后,可以获得作为纯化的消化产物的Fab片段。用胃蛋白酶(EC 3.4.23.1)或IdeS(化脓性链球菌的免疫球蛋白降解酶;EC 3.4.22)消化抗体后,可获得纯化的消化产物 $F(ab')_2$ 片段。可以在温和的还原条件下从 $F(ab')_2$ 片段获得Fab'片段,由此每个 $F(ab')_2$ 分子产生两个Fab'片段。scFv是单链Fv片段,其中可变轻链(“ $V_L$ ”)和可变重链(“ $V_H$ ”)结构域通过肽桥连接。

[0226] “双抗体”是由两个片段组成的二聚体,每个片段具有通过接头等连接在一起的可变区(以下称为形成双抗体的片段),并且通常包含两个 $V_L$ 和两个 $V_H$ 。形成双抗体的片段包括由 $V_L$ 和 $V_H$ 、 $V_L$ 和 $V_L$ 、 $V_H$ 和 $V_H$ 等组成的片段,优选 $V_H$ 和 $V_L$ 。在形成双抗体的片段中,对连接可变区的接头没有特别限制,但优选足够短以避免相同片段中可变区之间的非共价键。这种接头的长度可以由本领域技术人员适当地确定,但是通常使用2-14个氨基酸、优选3-9个氨基酸、尤其是4-6个氨基酸。在这种情况下,同一片段上编码的 $V_L$ 和 $V_H$ 通过一个接头连接在一起,接头的长度应足够短,以避免同一条链上 $V_L$ 和 $V_H$ 之间的非共价键并避免形成单链可变区片段,从而使二聚体与另一个可以形成片段。二聚体可通过共价键或非共价键或二者皆有在双抗体形成片段之间形成。

[0227] 此外,可以形成双抗体的片段通过接头等连接以形成单链双抗体(sc(Fv)<sub>2</sub>)。通过使用约15-20个氨基酸的长接头连接形成双抗体的片段,可以在同一链上存在的形成双抗体的片段之间形成非共价键以形成二聚体。基于与制备双抗体相同的原理,也可以通过连接三个或多个双抗体形成片段来制备聚合抗体,例如三聚体或四聚体。

[0228] 在一个实施方案中,通过本发明方法制备的固体制剂中的功能性片段是Fab片段、 $F(ab')_2$ 片段、Fab'片段、scFv、dsFv、VHH、双抗体、三抗体、四抗体、Fc融合蛋白或微抗体。用于本发明的优选功能性片段是Fab片段、 $F(ab')_2$ 片段、Fab'片段、scFv和双抗体。

[0229] 本发明方法中制备固体制剂所使用的抗体或其功能性片段不受特别限制。在一个

实施方案中,该抗体或其功能性片段是抗体。在本发明的另一个实施方案中,抗体或其功能性片段是如上定义的功能性片段。抗体或其功能性片段可以进一步包含一种或多种修饰,例如,添加或取代的残基的形式,以提高稳定性、特异性或靶向性。这些可以包括本领域已知的任何此类修改。

[0230] 抗体或功能性片段所针对的抗原,即抗体或其功能性片段可以特异性结合的免疫原、肽、蛋白质或其他分子的结构不受限制。以其最一般的形式(并且当未提及定义的参考时),“特异于”或“特异结合”是指抗体或其功能性片段区分目标靶标和无关生物分子的能力(例如,对于人TNF $\alpha$ 特异性抗体,区分人TNF $\alpha$ 和非相关生物分子),其例如使用本领域已知的特异性测定方法所测定。这样的方法包括但不限于蛋白质印迹和酶联免疫吸附测定(ELISA)测试。例如,可以进行标准的ELISA测定。通常,结合特异性的测定不是通过使用单一的参考生物分子,而是通过使用一组大约三到五个不相关的生物分子,例如奶粉、BSA、转铁蛋白等来进行的。在本发明的一个实施方案中,抗体或其功能性片段适合用于治疗炎性肠病(IBD),例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎。在本发明的另一个实施方案中,抗体或其功能性片段适合用于患者胃肠道的回肠或大肠中的局部治疗。

[0231] 在本发明的另一个实施方案中,抗体或其功能性片段选自对肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF $\alpha$ )具有特异性的抗体及其功能性片段,对 $\alpha$ 4 $\beta$ 7整联蛋白具有特异性的抗体及其功能性片段,对CD3、CD4或CD20具有特异性的抗体及其功能性片段,对白介素6(IL-6)、白介素12(IL-12)、白介素13(IL-13)、白介素23(IL-23)或其受体具有特异性的抗体及其功能性片段,对CXCL10/IP-10具有特异性的抗体及其功能性片段,以及对p40蛋白亚基具有特异性的抗体及其功能性片段。在本发明的另一个实施方案中,抗体或其功能性片段选自英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普、聚乙二醇化的赛妥珠单抗、戈利木单抗、维西珠单抗、依地珠单抗、阿布鲁单抗、卡那基单抗、托珠单抗、尤特克单抗、那他珠单抗、etrolizumab、普利珠单抗、维多珠单抗及其功能性片段;

[0232] 在本发明的一个实施方案中,通过本发明方法制备的固体制剂中的抗体或其功能性片段与TNF $\alpha$ 特异性结合。本文所用的术语“抗TNF $\alpha$ 抗体”、“TNF $\alpha$ 抗体”和“TNF $\alpha$ 特异性抗体”是可互换的。在一个实施方案中,特异性结合是指抗体或片段区分人TNF $\alpha$ 和人TNF $\beta$ 的能力。在本发明的优选实施方案中,TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段是TNF $\alpha$ 抗体。在本发明的另一个优选实施方案中,TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段是TNF $\alpha$ 抗体的功能性片段。

[0233] 在现有技术中已经描述了一些针对TNF $\alpha$ 的单克隆抗体。Meager等(Hybridoma, 6, 305-311, 1987)描述了针对重组TNF $\alpha$ 的鼠单克隆抗体。Fendly等(Hybridoma, 6, 359-370, 1987)描述了针对重组TNF $\alpha$ 的鼠单克隆抗体在限定TNF上的中和表位中的用途。此外,在国际专利申请WO 92/11383中,公开了对TNF $\alpha$ 具有特异性的重组抗体,包括CDR移植抗体。美国专利号5,919,452公开了抗TNF $\alpha$ 嵌合抗体及其在治疗与TNF $\alpha$ 存在有关的病理学中的用途。进一步的抗TNF $\alpha$ 抗体公开于Stephens等(Immunology, 85, 668-674, 1995)、GB-A-2 246 570、GB-A-2 297 145、US 8,673,310、US 2014/0193400、EP 2 390 267B1、US 8,293,235、US 8,697,074、WO 2009/155723A2和WO 2006/131013A2。

[0234] 当前批准的抗TNF $\alpha$ 抗体包括(i)英夫利昔单抗,一种嵌合IgG抗人单克隆抗体(Remicade $\circledR$ );(ii)依那西普,一种TNFR2二聚体融合蛋白,具有IgG1 Fc(Enbrel $\circledR$ );(iii)阿达木单抗,一种全人类单克隆抗体(mAb)(Humira $\circledR$ );(iv)赛妥珠单抗,一种聚乙二醇化的Fab

片段(Cimzia®)和(v)戈利木单抗,一种人IgGI单克隆抗体(Simponi®)。而且,各种生物仿制药正在开发中。因此,在本发明的一个实施方案中,抗体或其功能性片段选自英夫利昔单抗、阿达木单抗、依那西普、聚乙二醇化赛妥珠单抗和戈利木单抗或其功能性片段。在本发明的另一个实施方案中,所述抗体或其功能性片段是如原始提交的PCT申请PCT/EP2017/056218、PCT/EP2017/056246、PCT/EP2017/056237以及PCT/EP2017/056227中公开的抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段。在本发明的又一个实施方案中,至少一种抗体或其功能性片段是具有包含互补决定区(CDR)的轻链可变域和/或重链可变域的抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段,该CDR具有如原始提交的PCT申请PCT/EP2017/056218、PCT/EP2017/056246、PCT/EP2017/056237和PCT/EP2017/056227中公开的氨基酸序列的氨基酸序列。

[0235] 在本发明的一个优选的实施方案中,至少一种抗体或其功能性片段是具有包含一个或多个CDR的轻链可变域和/或重链可变域的抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段,该CDR具有如PCT/EP2017/056218的SEQ ID NO:7、9、12、14、24和25,PCT/EP2017/056246的SEQ ID NO:7-11和6,PCT/EP2017/056237的SEQ ID NO:7-12,PCT/EP2017/056227的SEQ ID NO:1-4、7和6,及其组合中公开的氨基酸序列。在本发明的另一个优选的实施方案中,至少一种抗体或其功能性片段是具有包含一个或多个CDR的轻链可变域和/或重链可变域的抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段,该CDR具有如原始提交的PCT/EP2017/056218的权利要求2、PCT/EP2017/056246的权利要求2、PCT/EP2017/056237的权利要求2、和/或PCT/EP2017/056227的权利要求2中公开的氨基酸序列。在本发明的又一个优选的实施方案中,至少一种抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段选自由包含根据PCT/EP2017/056218的权利要求4、PCT/EP2017/056246的权利要求5和6、PCT/EP2017/056237的权利要求5和6、和/或PCT/EP2017/056227的权利要求4、或其组合的重链可变域氨基酸序列和/或轻链可变域氨基酸序列的抗TNF $\alpha$ 抗体或其功能性片段的组。

[0236] 药物包衣包含缓冲剂。缓冲液的性质不受特别限制,并且包括确保溶液中抗体及其功能性片段的稳定性和活性的所有缓冲液。在本发明的一个实施方案中,所述缓冲剂选自乙酸盐缓冲剂;柠檬酸盐缓冲剂;组氨酸缓冲液;琥珀酸盐缓冲剂;磷酸盐缓冲剂;三羧甲基氨基甲烷(TRIS)缓冲剂;及其组合。

[0237] 本发明方法中使用的用于制备固体制剂的聚合物粘合剂没有特别限制。适用于本发明的聚合物粘合剂的实例包括羟丙基甲基纤维素(HPMC);羟丙基纤维素(HPC),甲基纤维素(MC);聚乙烯基吡咯烷酮(PVP);聚乙二醇(乙烯醇)接枝共聚物(例如Kollidon® IR);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit® NM 30D或Eudragit® NE 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit® RS 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit® RL 30D);乙基纤维素(例如Surelease®或Aquacoat® ECD);聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat® SR 30D);及其组合。可以允许将聚合物粘合剂溶解或分散在水溶液或混悬液中的任何形式提供聚合物粘合剂。在本发明的优选实施方案中,聚合物粘合剂以水溶液或分散体(混悬液)的形式提供。

[0238] 在本发明的一个实施方案中,药物包衣中的聚合物粘合剂适用于速释药物包衣。因此,使用适合于速释包衣的聚合物粘合剂通过本发明的方法制备的固体制剂的药物包衣

引起至少一种抗体或其功能性片段从制剂中的速释。如本文所用，术语“速释”是指描述一种药物包衣，其中在暴露于水性环境中2小时后，优选1小时后，进一步更优选0.5小时后，大于60%、优选大于70%、更优选大于80%、进一步更优选大于90%、最优选95%的抗体或其功能性片段释放出药物包衣。在本发明的上下文中使用的术语“水性环境”可以指其大部分是水的溶液或混悬液。其包括肠液。

[0239] 为了测量从作为固体制剂最外层的药物包衣释放到水溶液中的抗体或功能性片段的量，可以将沉积在惰性芯上的药物层浸入一定体积的水溶液中（最好是缓冲的）在限定时间段内连续搅拌水溶液，确定至少一种抗体或其功能性片段在水溶液中的最终浓度，并将其与在层积工艺中施加的初始量进行比较，考虑该过程的效率和增重。如本文所用，术语“水溶液”可指其大部分为水（例如，大于30重量%、优选大于40重量%、优选大于50重量%、优选大于60重量%、最优选大于70重量%的水）的溶液或混悬液。为了进行溶解测试，水溶液可优选包含缓冲剂。类似地，能够确定从具有沉积在药物包衣上的额外包衣（例如缓释包衣或迟释包衣）的固体制剂的释放。确定水溶液中抗体浓度的方法是本领域已知的，并且包括例如测量280nm处的吸光度或使用比色的基于试剂的蛋白质测定法（例如Bradford测定法）或通过ELISA。

[0240] 应当理解，在整个本公开中，每当涉及固体制剂/多颗粒药物递送系统（如在上面和下面的部分中）的溶解或从中回收抗体或其功能性片段时，例如，通过在连续（恒定）搅拌下将固体制剂/多颗粒药物递送系统连续浸入水溶液（缓冲液）中，例如可以使用以下标准测试设置或本领域技术人员已知的相关标准测试设置：至少一种抗体或其功能性片段的释放可以使用标准的溶出度I（篮）、II（桨）、III（往复缸）或IV（流通池法）进行评估，其中缓冲液（即缓冲水溶液）在37°C下平衡。用于溶出度测试的缓冲液体积可以进行调整，例如在设备I或II中使用微型容器以减少所需的体积并提高生物相关性。溶解期间抗体或其功能性片段的释放可以通过ELISA方法离线定量。

[0241] 在本发明的一个实施方案中，药物包衣是速释药物包衣，其允许将药物包衣作为最外层包衣的固体制剂在连续浸入水溶液（例如，在温度为25°C或更高（例如，25-40°C，优选约37°C））并在连续搅拌下的在1小时内回收至少70%、优选至少80%、更优选至少90%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少99%的来自药物包衣的至少一种抗体或其功能性片段。

[0242] 适用于速释包衣的聚合物粘合剂包括羟丙基甲基纤维素（HPMC）；羟丙基纤维素（HPC），甲基纤维素（MC）；聚乙烯基吡咯烷酮（PVP）；聚乙二醇（乙烯醇）接枝共聚物（例如Kollidon® IR）。优选地，适用于速释包衣的聚合物粘合剂选自HPMC、MC及其组合，优选HPMC。

[0243] 在本发明的另一个实施方案中，药物包衣中的聚合物粘合剂包括至少一种缓释聚合物粘合剂。该至少一种缓释聚合物粘合剂没有特别限制，只要其确保从药物包衣中缓释，并且只要它不影响至少一种抗体或其功能性片段的稳定性、活性和溶解性即可。术语“缓释”是本领域已知的。如本文所用，术语“缓释”可用于描述活性剂从药物包衣或固体制剂中的释放，使得抗体或其功能性片段的相当大一部分在暴露于水性环境中的长时间从药物包衣或固体制剂中释放，例如至少6小时、优选至少10小时、更优选至少14小时、进一步更优选至少18小时、最优选至少24h。

[0244] 在本发明的一个实施方案中，药物包衣中的聚合物粘合剂包括至少一种缓释的聚

合物粘合剂,其允许在连续搅拌下将该固体制剂连续浸入水溶液(例如,在温度为25°C或更高(例如,25-40°C,优选约37°C))在限定时间期间内(例如4小时、或6小时、或8小时、或10小时、或12小时、或14小时、或16小时、或18小时、或20小时,或22小时、或24小时、或26小时、或28小时、或30小时、或32小时等)从药物包衣中回收至少40%、优选至少50%、更优选至少60%、进一步更优选至少70%、进一步更优选至少80%、进一步更优选至少85%、进一步更优选至少90%、进一步更优选至少93%、进一步更优选至少95%的至少一种抗体或其功能性片段。在本发明的一个优选的实施方案中,药物包衣中的聚合物粘合剂包括至少一种缓释的聚合物粘合剂,其允许在连续搅拌下将该固体制剂连续浸入水溶液中时超过至少5小时、至少10小时、更优选至少15小时、进一步更优选至少20小时、最优选至少24小时等的时间期间缓释至少一种抗体或其功能性片段。

[0245] 特别是对于影响胃肠道的一部分(包括回肠和大肠)的疾病,例如克罗恩氏病和溃疡性结肠炎,以抗体或其功能性片段形式的活性生物剂的缓释固体制剂,表现出有限的全身吸收可能是理想的。

[0246] 对于缓释包衣,可以将至少一种缓释聚合物粘合剂用作聚合物粘合剂。但是,也可以使用一种以上(例如两种、三种或四种)缓释聚合物粘合剂作为活性剂包衣液的聚合物粘合剂。

[0247] 适用于本发明的缓释聚合物粘合剂包括聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit®NM 30D或Eudragit®NE 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit®RS 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit®RL 30D);乙基纤维素(例如Surelease®或Aquacoat®ECD);聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat®SR 30D);及其组合。在本发明的一个实施方案中,至少一种缓释的聚合物粘合剂选自由聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit®NM 30D或Eudragit®NE 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit®RS 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit®RL 30D);乙基纤维素(例如Surelease®或Aquacoat®ECD);聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat®SR 30D)及其组合组成的组。

[0248] 本发明方法以其最一般的形式,包括第一步骤,步骤a),制备活性剂包衣液,其包含至少一种抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂,作为水性溶液或混悬液。可以允许将它们带入水溶液或混悬液的任何形式提供活性剂包衣液的各个组分,即如以上定义的至少一种抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂。例如,单独的组分可以以粉末、颗粒的形式提供或悬浮或溶解在溶剂中,然后可以溶解或分散在水溶液或混悬液中。

[0249] 如本文所用,术语“水溶液或混悬液”是指其中至少60%、优选至少70%、更优选至少80%、进一步更优选至少90%、进一步更优选至少95%、97%、98%、99%或99.5%、进一步更优选至少99.9%、最优选100%的溶剂是水的溶液或混悬液。在本发明的一个实施方案中,活性剂包衣液是一种水溶液或混悬液,其中所用的溶剂的100%是水。

[0250] 将至少一种抗体或其功能性片段引入活性剂包衣液中的方式没有特别限制。例如,抗体或其功能性片段可以以粉末形式添加,该粉末包含含有抗体或其功能性片段的颗

粒,例如作为冻干的、喷雾干燥的、空气干燥的或真空干燥的粉末,从而在活性剂包衣液中直接重构抗体或其功能性片段。在本文中使用的术语“粉末”应以其最广泛的含义来理解,包括细颗粒以及较大的颗粒和微粒。或者,抗体或其功能性片段可以以已存在于溶液中的形式添加,例如作为缓冲水溶液的一部分。

[0251] 在本发明的一个实施方案中,至少一种抗体或其功能性片段以粉末形式提供,其被添加到活性剂包衣液中。已经发现,通过将至少一种抗体或其功能性片段作为粉末添加到活性剂包衣液中,可以在活性剂包衣液中获得更高浓度的至少一种抗体或其功能性片段,其确保至少一种抗体或其功能性片段在药物包衣中的高浓度,从而使固体制剂的加工时间和暴露于外部应力最小化。在一个优选的实施方案中,将至少一种抗体或其功能性片段溶解在步骤a)的活性剂包衣液中。

[0252] 活性剂包衣液中的抗体或其功能性片段的浓度只要能够达到固体制剂中的至少一种抗体或其功能性片段的目标负载量且,并且对于至少一种抗体或其功能性片段只要保证稳定性、活性和与活性剂包衣液中的其他成分最小的不可逆相互作用,就没有特别限制。在本发明的一个实施方案中,活性剂包衣液包含0.01-100mg/ml、优选0.1-50mg/ml、更优选0.5-50mg/ml、进一步更优选1-50mg/ml、进一步更优1-30mg/ml、进一步更优选1-25mg/ml、进一步更优选5-25mg/ml、最优选约25mg/ml、或者最优选约15mg/ml的至少一种抗体或其功能性片段。在本发明的另一个实施方案中,活性剂包衣液包含0.001-15重量%、优选0.001-10重量%、更优选0.01-7重量%、进一步更优选0.05-5重量%、进一步更优选0.1-3.5重量%、进一步更优选约0.5-2.5重量%、最优选约1.4重量%、或者最优选约4.7重量%的至少一种抗体或其功能性片段。在本发明的替代实施方案中,相对于活性剂包衣液中聚合物粘合剂固体的总重量,活性剂包衣液包含5-300重量%、优选20-200重量%、更优选50-150重量%、进一步更优选50-115重量%、进一步更优选85-115重量%、最优选约90-105重量%、或者最优选约45-60重量%的至少一种抗体或其功能性片段的重量百分比。

[0253] 在本发明的另一个实施方案中,抗体在活性剂包衣液中的浓度使得通过本发明的方法制备的固体制剂中抗体或其功能性片段的量允许治疗有效剂量的至少一种抗体或其功能性片段作为单一单位剂量给药,例如以包含多种固体制剂的片剂或胶囊剂形式(例如,以多种小丸、珠或颗粒的形式)。术语“给药”涉及组合物首先与患者身体接触的方式和形式。通过本发明方法制备的固体制剂可以口服或以任何其他方式导致固体制剂在局部施用和/或吸收到人体组织的预期部位中积聚。优选地,本发明的固体制剂旨在用于口服给药。“治疗有效剂量”是提供所需治疗效果所需的至少一种抗体或其功能性片段的量。对于不同的抗体或其功能性片段和/或对于个体患者,精确的量可以变化,但是可以由本领域技术人员确定。

[0254] 活性剂包衣液包括缓冲剂。缓冲剂的性质不受特别限制,并且包括确保溶液中抗体及其功能性片段的稳定性和活性的所有缓冲剂。在本发明的一个实施方案中,所述缓冲剂选自乙酸盐缓冲剂;柠檬酸盐缓冲剂;组氨酸缓冲液;琥珀酸盐缓冲剂;磷酸盐缓冲剂;三羟甲基氨基甲烷(TRIS)缓冲剂;及其组合。优选在给定抗体稳定的特定pH下的缓冲剂。缓冲剂可以确保溶液中抗体及其功能性片段的稳定性和活性的任何量存在于活性剂包衣混悬液中。在本发明的一个实施方案中,存在于活性剂包衣混悬液中的缓冲剂包含0.01-20重量%、优选0.1-10重量%、更优选0.5-5重量%、进一步更优选1-5重量%、最优选约4.5重

量%、或者最优先约15重量%的缓冲剂。

[0255] 如上定义的聚合物粘合剂可以以允许溶解或分散在活性剂包衣液中的任何形式使用。在本发明的一个实施方案中,将聚合物粘合剂以固体例如以粉末或颗粒的形式加入到水溶液或混悬液中。在另一个实施方案中,聚合物粘合剂已经处于溶液或混悬液中,优先作为水溶液或混悬液的一部分,并如此添加到活性剂包衣液中。如果聚合物粘合剂适合速释,则聚合物粘合剂在水性环境中将具有高溶解度。因此,适合于溶解或分散的形式的聚合物粘合剂将易于溶解或分散在活性剂包衣液中。如果聚合物粘合剂包含至少一种缓释的聚合物粘合剂,则可以以允许溶解或分散在活性剂包衣液中的任何形式使用至少一种缓释的聚合物粘合剂。根据一个优选的实施方案,将至少一种缓释的聚合物粘合剂以水混悬液(水分散体)的形式添加到活性剂包衣液中。

[0256] 活性剂包衣液中聚合物粘合剂的量没有特别限制,只要该活性剂包衣液可用于通过喷雾包衣进行加工,并且同时确保至少一种抗体或其功能性片段的稳定性、活性、以及与活性剂包衣液的其他组分最小的的不可逆相互作用即可。在本发明的一个实施方案中,活性剂包衣液包含一定浓度的聚合物粘合剂,其使加工速度(即喷雾速率)最大化,同时使管道和喷嘴的堵塞最小化。在本发明的另一个实施方案中,活性剂包衣液包含0.1-20重量%、优选0.5-10重量%、更优选0.5-5重量%、进一步更优选1-5重量%、进一步更优选1-3重量%、最优先约2.5重量%(优选的实施方案中,其中药物包衣是速释药物包衣)、或者最优先约7-7.5重量%(优选的实施方案中,其中药物包衣是缓释药物包衣)的聚合物粘合剂。

[0257] 根据本发明的一个实施方案,步骤a)中的活性剂包衣液包含至少一种抗粘剂。抗粘剂可以改善活性剂包衣溶液的处理。抗粘剂对于诸如羟丙基甲基纤维素(HPMC);羟丙基纤维素(HPC),甲基纤维素(MC);聚乙烯基吡咯烷酮(PVP);聚乙二醇(乙烯醇)接枝共聚物(例如Kollidon® IR),聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit® NM 30D或Eudragit® NE 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit® RS 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit® RL 30D);乙基纤维素(例如Surelease® 或 Aquacoat® ECD),聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat® SR 30D)之类的聚合物粘合剂特别有利。对在活性剂包衣液中使用的抗粘剂没有特别限制。在本发明的一个实施方案中,抗粘剂选自胶体二氧化硅、中孔二氧化硅、甘油单硬脂酸酯(GMS)、硬脂酸、硬脂酸镁和滑石,优先中孔二氧化硅或GMS,更优先中孔二氧化硅。活性剂包衣液中使用的抗粘剂的量没有特别限制。在本发明的一个实施方案中,相对于活性剂包衣液中聚合物粘合剂固体的总重量,活性剂包衣液包含0.1-50重量%、优选1-30重量%、更优选10-20重量%或5-50重量%的抗粘剂。

[0258] 在本发明的另一个实施方案中,活性剂包衣液包含i)0.001-10重量%、优选0.01-7重量%、更优选0.05-5重量%、进一步更优选0.1-3.5重量%、进一步更优选0.5-2.5重量%,最优先约1.4重量%,或者最优先约4.7重量%的至少一种抗体或其功能性片段;ii)0.1-20重量%、优选0.5-10重量%、更优选1-5重量%、进一步更优选1-3重量%、进一步更优选2-3重量%、最优先约2.5重量%(优选的实施方案中,在药物包衣是速释药物包衣)、或者最优先约7-7.5重量%(优选的实施方案中,在药物包衣是缓释药物包衣)的聚合物粘合剂;以及iii)0-5重量%、优选0.01-3重量%、更优选0.1-2重量%、进一步更优选0.1-1重量%、进一步更优选0.2-0.6重量%、最优先约0.25重量%的抗粘剂。在另一个实施方案中,

活性剂包衣液包含:i) 0.5-5重量%的抗体或其功能性片段;ii) 1-5重量%的聚合物粘合剂;和iii) 0-1.25重量%的抗粘剂。

[0259] 在一个优选的实施方案中,活性剂包衣液包含:i) 0.5-2.5重量%的抗体或其功能性片段;ii) 1-3重量%的聚合物粘合剂;和iii) 0.2-0.6重量%的抗粘剂。在另一个优选的实施方案中,活性剂包衣液包含:i) 约2.5重量%的抗体或其功能性片段;ii) 约2.5重量%的聚合物粘合剂;和iii) 约0.25重量%的抗粘剂。在另一个替代的优选实施方案中,活性剂包衣液包含:i) 约1.5重量%的抗体或其功能性片段;ii) 约2.5重量%的聚合物粘合剂;和iii) 约0.25重量%的抗粘剂。如果该至少一种聚合物粘合剂适合立即释放,则该段中的实施方案是特别优选的。

[0260] 在另一个实施方案中,活性剂包衣液包含:i) 0.01-5重量%的抗体或其功能性片段;ii) 0.5-20重量%的聚合物粘合剂;和iii) 0-5重量%的抗粘剂。在另一个可供选择的实施方案中,活性剂包衣液包含:i) 0.1-2重量%抗体或其功能性片段;ii) 2-15重量%的聚合物粘合剂;和iii) 0-1重量%的抗粘剂。如果该至少一种聚合物粘合剂包括至少一种缓释的聚合物粘合剂,则该段中的实施方案是特别优选的。

[0261] 本发明人已经发现,通过在药物包衣中使用包含至少一种缓释的聚合物粘合剂的聚合物粘合剂,可以改变至少一种抗体或其功能性片段在水性环境中从药物包衣的释放从而引起缓释。通过调节活性剂包衣液中至少一种缓释的聚合物粘合剂与至少一种抗体或其功能性片段的比例(w/w),至少一种抗体或其功能性片段的释放速率改变,使得较高的比例导致较慢的释放速率。因此,至少一种抗体或其功能性片段从药物包衣的释放速率可以适应所使用的抗体或其功能性片段的个体需求、释放部位和固体制剂要治疗的病症。因此,在本发明的一个实施方案中,至少一种缓释聚合物粘合剂(S)和至少一种抗体或其功能性片段(A)的S/A(w/w)为0.5至100、优选0.5至50、更优选1至30、进一步更优选5至30、进一步更优选10至30、进一步更优选15至25、或者0.5至200。

[0262] 根据本发明的另一个实施方案,步骤a)中的活性剂包衣液包含至少一种增塑剂。本发明人发现增塑剂,特别是当聚合物粘合剂包含至少一种缓释的聚合物粘合剂时,可以显著改善所得药物包衣的性能,包括所得药物包衣的完整性和改善的缓释特性。用于活性剂包衣液中的增塑剂没有特别限制。在本发明的一个实施方案中,增塑剂选自柠檬酸三乙酯、聚乙二醇、乙酰基柠檬酸三乙酯、柠檬酸丁酯、聚山梨酯、1,2-聚丙二醇(TEC)和癸二酸二丁酯(DBS)。在本发明的一个优选实施方案中,增塑剂选自柠檬酸三乙酯(TEC)和癸二酸二丁酯(DBS)。活性剂包衣液中使用的增塑剂的量没有特别限制。在本发明的一个实施方案中,相对于活性剂包衣液中的聚合物粘合剂固体总重量,活性剂包衣液包含的5-35重量%、优选10-30重量%、更优选约20-25重量%的增塑剂。

[0263] 此外,本发明人已经发现对于固体制剂,其中缓慢和恒定的缓释,例如在20小时或24小时或更长时间内的药物释放,是理想的,疏水性增塑剂(如DBS)(相比于亲水性更强的增塑剂)产生非常有利的结果,从而导致在药物层中的至少一种抗体或其功能性片段的缓慢和更恒定的释放。因此,根据本发明的其中聚合物粘合剂包括至少一种缓释的聚合物粘合剂的一个实施方案,活性剂包衣液中的增塑剂是DBS。

[0264] 根据本发明的又一个实施方案,步骤a)中的活性剂包衣液包含至少一种聚结促进剂。聚结促进剂,特别是当聚合物粘合剂包含至少一种缓释的聚合物粘合剂时,可以大大改

善所得药物包衣的性能,包括所得药物包衣的完整性和改善的缓释特性。对用于活性剂包衣液中的聚结促进剂没有特别限制。根据本发明的一个实施方案,用于缓释包衣液中的聚结促进剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯28、聚山梨酯40、聚山梨酯60、聚山梨酯65、聚山梨酯80、聚山梨酯81、聚山梨酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、脂肪醇(如鲸蜡醇或油醇)、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚环氧乙烷、烷基糖苷、烷基聚葡萄糖苷、辛基葡萄糖苷、癸基麦芽糖苷、单月桂酸丙二醇酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)及其组合。在本发明的优选实施方案中,聚结促进剂是丙二醇单月桂酸酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)。对在活性剂包衣液中使用的聚结促进剂的量没有特别限制。在本发明的一个实施方案中,相对于活性剂包衣液中的缓释聚合物粘合剂固体总重量,活性剂包衣液包含1-20重量%、优选2-15重量%、更优选5-10重量%的聚结促进剂。

[0265] 根据一个实施方案,步骤a)中的活性剂包衣液和/或步骤d)中的缓释包衣液包含至少一种表面活性剂。表面活性剂可以以0.005至2.0重量%、0.01至1重量%、更优选0.05至0.8重量%、进一步更优选约0.1至0.5重量%的表面活性剂的浓度存在于活性剂包衣液和/或缓释包衣液中。步骤a)中的活性剂包衣液和/或步骤d)中的缓释包衣液的合适表面活性剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯28、聚山梨酯40、聚山梨酸酯60、聚山梨酸酯65、聚山梨酸酯80、聚山梨酸酯81、聚山梨酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、鲸蜡醇、油醇、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚环氧乙烷、烷基糖苷、烷基聚葡萄糖苷、辛基葡萄糖苷、癸基麦芽糖苷及其组合。

[0266] 本发明方法的步骤a)中的活性剂包衣液和/或步骤d)中的缓释包衣液可任选地包含至少一种其他赋形剂。本文所用的术语“赋形剂”是指添加到制剂中以提供所需稠度、粘度或稳定作用的非治疗剂。根据本发明的一个实施方案,至少一种其他赋形剂选自药学上可接受的赋形剂,例如抗氧化剂、湿润剂、保护性胶体、染料、填充剂、蛋白酶抑制剂、渗透促进剂及其组合。根据本发明的一个具体实施方案,步骤a)中的活性剂包衣液包含至少一种填充剂,所述至少一种填充剂优选选自右旋糖、甘露醇、山梨糖醇、木糖醇、海藻糖、蔗糖、氨基酸(诸如精氨酸、组氨酸、甘氨酸、丙氨酸、赖氨酸、脯氨酸、亮氨酸、谷氨酸、丝氨酸、天冬氨酸和天冬酰胺)及其各自的盐,该活性剂包衣液相对于活性剂包衣液中的总固体含量可包含例如0.01-30重量%、0.1-20重量%或0.5-10重量%的至少一种填料。

[0267] 可以通过任何常规的混合装置将步骤a)的各个组分混合以产生活性剂包衣液。这种混合装置在本领域中是已知的,并且包括例如桨式混合器、磁力搅拌混合器。混合装置可以是用于步骤b)的喷雾包衣机的组成部分。

[0268] 在本发明方法的步骤b)中,通过喷雾包衣使惰性芯单元包衣有活性剂包衣液。在该步骤中,例如可以使用流化床喷雾包衣机或锅式包衣机。根据本发明的优选实施方案,使用流化床喷雾包衣机。现有技术使用流化床喷雾包衣机来喷雾包衣惰性芯单元是本领域已

知的。本发明人已经发现，在喷雾包衣过程中，控制活性剂包衣液所暴露于的温度和压力以及处理时间对于保持至少一种抗体或其功能性片段的活性和稳定性是至关重要的。因此，如果仔细控制喷雾包衣过程中使用的参数和条件，对于通过本发明方法制备的固体制剂中的至少一种抗体或其功能性片段是有益的。

[0269] 因此，根据本发明的一个实施方案，在步骤b)的喷雾包衣过程中，喷嘴处的雾化空气压力低于200kPa、优选低于100kPa、更优选10-100kPa、进一步更优选10-50kPa、进一步更优选25-50kPa。在本发明的另一个实施方案中，将喷雾包衣机设定为低于至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )的温度。上面的理解是指在包含多于一种抗体或功能性片段的活性剂包衣液的情况下，温度应低于具有最低 $T_m$ 的抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。在本发明的又一个实施方案中，将喷雾包衣机的温度设定为低于65°C、优选为25°C至60°C、更优选为35°C至55°C、进一步更优选为40°C至50°C、进一步更优选42°C至50°C。在本发明的又一个实施方案中，使用流化床喷雾包衣机，并且在流化床喷雾包衣机中，入口空气温度低于65°C、优选为25°C至60°C、更优选为35°C至55°C、进一步更优选40°C至50°C、进一步更优选42°C至50°C。“入口空气温度”或“入口温度”是用于流化床的空气温度。因此，入口空气温度与喷雾包衣速率一起决定了喷雾隔室中的温度，并因此决定了在喷雾包衣过程中包衣液中抗体或其功能性片段所暴露的温度。

[0270] 用于本发明的流化床喷雾包衣机没有特别限制。流化床喷雾包衣机是本领域已知的，并且包括例如由GEA集团、Glatt GmbH、Freund-Vector公司和Inora制药机械公司开发和商业化的流化床设备。在本发明的一个实施方案中，活性剂包衣液使用底喷(bottom-spray)包衣流化床喷雾包衣机将其喷雾包衣到惰性芯单元上。在本发明的另一个实施方案中，使用顶喷(top-spray)流化床喷雾包衣机将活性剂包衣液喷雾包衣到惰性芯单元上。在顶喷流化床喷雾包衣机的情况下，可以被调整以有益于本发明方法的其他参数包括容器搅拌频率；喷嘴位置；泵流速；喷雾包衣速率和进气速度。

[0271] 根据本发明方法的步骤c)，在步骤b)的同时或在步骤b)完成之后，将湿药物层积的惰性芯单元干燥，以产生干燥的固体制剂。术语“湿药物层积的惰性芯单元”是指惰性芯单元已经通过喷雾包衣用活性剂包衣液进行层积，但是在活性剂包衣液中保留了足够的溶剂，使得所包衣的药物包衣仍然是湿的。在干燥过程中，湿药物层积的惰性芯单元上的溶剂被除去。干燥湿药物层积的惰性芯单元的装置是本领域已知的，并且包括例如流化床、干燥柜或烘箱。

[0272] 当涉及固体制剂时，术语“干燥”或“干燥的”(例如，如“干燥的固体制剂”)是指含有优选小于10%、更优选小于7%、进一步更优选小于5%、进一步更优选小于3%、进一步更优选小于2%、最优选小于1.5%的残余溶剂含量的固体制剂。残留溶剂可以通过测量固体制剂的水分来确定。因此，优选在步骤c)之后或在步骤d)之后(如果在步骤c)之后施加缓释包衣形式的额外包衣)，本发明的固体制剂包含少于10%的水分、优选少于7%的水分、更优选少于5%的水分、进一步更优选少于3%的水分、进一步更优选少于和最优选少于1.5%的水分。确定任何给定固体制剂水分的一种方法是干燥失重(LOD)技术。例如，可以在105°C下使用LOD进行1小时以重量分析法测量固体制剂中包含的水分的量。

[0273] 用于本发明的抗体及其功能性片段的活性和稳定性对外部应力如温度波动特别是对高温非常敏感。因此，根据本发明的方法，干燥过程中的温度可以保护抗体及其功能性

片段的活性和稳定性,同时可以有效干燥药物层积的惰性芯单元。

[0274] 根据本发明的一个实施方案,与步骤b) 同时干燥湿药物层积的惰性芯单元。可以使用流化床的进气气流与步骤b) 同时干燥湿药物层积的惰性芯单元。根据本发明,同时干燥湿的药物层积的惰性芯单元特别适合于速释的药物包衣,即其中至少一种聚合物粘合剂适合于如上所述的立即释放的药物包衣。通过将喷雾包衣和惰性芯单元的干燥结合起来,湿药物层积的惰性芯单元的同时干燥具有减少工艺时间的优势。根据本发明的一个实施方案,其中优选使用流化床喷雾包衣机,并且与步骤b) 同时干燥湿药物层积的惰性芯单元,入口空气的温度高达65°C、优选最高60°C、更优选最高55°C、更优选40至50°C。

[0275] 根据本发明的另一个实施方案,在步骤b) 完成之后将湿药物层积的惰性芯单元干燥。本发明人已经发现,对于包含至少一种缓释聚合物粘合剂的药物包衣,所述粘合剂旨在在水性环境中缓释,由于聚合物包衣的固化,在步骤b) 完成之后干燥湿药物层积的惰性芯单元可以改善所得药物包衣的释放特性。因此,根据本发明的优选实施方案,在步骤b) 完成之后干燥的湿药物层积的惰性芯单元包含至少一种缓释的聚合物粘合剂。

[0276] 此外,本发明人惊奇地发现,如果药物包衣中的聚合物粘合剂包含至少一种缓释的聚合物粘合剂,则在步骤b) 之后在设定为给定温度的流化床设备或烘箱中干燥湿的药物层积的惰性芯,可以强烈改善所得药物包衣的溶解行为,从而在水性环境中产生至少一种抗体或其功能性片段从药物包衣中缓释的改善特性。本文所用的术语“烘箱”应以其最广泛的含义来理解,即,用于加热和干燥的腔室,并且还包括例如术语“干燥柜”。用于本发明方法的合适的烘箱或干燥柜是本领域已知的。用于本发明方法的合适的流化床设备在本领域中是已知的,并且包括例如大型流化床设备。如果在步骤b) 之后完成干燥,则对湿的药物层积的惰性芯单元干燥的温度没有特别限制,只要其保持药物包衣中包含的至少一种抗体或其功能性片段的稳定性和活性即可。已经发现,在完成步骤b) 之后的干燥过程中,不高于65°C的温度可使包含至少一种缓释聚合物粘合剂的湿药物层积的惰性芯单元充分干燥以产生最佳的缓释特性,同时在药物包衣中保留至少一种抗体或其功能性片段的稳定性和活性。因此,根据本发明的一个实施方案,在干燥包含至少一种缓释聚合物粘合剂的湿药物层积的惰性芯单元的过程中,温度不高于65°C、优选不高于60°C、更优选不高于55°C。在本发明的另一个实施方案中,在干燥包含至少一种缓释聚合物粘合剂的湿药物层积的惰性芯单元的过程中,温度低于至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。上面的理解是指在包括多于一个抗体或功能性片段的湿药物层积的惰性芯单元的情况下,温度应低于具有最低 $T_m$ 的抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。可以将湿药物层积的惰性芯单元干燥,直到获得干燥的固体制剂。当通过蒸发除去用于活性剂包衣液中的大部分溶剂时,固体制剂是干燥的。在本发明的一个实施方案中,当固体制剂的残余溶剂的含量相对于固体制剂的总重量优选小于15%、更优选小于10%、进一步更优选小于7%、进一步更优选小于5%、最优选小于3%、2%、1%或0.5%时,固体制剂应理解为干燥的。根据本发明的优选实施方案,将包含至少一种缓释聚合物粘合剂的湿药物层积的惰性芯单元干燥长达30小时、更优选约30分钟至24小时。干燥可以进一步通过真空辅助。

[0277] 根据一个实施方案,本发明的方法还包括在步骤c) 之后的步骤d),即通过喷雾包衣、优选流化床喷雾包衣使用缓释包衣液层积步骤c) 的固体制剂,以缓释包衣的形式施加至少一种额外的包衣,然后使用烘箱或流化床设备干燥湿的层积的固体制剂。

[0278] 对步骤d)中使用的至少一种缓释聚合物没有特别限制,只要其确保至少一种抗体或其功能性片段从固体制剂中缓释即可。对于缓释包衣,可以使用至少一种缓释聚合物作为聚合物。尽管如此,可以使用多于一种(例如两种、三种或四种)缓释聚合物用作缓释包衣液的聚合物。

[0279] 适用于本发明步骤d)的缓释包衣的缓释聚合物包括聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit®NM 30D或Eudragit®NE 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit®RS 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit®RL 30D);乙基纤维素(例如Surelease®或Aquacoat®ECD);聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat®SR 30D)。在本发明的一个实施方案中,至少一种缓释的聚合物选自聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯)2:1(例如Eudragit®NM 30D或Eudragit®NE 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.1(例如Eudragit®RS 30D);聚(丙烯酸乙酯,甲基丙烯酸甲酯,甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit®RL 30D);乙基纤维素(例如Surelease®或Aquacoat®ECD);聚乙酸乙烯酯(例如Kollicoat®SR 30D);及其组合。在本发明的一个优选实施方案中,缓释聚合物以水分散体的形式提供。

[0280] 对步骤d)的缓释包衣液中的缓释聚合物的浓度没有特别限制,只要其允许使用喷雾包衣将缓释包衣液施加到药物层积的惰性芯单元上即可。并且只要所得的缓释包衣在包含沉积在药物包衣上的缓释包衣的固体制剂暴露于水性环境时对药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段产生缓释特性即可。在本发明的一个实施方案中,该缓释包衣液包含一定浓度的聚合物,该浓度最大化加工速度(即喷雾速率),同时使管道和喷嘴的堵塞最小。在本发明的优选实施方案中,相对于缓释包衣液的总重量,缓释包衣液包含0.1-20重量%、优选1-15重量%、更优选2-10重量%、进一步更优选5-10重量%、进一步更优选6-9重量%的缓释聚合物,例如约7-9重量%、约6-8.5重量%、6.5-8重量%、约7-7.5重量%或约8重量%的缓释聚合物。

[0281] 已经发现沉积在药物包衣的惰性芯单元上的缓释包衣的量会影响缓释特性,从而较高量的缓释包衣会减慢至少一种抗体或其功能性片段在水性环境中从固体制剂中的释放。根据本发明的一个实施方案,相对于步骤d)之前的固体制剂,在步骤d)之后的固体制剂包括1-35重量%、优选2.5-25重量%的聚合物增重,例如4.5-25重量%、5-20重量%或10-20重量%的聚合物增重。

[0282] 使用喷雾包衣,优选流化床喷雾包衣将缓释包衣液施用于步骤c)的干燥的固体制剂(即药物包衣的惰性芯单元)。关于在一般的喷雾包衣以及特别是流化床喷雾包衣中的一般参数,参考上述本发明方法的步骤b)描述的参数和设置。在本发明的一个实施方案中,在步骤d)中,使用流化床涂布机,在流化床涂布机中,进气温度不高于65°C,优选为35-60°C,更优选为45-55°C,和/或喷嘴处的雾化压力为10-100kPa,优选10-100kPa,更优选25-100kPa。

[0283] 湿的层积的固体制剂在烘箱或流化床中干燥的温度没有特别限制,只要保留药物包衣中包含的至少一种抗体或其功能性片段的稳定性和活性并确保温度足够使所得剂型干燥。已经发现不高于65°C的温度,优选约40-60°C的温度,可使包含至少一种缓释聚合物

的湿的层积固体制剂充分干燥以产生最佳缓释特性，同时保留在药物包衣中的至少一种抗体或其功能性片段的稳定性和活性。因此，根据本发明的一个实施方案，在步骤d)的包含至少一种缓释聚合物的湿的层积固体制剂的干燥期间，烘箱或流化床的温度不高于65°C，优选约40-60°C。

[0284] 可以将湿的层积固体制剂干燥，直到获得包含药物包衣和在药物层上的缓释包衣的干燥固体制剂。当通过蒸发除去了用于步骤c)的干燥固体制剂的缓释包衣液中使用的大部分溶剂时，固体制剂的缓释包衣为干燥的。在本发明的一个实施方案中，相对于固体制剂的总重量，当固体制剂的残留溶剂含量优选小于15%、更优选小于10%、进一步更优选小于7%、进一步更优选小于5%，最优选小于3%、2%、1%或0.5%，步骤d)的缓释包衣应理解为干燥的。

[0285] 根据本发明的一个实施方案，该缓释包衣液还包含抗粘剂。抗粘剂优选是选自上面列出的用于活性剂包衣液的组，并且相对于聚合物固体的总量，以0.5-50重量%、优选1-30重量%、更优选为5-20重量%、进一步更优选为约10重量%的量存在于缓释包衣液中。特别是如果缓释聚合物是聚(丙烯酸乙酯，甲基丙烯酸甲酯，甲基丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵)1:2:0.2(例如Eudragit® RL 30D)，及其组合等，抗粘剂(例如相对于包衣液中聚合物固体总量的10重量%的量)可以使聚集最小化。

[0286] 根据本发明的另一个实施方案，步骤d)中的缓释包衣液包含至少一种增塑剂。增塑剂的使用可以显著改善所得缓释包衣的性能，包括所得缓释包衣的完整性和缓释特性。缓释包衣液中包含的增塑剂类型会影响水性环境中的缓释特性。用于缓释包衣液中的增塑剂没有特别限制。在本发明的一个优选实施方案中，增塑剂选自柠檬酸三乙酯(TEC)、聚乙二醇、乙酰基柠檬酸三乙酯、柠檬酸丁酯、聚山梨酸酯、1,2-丙二醇和癸二酸二丁酯(DBS)，优选DBS。用于缓释包衣液中的增塑剂的量没有特别限制。在本发明的一个实施方案中，相对于缓释包衣液中的缓释聚合物固体的总重量，缓释包衣液包含5-35重量%、优选10-30重量%、更优选约20-25重量%的增塑剂。

[0287] 本发明人已经发现，对于固体制剂，其中缓慢和恒定的缓释(例如在20小时或24小时的时间期间内)是理想的，疏水性增塑剂(如DBS)(相比于更亲水性的增塑剂)产生非常有利的结果，使得至少一种抗体或功能性片段从药物层缓慢且更恒定地缓释。因此，根据本发明的一个实施方案，缓释包衣液中的增塑剂是DBS。

[0288] 根据本发明的另一个实施方案，步骤d)中的缓释包衣液包含至少一种聚结促进剂。本发明人已经发现，在缓释包衣液中存在聚结促进剂如单月桂酸丙二醇酯可以显著改善所得的缓释包衣的性能，包括所得的缓释包衣的完整性和改善的缓释特性。此外，在缓释包衣液中存在聚结促进剂如单月桂酸丙二醇酯可显著减少产生固体制剂所需的干燥时间，从而减少加工时间和成本。如果缓释包衣液中包括聚结促进剂，则所得的缓释包衣可以导致至少一种抗体或其功能性片段在药物层中的释放速率更加恒定，例如在水性环境中经过24小时。最后，在缓释包衣液中存在聚结促进剂可以显著减少在没有聚结促进剂存在时产生至少一种抗体或其功能性片段的相当缓慢的释放和相当的释放特性所必需的缓释包衣的量，因为它在使用聚合物水分散体时对薄膜干燥具有积极影响。

[0289] 对于缓释包衣液中的聚结促进剂没有特别限制。根据本发明的一个实施方案，用于缓释包衣液中的聚结促进剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯28、聚山梨酯40、聚山梨酯60、

聚山梨酯65、聚山梨酯80、聚山梨酯81、聚山梨酯85、泊洛沙姆124、泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆237、泊洛沙姆331、泊洛沙姆338和泊洛沙姆407、单硬脂酸甘油酯、聚乙氧基化蓖麻油、PEG-40氢化蓖麻油、聚乙二醇15羟硬脂酸酯、聚氧乙烯15羟硬脂酸酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、癸酰基己酰基聚乙二醇-8-甘油酯、D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、单硬脂酸甘油酯、卵磷脂、脱水山梨糖醇单棕榈酸酯、脂肪醇(如鲸蜡醇或油醇)、乙醇酸钠、脱氧胆酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇、烷基聚环氧乙烷、烷基糖苷、烷基多糖苷、辛基葡萄糖苷、麦芽糖基癸基糖苷、单月桂酸丙二醇酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)及其组合,优选聚山梨酸酯,例如聚山梨酸酯20、28、40、60、65、80、81和85;泊洛沙姆,例如泊洛沙姆124、181、188、237、331、338和407;烷基聚葡萄糖苷(例如辛基葡萄糖苷和癸基麦芽糖苷);或单月桂酸丙二醇酯(例如月桂二醇90);更优选丙二醇单月桂酸酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)。在本发明的一个优选实施方案中,用于缓释包衣液中的聚结促进剂是丙二醇单月桂酸酯(例如Lauroglycol<sup>TM</sup>90)。缓释包衣液中使用的聚结促进剂的量没有特别限制。在本发明的一个实施方案中,相对于缓释包衣液中的缓释聚合物固体的总重量,缓释包衣液包含的1-20重量%、优选2-15重量%、更优选5-10重量%的聚结促进剂。

[0290] 在本发明的一个实施方案中,步骤d)的缓释包衣允许在连续搅拌水溶液下将固体制剂连续浸入水溶液中限定的时间段(例如4小时、或6小时、或8小时、或10小时、或12小时、或14小时、或16小时、或18小时、或20小时、或22小时、或24小时、或26小时、或28小时、或30小时、或32小时等),以缓释的方式从固体制剂中回收至少60%、优选至少70%、更优选至少80%、进一步更优选至少90%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%、进一步更优选至少99%、最优选至少99.5%的至少一种抗体或其功能性片段。在本发明的另一个实施方案中,步骤d)的缓释包衣允许在连续搅拌水溶液下将固体制剂连续浸入水溶液中限定的时间段(例如4小时、或6小时、或8小时、或10小时、或12小时、或14小时、或16小时、或18小时、或20小时、或22小时、或24小时、或26小时、或28小时、或30小时、或32小时等),以超过8小时、优选至少12小时、更优选至少16小时、进一步更优选至少20小时、最优选至少24小时的时间以实质上恒定的释放速率进行缓释的方式从固体制剂中回收至少60%、优选至少70%、更优选至少80%、进一步更优选至少90%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%、进一步更优选至少99%、最优选至少99.5%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0291] 在本发明的另一个实施方案中,步骤d)的缓释包衣确保在连续搅拌水性溶液下将固体制剂连续浸入水溶液中时,在超过至少5h、优选至少8h、更优选至少10小时、进一步更优选至少14小时、进一步更优选至少18小时、进一步更优选至少20小时、最优选至少24小时的时间缓释至少一种抗体或其功能性片段。在本发明的另一个实施方案中,步骤d)的缓释包衣确保在连续搅拌水性溶液下将固体制剂连续浸入水溶液中时,在超过至少5h、优选至少8h、更优选至少10小时、进一步更优选至少14小时、进一步更优选至少18小时、进一步更优选至少20小时、最优选至少24小时的时间内以实质上恒定的释放速率缓释至少一种抗体或其功能性片段。

[0292] 为了保持用于本发明的抗体及其功能性片段的活性和稳定性,根据本发明,固体制剂的制备过程中的条件有利于抗体和其功能性片段的活性和稳定性(例如,通过避免高温,高压,剪切力,酶污染等)。因此,在本发明的一个实施方案中,在步骤a)和c)期间的任何

时间,至少一种抗体或其功能性片段的温度低于该至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。以上理解为是指在药物包衣中包含一种以上抗体或功能性片段的情况下,温度应低于具有最低 $T_m$ 的抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。在本发明的替代实施方案中,在步骤a)和c)期间的任何时间,抗体或其功能性片段的温度低于65°C、优选不高于60°C、更优选不高于55°C。在本发明的另一个实施方案中,其中在步骤c)之后,作为施加至少一种缓释包衣形式的额外包衣的步骤d),包含所述至少一种抗体或功能性抗体的固体制剂的温度在步骤d)期间的任何时间低于至少一种抗体或其功能性片段的解链温度( $T_m$ )。在本发明的另一个实施方案中,其中在步骤c)之后,作为施加至少一种缓释包衣形式的额外包衣的步骤d),包含抗体或其功能性片段的固体制剂的温度在步骤d)中的任何时间不高于65°C、优选不高于60°C。

[0293] 通过本发明方法制备的固体制剂中的抗体或其功能性片段的量将根据抗体或功能性片段的药理活性、待治疗的适应症、靶向给药方案、计划的给药方法、最终组合物的完整性、稳定性和溶解行为以及其他类似原因而变化。基于步骤c)之后的药物包衣和干燥的固体制剂的总重量计,至少一种抗体或其功能性片段的量优选为至少0.01重量%、更优选至少0.05重量%、进一步更优选至少0.1重量%、进一步更优选至少0.5重量%、0.7%重量或0.9%重量、最优选至少2%重量。基于步骤c)之后的药物包衣和干燥的固体制剂的总重量,抗体或其功能性片段的量通常优选至多30重量%、更优选至多25重量%、进一步更优选至少15重量%、进一步更优选至多10重量%。

[0294] 在本发明的另一个实施方案中,步骤c)之后的药物包衣和干燥的固体制剂包含0.01-25重量%、优选0.05-15重量%、更优选0.1-10重量%、进一步更优选0.5-5重量%、进一步更优选0.7-3重量%、进一步更优选0.9-2.5重量%的至少一种抗体或其功能性片段。在本发明的另一个实施方案中,相对于干燥的药物包衣的总重量,药物包衣包含0.5-60重量%的抗体或其功能性片段、1-90重量%的粘合剂、0.001-70重量%的缓冲剂和0-20重量%的抗粘剂;优选5-50重量%的抗体或其功能性片段、10-90重量%的粘合剂、0.1-60重量%的缓冲剂和0-15重量%的抗粘剂;更优选10-50重量%的抗体或其功能性片段、20-85重量%的粘合剂、0.1-60重量%的缓冲剂和0.5-10重量%的抗粘剂;最优选20-50重量%抗体或其功能性片段、30-80重量%粘合剂、1-60重量%缓冲剂和0-8重量%抗粘剂。

[0295] 在一个实施方案中,本发明方法的步骤c)之后的药物包衣的厚度不受特别限制。在活性剂包衣液中在给定浓度的抗体或其功能性片段和给定制剂的组成下,在步骤c)之后的固体制剂的药物包衣的厚度确定了通过本发明方法制备的固体制剂中抗体或其功能性片段的量。

[0296] 本发明的方法确保至少一种抗体或其功能性片段的活性和稳定性在根据本发明的方法制备的固体制剂中得以保留。抗体或其片段的稳定性和活性可以例如通过确定以二聚体和其他聚集体存在的抗体或其功能性片段的比例来估计。根据本发明的一个实施方案,以二聚体和其他聚集体形式存在于固体制剂中的抗体或其功能性片段的总含量的比例不超过15%、优选为12%、更优选为10%、进一步更优选为8%、进一步更优选为7%、进一步更优选为5%、进一步更优选为3%、2%或1.5%的将抗体或其功能性片段添加到活性剂包衣液中时的作为二聚体或其他聚集体存在的抗体或其功能性片段总量的分数。确定作为二聚体和其他聚集体存在的多肽部分的方法是本领域已知的,并且包括例如尺寸排阻色谱法

(SEC)。

[0297] 抗体或其功能性片段的稳定性和活性也可以例如通过确定作为全长抗体的片段或其功能性片段存在的抗体或其功能性片段的分数来估计。因此,在本发明的另一个实施方案中,以全长抗体的片段或其功能性片段存在于固体制剂的抗体或其功能性片段的总含量的比例与添加该抗体或其功能性片段至结合液的时间相比基本上没有增加。如本文所用,术语“实质上”是指与所述条件的偏差不大于50%、优选不大于20%、更优选不大于15%、进一步更优选不大于10%、进一步更优选不超过7%、进一步更优选不超过5%、3%、2%、1.5%或1%。

[0298] 在本发明的另一个实施方案中,固体制剂中作为全长抗体的片段或其片段存在的抗体或其功能性片段的总含量的比例不超过15%、优选不超过12%、更优选为10%、进一步更优选为8%、进一步更优选为7%、进一步更优选为5%、进一步更优选为3%、2%或1.5%的将抗体或其功能性片段添加到活性剂包衣液中时的作为全长抗体的片段或其片段存在的抗体或其功能性片段总量的分数。确定作为全长抗体的片段或其功能性片段存在的抗体或其功能性片段的分数的方法是本领域已知的,并且包括例如微芯片电泳分析。

[0299] 在本发明的一个实施方案中,该抗体或其功能性片段适用于患者胃肠道的局部治疗。在本发明的上下文中,术语“局部治疗”用于描述固体制剂的局部施用,这与包含抗体或其功能性片段的固体制剂的全身性施用相反,例如通过输注、注射或植入。如本文所用,术语“胃肠道”描述了人体器官系统,其包括嘴与肛门之间的所有结构,形成连续的通道,并负责消化所摄取的物质、吸收营养并排出粪便。如本文所用,术语“患者”是指患有或倾向通过施用至少一种抗体或其功能性片段可以治疗或预防的病症的活生物体。在一个优选的实施方案中,患者是人。

[0300] 一种或多种固体制剂形式的药物组合物允许每天一次递送以上类型的抗体及其功能性片段。胃肠道(例如回肠或大肠)的局部治疗,通过提供高浓度的抗体或其功能性片段,确保胃肠道壁的特异性靶向,通过提高局部浓度的抗体或其功能性片段,来增强对回肠和大肠疾病的治疗,同时最大程度地减少由于在上消化道或不必要的全身吸收中的药物释放而产生的副作用。

[0301] 因此,在本发明的另一个实施方案中,通过本发明方法制备的固体制剂用于治疗胃肠道,优选回肠和大肠的疾病。此类疾病包括例如IBD、癌症(例如大肠癌或小肠癌)、乳糜泻、小肠和结肠的感染(例如艰难梭菌感染)和腹泻。在本发明的一个优选实施方案中,通过本发明方法制备的固体制剂用于治疗IBD,例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎。

[0302] 在本发明的一个实施方案中,通过本发明的方法制备的固体制剂用于口服给药。在本发明的上下文中,“口服”是指将固体制剂通过口腔引入胃肠道。

[0303] 根据本发明的一个实施方案,在步骤c)中干燥之后或在步骤d) (如果至少一种额外包衣以缓释包衣的形式被施加作为步骤d))之后,将迟释包衣形式的至少一种额外包衣施加至固体制剂。在本发明的意义上,迟释包衣是一种防止抗体或其功能性片段从固体制剂中释放直到特定事件(例如以化学或酶促触发形式或浸入溶液中的一定时间的间隔)发生的包衣。

[0304] 在一个优选的实施方案中,通过本发明的方法制备的固体制剂以小丸、珠剂、球剂、微型球剂、片剂、微型片剂或颗粒剂的形式口服给药,其包有迟释的包衣,防止在胃肠道

的回肠之前、优选在回肠末端之前、更优选在回结肠区域之前、或者在升结肠之前、横结肠之前或降结肠之前释放组合物。回肠结肠区域是胃肠道中小肠与大肠融合的区域。大肠是胃肠道的倒数第二部分，可以进一步细分为盲肠、结肠和直肠。结肠进一步细分为升结肠、横结肠和降结肠。回肠末端是小肠的倒数第二个部分，与盲肠直接相邻。

[0305] 施加迟释包衣的方法不受特别限制，只要它不影响药物包衣中至少一种抗体或其功能性片段的稳定性和活性即可。施加迟释包衣的方法是本领域已知的。在本发明的一个实施方案中，该迟释包衣通过喷雾包衣，优选流化床喷雾包衣来施加。

[0306] 用于口服给药的固体制剂的迟释，特别是在回肠或大肠中的靶向释放的包衣材料是本领域已知的。它们可细分为在高于特定pH值时会崩解的包衣材料、在胃肠道中特定停留时间后会崩解的包衣材料和因肠道特定区域的菌群特有的酶促触发而崩解的包衣材料。例如，在Bansal等(Polim.Med.2014,44,2,109–118)中，已经综述了针对大肠的这三种不同类别的包衣材料。例如在W02007/122374A2、W00176562A1、W003068196A1和GB2367002A中也描述了这种包衣的用途。在本发明的一个实施方案中，迟释包衣包含至少一种组分，所述组分选自pH依赖性崩解的包衣材料、时间依赖性崩解的包衣材料、由于肠内环境(优选在回肠和大肠的肠道环境中)的酶促发而崩解的包衣材料，及其组合。

[0307] pH依赖性崩解的包衣材料中优选的包衣材料选自聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯；偏苯三酸酯乙酸纤维素；羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯HP-50、HP-55或HP-55S；邻苯二甲酸乙酸纤维素；羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯(HPMCAS)；聚(甲基丙烯酸，丙烯酸乙酯)1:1(Eudragit® L100-55, Eudragit® L30D-55)；聚(甲基丙烯酸，甲基丙烯酸甲酯)1:1(Eudragit® L-100, Eudragit® L12.5)；聚(甲基丙烯酸，甲基丙烯酸甲酯)1:2(Eudragit® S-100, Eudragit® S12.5, Eudragit® FS30D)，及其组合；时间依赖性崩解的包衣材料中优选的包衣材料选自Eudragit® RL、Eudragit® RS、乙基纤维素及其组合。在大肠环境中由于酶促触发而崩解的包衣中优选的包衣材料选自硫酸软骨素、果胶、瓜尔胶、壳聚糖、菊粉、乳果糖、棉子糖、水苏糖、海藻酸盐、右旋糖酐、黄原胶、刺槐豆胶、阿拉伯半乳聚糖、环糊精、普鲁兰多糖、角叉菜胶、硬葡聚糖、甲壳素、凝胶多糖、果聚糖、支链淀粉、淀粉、直链淀粉、抗性淀粉、由偶氮键分裂细菌分解的偶氮化合物，及其组合。迟释包衣任选地包含至少一种另外的赋形剂，例如以上实施例之一中列出的药学上可接受的赋形剂。

[0308] 在本发明的一个实施方案中，用于迟释包衣的包衣材料包括一种、两种、三种等的组分，所述组分选自与pH依赖性崩解的包衣材料、时间依赖性崩解的包衣材料和由于肠内环境中的酶促触发作用而崩解的包衣材料，及其组合。在本发明的另一个实施方案中，迟释包衣包含至少一种pH依赖崩解的包衣材料和至少一种由于大肠环境中的酶促引发剂而崩解的包衣材料的组合。

[0309] 例如，可以设计迟释包衣以使抗体或其功能性片段的递送完全集中在大肠中，从盲肠开始，并持续通过升结肠、横结肠和降结肠，并终止于乙状结肠。可替代地，例如，可以设计迟释包衣以开始在空肠中抗体或其功能性片段的递送并在横向结肠中终止释放。可能性和组合很多。

[0310] 在本发明的一个实施方案中，该迟释包衣包含至少一种pH敏感(肠溶)聚合物的组合，例如聚(甲基丙烯酸，甲基丙烯酸甲酯)1:2，以及至少一种选自硫酸软骨素、环糊精、壳聚糖、右旋糖酐、阿拉伯半乳聚糖、直链淀粉、普鲁兰多糖、角叉菜胶、硬葡聚糖、甲壳素、凝

胶多糖、果聚糖、支链淀粉、淀粉、抗性淀粉，及其组合，例如抗性淀粉。在本发明的一个优选实施方案中，迟释包衣是聚(甲基丙烯酸，甲基丙烯酸甲酯)1:2(Eudragit®S)和抗性淀粉(例如Phloral®技术)的组合。迟释包衣包含至少一种组分，例如至少一种肠溶聚合物和至少一种多糖的组合，该肠溶聚合物例如是聚(甲基丙烯酸，甲基丙烯酸甲酯)1:2，并且该多糖是例如抗性淀粉，可以分散在有机溶剂、有机溶剂的混合物或至少一种有机溶剂和水的混合物中，然后施用于固体制剂，例如通过流化床喷雾包衣。

[0311] 在另一个实施方案中，所述迟释包衣包括：i)内包衣，所述内包衣包含部分中和至pH 8的pH敏感(肠溶)聚合物(例如，中和的聚(甲基丙烯酸，甲基丙烯酸甲酯)1:2调节至pH 8)并包含ii)缓冲层，其包含至少一种肠溶聚合物(优选聚(甲基丙烯酸，甲基丙烯酸甲酯)1:2)和至少一种选自硫酸软骨素、环糊精、壳聚糖、右旋糖酐、阿拉伯半乳聚糖、直链淀粉、普鲁兰多糖、角叉菜胶、硬葡聚糖、甲壳素、凝胶多糖、果聚糖、支链淀粉、淀粉、抗性淀粉，及其组合，优选抗性淀粉(例如OPTICORE™)。在WO2007122374A2中公开的实施方案中可以找到用于迟释包衣的其他优选实施方案。根据本发明的另一方面，在进一步的步骤中，包/棒状包装、球状/球形剂、片剂、吸管装置(即X-Straw®)或胶囊(例如硬或软明胶胶囊)或提供(多颗粒药物递送系统)包含通过根据上述实施方案之一的本发明方法制备的多个固体制剂单位。如何制备包含多个固体制剂单位的袋/棒状包装、片剂或胶囊剂是本领域已知的。袋/棒状包装、吸管装置(X-Straw®)、球状/球形剂、片剂或胶囊剂可包含总量的至少一种适合口服施用给人类患者的抗体或其功能性片段。在另一个实施方案中，袋/棒状包装、吸管装置、片剂或胶囊剂包含治疗有效剂量的适合于对人类患者口服给药的至少一种抗体或其功能性片段。

[0312] 在本发明的一个替代实施方案中，通过如以上一个发明实施方案之一所述的本发明方法的步骤a)至c)或备选地步骤a)至d)制备的多个固体制剂单元可以组合进入多颗粒药物输送系统，例如片剂、球状/球形剂或胶囊。如何制备包含多个单元的此类片剂或胶囊剂是本领域已知的。然后可以如上所述将如此制备的多颗粒药物递送系统(例如片剂、球状/球形剂或胶囊)用迟释包衣进行包衣。

[0313] 除了上述实施方案中所述的制备固体制剂的方法外，本发明还涉及可通过如上述实施方案中任一项所定义的本发明方法获得的固体制剂。本发明的固体制剂可以是小丸、珠、球、微型球、颗粒、片剂或微型片剂的形式。本发明还涉及呈袋/棒状包装，吸管装置(XStraw®)、胶囊、球体/球形剂或片剂/微型片剂形式的多颗粒药物递送系统，其包含通过上述发明方法制备的多种固体制剂。此外，本发明涉及所述固体制剂和多颗粒药物递送系统，其用于治疗胃肠道疾病，例如IBD、大肠癌、小肠癌、乳糜泻或胃肠道感染(例如艰难梭菌感染)，优选是IBD，例如克罗恩氏病或溃疡性结肠炎。本发明还涉及通过上述本发明方法制备的固体制剂和多颗粒药物递送系统，其用于患者胃肠道的局部治疗。最后，本发明涉及所述本发明的固体制剂和多颗粒药物递送系统，用于治疗患有胃肠道疾病，优选IBD、大肠癌、小肠癌或胃肠道感染，更优选IBD的患者。

[0314] 在另一方面，本发明涉及包括多个固体制剂单元(即，单个固体制剂，例如球体/球形剂)的多颗粒药物递送系统，每个固体制剂单元包括i)惰性芯单元，和ii)药物包衣，其包含至少一种抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂，以及任选的抗粘剂和/或表面活性剂，并且优选地每个固体制剂单元具有预定轴和相同预定的横截面轮廓，其中

至少80数量%的此类固体制剂单元,优选90%、更优选95%具有0.7至1.7的中位长径比,该长径比定义为沿着预定轴的固体制剂单元的长度除以最小横截面尺寸。

[0315] 根据本发明的多颗粒药物递送系统的一个实施方案,中位长径比大于0.8、优选大于0.9,并且小于1.6、优选小于1.5、更优选为1.4、进一步更优选为小于1.3、进一步更优选低于1.2、最优选约1。根据本发明的多颗粒药物递送系统的另一个实施方案,所述固体制剂单元的长径比跨度小于0.9、优选小于0.8、更优选小于0.7、进一步更优选小于0.6、最优选小于0.5。关于长径比、预定轴、预定横截面轮廓和跨度(包括定义和实施例)的更多细节,请参考EP 2512453的公开内容。应当理解,关于固体制剂单元的长径比和跨度的上述定义和实施方案同样适用于根据以上实施方案中的任一项的发明的固体制剂以及由任何一个上述发明方法的实施例制备的固体制剂。

[0316] 根据本发明的另一个实施方案,本发明的多颗粒药物递送系统允许从上述固体制剂型单元中回收至少80%、优选至少85%、更优选至少93%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0317] 根据本发明的另一个实施方案,本发明的多颗粒药物递送系统允许在连续搅拌下将固体制剂连续浸入水溶液中在30分钟、或1小时、或2小时、或4小时内回收至少80%、优选至少85%、更优选至少93%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0318] 根据本发明的另一个实施方案,包含在多颗粒药物递送系统中的固体制剂单位是缓释固体制剂单位。根据本发明的另一个实施方案,本发明的多颗粒药物递送系统允许在连续搅拌下将固体制剂连续浸入水溶液中的4小时、或6小时、或8小时、或10小时、或12小时、或14小时、或16小时、或18小时、或20小时、或22小时、或24小时、或26小时、或28小时、或30小时、或32小时、或34小时、或36小时等内回收至少80%、优选至少85%、更优选至少93%、进一步更优选至少95%、进一步更优选至少97%、进一步更优选至少98%的至少一种抗体或其功能性片段。

[0319] 在多颗粒药物递送系统的一个实施方案中,固体制剂单元在药物包衣中包含抗体或其功能性片段、缓冲剂和至少一种聚合物粘合剂,所述药物包衣通过喷雾包衣被施加至惰性芯单元。根据本发明的一个具体实施方案,包含在多颗粒药物递送系统中的固体制剂单元是根据上述任何一个实施方案的方法通过药物层积制备的固体制剂。

[0320] 在本发明的另一个实施方案中,多颗粒药物递送系统或各个固体制剂单元包括迟释包衣,其被用作另外的包衣。多颗粒药物递送系统的其他实施方案可以在EP 2512453中找到,并且适用于本发明与在EP2512453中是否公开这些实施方案有关球形化/非球形化固体制剂单位无关。根据另一方面,本发明涉及一种固体制剂,其由对应于上述任一实施方案中定义的多颗粒药物递送系统中包含的单个剂型单元中的一个的单个剂型单元组成。

[0321] 实施例

[0322] 实施例中使用的材料和方法

[0323] 表1:使用来自Caleva的Minicoater为工艺优化而改变的仪器参数

仪器参数	范围
硅管直径 (mm)	0.8 和 1.6
流速 (rpm)	2-4
[0324] 入口温度 (°C)	40 – 55
风扇速度 (m/s)	12 – 15
容器振动频率 (Hz)	10 - 14
雾化压力 (kPa)	20 – 25
喷嘴位置 (深度), 厘米	10 - 15

[0325] 制备柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7

[0326] 通过添加适量的0.1M柠檬酸钠溶液将200mL0.1M柠檬酸溶液的pH值调节至3.5,从而制备pH 2.0的柠檬酸-TRIS缓冲液。然后通过加入足量的1M TRIS溶液将所得柠檬酸盐缓冲液的pH调节至7.0。

[0327] 层积

[0328] 使用流化床包衣机 (Minicoater) 在小丸 (Cellets®/Suglets®) 上层积。将10-20克之间的微晶纤维素颗粒 (Cellets®) 或蔗糖颗粒 (Suglets®) 放入容器中,并在45°C以10Hz搅拌下且以12m/s的风扇转速下预热10分钟。将喷嘴放置在颗粒床上方的确定高度处。然后打开风扇、搅拌器和加热器,并通过打开泵和雾化空气开始喷雾包衣。表1列出了针对层积优化而改变的仪器参数。

[0329] 微芯片电泳分析

[0330] 微芯片 (labchip) 电泳分析是使用标准条件和设定进行的。简而言之,通过微芯片凝胶电泳在非还原条件下测试了含有阿达木单抗的样品的上清液 (2μl) 是否存在片段。在所有实验中,使用在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中的1mg/ml的阿达木单抗的阳性对照。稀释样品以产生1mg/ml的阿达木单抗浓度。

[0331] 尺寸排阻色谱法 (SEC)

[0332] 高效液相色谱 (HPLC) -SEC使用标准条件和设定进行。简而言之,通过SEC测试了含有阿达木单抗的样品的上清液中是否存在聚集体 (二聚体, 寡聚体)。在所有实验中,使用在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中的1mg/ml的阿达木单抗的阳性对照。

[0333] 工艺参数对阿达木单抗稳定性的影响

[0334] 通过处理包含0.25重量%的Syloid® 244FP和5mg/ml的阿达木单抗的2.5重量%的HPMC溶液来评估工艺参数对阿达木单抗的影响。在不同的中间处理步骤中对500μl的包衣混悬液进行了取样。分别通过SEC、Microchip凝胶电泳和Bradford方法测量了二聚体和其他聚集体、片段的形成以及总蛋白含量。将柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7中的1mg/ml阿达木单抗溶液用作阳性对照 (标准)。

[0335] 测定相对湿度

[0336] 使用105°C下1小时的干燥失重 (LOD) 通过重量分析法测定惰性芯和层积的微晶纤维素/蔗糖小丸以及包衣小丸中所含的水分 (水) 量。

[0337] 阿达木单抗负荷的计算

[0338] 基于固体层积物质的量和喷雾混悬液中已知的阿达木单抗浓度,计算出阿达木单

抗的理论负荷。因此,在层积和干燥之前和之后将小丸称重。必须考虑初始惰性芯、阿达木单抗层积和缓释包衣小丸中所含水分的精确量。

[0339] 用*Eudragit®RS 30D*包衣阿达木单抗层积小丸

[0340] 将*Adalimumab*层积的沉淀(基于*H PMC*的制剂)进一步用*RS 30D*的水性再分散液包衣。*Eudragit®RS 30D*的配方遵循了赢创的标准建议。*RS 30D*包衣混悬液是从30%固体含量的市售分散体中以10%固体含量制备的。

[0341] 除非另有说明,否则将柠檬酸三乙酯(TEC)用作增塑剂,将*Syloid® 244FP*用作抗粘剂。制备过量的包衣混悬液,以解决由于小批量而造成的喷雾包衣的损失。将阿达木单抗层积小丸包衣直至达到目标聚合物增重(5-25%)。然后将包衣的小丸在干燥箱(烘箱)中于40°C固化,空气循环长达24小时。在选定的配方中,丙二醇单月桂酸酯(*Lauroglycol™90*)被用作聚结促进剂。

[0342] 用*Aquacoat®ECD*包衣*Adalimumab*层积小丸

[0343] 将阿达木单抗层积小丸(基于*HPMC*的制剂)进一步用乙基纤维素(*Aquacoat®ECD*)的水分散液进行包衣。*Aquacoat®ECD*配方不需要抗粘剂。柠檬酸三乙酯(TEC)和癸二酸二丁酯(DBS)被用作增塑剂(基于聚合物固体含量的20-25%)。此外,选定的制剂还包含聚结促进剂(*Lauroglycol™90*)。包衣阿达木单抗层积的小丸直至达到目标聚合物重量增加(5-20%)。制备过量的包衣混悬液,以解决由于小批量产生的喷雾包衣损失。然后将包衣的小丸在干燥箱(烘箱)中于60°C空气循环下固化长达24小时,同时进行中间样品采样。

[0344] 阿达木单抗释放

[0345] 通过搅拌在柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7中的包衣小丸来进行包衣小丸(*Cellets®/Suglets®*)的溶解。考虑到理论上的阿达木单抗装载量,计算每管称重的包衣小丸的量以在缓冲液中产生理论上的1或1.5mg/mL的阿达木单抗浓度。在确定的时间点,将200μL上清液吸移到Eppendorf管中,如果需要,用pH 7的柠檬酸盐-TRIS缓冲液稀释。然后将样品在3000rcf下离心5分钟,然后将上清液用于进一步分析。

[0346] 总蛋白质测定

[0347] 总蛋白定量是通过在使用Coomassie Plus分析(Thermo Scientific)的Bradford方法后的比色法进行的。简而言之,将6.6μL的样品移液到一次性比色皿的底部,并且添加200μL的Coomassie Plus试剂并通过在500rpm下搅拌30s而混合。然后将样品在室温下孵育10分钟,然后使用分光光度计记录595nm的吸光度并减去空白。使用新鲜制备的标准曲线进行定量。

[0348] ELISA分析

[0349] 通过ELISA方法评估阿达木单抗与TNFα的结合。简而言之,在室温下用100μL/孔的PBS中的人TNFα(0.5mg/mL)包被孔板1小时。使用0.05μg/mL的HRP AffiniPure驴抗人IgG(H+L)(以四甲基联苯胺(TMB)为底物)评估阿达木单抗的结合。离心样品,并用PBS中的1%BSA稀释至目标阿达木单抗浓度10ng/mL。

[0350] 结果

[0351] 表1:包衣小丸的成分概要

[0352]

制剂	惰性芯	释放特性
实施例 1	微晶纤维素小丸	速释
实施例 2	蔗糖小丸	速释
实施例 3	微晶纤维素小丸	速释
实施例 4	微晶纤维素小丸	速释
实施例 5	微晶纤维素小丸	速释

[0353]

比较例 1	蔗糖小丸	速释
实施例 6	蔗糖小丸	缓释
实施例 7	蔗糖小丸	缓释
实施例 8	蔗糖小丸	缓释
实施例 9	蔗糖小丸	缓释
实施例 10	蔗糖小丸	缓释
实施例 11	蔗糖小丸	缓释
实施例 12	蔗糖小丸	缓释
实施例 13	蔗糖小丸	缓释
实施例 14	蔗糖小丸	速释
实施例 15	蔗糖小丸	速释
实施例 16	蔗糖小丸	速释
实施例 17	蔗糖小丸	速释

[0354]

#### 实施例1-小丸的速释包衣

[0355]

#### 工艺参数对阿达木单抗稳定性的影响

[0356] 从总蛋白质含量、聚集和片段化的角度评估了某些工艺变量对含有5mg/ml阿达木单抗的HPMC-Syloid® 244FP混悬液中阿达木单抗的影响(图1A-C)。在每个工艺步骤之后,阿达木单抗从喷雾液中完全回收,这表明它不会吸附到运送混悬液的表面上。由于雾化后液滴快速蒸发(体积减小),因此观察到阿达木单抗回收率明显高于100%。在此过程中收集的样品与阳性对照(1.0mg/mL标准品)相比,二聚体含量没有显著增加(图1B)。同样,与阳性对照相比,阿达木单抗片段未见明显增加(图1C)。

[0357] 层积在惰性芯单元(小丸)上的阿达木单抗

[0358] 使用根据初步安慰剂试验确定的优化工艺参数对小丸进行层积。

[0359] 从HPMC层积的微晶(Cellets®)和蔗糖(Suglets®)小丸中释放阿达木单抗

[0360] 图2显示了随着时间的推移,阿达木单抗在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中从HPMC层积小丸中的释放。柠檬酸-TRIS pH 7溶解缓冲液中回收的阿达木单抗通过总蛋白定量来定量。在两种情况下,阿达木单抗的完全释放都非常迅速。如预期的,用于层积工艺的惰性芯与层积抗体的释放无关。类似地,惰性芯对于二聚体对单体的含量和配制后阿达木单抗的片段化谱以及从溶出度样品的回收不具有任何影响(数据未显示)。

[0361] 图3A显示了随着时间的推移,在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中从HPMC层积小丸中

释放的阿达木单抗的相对二聚体对单体含量。如实施例3、4和5所示,独立于阿达木单抗的负载量和初始浓度,与阿达木单抗标准品(阳性对照)相比,二聚体含量没有显著增加,其中层积混悬液中的阿达木单抗的初始浓度为5mg/ml和14.2mg/ml,阿达木单抗在微丸上的负载量在0.9至2.7重量%之间变化。图3B显示了随时间在柠檬酸盐-TRIS缓冲液pH 7中释放的阿达木单抗的相对片段分布图。与阳性对照相比,没有观察到明显的片段化。就酸性和碱性物制剂(蛋白质表面电荷无明显差异)而言,阿达木单抗的质量也得以保留(数据未显示)。对于甲基纤维素层积小丸,在从层积小丸释放后关于聚集、片段化以及酸性和碱性物形成方面观察到类似的结果(数据未显示)。

[0362] 实施例2-在包衣混悬液中使用高浓度阿达木单抗的速释包衣

[0363] 初始包衣混悬液中的阿达木单抗浓度从14.2mg/mL增加到25mg/mL或50mg/mL,这有可能缩短工艺时间并降低工艺成本(见图4A)。所得的包衣小丸(实施例14、15、16和17)均在柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7中显示出快速释放特性,并在30分钟内完全释放(图4B)。因此,包衣混悬液中的阿达木单抗浓度对释放性质方面没有影响。与1.0mg/mL阿达木单抗标准品相比,用于初始混悬液的抗体浓度增加至50mg/mL(实施例14)不会导致超过1.5%的聚集体增加,且不会导致超过3%的片段增加(图4C)。

[0364] 实施例3-药物包衣中的缓释聚合物粘合剂

[0365] 测试了缓释聚合物粘合剂是否包含在药物包衣中。测试的聚合物粘合剂包括Eudragit® NM 30D、乙基纤维素水分散体和Eudragit® RS 30D。在实施例1中对HPMC和MC进行的相容性研究表明,阿达木单抗聚集和片段化没有显著增加(数据未显示)。使用优化的层积参数,将小丸用包含至少一种缓释聚合物粘合剂的包衣混悬液层积。缓释聚合物粘合剂与阿达木单抗浓度的比例是变化的。发现通过改变聚合物粘合剂与抗体的比例,可以修饰从药物包衣释放的抗体。

[0366] 实施例4-阿达木单抗速释包衣小丸的缓释包衣

[0367] 缓释包衣的起始材料

[0368] 第一步,使用如前所述含有10%Syloid® 244FP(基于聚合物粘合剂固体)的基于HPMC的制剂将阿达木单抗层积在微丸上。随后,将阿达木单抗层积小丸用于使用Eudragit® RS 30D或Aquacoat® ECD作为缓释聚合物的包衣试验。

[0369] Eudragit® RS 30D包衣小丸

[0370] 图5A显示了使用Eudragit® RS 30D作为缓释聚合物生产的批次的概要。在柠檬酸盐-TRIS pH 7缓冲液中,增加包衣的Eudragit® RS 30D包衣的量(从6.89重量%至23.14重量%)会显著降低阿达木单抗从包衣小丸中释放阿达木单抗释放的速率(图5B)。最低的包衣量(实施例6)足以维持阿达木单抗释放8小时。将包衣量增加至高达23.14重量%(实施例8)导致在24小时内缓释(图5B)。如实施例8a-c(重复三次)所述,制剂本身和工艺条件以及期间,包括在40°C下24小时干燥步骤,不影响阿达木单抗从包衣小丸中释放后的稳定性。与阿达木单抗标准溶液相比,在阿达木单抗聚集特性和片段化特性方面未见明显差异(图5C)。

[0371] 壴二酸二丁酯(DBS)和柠檬酸甲酯(TEC)作为乙基纤维素(Aquacoat ECD)包衣小丸中的增塑剂

[0372] DBS(疏水增塑剂)的使用浓度与TEC相同(2.5重量%,基于聚合物固体),两者均包衣有约17%的聚合物增重(图6A)。用DBS(实施例10)代替TEC(实施例9)作为增塑剂对包衣小丸中阿达木单抗的释放产生了显著影响,导致大约相同量的聚合物施用于小丸时,阿达木单抗的释放要慢得多(图6B)。这意味着可以用缓释性较低的聚合物实现目标药物释放特性(即24小时的药物释放),从而使包衣过程更短、更便宜。对于TEC和DBS来说,固化时间在成膜过程中起着一定的作用,因为固化(干燥)24小时的小丸与固化(干燥)2小时的小丸相比,药物释放略慢。与使用的增塑剂无关,与阿达木单抗标准品相比,溶出样品中的阿达木单抗没有观察到聚集体和片段特性的显著增加(图6C)。这表明在这些实施方案中,制剂组合物或工艺(包括在60°C下固化24小时的步骤)均不损害抗体的稳定性。

[0373] 实施例5-使用聚结促进剂的阿达木单抗速释包衣小丸的缓释包衣

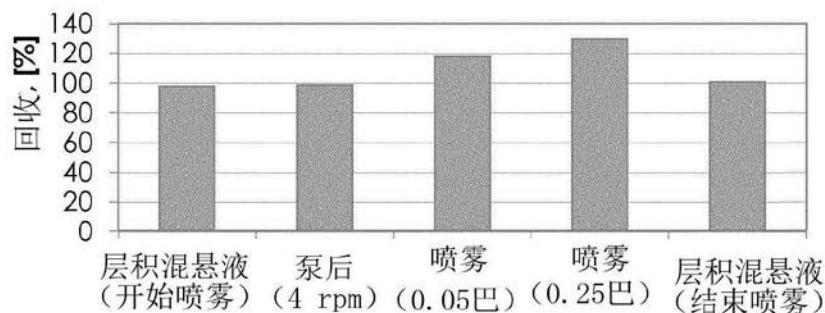
[0374] 重复阿达木单抗层积小丸的Eudragit® RS 30D包衣,并添加聚结促进剂Laurogylcol 90(参见图7A-B)。如图7B所示,与在小丸上不具有聚结促进剂的固化24小时的包衣(实施例6,图7B)相比,聚结促进剂Laurogylcol 90(实施例12)的添加显著改善了缓释特性(小丸固化1、2或24小时)。在Eudragit® RS 30D包衣制剂中添加Laurogylcol 90,从而改善了成膜性,并显著减少了实现目标释放曲线所需的包衣量。

[0375] 与没有Laurogylcol 90的Aquacoat® ECD缓释包衣相比,当使用乙基纤维素水分散体(Aquacoat ECD)作为缓释聚合物并与Laurogylcol 90组合使用时,观察到相似的效果(图6B)。向制剂中添加Laurogylcol 90(10%wt,基于聚合物固体),明显改善了成膜性,其通过不同时间段(1至24小时之间)固化的小丸中所获得的药物释放曲线没有明显差异来说明。在乙基纤维素制剂中添加Laurogylcol™90或工艺条件(包括在干燥箱中于60°C下长达24小时的固化(干燥)步骤)均不会导致样品在溶解于柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7后收集的样品中的聚集体或片段的增加(图8B)。

[0376] 从小丸释放后阿达木单抗结合TNF $\alpha$ 的ELISA分析

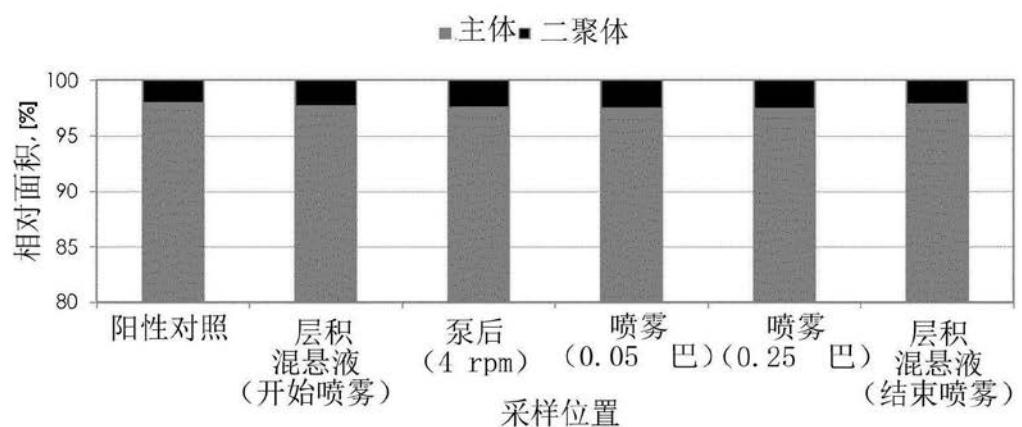
[0377] 使用ELISA分析评估在柠檬酸-TRIS缓冲液pH 7中从包衣小丸释放的阿达木单抗与TNF $\alpha$ 的结合(图9A-B)。在图9A中的实施例8(Eudragit® RS 30D包衣的小丸)和图9B的实施例13(21.67%聚合物Aquacoat® ECD增重的包衣小丸)溶解过程中回收的阿达木单抗的ELISA分析表明,保持了阿达木单抗的完整性,并且阿达木单抗能够与TNF $\alpha$ 结合。出于比较的原因,总蛋白定量(B)和ELISA(E)的结果如图9A-B所示。

(A)



采样位置

(B)



(C)

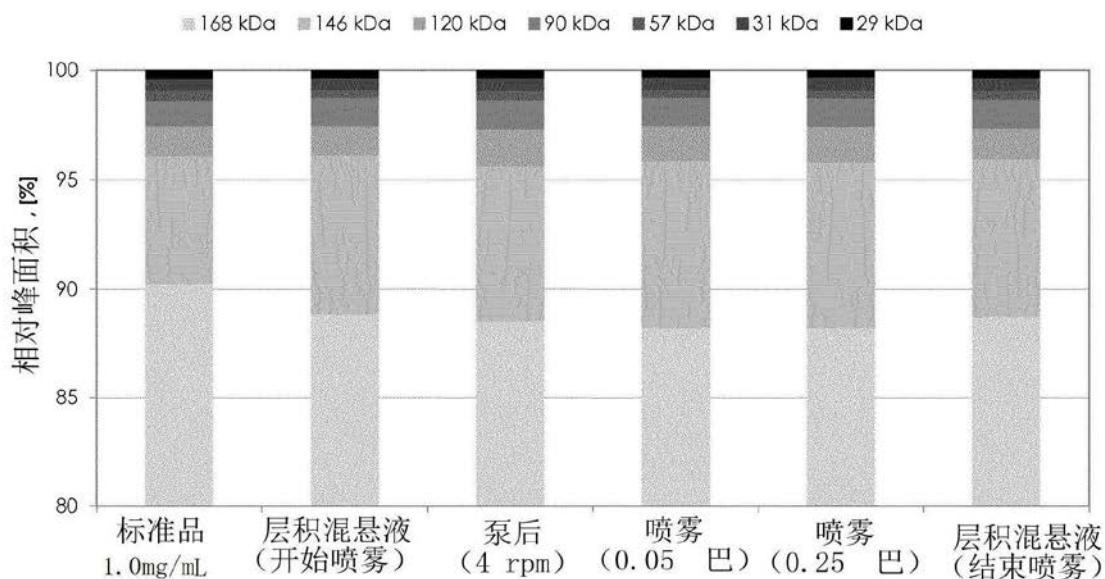
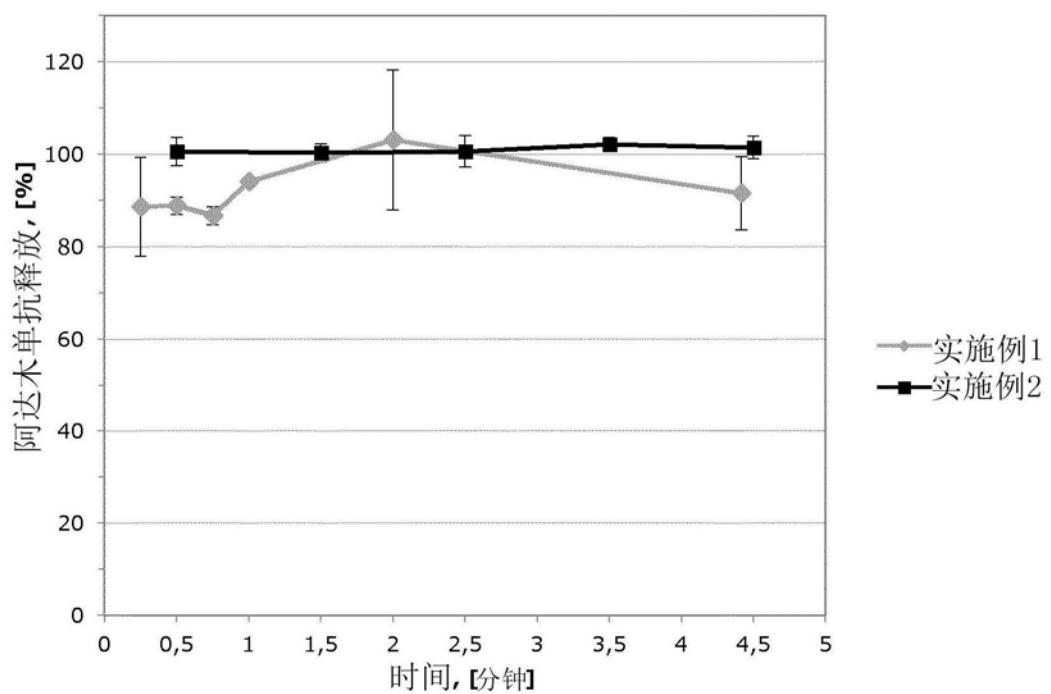
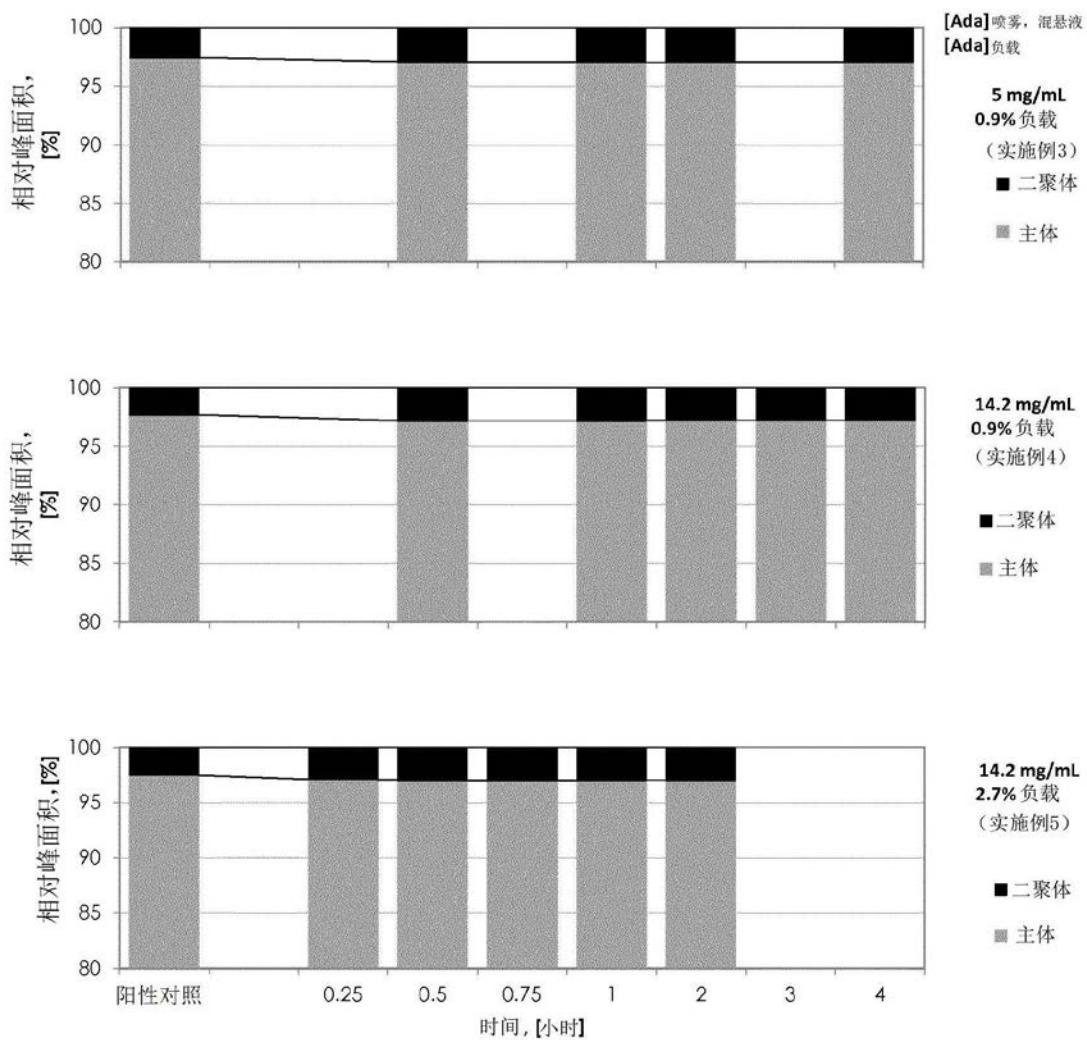


图1



(A)



(B)

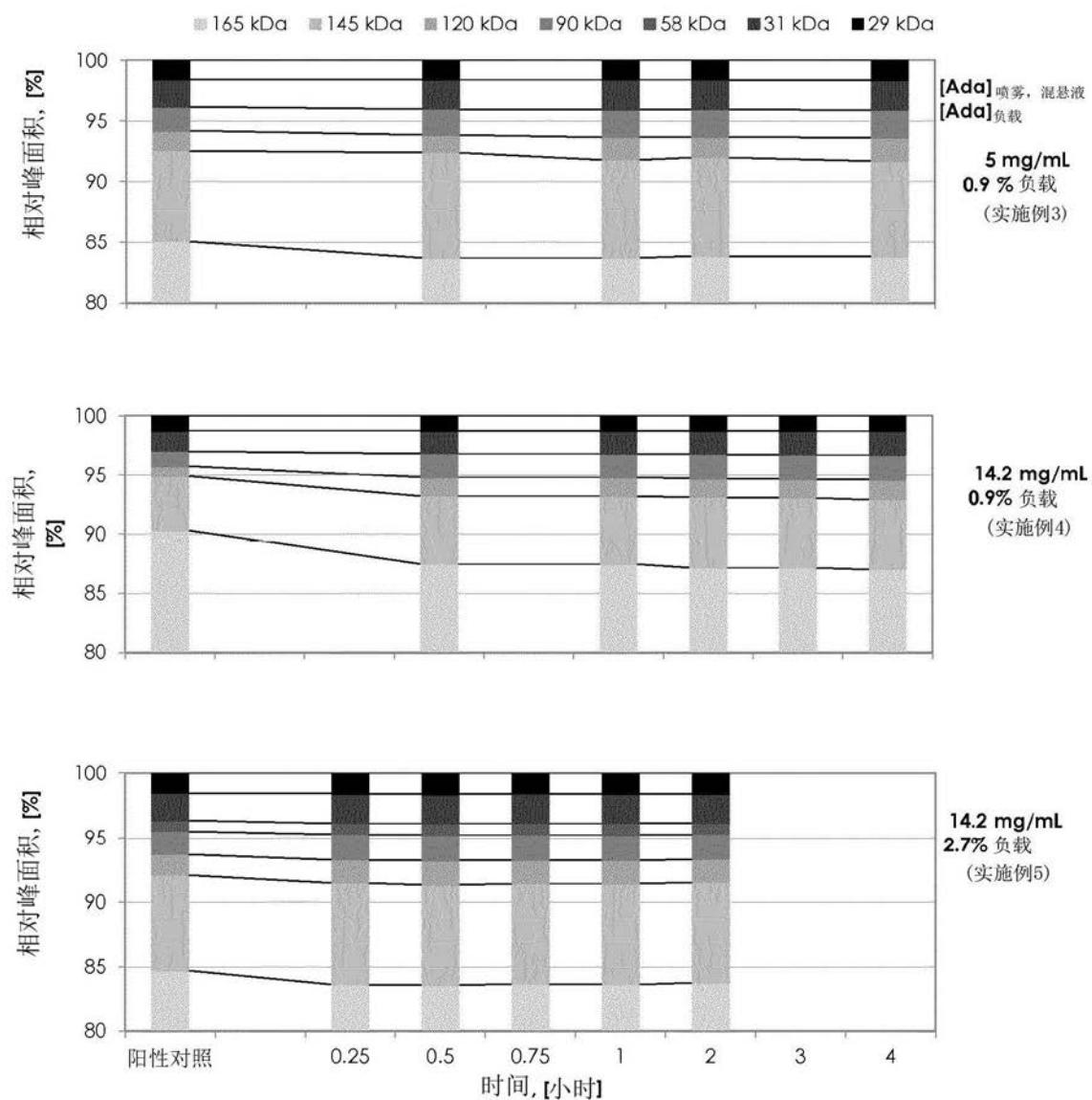
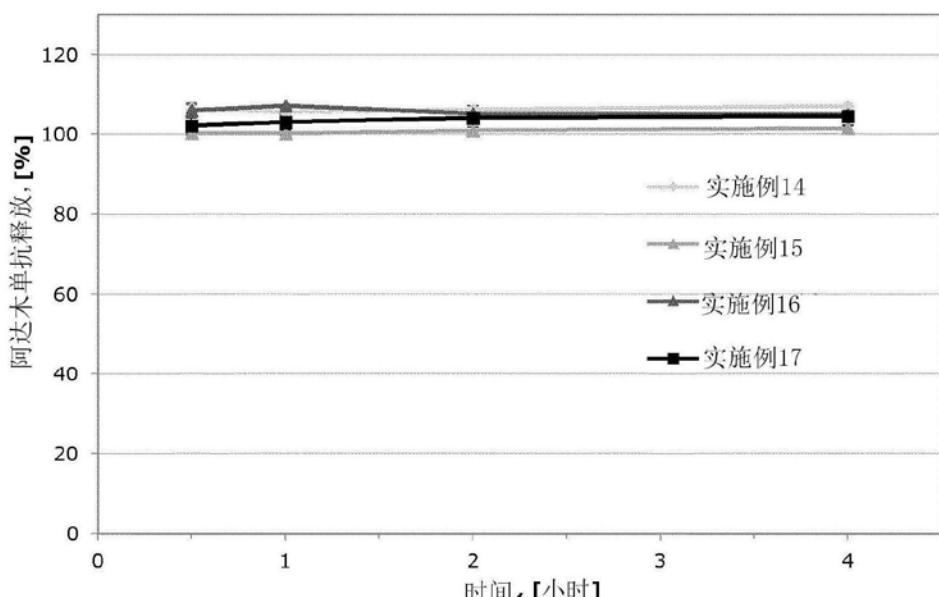


图3

(A)

制剂	阿达木单抗混悬液浓度 (mg/mL)	抗粘剂 (%)	达到负载 (%)	干燥
实施例14	50	10% Syloid® 244 FP	0.86	24h/40°C
实施例15	25	10% Syloid® 244 FP	1.40	24h/40°C
实施例16	25	10% GMS	1.53	24h/40°C
实施例17	25	20% Syloid® 244 FP	1.24	24h/40°C

(B)



5

(C)

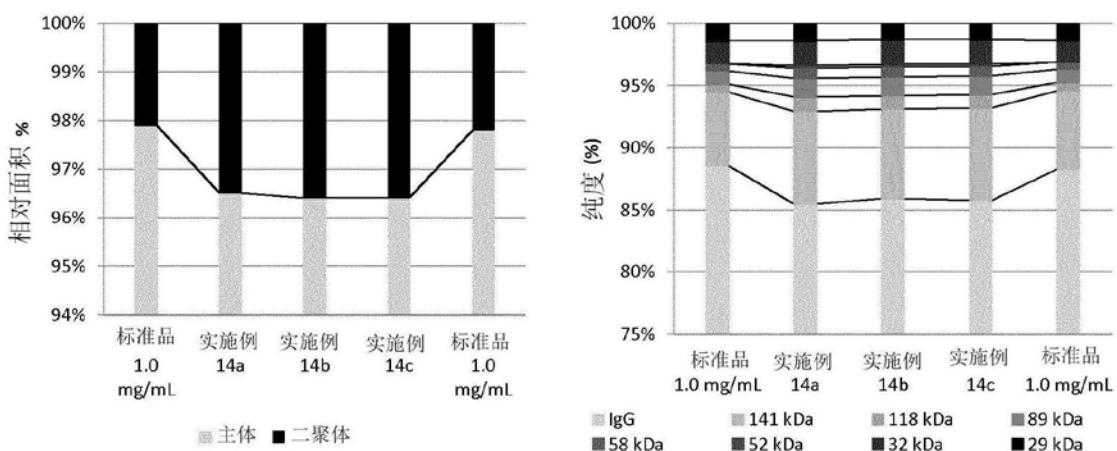
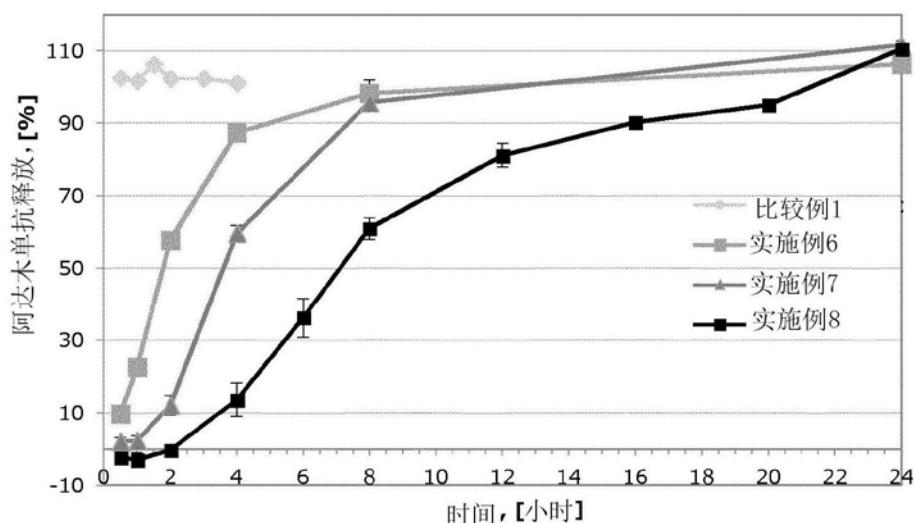


图4

(A)

批次	芯	达到的聚合物增重(%)	最终阿达木单抗负载(%)
比较例1	Suglets	n.a	2.196
实施例6	比较例1	6.89	2.02
实施例7	比较例1	14.63	1.85
实施例8	比较例1	23.14	1.80

(B)



5

(C)

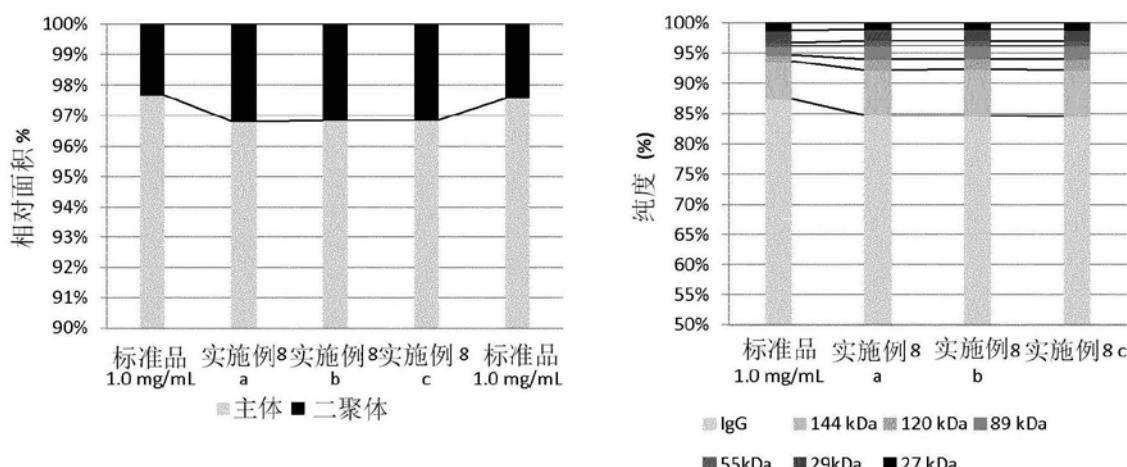
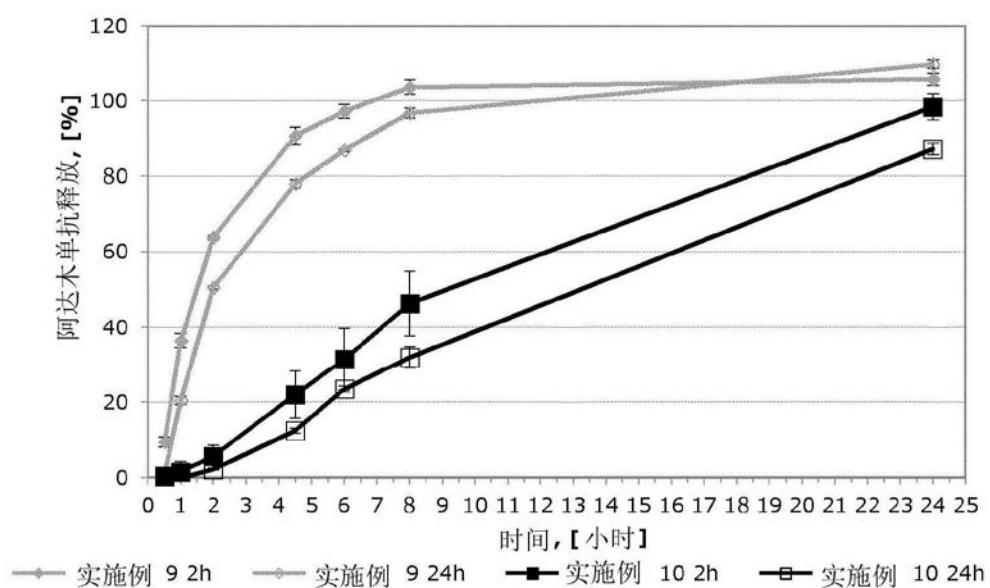


图5

(A)

批次	增塑剂 <sup>1)</sup>	聚结促进剂 (Lauroglycol™ 90) (%)	固化条件	达到的聚合物 增重 (%)	最终阿达木 单抗负载 (%)
实施例 9	25% TEC	0	2h/60°C 烘箱	16.32	1.94
			24h/60°C 烘箱	17.12	1.93
实施例 10	25% DBS	0	2h/60°C 烘箱	17.71	1.83
			24h/60°C 烘箱	16.95	1.84
实施例 11	25% DBS	10	1h/60°C 烘箱	11.73	1.68
			2.5h/60°C 烘箱	11.38	1.69
			24h/60°C 烘箱	11.56	1.68

(B)



(C)

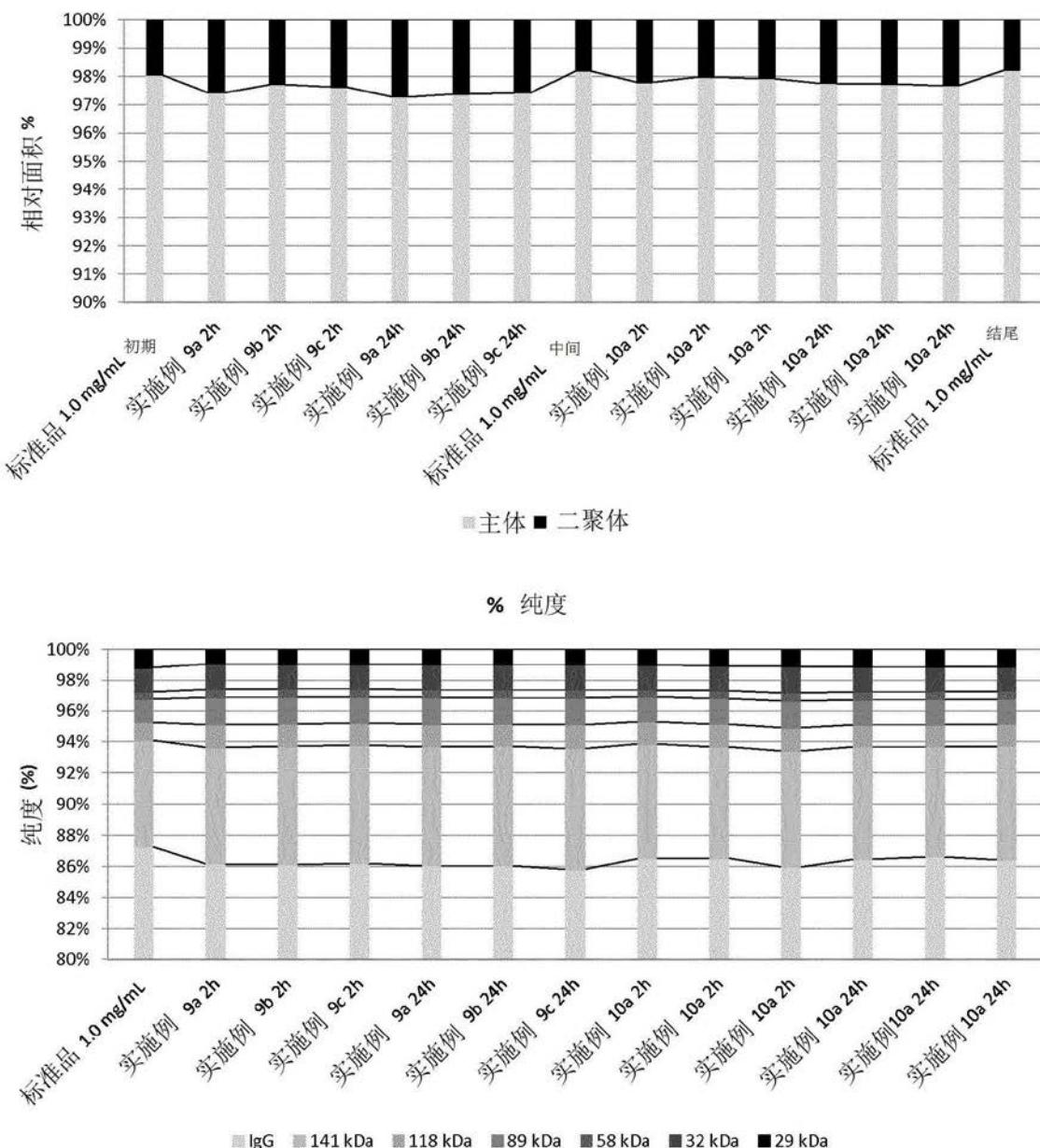


图6

(A)

批次	Lauroglycol™ 90 (%), 基于聚合物	达到的聚合物增重 (%)	最终阿达木单抗负载 (%)
实施例 6	0	6.89	1.61
实施例 12	5	5.35	1.81

(B)

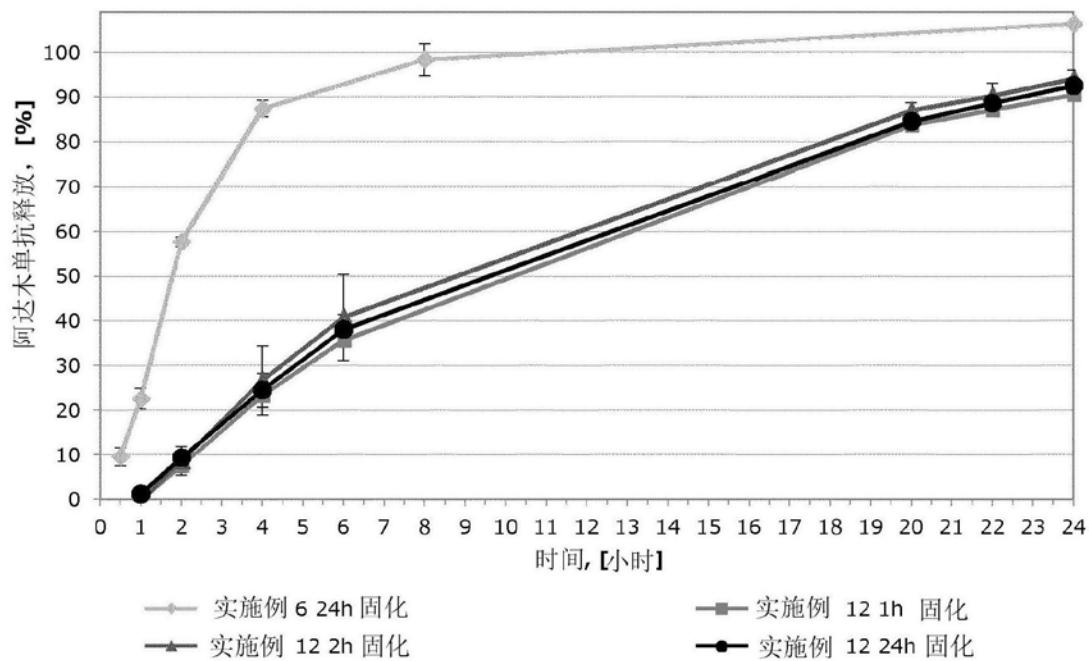
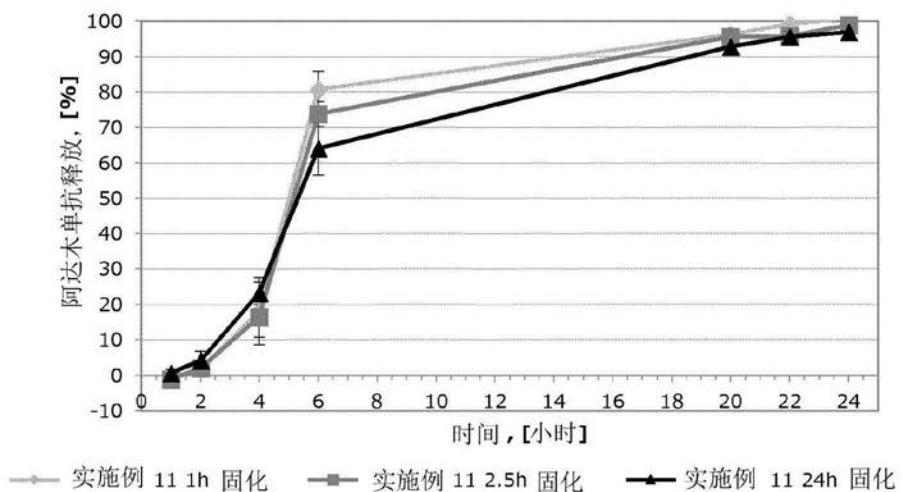


图7

(A)



(B)

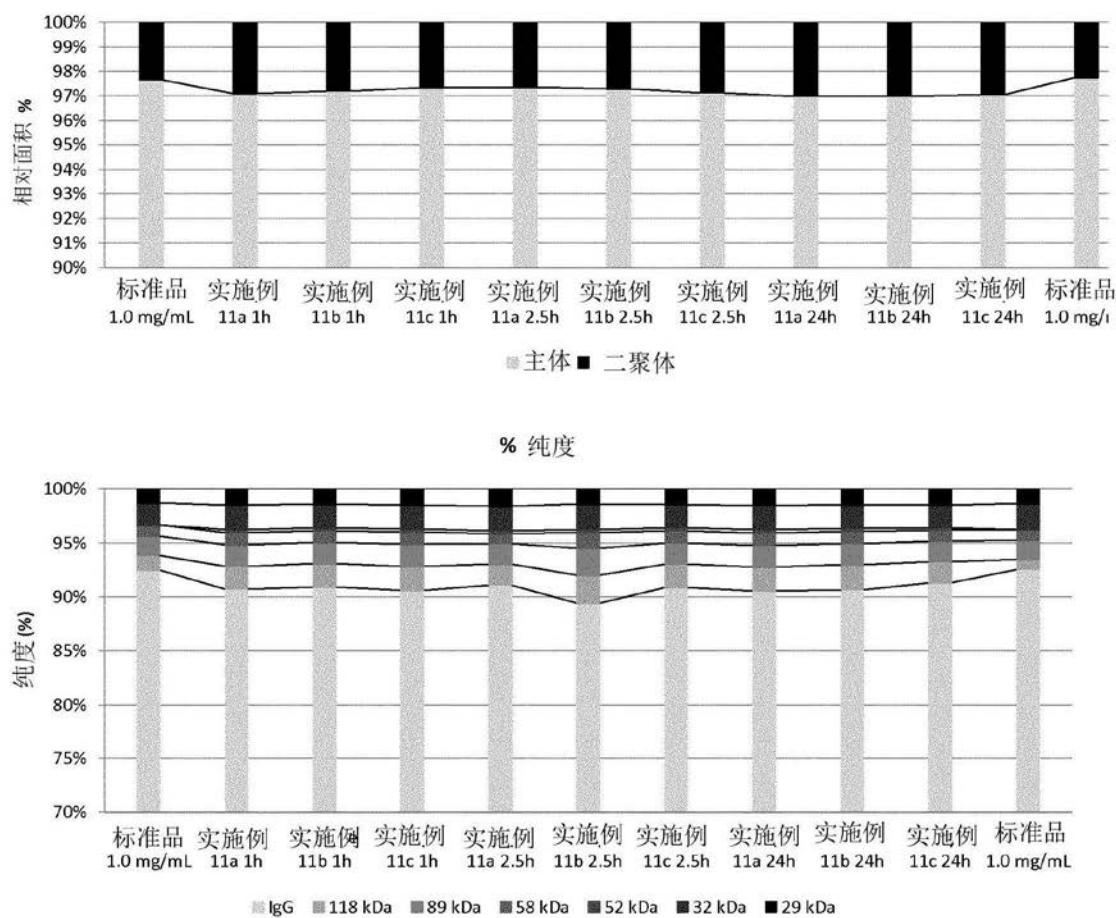
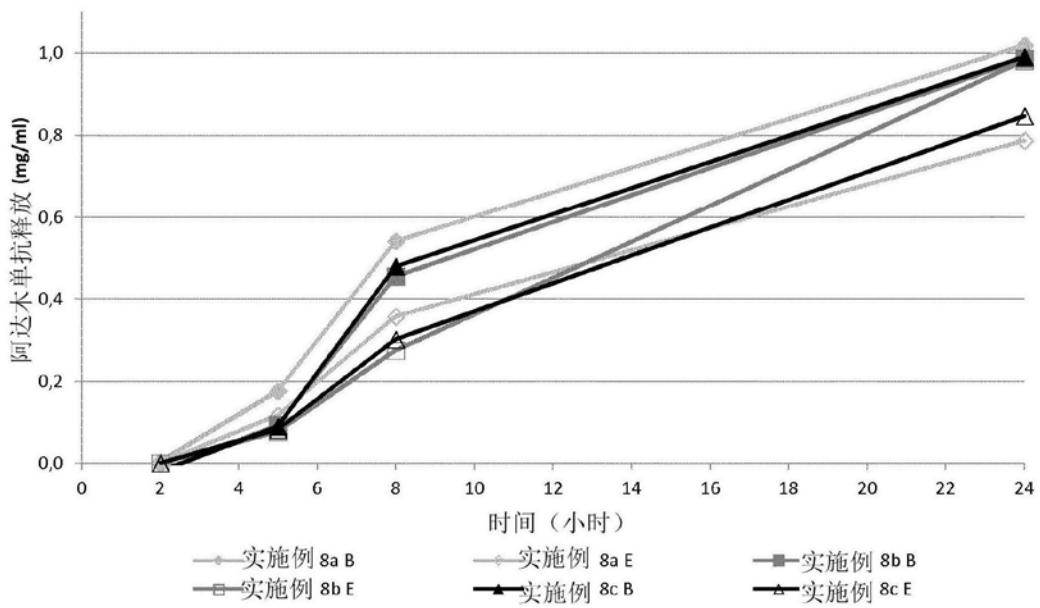


图8

(A)



(B)

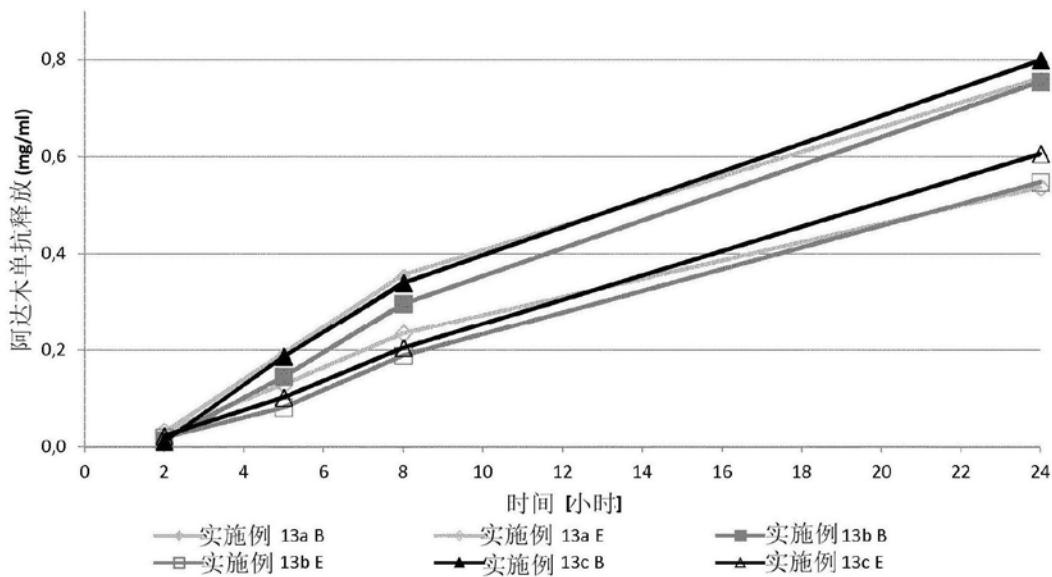


图9