

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

一種 IL-15 蛋白質複合物醫藥組成物及其用途

IL-15 PROTEIN COMPLEX PHARMACEUTICAL
COMPOSITION AND USE THEREOF

【技術領域】

本發明屬於藥物製劑領域，具體涉及一種包含 IL-15 蛋白質複合物的醫藥組成物，以及其作為藥物的用途。

【先前技術】

白細胞介素 15(IL-15)是 Grabstein 等人於 1994 年發現的一種約為 12-14kD 的細胞因子，可在機體正常的免疫應答中發揮作用，如促進 T 細胞、B 細胞、自然殺傷細胞(NK)的增殖。

IL-15 屬於四個小 α 螺旋束細胞因子家族(Small four α -helix bundle family of cytokines)中的成員。IL-15 需藉由與其受體結合發揮生物學活性。IL-15 受體由三個受體亞基組成：IL-15 受體 α (IL-15R α)、IL-2 受體 β (IL-2R β ，也稱 IL-15R β 或 CD122)和 γ_c (也稱 CD132)。IL-15R α 內含一個 Sushi 結構域，能與 IL-15 結合，並且是使結合後的 IL-15 發揮生物學功能所必需的。

近年發現，IL-15 與其受體 IL-15R α 形成複合物後，可顯著增強 IL-15 的生物學活性。研究顯示，IL-15 和其可溶性受體 IL-15R α 所形成的複合物在刺激記憶性 CD8+T 淋

巴細胞和 NT/NKT 細胞增殖作用明顯地優於 IL-15 單獨作用。IL-15/IL-15R α 複合物顯著地擴增誘導 CD122^{high} 細胞增殖，包括已受抗原刺激的 CD44^{high}CD8⁺ 記憶性 T 細胞。IL-15/IL-15R α 複合物刺激記憶性 CD8⁺ T 細胞增殖和維持其存活的能力較單獨的 IL-15 強 10 倍以上，其機理可能和轉呈遞作用相關。

由於 IL-15 在腫瘤免疫治療領域的良好預期，NIH 最先進行了 IL-15 治療腫瘤方面的研究，並嘗試將其推入臨床一期研究。但是同於 IL-15 存在分子量小、體內半衰期短，重複給藥劑量不好控制，且容易造成全身性免疫副反應等問題。所以迫切需要一種提高 IL-15 體內半衰期、促進或者增強其體內生物學活性發揮的途徑。國內外有不少公司或研究機構在從事 IL-15 免疫治療方面的相關研究，比如 CN100334112C(上海海欣生物技術有限公司)專利所涉及的 IL-15-hIgG4Fc 同源二聚體蛋白用於抗微生物感染的治療。本申請的複合物分子在 IL-15 和 IL-15R α 之間引入二硫鍵，能夠提高分子穩定性及生物活性，同時也能夠簡化製備工藝。

但是，大分子蛋白藥物其分子量大，結構複雜，容易降解、聚合或發生不希望發生的化學修飾等而變得不穩定。為了使蛋白藥物適合於給藥，並且在儲存、運輸及隨後使用過程中能保持穩定性，發揮更好的效果，蛋白藥物的穩定製劑研究顯得尤為重要。

儘管，目前有多家公司在研發包含 IL-15 蛋白質複合

物，如：CN103370339A、CN100334112、CN101735982、WO2007001677、US20070160578、WO2016/095642 等。但對於新結構形式的 IL-15 蛋白質複合物，仍需要研製更適於給藥的包含 IL-15 蛋白質複合物醫藥組成物(製劑)。

【發明內容】

本發明提供一種醫藥組成物，其包含 IL-15 蛋白質複合物，以及緩衝液，所述 IL-15 蛋白質複合物由 IL-15 與選自以下的任一項組成：

IL-15 受體、

含 IL-15 受體胞外區的片段、或

含 IL-15 受體胞外區融合蛋白組成。

該緩衝液選自組胺酸鹽緩衝液、琥珀酸鹽緩衝液、磷酸鹽緩衝液或枸橼酸鹽緩衝液，較佳為枸橼酸鹽緩衝液，更佳為枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液。

在可選的實施方案中，在醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度(即配製於緩衝液中的 IL-15 蛋白質複合物的濃度)為大約 1mg/ml 至 50mg/ml，較佳為大約 1mg/ml 至 20mg/ml，最佳為 1 至 10mg/ml。非限制性實施例包括 1mg/ml、2mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml。

在可選的實施方案中，在醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為小劑量的，大約 0.9mg/ml 至 1.1mg/ml，較佳為大約 1mg/ml。

在可選的實施方案中，緩衝液的濃度為大約大約 5mM

至 30mM，較佳為大約 10mM 至 20mM，非限制性實施例包括 10mM、11mM、12mM、13mM、14mM、15mM、16mM、17mM、18mM、19mM、20mM，更佳為大約 10 ± 2 mM，最佳為 10mM。

在可選的實施方案中，在醫藥組成物中，該緩衝液的 pH 值約為 5.0 到 6.0，較佳為大約 5.0-5.5，非限制性實施例包括約 5.0、約 5.1、約 5.15、約 5.2、約 5.25、約 5.3、約 5.35、約 5.4、約 5.45、約 5.5，更佳為約 5.15 至 5.25，最佳為約 5.2。

進一步的，在可選的實施方案中，醫藥組成物還包含糖。本發明的“糖”包含常規組合物 $(CH_2O)_n$ 及其衍生物，包括單糖，二糖，三糖，多糖，糖醇，還原性糖，非還原性糖等等。可選自葡萄糖，蔗糖，海藻糖，乳糖，果糖，麥芽糖，右旋糖苷，甘油，赤藻糖醇，丙三醇，阿拉伯糖醇，sylitol，山梨糖醇，甘露醇，密裡二糖，松三糖，蜜三糖，甘露三糖，水蘇糖，麥芽糖，乳果糖，麥芽酮糖，山梨醇，麥芽糖醇，乳糖醇，異-麥芽酮糖等等。較佳的糖是非還原性二糖，更佳為海藻糖或蔗糖，本發明中“海藻糖”較佳為“ α, α -二水合海藻糖”。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中糖的濃度為大約 60mg/ml 至約 90mg/ml，較佳為 75 ± 5 mg/ml，非限制性實施例包括 70mg/ml、71mg/ml、72mg/ml、73mg/ml、73mg/ml、74mg/ml、75mg/ml、76mg/ml、77mg/ml、78mg/ml、79mg/ml、80mg/ml，最佳為 75mg/ml。

在可選的實施方案中，醫藥組成物還包含表面活性劑。可選自聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、聚羥亞烴、Triton、十二烷基磺酸鈉、月桂基磺酸鈉、辛基糖甙鈉、月桂基-、肉豆蔻基-、亞油基-、硬脂基-磺基甜菜鹼、月桂基-、肉豆蔻基-、亞油基-、硬脂基-肌胺酸、亞油基-、肉豆蔻基-、鯨蠟基-甜菜鹼、月桂醯胺基丙基-、柯卡醯胺基丙基-、亞油醯胺基丙基-、肉豆蔻醯胺基丙基-、棕櫚醯胺基丙基-、異硬脂醯胺基丙基-甜菜鹼、肉豆蔻醯胺基丙基-、棕櫚醯胺基丙基-、異硬脂醯胺基丙基-二甲基胺、甲基可哥醯基鈉、甲基油基牛磺酸鈉、聚乙二醇、聚丙二醇、乙烯與丙烯二醇的共聚物等等。較佳的表面活性劑為聚山梨醇酯 80 或聚山梨醇酯 20，更佳為聚山梨醇酯 20。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中表面活性劑的濃度為大約 0.1mg/ml 至 0.6mg/ml，較佳為大約 0.4mg/ml 至 0.6mg/ml，非限制性實施例包括 0.4mg/ml、0.42mg/ml、0.44mg/ml、0.46mg/ml、0.48mg/ml、0.5mg/ml、0.52mg/ml、0.54mg/ml、0.56mg/ml、0.58mg/ml、0.6mg/ml，最佳為 0.5mg/ml。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：

(a) 1 至 10mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物，

(b) 5 至 30mM 的枸橼酸鹽緩衝液，

(c) 60 至 90mg/ml 的海藻糖，和

(d) 0.1 至 0.6mg/ml 的聚山梨醇酯 20，所述醫藥組成物的 pH 約為 5.0 至 6.0。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1 至 5mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物，(b) 10 至 20mM 的枸橼酸鹽緩衝液，(c) 60 至 90mg/ml 的海藻糖，和(d) 0.4 至 0.6mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.0-5.5。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：

(a) 1mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物，

(b) 10 ± 2 mM 的枸橼酸鹽緩衝液，

(c) 75 ± 5 mg/ml 的海藻糖，和

(d) 0.4 至 0.6mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.15 至 5.25。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：

(a) 1mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物，

(b) 10mM 的枸橼酸鹽緩衝液，

(c) 75mg/ml 的海藻糖，和

(d) 0.5mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.15 至 5.25，較佳 pH5.2。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1 mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物 3，和(b) 10mM 的枸橼酸鹽緩衝液，該醫藥組成物的 pH 約為 5.0-5.5。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1 至 5mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物 3，(b) 10mM 的枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，(c) 60 mg/ml 的蔗糖，和(d) 0.4 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.5。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物 3 (b) 10mM 的枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，和(c) 60 mg/ml 的海藻糖，該醫藥組成物的 pH 約為 5.5。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物 3 (b) 10mM 的枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，和(c) 90mg/ml 的海藻糖，該醫藥組成物的 pH 約為 5.5。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1 mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物 3，(b) 10 ± 2 mM 的枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，(c) 75 ± 5 mg/ml 的海藻糖，和(d) 0.4-0.6 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.15-5.25。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1 mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物 3，(b) 10 ± 2 mM 的枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，(c) 75 ± 5 mg/ml 的海藻糖，和(d) 0.4-0.6 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.15-5.25。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中包含：(a) 1 mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物，(b) 10mM 的枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，(c) 75mg/ml 的海藻糖，和(d) 0.5 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.2。

在可選的實施方案中，醫藥組成物中所述 IL-15 蛋白質複合物由與 SEQ ID NO:1 所示多肽具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或 100%的序列同一性的 IL-15 和與 SEQ ID NO:2 所示多肽具有至少 95%、96%、97%、98%、99%或

100%的序列同一性的 IL-15 受體融合蛋白組成。

在較佳的實施方案中，所述 IL-15 蛋白質複合物由 SEQ ID NO:1 所示的 IL-15 和 SEQ ID NO:2 所示的 IL-15 受體融合蛋白組成。

在一些實施方案中，該醫藥組成物於 2-8℃ 穩定至少 3 個月，至少 6 個月，至少 12 個月，至少 18 個月或至少 24 個月。在一些實施方案中，該醫藥組成物於 40℃ 穩定至少 7 天，至少 14 天或至少 28 天。

本發明還提供一種製備前述醫藥組成物的方法，包括：醫藥組成物由 IL-15 蛋白質複合物與緩衝液配製而成。其中，在醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為大約 1mg/ml 至 10mg/ml，較佳為大約 1mg/ml 至 5mg/ml，最佳為大約 0.9mg/ml 至 1.1mg/ml，更佳為 1mg/ml。

該緩衝液較佳為枸橼酸鹽緩衝液，該緩衝液濃度較佳大約為 5mM 至 30mM，更佳大約為 5mM 至 20mM，最較佳大約為 10±2mM，該緩衝液 pH 約為 5.0 至 6.0，pH 較佳約為 5.0-5.5，最佳約為 5.15 至 5.25。本發明中製備醫藥組成物的緩衝液 pH 與醫藥組成物最終的 pH 基本一致。

該 IL-15 蛋白質複合物由 IL-15 與選自以下的任一項組成：

IL-15 受體、

含 IL-15 受體胞外區的片段、或

含 IL-15 受體胞外區融合蛋白組成。

具體地，該 IL-15 蛋白質複合物由與 SEQ ID NO: 1 所

示多肽具有至少 95% 的序列同一性的 IL-15 和與 SEQ ID NO: 2 所示多肽具有至少 95% 的序列同一性的 IL-15 受體融合蛋白組成。

較佳地，該 IL-15 蛋白質複合物由 SEQ ID NO:1 所示的 IL-15 和 SEQ ID NO:2 所示的 IL-15 受體融合蛋白組成。

在可選的實施方案中，製備前述醫藥組成物的方法還包括加入海藻糖和聚山梨醇酯 20 的步驟，該海藻糖濃度較佳為大約 60mg/ml 至 90mg/ml，較佳為 75 ± 5 mg/ml，最佳為 75mg/ml，所述聚山梨醇酯 20 濃度為大約 0.1mg/ml 至 0.6mg/ml，較佳為大約 0.4mg/ml 至 0.6mg/ml，最佳約為 0.5mg/ml。

本發明還提供一種製備含 IL-15 蛋白質複合物的冷凍乾燥製劑的方法，其中包括將前述醫藥組成物經冷凍乾燥的步驟。

在可選的實施方案中，製備含 IL-15 蛋白質複合物的冷凍乾燥製劑的方法中所述冷凍乾燥包括依次的預凍、一次乾燥和二次乾燥的步驟。藉由冷凍製劑和隨後在適於一次乾燥的溫度使水昇華，進行冷凍乾燥。在此條件下，產物溫度低於製劑的低共熔點或分解溫度。在通常約 50-250 毫托範圍的合適壓力下，通常，一次乾燥的存放溫度範圍為約 -30 至 25°C (假設產物在一次乾燥過程中保持冷凍)。製劑、容納樣品的容器(例如，玻璃小瓶)的大小和類型以及液體的體積決定了乾燥所需的時間，所述時間的範圍可為幾小時至幾天(例如 40-60 小時)。二次乾燥階段可在約

0-40℃進行，這主要取決於容器的類型和大小以及採用的蛋白的類型。二次乾燥時間由產物中的期望殘餘濕度水準決定，通常需要至少約5小時。通常，低壓凍乾的製劑的含水量小於約5%，較佳小於約3%。壓力可與在一次乾燥步驟中應用的壓力相同，較佳的，二次乾燥的壓力低於一次乾燥。冷凍乾燥條件可以隨製劑和小瓶大小而變化。本發明所述的預凍為從5℃凍至-40℃至-50℃，最佳為-45℃，對真空度不作要求。該一次乾燥溫度最佳為-25℃；真空度0.01 mBar -0.2 mBar，最佳為0.08mBar。二次乾燥溫度20℃-30℃，最佳為25℃，真空度0.01 mBar -0.2 mBar，最佳為0.08mBar，降至0.005 mBar -0.02 mBar，最佳為0.01mBar。

本發明還提供一種經前述製備含IL-15蛋白質複合物的冷凍乾燥製劑的方法製備的含IL-15蛋白質複合物的冷凍乾燥製劑。

本發明還提供一種製備含有前述醫藥組成物的凍乾製劑的複溶溶液的方法，其中包括將前述凍乾製劑經複溶的步驟，其中，複溶所用溶劑較佳為注射用水。

本發明還提供一種由前述複溶溶液製備方法製備的含有IL-15蛋白質複合物的複溶溶液。

在可選的實施方案中，該複溶溶液，其中該IL-15蛋白質複合物濃度為大約0.9mg/ml至1.1mg/ml，較佳為大約1mg/ml。

在可選的實施方案中，該複溶溶液，其中該醫藥組成

物的 pH 約為 5.0 至 6.0，較佳為大約 5.0 至 5.5，更佳為大約 5.15 至 5.25，最佳為 5.2。

在可選的實施方案中，該複溶溶液，其中包含枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，該緩衝液濃度為大約 5mM 至 30mM，較佳為大約 10mM 至 20mM，更佳為 10mM。

在可選的實施方案中，該複溶溶液，其中還包括二糖，較佳地，該二糖選自海藻糖或蔗糖，最佳為海藻糖。

在可選的實施方案中，該複溶溶液，其中該糖濃度為大約 60mg/ml 至 90mg/ml，較佳為大約 75±5mg/ml，更佳為 75mg/ml。

在可選的實施方案中，該複溶溶液，其中還包括表面活性劑，該表面活性劑較佳為聚山梨醇酯，更佳為聚山梨醇酯 20。

在可選的實施方案中，該複溶溶液，其中表面活性劑的濃度為大約 0.1mg/ml 至 0.6mg/ml，較佳為大約 0.4mg/ml 至 0.6mg/ml，最佳為 0.5mg/ml。

本發明還涉及一種含 IL-15 蛋白質複合物的凍乾製劑，該凍乾製劑複溶後可形成前述的醫藥組成物。

本發明進一步提供一種製品或試劑盒，其包含裝有本文所述任何醫藥組成物的容器。在一些實施方案中，該玻璃瓶為中性硼矽玻璃管制注射劑瓶。

本發明進一步提供前述的醫藥組成物或凍乾製劑或凍乾製劑的複溶溶液在製備用於治療 IL-15 相關的疾病或病症的藥物中的用途。

本發明進一步提供前述的醫藥組成物或凍乾製劑或凍乾製劑的複溶溶液在製備用於治療選自傳染病、癌症、血液病、炎性疾病和自身免疫性的疾病或病症的藥物中的用途；該癌症較佳為黑色素瘤、結直腸癌、皮膚癌、淋巴瘤、腎細胞癌、肝癌、肺癌、胃癌、乳腺癌；該傳染病較佳為天花病毒感染、HIV 感染、細菌感染、真菌感染、HBV 感染；該血液病較佳為貧血、急性髓系白血症、骨髓增生異常綜合征、T-細胞大顆粒淋巴細胞性白血症；該自身免疫性疾病較佳為多發性硬化症、銀屑病、風濕性關節炎、胃炎、黏膜炎。

在可選的實施方案中，前述用途，其中該醫藥組成物或凍乾製劑或凍乾製劑的複溶溶液與小分子抑制劑或抗體類藥物聯合使用；該小分子抑制劑較佳為靶向化療藥物或放射治療藥物，更佳為烷化劑；該抗體類藥物較佳為單株抗體藥物，更佳為抗 CD20、抗 PD1、抗 PDL1、抗 Her2、抗 EGFR、抗 c-MET 抗體。

本發明還提供一種前述的醫藥組成物、或凍乾製劑或凍乾製劑的複溶溶液在製備細胞免疫治療的藥物中用途，該細胞免疫治療尤其是 DC(樹突細胞免疫治療，Dendritic Cell Immunotherapy)、CIK(細胞因子誘導殺傷細胞免疫治療，Cytokine Induced Killer cell Immunotherapy)、DC-CIK(樹突細胞-細胞因子誘導的殺傷細胞免疫治療，Dendritic Cell-Cytokine Induced Killer cell Immunotherapy)、ECIK(增強的細胞因子誘導的殺傷細胞免

疫治療，Enhanced Cytokine Induced Killer cell Immunotherapy)、NK(自然殺傷細胞免疫治療，Natural Killer cell Immunotherapy)、CAS-T(聯合抗原刺激 T 細胞免疫治療，Combined antigens stimulated T cells Immunotherapy)、BiAb-T(雙特異性抗原結合 T 細胞免疫療法，Bispecific antigen binding T cells Immunotherapy)、TCR-T(T 細胞受體編輯的 T 細胞免疫治療，T cell receptor engineered T-Cell Immunotherapy)、CAR-T(嵌合抗原受體 T 細胞免疫治療，Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy)的腫瘤細胞免疫治療。

本發明進一步提供一種治療 IL-15 相關的疾病或病症的方法，其中包括給予受試者前述的醫藥組成物或凍乾製劑或凍乾製劑的複溶溶液的步驟。

在可選的實施方案中，前述治療 IL-15 相關的疾病或病症的方法，其中該疾病或病症選自傳染病、癌症、血液病、炎症疾病和自身免疫性疾病；

該癌症較佳為黑色素瘤、結直腸癌、皮膚癌、淋巴瘤、腎細胞癌、肝癌、肺癌、胃癌、乳腺癌；該傳染病較佳為天花病毒感染、HIV 感染、細菌感染、真菌感染、HBV 感染；該血液病較佳為貧血、急性髓系白血病、骨髓增生異常綜合征、T-細胞大顆粒淋巴細胞性白血病；該自身免疫性疾病較佳為多發性硬化症、銀屑病、風濕性關節炎、胃炎、黏膜炎。

在可選的實施方案中，前述治療 IL-15 相關的疾病或

病症的方法，其中該醫藥組成物或凍乾製劑或凍乾製劑的複溶溶液與小分子抑制劑或抗體類藥物聯合使用；該小分子抑制劑較佳為靶向化療藥物或放射治療藥物，更佳為烷化劑；該的抗體類藥物較佳為單株抗體藥物，更佳為抗 CD20、抗 PD1、抗 PDL1、抗 Her2、抗 EGFR、抗 c-MET 抗體。

要理解，可以組合本文所述各個實施方案的一項、一些或所有特性以形成本發明的其它實施方案。本發明的這些和其它方面對於本領域技術人員會變得顯然。本發明的這些和其它實施方案藉由下面的詳述進一步描述。

【圖式簡單說明】

第 1 圖為 SEC 0 時純度與振搖數據差值擬合圖。

第 2 圖為非還原 CE-SDS 純度 0 時與振搖資料差值擬合圖。

第 3 圖為振搖 SEC、非還原 CE-SDS 差值的等高線圖。

【實施方式】

一、術語

為了更容易理解本發明，以下具體定義了某些技術和科學術語。除非在本文中另有明確定義，本文使用的所有其它技術和科學術語都具有本發明所屬領域的一般技術人員通常理解的含義。

“緩衝液”指藉由其酸-鹼共軛組分的作用而耐受 pH 變化的緩衝液。將 pH 控制在適當範圍中的緩衝液的例子包括醋酸鹽、琥珀酸鹽、葡萄糖酸鹽、組胺酸、草酸鹽、乳

酸鹽、磷酸鹽、枸橼酸鹽、酒石酸鹽、延胡索酸鹽、甘胺酸鹽、甘胺酸和其它有機酸緩衝液。

“組胺酸鹽緩衝液”是包含組胺酸離子的緩衝液。組胺酸鹽緩衝液的實例包括組胺酸-鹽酸鹽，組胺酸-醋酸鹽，組胺酸-磷酸鹽，組胺酸-硫酸鹽等緩衝液，較佳的組胺酸鹽緩衝液是組胺酸-鹽酸鹽緩衝液。組胺酸-鹽酸鹽緩衝液是組胺酸與鹽酸或組胺酸與組胺酸鹽酸鹽配製而成。“枸橼酸鹽緩衝液”是包括枸橼酸根離子的緩衝液。枸橼酸鹽緩衝液的實例包括枸橼酸-枸橼酸鈉、枸橼酸-組胺酸鹽、枸橼酸-枸橼酸鉀、枸橼酸-枸橼酸鈣、枸橼酸-枸橼酸鎂等。較佳的枸橼酸鹽緩衝液是枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液。

“琥珀酸鹽緩衝液”是包括琥珀酸離子的緩衝液。琥珀酸鹽緩衝液的實例包括琥珀酸-琥珀酸鈉、琥珀酸組胺酸鹽、琥珀酸-琥珀酸鉀、琥珀酸-琥珀酸鈣鹽等。較佳的琥珀酸鹽緩衝液是琥珀酸-琥珀酸鈉緩衝液。

“磷酸鹽緩衝液”是包括磷酸離子的緩衝液。磷酸鹽緩衝液的實例包括磷酸氫二鈉酸-磷酸二氫鈉、磷酸氫二鈉酸-磷酸二氫鉀等。較佳的磷酸鹽緩衝液是磷酸氫二鈉酸-磷酸二氫鈉緩衝液。

“醋酸鹽緩衝液”是包括醋酸根離子的緩衝液。醋酸鹽緩衝液的實例包括醋酸-醋酸鈉、醋酸組胺酸鹽、醋酸-醋酸鉀、醋酸醋酸鈣、醋酸-醋酸鎂等。較佳的醋酸鹽緩衝液是醋酸-醋酸鈉緩衝液。

“海藻糖”也稱“ α, α -二水合海藻糖”。

“醫藥組成物”表示含有一種或多種本文所述 IL-15 蛋白質複合物與其他化學組分的混合物，該其他組分例如生理學/可藥用的載體和賦形劑。醫藥組成物的目的是利於藥物活性成分穩定地儲存、運輸和促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。本文中，“醫藥組成物”和“製劑”並不互相排斥。

本發明中所述醫藥組成物的溶液形式，若無特殊說明，其中的溶劑均為水。

“冷凍乾燥製劑”或“凍乾製劑”表示液體或溶液形式的醫藥組成物或液體或溶液製劑經真空冷凍乾燥步驟之後獲得的製劑或醫藥組成物。

本發明所述的醫藥組成物能夠達到一種穩定的效果：其中的蛋白質複合物在貯藏後基本上保留其物理穩定性和/或化學穩定性和/或生物學活性的醫藥組成物，較佳地，醫藥組成物在貯藏後基本上保留其物理和化學穩定性以及其生物學活性。貯藏期一般基於醫藥組成物的預定保存期來選擇。目前有多種測量蛋白質穩定性的分析技術，可測量在選定溫度貯藏選定時間段後的穩定性。

穩定的蛋白藥物製劑是在下述情況下沒有觀察到顯著變化的製劑：在冷藏溫度(2-8℃)保存至少 3 個月、較佳 6 個月、更佳 1 年，且甚至更佳地最多達 2 年。另外，穩定的液體製劑包括這樣的液體製劑：其在包括 25℃ 和 40℃ 在內的溫度保存包括 1 個月、3 個月、6 個月在內的時段後表現出期望的特徵。穩定性的典型的可接受的標準如下：

藉由 SEC-HPLC 測得，通常不超過約 10%、較佳不超過約 5% 的蛋白質複合物單體發生降解。藉由視覺分析，藥物製劑是無色的，或澄清至稍微乳白色。所述製劑的濃度、pH 和重量克分子滲透壓濃度具有不超過 $\pm 10\%$ 變化。通常觀察到不超過約 10%、較佳不超過約 5% 的截短。通常形成不超過約 10%、較佳不超過約 5% 的聚集。

如果在目檢顏色和/或澄清度後，或者藉由 UV 光散射、尺寸排阻色譜法 (SEC) 和動態光散射 (DLS) 測得，蛋白質複合物沒有顯示出顯著的聚集增加、沉澱和/或變性，那麼所述蛋白質複合物在藥物製劑中“保留它的物理穩定性”。蛋白構象的變化可以藉由螢光光譜法 (其確定蛋白三級結構) 和藉由 FTIR 光譜法 (其確定蛋白二級結構) 來評價。

如果蛋白質複合物沒有顯示出顯著的化學改變，那麼所述蛋白質複合物在藥物製劑中“保留它的化學穩定性”。藉由檢測和定量化學上改變的形式的蛋白，可以評估化學穩定性。經常改變蛋白化學結構的降解過程包括水解或截短 (藉由諸如尺寸排阻色譜法和 SDS-PAGE 等方法來評價)、氧化 (藉由諸如與質譜法或 MALDI/TOF/MS 結合的肽譜法等方法來評價)、脫醯胺作用 (藉由諸如離子交換色譜法、毛細管等電聚焦、肽譜法、異天冬胺酸測量等方法來評價) 和異構化 (藉由測量異天冬胺酸含量、肽譜法等來評價)。

如果蛋白質複合物在給定時間的生物活性是在製備藥物製劑時表現出的生物活性的預定範圍內，那麼所述蛋白質複合物在藥物製劑中“保留它的生物活性”。蛋白質複

合物的生物活性可以例如藉由抗原結合測定來確定。

本發明所用胺基酸三字母代碼和單字母代碼如 J. biol. chem, 243, p3558 (1968)中所述。

“IL-15 蛋白質複合物”為 IL-15 蛋白與 IL-15 受體及含 IL-15 受體功能片段的蛋白形成的蛋白質複合物，其中含 IL-15 受體功能片段包括含 IL-15 受體胞外區的片段或含 IL-15 受體胞外區的融合蛋白。“IL-15 蛋白質複合物 3”是指 WO2016/095642 中蛋白質複合物 3，是將 IL-15 蛋白進行 L52C 突變，IL-15R α 胞外區(IL-15R α -Sushi)進行 S40C 突變，IL-15R α -Sushi+(S40C)與 Fc 融合形成的融合蛋白，突變的 IL-15(L52C)與 IL-15R α -Sushi+(S40C)-Fc 結合形成的蛋白質複合物。

其中，IL-15(L52C) (SEQ ID NO: 1)：

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPCKV
TAMKCFLLLELQVISCESGDASIHDVTENLIILANNSLSSNG
NVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

IL-15R α -Sushi+(S40C)-Fc (SEQ ID NO: 2)：

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKA
GTCSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPALVHQRGGGG
SGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL

TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

現有技術中熟知生產和純化蛋白的方法，如冷泉港實驗室出版社的《分子克隆實驗指南》，5-8章和15章。發明所述的蛋白質複合物用常規的基因工程方法製備生產。

本發明工程化的蛋白質複合物可用常規方法製備和純化。比如，編碼 IL-15 和 IL-15 受體的 cDNA 序列，可以選殖並重組至 GS 表達載體。重組的蛋白表達載體可以穩定地轉染 CHO 細胞。作為一種推薦的現有技術，哺乳動物類表達系統會導致蛋白的糖基化，特別是在 Fc 區的高度保守 N 端位點。藉由表達與人 IL-15 特異性結合的蛋白得到穩定的純株。陽性的純株在生物反應器的無血清培養基中擴大培養以生產蛋白質複合物。分泌了蛋白的培養液可以用常規技術純化。比如，用含調整過的緩衝液的 A 或 G Sepharose FF 管柱進行純化。洗去非特異性結合的組分。再用 pH 梯度法沖提結合的蛋白質複合物，用 SDS-PAGE 檢測蛋白片段，收集。蛋白質複合物可用常規方法進行過濾濃縮。可溶的混合物和多聚體，也可以用常規方法去除，比如分子篩、離子交換。得到的產物需立即冷凍，如 -70℃，或者凍乾。

胺基酸序列“同一性”是指兩個蛋白或多肽之間的序列相似性。當兩個比較序列中的位置均被相同胺基酸殘基佔據時，例如如果兩個多肽的一個位置都被同一個胺基酸殘基佔據時，那麼該分子在該位置是一致的。適於確定序列同一性百分比和序列相似性百分比的演算法的實例是

BLAST 和 BLAST2.0 演算法，它們分別描述於 Altschul et al.(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410 和 Altschul et al.(1977) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402。用於執行 BLAST 分析的軟體可在美國國家生物技術資訊中心公開獲取 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

“給予”和“處理”當應用於動物、人、實驗受試者、細胞、組織、器官或生物流體時，是指外源性藥物、治療劑、診斷劑或組合物與動物、人、受試者、細胞、組織、器官或生物流體的接觸。“給予”和“處理”可以指例如治療、藥物代謝動力學、診斷、研究和實驗方法。細胞的處理包括試劑與細胞的接觸，以及試劑與流體的接觸，其中所述流體與細胞接觸。“給予”和“處理”還意指藉由試劑、診斷、結合組合物或藉由另一種細胞體外和離體處理例如細胞。“處理”當應用於人、獸醫學或研究受試者時，是指治療處理、預防或預防性措施，研究和診斷應用。

“治療”意指給予患者內用或外用治療劑，例如包含本發明的任一種結合化合物的組合物，所述患者具有一種或多種疾病症狀，而已知所述治療劑對這些症狀具有治療作用。通常，在受治療患者或群體中以有效緩解一種或多種疾病症狀的量給予治療劑，以誘導這類症狀退化或抑制這類症狀發展到任何臨床可測量的程度。有效緩解任何具體疾病症狀的治療劑的量(也稱作“治療有效量”)可根據多種因素變化，例如患者的疾病狀態、年齡和體重，以及藥物在患者產生需要療效的能力。藉由醫生或其它專業衛生保

健人士通常用於評價該症狀的嚴重性或進展狀況的任何臨床檢測方法，可評價疾病症狀是否已被減輕。儘管本發明的實施方案(例如治療方法或製品)在緩解每個目標疾病症狀方面可能無效，但是根據本領域已知的任何統計學檢驗方法如 Student t 檢驗、卡方檢驗、依據 Mann 和 Whitney 的 U 檢驗、Kruskal-Wallis 檢驗(H 檢驗)、

Jonckheere-Terpstra 核對總和 Wilcoxon 檢驗確定，其在統計學顯著數目的患者中應當減輕目標疾病症狀。

“有效量”包含足以改善或預防醫學疾病的症狀或病症的量。有效量還意指足以允許或促進診斷的量。用於特定患者或獸醫學受試者的有效量可依據以下因素而變化：例如，待治療的病症、患者的總體健康情況、給藥的方法途徑和劑量以及副作用嚴重性。有效量可以是避免顯著副作用或毒性作用的最大劑量或給藥方案。

二、實施例和測試例

以下結合實施例進一步描述本發明，但這些實施例並非限制本發明的範圍。

本發明實施例或測試例中未注明具體條件的實驗方法，通常按照常規條件，或按照原料或商品製造廠商所建議的條件。參見 J.薩姆布魯克(J. Sambrook)等人著，《分子選殖實驗指南》，冷泉港實驗室出版社；F.奧斯伯(Frederick M. Ausubel)著，《當代分子生物學方法》，Greene 出版協會。未注明具體來源的試劑，為市場購買的常規試劑。

IL-15 蛋白質複合物醫藥組成物(製劑)製備工藝

[實施例]

IL-15 蛋白質複合物醫藥組成物(製劑)工藝如下(各製劑中成分及組成可根據蛋白質複合物的穩定性進行選擇和調整)：

第一步：製備含 IL-15 蛋白質複合物 3(IL-15 蛋白質複合物 3 的製備、表達、純化方法，參見申請日為 2015 年 11 月 17 日，申請號為 PCT/CN2015/094780，公開號為 WO2016/095642 的專利檔，其全部內容均可引入本發明)及穩定性成分的製劑原液，經過濾後中控取樣檢測無菌。將原液過 0.22 μm PVDF 濾芯，收集濾液。

其中 IL-15 蛋白質複合物 3 由如下多肽組成：

IL-15(L52C) (SEQ ID NO: 1)：

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV
TAMKCFLELQVISCESGDASIHDVTENLIILANNSLSSNG
NVTESGCKECELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

IL-15R α -Sushi+(S40C)-Fc (SEQ ID NO: 2)：

ITCPPPMMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKA
GTCSLTECVLNKATNVAHWTTPSLKCIRDPAHVHQRGGGG
SGGGGSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT
LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL

TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

第二步：調節裝量至 1.1 ml，將濾液灌裝於 2 ml 西林瓶中，半加塞，分別於灌裝開始、灌裝中間、灌裝結束時取樣中控檢測裝量差異。

第三步：將灌裝加塞後的藥液裝入凍乾箱中進行冷凍乾燥。所述冷凍乾燥依次包括預凍、一次乾燥和二次乾燥的步驟。凍乾程式結束後，真空加塞。

第四步：開啟軋蓋機，加鋁蓋，進行軋蓋。

第五步：目檢，確認產品無塌陷、裝量不准等缺陷。列印、粘貼西林瓶標籤；打印紙盒標籤，折疊紙盒，裝盒，貼紙盒標籤。

實施例 1

在 pH5.0~8.5 一系列緩衝液中，配製蛋白濃度 1mg/mL 的 IL-15 蛋白質複合物 3 製劑，將每種製劑過濾並以 1mL/瓶灌裝於 2 mL 西林瓶中，加塞，軋蓋，封口。將樣品進行 40℃ 高溫、重複凍融、振搖等強制降解實驗，以外觀、SEC 為評價指標，結果表明：40℃ 強制降解後，各個緩衝體系的 SEC 單體純度均明顯下降，但枸橼酸鹽體系下降的最少，經振搖、凍融後各個緩衝體系(除磷酸鹽體系)的 SEC 與 0 時相比均無顯著變化，因而緩衝體系選擇枸橼酸鹽；對於枸橼酸鹽體系，pH6.0 時凍融外觀及 40℃ SEC 略差，pH5.0~5.5 條件更優。

表 1. IL-15 蛋白質複合物 3 緩衝體系 -pH 值篩選結果

批號、緩衝液類型 及 pH	條件	時間	外觀	SEC(%)		
				聚體	單體	碎片
1 10 mM 琥珀酸鹽 緩衝液 pH5.0	N/A	0	澄明	0.3	96.7	3.0
	40℃	17 天	澄明	0.2	90.1	9.7
	凍融	5 次	澄明	0.4	96.7	2.9
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.2	96.7	3.1
2 10 mM 琥珀酸鹽 緩衝液 pH5.5	N/A	0	澄明	0.5	96.7	2.8
	40℃	17 天	澄明	0.4	88.0	11.6
	凍融	5 次	細小懸浮顆粒	0.5	96.6	2.9
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.3	96.6	3.1
3 10 mM 琥珀酸鹽 緩衝液 pH6.0	N/A	0	澄明	0.6	96.4	3.1
	40 ℃	17 天	澄明	0.4	90.1	9.5
	凍融	5 次	澄明	0.6	96.4	3.0
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.3	96.8	2.9
4 10 mM 枸橼酸鹽 緩衝液 pH5.0		0	澄明	0.5	96.9	2.6
	40 ℃	17 天	澄明	0.4	93.3	6.3
	凍融	5 次	澄明	0.6	96.4	3.1
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.3	96.7	3.0
5 10 mM 枸橼酸鹽 緩衝液 pH5.5	N/A	0	澄明	0.6	96.4	3.0
	40℃	17 天	澄明	0.3	93.9	5.8
	凍融	5 次	澄明	0.6	96.5	2.9
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.4	96.6	3.1
6 10 mM 枸橼酸鹽	N/A	0	澄明	0.6	96.3	3.2
	40 ℃	17 天	澄明	0.3	92.5	7.1

緩衝液 pH6.0	凍融	5 次	細小懸浮顆粒	0.6	96.7	2.7
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.4	96.6	3.0
7 10 mM 磷酸鹽緩 衝液 pH6.0	N/A	0	澄明	0.5	96.9	2.6
	40℃	17 天	澄明	0.3	89.4	10.3
	凍融	5 次	澄明	0.6	96.4	2.9
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	細小顆粒	0.3	97.0	2.7
8 10 mM 磷酸鹽緩 衝液 pH7.0	N/A	0	澄明	0.6	95.9	3.5
	40℃	17 天	澄明	N/A	N/A	N/A
	凍融	5 次	澄明	0.7	96.1	3.2
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.6	95.2	4.2
9 10 mM 磷酸鹽緩 衝液 pH7.5	N/A	0	澄明	0.6	96.0	3.5
	40℃	17 天	澄明	N/A	N/A	N/A
	凍融	5 次	澄明	1.5	94.5	3.9
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.5	92.8	6.6
10 10 mM 磷酸鹽緩 衝液 pH8.0	N/A	0	澄明	0.6	95.2	4.2
	40℃	17 天	澄明	N/A	N/A	N/A
	凍融	5 次	澄明	1.4	94.6	4.0
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.5	90.1	9.4
11 10 mM 磷酸鹽緩 衝液 pH8.5	N/A	0	澄明	0.6	95.0	4.4
	40℃	17 天	澄明	N/A	N/A	N/A
	凍融	5 次	澄明	1.1	94.8	4.1
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.5	90.5	9.0
12 10 mM 組胺酸鹽 緩衝液	N/A	0	澄明	0.3	96.8	2.9
	40℃	17 天	澄明	0.2	90.8	9.0
	凍融	5 次	澄明	0.4	96.2	3.4

pH5.5	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.2	97.0	2.8
13 10 mM 組胺酸鹽 緩衝液 pH6.0	N/A	0	澄明	0.4	97.0	2.6
	40℃	17 天	澄明	0.4	92.1	7.5
	凍融	5 次	澄明	0.4	97.1	2.5
	振搖(25℃ 250 rpm)	2 天	澄明	0.3	97.0	2.7

注： N/A 表示無特殊措施。

實施例 2

在含下列不同濃度表面活性劑的緩衝液中，製備蛋白濃度為 1mg/mL，含 10 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉，60mg/mL 蔗糖，pH5.5 的 IL-15 蛋白質複合物 3 製劑：

- 1)0.2 mg/mL 聚山梨醇酯 20
- 2)0.4 mg/mL 聚山梨醇酯 20
- 3)0.2 mg/mL 聚山梨醇酯 80
- 4)0.4 mg/mL 聚山梨醇酯 80

將每種製劑過濾並以 1mL/瓶灌裝於 2 mL 西林瓶中，加塞，軋蓋，封口。將樣品進行 40℃ 高溫、重複凍融等強制降解實驗，穩定性結果表明，外觀、SEC 各處方間無顯著差異，40℃ 高溫、凍融非還原 CE-SDS 資料顯示 0.4 mg/ml 聚山梨醇酯 20 組穩定性更優。

表 2. IL-15 蛋白質複合物 3 吐溫篩選穩定性結果

吐溫類型及 濃度	實驗條件	SEC(%)			非還原 CE-SDS(%)	外觀
		聚體	單體	碎片		
0.2mg/ml 聚山 梨醇酯 20	0 時	0.1	97.8	2.0	87.3	澄明
	凍融 5 次	0.1	96.8	3.1	87.8	極細小顆粒
	40°C 14 天	0.1	95.5	4.3	81.1	澄明
0.4mg/ml 聚山 梨醇酯 20	0 時	0.2	97.4	2.5	86.4	澄明
	凍融 5 次	0.1	97.0	2.9	89.5	極細小顆粒
	40°C 14 天	0.1	95.6	4.3	82.8	澄明
0.2mg/ml 聚山 梨醇酯 80	0 時	0.2	97.4	2.4	85.3	澄明
	凍融 5 次	0.1	97.1	2.8	87.5	極細小顆粒
	40°C 14 天	0.2	95.3	4.5	80.9	澄明
0.4mg/ml 聚山 梨醇酯 80	0 時	0.2	97.4	2.4	86.0	澄明
	凍融 5 次	0.2	96.9	3.0	88.1	極細小顆粒
	40°C 14 天	0.1	95.4	4.4	82.0	澄明

實施例 3

在分別含 α, α -二水合海藻糖和蔗糖的緩衝液(pH 5.5)中，製備蛋白濃度為 1mg/mL，含 10 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉的 IL-15 蛋白質複合物 3 藥物製劑。將每種製劑過濾並以 1mL/瓶灌裝於 2 mL 西林瓶中，加塞，軋蓋，封口。將樣品進行 40°C 高溫、重複凍融等強制降解實驗。結果顯示 IL-15 蛋白質複合物 3 在海藻糖體系中的穩定性優於在蔗糖體系中的穩定性。

表 3. IL-15 蛋白質複合物 3 糖篩選穩定性結果

糖類型及濃度	實驗條件	SEC(%)			非還原 CE-SDS(%)	外觀
		聚體	單體	碎片		
6%海藻糖	0 時	0.2	97.5	2.3	87.2	澄明
	凍融 5 次	0.2	97.0	2.8	88.9	極細小顆粒
	40 °C 14 天	0.3	95.0	4.7	82.5	絲狀顆粒
9%海藻糖	0 時	0.1	97.6	2.3	85.3	澄明
	凍融 5 次	0.2	96.8	3.0	88.7	極細小顆粒
	40 °C 14 天	0.1	95.3	4.6	85.6	絲狀顆粒
6%蔗糖	0 時	0.1	97.4	2.4	84.9	澄明
	凍融 5 次	0.2	96.9	2.9	87.8	極細小顆粒
	40 °C 14 天	0.2	95.4	4.4	81.7	絲狀顆粒
9%蔗糖	0 時	0.2	97.3	2.5	86.7	澄明
	凍融 5 次	0.2	96.8	3.0	87.5	極細小顆粒
	40 °C 14 天	0.2	94.8	5.0	79.9	絲狀顆粒

注：本發明中海藻糖 6%為 60mg/ml；9%為 90 mg/ml。

實施例 4：處方優化

為了進一步對海藻糖和聚山梨醇酯 20 濃度、離子強度、pH 進行優化，運用 JMP 軟體進行 DOE 實驗設計，應用 RSM 模型得到一系列處方，其中蛋白濃度為 1mg/mL。藉由溶液劑強制降解方法，以 SEC、CE-SDS(非還原)為評價指標，採用最小二乘法對結果進行統計分析，DOE 參數見表 4，試驗處方及結果見表 5、6，統計分析結果見圖 1 至圖 3。

表 4. DOE 設計因子及水準

連續因子	水準	回應
pH	5.0-6.0	40℃ 20 天，凍融 5 次 振搖(300 rpm，4℃) SEC、CE-SDS(非還原)
離子強度	10-30 mM	
海藻糖	6-9%	
聚山梨醇酯 20	0.1-0.6 mg/ml	

表 5. IL-15 蛋白質複合物 3 DOE 設計處方

編號	緩衝液	pH	離子強度(mM)	糖濃度(%)	聚山梨醇酯 20 濃度 mg/ml
01	枸橼酸-枸橼酸鈉	5	10	9	0.6
02		5	30	9	0.6
03		6	20	6	0.1
04		5.5	30	7.5	0.35
05		6	10	6	0.6
06		5.5	20	7.5	0.35
07		5.5	20	9	0.6
08		6	30	9	0.1
09		5	20	7.5	0.6
10		5	10	6	0.35
11		5.5	30	6	0.6
12		6	30	7.5	0.6
13		5	20	9	0.1
14		5	30	6	0.1
15		5.5	10	7.5	0.1
16		6	10	9	0.35

注：本發明中海藻糖 6%為 60mg/ml；9%為 90 mg/ml。其它單位換算以此類推。

表 6. DOE 處方篩選結果

編號	SEC 單體純度(%)				非還原 CE-SDS(%)			
	0 時	凍融 5 次	40℃ 20 天	振搖 15 天	0 時	凍融 5 次	40℃ 20 天	振搖 15 天
01	96.0	97.0	92.1	95.8	94.1	94.9	90.3	92.1
02	95.9	96.9	92.5	96.3	94.7	95.6	90.8	93.4
03	96.1	96.6	91.3	93.6	92.0	92.9	88.4	89.8
04	96.1	96.9	91.9	96.2	93.6	94.2	90.5	92.3
05	96.0	96.8	92.0	95.9	92.8	93.9	89.4	90.1
06	96.4	97.0	93.8	96.3	93.3	94.5	90.3	91.6
07	96.1	97.2	92.1	96.0	93.6	94.7	91.0	92.0
08	95.8	96.5	92.7	95.9	91.8	93.2	89.0	90.6
09	96.3	96.6	93.0	96.7	94.7	94.9	90.9	93.8
10	96.4	96.9	91.6	95.9	94.1	94.5	90.6	91.8
11	96.0	96.7	93.6	96.2	93.9	94.8	91.3	93.1
12	96.4	96.6	92.9	95.6	93.0	93.9	90.0	91.4
13	96.1	96.5	92.9	94.4	94.2	94.1	89.9	92.4
14	96.0	96.7	92.7	93.4	94.5	94.8	90.7	93.2
15	95.6	96.5	94.1	94.0	93.3	93.7	90.8	90.7
16	95.9	96.8	91.0	95.4	92.4	93.3	89.2	89.6

將各強制降解資料進行擬合，結果如下：

用 SEC 單體純度 0 時與振搖 15 天數據的差值(差值為負數時計為 0)進行擬合， $R^2 > 0.99$ 、 $P < 0.05$ ，模型有效，結果見第 1 圖。

用非還原 CE-SDS 純度 0 時與振搖 15d 資料的差值進

行擬合， $R^2 > 0.98$ 、 $P < 0.05$ ，模型有效，結果見第 2 圖。

其他資料，擬合無效。

為保證凍乾製劑較好的成型性及適宜的滲透壓，海藻糖濃度定為 $7.5 \pm 0.5\%$ ($75 \pm 5 \text{ mg/ml}$)；藉由檢測發現 $10 \pm 2 \text{ mM}$ 離子強度具有足夠的緩衝能力。

將海藻糖濃度定為 7.5% (75 mg/ml)，離子強度定為 10 mM ，以 pH 為橫坐標，聚山梨醇酯濃度為縱坐標，繪製振搖 SEC、非還原 CE-SDS 差值的等高線圖，結果見第 3 圖。由圖結合該蛋白質複合物的等電點可知，處方較優 pH 範圍為 pH 5.15-5.25，聚山梨醇酯濃度 $0.4 - 0.6 \text{ mg/ml}$ 。

實施例 5

IL-15 蛋白質複合物 3 以 1.0 mg/mL 配製在 10 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉 (pH 5.2)， 75 mg/mL α, α -二水合海藻糖， 0.5 mg/mL 聚山梨醇酯 20，pH 5.2 中。將蛋白以 1.1 mL/瓶 填充入 2 mL 西林瓶中，分別以 -25°C 、 -20°C 和 -15°C 的一次乾燥溫度進行凍乾，並用凍乾膠塞封口後進行檢測。結果表明，各溫度下複溶外觀均符合要求， -25°C 時凍乾外觀較好，粉餅飽滿無塌陷。

表 7. 製劑的凍乾步驟

凍乾工藝參數	設定溫度(℃)	真空度(mBar)
預凍	5	N/A
	-45	N/A
一次乾燥	-25	0.08
二次乾燥	25	0.01

實施例 6

IL-15 蛋白質複合物 3 以 1.0 mg/mL 配製在 10 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉(pH 5.2)，75 mg/mL α,α -二水合海藻糖，0.5 mg/mL 聚山梨醇酯 20，pH 5.2 中。將製劑分別填充在玻璃瓶、儲液袋和 316L 不銹鋼罐中，分別於 2-8℃、25℃ 放置 24 小時。外觀、pH、蛋白含量和純度分析表明，IL-15 蛋白質複合物 3 在 24 小時內是穩定的。該製劑與玻璃瓶、不銹鋼罐和儲液袋可以相容。

表 8. 在不同接觸材料中 IL-15 蛋白質複合物 3 的穩定性

溫度	分組	時間 (h)	外觀	pH	含量 (mg/ml)	SEC 單體純 度(%)	非還原 CE-SDS(%)
2-8℃	玻璃	0	澄明	5.28	1.043	99.83	96.4
		8	澄明	5.27	1.031	99.84	96.2
		24	澄明	5.28	1.030	99.82	96.0
	儲液袋	8	澄明	5.27	1.049	99.80	96.6
		24	澄明	5.27	1.027	99.82	96.1
	不銹鋼	8	澄明	5.27	1.046	99.82	96.6
		24	澄明	5.27	1.056	99.90	95.3
25℃	玻璃	8	澄明	5.28	1.032	99.83	96.9
		24	澄明	5.28	1.026	99.79	95.3
	儲液袋	8	澄明	5.28	1.029	99.84	97.0
		24	澄明	5.25	1.034	99.78	96.6
	不銹鋼	8	澄明	5.29	1.032	99.76	96.0
		24	澄明	5.27	1.057	99.88	95.0

實施例 7

其它可選擇醫藥組成物(製劑)或複溶溶液的配方

進一步提供的穩定的藥物製劑包含：

(1)IL-15 蛋白質複合物 3 為 5mg/ml，75 mg/ml 海藻糖，0.5 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 10 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，最終 pH 為 5.2；

(2)IL-15 蛋白質複合物 3 為 10mg/ml，75 mg/ml 海藻糖，0.5 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 10 mM 枸橼酸-枸橼

酸鈉緩衝液，最終 pH 為 5.2；

(3)IL-15 蛋白質複合物 3 為 10mg/ml，75 mg/ml 蔗糖，0.5 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 10 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，最終 pH 為 5.25；

(4)IL-15 蛋白質複合物 3 為 0.9mg/ml，60 mg/ml 海藻糖，0.1 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 20 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液(pH 為 5.0)；

(5)IL-15 蛋白質複合物 3 為 1mg/ml，75 mg/ml 海藻糖，0.5 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 10 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液(pH 為 5.2)；

(6)IL-15 蛋白質複合物 3 為 1.1mg/ml，90 mg/ml 海藻糖，0.6 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 30 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液(pH 為 5.5)；

(7)IL-15 蛋白質複合物 3 為 0.9mg/ml，60 mg/ml 海藻糖，0.1 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 20 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，最終 pH 為 5.0；

(8)IL-15 蛋白質複合物 3 為 1.1mg/ml，90 mg/ml 海藻糖，0.6 mg/ml 的聚山梨醇酯 20，和 30 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，最終 pH 為 5.5；

(9)IL-15 蛋白質複合物 3 為 0.5mg/ml，65 mg/ml 海藻糖，0.3 mg/ml 的聚山梨醇酯 20(pH 為 5.3)，和 15 mM 枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液。

【符號說明】

無

【序列表】

<110> 江蘇恆瑞醫藥股份有限公司、上海恆瑞醫藥有限公司
<120> 一種 IL-15 蛋白質複合物醫藥組成物及其用途
<130> 780054CPCT
<150> CN201710611317.2
<151> 2017-07-25
<160> 2
<170> PatentIn version 3.3
<210> 1
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-15(L52C)

<400> 1

Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
1 5 10 15
Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
20 25 30
Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
35 40 45
Val Ile Ser Cys Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
50 55 60
Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val
65 70 75 80
Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
85 90 95
Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
100 105 110
Thr Ser

<210> 2
<211> 315
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IL-15R α -Sushi+(S40C)-Fc

<400> 2

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val
1 5 10 15

Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly
 20 25 30
 Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Cys Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn
 35 40 45
 Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile
 50 55 60
 Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 65 70 75 80
 Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 85 90 95
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 100 105 110
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 115 120 125
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 130 135 140
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 145 150 155 160
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 165 170 175
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 180 185 190
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 195 200 205
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 210 215 220
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 225 230 235 240
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 245 250 255
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 260 265 270
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 275 280 285
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 290 295 300
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 305 310 315

發明摘要

【發明名稱】(中文/英文)

一種 IL-15 蛋白質複合物醫藥組成物及其用途

IL-15 PROTEIN COMPLEX PHARMACEUTICAL
COMPOSITION AND USE THEREOF

【中文】

本發明涉及一種醫藥組成物，其包含 IL-15 蛋白質複合物和枸橼酸鹽緩衝液。除此之外，該醫藥組成物還可含有糖和非離子型表面活性劑。本發明醫藥組成物儲存於 2-8℃ 數月之後仍展現了很高的穩定性。

【英文】

The present invention relates to a pharmaceutical composition comprising an IL-15 protein and a citrate buffer. In addition, the pharmaceutical composition can further comprise sugar and non-ionic surfactant. The pharmaceutical composition of the present invention exhibits high stability after being stored at 2-8°C for several months.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 1 ）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

該代表圖無元件符號及其代表之意義。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

本案無化學式。

申請專利範圍

1. 一種醫藥組成物，其包含 IL-15 蛋白質複合物，以及緩衝液，其中

該 IL-15 蛋白質複合物由 IL-15 與選自以下的任一項組成：

IL-15 受體、

含 IL-15 受體胞外區的片段、或

含 IL-15 受體胞外區融合蛋白；

該緩衝液選自枸橼酸鹽緩衝液、琥珀酸鹽緩衝液或組胺酸鹽緩衝液；

其中，在該醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為大約 1mg/ml 至 10mg/ml。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液為枸橼酸鹽緩衝液。
3. 如申請專利範圍第 2 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液為枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液。
4. 如申請專利範圍第 1 項所述的醫藥組成物，其中，在該醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為大約 1mg/ml 至 5mg/ml。
5. 如申請專利範圍第 4 項所述的醫藥組成物，其中，在該醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為大約 0.9mg/ml 至 1.1mg/ml。
6. 如申請專利範圍第 5 項所述的醫藥組成物，其中，在該醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為 1mg/ml。

7. 申請專利範圍第 1 或 2 項所述的醫藥組成物，其中，該醫藥組成物的 pH 約為 5.0 至 6.0。
8. 如申請專利範圍第 7 項所述的醫藥組成物，其中，該醫藥組成物的 pH 為大約 5.0 至 5.5。
9. 申請專利範圍第 8 項所述的醫藥組成物，其中，該醫藥組成物的 pH 為大約 5.15 至 5.25。
10. 申請專利範圍第 9 項所述的醫藥組成物，其中，該醫藥組成物的 pH 為 5.2。
11. 如申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液濃度為大約 5mM 至 30mM。
12. 如申請專利範圍第 11 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液濃度為大約 5mM 至 20mM。
13. 如申請專利範圍第 12 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液濃度為大約 10 ± 2 mM。
14. 如申請專利範圍第 13 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液濃度為 10mM。
15. 如申請專利範圍第 11 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液的 pH 約為 5.0 至 6.0。
16. 如申請專利範圍第 15 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液的 pH 為大約 5.0 至 5.5。
17. 如申請專利範圍第 16 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液的 pH 為大約 5.15 至 5.25。
18. 如申請專利範圍第 17 項所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液的 pH 為 5.2。

19. 如申請專利範圍第 1 至 11 項中任一項所述的醫藥組成物，其中，還包括二糖。
20. 如申請專利範圍第 19 項所述的醫藥組成物，其中，該二糖選自海藻糖或蔗糖。
21. 如申請專利範圍第 20 項所述的醫藥組成物，其中，該二糖為海藻糖。
22. 如申請專利範圍第 19 項所述的醫藥組成物，其中該二糖濃度為大約 60mg/ml 至 90mg/ml。
23. 如申請專利範圍第 22 項所述的醫藥組成物，其中該二糖濃度為大約 75 ± 5 mg/ml。
24. 如申請專利範圍第 23 項所述的醫藥組成物，其中該二糖濃度為 75mg/ml。
25. 如申請專利範圍第 1 至 22 項中任一項所述的醫藥組成物，其中，還包括表面活性劑。
26. 如申請專利範圍第 25 項所述的醫藥組成物，其中，該表面活性劑為聚山梨醇酯。
27. 如申請專利範圍第 26 項所述的醫藥組成物，其中，該表面活性劑為聚山梨醇酯 20。
28. 如申請專利範圍第 25 項所述的醫藥組成物，其中，表面活性劑的濃度為大約 0.1mg/ml 至 0.6mg/ml。
29. 如申請專利範圍第 28 項所述的醫藥組成物，其中，表面活性劑的濃度為大約 0.4mg/ml 至 0.6mg/ml。
30. 如申請專利範圍第 29 項所述的醫藥組成物，其中，表面活性劑的濃度為 0.5mg/ml。

31. 如申請專利範圍第 1 至 30 項中任一項所述的醫藥組成物，其中包含：
(a) 1 至 10mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物，(b) 5 至 30mM 的枸橼酸鹽緩衝液，(c) 60 至 90mg/ml 的海藻糖，和 (d) 0.1 至 0.6mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物的 pH 約為 5.0 至 6.0。
32. 如申請專利範圍第 31 項所述的醫藥組成物，其中，該醫藥組成物包含：(a) 1mg/ml 的 IL-15 蛋白質複合物，(b) 10 ± 2 mM 的枸橼酸鹽緩衝液，(c) 75 ± 5 mg/ml 的海藻糖，和 (d) 0.4 至 0.6mg/ml 的聚山梨醇酯 20，該醫藥組成物醫藥組成物的 pH 約為 5.15 至 5.25。
33. 如申請專利範圍第 1 至 31 項中任一項所述的醫藥組成物，其中，該 IL-15 蛋白質複合物由與 SEQ ID NO: 1 所示多肽具有至少 95% 的序列同一性的 IL-15 和與 SEQ ID NO: 2 所示多肽具有至少 95% 的序列同一性的 IL-15 受體融合蛋白組成。
34. 如申請專利範圍第 1 至 31 項中任一項所述的醫藥組成物，其中，該 IL-15 蛋白質複合物由 SEQ ID NO: 1 所示的 IL-15 和 SEQ ID NO: 2 所示的 IL-15 受體融合蛋白組成。
35. 一種製備申請專利範圍第 1 至 34 項中任一項所述的醫藥組成物的方法，其中，該方法包括將 IL-15 蛋白質複合物與緩衝液混合配製步驟，
其中，在醫藥組成物中，該 IL-15 蛋白質複合物濃

度為大約 1mg/ml 至 10mg/ml。

36. 如申請專利範圍第 35 項所述的方法，其中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為大約 1mg/ml 至 5mg/ml。

37. 如申請專利範圍第 36 項所述的方法，其中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為 0.9mg/ml 至 1.1mg/ml。

38. 如申請專利範圍第 37 項所述的方法，其中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為 1mg/ml。

39. 如申請專利範圍第 35 項所述的方法，其中

該緩衝液為枸橼酸鹽緩衝液，

該緩衝液濃度約為 5mM 至 30mM，

該緩衝液 pH 約為 5.0 至 6.0。

40. 如申請專利範圍第 39 項所述的方法，其中，該緩衝液濃度約為 10 至 20mM。

41. 如申請專利範圍第 39 項所述的方法，其中，該緩衝液 pH 約為 5.0 至 5.5。

42. 如申請專利範圍第 41 項所述的方法，其中，該緩衝液 pH 為大約 5.15 至 5.25。

43. 如申請專利範圍第 42 項所述的方法，其中，該緩衝液 pH 為 5.2。

44. 如申請專利範圍第 35 項所述的方法，其中，該 IL-15 蛋白質複合物由 IL-15 與選自以下的任一項組成：

IL-15 受體、

含 IL-15 受體胞外區的片段、或

含 IL-15 受體胞外區融合蛋白。

45. 如申請專利範圍第 44 項所述的方法，其中，該 IL-15 蛋白質複合物由與 SEQ ID NO: 1 所示多肽具有至少 95% 的序列同一性的 IL-15 和與 SEQ ID NO: 2 所示多肽具有至少 95% 的序列同一性的 IL-15 受體融合蛋白組成。
46. 如申請專利範圍第 45 項所述的方法，其中，該 IL-15 蛋白質複合物由 SEQ ID NO:1 所示的 IL-15 和 SEQ ID NO:2 所示的 IL-15 受體融合蛋白組成。
47. 如申請專利範圍第 35 至 46 項中任一項所述的方法，其還包括加入海藻糖和聚山梨醇酯 20 的步驟，
該海藻糖濃度約為 60mg/ml 至 90mg/ml，
該聚山梨醇酯 20 為大約 0.1mg/ml 至 0.6mg/ml。
48. 如申請專利範圍第 47 項所述的方法，其中，該海藻糖濃度約為 75 ± 5 mg/ml。
49. 如申請專利範圍第 48 項所述的方法，其中，該海藻糖濃度為 75mg/ml。
50. 如申請專利範圍第 47 項所述的方法，其中，該聚山梨醇酯 20 約為 0.4 至 0.6mg/ml。
51. 如申請專利範圍第 50 項所述的方法，其中，該聚山梨醇酯 20 為 0.5mg/ml。
52. 一種凍乾製劑，其特徵在於該凍乾製劑複溶後可形成申請專利範圍第 1 至 34 項中任一項所述的醫藥組成物。
53. 一種製備含 IL-15 蛋白質複合物的凍乾製劑的方法，其中包括將申請專利範圍第 1 至 34 項中任一項所述的醫

藥組成物經冷凍乾燥的步驟。

54. 如申請專利範圍第 53 項所述的製備含 IL-15 蛋白質複合物的凍乾製劑的方法，其中該冷凍乾燥包括依次的預凍、一次乾燥和二次乾燥的步驟。
55. 一種由申請專利範圍第 53 或 54 項所述的方法製備的含 IL-15 蛋白質複合物的凍乾製劑。
56. 一種製備含有 IL-15 蛋白質複合物的複溶溶液的方法，其中包括將申請專利範圍第 55 項所述的凍乾製劑經複溶的步驟，其中，複溶所用溶劑為注射用水。
57. 一種由申請專利範圍第 56 項所述的方法製備的含有 IL-15 蛋白質複合物的複溶溶液。
58. 如申請專利範圍第 57 項所述的複溶溶液，其中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為大約 0.9mg/ml 至 1.1mg/ml。
59. 如申請專利範圍第 58 項所述的複溶溶液，其中，該 IL-15 蛋白質複合物濃度為大約 1mg/ml。
60. 如申請專利範圍第 57 項所述的複溶溶液，其中，該複溶溶液的 pH 約為 5.0 至 6.0。
61. 如申請專利範圍第 60 項所述的複溶溶液，其中，該複溶溶液的 pH 為大約 5.0 至 5.5。
62. 如申請專利範圍第 61 項所述的複溶溶液，其中，該複溶溶液的 pH 為大約 5.15 至 5.25。
63. 如申請專利範圍第 62 項所述的複溶溶液，其中，該複溶溶液的 pH 為 5.2。
64. 如申請專利範圍第 57 項所述的複溶溶液，其中，包含

枸橼酸-枸橼酸鈉緩衝液，該緩衝液濃度為大約 5mM 至 30mM。

65. 如申請專利範圍第 64 項所述的複溶溶液，其中，該緩衝液濃度為大約 10mM 至 20mM。
66. 如申請專利範圍第 65 項所述的複溶溶液，其中，該緩衝液濃度為 10mM。
67. 如申請專利範圍第 57 項所述的複溶溶液，其中，還包括二糖。
68. 如申請專利範圍第 67 項所述的複溶溶液，其中，該二糖選自海藻糖或蔗糖。
69. 如申請專利範圍第 68 項所述的複溶溶液，其中，該二糖為海藻糖。
70. 如申請專利範圍第 67 項所述的複溶溶液，其中，該二糖濃度為大約 60mg/ml 至 90mg/ml。
71. 如申請專利範圍第 70 項所述的複溶溶液，其中，該二糖濃度為大約 75 ± 5 mg/ml。
72. 如申請專利範圍 71 項所述的複溶溶液，其中，該二糖濃度為 75mg/ml。
73. 如申請專利範圍第 57 項所述的複溶溶液，其中，還包括表面活性劑，該表面活性劑。
74. 如申請專利範圍第 73 項所述的複溶溶液，其中，該表面活性劑為聚山梨醇酯。
75. 如申請專利範圍第 74 項所述的複溶溶液，其中，該表面活性劑為聚山梨醇酯 20。

76. 如申請專利範圍第 73 項所述的複溶溶液，其中，該表面活性劑的濃度為大約 0.1mg/ml 至 0.6mg/ml。
77. 如申請專利範圍第 76 項所述的複溶溶液，其中，該表面活性劑的濃度為大約 0.4mg/ml 至 0.6mg/ml。
78. 如申請專利範圍第 77 項所述的複溶溶液，其中，該表面活性劑的濃度為 0.5mg/ml。
79. 一種申請專利範圍第 1 至 34 項中任一項所述的醫藥組成物或申請專利範圍第 52 或 55 項所述的凍乾製劑或申請專利範圍第 57 至 78 項中任一項所述的複溶溶液的用途，其用在製備用於治療 IL-15 相關的疾病或病症的藥物。
80. 一種申請專利範圍第 1 至 34 項中任一項所述的醫藥組成物或申請專利範圍第 52 或 55 項所述的凍乾製劑或申請專利範圍第 57 至 78 項中任一項所述的複溶溶液的用途，其用在製備用於治療選自傳染病、癌症、血液病、炎症疾病和自身免疫性的疾病或病症的藥物。
81. 如申請專利範圍第 80 項所述的用途，其中，該癌症為黑色素瘤、結直腸癌、皮膚癌、淋巴瘤、腎細胞癌、肝癌、肺癌、胃癌或乳腺癌。
82. 如申請專利範圍第 80 項所述的用途，其中，該傳染病為天花病毒感染、HIV 感染、細菌感染、真菌感染或 HBV 感染。
83. 如申請專利範圍第 80 項所述的用途，其中，該血液病為貧血、急性髓系白血病、骨髓增生異常綜合症或 T-

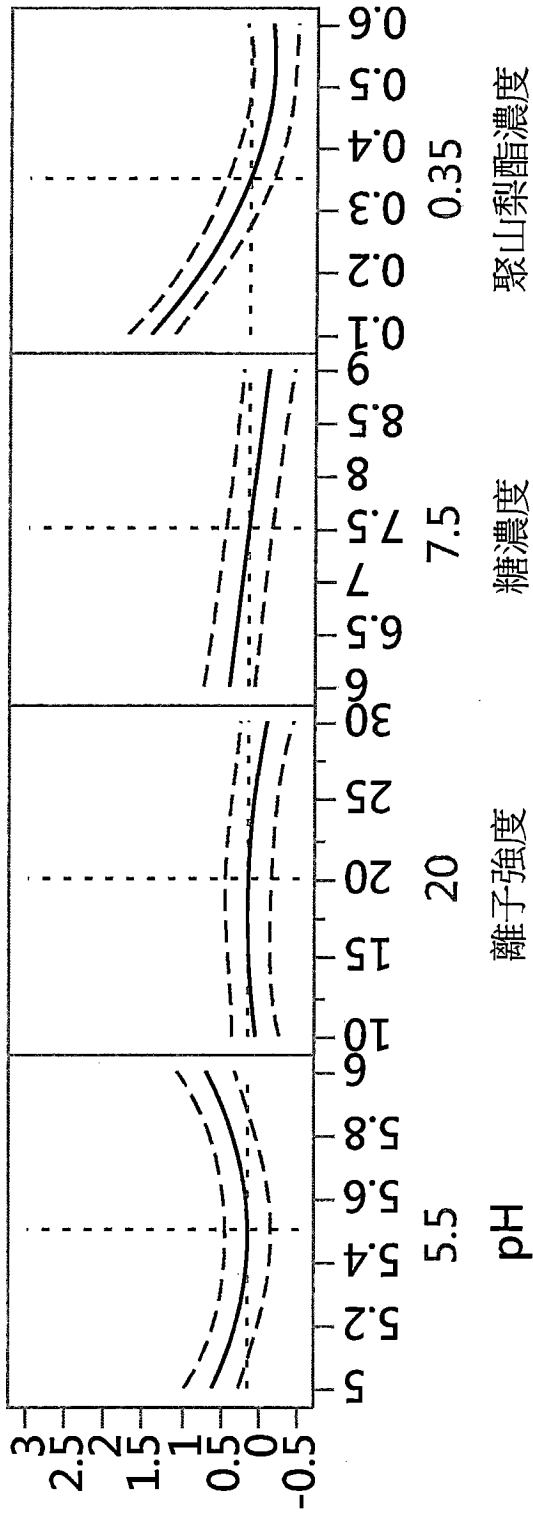
細胞大顆粒淋巴細胞性白血病。

84. 如申請專利範圍第 80 項所述的用途，其中，該自身免疫性疾病為多發性硬化症、銀屑病、風濕性關節炎、胃炎或黏膜炎。
85. 如申請專利範圍第 79 或 80 項所述的用途，其中，該醫藥組成物或凍乾製劑或複溶溶液與小分子抑制劑或抗體類藥物聯合使用。
86. 如申請專利範圍第 85 項所述的用途，其中，該小分子抑制劑為靶向化療藥物或放射治療藥物。
87. 如申請專利範圍第 87 項所述的用途，其中，該小分子抑制劑為烷化劑。
88. 如申請專利範圍第 85 項所述的用途，其中，該抗體類藥物為單株抗體藥物。
89. 如申請專利範圍第 88 項所述的用途，其中，該抗體類藥物為抗 CD20、抗 PD1、抗 PDL1、抗 Her2、抗 EGFR、抗 c-MET 抗體。
90. 一種申請專利範圍第 1 至 34 項中任一項所述的醫藥組成物醫藥組成物、或申請專利範圍第 52 或 55 項所述的凍乾製劑或申請專利範圍第 57 至 78 項中任一項所述的複溶溶液的用途，其用在製備細胞免疫治療的藥物，該細胞免疫治療是選自樹突細胞免疫治療、細胞因子誘導殺傷細胞免疫治療、樹突細胞-細胞因子誘導的殺傷細胞免疫治療、增強的細胞因子誘導的殺傷細胞免疫治療、自然殺傷細胞免疫治療、聯合抗原刺激 T 細胞免疫治

療、雙特異性抗原結合 T 細胞免疫療法、T 細胞受體編輯的 T 細胞免疫治療或嵌合抗原受體 T 細胞免疫治療的腫瘤細胞免疫治療。

91. 一種製品，其包括容器，該容器中裝有申請專利範圍第 1 至 34 項中任一項所述的醫藥組成物或申請專利範圍第 52 或 55 所述的凍乾製劑或申請專利範圍第 57 至 78 項中任一項所述的複溶溶液。

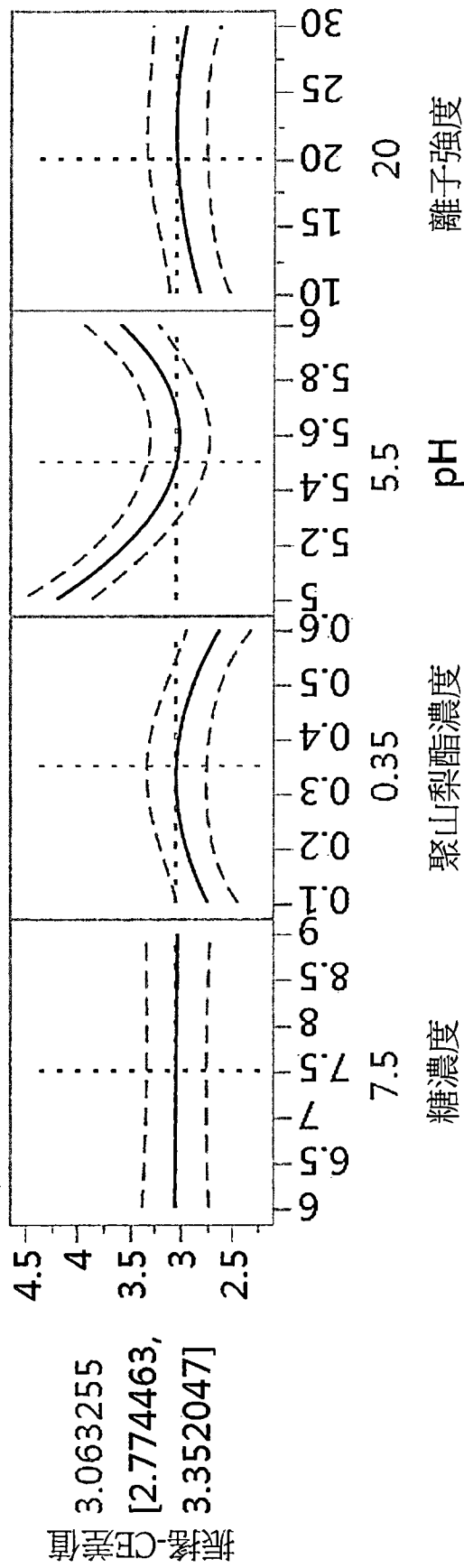
振搖SEC差值
0.161984
[-0.13798,
0.461949]



【發明圖式】

【第1圖】

7
.



【第2圖】

