(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 120267816 A
(43)申请公布日 2025.07.08

(21)申请号 202510482161.7

(22)申请日 2019.09.13

(30)优先权数据
2018-173103 2018.09.14 JP

(62)分案原申请数据
201980060117.X 2019.09.13

(71)申请人 田边三菱制药株式会社
地址 日本大阪府

(72)发明人 池本启祐 森直树 齐藤浩 谷本昌彦

(74)专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
专利代理师 杨宏军 周莎

(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/24(2006.01)
A61K 47/26(2006.01)
A61K 47/18(2017.01)
A61K 9/19(2006.01)
A61K 47/02(2006.01)
A61K 47/10(2017.01)
A61K 47/22(2006.01)
A61P 11/06(2006.01)
A61P 37/08(2006.01)
A61P 17/00(2006.01)
A61P 15/00(2006.01)

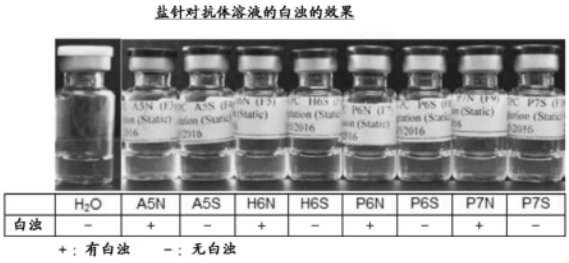
权利要求书2页 说明书24页
序列表（电子公布） 附图1页

(54)发明名称

含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物

(57)摘要

本发明涉及含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物。本发明的目的为提供适合施予至对象的含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物。本发明提供含有人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分的医药用组合物，其实质上不含有氯化钠，或者含有少于30mM的氯化钠。另外，本发明提供前述医药用组合物的冷冻干燥剂。



CN 120267816 A

1.医药用组合物,其含有人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分,其中,

所述人抗IL-33单克隆抗体的重链的互补性决定区1(H1)、重链的互补性决定区2(H2)、重链的互补性决定区3(H3)、轻链的互补性决定区1(L1)、轻链的互补性决定区2(L2)及轻链的互补性决定区3(L3)各自的氨基酸序列的组合为表1的C1至C5中的任一者,

所述医药用组合物实质上不含有氯化钠,或者含有少于30mM的氯化钠,

[表1]

	H1	H2	H3	L1	L2	L3
C1	序列号11	序列号12	序列号13	序列号14	序列号15	序列号16
C2	序列号17	序列号18	序列号19	序列号20	序列号21	序列号22
C3	序列号17	序列号23	序列号24	序列号25	序列号26	序列号27
C4	序列号28	序列号29	序列号30	序列号25	序列号31	序列号32
C5	序列号17	序列号33	序列号34	序列号35	序列号36	序列号37

。

2.如权利要求1所述的医药用组合物,其中,所述人抗IL-33单克隆抗体的重链可变区及轻链可变区各自的氨基酸序列的组合为表2的V1至V5中的任一者,

[表2]

	重链可变区	轻链可变区
V1	序列号38	序列号39
V2	序列号40	序列号41
V3	序列号42	序列号43
V4	序列号44	序列号45
V5	序列号46	序列号47

。

3.如权利要求1或2所述的医药用组合物,其中,所述人抗IL-33单克隆抗体为A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02。

4.如权利要求1~3中任一项所述的医药用组合物,其中,氯化钠浓度为10mM以下。

5.如权利要求1~4中任一项所述的医药用组合物,其实质上不含有氯化钠。

6.如权利要求1~5中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物的pH被调节为大于4且小于8。

7.如权利要求1~6中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物的pH被调节为5以上且7以下。

8.如权利要求1~7中任一项所述的医药用组合物,其中,利用乙酸盐、组氨酸或磷酸盐的缓冲剂对pH进行了调节。

9.如权利要求1~8中任一项所述的医药用组合物,其中,利用组氨酸对pH进行了调节。

10.如权利要求1~9中任一项所述的医药用组合物,其中,有效成分的浓度小于175mg/ml。

11.如权利要求1~10中任一项所述的医药用组合物,其中,有效成分的浓度为150mg/ml以下。

12.如权利要求1~11中任一项所述的医药用组合物,其含有至少一种多元醇。

13.如权利要求12所述的医药用组合物,其中,多元醇为选自由二糖类及糖醇组成的组中的糖类。

14.如权利要求12或13所述的医药用组合物,其中,多元醇为3～5%(w/v)山梨糖醇。

15.如权利要求1～14中任一项所述的医药用组合物,其含有表面活性剂。

16.如权利要求15所述的医药用组合物,其中,所述表面活性剂为非离子性表面活性剂。

17.如权利要求16所述的医药用组合物,其中,所述表面活性剂为聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80或泊洛沙姆188。

18.如权利要求1～17中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物含有10mM组氨酸、4%(w/v)山梨糖醇、0.02%(w/v)聚山梨醇酯80、150mg/ml的有效成分,pH被调节为5.5～6.5。

19.如权利要求18所述的医药用组合物,其用于皮下施予。

20.如权利要求1～17中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物含有10mM组氨酸、3.6%(w/v)山梨糖醇、0.02%(w/v)聚山梨醇酯80、10mg/ml的有效成分,pH被调节为5.5～6.5。

21.如权利要求20所述的医药用组合物,其用于静脉内施予。

22.如权利要求1～21中任一项所述的医药用组合物,其中,有效成分为A10-1C04。

23.权利要求1～22中任一项所述的医药用组合物的冷冻干燥制剂。

24.医药用组合物,其含有人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分,其中,

所述人抗IL-33单克隆抗体的重链的互补性决定区1(H1)、重链的互补性决定区2(H2)、重链的互补性决定区3(H3)、轻链的互补性决定区1(L1)、轻链的互补性决定区2(L2)及轻链的互补性决定区3(L3)各自的氨基酸序列的组合为表1的C1至C5中的任一者,

所述医药用组合物含有缓冲剂、非离子性表面活性剂、和多元醇,

[表1]

	H1	H2	H3	L1	L2	L3
C1	序列号11	序列号12	序列号13	序列号14	序列号15	序列号16
C2	序列号17	序列号18	序列号19	序列号20	序列号21	序列号22
C3	序列号17	序列号23	序列号24	序列号25	序列号26	序列号27
C4	序列号28	序列号29	序列号30	序列号25	序列号31	序列号32
C5	序列号17	序列号33	序列号34	序列号35	序列号36	序列号37

。

含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物

[0001] 本申请是申请日为2019年9月13日、申请号为No.201980060117.X(国际申请号为PCT/JP2019/036239)、发明名称为“含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物”的中国发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及含有人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的医药用组合物,特别涉及抑制白浊、改善了pH等的保存稳定性的含有抗体的医药用组合物。

背景技术

[0003] 近年来,开发了各种含有抗体的医药用组合物以供实用,许多含有抗体的医药用组合物被用作静脉注射用医药用组合物。另一方面,由于医疗现场的需要,开发含有抗体的医药用组合物作为能自行注射的皮下注射用医药用组合物的需求逐步上升。

[0004] 在设计用于皮下注射的含有抗体的医药用组合物时,每1次的抗体施予量较多(100～200mg左右),另一方面,皮下注射中一般存在注射液量的限制,因此需要使施予液中的抗体为高浓度。因此,大多使用利用了冻干浓缩技术(即,通过使用少于冻干前的容量的水将冷冻干燥医药用组合物再次溶解来制备含有高浓度抗体的医药用组合物)的含有高浓度抗体的医药用组合物。

[0005] 作为抗体的亚型之一而在医药用途中通用的IgG抗体是约150kDa的高分子量的糖蛋白,主要由于抗体的可变区的结构(氨基酸序列、糖链结构)非常多样,所以根据抗体的分子种类而显示不同的物性。

[0006] 抗体有时由于加热、振动等物理性刺激、与表面活性剂、氧化还原剂、糖等化合物的相互作用、或者进行长期保存而发生凝聚、分解、化学反应从而变性。若抗体变性,则与抗原、Fc受体的结合性发生变化,因此存在抗体的功能・效果减弱、或凝聚的抗体引发炎症这样的担忧。凝聚性等变性的容易程度因抗体的分子种类而异。

[0007] 抗体包含带电氨基酸、极性高的氨基酸、糖链,因此存在通过与抗体溶液中的离子进行相互作用而产生离子的不均衡分布、使得抗体溶液的pH变化(pH漂移)的情况(道南效应)。抗体溶液的pH的变化有时会影响抗体的保存稳定性,而道南效应的强度因抗体的分子种类而异。

[0008] 高浓度的抗体溶液由于蛋白质作为巨型分子的性质及分子间相互作用而存在形成自身粘度高的溶液的趋势。若抗体溶液的粘度增加,则施予抗体变得困难。由于使抗体的浓度升高而导致的抗体溶液的粘度的增加因抗体的分子种类而异。

[0009] 此外,在将抗体溶液进行长期保存的情况下,以pH的变化、不溶性及/或可溶性凝聚物的生成为代表的劣化现象会成为课题,但这也因抗体的分子种类而异。

[0010] 通常,对于含有抗体的医药用组合物而言,为了制成即使在长期保存后活性成分的损失仍少的、经稳定化的医药用组合物而进行了各种努力,将作为有效成分的抗体和缓

冲剂等各种添加剂溶解而以医药用组合物的形式制造。但是,尤其在含有高浓度的抗体的医药用组合物中,用于防止抗体的凝聚、白浊、粘度上升、pH漂移的技术依然是不充分的。

[0011] 本申请的发明人已取得了与IL-33结合的多个人抗IL-33单克隆抗体(专利文献1:国际公开第2015/099175),但仍存在开发含有这些抗体、适合施予的医药用组合物的需求。

[0012] 现有技术文献

[0013] 专利文献

[0014] 专利文献1:国际公开第2015/099175号

发明内容

[0015] 发明所要解决的课题

[0016] 本发明的目的为提供适合施予至对象的含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物。

[0017] 用于解决课题的手段

[0018] 本申请的发明人发现在将人抗IL-33单克隆抗体制剂化的情况下会发生白浊,并发现了该白浊的原因是凝聚物的形成。另外,发现了该白浊依赖于NaCl浓度、pH。基于上述见解,从而完成了本发明。

[0019] 即,本发明提供以下的内容。

[0020] [1]医药用组合物,其含有人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分,其中,

[0021] 所述人抗IL-33单克隆抗体的重链的互补性决定区1(H1)、重链的互补性决定区2(H2)、重链的互补性决定区3(H3)、轻链的互补性决定区1(L1)、轻链的互补性决定区2(L2)及轻链的互补性决定区3(L3)各自的氨基酸序列的组合为表1的C1至C5中的任一者,

[0022] 所述医药用组合物实质上不含有氯化钠,或者含有少于30mM的氯化钠。

[0023] [表1]

[0024] 表1以下的序列号表示序列表的序列号。

[0025]

	H1	H2	H3	L1	L2	L3
C1	序列号11	序列号12	序列号13	序列号14	序列号15	序列号16
C2	序列号17	序列号18	序列号19	序列号20	序列号21	序列号22
C3	序列号17	序列号23	序列号24	序列号25	序列号26	序列号27
C4	序列号28	序列号29	序列号30	序列号25	序列号31	序列号32
C5	序列号17	序列号33	序列号34	序列号35	序列号36	序列号37

[0026] [2]如[1]所述的医药用组合物,其中,所述人抗IL-33单克隆抗体的重链可变区及轻链可变区各自的氨基酸序列的组合为表2的V1至V5中的任一者。

[0027] [表2]

[0028] 表2以下的序列号表示序列表的序列号。

[0029]

	重链可变区	轻链可变区
V1	序列号38	序列号39
V2	序列号40	序列号41
V3	序列号42	序列号43
V4	序列号44	序列号45

V5	序列号46	序列号47

[0030] [3]如[1]或[2]所述的医药用组合物,其中,所述人抗IL-33单克隆抗体为A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02。

[0031] [4]如[1]~[3]中任一项所述的医药用组合物,其中,氯化钠浓度为10mM以下。

[0032] [5]如[1]~[4]中任一项所述的医药用组合物,其实质上不含有氯化钠。

[0033] [6]如[1]~[5]中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物的pH被调节为大于4且小于8。

[0034] [7]如[1]~[6]中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物的pH被调节为5以上且7以下。

[0035] [8]如[1]~[7]中任一项所述的医药用组合物,其中,利用乙酸盐、组氨酸或磷酸盐的缓冲剂对pH进行了调节。

[0036] [9]如[1]~[8]中任一项所述的医药用组合物,其中,利用组氨酸对pH进行了调节。

[0037] [10]如[1]~[9]中任一项所述的医药用组合物,其中,有效成分的浓度小于175mg/ml。

[0038] [11]如[1]~[10]中任一项所述的医药用组合物,其中,有效成分的浓度为150mg/ml以下。

[0039] [12]如[1]~[11]中任一项所述的医药用组合物,其含有至少一种多元醇。

[0040] [12-1]如[12]所述的医药用组合物,其中,多元醇为选自由二糖类及糖醇组成的组中的糖类。

[0041] [13]如[12]或[12-1]所述的医药用组合物,其中,多元醇为3~5%(w/v)山梨糖醇。

[0042] [14]如[1]~[13]中任一项所述的医药用组合物,其含有表面活性剂。

[0043] [15]如[14]所述的医药用组合物,其中,所述表面活性剂为非离子性表面活性剂。

[0044] [15-1]如[15]所述的医药用组合物,其中,所述表面活性剂为聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80或泊洛沙姆188。

[0045] [16]如[1]~[15-1]中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物含有10mM组氨酸、4%(w/v)山梨糖醇、0.02%(w/v)聚山梨醇酯80、150mg/ml的有效成分,pH被调节为5.5~6.5。

[0046] [17]如[16]所述的医药用组合物,其用于皮下施予。

[0047] [18]如[1]~[15-1]中任一项所述的医药用组合物,所述医药用组合物含有10mM组氨酸、3.6%(w/v)山梨糖醇、0.02%(w/v)聚山梨醇酯80、10mg/ml的有效成分,pH被调节为5.5~6.5。

[0048] [19]如[18]所述的医药用组合物,其用于静脉内施予。

[0049] [20]如[1]~[19]中任一项所述的医药用组合物,其中,有效成分为A10-1C04。

[0050] [21][1]~[20]中任一项所述的医药用组合物的冷冻干燥制剂。

[0051] [22]治疗或预防IL-33相关疾病的方法,其特征在于,

[0052] 包括将含有人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分的医药用组合物施予至有需要的对象,

[0053] 其中,所述人抗IL-33单克隆抗体的重链的互补性决定区1(H1)、重链的互补性决定区2(H2)、重链的互补性决定区3(H3)、轻链的互补性决定区1(L1)、轻链的互补性决定区2(L2)及轻链的互补性决定区3(L3)各自的氨基酸序列的组合为前述表1的C1至C5中的任一者,

[0054] 其中,所述医药用组合物实质上不含有氯化钠,或者含有少于30mM的氯化钠。

[0055] [23]如[22]所述的方法,其中,所述人抗IL-33单克隆抗体的重链可变区及轻链可变区各自的氨基酸序列的组合为前述表2的V1至V5中的任一者。

[0056] [24]如[22]或[23]所述的方法,其中,所述人抗IL-33单克隆抗体为A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02。

[0057] [25]如[22]~[24]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物的氯化钠浓度为10mM以下。

[0058] [26]如[22]~[25]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物实质上不含有氯化钠。

[0059] [27]如[22]~[26]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物的pH被调节为大于4且小于8。

[0060] [28]如[22]~[27]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物的pH被调节为5以上且7以下。

[0061] [29]如[22]~[28]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物利用乙酸盐、组氨酸或磷酸盐的缓冲剂对pH进行了调节。

[0062] [30]如[22]~[29]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物利用组氨酸对pH进行了调节。

[0063] [31]如[22]~[30]中任一项所述的方法,其中,有效成分的浓度小于175mg/ml。

[0064] [32]如[22]~[31]中任一项所述的方法,其中,有效成分的浓度为150mg/ml以下。

[0065] [33]如[22]~[32]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物含有选自由山梨糖醇、蔗糖、海藻糖及甘露糖醇组成的组中的至少1种。

[0066] [34]如[22]~[33]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物含有3~5%(w/v)山梨糖醇。

[0067] [35]如[22]~[34]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物含有表面活性剂。

[0068] [36]如[35]所述的方法,其中,所述表面活性剂为聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80或泊洛沙姆188。

[0069] [37]如[22]~[36]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物含有10mM组氨酸、4%(w/v)山梨糖醇、0.02%(w/v)聚山梨醇酯80、150mg/ml的有效成分,pH被调节为5.5~6.5。

[0070] [38]如[37]所述的方法,其中,所述施予为皮下施予。

[0071] [39]如[22]~[36]中任一项所述的方法,其中,所述医药用组合物含有10mM组氨酸、3.6%(w/v)山梨糖醇、0.02%(w/v)聚山梨醇酯80、10mg/ml的有效成分,pH被调节为5.5~6.5。

[0072] [40]如[39]所述的方法,其中,所述施予为静脉内施予。

[0073] [41]如[22]～[40]中任一项所述的方法,其中,有效成分为A10-1C04。

[0074] [42]医药组合物,其用于IL-33相关疾病的治疗或预防中的用途,其特征在于,

[0075] 含有人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分,

[0076] 其中,所述人抗IL-33单克隆抗体的重链的互补性决定区1(H1)、重链的互补性决定区2(H2)、重链的互补性决定区3(H3)、轻链的互补性决定区1(L1)、轻链的互补性决定区2(L2)及轻链的互补性决定区3(L3)各自的氨基酸序列的组合为前述表1的C1至C5中的任一者,

[0077] 其中,所述医药用组合物实质上不含有氯化钠,或者含有少于30mM的氯化钠。

[0078] [43]用于制造用于IL-33相关疾病的治疗或预防的医药用组合物的用途,

[0079] 所述医药组合物含有人抗IL-33单克隆抗体,实质上不含有氯化钠,或者含有少于30mM的氯化钠,

[0080] 其中,所述人抗IL-33单克隆抗体的重链的互补性决定区1(H1)、重链的互补性决定区2(H2)、重链的互补性决定区3(H3)、轻链的互补性决定区1(L1)、轻链的互补性决定区2(L2)及轻链的互补性决定区3(L3)各自的氨基酸序列的组合为前述表1的C1至C5中的任一者。

[0081] [44]如[12-1]所述的医药用组合物,其中,二糖类为选自由蔗糖及海藻糖组成的组中的糖类,糖醇为选自由山梨糖醇及甘露糖醇组成的组中的糖类。

[0082] [45]如[12-1]或[44]所述的医药用组合物,其中,二糖类为蔗糖,糖醇为山梨糖醇。

[0083] [46]如[1]～[12]中任一项所述的医药用组合物,其含有至少一种20℃时的水中的溶解度为100g/100g以上的多元醇。

[0084] [47]如[46]所述的医药用组合物,其中,20℃时的水中的溶解度为100g/100g以上的多元醇是20℃时的水中的溶解度为100g/100g以上的糖类。

[0085] [48]如[47]所述的医药组合物,其中,20℃时的水中的溶解度为100g/100g以上的糖类是选自山梨糖醇及蔗糖中的糖类。

[0086] [49]如[15]所述的医药用组合物,其中,所述非离子性表面活性剂为聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80或泊洛沙姆188。

[0087] [50]医药用组合物,其含有人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分,其中,

[0088] 所述人抗IL-33单克隆抗体的重链的互补性决定区1(H1)、重链的互补性决定区2(H2)、重链的互补性决定区3(H3)、轻链的互补性决定区1(L1)、轻链的互补性决定区2(L2)及轻链的互补性决定区3(L3)各自的氨基酸序列的组合为表1的C1至C5中的任一者,

[0089] 所述医药用组合物含有缓冲剂、非离子性表面活性剂、和多元醇。

[0090] [51]如[50]所述的医药组合物,其中,多元醇是20℃时的水中的溶解度为100g/100g以上的多元醇。

[0091] [52]如[50]或[51]所述的医药组合物,其实质上不含有氯化钠,或者含有少于30mM的氯化钠。

[0092] 发明效果

[0093] 本发明的含有人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的医药用组合物(或本发明中使用的医药组合物)的白浊得到抑制,因此安全性、

效力优异。另外,本发明的医药组合物在溶液状态下pH不会显著变化、能够稳定地长期保存,适合制剂的保存、使用。

附图说明

[0094] [图1]图1示出A10-1C04抗体的P7N配方的白浊。

[0095] [图2]图2示出添加糖所带来的白浊抑制效果。A10-1C04抗体的添加了山梨糖醇的配方(A5S、H6S、P6S、P7S)中,白浊得到了改善。

具体实施方式

[0096] 为了便于理解本发明,以下对本发明使用的用语进行说明。

[0097] [医药用组合物]

[0098] 本说明书中,医药用组合物是指以能施予至人等动物的方式制备的组合物。因此,医药用组合物也可以指已赋予剂型的制剂。

[0099] [实质上]

[0100] 本说明书中,“实质上不含有氯化钠”是指在本发明的医药组合物中不添加氯化钠的情况等,表示不含有本发明的医药用组合物会发生白浊的水平的氯化钠。

[0101] [表面活性剂]

[0102] 本说明书中,表面活性剂是指在分子内具有容易与水亲和的部分(亲水基团)、容易与油亲和的部分(亲油基团·疏水基团)的物质的总称。可以使用抗体制剂中常用的任意的表面活性剂,作为一例可举出聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、泊洛沙姆188。

[0103] [抗体]

[0104] 本说明书中的“抗体”这一用语采用最广泛的含义,包括人抗体、人源化抗体及来源于非人物种的抗体及单克隆抗体、多克隆抗体。另外,本说明书中的“抗体”可以是多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、药物融合抗体(ADC),还可以是dAbs、scFv、Fab、F(ab)’2、Fab’等抗原结合片段。

[0105] [单克隆抗体]

[0106] 本说明书中,“单克隆抗体”这一用语在本说明书中使用时,指由实质上同质的抗体的集团组成的抗体,即,例如,除了糖链、氨基酸修饰等轻微的区别之外,构成集团的各抗体相同。通常,与包含不同的抗体的多克隆抗体形成对比,各单克隆抗体与抗原上的单一表位结合。修饰词“单克隆”表示获得自实质上同质的抗体的集团这样的抗体特征,而不应解释为需要通过特定的方法来制备抗体。例如,根据本发明而使用的单克隆抗体可以利用由Kohler等,Nature,256:495(1975)最初记载的杂交瘤法来制作,或者也可利用重组DNA法(例如,参见美国专利第4,816,567号)来制作。“单克隆抗体”也可使用例如Clackson等,Nature,352:624-628(1991)及Marks等,J.Mol.Biol.,222:581-597(1991)中记载的方法从噬菌体抗体文库中分离。

[0107] [5种人抗IL-33单克隆抗体]

[0108] 本发明中使用的5种人抗IL-33单克隆抗体是指国际公开第2015/099175号中公开的、A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04及A26-1F02这5个克隆的人抗IL-33单克隆抗体,其是由以下的氨基酸序列的重链、轻链组成的人抗IL-33单克隆抗体。

[0109] (a)A10-1C04：

[0110] • 重链：

[0111] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGLEWVSSISRYSSYIYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDIGGMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(序列表的序列号1)；及

[0112] • 轻链：

[0113] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAVYDVHWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSK SGTSASLAISGLRSEDEADYYCQTYDSSRWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(序列表的序列号2)

[0114] (b)A23-1A05：

[0115] • 重链：

[0116] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMHWVRQAPGKGLEWVSSISARSRYHYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLATRHNAFDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(序列表的序列号3)；及

[0117] • 轻链：

[0118] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNAVSWYQQLPGTAPKLLIYASNMRVIGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCGAWDDSQKALVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(序列表的序列号4)

[0119] (c)A25-2C02：

[0120] • 重链：

[0121] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMHWVRQAPGKGLEWVSSISARSSYIYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLATRNNAFDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(序列表的序列号5)；及

[0122] • 轻链：

[0123] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGRNAVNWYQQLPGTAPKLLIYASNMRVSGVPDRFSGSKS

GTSASLAISGLRSEDEADYYCWAWDDSQKVGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(序列表的序列号6)

[0124] (d)A25-3H04:

[0125] •重链:

[0126] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYMHWVRQAPGKGLEWVSSISAQSSHIYYADSVEGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLATRQNAFDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(序列表的序列号7);及

[0127] •轻链:

[0128] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGRNAVNWYQQLPGTAPKLLIYASNMRRSGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCSAWDDSQKVVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(序列表的序列号8)

[0129] (e)A26-1F02:

[0130] •重链:

[0131] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMHWVRQAPGKGLEWVSSISARSSYLYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLATRHVAFDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(序列表的序列号9);及

[0132] •轻链:

[0133] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGTAPKLLIYASNMRRPGVPDRFSGSKS GTSASLAISGLRSEDEADYYCEAWDDSQKAVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS(序列表的序列号10)

[0134] [互补性决定区(CDR)]

[0135] 本说明书中,互补性决定区(CDR)是指与抗原结合相关的抗体的氨基酸残基。CDR通常也被称为“超可变区”,是特异于抗体的分子种类的氨基酸序列,可通过Kabat等的方法确定(Kabat等,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th Ed.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.(1991)。CDR在抗体的轻链中存在3个(L1、L2、L3),在抗体的重链中存在3个(H1、H2、H3),A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04、A26-1F02这5个克隆的各CDR如下所示。

[0136] (a)A10-1C04:

[0137] H1:DYYMN(序列表的序列号11)

[0138] H2:SISRYSSYIYYADSVKG(序列表的序列号12)

[0139] H3:DIGGMDV(序列表的序列号13)

[0140] L1:TGSSSNIGAVYDVH(序列表的序列号14)

[0141] L2:RNNQRPS(序列表的序列号15)

[0142] L3:QTYDSSRWV(序列表的序列号16)

[0143] (b)A23-1A05:

[0144] H1:NYYMH(序列表的序列号17)

[0145] H2:SISARSRYHYYADSVKG(序列表的序列号18)

[0146] H3:LATRHNAFDI(序列表的序列号19)

[0147] L1:SGSSSNIGNNAVS(序列表的序列号20)

[0148] L2:ASNMRVI(序列表的序列号21)

[0149] L3:GAWDDSQKALV(序列表的序列号22)

[0150] (c)A25-2C02:

[0151] H1:NYYMH(序列表的序列号17)

[0152] H2:SISARSSYIYYADSVKG(序列表的序列号23)

[0153] H3:LATRNNAFDI(序列表的序列号24)

[0154] L1:SGSSSNIGRNAVN(序列表的序列号25)

[0155] L2:ASNMRVS(序列表的序列号26)

[0156] L3:WAWDDSQKVGV(序列表的序列号27)

[0157] (d)A25-3H04:

[0158] H1:RYYMH(序列表的序列号28)

[0159] H2:SISAQSSHIYYADSVEG(序列表的序列号29)

[0160] H3:LATRQNAFDI(序列表的序列号30)

[0161] L1:SGSSSNIGRNAVN(序列表的序列号25)

[0162] L2:ASNMRRS(序列表的序列号31)

[0163] L3:SAWDDSQKVVV(序列表的序列号32)

[0164] (e)A26-1F02:

[0165] H1:NYYMH(序列表的序列号17)

[0166] H2:SISARSSYLYYADSVKG(序列表的序列号33)

[0167] H3:LATRHVAFDI(序列表的序列号34)

[0168] L1:SGSSSNIGNNAVN(序列表的序列号35)

[0169] L2:ASNMRRP(序列表的序列号36)

[0170] L3:EAWDDSQKAVV(序列表的序列号37)

[0171] [可变区]

[0172] 本说明书中,可变区是指单克隆抗体的恒定区以外的部分,其和与抗原的结合相关,是决定根据抗原而发生各种变化的抗体的特异性的部分。可变区中存在重链可变区、轻链可变区,A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04、A26-1F02这5个克隆的各重链可变区、轻链可变区如下所示。

[0173] (a)A10-1C04：

[0174] • 重链可变区：

[0175] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGLEWVSSISRYSSYIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDIGGMDVWGQGTLVTVSS(序列表的序列号38)

[0176] • 轻链可变区：

[0177] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCTGSSSNIGAVYDVHWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCQTYDSSRWVFGGGTKLTVLG(序列表的序列号39)

[0178] (b)A23-1A05：

[0179] • 重链可变区：

[0180] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMHWVRQAPGKGLEWVSSISARSRYHYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLATRHNAFDIWGQGTLVTVSS(序列表的序列号40)

[0181] • 轻链可变区：

[0182] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNAVSWYQQLPGTAPKLLIYASNMRVIGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCGAWDDSQKALVFGGGTKLTVLG(序列表的序列号41)

[0183] (c)A25-2C02：

[0184] • 重链可变区：

[0185] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMHWVRQAPGKGLEWVSSISARSSYIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLATRNNAFDIWGQGTLVTVSS(序列表的序列号42)

[0186] • 轻链可变区：

[0187] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGRNAVNWYQQLPGTAPKLLIYASNMRVSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCWAWDDSQKVGVFGGGTKLTVLG(序列表的序列号43)

[0188] (d)A25-3H04：

[0189] • 重链可变区：

[0190] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYMHWVRQAP GKGLEWVSSISAQSSHIYYADSVEGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARLATRQNAFDIWGQGTLVTVSS(序列表的序列号44)

[0191] • 轻链可变区：

[0192] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGRNAVNWYQQLPGT APKLLIYASNMRRSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC SAWDDSQKVVVFGGGTKLTVLG(序列表的序列号45)

[0193] (e)A26-1F02：

[0194] • 重链可变区：

[0195] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMHWVRQAP GKGLEWVSSISARSSYLYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARLATRHVAFDIWGQGTLVTVSS(序列表的序列号46)

[0196] • 轻链可变区：

[0197] QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGT APKLLIYASNMRRPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYC EAWDDSQKAVVFGGGTKLTVLG(序列表的序列号47)

[0198] “稳定”

[0199] 本说明书中,“稳定”是指含有抗体的医药用组合物在保存后也在事实上保持了其特性(例如,物理特性、化学特性及/或生物活性)。例如,本技术领域中可获得用于测定以抗体为代表的蛋白质的稳定性的各种分析技术,在Peptide and Protein Drug Delivery,

247-301,Vincent Lee Ed.,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,Pubs.(1991)及Jones,A.Adv.Drug Delivery Rev.10:29-90(1993)中已进行了概述。含有抗体的医药用组合物的稳定性可在所选择的温度下于所选择的时间期间进行评价。“稳定的”含有抗体的医药用组合物是在冷藏温度(2～8℃)下于至少1个月、3个月、6个月、12个月、优选2年、及、更优选3年的期间、或在室温(23～27℃)下于至少3个月、优选6个月、及、更优选1年的期间、或在应激(stress)条件下(约40℃或约50℃)于至少1星期、2星期、1个月、优选3个月、及更优选6个月的期间,未观察到显著变化的含有抗体的医药用组合物。可使用各种稳定性基准作为指标,例如视觉检查异常(白浊等)、pH、粘度、抗体的与抗原的结合性、抗体的针对抗原分子的阻遏活性(例如,IL-33对IL-6的产生诱导的阻遏活性)、抗体的效应子功能、抗体的分解。

[0200] “效应子功能”

[0201] 抗体的“效应子功能”是指由于抗体的Fc区(天然的序列的Fc区或氨基酸序列突变体的Fc区)而产生的那些生物活性。抗体的效应子功能的例子可举出C1q结合、补体依赖性细胞毒性、Fc受体结合、抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用(ADCC)、吞噬作用、细胞表面受体(例如,B细胞受体、BCR)的减量调节等。

[0202] [白浊]

[0203] 本说明书中,“白浊”是指藉由颜色及/或透明性(浊度)的视觉检查,为呈白色的浑浊状态。发生白浊的情况还可通过利用流体成像颗粒分析装置、颗粒计数器来测定微粒、利用动态光散射法(DLS)来测定相互作用参数(以下简称为“相互作用参数”或“Kd值”)、测定浊度(650nm的吸光度(OD650))来进行分析。作为与“白浊”相关的分析值,为例如:含有抗体的医药组合物的OD650为0.009、0.010、0.011、0.012、0.013、或0.014以上,Kd值显示为0、-1、-2、-3、或-4mL/g以下的值,以及/或者利用颗粒计数器测得的1.5μm以上的颗粒为500、750、1000、1250或1500个/mL以上。

[0204] [冷冻干燥制剂]

[0205] 本说明书中,“冷冻干燥制剂”是指几乎无水的经干燥(例如冷冻干燥)的医药用组合物。抗体的冷冻干燥技术在本技术领域中是普遍已知的,例如,参见Rey&May(2004)Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical&Biological Products ISBN 0824748689。

[0206] [IL-33]

[0207] IL-33是属于IL-1家族的细胞因子,也被称为NF-HEV。IL-33具有下述功能:作为细胞因子被释放至细胞外时,与IL-33受体(ST2及IL-1RAcP)结合,在表达该IL-33受体的细胞中使细胞内信号转导开始。被IL-33诱导的信号转导没有限制,有NF-κB途径和MAPKKs途径,最终引发各种细胞因子、趋化因子、炎症介质的产生。作为被IL-33诱导的细胞因子的例子,可举出TNF-α、IL-1β、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-13等,尤其可诱导IL-5、IL-6、及IL-13。作为被IL-33诱导的趋化因子的例子,可举出CXCL2、CCL2、CCL3、CCL6、CCL17、CCL24等。作为被IL-33诱导的炎症介质的例子,可举出PGD2、LTB4等。被IL-33诱导的细胞因子、趋化因子、炎症介质参与免疫系统细胞迁移、细胞因子产生、脱粒,引起炎症。本发明中,只要“5种人抗IL-33单克隆抗体”进行结合而阻遏前述功能中的至少一种功能,则其可以指全长IL-33或成熟型IL-33中的任一者,也可以是与它们具有同源性的衍生物或突变体。另外,也可以是人IL-33或来源于其他生物的IL-33。

[0208] [药学上允许的]

[0209] 本说明书中,“药学上允许的”这一用语是指不干扰有效成分(可以是复数种)的生物活性的有效性、并且无毒。

[0210] [等渗]

[0211] 在本说明书中使用时,“等渗的”制剂具有与人血液实质上相同的渗透压。等渗的医药用组合物通常具有以血液作为基准的约0.9～1.2的渗透压比。渗透压可使用例如蒸气压型或冰点型的渗透压仪来测定。

[0212] [pH漂移]

[0213] 本说明书中,“pH漂移”这一用语是指本发明的医药用组合物的pH值在保存或浓缩等处理前后发生变化。

[0214] 以下,对本发明的实施方式进行说明。需要说明的是,以下的实施方式是用于说明本发明的示例,本发明不仅限于这些实施方式。

[0215] 本发明涉及的人抗IL-33单克隆抗体可通过已知技术、例如专利文献1中记载的方法来制造。

[0216] 如上所述地制造的单克隆抗体可通过透析、超滤装置、或者硫酸铵沉淀等方法来形成作为所期望的组合物的制剂。另外,也可以在制成含有所期望的缓冲剂的溶液后,于之后添加糖类、表面活性剂等而进行制剂化。

[0217] 本申请的发明人发现,将5种人抗IL-33单克隆抗体制成溶液时,部分凝聚而发生白浊。白浊是由于形成作为包含抗体的凝聚物的微粒而导致的,在制成医药组合物时,存在以下的担忧:作为有效成分的抗体的生物活性降低、由免疫原性高的凝聚物诱导抗药抗体(ADA)而导致药代动力学恶化、以及由凝聚物自身引发炎症。因此,需要抑制白浊。因此,本发明涉及白浊得到抑制的医药组合物。本发明的医药组合物可含有5种人抗IL-33单克隆抗体作为有效成分,可还含有盐、缓冲剂、表面活性剂、糖类等。

[0218] [盐浓度]

[0219] 本申请的发明人发现,5种人抗IL-33单克隆抗体的白浊的原因主要在于盐。因此,本发明涉及的医药用组合物优选盐浓度低,优选50mM以下、40mM以下、30mM以下、25mM以下、20mM以下、15mM以下、10mM以下、5mM以下、3mM以下、2mM以下、1mM以下,更优选实质上不含有盐。另外,本发明涉及的医药用组合物优选盐浓度低,优选少于50mM、少于40mM、少于30mM、少于25mM、少于20mM、少于15mM、少于10mM、少于5mM、少于3mM、少于2mM、少于1mM,更优选实质上不含有盐。需要说明的是,本发明涉及的医药用组合物中,作为低浓度的、或实质上不含有的盐的例子,可举出无机盐或有机盐。作为无机盐的例子,可特别举出氯化钠、氯化钾、氯化镁、氯化钙、硫酸钠、硫酸钾、硫酸镁、硫酸钙,优选为氯化钠。

[0220] [缓冲剂及pH]

[0221] 本发明的医药用组合物利用缓冲剂来调节pH。作为就医药用组合物而言合适的缓冲剂,没有限定,可举出葡糖酸盐、组氨酸、柠檬酸盐、磷酸盐[例如,钠或钾]、琥珀酸盐[例如钠]、乙酸盐、三羟基甲基氨基甲烷、甘氨酸、精氨酸及其组合,可根据进行调节的pH值而分别使用。本发明的医药用组合物优选含有乙酸盐、组氨酸、或磷酸盐作为缓冲剂,更优选含有组氨酸作为缓冲剂。缓冲剂的浓度只要是药学上允许的即可,没有特别限定,优选为1mM～150mM,更优选为5mM～100mM,进一步优选为10mM～50mM。另外,缓冲剂的浓度优选为

约1mM、约5mM、约10mM、约15mM、约20mM、约25mM、约30mM、约35mM、约40mM、约45mM或约50mM。从使用盐、尤其是无机盐的缓冲剂的观点考虑，优选使用少于30mM、尤其是10mM以下的浓度。

[0222] 本发明的医药用组合物中，作为缓冲剂，组氨酸(例如，5mM～50mM、例如10mM～50mM、约5mM、约10mM、约15mM、约20mM、约25mM、约30mM、约35mM、约40mM、约45mM、约50mM的浓度)是特别有益的。一实施方式中，稳定的医药用组合物含有5mM～20mM的组氨酸。医药用组合物的pH可以为4.0～8.0的范围内，4.5～7.5的范围内的pH、例如5.0～7.0、5.2～6.8、例如约4.2、约4.3、约4.4、约4.5、约4.6、约4.7、约4.8、约4.9、约5.0、约5.1、约5.2、约5.3、约5.4、约5.5、约5.6、约5.7、约5.8、约5.9、约6.0、约6.1、约6.2、约6.3、约6.4、约6.5、约6.6、约6.7、约6.8、约6.9、约7.0、约7.1、约7.2、约7.3、约7.4、约7.5、约7.6、约7.7、约7.8是常见的。本发明的医药用组合物为pH4或pH8时，浊度在长期保存中增加。另外，本发明的医药用组合物为pH4或pH8时，pH漂移在长期保存中是显著的。因此，一实施方式中，稳定的含有抗体的医药组合物的pH大于4且小于8，优选为5以上且7以下，进一步优选为5.5以上且6.5以下，最优选为6.0。

[0223] [表面活性剂]

[0224] 本发明的医药用组合物优选含有表面活性剂。就医药用组合物而言合适的表面活性剂没有限定，包括非离子性表面活性剂、离子性表面活性剂、两性离子表面活性剂及它们的组合。用于本发明的通常的表面活性剂没有限定，包括山梨糖醇酐脂肪酸酯(例如，山梨糖醇酐单辛酸酯、山梨糖醇酐单月桂酸酯、山梨糖醇酐单棕榈酸酯)、山梨糖醇酐三油酸酯、甘油脂肪酸酯(例如，甘油单辛酸酯、甘油单肉豆蔻酸酯、甘油单硬脂酸脂)、聚甘油脂肪酸酯(例如，十聚甘油单硬脂酸脂、十聚甘油二硬脂酸脂、十聚甘油单亚油酸酯)、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯(例如，聚氧乙烯山梨糖醇酐单月桂酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐单硬脂酸脂、聚氧乙烯山梨糖醇酐单棕榈酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐三油酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐三硬脂酸脂)、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯(例如，聚氧乙烯山梨糖醇四硬脂酸脂、聚氧乙烯山梨糖醇四油酸酯)、聚氧乙烯甘油脂肪酸酯(例如，聚氧乙烯甘油单硬脂酸脂)、聚乙二醇脂肪酸酯(例如，聚乙二醇二硬脂酸脂)、聚氧乙烯烷基醚(例如，聚氧乙烯月桂基醚)、聚氧乙烯聚氧丙烯烷基醚(例如，聚氧乙烯聚氧丙烯二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯丙醚、聚氧乙烯聚氧丙烯十六烷基醚)、聚氧乙烯烷基苯醚(例如，聚氧乙烯壬基苯醚)、聚氧乙烯氢化蓖麻油(例如聚氧乙烯蓖麻油、聚氧乙烯氢化蓖麻油)、聚氧乙烯蜂蜡衍生物(例如，聚氧乙烯山梨糖醇蜂蜡)、聚氧乙烯羊毛脂衍生物(例如，聚氧乙烯羊毛脂)、聚氧乙烯脂肪酸酰胺(例如，聚氧乙烯硬脂酸酰胺)、C10～C18烷基硫酸(例如，十六烷基硫酸钠、月桂基硫酸钠、油基硫酸钠)、加成平均2～4摩尔的环氧乙烷单元而得的聚氧乙烯C10～C18烷基醚硫酸(例如，聚氧乙烯月桂基硫酸钠)及C1～C18烷基磺基琥珀酸酯酸盐(例如，月桂醇磺基琥珀酸酯钠)、以及天然的表面活性剂、例如卵磷脂、甘油磷脂、神经鞘氨醇磷脂(例如，神经鞘磷脂)及C12～C18脂肪酸的蔗糖酯。

[0225] 本发明的医药用组合物可含有上述表面活性剂中的1种或多种。优选的表面活性剂为非离子性表面活性剂(例如山梨糖醇酐脂肪酸酯、山梨糖醇酐三油酸酯、甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯、聚氧乙烯甘油脂肪酸酯、聚氧乙烯烷基醚、聚氧乙烯聚氧丙烯烷基醚、聚氧乙烯烷基苯醚、聚氧乙

烯氢化蓖麻油、聚氧乙烯蜂蜡衍生物、聚氧乙烯羊毛脂衍生物、聚氧乙烯脂肪酸酰胺),更优选为聚氧乙烯烷基醚(例如,泊洛沙姆188)或者聚氧乙烯山梨糖醇酐脂肪酸酯、例如聚山梨醇酯20、40、60或80。表面活性剂的浓度可以是本技术领域中常用的任意浓度,作为一例,可按约0.01%(w/v)~约0.1%(w/v)、例如约0.01%(w/v)~约0.04%(w/v)、例如约0.01%(w/v)、约0.02%(w/v)、约0.04%(w/v)、约0.06%(w/v)、约0.08%(w/v)、约0.1%(w/v)的浓度使用。表面活性剂中,尤其聚山梨醇酯80(吐温80)是特别有益的。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约0.02%(w/v)聚山梨醇酯80。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约0.02%(w/v)聚山梨醇酯20。

[0226] [多元醇]

[0227] 本发明的医药用组合物优选含有多元醇,通过添加多元醇从而能够调节医药用组合物的渗透压,并且能够抑制凝聚物的生成。

[0228] 作为本发明的医药组合物中含有的多元醇,只要药学上允许则没有特别限定,优选相对于20℃时的水100g溶解100g以上的多元醇(即,20℃时的水中的溶解度为100g/100g以上的多元醇)。

[0229] 多元醇也被称为聚醇,只要是具有2个以上醇式羟基的分子即可,例如,可举出丙三醇(甘油)、丙二醇、聚乙二醇(PEG)、糖类等,可优选举出糖类。

[0230] 本发明的就医药用组合物而言合适的糖类没有限定,是包括单糖类、二糖类、三糖类、多糖类、糖醇、还原糖、非还原糖等在内的、具有通式$(CH_2O)n$的化合物及其衍生物。对于糖类的例子,作为单糖类,可举出葡萄糖、果糖、半乳糖;作为二糖类,可举出蔗糖、海藻糖、乳糖、麦芽糖、乳果糖、麦芽酮糖、异麦芽酮糖、蜜二糖;作为三糖类,可举出松三糖、棉子糖、麦芽三糖;作为多糖类,可举出水苏糖、葡聚糖;作为糖醇,可举出山梨糖醇、甘露糖醇、赤藻糖醇、麦芽糖醇、拉克替醇、阿拉伯糖醇、木糖醇等。单糖类、二糖类、三糖类之中,作为还原糖,可举出葡萄糖、果糖、乳糖、麦芽糖、乳果糖、麦芽酮糖、异麦芽酮糖、蜜二糖、松三糖、麦芽三糖;作为非还原糖,可举出海藻糖、蔗糖、棉子糖。作为本发明的医药用组合物中含有的糖类,优选山梨糖醇、蔗糖、海藻糖或甘露糖醇,最优选山梨糖醇或蔗糖。

[0231] 本发明的医药用组合物中含有的糖类的浓度只要药学上允许则没有特别限定,优选为50mM~300mM,更优选为165mM~275mM,进一步优选为200mM~220mM。另外,糖类的浓度优选为约50mM、约55mM、约100mM、约110mM、约150mM、约165mM、约200mM、约220mM、约275mM、约300mM。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有3%~5%(w/v)(165~275mM)的山梨糖醇。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约3.6%(w/v)或约4%(w/v)(分别为约200mM或约220mM)的山梨糖醇。

[0232] 优选的是,本发明的医药用组合物的渗透压比为0.5~4,更优选为0.7~3,进一步优选为1~2,最优选等渗(0.9~1.2),例如为约0.9、约1.0、约1.1、约1.2、约1.3、约1.4、约1.5、约1.6、约1.7、约1.8、约1.9、约2.0。医药用组合物的渗透压可通过除了有效成分以外所添加的成分、例如盐或多元醇等的浓度来进行调节。从降低盐浓度的观点考虑,医药组合物的渗透压优选使用多元醇进行调节。

[0233] [人抗IL-33单克隆抗体]

[0234] 本发明的医药用组合物含有人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)作为有效成分。本发明的医药用组合物中含有的人抗IL-33单

克隆抗体的浓度只要药学上允许则没有特别限定,优选为1mg/mL～200mg/mL、5mg/mL～175mg/mL、10mg/mL～150mg/ml、20mg/mL～150mg/mL,例如为约1、约5、约10、约20、约25、约30、约40、约50、约60、约70、约80、约90、约100、约110、约120、约130、约140、约150、约160、约170、约175mg/ml。本发明的医药用组合物的抗体浓度为175mg/mL以上时粘度高,因此优选少于175mg/mL,更优选为150mg/mL以下。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约10mg/mL或约150mg/mL的A10-1C04。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约10mg/mL或约150mg/mL的A23-1A05。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约10mg/mL或约150mg/mL的A25-2C02。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约10mg/mL或约150mg/mL的A25-3H04。一实施方式中,稳定的医药用组合物含有约10mg/mL或约150mg/mL的A26-1F02。

[0235] 本发明的医药用组合物优选粘度合适,无论怎样的患者均能容易地进行施予。粘度越低则越能在无需强力的情况下施予,关于本发明的医药用组合物,本申请的发明人发现粘度为约20cP以上则略微难以从施予时的注射筒中射出。因此,本发明涉及的医药用组合物的粘度优选为50cP以下,更优选为30cP以下,进一步优选为20cP以下,最优选为10cP以下。一实施方式中,本发明的医药用组合物为约1、约2、约5、约10、约15、约20cP。本发明的粘度可使用流变仪(旋转式或毛细管)来进行测定。

[0236] [使用医药用组合物的方法]

[0237] 本发明的医药用组合物用于例如患有哮喘、过敏(特应性皮炎、花粉症)、子宫内膜异位症等IL-33相关疾病的患者的处置(治疗、预防等)。施予方式没有特别限定,可以全身施予,也可以局部施予。例如,可举出静脉内施予、皮下施予、肌肉内施予、腹腔内施予。本发明的医药用组合物为例如皮下施予时,施予量受到限制,因此优选含有高浓度的人抗IL-33抗体,例如,优选为含有10mM组氨酸、4％(w/v)山梨糖醇、0.02％(w/v)聚山梨醇酯80、150mg/ml的有效成分、且pH被调节为5.5～6.5的医药用组合物。本发明的医药用组合物为例如静脉内施予时,可含有低浓度的人抗IL-33抗体,例如,优选为含有10mM组氨酸、3.6％(w/v)山梨糖醇、0.02％(w/v)聚山梨醇酯80、10mg/ml的有效成分、且pH被调节为5.5～6.5的医药用组合物。

[0238] 作为IL-33相关疾病的例子,没有限制,可举出哮喘、特应性皮炎、荨麻疹、花粉症、过敏性休克、嗜酸细胞性鼻窦炎、嗜酸性细胞增多症、查格-施特劳斯综合征(Churg-Strauss syndrome)、过敏性脑脊髓炎、风湿性多肌痛、风湿性心脏病、多发性硬化症、关节炎(例如,类风湿性关节炎、幼年型关节炎、牛皮癣性关节炎、变形性关节病、赖特综合症等)、系统性红斑狼疮(包括盘状狼疮)、牛皮癣、强直性脊柱炎、肝炎(例如,自身免疫性肝炎、慢性活动型肝炎等)、炎性肠疾病(例如,溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、麸胶敏感性肠病等)、系统性红斑狼疮、干燥综合征、白塞病、天疱疮、类天疱疮、自身免疫性溶血性贫血、自身免疫性炎症性眼病、自身免疫性新生儿血小板减少症、自身免疫性嗜中性细胞减少、自身免疫性卵巢炎及睾丸炎、自身免疫性血小板减少症、自身免疫性甲状腺炎、多发性肌炎、皮肌炎、重症肌无力症、肾上腺素激动剂耐性、斑形脱发症(alopeciagreata)、抗磷脂症、肾上腺的自身免疫疾病(例如,自身免疫性爱迪生氏病等)、乳糜泻—皮肤炎、慢性疲劳免疫功能紊乱症(CFIDS)、冷凝集素病、特发性混合型球蛋白血症、纤维肌痛—纤维肌炎、肾小球肾炎(例如,IgA肾病(nephrophathy)等)、格雷夫斯病、甲状腺功能亢进症(即,桥本甲状腺炎)、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、混合性结缔组织病、1型或免疫介导性糖尿病、恶性贫血、

多发性软骨膜炎(polychrondritis)、多腺体综合征、全身肌强直综合征、白癜风、结节病、多内分泌腺病综合征、其他的内分泌腺不全、动脉硬化、肝纤维化(例如,原发性胆汁性肝硬化等)、肺纤维化(例如,突发性肺纤维化等)、慢性阻塞性肺疾病、硬皮病(包括CREST综合征、雷诺现象等)、子宫内膜异位症、子宫腺肌病、肾小管间质性肾炎、致密物沉积病、急性肾损伤、心肌炎、心肌病、神经炎(例如,吉兰—巴雷综合征等)、结节性多动脉炎、心切开术综合征(cardiotomy syndrome)、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病、IgA神经病、扁平苔癣、美尼尔综合征、心肌梗死后(post—MI)、葡萄膜炎、葡萄膜炎眼炎(Uveitis Opthalmia)、血管炎、原发性无丙种球蛋白血症、癌症(例如,脑瘤、喉头癌、口唇口腔癌、下咽头癌、甲状腺癌、食道癌、乳腺癌、肺癌、胃癌、肾上腺皮质癌、胆管癌、胆囊癌、肝癌、胰腺癌、膀胱癌、大肠癌、子宫癌、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、Ewing肉瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、黑色素瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤等)、对来自免疫系统的排斥呈现抗性的感染(例如,重症急性呼吸综合征(SARS))、伴随强毒性流感感染症的致死性细胞因子风暴、以及坏血病,可优选举出哮喘、特应性皮炎、花粉症、过敏性休克、硬皮病、克罗恩氏病、溃疡性结肠炎、关节炎、系统性红斑狼疮、强直性脊柱炎、肝纤维化、肺纤维化、急性肾损伤、血管炎及癌症等。

[0239] 本发明的“稳定的”医药用组合物在冷藏温度(2～8℃)下于至少12个月、优选2年、进一步优选3年、或室温(22～28℃)下至少3个月、优选6个月、进一步优选1年观察不到显著的变化。例如,在于5℃保存2年后未见白浊,OD650为0.014以下、优选0.01以下、进一步优选0.008以下,pH漂移为1以下、优选0.8以下、进一步优选0.5以下,Kd值为-4mL/g以上、优选为-2mL/g以上、进一步优选为正值,或者,利用颗粒计数器测得的1.5μm以上的颗粒为1500个/mL以下、优选1000个/mL以下、进一步优选750个/mL以下、最优选500个/mL以下。

[0240] 本发明的医药用组合物可根据需要而进一步适宜添加防腐剂、防吸附剂、镇痛剂、含硫还原剂、抗氧化剂等。

[0241] 作为防腐剂,只要药学上允许则没有特别限定,例如,可举出对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、山梨酸、苯酚、甲酚、氯甲酚。

[0242] 作为防吸附剂,只要药学上允许则没有特别限定,例如,可举出人血清白蛋白、卵磷脂、葡聚糖、环氧乙烷·环氧丙烷共聚物、羟丙基纤维素、甲基纤维素、聚氧乙烯氢化蓖麻油、聚乙二醇。

[0243] 作为镇痛剂,只要药学上允许则没有特别限定,例如,可举出利多卡因等局部麻醉剂。

[0244] 作为含硫还原剂,只要药学上允许则没有特别限定,例如,可举出N-乙酰基半胱氨酸、N-乙酰基高半胱氨酸、硫辛酸、硫代二乙二醇、硫代乙醇胺、硫代甘油、硫代山梨糖醇、硫代乙醇酸及其盐、硫代硫酸钠、谷胱甘肽、碳原子数1～7的硫代链烷酸等具有巯基的物质。

[0245] 作为抗氧化剂,只要药学上允许则没有特别限定,例如,可举出异抗坏血酸、二丁基羟基甲苯、丁基羟基苯甲醚、α-生育酚、乙酸生育酚、L-抗坏血酸及其盐、L-抗坏血酸棕榈酸酯、L-抗坏血酸硬脂酸脂、亚硫酸氢钠、亚硫酸钠、没食子酸三戊酯、没食子酸丙酯或者乙二胺四乙酸二钠(EDTA)、焦磷酸钠、偏磷酸钠等螯合剂。

[0246] 对于本发明的医药用组合物而言,为了更长期地进行保存,也可以是冷冻干燥制剂。

[0247] 通过以下的实施例更详细地说明本发明,但本发明的范围并不限于这些实施例。

[0248] [实施例]

[0249] 比较例1:含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物的白浊

[0250] 将人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)以在溶剂(10mM磷酸钠/pH7/150mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(Polysobate80))(以下简称为"P7N")中成为150mg/mL的浓度的方式进行制备,基于肉眼确认性状,结果观察到白浊(例如,关于A10-1C04,示于图1)。需要说明的是,有无白浊是在黑色的背景中于白色光(13W荧光灯)下通过肉眼进行观察来确认的。另外,针对该医药用组合物,使用FlowCam(FluidImaging Technologies制)测定不溶性颗粒(5μm以上的微粒),结果检测出1919个/mL的微粒。根据上述结果,认为人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的凝聚性高,制剂化是困难的。

[0251] 比较例2:pH针对含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物的白浊的效果

[0252] 为了消除人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的白浊,基于比较例1的配方对缓冲剂进行如下所述的变更从而改变了医药用组合物的pH。抗体浓度设为150mg/ml。经研究后的配方如下所示。

[0253] • 10mM乙酸钠/pH4/150mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"A4N")

[0254] • 10mM乙酸钠/pH5/150mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"A5N")

[0255] • 10mM组氨酸/pH6/150mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"H6N")

[0256] • 10mM磷酸钠/pH6/150mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"P6N")

[0257] • 10mM磷酸钠/pH7/150mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"P7N")及

[0258] • 10mM磷酸钠/pH8/150mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"P8N")

[0259] 实施了性状的评价,结果,pH4、5、6、7、8的配方全部发生了白浊。根据该结果,认为即使改变配方的pH,白浊也不会改善。

[0260] 需要说明的是,基于肉眼的性状确认是通过比较例1中记载的方法进行了观察。

[0261] 实施例1:添加糖所带来的白浊抑制效果

[0262] 为了消除人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的白浊,使用添加有5%山梨糖醇来代替作为比较例2的配方的A4N、A5N、H6N、P6N、P7N及P8N中含有的氯化钠而得的以下配方进行评价。抗体浓度设为150mg/ml。

[0263] • 10mM乙酸钠/pH4/5%(w/v)山梨糖醇/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"A4S")

[0264] • 10mM乙酸钠/pH5/5%(w/v)山梨糖醇/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"A5S")

[0265] • 10mM组氨酸/pH6/5%(w/v)山梨糖醇/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"H6S")

[0266] • 10mM磷酸钠/pH6/5%(w/v)山梨糖醇/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"P6S")

[0267] • 10mM磷酸钠/pH7/5%(w/v)山梨糖醇/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"P7S")

[0268] • 10mM磷酸钠/pH8/5％(w/v)山梨糖醇/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“P8S”)

[0269] 实施了性状及OD650(浊度)的评价,结果,通过添加山梨糖醇代替氯化钠,白浊得到了改善(例如,关于A10-1C04,示于图2)。另外,通过添加山梨糖醇,即使在40℃下经3个月后,OD650的增大也受到抑制,尤其在pH5～7下的抑制效果是良好的(表3)。

[0270] 需要说明的是,基于肉眼的性状确认是通过比较例1中记载的方法进行了观察。对于OD650而言,针对各配方的溶液100μL,使用Molecular Device微孔板检测仪(SoftMax Pro软件)测定了650nm处的吸光度。

[0271] [表3]

[0272] 表3:各种配方的OD650

[0273]

配方	制备时	40℃、保存3个月后
A4S	0.006	0.014
A5S	0.006	0.005
H6S	0.007	0.008
P6S	0.005	0.004
P7S	0.006	0.004
P8S	0.007	0.014

[0274] 实施例2:盐浓度和白浊(1)

[0275] 测定了将人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)溶解于10mM组氨酸/pH6.0或pH5.5的缓冲液中并添加0、50、100mM的NaCl时的、作为凝聚性指标的相互作用参数(Kd值)。测定温度设为25℃,以抗体浓度成为0.5、1、2.5、5、10、20mg/mL的方式进行制备。结果,NaCl添加量为50mM以上时Kd值呈负数(凝聚性变大),因此认为NaCl添加量宜少于50mM(例如,关于A10-1C04,示于表4)。需要说明的是,Kd值可如下计算:利用动态光散射法求出扩散系数(Dm),由抗体浓度(横轴)和扩散系数(纵轴)的坐标图求出斜率,将该斜率除以浓度为0时的扩散系数(D0)。即,Kd值由以下的关系式算出。Kd值的值为正数且越大时,凝聚性越低。

[0276] Dm＝D0(1+Kd值×[抗体浓度])

[0277] [表4]

[0278] 表4:盐浓度和相互作用参数(单位:mL/g)

[0279]

盐浓度	pH5.5	pH6
0mM	19.2	0.17
50mM	-4.7	-6.2
100mM	-6.4	-7.6

[0280] 实施例3:盐浓度和白浊(2)

[0281] 向10mM组氨酸/pH6.0/3.6％(w/v)山梨糖醇中添加0、5、10、30mM的NaCl,测定作为凝聚性指标的Kd值。抗体使用了2.5、5、10、14mg/mL的A10-1C04。结果,NaCl添加量为30mM以上时Kd值呈负数(添加0、5、10及30mM的NaCl的Kd值分别为17.3、7.3、1.2及-4.0mL/g),据此认为,NaCl添加量宜少于30mM。Kd值通过实施例2中记载的方法算出。

[0282] 实施例4:pH漂移

[0283] 测定了含有人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的医药组合物的长期保存时的pH的推移。抗体浓度设为150mg/mL,针对pH4～8的配方进行调查(A4S、A5S、H6S、P6S、P7S、P8S)。针对各制剂,测定了制备时及于40℃保存了2、4、8、12星期时的pH。结果,pH4(A4S)、pH8(P8S)的配方中,pH的漂移是显著的(例如,关于A10-1C04,示于表5)。因此,认为pH漂移少的pH5～7的配方较好。

[0284] [表5]

[0285] 表5:于40℃保存时的pH漂移

[0286]

配方	制备时	2星期	4星期	8星期	12星期	pH漂移
A4S	4.0	4.6	5.0	5.0	5.1	+1.1
A5S	5.0	5.3	5.5	5.5	5.6	+0.6
H6S	6.0	6.2	6.3	6.3	6.4	+0.4
P6S	6.1	6.2	6.2	6.3	6.3	+0.2
P7S	7.0	6.8	6.8	6.7	6.8	-0.2
P8S	8.1	7.6	7.2	7.2	7.3	-0.8

[0287] 实施例5:抗体浓度和粘度

[0288] 以人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)在10mM组氨酸/pH6/3.6%(w/v)山梨糖醇/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80的配方中的抗体浓度为15、50、100、125、150、175、200mg/ml的方式制备医药用组合物。使用粘度计(Brookfield制DV3TLVCJ0型粘度计(CPA-40Z转子、CPA-44YZ样品杯))测定了测定温度为25℃时的粘度。A10-1C04的抗体浓度为15、50、100、125、150、175及200mg/mL时的粘度分别为1.19、1.84、5.33、9.15、16.29、47.98、84.96cP,可知粘度在超过150mg/mL后急剧增加。并且,制备各粘度的溶液,调查使用了注射筒的射出性,结果发现粘度超过约20cP后施予变得略难,认为抗体浓度宜少于175mg/ml。

[0289] 实施例6:糖的添加与凝聚性评价及微粒生成抑制效果

[0290] 以抗体浓度为0.6125、1.25、2.5、5及10mg/mL的方式制备人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的10mM组氨酸/pH6.0的组合物,确认了添加蔗糖或山梨糖醇的情况下对作为凝聚性指标的Kd值产生的效果。Kd值通过实施例2中记载的方法算出。例如,对于使用了A10-1C04的情况下的Kd值而言,不添加糖时为33.4mL/g,添加3.6%(w/v)的蔗糖或山梨糖醇时,分别为24.7、33.5mL/g,均是正值。根据该结果,认为也可添加蔗糖来代替山梨糖醇。另外,针对抗体浓度为10mg/ml、且添加有3.6%(w/v)山梨糖醇的配方(10mM组氨酸/pH6.0/3.6%(w/v)山梨糖醇),使用颗粒计数器HIAC(HACH制System 9703+型)测定了制备时及于50℃保存1星期时的1.5μm以上的微粒。对于利用HIAC的测定而言,以注射量100μL对各检体实施4次测定,弃用第1次的数据。结果,与不添加山梨糖醇时相比,添加了3.6%(w/v)山梨糖醇的情况下,微粒数量的增加被抑制,据此认为,由于添加山梨糖醇而具有凝聚抑制效果(例如,关于A10-1C04,示于表6)。

[0291] [表6]

[0292] 表6:山梨糖醇的微粒生成抑制效果(单位:个/100μL)

[0293]

糖类	粒径（μm）	制备时	50°C、保存1星期时
未添加	1.5~2.0	10.9	98.1
	2.0~5.0	8.2	67.1
	5.0~10	1.2	7.4
	10~25	0.3	2.9
	25~	0.1	0.0
3.6%（w/v）山梨糖醇	1.5~2.0	31.1	22.8
	2.0~5.0	13.0	18.0
	5.0~10	3.2	2.9
	10~25	1.2	0.6
	25~	0.0	0.0

[0294] 实施例7:表面活性剂的凝聚抑制效果

[0295] 制备10mg/mL的人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的10mM组氨酸/pH6/3.6％(w/v)山梨糖醇的组合物,确认了添加0.02％(w/v)的聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80作为表面活性剂的情况下对凝聚性产生的效果。无论是否添加表面活性剂,在制备时均未确认到凝聚。

[0296] 实施例8:皮下施予制剂、静脉内施予制剂的稳定性

[0297] 制备了人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的静脉内施予制剂(10mg/mL抗体/10mM组氨酸/pH6/3.6％(w/v)山梨糖醇/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80)、及皮下施予制剂(150mg/mL抗体/10mM组氨酸/pH6/4％(w/v)山梨糖醇/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80)。对静脉内施予制剂进行调查,结果确认到,在于5℃保存24个月后也未观察到白浊、凝聚微粒数量的增加及pH漂移,是稳定的。针对皮下施予制剂也可同样地对稳定性进行评价。

[0298] 实施例9:pH针对含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物的白浊的效果(2)

[0299] 为了消除人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的白浊,制备了在通过比较例2确认的配方的pH的范围内、且不含氯化钠的以下配方。

[0300] • 10mM乙酸钠/pH4/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A4”)

[0301] • 10mM乙酸钠/pH5/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A5”)

[0302] • 10mM组氨酸/pH6/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“H6”)

[0303] • 10mM组氨酸/pH7/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“H7”)

[0304] • 10mM磷酸钠/pH8/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“P8”)

[0305] 例如,针对150mg/mL的A10-1C04实施了性状的评价,结果,白浊由于未添加氯化钠而得到了改善。另外,尤其在pH4～7时抑制效果是良好的(表7)。

[0306] [表7]

[0307] 表7:各种配方的性状

[0308]

配方	性状
A4	-

A5	-
H6	-
H7	-
P8	+

[0309] -:澄清(无白浊)

[0310] +:发生白浊

[0311] 实施例10:盐针对含有人抗IL-33单克隆抗体的医药用组合物的白浊的效果(2)

[0312] 为了消除人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的白浊,向实施例9的配方即A4、A5、及H6中添加各种浓度的氯化钠,进行了评价。

[0313] • 10mM乙酸钠/pH4/10mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A4N10”)

[0314] • 10mM乙酸钠/pH4/30mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A4N30”)

[0315] • 10mM乙酸钠/pH4/50mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A4N50”)

[0316] • 10mM乙酸钠/pH4/100mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A4N100”)

[0317] • 10mM乙酸钠/pH5/10mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A5N10”)

[0318] • 10mM乙酸钠/pH5/30mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A5N30”)

[0319] • 10mM乙酸钠/pH5/50mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A5N50”)

[0320] • 10mM乙酸钠/pH5/100mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“A5N100”)

[0321] • 10mM组氨酸/pH6/10mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“H6N10”)

[0322] • 10mM组氨酸/pH6/30mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“H6N30”)

[0323] • 10mM组氨酸/pH6/50mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“H6N50”)

[0324] • 10mM组氨酸/pH6/100mM NaCl/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为“H6N100”)

[0325] 例如,针对150mg/mL的A10-1C04实施了性状的评价,结果,在pH4～6的条件下,白浊在氯化钠为10mM时被抑制,而在氯化钠多于30mM时观察到白浊(表8)。

[0326] [表8]

[0327] 表8:各种配方的性状

[0328]

	无	N10	N30	N50	N100
A4	-	-	+	+	+
A5	-	-	+	+	+
H6	-	-	+	+	+

[0329] -:澄清(无白浊)

[0330] +:发生白浊

[0331] 实施例11:表面活性剂的凝聚抑制效果(2)

[0332] 为了确认表面活性剂对10mg/mL的人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的影响,制造了添加有表面活性剂的下述配方。然后,使用旋转器使这些检体在50℃的恒温槽内以30rpm旋转。将经时性地取出的检体在2000～3750Lux的荧光灯下以白板及黑板为背景各自目视检查5秒。未添加表面活性剂的体系中,

在2天后观察到大量凝聚物,而添加了聚山梨醇酯80及泊洛沙姆188的检体在7天后仍观察不到凝聚物,尤其在添加0.02%以上的聚山梨醇酯80的体系中,在14天后仍观察不到凝聚物。添加了聚山梨醇酯20的检体直到4天后也观察不到异物,虽然在7天后观察到少量的异物,但在14天后观察不到异物。例如,针对A10-1C04实施的结果示于表9。

[0333] 10mM组氨酸/pH6(以下简称为"H6(-)")

[0334] 10mM组氨酸/pH6/0.02%(w/v)泊洛沙姆188(以下简称为"H6PX")

[0335] 10mM组氨酸/pH6/0.02%(w/v)聚山梨醇酯20(以下简称为"H6P20")

[0336] 10mM组氨酸/pH6/0.01%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"H6PS1")

[0337] 10mM组氨酸/pH6/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"H6PS2")

[0338] 10mM组氨酸/pH6/0.05%(w/v)聚山梨醇酯80(以下简称为"H6PS5")

[0339] [表9]

[0340] 表9:在于50℃以30rpm保存的检体中观察到的凝聚物

[0341]

	0天	1天	2天	3天	7天	14天
H6(-)	-	-	++	++	++	++
H6PX	-	-	-	-	-	+
H6P20	-	-	-	-*	+	-
H6PS1	-	-	-	-	-	+
H6PS2	-	-	-	-	-	-
H6PS5	-	-	-	-	-	-

[0342] -:无凝聚

[0343] +:确认到少量凝聚

[0344] ++:确认到大量凝聚

[0345] *:在4天后取出

[0346] 实施例12:糖的添加和凝聚性评价(2)

[0347] 制备10mg/mL的人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的10mM组氨酸/pH6.0的组合物,添加甘露糖醇、海藻糖、蔗糖或山梨糖醇,制备药液。然后,将这些检体于-80℃保存8小时以上使其冷冻,然后于室温放置4小时以上使其融化。重复实施6次上述操作。然后,在2000~3750Lux的荧光灯下以白板及黑板为背景各自目视检查5秒。通过添加糖,与未添加的体系相比,冷冻融化后的凝聚物的量变少,尤其在使用了山梨糖醇及蔗糖的体系中显示出凝聚物的抑制效果。例如,针对A10-1C04实施的结果示于表10。

[0348] 10mM组氨酸/pH6(以下简称为"H6(-)")

[0349] 10mM组氨酸/pH6/3.0%(w/v)山梨糖醇(以下简称为"H6So3")

[0350] 10mM组氨酸/pH6/3.6%(w/v)山梨糖醇(以下简称为"H6So3.6")

[0351] 10mM组氨酸/pH6/4.0%(w/v)山梨糖醇(以下简称为"H6So4")

[0352] 10mM组氨酸/pH6/5.0%(w/v)山梨糖醇(以下简称为"H6So5")

[0353] 10mM组氨酸/pH6/3.6%(w/v)蔗糖(以下简称为"H6Su")

[0354] 10mM组氨酸/pH6/3.6%(w/v)海藻糖(以下简称为"H6Tr")

[0355] 10mM组氨酸/pH6/3.6%(w/v)甘露糖醇(以下简称为"H6Ma")

[0356] [表10]

[0357] 表10:在冷冻融化后通过目视检查观察到的凝聚物

[0358]

	冷冻/融化（循环）	
	0	6
H6(-)	-	++
H6So3	-	-
H6So3.6	-	-
H6So4	-	-
H6So5	-	-
H6Su	-	-
H6Tr	-	+
H6Ma	-	+

[0359] -:无凝聚

[0360] +:确认到少量凝聚

[0361] ++:确认到大量凝聚

[0362] 实施例13:冷冻干燥

[0363] 制备150mg/mL的人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的10mM组氨酸/pH6.0/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80的组合物,添加甘露糖醇、海藻糖、蔗糖或山梨糖醇后,通过棚式冷冻干燥(共和真空制)实施冷冻干燥。对于性状而言,通过目视确认冷冻干燥后的团块(cake)的形状。

[0364] 对于复溶解性而言,加入注射用水,于5℃静置半天后确认溶液中是否残留有团块形状。任一检体的团块形状均为良好,确认到添加注射用水后的复溶解。确认了能够以冷冻干燥制剂的形式制备。例如,针对A10-1C04实施的结果示于表11。

[0365] 10mM组氨酸/pH6/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80/4.0％(w/v)山梨糖醇(以下简称为“LYSO”)

[0366] 10mM组氨酸/pH6/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80/4.0％(w/v)蔗糖(以下简称为“LYSU”)

[0367] 10mM组氨酸/pH6/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80/4.0％(w/v)海藻糖(以下简称为“LYTR”)

[0368] 10mM组氨酸/pH6/0.02％(w/v)聚山梨醇酯80/2.0％(w/v)甘露糖醇(以下简称为“LYMA”)

[0369] [表11]

[0370] 表11:冷冻干燥后的物性

[0371]

	LYSO	LYSU	LYTR	LYMA
外观	良好	良好	良好	良好
复溶解性	Sol	Sol	Sol	Sol

[0372] 良好:形成团块,差:未形成团块

[0373] Sol:溶解,Dis:不溶解

[0374] 实施例14:稳定性试验(1)

[0375] 制备10mg/mL的人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的10mM组氨酸/pH6/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80/3.6%(w/v)山梨糖醇的组合物,填充至玻璃小瓶中,用卤代丁基橡胶塞封住,作为长期稳定性试验,将其于2~8℃的温度保存1年、2年及3年。在2000~3750Lux的荧光灯下以白板及黑板为背景各自目视检查5秒,确认有无凝聚。结合活性通过以下的方法评价。将人IL-33添加至96孔板中,进行一夜的固相化。使用BSA封闭后,向各孔中添加试样溶液,使HRP标记抗人IgG抗体反应,使用TMB使其显色。然后,使用微孔板检测仪(Molecular Device公司)测定450nm和650nm的吸光度,求出EC50。求出同样地测定的标准溶液的EC50,算出其比率。在任一测定点均未观察到凝聚及pH漂移,抗体的结合活性也未减少。例如,针对A10-1C04实施的结果示于表12。

[0376] [表12]

[0377] 表12:长期稳定性试验(1)

[0378]

	2~8℃ T0	2~8℃ 1年	2~8℃ 2年	2~8℃ 3年
目视检查	-	-	-	-
结合活性	100%	110%	101%	101%
pH	6.0	6.0	6.0	6.0

[0379] -:无凝聚

[0380] +:确认到少量凝聚

[0381] ++:确认到大量凝聚

[0382] 实施例15:稳定性试验(2)

[0383] 制备150mg/mL的人抗IL-33单克隆抗体(A10-1C04、A23-1A05、A25-2C02、A25-3H04或A26-1F02)的10mM组氨酸/pH6/0.02%(w/v)聚山梨醇酯80/4.0%(w/v)山梨糖醇的组合物,填充至玻璃小瓶中,用卤代丁基橡胶塞封住,作为长期稳定性试验,将其于2~8℃的温度保存3个月及6个月。通过与实施例14的方法进行评价。在任一测定点均未观察到凝聚及pH漂移,抗体的结合活性也未减少。例如,针对A10-1C04实施的结果示于表13。

[0384] [表13]

[0385] 表13:长期稳定性试验(2)

[0386]

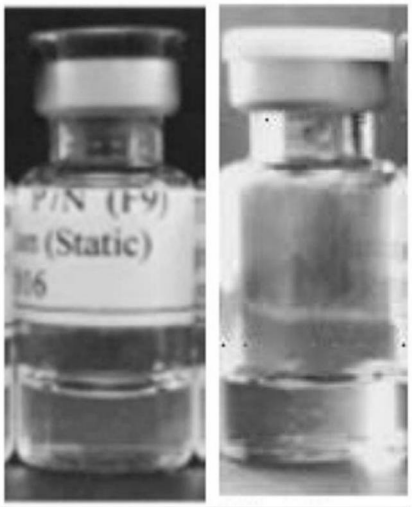
	2~8℃ T0	2~8℃ 3个月	2~8℃ 6个月
目视检查	-	-	-
结合活性	115%	110%	100%
pH	5.9	5.8	5.8

[0387] -:无凝聚

[0388] +:确认到少量凝聚

[0389] ++:确认到大量凝聚。

抗体溶液的白浊



	P7N	H_2O
白浊	+	−

+：有白浊 −：无白浊

图1

盐针对抗体溶液的白浊的效果



	H_2O	A5N	A5S	H6N	H6S	P6N	P6S	P7N	P7S
白浊	−	+	−	+	−	+	−	+	−

+：有白浊 −：无白浊

图2