



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119403542 A

(43) 申请公布日 2025. 02. 07

(21) 申请号 202380043717.1

(22) 申请日 2023.04.28

(30) 优先权数据

63/336,743 2022.04.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.11.28

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/066395 2023.04.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/212721 EN 2023.11.02

(71) 申请人 伊勒卓菲公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 P·布朗 D·B·达顿

J·W·艾维 M·赫瓦佳 L·刘

J·希弗斯泰因 S·沙德巴尔

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平

(51) Int.Cl.

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

权利要求书15页 说明书65页 附图16页

(54) 发明名称

可注射悬浮液

(57) 摘要

本公开提供了治疗生物制品的高浓度可注射颗粒悬浮液,所述可注射颗粒悬浮液允许在不需要重悬的情况下施用。具体地,本文所公开的组合物是高度浓缩的低体积可注射颗粒悬浮液,所述可注射颗粒悬浮液在施用前不需要手动预混合或重悬。

1. 一种药学上有效的组合物,其包含:
悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中基本上所有的所述颗粒包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及
絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且
其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。
2. 根据权利要求1所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒包含至少一种治疗生物制品。
3. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中所述絮凝剂是离子的。
4. 根据权利要求3所述的组合物,其中所述离子絮凝剂是硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠、硬脂酸钠、十六烷基三甲基溴化铵、卵磷脂或其组合。
5. 根据权利要求1或2所述的组合物,其中所述絮凝剂是非离子的。
6. 根据权利要求5所述的组合物,其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯、烷基酚乙氧基化物、甘油、聚氧乙烯蓖麻油、多库酯、癸基葡萄糖苷、壬苯醇醚-9、脱水山梨糖醇酯、单油酸脱水山梨糖醇酯、乙醇胺、聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、卡波姆(carbomer) 1342、玉米油-单-二-甘油三酯、聚氧乙烯化油酸甘油酯、泊洛沙姆(poloxamer)或其组合。
7. 根据权利要求5所述的组合物,其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯、烷基酚乙氧基化物、脱水山梨糖醇酯、泊洛沙姆或其组合。
8. 根据权利要求5所述的组合物,其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯或脱水山梨糖醇酯。
9. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约10mg/mL。
10. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物在混合后的絮凝体积大于约60%。
11. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在低于约40°C的容器封闭储存条件下至少一个月后,所述絮凝体积减少小于约10%。
12. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在低于约40°C的容器封闭储存条件下,所述组合物的絮凝体积在至少一个月内基本上相同。
13. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在低于约40°C的容器封闭储存条件下,所述多个颗粒和絮凝剂保持基本上悬浮在所述液体载体中至少一个月。
14. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的聚集小于约10%。
15. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的任何聚集。
16. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的碎裂小于约10%。
17. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的任何碎裂。
18. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的电荷变体的变化小于约5%。

19. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的电荷变体的任何变化。

20. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒的圆形度为约0.80至约1.00。

21. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒的圆形度为约1.00。

22. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒的水分小于约7重量%。

23. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒的内部空隙空间小于约10%。

24. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有任何内部空隙空间。

25. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒具有大于约60重量%的治疗生物制品。

26. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含碳水化合物、pH调节剂、盐、螯合剂、表面活性剂、蛋白质稳定剂、乳化剂、抗菌剂、氨基酸、抗氧化剂、尼泊金酯(paraben)、杀菌剂、杀真菌剂、防腐剂或其组合。

27. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述碳水化合物是葡聚糖、海藻糖、蔗糖、琼脂糖、甘露醇、乳糖、山梨糖醇、麦芽糖或其组合。

28. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述pH调节剂是乙酸盐、柠檬酸盐、谷氨酸盐、甘氨酸盐、组氨酸、乳酸盐、马来酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、碳酸氢盐、氢氧化铝、磷酸、盐酸、DL-乳酸/乙醇酸、磷酸乙醇胺、氨丁三醇、咪唑、双甘氨酸、谷氨酸单钠、氢氧化钠、氢氧化钾或其组合。

29. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述盐是氯化钠、氯化钙、氯化钾、氢氧化钠、氯化亚锡、硫酸镁、葡庚糖酸钠、高锗酸钠、盐酸胍、氢氧化钾、氯化镁、硝酸钾或其组合。

30. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述螯合剂是依地酸二钠、乙二胺四乙酸、喷替酸或其组合。

31. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述表面活性剂是脱水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯、泊洛沙姆、聚乙二醇叔辛基苯基醚、卵磷脂、硬脂酸钠、硬脂酸镁或其组合。

32. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述蛋白质稳定剂是海藻糖、聚乙二醇(PEG)、泊洛沙姆、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酸、聚(乙烯基)聚合物、聚酯、聚醛、叔聚合物、聚氨基酸、羟乙基淀粉、N-甲基-2-吡咯烷酮、山梨糖醇、蔗糖、甘露醇、环糊精、羟丙基 β -环糊精、磺丁基醚 β -环糊精、甲基 β -环糊精、乙酰色氨酸酯、辛酸酯、N-乙酰色氨酸、丙二醇、葡萄糖星形聚合物、硅酮聚合物、聚二甲基硅氧烷、羧甲基纤维素、聚(乙醇酸)、聚(乳酸-共-乙醇酸)、聚乳酸、聚己内酯(PCL)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚蔗糖、葡聚糖或其组合。

33. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述乳化剂是聚山梨醇酯、单油酸脱水山梨糖醇酯、乙醇胺、聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、卡波姆1342、玉米油-单-二-甘油三酯、聚氧乙烯化油酸甘油酯、泊洛沙姆或其组合。

34. 根据权利要求26所述的组合物, 其中所述抗菌剂是苯酚、间甲酚、苯甲醇、2-苯氧乙

醇、氯丁醇、新霉素(neomycin)、苄索氯铵、戊二醛、 β -丙内酯或其组合。

35. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述氨基酸是丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、谷氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、吡咯赖氨酸、丝氨酸、硒代半胱氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、精氨酸、组氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸或其组合。

36. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述抗氧化剂是谷胱甘肽、抗坏血酸、半胱氨酸、N-乙酰基-L-色氨酸盐、生育酚、组氨酸、甲硫氨酸、喷替酸或其组合。

37. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述尼泊金酯是对羟基苯甲酸酯。

38. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述杀菌剂是苯扎氯铵。

39. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述杀真菌剂是阿拉酸式苯、2-苯基苯酚、敌菌灵(anilazine)、香芹酮、纳他霉素(natamycin)、叠氮化钾或其组合。

40. 根据权利要求26所述的组合物,其中所述防腐剂是硝酸钠、二氧化硫、山梨酸钾、山梨酸钠、苯甲酸钠、苯甲酸、羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞、尼泊金酯、甲醛、蓖麻油或其组合。

41. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种碳水化合物和氨基酸。

42. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种表面活性剂和氨基酸。

43. 根据权利要求1至25中任一项所述的组合物,其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种氨基酸。

44. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述治疗生物制品是抗体或其片段。

45. 根据权利要求44所述的组合物,其中所述抗体是人抗体。

46. 根据权利要求45所述的组合物,其中所述人抗体是IgG抗体。

47. 根据权利要求44至46中任一项所述的组合物,其中所述抗体是单克隆抗体。

48. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述液体载体是非水性的。

49. 根据权利要求48所述的组合物,其中所述非水性液体载体是有机溶剂。

50. 根据权利要求49所述的组合物,其中所述有机溶剂包含苯甲酸苄酯、椰子油、棉籽油、鱼油、葡萄籽油、榛子油、氢化植物油、橄榄油、棕榈籽油、花生油、薄荷油、红花油、芝麻油、大豆油、葵花油、核桃油、玉米油、丙酮、乙酸乙酯、乳酸乙酯、二甲基乙酰胺、异山梨醇二甲酯、二甲亚砜、糖原质、二甘醇二甲醚、甲基叔丁基醚、N-甲基吡咯烷酮、全氟萘烷、聚乙二醇、2-吡咯烷酮、四氢糠醇、甘油二酯、甘油三酯、中链甘油三酯(MCT)、己酸、辛酸、癸酸、月桂酸、月桂醇乙酯、分级分离的植物脂肪酸C8和C10的甘油三酯、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、油酸乙酯、癸酸乙酯、己二酸二丁酯、脂肪酸酯、己酸、辛酸、三醋精、二乙二醇单醚、 γ -丁内酯、丁香酚、丁香花蕾油、柠檬醛、柠檬烯、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、聚氧乙烯35蓖麻油、简单醇,如乙醇、辛醇、己醇、癸醇、丙醇、丁醇, γ -丁内酯、生育酚、八氟丙烷、(全氟己基)辛烷、n-乙酰色氨酸、月桂酸乙酯、辛酸甲酯、辛酸乙酯、癸酸甲酯、肉豆蔻酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、己二酸二甲酯、辛二酸二丁酯、癸二酸二乙酯、澳洲坚果油酸乙酯、三羟甲基丙烷三异硬脂酸酯、月桂酸异丙酯、肉豆蔻酸异丙酯、琥珀酸二乙酯、聚山梨醇酯、乙醇胺、丙酸、柠檬醛、茴香醚、茴香脑、苯甲醛、芳樟醇、己内酯、苯酚、硫代甘油、二甲基乙酰胺、二甘醇单乙醚、丙酮缩甘油、异山梨醇二甲醚、甲酸乙酯、乙酸乙基己酯、丙二醇

二辛酸酯、辛酸甘油三酯、亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯或其组合。

51. 根据权利要求50所述的组合物,其中所述有机溶剂是油酸乙酯、甘油二酯、甘油三酯、澳洲坚果油酸乙酯、癸酸乙酯、琥珀酸二乙酯、二甘醇单乙醚、丙二醇二辛酸酯、辛酸甘油三酯、亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯、中链甘油三酯(MCT)、芝麻油、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、三醋精或其组合。

52. 根据权利要求50所述的组合物,其中所述有机溶剂是油酸乙酯、辛酸乙酯、丙二醇二辛酸酯、甘油二酯、甘油三酯、芝麻油、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、三醋精或其组合。

53. 根据权利要求48所述的组合物,其中所述非水性液体载体包含至少两种有机溶剂。

54. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物中的所述治疗生物制品的浓度大于约400mg/mL。

55. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物的粘度小于约100mPa·s。

56. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物基本上不含可见颗粒(VP)。

57. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约100,000,000/mL。

58. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约6000/mL。

59. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物的特性大小大于约25 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约600/mL。

60. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物基本上不含不溶性亚可见颗粒(SvP)。

61. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述水性液体是水、水性缓冲液或生理相关的水性液体。

62. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比,所述组合物的免疫原性基本上相似。

63. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物是基本上非免疫原性的。

64. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比,所述组合物的毒性基本上相似。

65. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物是基本上无毒的。

66. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比,所述组合物的药代动力学(PK)有所改进。

67. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比,所述组合物的所述治疗生物制品的稳定性有所改进。

68. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其中所述组合物中的所述治疗生物制品稳定至少一个月。

69. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品稳定至少三个月。

70. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品在40℃下稳定至少三个月。

71. 一种治疗有需要的受试者的疾病或病状的方法, 所述方法包含向所述受试者施用药学上有效量的组合物, 所述组合物包含:

悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒, 其中基本上所有的所述颗粒包含至少一种治疗生物制品或其盐; 以及

絮凝剂, 其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL; 并且

其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

72. 根据权利要求71所述的方法, 其中所述疾病或病状是癌症、炎性疾病或免疫性疾病。

73. 根据权利要求71所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒包含至少一种治疗生物制品。

74. 根据权利要求71所述的方法, 其中所述絮凝剂是离子的。

75. 根据权利要求74所述的方法, 其中所述离子絮凝剂是硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠、硬脂酸钠、十六烷基三甲基溴化铵、卵磷脂或其组合。

76. 根据权利要求71所述的方法, 其中所述絮凝剂是非离子的。

77. 根据权利要求76所述的方法, 其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯、烷基酚乙氧基化物、甘油、聚氧乙烯蓖麻油、多库酯、癸基葡萄糖苷、壬苯醇醚-9、脱水山梨糖醇酯、单油酸脱水山梨糖醇酯、乙醇胺、聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、卡波姆1342、玉米油-单-二-甘油三酯、聚氧乙烯化油酸甘油酯、泊洛沙姆或其组合。

78. 根据权利要求76所述的方法, 其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯、烷基酚乙氧基化物、脱水山梨糖醇酯、泊洛沙姆或其组合。

79. 根据权利要求76所述的方法, 其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯或脱水山梨糖醇酯。

80. 根据权利要求71至79中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约10mg/mL。

81. 根据权利要求71至80中任一项所述的方法, 其中所述组合物在初始混合后的絮凝体积大于约60%。

82. 根据权利要求71至81中任一项所述的方法, 其中在低于约40℃的容器封闭储存条件下至少一个月后, 所述絮凝体积减少小于约10%。

83. 根据权利要求71至82中任一项所述的方法, 其中在低于约40℃的容器封闭储存条件下, 所述组合物的絮凝体积在至少一个月内基本上相同。

84. 根据权利要求71至83中任一项所述的方法, 其中在低于约40℃的容器封闭储存条件下, 所述多个颗粒和絮凝剂保持基本上悬浮在所述液体载体中至少一个月。

85. 根据权利要求71至84中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的聚集小于约10%。

86. 根据权利要求71至85中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没

有所述治疗生物制品的任何聚集。

87. 根据权利要求71至86中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的碎裂小于约10%。

88. 根据权利要求71至87中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的任何碎裂。

89. 根据权利要求71至88中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的电荷变体的变化小于约5%。

90. 根据权利要求71至89中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的电荷变体的任何变化。

91. 根据权利要求71至90中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的圆形成度为约0.80至约1.00。

92. 根据权利要求71至91中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的圆形成度为约1.00。

93. 根据权利要求71至92中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的水分小于约7重量%。

94. 根据权利要求71至93中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的内部空隙空间小于约10%。

95. 根据权利要求71至94中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有任何内部空隙空间。

96. 根据权利要求71至95中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒具有大于约60重量%的治疗生物制品。

97. 根据权利要求71至96中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含碳水化合物、pH调节剂、盐、螯合剂、表面活性剂、蛋白质稳定剂、乳化剂、抗菌剂、氨基酸、抗氧化剂、尼泊金酯、杀菌剂、杀真菌剂、防腐剂或其组合。

98. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述碳水化合物是葡聚糖、海藻糖、蔗糖、琼脂糖、甘露醇、乳糖、山梨糖醇、麦芽糖或其组合。

99. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述pH调节剂是乙酸盐、柠檬酸盐、谷氨酸盐、甘氨酸盐、组氨酸、乳酸盐、马来酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、碳酸氢盐、氢氧化铝、磷酸、盐酸、DL-乳酸/乙醇酸、磷酸乙醇胺、氨丁三醇、咪唑、双甘氨酸、谷氨酸单钠、氢氧化钠、氢氧化钾或其组合。

100. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述盐是氯化钠、氯化钙、氯化钾、氢氧化钠、氯化亚锡、硫酸镁、葡庚糖酸钠、高锝酸钠、盐酸胍、氢氧化钾、氯化镁、硝酸钾或其组合。

101. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述螯合剂是依地酸二钠、乙二胺四乙酸、喷替酸或其组合。

102. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述表面活性剂是脱水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯、泊洛沙姆、聚乙二醇叔辛基苯基醚、卵磷脂、硬脂酸钠、硬脂酸镁或其组合。

103. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述蛋白质稳定剂是海藻糖、聚乙二醇(PEG)、泊洛沙姆、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酸、聚(乙烯基)聚合物、聚酯、聚醛、叔聚合物、聚氨基酸、羟乙基淀粉、N-甲基-2-吡咯烷酮、山梨糖醇、蔗糖、甘露醇、环糊精、羟丙基 β -环糊精、磺

丁基醚 β -环糊精、乙酰色氨酸酯、甲基 β -环糊精、辛酸酯、N-乙酰色氨酸、丙二醇、葡萄糖星形聚合物、硅酮聚合物、聚二甲基硅氧烷、羧甲基纤维素、聚(乙醇酸)、聚(乳酸-共-乙醇酸)、聚乳酸、聚己内酯(PCL)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚蔗糖、葡聚糖或其组合。

104. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述乳化剂是聚山梨醇酯、单油酸脱水山梨糖醇酯、乙醇胺、聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、卡波姆1342、玉米油-单-二-甘油三酯、聚氧乙烯化油酸甘油酯、泊洛沙姆或其组合。

105. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述抗菌剂是苯酚、间甲酚、苯甲醇、2-苯氧乙醇、氯丁醇、新霉素、苄索氯铵、戊二醛、 β -丙内酯或其组合。

106. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述氨基酸是丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、谷氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、吡咯赖氨酸、丝氨酸、硒代半胱氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、精氨酸、组氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸或其组合。

107. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述抗氧化剂是谷胱甘肽、抗坏血酸、半胱氨酸、N-乙酰基-L-色氨酸盐、生育酚、组氨酸、甲硫氨酸、喷替酸或其组合。

108. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述尼泊金酯是对羟基苯甲酸酯。

109. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述杀菌剂是苯扎氯铵。

110. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述杀真菌剂是阿拉酸式苯、2-苯基苯酚、敌菌灵、香芹酮、纳他霉素、叠氮化钾或其组合。

111. 根据权利要求97所述的方法, 其中所述防腐剂是硝酸钠、二氧化硫、山梨酸钾、山梨酸钠、苯甲酸钠、苯甲酸、羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞、尼泊金酯、甲醛、蓖麻油或其组合。

112. 根据权利要求97所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种碳水化合物和氨基酸。

113. 根据权利要求97所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种表面活性剂和氨基酸。

114. 根据权利要求97所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种氨基酸。

115. 根据权利要求71至114中任一项所述的方法, 其中所述治疗生物制品是抗体或其片段。

116. 根据权利要求115所述的方法, 其中所述抗体是人抗体。

117. 根据权利要求116所述的方法, 其中所述人抗体是IgG抗体。

118. 根据权利要求115所述的方法, 其中所述抗体是单克隆抗体。

119. 根据权利要求71至118中任一项所述的方法, 其中所述液体载体是非水性的。

120. 根据权利要求119所述的方法, 其中所述非水性液体载体是有机溶剂。

121. 根据权利要求120所述的方法, 其中所述有机溶剂包含苯甲酸苄酯、椰子油、棉籽油、鱼油、葡萄籽油、榛子油、氢化植物油、橄榄油、棕榈籽油、花生油、薄荷油、红花油、芝麻油、大豆油、葵花油、核桃油、玉米油、丙酮、乙酸乙酯、乳酸乙酯、二甲基乙酰胺、异山梨醇二甲酯、二甲亚砜、糖原质、二甘醇二甲醚、甲基叔丁基醚、N-甲基吡咯烷酮、全氟萘烷、聚乙二醇、2-吡咯烷酮、四氢糠醇、甘油二酯、甘油三酯、中链甘油三酯(MCT)、己酸、辛酸、癩酸、月桂酸、月桂醇乙酯、分级分离的植物脂肪酸C8和C10的甘油三酯、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、油酸乙酯、癩酸乙酯、己二酸二丁酯、脂肪酸酯、己酸、辛酸、三醋精、二乙

二醇单醚、 γ -丁内酯、丁香酚、丁香花蕾油、柠檬醛、柠檬烯、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、聚氧乙烯35蓖麻油、简单醇,如乙醇、辛醇、己醇、癸醇、丙醇、丁醇, γ -丁内酯、生育酚、八氟丙烷、(全氟己基)辛烷、n-乙酰色氨酸、月桂酸乙酯、辛酸甲酯、辛酸乙酯、癸酸甲酯、肉豆蔻酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、己二酸二甲酯、辛二酸二丁酯、癸二酸二乙酯、澳洲坚果油酸乙酯、三羟甲基丙烷三异硬脂酸酯、月桂酸异丙酯、肉豆蔻酸异丙酯、琥珀酸二乙酯、聚山梨醇酯、乙醇胺、丙酸、柠檬醛、茴香醚、茴香脑、苯甲醛、芳樟醇、己内酯、苯酚、硫代甘油、二甲基乙酰胺、二甘醇单乙醚、丙酮缩甘油、异山梨醇二甲醚、甲酸乙酯、乙酸乙基己酯、丙二醇二辛酸酯、辛酸甘油三酯、亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯或其组合。

122. 根据权利要求120所述的方法,其中所述有机溶剂是油酸乙酯、甘油二酯、甘油三酯、澳洲坚果油酸乙酯、癸酸乙酯、琥珀酸二乙酯、二甘醇单乙醚、丙二醇二辛酸酯、辛酸甘油三酯、亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯、中链甘油三酯(MCT)、芝麻油、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、三醋精或其组合。

123. 根据权利要求120所述的方法,其中所述有机溶剂是油酸乙酯、辛酸乙酯、丙二醇二辛酸酯、甘油二酯、甘油三酯、芝麻油、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、三醋精或其组合。

124. 根据权利要求119所述的方法,其中所述非水性液体载体包含至少两种有机溶剂。

125. 根据权利要求71至124中任一项所述的方法,其中所述组合物的所述治疗生物制品的浓度大于约400mg/mL。

126. 根据权利要求71至125中任一项所述的方法,其中所述组合物的粘度小于约100mPa·s。

127. 根据权利要求71至126中任一项所述的方法,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物基本上不含可见颗粒(VP)。

128. 根据权利要求71至127中任一项所述的方法,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约100,000,000/mL。

129. 根据权利要求71至128中任一项所述的方法,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约6000/mL。

130. 根据权利要求71至129中任一项所述的方法,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物的特性大小大于约25 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约600/mL。

131. 根据权利要求71至130中任一项所述的方法,其中在溶解于水性液体中时,所述组合物基本上不含不溶性亚可见颗粒(SvP)。

132. 根据权利要求71至131中任一项所述的方法,其中所述水性液体是水、水性缓冲液或生理相关的水性液体。

133. 根据权利要求71至132中任一项所述的方法,其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比,所述组合物的免疫原性基本上相似。

134. 根据权利要求71至133中任一项所述的方法,其中所述组合物是基本上非免疫原性的。

135. 根据权利要求71至134中任一项所述的方法,其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比,所述组合物的毒性基本上相似。

136. 根据权利要求71至135中任一项所述的方法, 其中所述组合物是基本上无毒的。
137. 根据权利要求71至136中任一项所述的方法, 其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比, 所述组合物的药代动力学(PK)有所改进。
138. 根据权利要求71至137中任一项所述的方法, 其中所述方法进一步包含施用至少一种透明质酸降解剂。
139. 根据权利要求138所述的方法, 其中所述透明质酸降解剂是透明质酸酶。
140. 根据权利要求139所述的方法, 其中所述透明质酸酶是可溶性中性活性透明质酸酶。
141. 根据权利要求139所述的方法, 其中所述透明质酸酶是哺乳动物透明质酸酶。
142. 根据权利要求141所述的方法, 其中所述哺乳动物透明质酸酶是人透明质酸酶。
143. 根据权利要求142所述的方法, 其中所述人透明质酸酶是重组人透明质酸酶(rHuPH20)。
144. 根据权利要求138所述的方法, 其中所述透明质酸降解剂与所述组合物同时、顺序或间歇施用。
145. 根据权利要求71至144中任一项所述的方法, 其中所述组合物通过肠胃外、皮下、口服、表皮、皮内、肌内、动脉内、腹膜内或静脉内注射施用于有需要的受试者。
146. 根据权利要求71至145中任一项所述的方法, 其中所述组合物是通过皮下注射施用的。
147. 根据权利要求71至145中任一项所述的方法, 其中所述组合物是通过注射器或便携式药物递送注射装置施用的。
148. 根据权利要求147所述的方法, 其中所述注射器或便携式药物递送注射装置预填充有所述组合物。
149. 根据权利要求147所述的方法, 其中所述组合物是通过注射器施用的。
150. 根据权利要求147所述的方法, 其中所述组合物是通过便携式药物递送注射装置施用的。
151. 根据权利要求148所述的方法, 其中所述便携式药物递送注射装置是笔式注射器。
152. 根据权利要求148所述的方法, 其中所述便携式药物递送注射装置是自动注射器。
153. 根据权利要求148所述的方法, 其中所述便携式药物递送注射装置是口服给药液体注射器胶囊。
154. 根据权利要求71至153中任一项所述的方法, 其中所述组合物从规格范围为18号至33号的针中分配。
155. 根据权利要求71至154中任一项所述的方法, 其中所述组合物是使用小于约70N的注射力分配的。
156. 根据权利要求71至155中任一项所述的方法, 其中在低于约40℃的容器封闭储存条件下, 所述注射力在至少一个月内保持基本上相同。
157. 根据权利要求71至156中任一项所述的方法, 其中待施用的所述组合物少于约20.0mL。
158. 根据权利要求71至157中任一项所述的方法, 其中待施用的所述组合物少于约2.0mL。

159. 根据权利要求71至158中任一项所述的方法, 其中待施用的所述组合物少于约0.5mL。

160. 根据权利要求71至159中任一项所述的方法, 其中所述组合物在施用后在小于约10分钟内溶解。

161. 根据权利要求71至160中任一项所述的方法, 其中所述组合物在施用后立即溶解。

162. 根据权利要求71至161中任一项所述的方法, 其中所述组合物以一个或多个剂量施用。

163. 根据权利要求162所述的方法, 其中所述组合物以单一剂量施用。

164. 根据权利要求162所述的方法, 其中所述组合物以多剂量施用。

165. 根据权利要求71至164中任一项所述的方法, 其中所述受试者是哺乳动物。

166. 根据权利要求71至165中任一项所述的方法, 其中所述受试者是人。

167. 根据权利要求71至166中任一项所述的方法, 其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比, 所述组合物的所述治疗生物制品的稳定性有所改进。

168. 根据权利要求71至167中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品稳定至少一个月。

169. 根据权利要求71至168中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品稳定至少三个月。

170. 根据权利要求71至169中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品在40°C下稳定至少三个月。

171. 一种施用药学上有效的组合物的方法, 所述方法包含:

悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒, 其中基本上所有的所述颗粒包含至少一种治疗生物制品或其盐; 以及

絮凝剂, 其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL; 并且

其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

172. 根据权利要求171所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒包含至少一种治疗生物制品。

173. 根据权利要求171所述的方法, 其中所述絮凝剂是离子的。

174. 根据权利要求173所述的方法, 其中所述离子絮凝剂是硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠、硬脂酸钠、十六烷基三甲基溴化铵、卵磷脂或其组合。

175. 根据权利要求171所述的方法, 其中所述絮凝剂是非离子的。

176. 根据权利要求175所述的方法, 其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯、烷基酚乙氧基化物、甘油、聚氧乙烯蓖麻油、多库酯、癸基葡萄糖苷、壬苯醇醚-9、脱水山梨糖醇酯、单油酸脱水山梨糖醇酯、乙醇胺、聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、卡波姆1342、玉米油-单-二-甘油三酯、聚氧乙烯化油酸甘油酯、泊洛沙姆或其组合。

177. 根据权利要求175所述的方法, 其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯、烷基酚乙氧基化物、脱水山梨糖醇酯、泊洛沙姆或其组合。

178. 根据权利要求175所述的方法, 其中所述非离子絮凝剂是聚山梨醇酯或脱水山梨糖醇酯。

179. 根据权利要求171至178中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述絮凝剂的

浓度小于约10mg/mL。

180. 根据权利要求171至179中任一项所述的方法, 其中所述组合物在混合后的絮凝体积大于约60%。

181. 根据权利要求171至180中任一项所述的方法, 其中在低于约40°C的容器封闭储存条件下至少一个月后, 所述絮凝体积减少小于约10%。

182. 根据权利要求171至181中任一项所述的方法, 其中在低于约40°C的容器封闭储存条件下, 所述组合物的絮凝体积在至少一个月内基本上相同。

183. 根据权利要求171至182中任一项所述的方法, 其中在低于约40°C的容器封闭储存条件下, 所述多个颗粒和絮凝剂保持基本上悬浮在所述液体载体中至少一个月。

184. 根据权利要求171至183中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的聚集小于约10%。

185. 根据权利要求171至184中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的任何聚集。

186. 根据权利要求171至185中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的碎裂小于约10%。

187. 根据权利要求171至186中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的任何碎裂。

188. 根据权利要求171至187中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的所述治疗生物制品的电荷变体的变化小于约5%。

189. 根据权利要求171至188中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有所述治疗生物制品的电荷变体的任何变化。

190. 根据权利要求171至189中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的圆形度为约0.80至约1.00。

191. 根据权利要求171至190中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的圆形度为约1.00。

192. 根据权利要求171至191中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的水分小于约7重量%。

193. 根据权利要求171至192中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒的内部空隙空间小于约10%。

194. 根据权利要求171至193中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒基本上没有任何内部空隙空间。

195. 根据权利要求171至194中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒具有大于约60重量%的治疗生物制品。

196. 根据权利要求171至195中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含碳水化合物、pH调节剂、盐、螯合剂、表面活性剂、蛋白质稳定剂、乳化剂、抗菌剂、氨基酸、抗氧化剂、尼泊金酯、杀菌剂、杀真菌剂、防腐剂或其组合。

197. 根据权利要求171至195中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种碳水化合物和氨基酸。

198. 根据权利要求171至195中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步

包含至少一种表面活性剂和氨基酸。

199. 根据权利要求171至195中任一项所述的方法, 其中基本上所有的所述颗粒进一步包含至少一种氨基酸。

200. 根据权利要求171至199中任一项所述的方法, 其中所述治疗生物制品是抗体或其片段。

201. 根据权利要求200所述的方法, 其中所述抗体是人抗体。

202. 根据权利要求201所述的方法, 其中所述人抗体是IgG抗体。

203. 根据权利要求200、201或202中任一项所述的方法, 其中所述抗体是单克隆抗体。

204. 根据权利要求171至203中任一项所述的方法, 其中所述液体载体是非水性的。

205. 根据权利要求204所述的方法, 其中所述非水性液体载体是有机溶剂。

206. 根据权利要求205所述的方法, 其中所述有机溶剂包含苯甲酸苄酯、椰子油、棉籽油、鱼油、葡萄籽油、榛子油、氢化植物油、橄榄油、棕榈籽油、花生油、薄荷油、红花油、芝麻油、大豆油、葵花油、核桃油、玉米油、丙酮、乙酸乙酯、乳酸乙酯、二甲基乙酰胺、异山梨醇二甲酯、二甲亚砜、糖原质、二甘醇二甲醚、甲基叔丁基醚、N-甲基吡咯烷酮、全氟萘烷、聚乙二醇、2-吡咯烷酮、四氢糠醇、甘油二酯、甘油三酯、中链甘油三酯(MCT)、己酸、辛酸、癸酸、月桂酸、月桂醇乙酯、分级分离的植物脂肪酸C8和C10的甘油三酯、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、油酸乙酯、癸酸乙酯、己二酸二丁酯、脂肪酸酯、己酸、辛酸、三醋精、二乙二醇单醚、 γ -丁内酯、丁香酚、丁香花蕾油、柠檬醛、柠檬烯、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、聚氧乙烯35蓖麻油、简单醇, 如乙醇、辛醇、己醇、癸醇、丙醇、丁醇, γ -丁内酯、生育酚、八氟丙烷、(全氟己基)辛烷、n-乙酰色氨酸、月桂酸乙酯、辛酸甲酯、辛酸乙酯、癸酸甲酯、肉豆蔻酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、己二酸二甲酯、辛二酸二丁酯、癸二酸二乙酯、澳洲坚果油酸乙酯、三羟甲基丙烷三异硬脂酸酯、月桂酸异丙酯、肉豆蔻酸异丙酯、琥珀酸二乙酯、聚山梨醇酯、乙醇胺、丙酸、柠檬醛、茴香醚、茴香脑、苯甲醛、芳樟醇、己内酯、苯酚、硫代甘油、二甲基乙酰胺、二甘醇单乙醚、丙酮缩甘油、异山梨醇二甲醚、甲酸乙酯、乙酸乙基己酯、丙二醇二辛酸酯、辛酸甘油三酯、亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯或其组合。

207. 根据权利要求204所述的方法, 其中所述非水性液体载体包含至少两种有机溶剂。

208. 根据权利要求171至207中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品的浓度大于约400mg/mL。

209. 根据权利要求171至208中任一项所述的方法, 其中所述组合物的粘度小于约100mPa·s。

210. 根据权利要求171至209中任一项所述的方法, 其中在溶解于水性液体中时, 所述组合物基本上不含可见颗粒(VP)。

211. 根据权利要求171至210中任一项所述的方法, 其中在溶解于水性液体中时, 所述组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约100,000,000/mL。

212. 根据权利要求171至211中任一项所述的方法, 其中在溶解于水性液体中时, 所述组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约6000/mL。

213. 根据权利要求171至212中任一项所述的方法, 其中在溶解于水性液体中时, 所述组合物的特性大小大于约25 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约600/mL。

214. 根据权利要求171至213中任一项所述的方法, 其中在溶解于水性液体中时, 所述组合物基本上不含不溶性亚可见颗粒 (SvP)。

215. 根据权利要求171至214中任一项所述的方法, 其中所述水性液体是水、水性缓冲液或生理相关的水性液体。

216. 根据权利要求171至215中任一项所述的方法, 其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比, 所述组合物的免疫原性基本上相似。

217. 根据权利要求171至216中任一项所述的方法, 其中所述组合物是基本上非免疫原性的。

218. 根据权利要求171至217中任一项所述的方法, 其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比, 所述组合物的毒性基本上相似。

219. 根据权利要求171至218中任一项所述的方法, 其中所述组合物是基本上无毒的。

220. 根据权利要求171至219中任一项所述的方法, 其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比, 所述组合物的药代动力学 (PK) 有所改进。

221. 根据权利要求171至220中任一项所述的方法, 其进一步包含施用至少一种透明质酸降解剂。

222. 根据权利要求221所述的方法, 其中所述透明质酸降解剂是透明质酸酶。

223. 根据权利要求221所述的方法, 其中所述透明质酸降解剂与所述组合物同时、顺序或间歇施用。

224. 根据权利要求171至223中任一项所述的方法, 其中所述组合物通过肠胃外、皮下、口服、表皮、皮内、肌内、动脉内、腹膜内或静脉内注射施用于有需要的受试者。

225. 根据权利要求171至224中任一项所述的方法, 其中所述组合物是通过皮下注射施用的。

226. 根据权利要求171至225中任一项所述的方法, 其中所述组合物是通过注射器或便携式药物递送注射装置施用的。

227. 根据权利要求226所述的方法, 其中所述注射器或便携式药物递送注射装置预填充有所述组合物。

228. 根据权利要求226所述的方法, 其中所述组合物是通过注射器施用的。

229. 根据权利要求226所述的方法, 其中所述组合物是通过便携式药物递送注射装置施用的。

230. 根据权利要求229所述的方法, 其中所述便携式药物递送注射装置是笔式注射器。

231. 根据权利要求229所述的方法, 其中所述便携式药物递送注射装置是自动注射器。

232. 根据权利要求229所述的方法, 其中所述便携式药物递送注射装置是口服给药液体注射器胶囊。

233. 根据权利要求171至232中任一项所述的方法, 其中所述组合物从规格范围为18号至33号的针中分配。

234. 根据权利要求171至233中任一项所述的方法, 其中所述组合物是使用小于约70N的注射力分配的。

235. 根据权利要求171至234中任一项所述的方法, 其中在低于约40℃的容器封闭储存条件下, 所述注射力在至少一个月内保持基本上相同。

236. 根据权利要求171至235中任一项所述的方法, 其中待施用的所述组合物少于约20.0mL。

237. 根据权利要求171至236中任一项所述的方法, 其中待施用的所述组合物少于约2.0mL。

238. 根据权利要求171至237中任一项所述的方法, 其中待施用的所述组合物少于约0.5mL。

239. 根据权利要求171至238中任一项所述的方法, 其中所述组合物在施用后在小于约10分钟内溶解。

240. 根据权利要求171至239中任一项所述的方法, 其中所述组合物在施用后立即溶解。

241. 根据权利要求171至240中任一项所述的方法, 其中所述组合物以一个或多个剂量施用。

242. 根据权利要求171至241中任一项所述的方法, 其中所述受试者是哺乳动物。

243. 根据权利要求171至242中任一项所述的方法, 其中所述受试者是人。

244. 根据权利要求171至243中任一项所述的方法, 其中与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比, 所述组合物的所述治疗生物制品的稳定性有所改进。

245. 根据权利要求171至244中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品稳定至少一个月。

246. 根据权利要求171至245中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品稳定至少三个月。

247. 根据权利要求171至246中任一项所述的方法, 其中所述组合物中的所述治疗生物制品在40℃下稳定至少三个月。

248. 一种药学上有效的组合物, 其包含悬浮在药学上可接受的液体载体中的颗粒, 其中所述颗粒包含:

第一多个颗粒, 所述第一多个颗粒包含第一治疗生物制品或其盐;

第二多个颗粒, 所述第二多个颗粒包含第二治疗生物制品或其盐; 以及

絮凝剂, 其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;

其中所述组合物中的所述第一治疗生物制品和所述第二治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

249. 根据权利要求248所述的组合物, 其中所述第一多个颗粒不包含所述第二治疗生物制品。

250. 根据权利要求248或249所述的组合物, 其中所述第二多个颗粒不包含所述第一治疗生物制品。

251. 根据权利要求248至250中任一项所述的组合物, 其中所述第一治疗生物制品是利妥昔单抗(rituximab)。

252. 根据权利要求248至251中任一项所述的组合物, 其中所述第二治疗生物制品是曲妥珠单抗(trastuzumab)。

253. 一种试剂盒, 其包含: 注射器或便携式药物递送注射装置; 以及组合物, 所述组合物包含:

悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中基本上所有的所述颗粒包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及

絮凝剂,

其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL,并且其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

可注射悬浮液

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2022年4月29日提交的美国临时申请第63/336,743号的权益。以上申请的全部教导内容通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本公开涉及可用于递送(例如,肌内或皮下递送)用于疗法的生物制药产品的组合物和方法。具体地,本文所公开的组合物和方法是治疗生物制品的高浓度、低体积和低注射器力的可注射颗粒悬浮液,其可以在注射前不需要重悬的情况下施用于患者。

背景技术

[0004] 在过去的几十年里,生物制品,特别是抗体在药物发现和开发过程中推动了范式转变,为先前几乎不存在或不治疗选择的患者提供了帮助。例如,目前的单克隆抗体(mAb)疗法通常需要大剂量,所述大剂量通过静脉内(IV)输注以高体积和低浓度施用,这可能需要数小时才能递送,造成了患者不适并增加了感染的风险。皮下(SC)注射为递送提供了更理想的替代方案,因为其减轻了医院和临床设施的负担,需要更少的时间,并且降低了并发症的风险。然而,mAb颗粒的SC注射需要低递送体积,这需要高浓度,所述高浓度通常难以获得。低递送体积下高颗粒浓度的要求也可以引起颗粒沉降,这可能会导致过高的注射力,并且需要手动搅拌以进行颗粒重悬。因此,需要一种在施用前不需要手动预混合或重悬的高度浓缩的低体积可注射颗粒组合物。

发明内容

[0005] 本文提供了一种药学上有效的组合物,其包含:

[0006] 悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及

[0007] 絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且

[0008] 其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

[0009] 一方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者的疾病或病状的方法,所述方法包含向所述受试者施用药学上有效量的组合物,所述组合物包含:

[0010] 悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及

[0011] 絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且

[0012] 其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

[0013] 本公开还在本文中提供了一种施用药学上有效的组合物的方法,所述方法包含:

[0014] 悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及

[0015] 絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且

- [0016] 其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。
- [0017] 另一方面,本公开提供了一种药学上有效的组合物,其包含悬浮在药学上可接受的液体载体中的颗粒,其中所述颗粒包含:
- [0018] 第一多个颗粒,所述第一多个颗粒包含第一治疗生物制品或其盐;
- [0019] 第二多个颗粒,所述第二多个颗粒包含第二治疗生物制品或其盐;以及
- [0020] 絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;
- [0021] 其中所述组合物中的所述第一治疗生物制品和所述第二治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。
- [0022] 本公开还提供了一种试剂盒,其包含:注射器或便携式药物递送注射装置,以及组合物,所述组合物包含:
- [0023] 悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及
- [0024] 絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;
- [0025] 其中所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。
- [0026] 在一些实施例中,本发明的组合物可用于通过注射器注射、便携式药物递送注射装置或口服给药液体注射器胶囊施用高浓度治疗生物制品颗粒的悬浮液,而不需要在施用前手动预混合或重悬。

附图说明

- [0027] 图1示出了本文所公开的组合物中使用的颗粒在1000倍放大率下的图像。
- [0028] 图2示出了在多种浓度下存在和不存在不同的絮凝剂(卵磷脂,PS80)的絮凝体积的图像。
- [0029] 图3示出了指示在40℃下储存12个月期间,单独的和于悬浮液中的IgG颗粒的稳定性的图。
- [0030] 图4示出了絮凝剂和蛋白质浓度的参数图。
- [0031] 图5示出了使用辛酸甘油三酯作为液体载体的悬浮液的可注射性图。
- [0032] 图6示出了在不同温度下一定时段内的絮凝体积的图。
- [0033] 图7示出了悬浮液在不同温度一定时段内的可注射性图,平均力为约2.4N。
- [0034] 图8示出了通过各种针大小的注射力图。
- [0035] 图9示出了使用27号UTW针的注射力与注射时间的关系图。
- [0036] 图10A和10B示出了在一定时段内,在胶囊储存期间絮凝体积的代表性图像。
- [0037] 图11示出了大鼠(斯普拉格-道利(Sprague Dawley))的队列中的mAb微粒悬浮液(SC注射液)和mAb SC注射水溶液的药代动力学曲线图。
- [0038] 图12示出了本文所公开的组合物中使用的利妥昔单抗(rituximab)颗粒在30μm放大率下的图像。
- [0039] 图13示出了切片的利妥昔单抗颗粒的图像,以揭示内部横截面。
- [0040] 图14示出了注射时具有絮凝剂的620mg/mL利妥昔单抗悬浮液的滑动力图。
- [0041] 图15示出了本文所公开的组合物中使用的利妥昔单抗(rituximab)颗粒在30μm放大率下的图像。

[0042] 图16示出了切片的利妥昔单抗颗粒的图像,以揭示内部横截面。

[0043] 图17示出了注射时具有絮凝剂的507mg/mL利妥昔单抗悬浮液的滑动力图。

具体实施方式

[0044] 治疗生物制品,特别是单克隆抗体 (mAb) 治疗剂极大地改善了人疾病的治疗。然而,这些生物制品的递送给患者带来了负担。施用的标准通常是通过低浓度下的静脉内 (IV) 输注,这可能需要数小时才能递送,造成了患者的不适并增加了患者的感染风险。尽管通过简单注射进行皮下 (SC) 递送是优选的,但对SC递送体积 (1.5-2.0mL) 的限制要求抗体浓度大于100mg/mL,这通常是不可行的。超过100mg/mL的溶液浓度是高粘度的,这导致极高的注射力,并且通常会促进治疗抗体组合物的分解。颗粒悬浮液技术的利用可以递送>500mg/mL的治疗生物制品 (例如,抗体) 浓度,同时保持治疗生物制品 (例如,mAb) 的完整结构和生物活性,因此,通过将治疗生物制品的递送从IV转变为SC,可以为患者、医疗保健提供者、支付者和药品开发商提供优势。然而,随着时间的推移,治疗生物制品颗粒最终会从悬浮液介质 (例如,药学上可接受的液体载体) 中沉淀或沉积出来,导致高注射力;因此,在施用组合物之前,需要通过外部手段 (例如,涡流或声波搅拌) 手动搅拌或预混合容器封闭以进行颗粒重悬。

[0045] 本公开总体上涉及药学上有效的组合物和方法,其包含:悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒 (例如,基本上所有的所述颗粒) 包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL。在一些实施例中,所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。在一些实施例中,本文所描述的组合物和方法进一步包含施用药学上有效量的至少一种透明质酸降解剂 (例如,透明质酸酶),所述至少一种透明质酸降解剂可以与组合物同时、顺序或间歇施用。在一些实施例中,多个颗粒和絮凝剂在非水性液体载体中保持基本上悬浮至少一个月。在某些实施例中,组合物通过注射器注射、便携式药物递送注射装置或口服给药液体注射器胶囊施用,无需在施用前手动预混合或重悬。在一些实施例中,在低于约40℃的容器封闭储存条件下,组合物的注射力在至少一个月内保持基本上相同。参见本文的实例2-3以了解本公开的示例组合物的描述,所述示例组合物包含在药学上可接受的液体载体中悬浮有絮凝剂的多个颗粒。

[0046] 将容易理解的是,如本文一般所描述的方面和实施例是示例性的。以下对各个方面和实施例的更详细描述并不旨在限制本公开的范围,而仅表示各个方面和各实施例。此外,在不脱离本公开的范围的情况下,本领域技术人员可以改变本文所公开的组合物和方法。除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本公开所属领域的技术人员通常理解的相同含义。本文提及的所有公开和专利均通过引用并入。

[0047] 定义

[0048] 出于本公开的目的,除非另有明确说明,否则将使用以下定义:

[0049] 除非本文中另有所指或明显与上下文相矛盾,否则在描述本公开的上下文中使用的术语“一个 (a)”、“一种 (an)”和“所述 (the)”以及类似的指代词应被解释为涵盖单数和复数两者。除非本文中另有指示或以其它方式明显与上下文相矛盾,否则本文所描述的所有组合物都可以以任何合适的方式进行。除非另外声明,否则本文中所提供的任何和所有实

例或示例性语言(例如,“如”)的使用仅旨在更好地说明本公开,而不对本公开的范围构成限制。本说明书中的任何语言都不应被解释为将任何未要求保护的要素指示为是实践本公开所必不可少的。

[0050] 与给定数值(如对于温度和时段)相关的术语“约”意指包括指定值的10%以内的数值。

[0051] 如本文所使用的,术语“施用(administering)”或“施用(administered)”意指将组合物实际物理引入受试者体内或身体上(视情况而定)。根据本公开,将组合物引入到受试者体内的任何和所有方法都是经考虑的;组合物不依赖于任何特定的引入手段,并且不应如此解释。引入手段是本领域技术人员已知的,并且也在本文中进行了例示。

[0052] 如本文所使用的,“烷基”或“烷烃”是完全饱和的直链或支链非芳香族烃。通常,直链或支链烷基具有1个至约20个碳原子,优选地1个至约10个碳原子,除非另有定义。直链和支链烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、叔戊基、新戊基、异戊基、仲戊基、3-戊基、仲异戊基、活性戊基、己基、庚基、辛基、乙基己基等。 C_{1-8} 直链或支链烷基还被称为“低级烷基”。具有两个开放价的烷基有时被称为亚烷基,如亚甲基、亚乙基、亚丙基等。此外,如在整个说明书、实例和权利要求中使用的术语“烷基”(或“低级烷基”)旨在包括“未经取代的烷基”和“经取代的烷基”,后者是指在烃主链的一个或多个碳上具有代替氢的取代基的烷基部分。如果没有另外规定的话,此类取代基可以包括例如烷基、卤素、羟基、羰基(如羧基和烷氧基羰基、甲酰基或酰基)、硫代羰基(如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、亚膦酸酯、氨基、酰胺基、脒、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、亚磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳香族或杂芳香族部分。本领域的技术人员应理解,如果合适的话,烃链上被取代的部分本身也可以被取代。例如,经取代的烷基的取代基可以包括经取代和未经取代形式的氨基、叠氮基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸酯和次膦酸酯)、磺酰基(包括硫酸酯、磺酰胺、氨磺酰基和磺酸酯)和甲硅烷基,以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸酯和酯)、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等。示例性经取代的烷基如下所述。环烷基可以进一步被烷基、烯基、烷氧基、烷硫基、氨基烷基、羰基取代的烷基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等取代。在一些实施例,术语“烷基”可以意指“环烷基”,所述环烷基是指具有3至10个碳环原子的非芳香族碳环,所述碳原子结合在一起形成环。环可以是饱和的或具有一个或多个碳-碳双键。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基和环庚基,以及桥接和笼状饱和环基团,如降冰片基和金刚烷基。如本文所描述的,有机溶剂包括但不限于脂肪族烃溶剂、芳香族烃溶剂、醇或烷基醇、烷基醚、亚砜、烷基酮、乙酸烷基酯、三烷基胺、甲酸烷基酯、三烷基胺或其组合。脂肪族烃溶剂可以是戊烷、己烷、庚烷、辛烷、环己烷等或其组合。芳香族烃溶剂可以是苯、甲苯等或其组合。醇或烷基醇包括例如,甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、戊醇(pentanol)、己醇、庚醇、辛醇、癸醇、戊醇(amylalcohol)或其组合。烷基醚包括甲基、乙基、丙基、丁基等,例如,二乙醚、二异丙醚或其组合。亚砜包括二甲亚砜(DMSO)、癸基甲基亚砜、十四烷基甲基亚砜等或其组合。术语“烷基酮”是指被烷基取代的酮,例如,丙酮、乙基甲基酮等或其组合。术语“乙酸烷基酯”是指被烷基取代的乙酸酯,例如,乙酸乙酯、乙酸丙酯(乙酸正丙酯、乙酸异丙酯)、乙酸丁酯(乙酸正丁酯、乙酸异丁酯、乙酸仲丁酯、乙酸叔丁酯)、乙酸戊酯(乙酸正戊酯、乙酸叔戊酯、乙酸新戊酯、乙酸异戊酯、乙酸仲戊酯、乙酸3-戊酯、乙酸仲异戊酯、乙酸

活性戊酯)、乙酸2-乙基己酯等或其组合。术语“甲酸烷基酯”是指被烷基取代的甲酸酯,例如,甲酸甲酯、甲酸乙酯、甲酸丙酯、甲酸丁酯等或其组合。术语“三烷基胺”是指被三个烷基取代的氨基,例如,三乙胺。

[0053] 如本文所使用的,“氨基酸”或“残基”是指本领域已知的任何天然或非天然存在的氨基酸、任何氨基酸衍生物或任何氨基酸模拟物。包括相应的氨基酸的L-形式以及D-形式,尽管L-形式通常是优选的。在一些实施例中,所述术语涉及20种天然存在的氨基酸中的任一者:呈其L-形式的甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、脯氨酸(Pro)、半胱氨酸(Cys)、甲硫氨酸(Met)、丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、谷氨酰胺(Gln)、天冬酰胺(Asn)、谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、赖氨酸(Lys)、组氨酸(His)、精氨酸(Arg)、苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)和酪氨酸(Tyr)。在一些实施例中,氨基酸侧链可以是以下的侧链:Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Met、Cys、Ser、Thr、Trp、Phe、Lys、Arg、His、Tyr、Asn、Gln、Asp、Glu或Pro。在某些实施例中,氨基酸衍生物是氨基酸盐,例如,以下的氨基酸盐:盐酸、磷酸、DL-乳酸/乙醇酸、琥珀酸、柠檬酸、硫酸、氢氧化钠、氢氧化钾、琥珀酸钠、磷酸钠、乙酸钠、柠檬酸钠、硫酸钠等。

[0054] 如本文所使用的,除非上下文另有要求,否则术语“包含(comprise)”以及所述术语的变体,如“包含(comprising)”、“包含(comprises)”和“包含(comprised)”,并不旨在排除另外的添加剂、组分、整数或步骤。术语“包括”和“包含”可以互换使用。如本文所使用的,短语“选自由...组成的组”、“选自”等包括指定材料的混合物。在本文中陈述数值限制或范围的情况下,包括端点。此外,数值限制或范围内的所有值和子范围都被明确地包括在内,就像本文中明确写出的一样。除非特别说明,否则对单数元素的引用并不意味着“一个且只有一个”,而是“一个或多个”。除非另有明确说明,否则如“一些”等术语是指一个或多个,并且如“一个(a)”、“一种(an)”和“所述(the)”等单数术语是指一个或多个。

[0055] 术语“寡肽”用于指具有较少氨基酸成员的肽,而不是多肽或蛋白质。本文所描述的寡肽通常包含约两个至约四十个氨基酸残基。寡肽包括二肽(两个氨基酸)、三肽(三个氨基酸)、四肽(四个氨基酸)、五肽(五个氨基酸)、六肽(六个氨基酸)、七肽(七个氨基酸)、八肽(八个氨基酸)、九肽(九个氨基酸)、十肽(十个氨基酸)、十一肽(十一个氨基酸)、十二肽(十二个氨基酸)、二十肽(二十个氨基酸)、三十肽(三十个氨基酸)、四十肽(四十个氨基酸)等。寡肽也可以根据分子结构进行分类:铜绿菌素(aeruginosin)、蓝绿藻肽素(cyanopeptolin)、微囊藻素(microcystin)、微绿胶霉素(microviridin)、微吉宁素(microginin)、项圈藻肽素(anabaenopeptin)和环酰胺(cyclamide)等。同源寡肽是包含相同氨基酸的寡肽。在特定实施例中,同源寡肽包含10个氨基酸的聚缬氨酸、聚丙氨酸和聚甘氨酸六聚体。

[0056] 术语“肽”的含义定义为具有两个或更多个氨基酸的小蛋白质,其中一个氨基酸的羧基与另一个氨基酸的氨基连接。因此,在其基本水平上,任何类型的肽合成都包含将氨基酸或肽分子彼此添加或添加到现有肽链的重复步骤。术语“肽”通常具有约2至约100个氨基酸,而多肽或蛋白质具有约100个或更多个氨基酸,至多为可以从基因翻译的全长序列。另外地,如本文所使用的,肽可以是多肽或蛋白质的子序列或一部分。在某些实施例中,肽由4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、

56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99或100个氨基酸残基组成。在一些实施例中,肽的长度为约30至约100个氨基酸。

[0057] 如本文所使用的,术语“药学上可接受的”是指在正确医学判断的范围内适合于与人和动物的组织接触使用而不会产生过多毒性、刺激、过敏应答或其它问题或并发症的与合理的益处/风险比相称的组合物。优选地,术语“药学上可接受的”意指由联邦政府或州政府的监管机构批准的或在《美国药典(U.S.Pharmacopeia)》或其它公认的药典中列出的可用于动物,并且更具体地用于人。

[0058] 术语“蛋白质”的含义被定义为由约20种不同氨基酸构建的线性聚合物。蛋白质中的氨基酸的类型和序列由产生其的DNA指定。在某些实施例中,序列可以是天然的和非天然的。氨基酸的序列确定了蛋白质的整体结构和功能。在一些实施例中,蛋白质可以含有50个或更多个残基。在特定实施例中,蛋白质的长度可以含有大于约101个残基。蛋白质的净电荷可以通过两个因素确定:1) 酸性氨基酸相对于碱性氨基酸的总计数;以及2) 暴露阳性残基或阴性残基的特定溶剂pH环境。如本文所使用的,“带净正电荷或带净负电荷的蛋白质”是指在非变性pH环境下具有净正电荷或净负电荷的蛋白质。通常,本领域技术人员将认识到,所有蛋白质都可以被视为“带净负电荷的蛋白质”,无论其氨基酸组成如何,取决于其pH和/或溶剂环境。例如,根据溶剂pH,不同的溶剂可以暴露负侧链或正侧链。蛋白质优选地选自任何类型的酶或抗体或其片段,其显示出与对应的酶或抗体基本上相同的活性。蛋白质可以作为结构材料(例如,角蛋白)、作为酶、作为激素、作为转运蛋白(例如,血红蛋白)、作为抗体或作为基因表达的调控因子。蛋白质是细胞、组织和器官的结构、功能和调节所必需的。在一些实施例中,蛋白质是治疗生物制品。在某些实施例中,蛋白质是牛血清白蛋白(BSA)或人血清白蛋白(HSA)。

[0059] 如本文所使用的,术语“基本上”是指大多数或多半,如至少约50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%、99.9%、99.99%或至少约99.999%或更多。

[0060] 应当理解,所公开的过程中步骤的特定顺序或层次是示例性方法的说明。基于设计偏好,可以理解可以重新安排过程中步骤的特定顺序或层次结构。一些步骤可以同时进行。如“实施例”等短语并不意味着此类实施例适用于本主题技术的所有配置。与实施例相关的公开内容可以适用于所有实施例,或者一个或多个实施例。如实施例等短语可以指一个或多个实施例,并且反之亦然。

[0061] 颗粒

[0062] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术术语、符号和其它科学术语旨在具有本公开所属领域的技术人员通常理解的含义。在一些情况下,为了清楚和/或便于参考起见,本文对具有通常理解的含义的术语进行了定义,并且本文中包括此类定义不应被必然解释为代表与本领域通常理解的含义有实质性差异。本文描述或引用的技术和程序通常是很好理解的,并且常由本领域的技术人员使用常规方法来采用。在适当时,除非另外指出,否则涉及使用可商购获得的试剂盒和试剂的程序总体上根据制造商定义的方案和/或参数来进行。如本文所使用的,短语“和/或”当用于两个或更多个项的列表中时,意味着所列项中的任何一个可单独使用,或者可使用所列项目中的两个或更多个的任意组合。例如,如果

组合物被描述为含有或排除组分A、B和/或C,则所述组合物可以仅含有或排除A;仅含有或排除B;仅含有或排除C;含有或排除A和B的组合;含有或排除A和C的组合;含有或排除B和C的组合;或含有或排除A、B和C的组合。

[0063] 如本文所使用的,术语“颗粒 (particle)”或“颗粒 (particles)”或“微粒”在最广泛的意义上可以互换,是指一个离散体或多个离散体。本文所描述的颗粒是圆形的,并且具有受控的分散性,特性大小为亚微米至几十微米,与例如通常在常规冻干期间产生的多孔单片“饼”形成对比。这种形态允许在不进行后处理的情况下获得可流动粉末(例如,以低豪斯纳比(Hausner ratio)为特征)。在一些实施例中,术语“颗粒”是指定量的一种蛋白质或多种蛋白质,例如,一种治疗生物制品或多种治疗生物制品,与液滴相比,其物质状态基本上是固体。

[0064] 如本文所公开的,治疗生物制品(也称为生物医疗产品或生物制药)是从生物来源中制造、提取或半合成的任何药物产品。治疗生物制品可以包括广泛的产品,如疫苗、血液和血液组分、过敏原、体细胞、基因疗法、组织和重组治疗蛋白。生物制品可以从各种天然来源中分离,例如,人、动物或微生物,并且可以通过生物技术方法或其它技术产生。在本公开的一些实施例中,治疗生物制品是抗体或其片段。在一些实施例中,抗体是哺乳动物或人抗体,例如,牛IgG、人IgG或单克隆抗体(mAb)。在某些实施例中,抗体是利妥昔单抗或曲妥珠单抗(Trastuzumab)。在特定实施例中,治疗生物制品是抗体的片段。在一些实施例中,本文所描述的组合物包含悬浮在药学上可接受的液体载体中的至少两种多个颗粒(例如,第一多个颗粒和第二多个颗粒),其中每种多个颗粒包含至少一种治疗生物制品(例如,相对于其它多个中的颗粒的至少一种不同的治疗生物制品)。在一些实施例中,本文所描述的组合物包含悬浮在药学上可接受的液体载体中的至少两种多个颗粒(例如,第一多个颗粒和第二多个颗粒),其中每种多个颗粒包含至少一种抗体,例如,多个利妥昔单抗颗粒和多个曲妥珠单抗颗粒。

[0065] 术语“抗体”和“免疫球蛋白”在最广泛的意义上可以互换使用,并且包括单克隆抗体、多克隆抗体、多价抗体和多特异性抗体,无论其是如何产生的(即,使用免疫、重组、合成方法)。抗体可以是在血液或脊椎动物其它体液中发现的 γ 球蛋白,其在免疫系统中起作用以与抗原结合,从而鉴定和/或中和异物。抗体可以被指定为不同的类别或同种型。存在五种类别的免疫球蛋白:IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,其具有分别命名为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 的重链。基于序列和功能的差异, γ 类进一步分为亚类,例如,人表达以下亚类:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。在本公开的一些实施例中,IgG抗体是IgG1抗体。在本公开的某些实施例中,IgG抗体是单克隆IgG抗体。来自任何脊椎动物物种的L链可以基于其恒定结构域的氨基酸序列而指定为例如 κ 和 λ 的两种明显不同类型中的一种。

[0066] 所识别的免疫球蛋白基因包括 κ 、 λ 、 α 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 μ 恒定区基因,以及无数免疫球蛋白可变区基因。在一些实施例中,轻链被分类为 κ 或 λ 。在一些实施例中,重链被分类为 γ 、 μ 、 α 、 δ 或 ϵ ,这进而分别限定免疫球蛋白类别IgG、IgM、IgA、IgD和IgE。在本公开的特定实施例中,抗体是IgG抗体。

[0067] 示例性抗体(免疫球蛋白)结构单元包含四聚体。每个四聚体由两个相同的多肽链对构成,每个对具有一条“轻”链(约25kD)和一条“重”链(约50-70kD)。每条链的N末端限定约100个至110个或更多个氨基酸的主要负责抗原识别的可变区。术语“可变轻”链、结构域、

区和组分可以互换使用,缩写为“VL”或“V_L”,并且是指抗体或抗体片段的轻链。类似地,术语“可变重”链、结构域、区和组分可以互换使用,缩写为“VH”或“V_H”,并且是指抗体或抗体片段的重链。抗体通常是由两条相同轻(L)链和两条相同重(H)链构成的杂四聚糖蛋白。每条L链通过一个共价二硫键与H链连接。根据H链同种型,两条H链通过一个或多个二硫键彼此连接。每条H链和L链还具有规则间隔的链内二硫桥。H链和L链限定了特定的Ig结构域。具体地,每条H链在N末端处具有可变结构域(VH),随后是 α 链和 γ 链中的每条链的三个恒定结构域(CH),以及p同种型和s同种型的四个CH结构域。每条L链在N末端处具有可变结构域(VL),随后在其另一端处具有恒定结构域(CL)。VL与VH对齐,并且CL与重链的第一恒定结构域(CHL)对齐。恒定结构域包括Fc部分,所述Fc部分包含通过二硫键保持在一起的两条H链的羧基末端部分。抗体(如ADCC)的效应子功能由Fc区中的序列确定,所述Fc区也是某些类型的细胞上发现的Fc受体(FcR)所识别的部分。

[0068] 如本文所公开的,VH和VL的配对一起形成“可变区”或“可变结构域”,包括抗体的重链或轻链的氨基末端结构域。重链的可变结构域可以称为“VH”。轻链的可变结构域可以称为“VL”。V结构域含有“抗原结合位点”,其影响抗原结合,并且限定了特定抗体对其特定抗原的特异性。V区跨越约110个氨基酸残基,并且由15-30个氨基酸的相对不变的延伸段组成,称为框架区(FR)(通常为约4个),由被称为“高变区”(通常为约3个)的极可变性的较短区隔开,所述高变区通常长度为9-12个氨基酸。FR在很大程度上采用了 β 片结构,并且高变区形成了连接 β 片结构的环,并且在一些情况下形成了 β 片结构的一部分。在某些实施例中,“高变区”是指抗体可变结构域的序列高变和/或形成结构限定的环的区。通常,抗体包含六个高变区;VH中有三个(H1、H2、H3),并且VL中有三个(L1、L2、L3)。“框架”或“FR”残基是除了本文所定义的高变区残基以外的那些可变结构域残基。

[0069] 术语“全长抗体”、“完整抗体”和“完全抗体”在本文中可以互换使用,是指呈其基本上完整形式的抗体,而不是如上文所定义的抗体片段。这些术语特别是指具有含有Fc区的重链的抗体。全长抗体可以是天然序列抗体或抗体变体。在某些实施例中,“完整”或“完全”抗体是指包含抗原结合位点以及CL和至少重链恒定结构域CH1、CH2和CH3的抗体。恒定结构域可以是天然序列恒定结构域,例如,人天然序列恒定结构域或其氨基酸序列变体。

[0070] 如上文所指示的,除非另有说明或与上下文明确矛盾,否则如本文中使用的术语抗体包括保留与抗原特异性相互作用(如结合)的能力的抗体的片段。已经证明,抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段执行。术语“抗体”内涵盖的结合片段的实例包括(i) Fab'或Fab片段,一种由轻链可变结构域(VL)、重链可变结构域(VH)、轻链恒定区(CL)和重链恒定区结构域1(CH1)结构域组成的单价片段,或如WO 2007/059782中所描述的单价抗体;(ii) F(ab')₂片段,一种包含在铰链区处通过二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)基本上由VH和CH1结构域组成的Fd片段;(iv)基本上由抗体的单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段;(v) dAb片段(Ward等人,《自然(Nature)》341,544-546(1989)),其基本上由VH结构域组成,并且也称为结构域抗体(Holt等人;《生物技术趋势(Trends Biotechnol)》.2003年11月;21(11):484-90;(vi) 骆驼科或纳米抗体(Revetts等人;《生物疗法专家意见(Expert Opin Biol Ther)》.2005年1月;5(1):111-24和(vii)分离的互补决定区(CDR)。此外,虽然Fv片段的两个结构域VL和VH由单独的基因编码,但是这两个结构域可以使用重组方法通过使这两个结构域能够成为单个蛋白链的合成接头来连接,在所述单个蛋白链中,

VL区和VH区配对以形成单价分子(被称为单链抗体或单链Fv(scFv));参见例如Revets等人;《生物疗法专家意见》.2005年1月;5(1):111-24以及Bird等人,《科学(Science)》242, 423-426(1988)。除非上下文另有说明或明确指示,否则此类单链抗体涵盖在术语抗体内。尽管此类片段通常包括在抗体的含义内,但其共同且各自独立地是本发明的独特特征,表现出不同的生物学特性和效用。本文将进一步讨论本发明上下文中的这些和其它有用的抗体片段。

[0071] 如本文所公开的,“包括可变结构域的完全抗体片段”包括Fab、Fab'、F(ab')₂和Fv片段;双功能抗体;线性抗体;单链抗体分子;以及由抗体片段形成的多特异性抗体。“Fab片段”由整个L链连同H链的可变区结构域(VH)和一条重链的第一恒定结构域(CH1)组成。每个Fab片段相对于抗原结合是单价的,即,其具有单一抗原结合位点。“Fab'片段”与Fab片段的不同之处在于在包括来自抗体铰链区的一个或多个半胱氨酸的CH1结构域的羧基末端处具有另外的少量残基。Fab'-SH是本文中关于Fab'的名称,其中恒定结构域的半胱氨酸残基携带游离巯醇基。“F(ab')₂片段”与具有二价抗原结合活性的两个二硫键连接的Fab片段大致对应,并且仍然能够交联抗原。“Fv”是含有完整抗原识别和抗原结合位点的最小抗体片段。这一片段由紧密地非共价缔合的一个重链可变区结构域和一个轻链可变区结构域的二聚体组成。在单链Fv(scFv)物种中,一个重链可变结构域和一个轻链可变结构域可以通过柔性肽接头共价连接,从而使得轻链和重链可以缔合成与双链Fv物种中二聚体结构类似的“二聚体”结构。从这两个结构域的折叠中衍生出六个高变环(H链和L链各3个环),所述高变环为抗原结合提供氨基酸残基,并且赋予抗体抗原结合特异性。“单链Fv”也缩写为“sFv”或“scFv”,是包含连接以形成单个多肽链的VH抗体结构域和VL抗体结构域的抗体片段。在特定实施例中,scFv多肽进一步包含使scFv能够形成用于抗原结合的期望的结构的在VH结构域与VL结构域之间的多肽接头。在一些实施例中,“单可变结构域”是Fv的一半(仅包含对抗原具有特异的三个CDR),其具有识别抗原和与其结合的能力,尽管以比完整结合位点更低的亲和力进行。

[0072] 在一些实施例中,“双功能抗体”是指具有两个抗原结合位点的抗体片段,所述片段包含与同一条多肽链(VH-VL)中的轻链可变结构域(VL)连接的重链可变结构域(VH)。通过在VH结构域与VL结构域之间构建具有短接头(约5-10个残基)的sFv片段来制备小抗体片段,从而实现V结构域的链间而非链内配对,产生二价片段,即具有两个抗原结合位点的片段。在一些实施例中,双功能抗体可以是二价的或双特异性的。在某些实施例中,双特异性双抗体是两个“交叉”sFv片段的异二聚体,其中两种抗体的VH结构域和VL结构域存在于不同的多肽链上。三功能抗体和四功能抗体在本领域中通常也是已知的。

[0073] 如本文所描述的,抗体的“抗原结合片段”包含完整抗体的仅一部分,通常包括完整抗体的抗原结合位点并且因此保留与抗原结合的能力。本定义所涵盖的抗体片段的示例性实例包括但不限于:(i) Fab片段,其具有VL、CL、VH和CH1结构域;(ii) Fab'片段,其是在CH1结构域的C末端处具有一个或多个半胱氨酸残基的Fab片段;(iii) Fd片段,其具有VH和CH1结构域;(iv) Fd'片段,其具有VH和CH1结构域以及位于CH1结构域的C末端处的一个或多个半胱氨酸残基;(v) Fv片段,其具有抗体的单臂的VL和VH结构域;(vi) dAb片段,其由VH结构域组成;(vii) 所分离CDR区;(viii) F(ab')₂片段,一种包括在铰链区处由二硫桥连接的两个Fab'片段的二价片段;(ix) 单链抗体分子,例如,单链Fv;scFv;(x) 具有两个抗原结合

位点的“双功能抗体”,其包含在相同多肽链中与轻链可变结构域(VL)连接的重链可变结构域(VH);(xi)“线性抗体”,其包含一对串联Fd区段(VH-CH1-VH-CH1),其与互补轻链多肽一起形成一对抗原结合区。在一些实施例中,“抗原结合位点”通常是指至少包括赋予V结构域抗原结合功能所需的高变区和框架区的分子。在本文所描述的方法中,抗原结合位点可以呈抗体或抗体片段(如dAb、Fab、Fd、Fv、F(ab')₂或scFv)的形式。在一些实施例中,抗原结合片段与完整抗体竞争抗原结合,例如,与衍生所述片段的完整抗体竞争。

[0074] 术语“片段”是指抗体或抗体链的一部分(part)或一部分(portion),所述一部分包含的氨基酸残基比完整或整个抗体或抗体链包含的氨基酸残基少。如本文所使用的,抗体分子的术语“片段”包括抗体的Fc片段和抗原结合片段,例如,抗体轻链可变结构域(VL)、抗体重链可变结构域(VH)、单链抗体(scFv)、F(ab')₂片段、Fab片段、Fd片段、Fv片段、单结构域抗体片段(DAb)、单臂(单价)抗体或通过此类抗原结合片段的组合、组装或缀合形成的任何抗原结合分子。

[0075] 在一些实施例中,术语“单链Fv”或“scFv”或“单链”抗体可以指包含抗体的VH和VL结构域的抗体片段,其中这些结构域存在于单个多肽链中。通常,Fv多肽进一步包含位于VH结构域与VL结构域之间的多肽接头,所述多肽接头使sFv能够形成用于抗原结合的期望的结构。对于sFv的综述,参见Pluckthun,《单克隆抗体药理学(THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES)》,第113卷,Rosenburg和Moore编辑.纽约施普林格出版社(Springer-Verlag,New York),第269-315页(1994)。

[0076] 如本文所使用的,术语“单克隆抗体”是指从基本上同质抗体群体中获得的抗体,即包含所述群体的单独抗体是相同的,除了可以少量存在的可能天然存在的突变之外。单克隆抗体(mAb)针对抗原上的单一抗原位点或决定簇具有高度特异性。除了其特异性之外,单克隆抗体的有利之处还在于,可以合成这些抗体,而不受其它抗体污染。单克隆抗体可以通过杂交瘤方法制备。单克隆抗体也可以使用分子工程化技术从噬菌体抗体文库中分离。本公开的单克隆抗体可以通过重组DNA方法产生,并且有时被称为“重组抗体”或“重组单克隆抗体”,如本文所描述的。在一些实施例中,单克隆抗体是单一物种的抗体,其中每个抗体分子识别相同的表位,因为所有产生抗体的细胞都源自单一B淋巴细胞系。用于产生单克隆抗体(mAb)的方法通常与用于制备多克隆抗体的方法开始沿着相同的路线。在一些实施例中,啮齿动物(如小鼠和大鼠)用于产生单克隆抗体。在某些实施例中,兔、绵羊或青蛙细胞用于产生单克隆抗体。大鼠的使用是众所周知的,并且可能会提供某些优势。小鼠(例如,BALB/c小鼠)是常规使用的,并且通常会产生高百分比的稳定融合。在本公开的一些实施例中,抗体是单克隆抗体。在本公开的特定实施例中,IgG抗体是单克隆的。

[0077] 在一些实施例中,可以使用本领域众所周知的技术从噬菌体抗体文库中分离重组抗体片段。参见例如Clackson等人,1991,《自然》352:624-628;Marks等人,1991,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》222:581-597。重组抗体片段可以源自通过在细菌中重组产生的大型噬菌体抗体文库(Sblattero和Bradbury,2000,《自然生物技术(Nature Biotechnology)》18:75-80;并且如本文所描述的)。编码抗体片段的VH和VL组分的多核苷酸,即scFv,可以用于使用本领域已知的方法产生重组全长免疫球蛋白(参见例如Persic等人,1997,《基因(Gene)》187:9-18)。

[0078] “分离的”抗体是已经从其先前存在的环境的组分中鉴定以及分离和/或回收的多

肽。污染物组分是会干扰抗体的治疗用途的材料,并且可以包括酶、激素和其它蛋白质或非蛋白质溶质。

[0079] 如本文所使用的,“人抗体”是指具有与人产生的抗体的氨基酸序列相对应的氨基酸序列的抗体。可以使用本领域已知的各种技术产生人抗体,包括噬菌体展示文库。人抗体可以通过将抗原施用于转基因动物来制备,所述转基因动物已被修饰以产生此类抗体以对抗原攻击,但其内源性基因座已被禁用。非人(例如,啮齿动物)抗体的“人源化”形式是含有源自非人抗体的最小序列的嵌合抗体。在大多数情况下,人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体),其中来自受体的高变区的残基被来自如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物等具有期望的抗体特异性、亲和力和能力的非人物种(供体抗体)的高变区的残基替代。在一些实施例中,人免疫球蛋白的框架区(FR)残基被对应的非人残基替代。此外,人源化抗体可以包含在受体抗体或供体抗体中未发现的残基。进行这些修饰以进一步改善抗体性能。通常,人源化抗体将包含至少一个并且典型地两个可变结构域中的基本上所有的可变结构域,其中所有的或基本上所有的高变环与非人免疫球蛋白的那些区相对应,并且所有的或基本上所有的FR是人免疫球蛋白序列的FR。人源化抗体任选地还将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白恒定区的至少一部分。

[0080] “亲和力成熟”抗体是在其一个或多个高变区中具有一个或多个改变的抗体,与不具有那些改变的亲本抗体相比,其引起抗体对抗原的亲和力的改善。在一些实施例中,亲和力成熟抗体可以对靶抗原具有微摩尔亲和力。在一些实施例中,亲和力成熟抗体可以对靶抗原具有纳摩尔或甚至皮摩尔亲和力。通过本领域已知的程序产生亲和力成熟抗体。

[0081] “阻断”抗体或“拮抗剂”抗体是抑制或降低其所结合的抗原的生物活性的抗体。在一些实施例中,阻断抗体或拮抗剂抗体基本上或完全抑制抗原的生物活性。如本文所使用的,“激动剂抗体”是模拟所关注的多肽的功能活性中的至少一种功能活性的抗体。如本文所使用的,关于蛋白质-抑制剂(例如,拮抗剂)相互作用的术语“抑制(inhibition)”“抑制(inhibit)”、“抑制(inhibiting)”等意指,相对于在不存在抑制剂的情况下蛋白质的活性或功能,负面影响(例如,降低)蛋白质的活性或功能。在一些实施例中,抑制是指疾病或疾病的症状的减少。在一些实施例中,抑制是指信号转导通路或信号传导通路的活性的降低。因此,抑制至少部分地包括部分或完全阻断刺激、减少、阻止或延迟激活、脱敏或下调信号转导或酶活性或蛋白质的量。

[0082] “结合亲和力”是指分子(例如,抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如,抗原)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,否则如本文所使用的,“结合亲和力”是指反映结合对(例如,抗体和抗原)的成员之间1:1相互作用的固有结合亲和力。分子X对其配偶体Y的亲和力通常可以由解离常数(Kd)表示。亲和力可以通过本领域已知的常见方法来测量,包括本文所描述的那些方法。低亲和力抗体通常会缓慢与抗原结合并倾向于容易解离,而高亲和力抗体通常更快地与抗原结合并倾向于保持更长的结合。多种测量结合亲和力的方法是本领域已知的,其中任何一种都可以用于本公开的目的。“表位”通常是指与抗体的抗原结合位点结合的抗原部分。在一些实施例中,表位可以是“线性”的,因为形成抗原结合位点的抗体CDR的高变环与一级蛋白质结构中的氨基酸的序列结合。在一些实施例中,表位是“构象表位”,即CDR的高变环与残基结合的表位,因为其存在于三级或四级蛋白质结构中。

[0083] 在前述组合物的一些实施例中,蛋白质,例如治疗生物制品是抗体。在一些实施例中,抗体包括但不限于3F8、阿巴伏单抗(Abagovomab)、阿巴西普(Abatacept)、阿昔单抗(Abciximab)、阿比妥珠单抗(Abituzumab)、阿泽奇单抗(Abrezekimab)、阿利鲁单抗(Abrilumab)、阿奇莫单抗(Acritumomab)、阿克托舒单抗(Actoxumab)、阿比妥珠单抗、阿达木单抗-adbm(Adalimumab-adbm)、阿达木单抗-atto(Adalimumab-atto)、阿达木单抗-bwwb(Adalimumab-bwwb)、阿德木单抗(Adecatumumab)、阿多-恩美曲妥珠单抗(Ado-trastuzumab emtansine)、阿杜那单抗(Aducantumab)、阿法库单抗(Afasevikumab)、阿非莫单抗(Afelimomab)、阿柏西普(Aflibercept)、阿夫珠单抗(Afutuzumab)、培戈-阿拉赛珠单抗(Alacizumab pegol)、ALD518、阿法西普(Alefaccept)、阿仑单抗(Alemtuzumab)、阿利库单抗(Alirocumab)、喷替酸阿妥莫单抗(Altumomab pentetate)、阿麦妥单抗(Amatuximab)、马安那莫单抗(Anatumomab mafenatox)、安利西单抗(andelaliximab)、雷星-阿奈妥单抗(Anetumab ravtansine)、阿尼鲁单抗(Anifrolumab)、安芦组单抗(Anrukinzumab)、安舒韦单抗(Ansuvimab)、阿泊珠单抗(Apolizumab)、阿普单抗依沙多汀(Aprutumab ixadotin)、阿西莫单抗(Arcitumomab)、阿伐苏单抗(Ascrinvacumab)、阿塞珠单抗(Aselizumab)、阿特朱单抗(Atezolizumab)、阿度尤单抗(Atidortoxumab)、阿替奴单抗(Atinumab)、阿特利珠单抗(Atlizumab)、阿替韦单抗(Atoltivimab)、阿托木单抗(Atorolimumab)、阿维单抗(Avelumab)、维汀-阿兹特殊单抗(Azintuxizumab vedotin)、巴皮尼珠单抗(Bapineuzumab)、巴利昔单抗(Basiliximab)、巴维妥昔单抗(Bavituximab)、BCD-100、贝妥莫单抗(Bectumomab)、贝戈洛单抗(Begelomab)、贝兰妥单抗莫福汀(belantamab mafodotin)、贝拉西普(Belatacept)、贝利尤单抗(Belimumab)、贝马里妥珠单抗(Bemarituzumab)、贝那利珠单抗(Benralizumab)、贝迈奇单抗(Bermekimab)、伯桑利单抗(Bersanlimab)、柏替木单抗(Bertilimumab)、贝索单抗(Besilesomab)、贝伐单抗(Bevacizumab)、贝伐单抗-awwb(Bevacizumab-awwb)、贝洛托舒单抗(Bezlotoxumab)、比西单抗(Biciromab)、比玛卢单抗(Bimagrumab)、比美吉珠单抗(Bimekizumab)、泊特埃单抗(Birtamimab)、莫星-比伐珠单抗(Bivatuzumab mertansine)、布来鲁单抗(Bleselumab)、博纳吐单抗(Blinatumomab)、布隆妥维单抗(Blontuvetmab)、布索组单抗(Blosozumab)、伯考赛珠单抗(Bococizumab)、布雷库单抗(Brazikumab)、维汀-布妥昔单抗(Brentuximab vedotin)、布雷奴单抗(Briakinumab)、布罗达单抗(Brodalumab)、布西珠单抗(Brolucizumab)、布隆妥珠单抗(Brontictuzumab)、布洛舒单抗(Burosumab)、卡比利珠单抗(Cabiralizumab)、替卡利尤单抗(Camidanolumab tesirine)、卡瑞利珠单抗(Camrelizumab)、康纳单抗(Canakinumab)、莫坎妥珠单抗(Cantuzumab mertansine)、雷坎妥组单抗(Cantuzumab ravtansine)、卡帕珠单抗(Caplacizumab)、卡罗单抗喷地肽(Capromab pendetide)、卡芦单抗(Carlumab)、卡罗妥昔单抗(Carotuximab)、卡妥索单抗(Catumaxomab)、cBR96-阿霉素(doxorubicin)免疫缀合物、西利珠单抗(Cedelizumab)、西米普利单抗(Cemiplimab)、阿姆白介素-瑟妥珠单抗(Cergutuzumab amunaleukin)、阿姆白介素-瑟妥珠单抗、培塞利珠单抗(Certolizumab pegol)、西利单抗(Cetrelimab)、西妥昔单抗(Cetuximab)、西必塞单抗(Cibisatamab)、西妥珠单抗(Cirmtuzumab)、泊西他组单抗(Citatuzumab bogatox)、西妥木单抗(Cixutumumab)、克拉扎珠单抗(Clazakizumab)、克立昔单抗(Clenoliximab)、泰坦-克利妥珠单抗(Clivatuzumab tetraxetan)、考曲妥珠单抗

(Codrituzumab)、培汀-考非妥珠单抗(Cofetuzumab pelidotin)、雷星-考妥昔单抗(Coltuximab ravtansine)、可那木单抗(Conatumumab)、康赛珠单抗(Concizumab)、考韦昔单抗(Cosfroviximab)、克瑞组单抗(Crenezumab)、CR6261、立赞利珠单抗(Crizanlizumab)、克罗特度单抗(Crotedumab)、古妥珠单抗(Cusatuzumab)、达西组单抗(Dacetuzumab)、达克珠单抗(Daclizumab)、达罗托组单抗(Dalotuzumab)、培戈-达匹利珠单抗(Dapirolizumab pegol)、达雷妥尤单抗(Daratumumab)、德屈库单抗(Dectrekumab)、登赛珠单抗(Demcizumab)、地尼白介素(Denileukin diftitox)、玛汀-地宁妥珠单抗(Denintuzumab mafodotin)、地舒单抗(Denosumab)、玛汀-迪妥昔珠单抗(Debatuxizumab mafodotin)、美妥昔单抗生物素(Derlotuximab biotin)、地莫单抗(Detumomab)、迪扎米珠单抗(Dezamizumab)、地努妥昔单抗(Dinutuximab)、地利伏单抗(Diridavumab)、多玛洛珠单抗(Domagrozumab)、阿托度单抗(Dorlimomab aritox)、多塔利单抗(Dostarlimab)、曲齐妥单抗(Drozitumab)、DS-8201、度立果单抗(Duligotumab)、杜匹鲁单抗(Dupilumab)、度伐利尤单抗(Durvalumab)、度司妥单抗(Dusigitumab)、度妥昔珠单抗(Duvortuxizumab)、依美昔单抗(Ecromeximab)、依库丽单抗(Eculizumab)、埃巴单抗(Edobacomab)、依决洛单抗(Edrecolomab)、依法利珠单抗(Efalizumab)、依芬古单抗(Efungumab)、埃迪鲁单抗(Eldelumab)、依来努单抗(Elezanumab)、依更妥单抗(Elgemitumab)、埃罗妥珠单抗(Elotuzumab)、艾西莫单抗(Elsilimomab)、依米妥珠单抗(Emactuzumab)、依玛妥珠单抗(Emibetuzumab)、艾米珠单抗(Emicizumab)、维汀-埃万妥珠单抗(Enapotamab vedotin)、依那妥组单抗(Enavatuzumab)、维汀-恩诺单抗(Enfortumab vedotin)、培戈赖莫单抗(Enlimomab pegol)、依诺妥珠单抗(Enoblituzumab)、依诺凯组单抗(Enokizumab)、依诺苏单抗(Enoticumab)、恩妥昔单抗(Ensituximab)、西依匹莫单抗(Epitumomab cituxetan)、依泊汀 α (Epoetin-alfa)、依泊汀 α -epbx(Epoetin-alfa-epbx)、依帕珠单抗(Epratuzumab)、依普奈珠单抗(Eptinezumab)、依瑞奈尤单抗(Erenumab)、厄利珠单抗(Erlizumab)、厄妥索单抗(Ertumaxomab)、依那西普(Etanercept)、依那西普-szss(Etanercept-szss)、埃达组单抗(Etaracizumab)、艾替利单抗(Etigilimab)、依曲利组单抗(Etrolizumab)、依维苏单抗(Evinacumab)、依洛尤单抗(Evolocumab)、艾韦单抗(Exbivirumab)、因子VIII Fc融合蛋白、因子IX Fc融合蛋白、法索单抗(Fanolesomab)、法拉莫单抗(Faralimomab)、法瑞西单抗(Faricimab)、法妥组单抗(Farletuzumab)、法司努单抗(Fasinumab)、泛维珠单抗(Felvizumab)、非扎奴单抗(Fezakinumab)、非巴妥组单抗(Fibatuzumab)、非拉妥组单抗(Ficlatuzumab)、芬妥木单抗(Figitumumab)、非格司亭(Filgrastim)、非格司亭-sndz(Filgrastim-sndz)、非利伏单抗(Firivumab)、法兰妥单抗(Flanvotumab)、夫来库单抗(Fletikumab)、伏妥珠单抗(Flotetuzumab)、芳妥珠单抗(Fontolizumab)、福雷芦单抗(Foralumab)、福拉韦单抗(Foravirumab)、瑞玛奈珠单抗(Fremanezumab)、非苏木单抗(Fresolimumab)、弗洛西单抗(Frovocimab)、夫卢维单抗(Frunevetmab)、福拉奴单抗(Fulranumab)、伏妥昔单抗(Futuximab)、加卡奈组单抗(Galcanezumab)、加利昔单抗(Galiximab)、加尼妥单抗(Ganitumab)、更汀芦单抗(Gantenerumab)、伽妥珠单抗(Gatipotuzumab)、加维莫单抗(Gavilimomab)、格迪伏单抗(Gedivumab)、吉妥珠单抗奥唑米星(Gemtuzumab ozogamicin)、吉伏组单抗(Gevokizumab)、吉尔维特单抗(Gilvetmab)、瑾司鲁单抗(Gimsilumab)、吉妥昔单抗

(Girentuximab)、维汀-格仑妥木单抗(Glembatumumab vedotin)、戈利木单抗(Golimumab)、鲁昔单抗(Gomiliximab)、戈萨纳单抗(Gosuranemab)、古塞奇尤单抗(Guselkumab)、艾巴利珠单抗(Ibalizumab)、IBI308、替伊莫单抗(Ibritumomab tiuxetan)、艾芦库单抗(Icrucumab)、依达赛珠单抗(Idarucizumab)、依伐博珠单抗(Ifabotuzumab)、伊戈伏单抗(Igovomab)、维汀-依达妥珠单抗(Ifabotuzumab vedotin)、IMAB362、伊玛鲁单抗(Imalumab)、伊普利单抗(Imaprelimab)、英西单抗(Imciromab)、伊马曲单抗(Imgatuzumab)、英拉苏单抗(Inclacumab)、雷星-英达妥昔单抗(Indatuximab ravtansine)、维汀-英度妥单抗(Indusatumab vedotin)、英比利珠单抗(Inebilizumab)、英夫利昔单抗(Infliximab)、英夫利昔单抗-abda(Infliximab-abda)、英夫利昔单抗-dyyb(Infliximab-dyyb)、英夫利昔单抗-qbtX(Infliximab-qbtX)、英妥木单抗(Intetumumab)、伊诺莫单抗(inolimomab)、奥英妥珠单抗(Inotuzumab ozogamicin)、伊匹单抗(Ipilimumab)、伊欧单抗-B(Iomab-B)、伊妥木单抗(Iratumumab)、艾萨妥昔单抗(Isatuximab)、伊卡利单抗(Iscalimab)、异妥单抗(Istiratumab)、伊利组单抗(Itolizumab)、依奇珠单抗(Ixekizumab)、凯利昔单抗(Keliximab)、拉贝珠单抗(Labetuzumab)、拉妥珠单抗(Lacnotuzumab)、维汀-拉迪兰妥珠单抗(Ladiratuzumab vedotin)、兰伯丽珠单抗(Lambrolizumab)、兰帕利珠单抗(Lampalizumab)、拉那鲁单抗(Lanadelumab)、兰洛珠单抗(Landogrozumab)、恩星-拉妥昔单抗(Laprituximab emtansine)、拉韦昔单抗(Larcaviximab)、来瑞组单抗(Lebrikizumab)、来马索单抗(Lemalesomab)、兰达利珠单抗(Lendalizumab)、伦韦单抗(Lenvervimab)、仑兹鲁单抗(Lenzilumab)、乐德木单抗(Lerdelimumab)、乐昂立单抗(Leronlimab)、来索伏单抗(Lesofavumab)、来曲单抗(Letolizumab)、来沙木单抗(Lexatumumab)、利韦单抗(Libivirumab)、维汀-利法妥珠单抗(Lifastuzumab vedotin)、利戈组单抗(Ligelizumab)、朗妥昔单抗(Loncastuximab tesirine)、维汀-罗妥昔珠单抗(Losatuxizumab vedotin)、利洛单抗沙曲西坦(Lilotomab satetraxetan)、林妥珠单抗(Lintuzumab)、利瑞鲁单抗(Lirilumab)、洛迪赛珠单抗(Lodelcizumab)、洛吉维单抗(Lokivetmab)、莫星-洛沃妥珠单抗(Lorvotuzumab mertansine)、卢卡珠单抗(Lucatumumab)、鲁利珠单抗(Lulizumab pegol)、鲁昔单抗(Lumiliximab)、鲁妥珠单抗(Lumretuzumab)、阿汀-鲁帕妥单抗(Lupartumab amadotin)、鲁替卡珠单抗(Lutikizumab)、玛替韦单抗(Maftivimab)、马塔单抗(Mapatumumab)、马妥昔单抗(Margetuximab)、马塔西单抗(Marstacimab)、马司莫单抗(Maslimomab)、马维里单抗(Mavriliimumab)、马妥单抗(Matuzumab)、美泊利单抗(Mepolizumab)、迈他珠单抗(Metelimumab)、米拉珠单抗(Milatuzumab)、明妥莫单抗(Minretumomab)、米利珠单抗(Mirikizumab)、索星-米妥昔单抗(Mirvetuximab soravtansine)、米妥莫单抗(Mitumomab)、莫妥昔单抗(modotuximab)、莫加利单抗(Mogamulizumab)、莫那利珠单抗(Monalizumab)、莫罗木单抗(Morolimumab)、莫舒尼妥珠单抗(Mosunetuzumab)、莫维组单抗(Motavizumab)、帕舒托-莫塞妥莫单抗(Moxetumomab pasudotox)、莫罗单抗-CD3(Muromonab-CD3)、他那可单抗(Nacolomab tafenatox)、那美芦单抗(Namilumab)、埃托-那普妥莫单抗(Naptumomab estafenatox)、恩星-那妥昔单抗(Naratuximab emtansine)、纳妥单抗(Narnatumab)、那他珠单抗(Natalizumab)、那赛昔珠单抗(Navicixizumab)、那韦伏

单抗 (Navivumab)、那昔妥单抗 (Naxitamab)、奈巴库单抗 (Nebacumab)、奈米单抗 (Necitumumab)、奈莫利珠单抗 (Nemolizumab)、NEOD001、奈瑞莫单抗 (Nerelimomab)、奈伐苏单抗 (Nesvacumab)、奈塔基单抗 (Netakimab)、尼妥珠单抗 (Nimotuzumab)、尼塞韦单抗 (Nirsevimab)、纳武单抗 (Nivolumab)、疏诺莫单抗-美培坦偶联物 (Nofetumomab merpentan)、奥托萨昔单抗 (Obiltoxaximab)、奥滨尤妥珠单抗 (Obinutuzumab)、奥卡鲁单抗 (Ocaratuzumab)、奥瑞珠单抗 (ocrelizumab)、奥西韦单抗 (Odesivimab)、奥西韦单抗-ebgn (Odesivimab-ebgn)、奥度莫单抗 (odulimomab)、奥法木单抗 (Ofatumumab)、奥拉木单抗 (Olaratumab)、奥列克鲁单抗 (Oleclumab)、奥仑达利珠单抗 (Olendalizumab)、奥昔单抗 (Olokizumab)、奥马珠单抗 (Omalizumab)、奥博妥单抗 (Omburtamab)、OMS721、阿那妥单抗 (Onartuzumab)、恩妥昔单抗 (Ontuxizumab)、奥瓦利单抗 (Onvatilimab)、奥匹努单抗 (Opicinumab)、莫妥组单抗 (Oportuzumab monatox)、奥戈伏单抗 (Oregovomab)、奥替苏单抗 (Orticumab)、奥昔组单抗 (Otelixizumab)、奥替利单抗 (Otilimab)、奥乐妥珠单抗 (Otlertuzumab)、奥塞芦单抗 (Oxelumab)、奥扎奈珠单抗 (Ozanezumab)、奥利组单抗 (Ozoralizumab)、帕昔单抗 (Pagibaximab)、帕利珠单抗 (Palivizumab)、潘瑞鲁单抗 (Pamrevlumab)、帕尼单抗 (Panitumumab)、潘科曼单抗 (Pankomab)、泛巴单抗 (Panobacumab)、帕撒单抗 (Parsatuzumab)、帕昔单抗 (Pascolizumab)、帕妥昔珠单抗 (Pasotuxizumab)、帕替利单抗 (Pateclizumab)、帕特利单抗 (Patritumab)、PDR001、聚乙二醇非格司亭-jmdb (Pegfilgrastim-jmdb)、派姆单抗 (Pembrolizumab)、帕特姆单抗 (Pemtumomab)、培拉凯珠单抗 (Perakizumab)、帕妥珠单抗 (Pertuzumab)、培克珠单抗 (Pexelizumab)、匹地利珠单抗 (Pidilizumab)、维汀-匹那妥珠单抗 (Pinatuzumab vedotin)、平妥莫单抗 (Pintumomab)、普拉鲁单抗 (Placulumab)、洛扎利珠单抗 (Plozalizumab)、珀伽利珠单抗 (Pogalizumab)、维汀-泊洛妥珠单抗 (Polatuzumab vedotin)、庞尼泽单抗 (Ponezumab)、珀韦昔单抗 (Porgaviximab)、普拉西珠单抗 (Prasinezumab)、普瑞利珠单抗 (Prezalizumab)、普立昔单抗 (Priliximab)、普罗昔单抗 (Pritoxaximab)、普林木单抗 (Pritumumab)、PRO 140、奎利珠单抗 (Quilizumab)、拉曲妥珠单抗 (Racotumomab)、雷曲妥单抗 (Radretumab)、雷韦单抗 (Rafivirumab)、雷泮赛珠单抗 (Ralpancizumab)、雷莫芦单抗 (Ramucirumab)、雷奈维单抗 (Ranevetmab)、雷尼珠单抗 (Ranibizumab)、雷昔库单抗 (Raxibacumab)、拉瓦加利单抗 (Ravagalimab)、雷夫利珠单抗 (Ravulizumab)、瑞法奈珠单抗 (Refanezumab)、瑞加韦单抗 (Regavirumab)、瑞拉利单抗 (Relatlimab)、壬托鲁单抗 (Remtolumab)、瑞利珠单抗 (Reslizumab)、利纳西普 (Rilonacept)、利妥木单抗 (Rilotumumab)、利努苏单抗 (Rinucumab)、瑞莎珠单抗 (Risankizumab)、利妥昔单抗、利妥昔单抗-abbs (Rituximab-abbs)、利妥昔单抗-arrx (Rituximab-arrx)、利妥昔单抗-pvvr (Rituximab-pvvr)、培戈-利伐巴珠单抗 (Rivabazumab pegol)、培戈-利伐巴珠单抗、罗妥木单抗 (Robatumumab)、R单抗 (Rmab)、罗来度单抗 (Roledumab)、若奇单抗 (Romilkimab)、罗米司亭 (Romiplostim)、罗莫索单抗 (Romosozumab)、罗他珠单抗 (Rontalizumab)、洛曼妥珠单抗 (Rosmantuzumab)、罗伐尔匹珠单抗替西林 (Roalpituzumab tesirine)、罗伐尔匹珠单抗替西林、罗维珠单抗 (Rovelizumab)、洛利昔珠单抗 (Rozanolixizumab)、卢利珠单抗 (Ruplizumab)、戈沙妥珠单抗 (Sacituzumab govitecan)、沙马组单抗 (Samalizumab)、维汀-沙马妥单抗 (Samrotamab)

vedotin)、萨佩利珠单抗(Sapelizumab)、沙利鲁单抗(Sarilumab)、萨特利珠单抗(Satralizumab,SA237)、沙妥莫单抗喷地肽(Satumomab pendetide)、苏金单抗(Secukinumab)、赛利克鲁单抗(Selicrelumab)、瑟瑞妥单抗(Seribantumab)、瑟托萨昔单抗(Setoxaximab)、塞特苏单抗(Setrusumab)、司韦单抗(Sevirumab)、西罗珠单抗(Sibrotuzumab)、SGN-CD19A、SGN-CD33A、SHP647、西法木单抗(Sifalimumab)、司妥昔单抗(Siltuximab)、辛妥珠单抗(Simtuzumab)、西利珠单抗(Siplizumab)、维汀-斯妥尤单抗(Sirtratumab vedotin)、西鲁库单抗(Sirukumab)、维汀-索非妥珠单抗(Sofituzumab vedotin)、苏兰组单抗(Solanezumab)、索利托单抗(Solitomab)、松尼普西组单抗(Sonepcizumab)、松妥组单抗(Sontuzumab)、斯巴达珠单抗(Spartalizumab)、司他芦单抗(Stamulumab)、硫索单抗(Sulesomab)、舒他伏单抗(Suptavumab)、苏替莫单抗(Sutimlimab)、舒维组单抗(Suvizumab)、苏托舒单抗(Suvrattoxumab)、他贝芦单抗(Tabalumab)、钇替组单抗(Tacatuzumab tetraxetan)、他度组单抗(Tadocizumab)、坦昔妥单抗(Tafasitamab)、他拉库珠单抗(Talacotuzumab)、他利珠单抗(Talizumab)、坦妥维单抗(Tamtuvetmab)、他尼组单抗(Tanezumab)、帕他莫单抗(Taplitumomab paptox)、他瑞妥单抗(Tarextumab)、他利昔珠单抗(Tavolimab)、替非组单抗(Tefibazumab)、阿替莫单抗(Telimomab aritox)、维汀-特利索单抗(Telisotuzumab vedotin)、替妥莫单抗(Tenatumomab)、替奈昔单抗(Teneliximab)、替利组单抗(Teplizumab)、替普迪他单抗(Tepoditamab)、替妥木单抗(Teprotumumab)、特度鲁单抗(Tesidolumab)、利洛托单抗(Tetulomab)、特折鲁单抗(Tezepelumab)、TGN1412、替布利珠单抗(Tibulizumab)、替西木单抗(Ticilimumab)、替曲吉珠单抗(Tildrakizumab)、替加妥单抗(Tigatuzumab)、替米妥珠单抗(Timigutuzumab)、替莫鲁单抗(Timolumab)、替拉戈珠单抗(Tiragotumab)、替雷利珠单抗(Tislelizumab)、维汀-替索妥单抗(Tisotumab vedotin)、TNX-650、托珠单抗(Tocilizumab)、托木妥昔单抗(Tomuzotuximab)、托拉珠单抗(Toralizumab)、托萨托舒单抗(Tosattoxumab)、托西莫单抗(Tositumomab)、托维妥单抗(Tovetumab)、曲罗芦单抗(Tralokinumab)、曲妥珠单抗、曲妥珠单抗-anns、曲妥珠单抗-dkst、曲妥珠单抗-dttb、恩美曲妥珠单抗(Trastuzumab emtansine)、曲妥珠单抗-pkrb、曲利组单抗(Tregalizumab)、曲美木单抗(Tremelimumab)、曲戈卢单抗(Trevogrumab)、西莫白介素单抗(Tucotuzumab celmoleukin)、妥韦单抗(Tuvirumab)、乌妥昔单抗(Ublituximab)、乌洛鲁单抗(Ulocuplumab)、乌瑞芦单抗(Urelumab)、乌珠单抗(Urttoxazumab)、乌司奴单抗(Ustekinumab)、乌托鲁单抗(Utomilumab)、他立林-伐达妥昔单抗(Vadastuximab talirine)、万纳立单抗(Vanalimab)、维汀-万多妥珠单抗(Vandortuzumab vedotin)、万替妥单抗(Vantictumab)、伐努赛珠单抗(Vanucizumab)、伐利昔单抗(Vapaliximab)、伐利苏单抗(Varisacumab)、伐立鲁单抗(Varlilumab)、伐他珠单抗(Vatelizumab)、维多珠单抗(Vedolizumab)、维妥珠单抗(Veltuzumab)、维帕莫单抗(Vepalimomab)、维森单抗(Vesencumab)、维西珠单抗(Visilizumab)、沃巴利珠单抗(Vobarilizumab)、伏洛昔单抗(Volociximab)、珀伽利珠单抗(Vonlerolizumab)、伏派利单抗(Vopratelimab)、玛汀-沃瑟妥珠单抗(Vorsetuzumab mafodotin)、伏妥莫单抗(Votumumab)、珍妥珠单抗(Xentuzumab)、XMAB-5574、扎芦木单抗(Zalutumumab)、扎木单抗(Zanolimumab)、扎妥昔单抗(Zatuximab)、泽诺妥珠单抗(Zenocutuzumab)、扎若利珠单抗(Ziralimumab)、佐妥昔单

抗(Zolbetuximab, IMAB362, 克莱迪西单抗(Claudiximab))、Ziv-阿柏西普(Ziv-Aflibercept)或阿佐莫单抗(Zolimomab aritox)。

[0084] 在所述组合物的一些实施例中,抗体是单克隆的。在某些实施例中,单克隆抗体包括但不限于3F8、8H9、阿巴西普、阿巴伏单抗、阿昔单抗、阿比妥珠单抗、阿达木单抗-adbm、阿达木单抗-atto、阿达木单抗-bwwb、阿利鲁单抗、阿克托舒单抗、阿比妥珠单抗、阿泽奇单抗、阿利鲁单抗、阿克托舒单抗、阿达木单抗、阿德木单抗、阿多-恩美曲妥珠单抗、阿杜那单抗、阿法库单抗、阿非莫单抗、阿柏西普、阿夫珠单抗、培戈-阿拉赛珠单抗、ALD518、阿法西普、阿仑单抗、阿利库单抗、喷替酸阿妥莫单抗、阿麦妥单抗、马安那莫单抗、安利西单抗、雷星-阿奈妥单抗、阿尼鲁单抗、安芦组单抗(IMA-638)、安舒韦单抗、阿泊珠单抗、阿西莫单抗、阿伐苏单抗、阿塞珠单抗、阿特朱单抗、阿度尤单抗、阿替奴单抗、阿特利珠单抗(托珠单抗)、阿替韦单抗、阿托木单抗、阿维单抗、巴皮尼珠单抗、巴利昔单抗、贝伐单抗、贝伐单抗-awwb、BCD-100、贝妥莫单抗、贝戈洛单抗、贝拉西普、贝利尤单抗、贝马里妥珠单抗、贝那利珠单抗、贝迈奇单抗、伯桑利单抗、柏替木单抗、贝索单抗、贝洛托舒单抗、比西单抗、比玛卢单抗、比美吉珠单抗、泊特埃单抗、莫星-比伐珠单抗、布来鲁单抗、博纳吐单抗、布隆妥维单抗、布索组单抗、伯考赛珠单抗、布雷库单抗、维汀-布妥昔单抗、布雷奴单抗、布罗达单抗、布西珠单抗、布隆妥珠单抗、布洛舒单抗、卡比利珠单抗、卡瑞利珠单抗、康纳单抗、莫坎妥珠单抗、雷坎妥组单抗、卡帕珠单抗、卡罗单抗喷地肽、卡芦单抗、卡罗妥昔单抗、卡妥索单抗、西利珠单抗、西米普利单抗、培塞利珠单抗、西利单抗、西妥昔单抗、西必塞单抗、西妥珠单抗、Ch.14.18、泊西他组单抗、西妥木单抗、克拉扎珠单抗、克立昔单抗、泰坦-克利妥珠单抗、考曲妥珠单抗、培汀-考非妥珠单抗、雷星-考妥昔单抗、可那木单抗、康赛珠单抗、考韦昔单抗、克瑞组单抗、CR6261、立赞利珠单抗、克罗特度单抗、古妥珠单抗、达西组单抗、达克珠单抗、达罗托组单抗、培戈-达匹利珠单抗、达雷妥尤单抗、德屈库单抗、登赛珠单抗、地尼白介素、玛汀-地宁妥珠单抗、地舒单抗、美妥昔单抗生物素、地莫单抗、迪扎米珠单抗、地努妥昔单抗、地利伏单抗、多玛洛珠单抗、阿托度单抗、多塔利单抗、曲齐妥单抗、度立果单抗、杜匹鲁单抗、度伐利尤单抗、度司妥单抗、度妥昔珠单抗、依美昔单抗、依库丽单抗、埃巴单抗、依决洛单抗、依法利珠单抗、依芬古单抗、埃迪鲁单抗、依来努单抗、依更妥单抗、埃罗妥珠单抗、艾西莫单抗、依米妥珠单抗、依玛妥珠单抗、艾米珠单抗、依那妥组单抗、维汀-恩诺单抗、培戈赖莫单抗、依诺妥珠单抗、依诺凯组单抗、依诺苏单抗、恩妥昔单抗、西依匹莫单抗、依泊汀 α 、依泊汀 α -epbx、依帕珠单抗、依普奈珠单抗、依瑞奈尤单抗、厄利珠单抗、厄妥索单抗、依那西普、依那西普-szss、埃达组单抗、艾替利单抗、依曲利组单抗、依维苏单抗、依洛尤单抗、艾韦单抗、因子VIII Fc融合蛋白、因子IX Fc融合蛋白、法索单抗、法拉莫单抗、法瑞西单抗、法妥组单抗、法司努单抗、FBTA05、泛维珠单抗、非扎奴单抗、非巴妥组单抗、非拉妥组单抗、芬妥木单抗、非格司亭、非格司亭-sndz、非利伏单抗、法兰妥单抗、夫来库单抗、伏妥珠单抗、芳妥珠单抗、福雷芦单抗、福拉韦单抗、瑞玛奈珠单抗、非苏木单抗、弗洛西单抗、夫卢维单抗、福拉奴单抗、伏妥昔单抗、加卡奈组单抗、加利昔单抗、加尼妥单抗、更汀芦单抗、伽妥珠单抗、加维莫单抗、格迪伏单抗、吉妥珠单抗奥唑米星、吉伏组单抗、吉尔维特单抗、瑾司鲁单抗、吉妥昔单抗、维汀-格仑妥木单抗、戈利木单抗、鲁昔单抗、戈萨纳单抗、古塞奇尤单抗、艾巴利珠单抗、IBI308、替伊莫单抗、艾芦库单抗、依达赛珠单抗、依伐博珠单抗、伊戈伏单抗、IMAB362、伊玛鲁单抗、伊普利单抗、英西单抗、伊马曲单抗、英拉苏

单抗、雷星-英达妥昔单抗、维汀-英度妥单抗、英比利珠单抗、英夫利昔单抗、英夫利昔单抗-abda、英夫利昔单抗-dyyb、英夫利昔单抗-qbtx、英妥木单抗、伊诺莫单抗、奥英妥珠单抗、伊匹单抗、伊妥木单抗、艾萨妥昔单抗、伊卡利单抗、异妥单抗、伊利组单抗、依奇珠单抗、凯利昔单抗、拉贝珠单抗、拉妥珠单抗、兰伯丽珠单抗、兰帕利珠单抗、拉那鲁单抗、兰洛珠单抗、拉韦昔单抗、来瑞组单抗、来马索单抗、兰达利珠单抗、伦韦单抗、仑兹鲁单抗、乐德木单抗、乐昂立单抗、来索伏单抗、来曲单抗、来沙木单抗、利韦单抗、维汀-利法妥珠单抗、利戈组单抗、利洛单抗沙曲西坦、林妥珠单抗、利瑞鲁单抗、洛迪赛珠单抗、洛吉维单抗、莫星-洛沃妥珠单抗、卢卡珠单抗、鲁利珠单抗、鲁昔单抗、鲁妥珠单抗、鲁替卡珠单抗、玛替韦单抗、马塔单抗、马妥昔单抗、马塔西单抗、马司莫单抗、马维里单抗、马妥单抗、美泊利单抗、迈他珠单抗、米拉珠单抗、明妥莫单抗、米利珠单抗、索星-米妥昔单抗、米妥莫单抗、莫妥昔单抗、莫加利单抗、莫那利珠单抗、莫罗木单抗、莫舒尼妥珠单抗、莫维组单抗、帕舒托-莫塞妥莫单抗、莫罗单抗-CD3、他那可单抗、那美芦单抗、埃托-那普妥莫单抗、纳妥单抗、那他珠单抗、那赛昔珠单抗、那韦伏单抗、那昔妥单抗、奈巴库单抗、奈米单抗、奈莫利珠单抗、NEOD001、奈瑞莫单抗、奈伐苏单抗、奈塔基单抗、尼妥珠单抗、尼塞韦单抗、纳武单抗、疏诺莫单抗-美培坦偶联物、奥托萨昔单抗、奥滨尤妥珠单抗、奥卡鲁单抗、奥瑞珠单抗、奥西韦单抗、奥西韦单抗-ebgn、奥度莫单抗、奥法木单抗、奥拉木单抗、奥列克鲁单抗、奥仑达利珠单抗、奥昔单抗、奥马珠单抗、奥博妥单抗、OMS721、阿那妥单抗、恩妥昔单抗、奥瓦利单抗、奥匹努单抗、莫妥组单抗、奥戈伏单抗、奥替苏单抗、奥昔组单抗、奥替利单抗、奥乐妥珠单抗、奥塞芦单抗、奥扎奈珠单抗、帕昔单抗、帕利珠单抗、潘瑞鲁单抗、帕尼单抗、潘科曼单抗、泛巴单抗、帕撒单抗、帕昔单抗、帕妥昔珠单抗、帕替利单抗、帕特利单抗、PDR001、聚乙二醇非格司亭-jmdb、派姆单抗、帕特姆单抗、培拉凯珠单抗、帕妥珠单抗、培克珠单抗、匹地利珠单抗、维汀-匹那妥珠单抗、平妥莫单抗、普拉鲁单抗、洛扎利珠单抗、珀伽利珠单抗、维汀-泊洛妥珠单抗、庞尼泽单抗、珀韦昔单抗、普拉西珠单抗、普瑞利珠单抗、普立昔单抗、普罗昔单抗、普林木单抗、PRO 140、奎利珠单抗、利洛托单抗、拉曲妥珠单抗、雷曲妥单抗、雷韦单抗、雷泮赛珠单抗、雷莫芦单抗、雷奈维单抗、雷尼珠单抗、雷昔库单抗、拉瓦加利单抗、雷夫利珠单抗、瑞法奈珠单抗、瑞加韦单抗、瑞拉利单抗、王托鲁单抗、瑞利珠单抗、利纳西普、利妥木单抗、利努苏单抗、瑞莎珠单抗-rzaa (Risankizumab-rzaa)、利妥昔单抗、利妥昔单抗-abbs、利妥昔单抗-arrx、利妥昔单抗-pvvr、罗妥木单抗、R单抗、罗来度单抗、若奇单抗、罗米司亭、罗莫索单抗、罗他珠单抗、洛曼妥珠单抗、罗维珠单抗、洛利昔珠单抗、卢利珠单抗、戈沙妥珠单抗、沙马组单抗、沙利鲁单抗、萨特利珠单抗 (SA237)、沙妥莫单抗喷地肽、苏金单抗、赛利克鲁单抗、瑟瑞妥单抗、瑟托萨昔单抗、塞特苏单抗、司韦单抗、西罗珠单抗、SGN-CD19A、SGN-CD33A、SHP647、西法木单抗、司妥昔单抗、辛妥珠单抗、西利珠单抗、西鲁库单抗、维汀-索非妥珠单抗、苏兰组单抗、索利托单抗、松尼普西组单抗、松妥组单抗、斯巴达珠单抗、司他芦单抗、硫素单抗、舒他伏单抗、苏替莫单抗、舒维组单抗、苏托舒单抗、他贝芦单抗、钇替组单抗、他度组单抗、坦昔妥单抗、他拉库珠单抗、他利珠单抗、坦妥维单抗、他尼组单抗、帕他莫单抗、他瑞妥单抗、他利昔珠单抗、替非组单抗、阿替莫单抗、替妥莫单抗、替奈昔单抗、替利组单抗、替普迪他单抗、替妥木单抗、特度鲁单抗、利洛托单抗 (利洛单抗)、特折鲁单抗、TGN1412、替布利珠单抗、替西木单抗 (曲美木单抗)、替曲吉珠单抗、替加妥单抗、替米妥珠单抗、替莫鲁单抗、替拉戈珠单抗、替雷利珠单抗、TNX-650、托珠单抗 (阿特利

珠单抗)、托木妥昔单抗、托拉珠单抗、托萨托舒单抗、托西莫单抗、托维妥单抗、曲罗芦单抗、曲妥珠单抗、曲妥珠单抗-anns (Trastuzumab-anns)、曲妥珠单抗-dkst (Trastuzumab-dkst)、曲妥珠单抗-dttb (Trastuzumab-dttb)、恩美曲妥珠单抗 (Trastuzumab emtansine)、曲妥珠单抗-pkrb (Trastuzumab-pkrb)、TRBS07、曲利组单抗、曲美木单抗、曲戈卢单抗、西莫白介素单抗、妥韦单抗、乌妥昔单抗、乌洛鲁单抗、乌瑞芦单抗、乌珠单抗、乌司奴单抗、乌托鲁单抗、万纳立单抗、维汀-万多妥珠单抗、万替妥单抗、伐努赛珠单抗、伐利昔单抗、伐利苏单抗、伐立鲁单抗、伐他珠单抗、维多珠单抗、维妥珠单抗、维帕莫单抗、维森单抗、维西珠单抗、沃巴利珠单抗、伏洛昔单抗、珀伽利珠单抗、伏派利单抗、玛汀-沃瑟妥珠单抗、伏妥莫单抗、珍妥珠单抗、XMA5-5574、扎芦木单抗、扎木单抗、扎妥昔单抗、泽诺妥珠单抗、扎若利珠单抗、佐妥昔单抗 (IMAB362, 克莱迪西单抗)、Ziv-阿柏西普、阿佐莫单抗或来自人患者的样品中的对应的抗药物抗体。在某些实施例中, 单克隆抗体是利妥昔单抗、利妥昔单抗-abbs、利妥昔单抗-arrx或利妥昔单抗-pvvr。在一些实施例中, 单克隆抗体是阿替韦单抗、玛替韦单抗、奥西韦单抗-ebgn或其组合。

[0085] 在一些实施例中, 单克隆抗体是生物仿制药。在一些实施例中, 生物仿制药包括但不限于阿达木单抗-adbm、阿达木单抗-atto、阿达木单抗-bwwb、贝伐单抗-awwb、依泊汀 α -epbx、依那西普-szzs、英夫利昔单抗-abda、英夫利昔单抗-dyyb、英夫利昔单抗-qbtx、非格司亭-sndz、奥西韦单抗-ebgn、聚乙二醇非格司亭-jmdb、聚乙二醇非格司亭-bmez、瑞莎珠单抗-rzaa、利妥昔单抗-abbs、利妥昔单抗-arrx、利妥昔单抗-pvvr、曲妥珠单抗-anns、曲妥珠单抗-dttb、曲妥珠单抗-pkrb或曲妥珠单抗-dkst。在某些实施例中, 活性生物仿制药物质是阿达木单抗、贝伐单抗、依诺肝素钠、依泊汀 α 、依泊汀 ζ 、依那西普、非格司亭、促卵泡素 α 、英夫利昔、甘精胰岛素、赖脯胰岛素、聚乙二醇非格司亭、瑞莎珠单抗、利妥昔单抗、利妥昔单抗-abbs、利妥昔单抗-arrx、利妥昔单抗-pvvr、生长激素 (Somatropin)、特立帕肽 (Teriparatide)、曲妥珠单抗、曲妥珠单抗-anns、曲妥珠单抗-dttb、曲妥珠单抗-pkrb或曲妥珠单抗-dkst。在一些实施例中, 生物仿制药是利妥昔单抗、利妥昔单抗-abbs、利妥昔单抗-arrx或利妥昔单抗-pvvr。在某些实施例中, 生物仿制药是曲妥珠单抗-anns、曲妥珠单抗-dttb、曲妥珠单抗-pkrb或曲妥珠单抗-dkst。

[0086] 在一些实施例中, 靶向部分是来自以下的抗体: 完整多克隆抗体、完整单克隆抗体、抗体片段、单链Fv (scFv) 突变体、多特异性抗体、双特异性抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体、包含抗体的抗原决定簇部分的融合蛋白或包含抗原识别位点的其它经修饰的免疫球蛋白分子。

[0087] 在某些实施例中, 治疗生物制品是雷迪帕韦 (ledipasvir) / 索非布韦 (sofosbuvir)、甘精胰岛素、来那度胺 (lenalidomide)、肺炎球菌13价结合疫苗、氟替卡松 (fluticasone) / 沙美特罗 (salmeterol)、埃替拉韦 (elvitegravir) / 可比司他 (cobicistat) / 恩曲他滨 (emtricitabine) / 替诺福韦艾拉酚胺 (tenofovir alafenamide)、恩曲他滨、利匹韦林 (rilpivirine) 和替诺福韦艾拉酚胺、恩曲他滨 / 替诺福韦艾拉酚胺、格佐匹韦 (grazoprevir) / 艾尔巴韦 (elbasvir)、凝血因子VIIa重组物、依泊汀 α 、阿柏西普或依那西普。

[0088] 在一些实施例中, 治疗生物制品是阿巴西普、阿博伯托林毒素A (AbobotulinumtoxinA)、阿加糖酶 β (Agalsidase beta)、阿必鲁泰 (Albiglutide)、阿地白

介素 (Aldesleukin)、阿葡糖苷酶 α (Alglucosidase alfa)、阿替普酶 (Alteplase, cathflo 活化酶)、阿那白滞素 (Anakinra)、阿司福酶 α (Asfotase alfa)、天冬酰胺酶、菊欧文氏杆菌天冬酰胺酶 (Asparaginase erwinia chrysanthemi)、贝卡普勒明 (Becaplermin)、贝拉西普、胶原蛋白酶、溶组织梭菌胶原蛋白酶 (Collagenase clostridium histolyticum)、达贝泊汀 α (Darbepoetin alfa)、地尼白介素 (Denileukin diftitox)、丹纳酸酶 α (Dornase alfa)、度拉糖肽 (Dulaglutide)、艾卡拉肽 (Ecallantide)、艾加莫德 α -fcab (Efgartigimod alfa-fcab)、依洛硫酸酯酶 α (Elosulfase alfa)、依那西普-szszs、非格司亭、非格司亭-sndz、加硫酶 (Galsulfase)、羧肽酶 (Glucarpidase)、艾杜硫酸酯酶 (Idursulfase)、A型肉毒杆菌毒素 (IncobotulinumtoxinA)、干扰素 α -2b、干扰素 α -n3、干扰素 β -1a、干扰素 β -1b、干扰素 γ -1b、拉罗尼酶 (Laronidase)、甲氧基聚乙二醇-依泊汀 β 、美曲普汀 (Metreleptin)、奥克纤溶酶 (Ocriplasmin)、保妥适 (OnabotulinumtoxinA)、奥普瑞白介素 (Oprelvekin)、帕利夫明 (Palifermin)、甲状旁腺激素、培门冬酶 (Pegaspargase)、聚乙二醇非格司亭、聚乙二醇干扰素 α -2a、与利巴韦林 (ribavirin) 共同包装的聚乙二醇干扰素 α -2a、聚乙二醇干扰素 α -2b、聚乙二醇干扰素 β -1a、贝戈洛酸酶 (Pegloticase)、拉布立酶 (Rasburicase)、瑞替普酶 (Reteplase)、利纳西普、利马博图林毒素B (RimabotulinumtoxinB)、罗米司亭 (Romiplostim)、沙格司亭 (sargramostim)、脂肪酶 α (Sebelipase alfa)、Tbo-非格司亭 (Tbo-filgrastim)、替奈普酶 (Tenecteplase) 或Ziv-阿柏西普。

[0089] 蛋白质,例如,如本文所公开的颗粒中的治疗生物制品的活性/单位为约0.5至约1.0、约0.75至约1.0活性/单位或约0.9至约1.0活性/单位。在颗粒形成之前,相对于相同的蛋白质测量活性。在一些实施例中,蛋白质的活性/单位为约0.5至约1.0。术语“活性”是指蛋白质(例如,抗体、抗体片段、牛血清白蛋白(BSA)或人血清白蛋白(HSA))在两个时间点时的功能或结构方面的比率。比率的分母与在液滴形成前即刻的进料水溶液中的蛋白质的功能或结构方面的度量相对应。比率的分子与在稍后的时间点时,例如,在颗粒形成后即刻的蛋白质的功能或结构方面的相同度量相对应。

[0090] 在一些实施例中,基本上所有的颗粒在处理后的蛋白质(例如,治疗生物制品)的聚集小于约10%,例如小于约9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的聚集小于约5%。在某些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的聚集小于约3%。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的聚集小于约1%。在某些实施例中,基本上所有的颗粒都基本上没有治疗生物制品的任何聚集。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的聚集小于约0.5%。

[0091] 在一些实施例中,基本上所有的颗粒在处理后的蛋白质(例如,治疗生物制品)的碎裂小于约10%。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的碎裂小于约3%。在某些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的碎裂小于约1%。在一些实施例中,基本上所有的颗粒都基本上没有治疗生物制品的任何碎裂。在某些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的碎裂小于约5%。通过使用尺寸排阻色谱法 (SEC) 可以实现用于测量治疗生物制品治疗生物制品的聚集和碎裂的合适方法。

[0092] 在某些实施例中,与颗粒形成之前的治疗生物制品相比,组合物在蛋白质(例如,治疗生物制品)的群体中提供小于约5%的电荷变体的变化(例如,小于约4%、3%、2%或1%)。在一些实施例中,颗粒在处理后的治疗生物制品的群体中的电荷变体的变化小于约

5%。电荷变体可以是酸性的、碱性的或中性的,并且变化可能是由末端氨基酸处的翻译后修饰(如天冬酰胺脱酰胺或赖氨酸糖基化)引起的。例如,电荷变体包括通过C末端赖氨酸残基的缺失而丧失正电荷,通过还原糖使两个赖氨酸氨基酸残基的胺部分共价键合,或通过N末端谷氨酰胺的环化将N末端胺转化为中性酰胺。蛋白质(例如,抗体或片段)上的负电荷可以通过脱酰胺反应将天冬酰胺残基转化为天冬氨酸和/或异天冬氨酸残基而出现。

[0093] 在一些实施例中,与在颗粒形成之前包含至少一种呈可溶性(单体)形式的治疗生物制品的水性组合物相比,基本上所有的颗粒的蛋白质(例如,治疗生物制品)的电荷变体的变化小于约5%。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的电荷变体的变化小于约3%。在某些实施例中,基本上所有的颗粒的治疗生物制品的电荷变体的变化小于约1%。在一些实施例中,基本上所有的颗粒都基本上没有治疗生物制品的电荷变体的任何变化。测量电荷变体的示例性方法包括阳离子交换色谱法(CIEX),其中通过将变体(例如酸性、碱性或中性群体)的峰下面积除以样品谱中的所有峰下含有的累积面积来定量变体。两个样品(例如,样品A和样品B)之间电荷变体群体百分比的变化被计算为相应的群体变体百分比的数值差,即通过从样品A的特定变体(例如,酸性百分比)中减去样品B的特定变体(例如,酸性百分比),或反之亦然。在某些实施例中,分析可以类似地扩展到群体内的所有变体。

[0094] 根据本公开的颗粒是圆形的。圆形度可以作为颗粒的形状的指标。本文所描述的颗粒可以具有特性圆形度,例如,具有基本上为圆形的相对形状。此特性基于颗粒的圆形度来描述和定义其形状。当颗粒具有完全圆形结构时,圆形度为1.0。根据本公开的颗粒具有的圆形度为约0.80至约1.00、0.90至约1.00、0.95至约1.00、0.96至约1.00、0.97至约1.00、0.98至约1.00或0.99至约1.00。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的圆形度为约0.85至约1.00。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的圆形度为约0.90至约1.00。在某些实施例中,基本上所有的颗粒的圆形度为约0.95至约1.00。在特定实施例中,基本上所有的颗粒的圆形度为约0.98至约1.00。在某些实施例中,基本上所有的颗粒的圆形度为约1.00。颗粒的直径和圆形度可以通过处理在电子显微镜等下观察到的图像或流动型颗粒图像分析仪来确定。圆形度也可以通过使颗粒经受圆形度测量并对所得值求平均值来确定。例如,圆形度(circ)可以使用下式计算:

$$[0095] \quad circ = 4 * \pi * \frac{\text{面积}}{\text{周长}^2} \quad \text{等式 1}$$

[0096] 如本文所使用的,术语“周长”是指闭合平面图形的边界或二维图像所有边界的总和。如本文所使用的,术语“面积”是指颗粒的二维图像的横截面积。颗粒的圆形度也可以描述为颗粒的最小尺寸与其最大直径的比率。对于完美的圆,比率为1。圆形度百分比可以通过将圆形度乘以100来计算。圆形度可以例如通过使用任何适于处理图像的软件测量纵横比来计算,例如,通过显微镜,特别是扫描电子显微镜(SEM)或透射电子显微镜(TEM)获得的图像。在一些实施例中,测量颗粒圆形度的方法包括对颗粒的扫描电子显微照片的图像分析,其中平均圆度是基于投影到图像的平面上的颗粒的横截面形状计算的。此类圆度因子可以扩展以鉴定对应的圆形度。

[0097] 在本公开的特定实施例中,如本文所描述的颗粒具有光滑的,而不是脊状或皱纹的表面形态。本公开领域的普通技术人员可以使用常规和标准技术容易地评估所公开颗粒

的表面形态。

[0098] 在某些实施例中,颗粒的直径为约0.1至约1000 μm ,例如,约0.1至约900、800、700、600、500、400、300、200、100、90、80、70、60、50、45、40、35、30、25、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1、0.9、0.8、0.7、0.6、0.5、0.4、0.3或约0.2 μm 。在一些实施例中,颗粒的直径为约1至约100 μm ,例如,约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45或50至约100 μm 。在一些实施例中,颗粒的直径为约4至约100 μm 。在某些实施例中,颗粒的直径为约10至约100 μm 。在某些实施例中,颗粒的直径为约20至约50 μm 。测量粒度和分布的方法包括成像流式细胞术、激光衍射和颗粒的扫描电子显微照片的图像分析,其中可以基于投影到图像的平面上的颗粒的横截面积计算平均球面半径或直径。

[0099] 如本文所使用的,术语“分散性指数”(DI)是表征颗粒的大小分布的不均匀程度的参数。多分散性指数(PDI)、“群体分散性”或“跨度”(例如,D10、D50、D90)也可以意指指示粒度分布的宽度的值。粒度分布通过D10、D50、D90和以 μm 为单位的平均粒度报告,这些值表示小于指定D数的颗粒的百分比,例如D10粒度是10%的质量由直径小于此值的颗粒组成的粒径,D50粒度是50%的质量由直径小于此值颗粒组成的粒径,并且D90粒度是90%的质量由直径小于此值颗粒组成的粒径。D10、D50和D90粒度分布可以使用激光散射粒度仪测量。

[0100] 粒径和分散性也可以影响可注射性(injectability),例如,可注射性(syringeability)。通常建议颗粒是针的内径的至多1/10-1/3。即使小部分的颗粒群体大于针的内径,其也可能堵塞针并引起整个剂量作废。在本文所描述的本公开的某些实施例中,通过混合各种大小的颗粒来实现组合物中的治疗生物制品的高浓度。

[0101] 如本文所使用的,术语“水分”和“水”可以互换使用。在一些实施例中,基本上所有的颗粒的水分含量小于约7重量%,例如,小于约6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1.9重量%、1.8重量%、1.7重量%、1.6重量%、1.5重量%、1.4重量%、1.3重量%、1.2重量%、1.1重量%、1重量%、0.9重量%、0.8重量%、0.7重量%、0.6重量%、0.5重量%、0.4重量%、0.3重量%、0.2重量%或0.1重量%。在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约7重量%的水分。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约5重量%的水分。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约3重量%的水分。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约1重量%的水分。用于测量水分含量的示例性方法包括化学滴定方法,例如,涉及烘箱的卡尔·费歇尔滴定(Karl Fischer titration)。包括水在内的各种溶剂也可以使用涉及热激发的失重方法进行测量。示例性方法包括使用红外光谱的热重分析(TGA-IR)或气相色谱法火焰离子化检测器/质谱法(GC-FID/MS)。

[0102] 如本文所使用的,术语“内部空隙空间”或“内部空隙”与孔或孔隙率相反,不与固体(例如,颗粒)的表面连通,并且不会对孔隙率或表面积产生影响。在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约10%的内部空隙空间,例如,小于约9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%的内部空隙空间。在某些实施例中,基本上所有的颗粒基本上没有任何内部空隙空间。用于确定内部空隙空间的合适方法可以通过使用聚焦离子束扫描电子显微镜(FIB-SEM)来实现,所述FIB-SEM可以用于可视化“可进入”的孔和“不可进入”的空隙空间。另一种用于确定内部空隙空间的方法可以通过气体置换测比重术来实现,这是一种使用气体置换方法来测量体积的常见分析技术。惰性气体(如氦气或氮气)用作置换介质。真实体

积是总体积减去气体可进入的体积。密度是通过将样品重量除以真实体积来计算的。将样品密封在已知体积的仪器室中,引入适当的惰性气体,并且然后膨胀到另一个精确的内部体积。测量膨胀前和膨胀后的压力,并且用于计算样品体积。将此体积除以样品重量,得到气体置换密度。本公开的典型颗粒的横截面指示,如FIB-SEM或使用氦气在约22℃的温度下进行的气体测比重术所示,不存在任何内部空隙空间,以提供通常平均约 $1.3\text{g}/\text{cm}^3$ 的密度,标准偏差为约 $0.0005\text{g}/\text{cm}^3$ 。例如,内部空隙空间可以使用下式计算:内部空隙空间 $=A_v/A_p$,其中 A_v 是空隙空间的总面积,并且 A_p 是颗粒的总面积。本公开的典型颗粒的横截面可以通过多种方式获得和表征,例如,国际申请第PCT/US2020/15957号(公开号WO 2020/160323)和第PCT/US2021/027755号(WO 2021/212019),所述国际申请的各自的内容特此通过全文引用的方式并入。

[0103] 在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约10%的内部空隙空间。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约5%的内部空隙空间。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约3%的内部空隙空间。在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有小于约1%的内部空隙空间。在某些实施例中,基本上所有的颗粒基本上没有任何内部空隙空间。

[0104] 在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约50重量%的蛋白质(例如,治疗生物制品,例如,大于约55重量%、60重量%、65重量%、70重量%、75重量%、80重量%、85重量%、86重量%、87重量%、88重量%、89重量%、90重量%、91重量%、92重量%、93重量%、94重量%、95重量%、96重量%、97重量%、98重量%或99重量%的治疗生物制品)。在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约60重量%的治疗生物制品。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约70重量%的治疗生物制品。在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约80重量%的治疗生物制品。在特定实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约90重量%的治疗生物制品。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约95重量%的治疗生物制品。在某些实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约98重量%的治疗生物制品。在一些实施例中,基本上所有的颗粒具有大于约99重量%的治疗生物制品。

[0105] 术语“赋形剂”是指颗粒调配物中的添加剂,其可以可用于实现颗粒的特性或形态的期望的改性。此类修饰包括但不限于物理稳定性、化学稳定性和治疗功效。示例性赋形剂包括但不限于碳水化合物、pH调节剂、盐、螯合剂、表面活性剂、蛋白质稳定剂、乳化剂、抗菌剂、氨基酸、抗氧化剂、尼泊金酯、杀菌剂、杀真菌剂、防腐剂或其组合。在一些实施例中,基本上所有的颗粒进一步包含一种或多种赋形剂。在一些实施例中,基本上所有的颗粒进一步包含碳水化合物、pH调节剂、盐、螯合剂、表面活性剂、蛋白质稳定剂、乳化剂、氨基酸、抗氧化剂或其组合。在一些实施例中,基本上所有的颗粒进一步包含至少一种碳水化合物和氨基酸。在某些实施例中,基本上所有的颗粒进一步包含至少一种表面活性剂和氨基酸。在某些实施例中,基本上所有的颗粒进一步包含至少一种氨基酸。

[0106] 在一些实施例中,碳水化合物可以来自单糖、二糖、寡糖或多糖家族。在一些实施例中,碳水化合物是葡聚糖、海藻糖、蔗糖、琼脂糖、甘露醇、乳糖、山梨糖醇、麦芽糖、淀粉、海藻酸盐、黄原胶、半乳甘露聚糖、琼脂、琼脂糖或其组合。在某些实施例中,碳水化合物是葡聚糖、海藻糖、蔗糖、琼脂糖、甘露醇、乳糖、山梨糖醇、麦芽糖或其组合。在某些实施例中,碳水化合物是海藻糖、环糊精、羟丙基 β -环糊精、磺丁基醚 β -环糊精、甲基 β -环糊精或其组合。在特定实施例中,碳水化合物是海藻糖、蔗糖、山梨糖醇或其组合。基于葡萄糖单体的数

量的数量,可获得三种不同的形式的环糊精: α 、 β 和 γ 。 α 、 β 和 γ 环糊精中的葡萄糖单体的数量分别为6、7或8。

[0107] 术语“pH调节剂”或“缓冲剂”或“缓冲物种”在本文在最广泛的意义上可以互换使用。在一些实施例中,基本上所有的颗粒包含pH调节剂。在一些实施例中,基本上所有的颗粒包含一种或多种pH调节剂。在某些实施例中,pH调节剂是乙酸盐、柠檬酸盐、谷氨酸盐、甘氨酸盐、组氨酸、乳酸盐、马来酸盐、磷酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、碳酸氢盐、氢氧化铝、磷酸、盐酸、DL-乳酸/乙醇酸、磷酸乙醇胺、氨丁三醇、咪唑、双甘氨酸、谷氨酸单钠、氢氧化钠、氢氧化钾或其组合。在某些实施例中,pH调节剂是乙酸盐、柠檬酸盐、组氨酸、磷酸盐、琥珀酸盐、盐酸、氢氧化钠或其组合。在特定实施例中,pH调节剂是组氨酸、盐酸或其组合。在某些实施例中,pH调节剂是组氨酸.HCl、琥珀酸盐、磷酸盐或其组合。在一些实施例中,如本文所公开的组合物pH水平为约5.0至约8.0。在一些实施例中,如本文所公开的组合物pH水平为约5.5至约7.0。在某些实施例中,pH水平为约4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4或7.5。在某些实施例中,pH水平为约5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0。在特定实施例中,pH水平为约5.0、5.5、6.0、6.5或7.0。

[0108] 在一些实施例中,盐是氯化钠、氯化钙、氯化钾、氢氧化钠、氯化亚锡、硫酸镁、葡庚糖酸钠、高锗酸钠、盐酸胍、氢氧化钾、氯化镁、硝酸钾或其组合。在特定实施例中,盐是氯化钠、氢氧化钠、硝酸钾、氯化镁或其组合。在某些实施例中,盐是氯化钠。

[0109] 在一些实施例中,螯合剂是依地酸二钠、乙二胺四乙酸、喷替酸或其组合。

[0110] 在一些实施例中,表面活性剂包括但不限于:(i)阳离子表面活性剂,如;十六烷基三甲基氯化铵(cetyltrimethylammonium chloride)、十六烷基三甲基氯化铵(hexadecyltrimethylammonium chloride)、苯扎氯铵、苜蓿素氯铵、双十八烷基二甲基溴化铵;(ii)阴离子表面活性剂,如硬脂酸镁、硬脂酸钠、十二烷基硫酸钠、琥珀酸二辛酯磺酸钠、肉豆蔻醇聚醚硫酸钠、全氟辛烷磺酸酯、烷基醚磷酸酯、气溶胶OT(双(2-乙基己基)磺基琥珀酸钠);(iii)非离子表面活性剂,如聚山梨醇酯、聚乙二醇叔辛基苯基醚、卵磷脂、烷基酚乙氧基化物、脂肪醇乙氧基化物(辛乙二醇单十二烷基醚、椰油酰胺二乙醇胺、泊洛沙姆(poloxamer)、甘油单硬脂酸酯、脂肪胺、山梨糖醇的脂肪酸酯(单月桂酸山梨糖醇酯、吐温(Tween) 80、吐温20、泊洛沙姆)(非离子三嵌段共聚物,由侧接有两条聚氧乙烯(聚(环氧乙烷))的亲水性链的聚氧丙烯(聚(丙烯氧化物))的中心疏水性链组成about:blank),例如,泊洛沙姆188、泊洛沙姆407;以及(iv)两性离子表面活性剂,如椰油酰胺丙基羟基磺基甜菜碱和3-[(3-胆碱酰胺丙基)二甲基铵基]-1-丙磺酸酯(CHAPS)。在一些实施例中,表面活性剂是聚山梨醇酯、硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠、烷基酚乙氧基化物、甘油、聚氧乙烯蓖麻油、多库酯、硬脂酸钠、癸基葡萄糖苷、壬苯醇醚-9、十六烷基三甲基溴化铵、双(2-乙基己基)磺基琥珀酸钠、卵磷脂、脱水山梨糖醇酯、磷脂酰胆碱、聚甘油聚蓖麻油酸酯、硅氧烷、十六烷基聚乙二醇/聚丙二醇-10/1二甲硅油甘油三酯、双-聚乙二醇/聚丙二醇-14/14二甲硅油、双-(甘油/月桂基)甘油月桂基二甲硅油(以及)辛酸/癸酸甘油三酯、十六烷基聚乙二醇/聚丙二醇-10/1-二甲硅油、磷脂或其组合。在某些实施例中,表面活性剂是聚山梨醇酯、多库酯、泊洛沙姆或卵磷脂。在一些实施例中,表面活性剂是聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯60

或聚山梨醇酯80。在某些实施例中,表面活性剂是聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80,例如,吐温20、吐温60、吐温80。在某些实施例中,山梨糖醇的脂肪酸酯是脱水山梨糖醇酯,例如span 20、span 40、span 60或span 80。在一些实施例中,表面活性剂是离子表面活性剂。在特定实施例中,表面活性剂是聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯20或泊洛沙姆188。在一些实施例中,表面活性剂是脱水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯、泊洛沙姆、聚乙二醇叔辛基苯基醚、卵磷脂、硬脂酸钠、硬脂酸镁或其组合。在一些实施例中,表面活性剂是聚山梨醇酯、脱水山梨糖醇酯、泊洛沙姆、或其组合。

[0111] 在一些实施例中,蛋白质稳定剂是乙酰色氨酸酯、辛酸酯、N-乙酰色氨酸、海藻糖、聚乙二醇(PEG)、泊洛沙姆、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酸、聚(乙烯基)聚合物、聚酯、聚醛、叔聚合物、聚氨基酸、羟乙基淀粉、N-甲基-2-吡咯烷酮、山梨糖醇、蔗糖、甘露醇或其组合。在一些实施例中,蛋白质稳定剂是海藻糖、聚乙二醇(PEG)、泊洛沙姆、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酸、聚(乙烯基)聚合物、聚酯、聚醛、叔聚合物、聚氨基酸、羟乙基淀粉、N-甲基-2-吡咯烷酮、山梨糖醇、蔗糖、甘露醇、环糊精、羟丙基 β -环糊精、磺丁基醚 β -环糊精、甲基 β -环糊精、乙酰色氨酸酯、辛酸酯、N-乙酰色氨酸、丙二醇、葡萄糖星形聚合物、硅酮聚合物、聚二甲基硅氧烷、羧甲基纤维素、聚(乙醇酸)、聚(乳酸-共-乙醇酸)、聚乳酸、聚己内酯(PCL)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚蔗糖、葡聚糖或其组合。在特定实施例中,蛋白质稳定剂是海藻糖、环糊精、羟丙基 β -环糊精、磺丁基醚 β -环糊精、甲基 β -环糊精或其组合。在一些实施例中,蛋白质稳定剂是羟丙基 β -环糊精、甲基 β -环糊精或其组合。如本文所描述的,与术语“稳定剂(stabilizing agent)”同义使用的稳定剂(stabilizer)可以是盐、碳水化合物、糖或氨基酸,优选地被当局认可为药物组合物中的合适添加剂或赋形剂的碳水化合物或糖。在某些实施例中,PEG是PEG 200、PEG 300、PEG 3350、PEG 8000、PEG 10000、PEG 20000或其组合。术语“稳定剂”是指使蛋白质(例如,抗体或抗体片段)的物理和/或化学特性稳定的赋形剂或赋形剂的混合物。在一些实施例中,稳定剂防止例如在颗粒物质的混合和/或储存期间蛋白质的降解。示例性稳定剂包括但不限于糖、盐、疏水性盐、洗涤剂、还原剂、环糊精、多元醇、羧酸和氨基酸。如本文所描述的,“稳定”调配物或组合物是指包含颗粒的颗粒调配物或组合物,其中蛋白质在可接受的时段内保留了其基本物理、化学或生物特性的可接受部分。在蛋白质的情况下,例如,评估稳定性的示例性方法在以下中进行了综述:(i)《肽和蛋白质药物递送(Peptide and Protein Drug Delivery)》,247-301,Vincent Lee编辑,纽约州纽约市的马塞尔德克尔公司(Marcel Dekker, Inc., New York, NY),1991以及(ii) Jones, A., 《先进药物递送综述(Adv. Drug Delivery Rev)》.10:29-90(1993)。在一些实施例中,通过在若干个阶段测量样品的大小分布来评估蛋白质的化学稳定性。这些包括,例如,在颗粒形成之前(进料水溶液的评估)、颗粒形成之后立即以及储存时段后再次在悬浮液载体介质内或在不存在悬浮液载体介质的情况下进行储存。

[0112] 适用于颗粒的乳化剂的实例包括但不限于:HLB小于7的亲脂性药剂,如混合脂肪酸甘油单酯;混合脂肪酸甘油二酯;脂肪酸甘油单酯和甘油二酯的混合物;亲脂性聚甘油酯;甘油酯,包括单油酸甘油酯、二油酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、二硬脂酸甘油酯、单棕榈酸甘油酯和二棕榈酸甘油酯;脂肪酸的甘油酯-乳酸酯;丙二醇酯,包括单棕榈酸丙二醇酯、单硬脂酸丙二醇酯和单油酸丙二醇酯;脱水山梨糖醇酯,包括单硬脂酸脱水山梨糖醇酯、倍半油酸脱水山梨糖醇酯;脂肪酸以及其皂,包括硬脂酸、棕榈酸和油酸;以及其混合物;单油

酸甘油酯、二油酸甘油酯、单硬脂酸甘油酯、二硬脂酸甘油酯、单棕榈酸甘油酯和二棕榈酸甘油酯；脂肪酸的甘油酯-乳酸酯；丙二醇酯，包括单棕榈酸丙二醇酯、单硬脂酸丙二醇酯和单油酸丙二醇酯；脱水山梨糖醇酯，包括单硬脂酸脱水山梨糖醇酯、倍半油酸脱水山梨糖醇酯；脂肪酸及其皂，包括硬脂酸、棕榈酸和油酸；磷脂或其组合。在一些实施例中，乳化剂是聚山梨醇酯（聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯20，例如，吐温80、吐温60、吐温20）、单油酸脱水山梨糖醇酯、乙醇胺、聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、卡波姆1342、玉米油-单-二-甘油三酯、聚氧乙烯化油酸甘油酯、泊洛沙姆或其组合。在某些实施例中，山梨糖醇的脂肪酸酯是脱水山梨糖醇酯，例如span 20、span 40、span 60或span 80。在某些实施例中，乳化剂是聚山梨醇酯80、单油酸脱水山梨糖醇酯或其组合。

[0113] 在一些实施例中，抗菌剂是苯酚、间甲酚、苯甲醇、2-苯氧乙醇、氯丁醇、新霉素(neomycin)、苄索氯铵、戊二醛、 β -丙内酯或其组合。

[0114] 在某些实施例中，氨基酸是丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、谷氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、吡咯赖氨酸、丝氨酸、硒代半胱氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、精氨酸、组氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸或其各种盐（精氨酸盐酸盐、精氨酸谷氨酸盐等）或其组合。在某些实施例中，氨基酸是丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、异亮氨酸、谷氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、吡咯赖氨酸、丝氨酸、硒代半胱氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、天冬酰胺、精氨酸、组氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸或其组合。在某些实施例中，氨基酸是精氨酸、组氨酸、脯氨酸、天冬酰胺或其组合。在特定实施例中，氨基酸是组氨酸。在某些实施例中，氨基酸是丙氨酸、谷氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、色氨酸、天冬酰胺、精氨酸、组氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸或其组合。在某些实施例中，氨基酸是精氨酸和组氨酸。在某些实施例中，氨基酸是组氨酸。

[0115] 在某些实施例中，抗氧化剂是谷胱甘肽、抗坏血酸、半胱氨酸、N-乙酰基-L-色氨酸盐、生育酚、组氨酸、甲硫氨酸、喷替酸或其组合。在某些实施例中，尼泊金酯是对羟基苯甲酸酯。在某些实施例中，杀菌剂是苯扎氯铵（阳离子表面活性剂）、次氯酸盐、过氧化物、醇、酚类化合物（例如，石炭酸）、苯甲酸苄酯或其组合。在特定实施例中，杀菌剂是苯扎氯铵或苯甲酸苄酯。在某些实施例中，杀真菌剂是阿拉酸式苯、2-苯基苯酚、敌菌灵(anilazine)、香芹酮、纳他霉素(natamycin)、叠氮化钾或其组合。

[0116] 在某些实施例中，防腐剂是硝酸钠、二氧化硫、山梨酸钾、山梨酸钠、苯甲酸钠、苯甲酸、羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞、尼泊金酯、甲醛、蓖麻油或其组合。在某些实施例中，防腐剂是羟基苯甲酸甲酯、硫柳汞、尼泊金酯、甲醛、蓖麻油或其组合。

[0117] 包含至少一种蛋白质（例如，本文所描述的治疗生物制品）的多个颗粒可以以多种方式，以及例如国际申请第PCT/US2017/063150（公开号WO 2018/098376）、第PCT/US2018/043774号（公开号WO 2019/023392）、第PCT/US2019/033875号（公开号WO 2019/226969）、第PCT/US2020/15957号（公开号WO 2020/160323）、第PCT/US2020/050508号（公开号WO 2021/050953）、第PCT/US2021/16878号（WO 2021/158959）、第PCT/US2021/018806号（WO 2021/168271）、第PCT/US2021/027755号（WO 2021/212019）和第PCT/US2022/072755号（WO 2022/256840）中所公开的形成颗粒的任何方法制备和表征，所述国际申请中的每个国际申请的内容特此以全文引用的方式并入。

[0118] 虽然本文将本公开的要素中的每个要素描述为含有多个实施例，应理解，除非另

外指示,否则本公开的给定要素的实施例中的每个实施例都能够与本公开的其它元素的实施例中的每个实施例一起使用,并且每个此类使用都旨在形成本公开的不同实施例。

[0119] 相关领域的普通技术人员将理解,鉴于本领域普通技术人员已知的信息,从本文所含有的本公开的描述中,对本文所描述的组合物或其它合适的修改和改编是显而易见的,并且可以在不脱离本公开或其任何实施例的范围的情况下进行。

[0120] 本公开的药物组合物

[0121] 可注射颗粒悬浮液可以表现出沉降变化,这可能会影响药物组合物的使用或施用。具体地,治疗生物制品的高浓度、低体积和低注射器力可注射颗粒悬浮液将在一定时段内从悬浮介质中沉淀或沉降出来,因此需要在注射前进行预混合或重悬。高颗粒浓度在低递送体积下的沉降也可能导致高注射力,并且在组合物中传播治疗生物制品的分解。如本文所使用的,术语“沉降(sediment)”或“沉降(sedimentation)”是指颗粒在容器封闭(例如,小瓶、药筒、注射器、便携式药物递送注射装置等)的底部处沉淀或密集沉积的过程。密集沉积的颗粒的沉淀通常会导致过高的注射力或注射器堵塞,并且需要在施用组合物之前进行手动搅拌或预混合。

[0122] 絮凝或“颗粒絮凝”是一种由界面化学与控制颗粒-颗粒相互作用的环境条件之间的相互作用引起的现象。如本文所使用的,絮凝体积是颗粒分散体所占据的颗粒团聚体的量的度量,表示为总流体体积的百分比。更具体地,絮凝体积(F)是颗粒团聚体的体积(V_u)与总流体体积(V_o)的比率。基于颗粒团聚体的沉降特性,絮凝体积可以随着时间的推移而减小。在絮凝悬浮液中,颗粒经历碰撞,导致颗粒团聚或团聚体,这会使大小增加,例如,絮凝体积增加。术语“团聚体”是指松散凝聚的颗粒簇。颗粒团聚体的松散网络维持了足够的颗粒与颗粒距离,以防止可能导致高注射力的颗粒沉降。当絮凝体积等于1时,可以测量屈服应力(絮凝体积将经历变形的应力)以指示使悬浮液流动所需的剪切应力。屈服应力的测量结果可以通过平行板流变仪(ANTON PAAR™ MCR 92)获得。屈服应力的增加指示团聚体的增加。用于测量团聚体的其它方法包括但不限于激光衍射、弛豫NMR、显微镜和小角度散射。

[0123] 在本文所公开的组合物中,团聚的过程可以通过使用絮凝剂来控制。絮凝剂(Flocculation agent)或絮凝剂(flocculating agent)是一种通过使液体中的悬浮的颗粒团聚,由此形成团聚体来促进絮凝的化学物质。在非水性颗粒悬浮液中,团聚体的破碎和再分散是由施加在絮凝的颗粒系统上的剪切应力决定的。剪切应力是由作用在材料的表面上的力引起的,其会引起变形。在这些系统中,剪切可以归因于颗粒或团聚体在非水悬浮介质中或任何界面附近(例如,容器封闭、其它颗粒等)通过速度梯度的移动。剪切应力可以例如机械式地引入絮凝体积,并且可以实验式地进行控制。

[0124] 本文所公开的组合物包含絮凝剂,并且通常是治疗生物制品的高浓度、低体积和低注射器力可注射颗粒悬浮液,其允许在注射或施用组合物之前无需手动搅拌或预混合即可施用。组合物有益地维持避免颗粒沉降的稳定的絮凝体积,所述颗粒沉降可能引起注射器、便携式药物递送注射装置或口服给药液体注射器胶囊堵塞。

[0125] 在某些实施例中,本公开涉及一种组合物,例如,药物组合物,其包含悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的颗粒)包含治疗生物制品(例如,本文所公开的治疗生物制品)和絮凝剂(例如,本文所公开的絮凝剂)。

[0126] 如本文所使用的,短语“药学上可接受的液体载体”意指药学上可接受的材料、组

合物或媒剂,如液体、稀释剂、赋形剂或溶剂。在与组合物的其它成分相容并且对患者无害的意义上讲,每种载体必须是“可接受的”。本领域技术人员可以用颗粒中的惰性材料稀释或增加治疗生物制品的体积。这些稀释剂可以包括碳水化合物,尤其是海藻糖、甘露醇、乳糖、无水乳糖、纤维素、蔗糖、改性葡聚糖和淀粉。某些无机盐也可以用作填料,包括三磷酸钙、碳酸镁和氯化钠。一些可商购获得的稀释剂为Fast-Flo、Emdex、STA-Rx 1500、Emcompress和Avicell。

[0127] 在一些实施例中,用于施用的药物组合物包括呈水溶性形式的活性治疗生物制品的非水溶液。优选地,活性治疗生物制品的悬浮液可以制备为合适的油性注射组合物。合适的亲脂性溶剂或媒剂包括脂肪油(例如,芝麻油、玉米油)或脂肪酸酯(例如,油酸乙酯或甘油三酯)或脂质体。在注射的情况下,可以通过维持所需的粒度和使用絮凝剂来维持适当的粘度。对微生物的作用的预防可以通过多种抗菌剂和抗真菌剂(例如,尼泊金酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等)来实现。

[0128] 本公开包括治疗生物制品的“药学上可接受的盐”或“盐”在本公开的组合物中的用途。如本文所使用的,术语“药学上可接受的盐”包括衍生自无机酸或有机酸的盐,包括例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、磷酸、甲酸、乙酸、乳酸、马来酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸、乙醇酸、水杨酸、柠檬酸、甲磺酸、苯磺酸、苯甲酸、丙二酸、三氟乙酸、三氯乙酸、萘-2-磺酸或其它酸。在一些实施例中,药学上可接受的盐形式可以包括其中包含盐的分子的比率不是1:1的形式。例如,盐可以每个碱分子包含多于一个无机酸或有机酸分子,如每个治疗生物制品分子包含两个盐酸分子。作为另一个实例,盐可以每个碱分子包含少于一个无机酸或有机酸分子,例如每个酒石酸分子包含两个治疗生物制品分子。在某些实施例中,本公开所考虑的盐包括但不限于精氨酸、苯乙胺、苄星、甜菜碱、氢氧化钙、胆碱、丹醇、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙基氨基)乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-甲基葡萄糖胺、海巴明(hydrabamine)、1H-咪唑、L-赖氨酸、镁、4-(2-羟乙基)吗啉、哌嗪、钾、1-(2-羟乙基)吡咯烷、钠、三乙醇胺、氨丁三醇或锌盐。在一些实施例中,本公开所考虑的盐包括但不限于Na、Ca、K、Mg、Zn或其它金属盐。在另外的实施例中,本公开所考虑的盐包括但不限于烷基、二烷基、三烷基或四烷基铵盐。药学上可接受的盐也可以作为各种溶剂化物存在,如与水或乙醇等。也可以制备此类溶剂化物的混合物。在一些实施例中,蛋白质组合物可以调配为中性或盐形式。药学上可接受的盐包括酸加成盐(与蛋白质的游离氨基形成),并且其与例如盐酸或磷酸等无机酸或如乙酸、草酸、酒石酸、扁桃酸等有机酸形成。与游离羧基形成的盐还可以衍生自例如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙或氢氧化铁等无机碱和如异丙胺、三甲胺、组氨酸、普鲁卡因(procaine)等有机碱。

[0129] 在一些实施例中,颗粒可以悬浮在非水性液体载体中,由此形成非水性药学上可接受的组合物。重要的是,用至少一种治疗生物制品产生非水性组合物的过程不会显著改变如本文所描述的生物制品的结构或生物活性。在一些实施例中,液体载体是非水性的。在某些实施例中,非水性液体载体是有机溶剂。在一些实施例中,非水性液体载体包含至少两种有机溶剂。

[0130] 在一些实施例中,有机溶剂包含苯甲酸苄酯、椰子油、棉籽油、鱼油、葡萄籽油、榛子油、氢化植物油、橄榄油、棕榈籽油、花生油、薄荷油、红花油、芝麻油、大豆油、葵花油、核桃油、玉米油、丙酮、乙酸乙酯、乳酸乙酯、二甲基乙酰胺、异山梨醇二甲酯、二甲亚砜、糖原

质、二甘醇二甲醚、甲基叔丁基醚、N-甲基吡咯烷酮、全氟萘烷、聚乙二醇、2-吡咯烷酮、四氢糠醇、甘油二酯、甘油三酯、中链甘油三酯(MCT)、己酸、辛酸、癸酸、月桂酸、月桂醇乙酯、分级分离的植物脂肪酸C8和C10的甘油三酯、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、油酸乙酯、癸酸乙酯、己二酸二丁酯、脂肪酸酯、己酸、辛酸、三醋精、二乙二醇单醚、 γ -丁内酯、丁香酚、丁香花蕾油、柠檬醛、柠檬烯、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、聚氧乙烯35蓖麻油、简单醇,如乙醇、辛醇、己醇、癸醇、丙醇、丁醇, γ -丁内酯、生育酚、八氟丙烷、(全氟己基)辛烷、n-乙酰色氨酸、月桂酸乙酯、辛酸甲酯、辛酸乙酯、癸酸甲酯、肉豆蔻酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、己二酸二甲酯、辛二酸二丁酯、癸二酸二乙酯、澳洲坚果油酸乙酯、三羟甲基丙烷三异硬脂酸酯、月桂酸异丙酯、肉豆蔻酸异丙酯、琥珀酸二乙酯、聚山梨醇酯、乙醇胺、丙酸、柠檬醛、茴香醚、茴香脑、苯甲醛、芳樟醇、己内酯、苯酚、硫代甘油、二甲基乙酰胺、二甘醇单乙醚、丙酮缩甘油、异山梨醇二甲醚、甲酸乙酯、乙酸乙基己酯、丙二醇二辛酸酯、辛酸甘油三酯、亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯或其组合。中链甘油三酯(MCT)含有链长度为6-12个碳原子的脂肪酸。其包括己酸(C6)、辛酸(C8)、癸酸(C10)和月桂酸(C12)。在一些实施例中,有机溶剂是油酸乙酯、甘油二酯、甘油三酯、miglyol、澳洲坚果油酸乙酯、癸酸乙酯、琥珀酸二乙酯、二甘醇单乙醚、丙二醇二辛酸酯、辛酸甘油三酯、亚油酸乙酯、亚麻酸乙酯、中链甘油三酯(MCT)、芝麻油、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、三醋精或其组合。在某些实施例中,有机溶剂是油酸乙酯、辛酸乙酯、丙二醇二辛酸酯、甘油二酯、甘油三酯、芝麻油、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、三醋精或其组合。在一些实施例中,有机溶剂是油酸乙酯和芝麻油。

[0131] 在一些实施例中,本文所公开的组合物中治疗生物制品的浓度大于约250mg/mL,例如,大于约275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725、750、775或800mg/mL。在特定实施例中,组合物中的治疗生物制品的浓度大于约800mg/mL。在一些实施例中,所述组合物中的所述治疗生物制品的浓度大于约400mg/mL。在某些实施例中,所述组合物中的所述治疗生物制品的浓度大于约500mg/mL。在一些实施例中,所述组合物中的所述治疗生物制品的浓度大于约600mg/mL。在某些实施例中,所述组合物中的所述治疗生物制品的浓度大于约700mg/mL。

[0132] 在如本文所描述的组合物中,团聚的过程可以通过使用絮凝剂来控制,所述絮凝剂可以允许在注射或施用前无需手动搅拌或预混合即可施用颗粒组合物。絮凝剂可以是非离子的或离子的。通常,离子絮凝剂与带电颗粒相互作用,例如,阴离子絮凝剂与带正电颗粒相互作用,并且阳离子絮凝剂与带负电颗粒相互作用。在一些实施例中,絮凝剂是离子的。在一些实施例中,离子絮凝剂是硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠、硬脂酸钠、十六烷基三甲基溴化铵、卵磷脂或其组合。在特定实施例中,絮凝剂是非离子的。如本文所公开的,非离子絮凝剂与带电颗粒相互作用。在某些实施例中,非离子絮凝剂是聚山梨醇酯(聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯20,例如,吐温80、吐温60、吐温20)、烷基酚乙氧基化物、甘油、聚氧乙烯蓖麻油、多库酯、癸基葡萄糖苷、壬苯醇醚-9、脱水山梨糖醇酯、单油酸脱水山梨糖醇酯、乙醇胺、聚氧乙烯35蓖麻油、聚氧乙烯40氢化蓖麻油、卡波姆1342、玉米油-单-二-甘油三酯、聚氧乙烯化油酸甘油酯、泊洛沙姆或其组合。在一些实施例中,非离子絮凝剂是聚山梨醇酯、烷基酚乙氧基化物、脱水山梨糖醇酯、泊洛沙姆或其组合。在某些实施例中,非离子絮凝剂是聚山梨醇酯或脱水山梨糖醇酯。在一些实施例中,向颗粒悬浮液中添加絮凝剂不

会显著增加组合物的粘度。如本文所公开的,向颗粒的悬浮液中添加絮凝剂增加了颗粒的悬浮液的絮凝体积(参见例如,图4和图6)。在某些实施例中,向颗粒的悬浮液中添加絮凝剂提高絮凝体积的稳定性至少一个月(参见例如,实例6)。在一些实施例中,向颗粒的悬浮液中添加絮凝剂降低了注射器力(参见例如,实例16和17)。在一些实施例中,将向颗粒的悬浮液中添加絮凝剂改善了微粒(例如,Ab微粒)悬浮液施用(例如,皮下施用)的药代动力学(PK),并且显示出比Ab水溶液的施用(例如,皮下施用)更高的生物利用度(参见例如,图11)。在一些实施例中,向颗粒的悬浮液中添加絮凝剂提高了颗粒中的蛋白质的稳定性(参见例如,图3)。

[0133] 在一些实施例中,本文所描述的组合物的使用在组合物中小于约50mg/mL,例如,小于约45、40、35、30、25、20、15、10、5、3、1、0.5、0.1、0.05或0.01mg/mL的絮凝剂的浓度。在一些实施例中,组合物中的絮凝剂的浓度小于约10mg/mL。在一些实施例中,组合物中的絮凝剂的浓度小于约5mg/mL。在一些实施例中,组合物中的絮凝剂的浓度小于约3mg/mL。在特定实施例中,组合物中的絮凝剂的浓度小于约1mg/mL。在一些实施例中,组合物中的絮凝剂的浓度小于约0.1mg/mL。在某些实施例中,组合物中的絮凝剂的浓度小于约0.01mg/mL。

[0134] 粘度在可注射产品的处理和施用中起着重要作用。对于悬浮液产品,高粘度药物产品可能难以通过针(例如,27号针)递送,因为需要更大的力来致动注射装置,例如,注射器、便携式药物递送注射装置或口服给药液体注射器胶囊。可替代地,使用更大规格的针或需要更长的注射时间可能会降低患者对疗法的依从性。

[0135] 术语“粘度”用于描述流体抵抗剪切流的特性。出于本公开的目的,粘度可以使用流变仪(例如,AR-G2流变仪(美国TA仪器公司(TA Instruments, USA)),装配有锥和板(2°/40mm),在25°C下以指定的剪切速率)来确定。在某些实施例中,粘度是在牛顿体系(Newtonian regime)中的剪切速率下测量的。在一些实施例中,粘度是在100s⁻¹或更大的剪切速率下(例如,在1000s⁻¹或大于1000s⁻¹或大于10,000s⁻¹下)测量的。如本文所使用的,术语“低粘度”描述了粘度小于约100mPa·s的组合物,例如,液体载体。

[0136] 在一些实施例中,组合物的粘度小于约200mPa·s,小于约150mPa·s,小于约125mPa·s,小于约100mPa·s,小于约95mPa·s,小于约90mPa·s,小于约85mPa·s,小于约80mPa·s,小于约75mPa·s,小于约70mPa·s,小于约65mPa·s,小于约60mPa·s,小于约55mPa·s,小于约50mPa·s,小于约45mPa·s,小于约40mPa·s,小于约35mPa·s,小于约30mPa·s,小于约25mPa·s,小于约20mPa·s,小于约19mPa·s,小于约18mPa·s,小于约17mPa·s,小于约16mPa·s,小于约15mPa·s,小于约14mPa·s,小于约13mPa·s,小于约12mPa·s,小于约11mPa·s,小于约10mPa·s,小于约9.5mPa·s,小于约9mPa·s,小于约8.5mPa·s,小于约8mPa·s,小于约7.5mPa·s,小于约7mPa·s,小于约6.5mPa·s,小于约6mPa·s,小于约5.5mPa·s或小于约5mPa·s(一毫帕-秒)。液体的混合物也可以用于控制粘度。单位“mPa·s”和“cP”在最广泛的意义上可以互换使用。

[0137] 在一些实施例中,组合物的粘度小于约100mPa·s。在一些实施例中,组合物的粘度小于约80mPa·s。在某些实施例中,组合物的粘度小于约50mPa·s。在一些实施例中,组合物的粘度小于约40mPa·s。在某些实施例中,组合物的粘度小于约30mPa·s。在特定实施例中,组合物的粘度小于约25mPa·s。在一些实施例中,组合物的粘度小于约20mPa·s。在某些实施例中,组合物的粘度小于约15mPa·s。在一些实施例中,组合物的粘度小于约

10mPa · s。在某些实施例中,组合物的粘度小于约5mPa · s。

[0138] 如本文所描述的,较高的絮凝体积指示增加的团聚体或较少的颗粒沉降,并且因此,由于颗粒在液体载体中的更均匀分散,注射力性能得到改善。在一些实施例中,在初始混合后,组合物的絮凝体积大于约50%,例如,在初始混合后为60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或大于约98%。在一些实施例中,在初始混合后,组合物的絮凝体积大于约70%。在某些实施例中,在初始混合后,组合物的絮凝体积大于约80%。在特定实施例中,在初始混合后,组合物的絮凝体积大于约85%。在某些实施例中,在初始混合后,组合物的絮凝体积为约100%。初始混合是指通过牵连运动使初始不均匀的颗粒悬浮液与絮凝剂均匀化,从而产生絮凝体积。

[0139] 在一些实施例中,在低于约40℃的容器封闭储存条件下至少一个月后,絮凝体积减少了小于约10%,例如,9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%。在一些实施例中,在低于约40℃的容器封闭储存条件下至少一个月后,絮凝体积减少了小于约7%。在某些实施例中,在低于约40℃的容器封闭储存条件下至少一个月后,絮凝体积减少了小于约5%。在一些实施例中,在低于约40℃的容器封闭储存条件下至少一个月后,絮凝体积减少了小于约3%。在某些实施例中,在低于约40℃的容器封闭储存条件下至少一个月后,絮凝体积减少了小于约1%。在一些实施例中,多个颗粒和絮凝剂在液体载体中保持基本上悬浮至少一个月。在一些实施例中,组合物在至少一个月内的絮凝体积基本上相同。

[0140] 在某些实施例中,特性大小大于或等于约100μm的不溶性颗粒物质在溶解于水性液体中时持续存在,称为可见颗粒(VP)。在本文所描述的本公开的特定实施例中,组合物基本上不含可见颗粒(VP)。在一些实施例中,水性液体是水、水性缓冲液或生理相关的水性液体。如本文所使用的,术语“生理相关水性液体”是指分布在细胞外室中的任何含水体液,例如,细胞外液、间质液、血管内液(血液、血浆和淋巴)和脑脊液。

[0141] 在一些实施例中,特性大小为约1μm至约100μm的不溶性颗粒物质在溶解于水性液体中时持续存在,称为亚可见颗粒(SvP)。SvP以约0至100,000,000/mL,例如,约0至约10,000,000/mL、约0至约1,000,000/mL、约0至约500,000/mL、约0至约100,000/mL、约0至约50,000/mL、约0至约10,000/mL、约0至约6,000/mL、约0至约1,000/mL、约0至约600/mL、约0至约250/mL、约0至约100/mL、约0至约60/mL或约0至约10/mL的量存在。在一些实施例中,特性大小大于或等于10μm的颗粒的计数为约0至约6,000/mL,例如,约0至约1,000/mL、约0至约100/mL、约0至约10/mL、约0至约5/mL、约0至约3/mL或约0至约1/mL。在某些实施例中,特性大小大于或等于25μm的颗粒的计数为约0至约600/mL,例如,约0至约100/mL、约0至约10/mL、约0至约3/mL、约0至约1/mL、约0至约0.5/mL或约0至约0.1/mL。测量SvP的示例性方法包括在将治疗生物制品重构和稀释至标准浓度(例如,约100mg/mL或约1mg/mL)后,用库尔特计数器(Coulter Counter)、HIAC Royco或微流成像系统分析治疗生物制品。在一些实施例中,在溶解于水性液体中时,组合物的约10μm的颗粒的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约100,000,000/mL。在某些实施例中,在溶解于水性液体中时,组合物的约10μm的颗粒的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约6000/mL。在特定实施例中,在溶解于水性液体中时,组合物的约25μm的颗粒的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约600/mL。在某些实施例中,组合物在溶解于水性液体中时基本上不含不溶性亚可见颗粒(SvP)。

[0142] 在某些实施例中,在溶解于水性液体中时,组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约100,000,000/mL。在一些实施例中,在溶解于水性液体中时,组合物的特性大小大于约10 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约6000/mL。在一些实施例中,在溶解于水性液体中时,组合物的特性大小大于约25 μ m的不溶性亚可见颗粒(SvP)的浓度为约0/mL至约600/mL。在特定实施例中,水性液体是水、水性缓冲液或生理相关的水性液体。

[0143] 在一些实施例中,特性大小为约100nm至约1 μ m的不溶性颗粒物质在溶解于水性液体中时持续存在,称为亚微米颗粒(SMP),并且有时也称为纳米颗粒。此类SMP的存在被认为有助于免疫原性,并且因此应避免,以最小化此类影响。定量地,SMP以约0至 5×10^{12} /mL,例如,约0至约 0.5×10^{12} /mL、约0至约 50×10^9 /mL、约0至约 10×10^9 /mL、约0至约 5×10^9 /mL、约0至约 0.5×10^9 /mL、约0至约 50×10^6 /mL、约0至约 1×10^6 /mL、约0至约500,000/mL、约0至约200,000/mL、约0至约100,000/mL、约0至约10,000/mL、约0至约5000/mL或约0至约1000/mL的量存在。用于定量测量SMP的示例性方法包括在将治疗生物制品重构并稀释至标准浓度,例如,约100mg/mL、约1mg/mL或约1 μ g/mL后,使用NanoSight、微流成像系统、与多角度激光散射(AF4MALS)、动态光散射(DLS)耦合的不对称场流分级或FLOWCAMTM成像对治疗生物制品进行分析。定性地,SMP在与起始单体治疗生物制品溶液相当的范围内。在特定实施例中,在溶解于水性液体中时,组合物基本上不含亚微米颗粒(SMP)。

[0144] 如本文所描述的,本公开涉及一种高度浓缩的组合物,其包含絮凝剂和悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品,其中在溶解于水、缓冲液或其它生理相关的水性液体(例如,患者体内的生物流体)中时,与包含单体治疗生物制品的类似水性组合物相比,所述组合物的免疫原性基本上相似。如本文所使用的,可以应用哺乳动物或人体内可能遇到的“生理相关”条件。本领域技术人员将能够根据本文所描述的组组合物的最终应用来确定最适合测试的条件集。在一些实施例中,在溶解于水性液体中时,与包含至少一种呈可溶性形式(例如,单体形式)的治疗生物制品的水性组合物相比,组合物的免疫原性基本上相似。在特定实施例中,组合物是基本上非免疫原性的。在某些实施例中,水性液体是水、水性缓冲液或生理相关的水性液体。

[0145] 如本文所公开的,术语“免疫原性”是指注射的治疗生物制品(抗原)的组合物诱导免疫应答,而“抗原性”是指治疗生物制品的组合物与预先存在的抗体的反应。总的来说,抗原性和免疫原性被称为“免疫反应性”。在特定实施例中,与包含至少一种呈可溶性形式(例如,单体形式)的治疗生物制品的水性组合物相比,组合物的免疫原性基本上相似。在某些实施例中,例如,当基于重复剂量抗药物抗体免疫原性分析经受非免疫应答存在时,组合物是基本上非免疫原性的(参见例如,实例8)。

[0146] 特定组合物(例如,人IgG)的毒性与治疗效果之间的比率为其治疗指数并且可以表达为LD₅₀(使群体的50%致死的化合物的量)与ED₅₀(对群体的50%有效的化合物的量)之间的比率。表现出高治疗指数的组合物是优选的。从细胞培养测定和/或动物研究(例如,人IgG)中获得的治疗指数数据可以用于调配用于在人中使用且本领域已知的一定范围的剂量。此类化合物的剂量优选地处于包括ED₅₀的具有很小毒性或没有毒性的血浆浓度范围内。剂量可以根据所采用的剂型和所利用的施用途径(例如,皮下注射)而在此范围内变化。参

见例如, Fingl等人,《治疗学的药理学基础 (THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS)》,第1章,第1页,1975。精确的组合物、施用途和剂量可以由个体医师根据患者的病状和递送组合物的特定方法来选择。

[0147] 在一些实施例中,与包含至少一种呈可溶性形式(例如,单体形式)的治疗生物制品的水性组合物相比,组合物的毒性基本上相似。在一些实施例中,与包含至少一种呈可溶性形式(例如,单体形式)的治疗生物制品的水性组合物相比,组合物的毒性降低。在特定实施例中,组合物基本上是无毒的,例如,基于局部耐受性和临床观察分析(参见例如,实例7)。

[0148] 在如本文所描述的根据本公开的特定实施例中,与包含至少一种呈可溶性形式(例如,单体形式)的治疗生物制品的水性组合物相比,颗粒组合物的治疗生物制品的稳定性有所改进(参见例如图3)。“稳定”组合物是指其中的所有治疗生物制品在预期的储存温度(例如,4-40℃)下储存(例如,在容器封闭中)时,基本上保持其物理稳定性和/或化学稳定性和/或者生物活性。组合物在储存时基本上保持其物理和化学稳定性以及生物活性是期望的。储存时段通常基于组合物的预期保质期来选择。此外,在组合物冷冻(至例如-70℃)和解冻后,例如在1、2或3个冷冻和解冻循环后,组合物应是稳定的。各种用于测量蛋白质稳定性的分析技术在现有技术中是可用的并且在例如以下中进行综述:《肽和蛋白质药物递送》,247-301, Vincent Lee编辑,纽约州纽约市的马塞尔德克尔公司出版。(1991)和 Jones, A.《先进药物递送综述》.10:29-90 (1993)。稳定性可以在选定的温度下在选定的时段内测量。稳定性可以通过多种不同的方式进行定性和/或定量评估,包括聚集体形成的评估(例如使用尺寸排阻色谱法和/或通过目视检查);通过使用阳离子交换色谱法或毛细管区电泳评估电荷异质性;氨基末端或羧基末端序列分析;质谱分析;用于比较还原的抗体和完整抗体的SDS-PAGE分析;肽图(例如胰蛋白酶或LYS-C)分析;评估抗体的生物活性或抗原结合功能等。在一些实施例中,组合物中的治疗生物制品稳定至少一个月。在一些实施例中,组合物中的治疗生物制品稳定至少两个月。在某些实施例中,组合物中的治疗生物制品稳定至少三个月。在某些实施例中,组合物中的治疗生物制品在40℃下稳定至少一个月。

[0149] 在一些实施例中,本文所公开的方法进一步包含施用药学上有效量的至少一种透明质酸降解剂,所述至少一种透明质酸降解剂可以与组合物同时、顺序或间歇施用。皮下组织或细胞外基质包含嵌入糖胺聚糖的粘弹性凝胶内的纤维蛋白的网络。透明质酸是皮下组织中的重要糖胺聚糖。透明质酸由成纤维细胞分泌到间质中,作为一种粘性聚合物,随后在淋巴中通过透明质酸酶的作用局部降解。糖胺聚糖是细胞外基质的复杂线性多糖,并且其特征在于N取代的己糖胺和糖醛酸的重复二糖结构,如透明质酸的情况。

[0150] 透明质酸降解剂可以增强包含多个颗粒和絮凝剂的组合物的皮下施用,例如,通过增强和/或增加通过注射施用的组合物的体积,由此改善治疗生物制品的吸收。使用透明质酸降解剂(如透明质酸酶)可以通过透明质酸的可逆水解(例如,透明质酸可逆降解)改善进入体循环中的治疗生物制品的皮下施用。细胞外基质中的透明质酸的降解暂时打开皮下组织中的通道,由此允许将更大的体积安全且舒适地施用到皮下组织中(参见例如,实例9)。此外,透明质酸的降解会暂时降低皮下组织的粘度并促进注射的液体的分散,从而促进其吸收。透明质酸酶的作用是局部的并且是可逆的,其中透明质酸组织在24至48小时内完全重构。参见例如, Frost, G. I., “重组人透明质酸酶 (rHuPH20): 皮下药物和流体施用的使

能平台 (Recombinant human hyaluronidase (rHuPH20): an enabling platform for subcutaneous drug and fluid administration)”, 《药物递送专家意见 (Expert Opinion on Drug Delivery)》, 2007; 4: 427-440]。通过透明质酸的降解增加皮下组织的渗透性与透明质酸酶的功效相关, 因为其能够增加同时、顺序或间歇施用的包含多个颗粒的组合物的分散和吸收。在某些实施例中, 本文所描述的方法进一步包含施用至少一种透明质酸降解剂。

[0151] 在一些实施例中, 本公开的方法进一步包含施用至少一种透明质酸降解剂, 例如, 与组合物同时、顺序或间歇施用的药学上有效量的至少一种透明质酸降解剂。在某些实施例中, 透明质酸降解剂是透明质酸酶 (hyaluronidase enzyme), 本文中也称为透明质酸酶 (hyaluronidase)。在一些实施例中, 透明质酸酶是可溶性中性活性透明质酸酶。在某些实施例中, 透明质酸酶是哺乳动物透明质酸酶。在特定实施例中, 哺乳动物透明质酸酶是人透明质酸酶。在特定实施例中, 人透明质酸酶是重组人透明质酸酶, 例如, rHuPH20。适用于本文所公开的组合物的某些重组人透明质酸酶是可商购获得的, 例如, 来自加利福尼亚州圣迭戈的奥洛兹美医疗公司 (Halozyme Therapeutics (San Diego, CA)) 的 rHuPH20。

[0152] 根据本公开的某些实施例, 透明质酸降解剂可以与组合物同时、顺序或间歇施用。如本文所使用的, 术语“同时”或“近乎同时”施用是指同时施用的组分, 例如, 同时施用组合物和透明质酸降解剂两者。在一些实施例中, 透明质酸降解剂和组合物以单一组合物 (例如, 共同调配的) 施用。在一些实施例中, 透明质酸降解剂和组合物作为单独的调配物施用。然而, 一种组分可以在几分钟或几小时内施用, 例如, 在同一次医疗预约或医生诊疗时。此类施用被称为“顺序”施用。在某些实施例中, 顺序施用是指顺序施用透明质酸降解剂和如本文所描述的组合物。在特定实施例中, 首先施用透明质酸降解剂, 随后施用一个剂量或多个剂量的组合物。在某些实施例中, 组分可以作为共同调配物或单独的调配物间歇施用。在特定实施例中, 首先施用透明质酸降解剂。

[0153] 本公开的方法

[0154] 在进行包含治疗生物制品 (例如, mAb) 的治疗组合物的临床应用时, 制备适合预期应用的药物或治疗组合物通常将是有益的。在某些实施例中, 药物组合物可以包含例如至少约 0.1% 的活性治疗生物制品。在一些实施例中, 活性治疗生物制品可以占单位重量的约 2% 至约 99% 或例如约 50% 至约 99%, 以及其中可衍生的任何范围。

[0155] 如本文所描述的, CD20 (也称为 Bp35) 是一种 B 淋巴细胞限制性分化抗原, 在早期前 B 细胞发育期间表达, 并且保持到浆细胞分化为止。CD20 可以是 B 细胞淋巴瘤的有用靶标, 因为此抗原在恶性 B 细胞 (即 B 细胞, 其中不减弱的增殖可以导致 B 细胞淋巴瘤) 的表面上以非常高的密度表达。美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 已批准抗 CD20 抗体利妥昔单抗 (RITUXAN®) 用于治疗复发性和先前治疗过的低级别非霍奇金氏淋巴瘤 (non-Hodgkin's lymphoma, NHL)。利妥昔单抗通过与 B 细胞上的 CD20 抗原结合而起作用, 这使得 B 细胞通过一种被认为涉及补体依赖性细胞毒性 (CDC) 和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 的机制裂解。在某些实施例中, 治疗生物制品是抗体。在特定实施例中, 抗体是抗 CD20 抗体。

[0156] 本文提供了用于治疗有需要的受试者的疾病或病状的组合物和方法, 所述方法包含向所述受试者施用药学上有效量的组合物, 所述组合物包含: 悬浮在药学上可接受的液

体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL。在一些实施例中,所述组合物中的所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。在某些实施例中,本文提供了用于治疗有需要的受试者的癌症、炎性疾病或免疫性疾病的方法,所述方法包含向所述受试者施用药学上有效量的组合物,所述组合物包含:悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且其中所述组合物中所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。本文还提供了用于施用药学上有效的组合物的方法,所述药学上有效的组合物包含:悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且其中所述组合物中所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

[0157] 术语“治疗(treat)”或“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”通常是指治疗性治疗措施,例如,治疗、逆转和/或下调疾病或病状。如本文所使用的,“治疗(treat)”或“治疗(treating)”意指将治疗生物制品(如含有本公开的抗体中的任一种抗体或其抗原结合片段的组合物)在内部或外部施用于患有的一种或多种疾病症状或疑似患有所述生物制品具有治疗活性或预防活性的疾病的受试者。通常,治疗生物制品以有效减轻所治疗受试者或群体中的一种或多种疾病症状的量施用,无论是通过以临床上可测量的程度诱导此类症状的消退或抑制其的进展。有效缓解任何特定疾病症状的治疗生物制品的量可能因如受试者或患者的疾病状态、年龄和体重,以及治疗生物制品在受试者和患者体内引发期望的应答的能力等因素而异。疾病症状是否得到缓解可以通过医师或其它熟练的医疗保健提供者通常用于评估症状的严重程度或进展状态的任何临床测量来评估。所述术语进一步包括与病症相关的症状发展的延迟和/或此类病症的症状严重程度的降低。所述术语进一步包括改善现有的不受控制或不想要的症状、预防另外的症状以及改善或预防此类症状的潜在原因。因此,所述术语表示已经向患有病症、疾病或症状或具有可能发展成此类病症、疾病或症状的人或动物受试者赋予了有益结果。如本文所使用的,由于其适用于人或兽医受试者,“治疗”是指治疗性治疗以及诊断应用。适用于人或兽医受试者的“治疗”涵盖治疗生物制品(例如,本公开的抗体或抗原结合片段)与人或动物受试者接触。需要治疗癌症的受试者包括已经患有良性、癌前或非转移性肿瘤的受试者,以及需要预防癌症的发生或复发的受试者。在一些实施例中,治疗(treating)或治疗(treatment)的目的或结果可以是减少癌细胞的数量;减小原发肿瘤大小;抑制(即,在某种程度上减慢并且优选地停止)癌细胞浸润到外周器官中;抑制(即,在某种程度上减慢并且优选地停止)肿瘤转移;在某种程度上抑制肿瘤生长;和/或在某种程度上缓解与病症相关的一种或多种症状。在一些实施例中,可以通过评估存活持续时间、疾病进展时间、应答率(RR)、应答持续时间和/或生活质量来测量治疗的功效。如本文所使用的,术语“预防(prevent)”或“预防(preventing)”或“预防(prevention)”是指抑制或延迟有需要的受试者的疾病或病状的发作的任何行动,包含向受试者施用药学上有效量的根据本公开的组合物。在本公开的某些实施例中,“治疗”患有疾病或病状的受试者应包括但不限于:(i)减缓、停止或逆转疾病或病状的进展,(ii)减缓、停止或逆转疾病或病状的症状的进展,(iii)降低疾病或病状复发的可能性,和/或(iv)降

低疾病或病状的症状复发的可能性。

[0158] 可通过本文所描述的组合物和方法治疗的癌症的非限制性实例包括但不限于任何实体癌或非实体癌和/或癌症转移,包括但不限于胃肠道肿瘤(结肠癌、直肠癌、结直肠癌(colorectal carcinoma)、结直肠癌(colorectal cancer)、结直肠腺瘤、1型遗传性非息肉病、2型遗传性非息肉病、3型遗传性非息肉病、6型遗传性非息肉病;结直肠癌(colorectal cancer)、7型遗传性非息肉病、小肠和/或大肠癌、食管癌、伴有食管癌的脾脏症、胃癌(stomach carcinoma)、胰腺癌、胰腺内分泌肿瘤)、子宫内膜癌、隆突性皮纤维肉瘤、胆囊癌、胆道肿瘤、前列腺癌、前列腺腺癌、肾癌(例如,2型或1型维尔姆斯氏瘤(Wilms' tumor))、肝癌(例如,肝母细胞癌、肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)、肝细胞癌(hepatocellular cancer))、膀胱癌、胚胎性横纹肌肉瘤、生殖细胞瘤、滋养细胞肿瘤、睾丸生殖细胞瘤、卵巢未成熟畸胎瘤、子宫、卵巢上皮、骶尾部肿瘤、绒毛膜癌、胎盘部位滋养细胞肿瘤、上皮成人肿瘤、卵巢癌、浆液性卵巢癌、卵巢性索肿瘤、宫颈癌、子宫颈癌、小细胞和非小细胞肺癌、鼻咽、乳腺癌(breast carcinoma,例如,导管型乳腺癌、浸润性导管内乳腺癌,偶发性的;乳腺癌(breast cancer)、乳腺癌易感性、4型乳腺癌、1型乳腺癌、3型乳腺癌;乳腺-卵巢癌)、鳞状细胞癌(例如,位于头部和颈部)、神经源性肿瘤、星形细胞瘤、神经节细胞瘤、神经母细胞瘤、淋巴瘤(例如,霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏淋巴瘤、B细胞、伯基特氏(Burkitt)、皮肤T细胞、组织细胞、淋巴母细胞、T细胞、胸腺、B细胞非霍奇金氏淋巴瘤)、神经胶质瘤、腺癌、肾上腺瘤、遗传性肾上腺皮质癌、脑恶性病(肿瘤)、各种其它癌症(例如,支气管原大细胞、导管、恶性腹水、欧利希-莱特雷腹水(Ehrlich-Lettre ascites)、表皮样、大细胞、刘易斯肺(Lewis lung)、髓质、粘液表皮样、燕麦细胞、小细胞、纺锤形细胞、棘细胞、过渡细胞、未分化、癌肉瘤、绒毛膜癌、囊腺癌)、成室管膜细胞瘤、上皮瘤、红白血病(例如,弗兰德(Friend)、淋巴母细胞)、纤维肉瘤、巨细胞瘤、胶质肿瘤、胶质母细胞瘤(例如,多形性细胞瘤、星形细胞瘤)、神经胶质瘤肝癌、杂交瘤、异源骨髓瘤、组织细胞瘤、杂种瘤(例如,B细胞)、肾上腺样瘤、胰岛素瘤、胰岛肿瘤、角质瘤、成平滑肌瘤、平滑肌肉瘤、白血病(例如,急性淋巴性、急性淋巴细胞性、急性淋巴细胞性前B细胞、急性淋巴细胞性T细胞白血病、急性巨核细胞性、单核细胞性、急性髓系、急性髓样、伴有嗜酸性粒细胞增多症急性髓样、B细胞、嗜碱性、慢性髓样、慢性、B细胞、嗜酸性、弗兰德、粒细胞性或髓细胞性、毛细胞、淋巴细胞性、巨核细胞性、单核细胞性、单核细胞性-巨噬细胞、成髓细胞性、髓样、髓单核细胞性、浆细胞、前B细胞、早幼粒细胞性、亚急性、T细胞、淋巴样赘生物、髓样恶性病易感性、急性非淋巴细胞白血病)、淋巴肉瘤、黑色素瘤、乳腺肿瘤、肥大细胞瘤、成神经管细胞瘤、间皮瘤、转移性肿瘤、单核细胞肿瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征、骨髓瘤、肾胚胎细胞瘤、神经组织胶质肿瘤、神经组织神经元肿瘤、神经鞘瘤、神经母细胞瘤、少突神经胶质瘤、骨软骨瘤、骨性骨髓瘤(osteomyeloma)、骨肉瘤(例如,尤文氏(Ewing's))、骨质疏松症、骨转移、乳头状瘤、过渡细胞、嗜铬细胞瘤、垂体瘤(扩散性)、浆细胞瘤、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、肉瘤(例如,尤文氏、组织细胞、延森氏(Jensen)、成骨性、网织细胞)、神经鞘瘤、皮下肿瘤、畸胎瘤(例如,多能性)、畸胎瘤、睾丸肿瘤、胸腺瘤和毛上皮瘤、胃癌(gastric cancer)、纤维肉瘤、多形性胶质母细胞瘤;多发性血管球瘤、李法美尼综合征(Li-Fraumeni syndrome)、脂肪肉瘤、林奇癌家族综合征II(lynch cancer family syndrome II)、男性生殖细胞瘤、肥大细胞白血病、甲状腺髓样、多发性脑膜瘤、内分泌瘤形

成粘液肉瘤、副神经节瘤、家族性非嗜铬性、钙化上皮瘤、乳头状、家族性和散发性、横纹肌样易感性综合征、家族性、横纹肌样瘤、软组织肉瘤或伴有胶质母细胞瘤的透克氏综合征 (Turcot syndrome)。

[0159] 在一些实施例中,治疗生物制品是免疫疗法。在一些实施例中,免疫疗法是抗CD20抗体。在某些实施例中,抗CD20抗体是利妥昔单抗。在本文所描述的组合物和方法的特定实施例中,可以可用于治疗有需要的受试者的非霍奇金氏淋巴瘤 (NHL), 包含向所述受试者施用药学上有效量的组合物,所述组合物包含:悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且其中所述组合物中所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。如本文所描述的,任何能够与CD20抗原结合的抗体均可以用于本公开的方法。与CD20抗原结合的抗体包括例如:C2B8(利妥昔单抗; RITUXAN®) (美国专利第5,736,137号,通过引用明确并入本文);钇-[90]-标记的2138鼠类抗体,命名为Y2B8(美国专利第5,736,137号,通过引用明确并入本文);鼠类IgG2a 131, 任选地用131 I标记以产生131 I-B1抗体(BEXXAR®) (美国专利第5,595,721号,通过引用明确并入本文);鼠类单克隆抗体1F5(Press等人《血液 (Blood)》69(2):584-591(1987));嵌合2H7抗体(美国专利第5,677,180号,通过引用明确并入本文);以及单克隆抗体L27、G28-2、93-1 133、B--C1或NU--B2,可从国际白细胞分型研讨会(International Leukocyte Typing Workshop)获得(Valentine等人,《白细胞分型III (Leukocyte Typing III)》(McMichael编辑,第440页,牛津大学出版社(Oxford University Press) (1987))。

[0160] 在本公开的某些实施例中,抗CD20抗体是利妥昔单抗。利妥昔单抗是一种基因工程化的嵌合鼠类/人单克隆抗体。利妥昔单抗是一种IgG、 κ 免疫球蛋白,其含有鼠类轻链和重链可变区序列以及人恒定区序列。利妥昔单抗对CD20抗原的结合亲和力为大约8.0nM,并且可商购获得,例如来自加利福尼亚州南旧金山的基因泰克公司(Genentech (South San Francisco, CA))。

[0161] 在其它实施例中,抗体是曲妥珠单抗(赫赛汀 (Herceptin);加利福尼亚州南旧金山的基因泰克公司)。曲妥珠单抗是一种人源化单克隆抗体,与HER2胞外结构域的细胞外部分结合,防止二聚化和导致生长因子表达的级联。在某些实施例中,曲妥珠单抗用于治疗乳腺癌、食管癌、胃癌或其它HER2过表达的新型或转移性癌症。

[0162] 本文还提供了用于治疗有需要的受试者的炎症性疾病的方法,所述方法包含向所述受试者施用药学上有效量的组合物,所述组合物包含:悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒,其中所述颗粒(例如,基本上所有的所述颗粒)包含至少一种治疗生物制品或其盐;以及絮凝剂,其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约50mg/mL;并且其中所述组合物中所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约250mg/mL。

[0163] 在本文所描述的方法的一些实施例中,炎症性疾病包括但不限于关节疾病、眼科疾病、视网膜疾病、克罗恩氏病 (Crohn's disease)、肠易激综合征、干燥综合征 (Sjogren's disease)、组织移植排斥、哮喘、多发性硬化症、硬皮病、古德帕斯彻氏综合症 (Goodpasture's syndrome)、动脉粥样硬化、慢性特发性血小板减少性紫癜、艾迪生氏病 (Addison's disease)、帕金森氏病 (Parkinson's disease)、阿尔茨海默氏病 (Alzheimer's disease)、糖尿病、感染性休克、重症肌无力、炎症盆腔病、炎症肠病、尿道炎、葡萄膜炎、窦

炎、肺炎、脑炎、脑膜炎、心肌炎、骨髓炎、肌炎、肝炎、胃炎、肠炎、阑尾炎、胰腺炎或胆囊炎。

[0164] 在一些实施例中,本文所描述的组合物和方法可用于治疗免疫性疾病,例如,血液系统恶性病继发的获得性低丙种球蛋白血症、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病(CIDP)、格林-巴利综合征(Guillain-Barre Syndrome)、特发性血小板减少性紫癜、炎性肌病、兰伯特-伊顿肌无力综合征(Lambert-Eaton myasthenic syndrome)、多灶性运动神经病、重症肌无力、莫尔施-沃尔特曼综合征(Moersch-Woltmann syndrome)、继发性低丙种球蛋白血症特异性抗体缺乏症、急性播散性脑脊髓炎、自身免疫性溶血性贫血;瘢痕性类天疱疮、埃文斯氏综合征(Evans syndrome)、胎儿-母体/新生儿同种免疫性血小板减少症(FMAIT/NAIT)、噬血细胞综合征、高风险同种异体造血干细胞移植、IgM副蛋白血症性神经病、肾移植、多发性硬化症、眼阵挛-肌阵挛共济失调、输血后紫癜、中毒性表皮坏死松解/史蒂文·约翰逊综合征综合征(Toxic epidermal necrolysis/Steven Johnson syndrome, TEN/SJS)、中毒性休克综合征、阿尔茨海默氏病、多发骨髓瘤、败血症;B细胞肿瘤、创伤或细菌、病毒、真菌感染。在一些实施例中,免疫性疾病是自身免疫性疾病。在某些实施例中,自身免疫性疾病包括但不限于多发性硬化症、硬皮病、I型糖尿病、类风湿性关节炎、甲状腺炎、雷诺氏综合征(Reynaud's syndrome)、干燥综合征、自身免疫性葡萄膜炎、自身免疫性心肌炎、炎性肠病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、系统性红斑狼疮、视神经脊髓炎、特发性血小板减少性紫癜、重症肌无力、溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、多发性关节炎、移植抗宿主反应、青少年发病型糖尿病、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、格里夫氏病(Grave's disease)、恶性贫血、慢性活动性(狼疮样)肝炎、银屑病关节炎或神经性皮炎。“降低”或“减少”意指在数量、量、大小或强度上变得更少或更小。在某些实施例中,降低疾病(例如,如局灶性节段性肾小球硬化(FSGS))的风险包括将疾病发展的可能性降低至少约20%,例如降低至少约30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%。在一些实施例中,降低疾病的风险包括疾病发展的延迟,例如延迟至少约六个月,如约一年,如约两年、约五年或约十年。

[0165] 如本文所描述的,通过实现具有低注射力的可注射性,而不需要在注射前重悬,具有絮凝剂的基于颗粒的组合物可以直接解决皮下施用治疗生物制品(例如,mAb)的当前挑战。在一些实施例中,颗粒和絮凝剂悬浮在非水性液体载体中,并且在液体载体中保持基本上悬浮至少一个月,从而消除了对复杂、耗时的重悬程序的需要。本文所描述的组合物可以用于预填充注射器、预填充便携式药物递送注射装置或预填充口服给药液体注射器胶囊。本文所描述的组合物中的颗粒的高度可分散性质允许患者友好的皮下注射。在皮下空间内,如本文所描述的,颗粒中包含的治疗生物制品在注射后很容易恢复到其原始的单体状态,从而实现完全的生物利用度。在特定实施例中,组合物不损害治疗生物制品质量并实现更高的载量,因此允许通过皮下注射容易地递送治疗生物制品(例如,mAb)以治疗有需要的受试者的疾病或病状,其中所述疾病或病状是癌症、炎性疾病或免疫性疾病。在一些实施例中,疾病或病状是癌症。在一些实施例中,疾病或病状是炎性疾病或病状。在某些实施例中,疾病或病状是免疫性疾病。

[0166] 如本文所公开的药物组合物和方法可以通过任何合适的施用途径施用于受试者,包括例如,肠胃外或腹膜内。在一些实施例中,组合物通过肠胃外、皮下、口服、表皮、皮内、肌内、动脉内、腹膜内或静脉内注射施用。在特定实施例中,组合物是通过皮下注射施用的。适当的施用途径和适于所述施用途径的组合物的细节可以在例如以下中找到:美国专利第

6,110,973号;第5,763,493号;第5,731,000号;第5,541,231号;第5,427,798号;第5,358,970号和第4,172,896号以及其中引用的专利。如本文所公开的术语“药物组合物”是指一种制剂,其形式允许组合物中的治疗生物制品有效(例如,当施用于受试者时),并且其不含对将施用组合物的受试者具有不可接受的毒性的另外的组分。此类组合物是无菌的。“无菌”组合物或调配物是无菌的或不含所有活微生物以及其孢子。

[0167] 术语“可注射性(injectability)”或“可注射性(syringeability)”是指通过使用注射装置(例如,注射器、便携式药物递送注射装置或口服给药液体注射器胶囊)将如本文所描述的液体组合物施用于受试者的相对容易程度。具体地,可注射性部分受到组合物的粘度的影响,并且更重要地受到颗粒的沉降、注射或转移流速以及针特性(例如,长度和规格)的影响。在一些实施例中,可注射性是通过测量组合物在各种剪切速率下的粘度来确定的。在一些实施例中,通过测量致动由筒、柱塞和针组成的注射装置所需的分离力和/或滑动力来确定可注射性。在某些实施例中,注射器的筒的内径为至少6mm。如本文所描述的,包含絮凝剂和包含至少一种治疗生物制品的多个颗粒的组合物的可注射性优于具有约相同浓度的水性单体治疗生物制品的水性调配物的可注射性。术语“可注射性(injectability)”或“可注射性(syringeability)”也可以指药物组合物通过配备有16-33号针(任选地,薄壁或超薄壁(UTW)针)的注射器的注射性能。在某些实施例中,注射器配备有长度为至少8mm的针。可注射性取决于如注射所需的压力或力、流动均匀性、抽吸质量和无堵塞等因素。如本文所描述的,可以通过将一定时段后组合物的注射力与未添加絮凝剂的标准颗粒组合物进行比较来评估可注射性。当与在其它相同条件下具有相同浓度的治疗生物制品的标准颗粒组合物相比时,如本文所描述的组合物可以在一定时段后提高可注射性,其中注射力降低至少10%,优选地降低至少30%,更优选地降低至少50%,并且最优选地降低至少75%。可替代地,可以通过比较注射絮凝体积所需的时间或注射力来评估组合物的可注射性(如当用相同的力压下注射器时,在一定时段内注射约2.0mL,优选地约1.5mL,更优选地约1.0mL,并且最优选地约0.5mL的组合物),例如,颗粒在一定时段内的沉降。短语“流速”是每个单位时间可以通过给定横截面积的液体组合物的体积。通常,流速公式为 $Q=A \times v$,其中 Q 是流速, A 是流动路径上某点处的横截面积,并且 v 是该点处的液体的平均速度。在某些实施例中,流速是恒定的。在特定实施例中,流速为至少约0.1毫升/秒。

[0168] 术语“注射分离力”是指在注射器的内容物能够以稳定的速率喷射之前,克服标准注射装置的注射器筒与柱塞之间的摩擦所需的力,例如,打破柱塞的静摩擦所需的最大力。力施加在注射器柱塞轴的朝外端处,并且沿着注射器筒的轴线定向。注射器的内容物通过规定规格和长度的注射器针喷射。在某些实施例中,在致动期间通过放置在注射器柱塞的朝外端处的负荷传感器测量注射分离力。

[0169] 术语“注射器力”、“注射力”、“注射滑动力”或“滑动力”在本文中可以互换使用,并且是指维持标准注射装置的内容物的稳定喷射所需的力,例如,一旦克服静摩擦,维持柱塞移动所需的力。力施加在注射器柱塞轴的朝外端处,并且沿着注射器筒的轴线定向。注射器的内容物通过规定规格和长度的注射器针喷射。术语“牛顿体系”或“N”意指剪切应力的范围,所述范围与每个点处的局部应变速率成线性比例或接近线性比例。在一些实施例中,向颗粒的悬浮液中添加絮凝剂降低了注射器力(参见例如,实例16和17)。

[0170] 本文所描述的组合物的施用可以包含使用18-33号针施用。18-33号针的长度可以

为约19mm(3/4英寸)或更小;或优选地约13mm(1/2英寸)或更小。在一些实施例中,组合物的施用使用27-33号针。在一些实施例中,27-33号针的长度为约13mm(1/2英寸)或更小。在某些实施例中,组合物从规格范围为18号至33号(例如,19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32号至33号)的针中分配。在一些实施例中,组合物从规格范围为27号至30号的针中分配。在某些实施例中,组合物从规格范围为25号至27号的针中分配。在特定实施例中,组合物从规格为27号的针中分配。

[0171] 在一些实施例中,使用小于约70N,例如,约60、50、40、30、25、20、15、10或5N的注射力分配组合物。在一些实施例中,使用小于约25N的注射力分配组合物。在特定实施例中,使用小于约20N的注射力分配组合物。在某些实施例中,使用小于约15N的注射力分配组合物。在一些实施例中,使用小于约10N的注射力分配组合物。在某些实施例中,使用小于约5N的注射力分配组合物。在一些实施例中,随着组合物中的治疗生物制品的浓度的增加,注射力以低于组合物的粘度的速率增加。在某些实施例中,在低于约40℃的容器封闭储存条件下,注射力在至少一个月内保持基本上相同。

[0172] 在其它情况下,如本文所描述的包含多个颗粒和絮凝剂的组合物,任选地,进一步包含施用至少一种透明质酸降解剂(例如,透明质酸酶),所述透明质酸降解剂与所述组合物同时、顺序或间歇施用。在一些实施例中,待施用的组合物小于约20.0mL,例如,15.0、10.0、5.0、2.0、1.5、1.0、0.5mL。在一些实施例中,待施用的组合物小于约2.0mL。在某些实施例中,待施用的组合物小于约1.5mL。在一些实施例中,待施用的组合物小于约1.0mL。在特定实施例中,待施用的组合物小于约0.5mL。

[0173] 在一些实施例中,组合物在施用后在小于约10、9、8、7、6、5、4、3、2、1分钟内溶解。在某些实施例中,组合物在施用后小于约60秒内溶解,例如,59、58、57、56、55、54、53、52、51、50、49...10、9、8、7、6、5、4、3、2、1秒。在特定实施例中,组合物在施用后立即溶解。

[0174] 本文所描述的组合物可以用于肠胃外施用,例如,调配用于通过静脉内、肌内、皮下或甚至腹膜内途径注射,而不需要在使用前手动搅拌或预混合注射装置。适于可注射用途的药物组合物包括包含无菌颗粒的无菌非水性液体载体。在所有情况下,组合物必须是无菌的,并且必须是达到可以轻松注射的程度的流体。药物组合物在当前良好制造程序(cGMP)和储存条件下也应稳定。

[0175] 本公开总体上涉及用于注射器或便携式药物递送注射装置的组合物。在特定实施例中,组合物位于注射器或便携式药物递送注射装置中。例如,本文所公开的注射器可以是预填充注射器。在某些实施例中,注射器或便携式药物递送注射装置预填充有组合物。便携式药物递送注射装置的实例包括笔式注射器、自动注射器(automatic injector)(例如,自动注射器(autoinjector)、贴片)或口服给药液体注射器胶囊(例如,在胃肠道等中递送药物的机器人药丸)。本文所描述的组合物可以封闭在一次性注射器、药筒或由玻璃或塑料等制成的任何其它容器封闭中。在一些实施例中,组合物通过注射器注射施用。在一些实施例中,组合物从预填充注射器中分配。在某些实施例中,便携式药物递送注射装置被配置成使用无线通信系统自动或半自动地将药物递送给患者。

[0176] 自动注射器(automatic injector),例如自动注射器(autoinjector)、笔式注射器或药物笔或口服给药液体注射器胶囊是一种预填充和预组装的注射装置,其能够进行治疗剂的肠胃外施用。自动注射器的优点是其在密封的无菌药筒或注射装置中含有经测量的

剂量的治疗剂。自动注射器可用于灵巧性低、视力差或需要便携性才能按时施用治疗剂的人,并且还可以减少对自行注射治疗剂的恐惧或逆境,这增加了人服用药物的可能性。自动注射器在紧急情况下最有用,其可以快速且简单地自行施用治疗剂,而无需测量剂量。

[0177] 对于注射力可能已经相对较高的颗粒悬浮液来说,确保本文所公开的组合物和方法中的治疗生物制品的颗粒悬浮液完全递送通常很重要。在高剪切下,就像便携式药物递送注射装置的情况一样,在高注射力下确保单位剂量完全注射的问题可能会因组合物中的颗粒沉降而变得更加复杂,使用户的操作变得具有挑战性。

[0178] 在自动注射器中,组合物中的治疗生物制品的颗粒可能会作为颗粒悬浮液储存,随后进行注射。然而,颗粒悬浮液的长期储存(例如,3个月至12个月)存在缺点,如颗粒沉降,这可能导致高注射力。这些自动注射器要求用户在注射前即刻手动摇动注射器主体,以加快颗粒的重悬。不幸的是,如手动摇动自动注射器等步骤增加了施用治疗剂的剂量所需的时间,这在许多需要快速递送治疗剂的紧急医疗情况下是不期望的。

[0179] 在一些实施例中,组合物是通过注射器或便携式药物递送注射装置施用的。在特定实施例中,组合物位于注射器或便携式药物递送注射装置中。在特定实施例中,组合物通过注射器施用。在某些实施例中,组合物是通过便携式药物递送注射装置施用的。在某些实施例中,便携式药物递送注射装置是笔式注射器。在一些实施例中,便携式药物递送注射装置是自动注射器。在某些实施例中,便携式药物递送注射装置是口服给药液体注射器胶囊。在特定实施例中,注射器或便携式药物递送注射装置预填充有组合物。在一些实施例中,组合物以一个或多个剂量施用。在一些实施例中,组合物以单一剂量施用。在某些实施例中,组合物以多剂量施用。

[0180] 在一些实施例中,组合物通过注射器施用。在一些实施例中,组合物通过笔式注射器施用。在某些实施例中,组合物通过自动注射器施用。在一些实施例中,组合物通过口服给药液体注射器胶囊施用。在特定实施例中,注射器、笔式注射器、自动注射器、口服给药液体注射器胶囊是预填充的。

[0181] 本公开的组合物可以用于治疗有需要的受试者的疾病或病状。在一些实施例中,疾病或病状是癌症。在某些实施例中,疾病或病状是炎症性疾病或病状。在某些实施例中,疾病或病状是免疫性疾病。在某些实施例中,受试者是哺乳动物,例如,人或动物。如本文所描述的组合物可以使用各种已知的途径和技术在体内施用于哺乳动物,例如,人或动物受试者。例如,组合物可以作为可注射悬浮液提供,并且使用常规针和注射器或便携式药物递送注射装置通过肠胃外、皮下、口服、表皮、皮内、肌内、动脉内、腹膜内或静脉内注射施用。在某些实施例中,向哺乳动物施用组合物。在特定实施例中,向人施用组合物。

[0182] 在根据本公开的特定实施例中,当施用组合物时,其可以立即或在几秒内完全溶解,从而减轻了由持续存在于皮下空间中的颗粒引起的任何免疫风险。例如,与等剂量的水性单体mAb相比,包含mAb的颗粒的给药已显示出产生与如本文所描述的相似或改进的药代动力学(PK)曲线(AUC、C_{max}和T_{max})。在某些实施例中,组合物在施用后立即溶解。

[0183] 本文所描述的组合物证明了不会丧失生物活性的高浓度治疗生物制品(300-750mg/mL)组合物的皮下递送。通过使用有机溶剂,例如芝麻油、中链甘油三酯(MCT)、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、脂肪酸酯(油酸乙酯(EO))作为液体载体,各种治疗生物制品已经实现了这一点。例如,油酸乙酯是一种脂肪酸酯,在25℃下的粘度为约

6mPa • s,并且在储存或体内溶解期间不会与颗粒发生化学相互作用。

[0184] 使用本文所描述的各种治疗生物制品可以实现具有可控大小分布(多分散性指数 <0.2)的致密($1.32\text{g}/\text{cm}^3$)圆形颗粒的产生。聚焦离子束扫描电子显微镜(FIB-SEM)可以用于确定颗粒是否不含空隙空间,这对于在组合物中达到高蛋白质载量至关重要,并且X射线光电子能谱(XPS)可以用于控制颗粒的径向分布。在某些实施例中,粒度可以为约10至约80 μm ,这对于达到低粘度组合物,但足够小以防止27号针中的注射器堵塞是优选的。例如,通过将絮凝剂和蛋白质浓度为约400mg/mL(于油酸乙酯(EO)液体载体中)的颗粒装载到预填充注射器中,可以形成粘度为约20mPa • s(与约4N的注射力相关)的治疗组合物,所述治疗组合物可以储存至少一个月,而絮凝体积、粘度或注射力不会发生实质性变化(例如,颗粒在液体载体中保持基本上悬浮至少一个月)。参见实例5和6。在一些实施例中,组合物在至少一个月内的絮凝体积基本上相同。参见实例6。在一些实施例中,多个颗粒和絮凝剂在液体载体中保持基本上悬浮至少三个月。参见实例10和11。在某些实施例中,在约25°C的容器封闭储存条件下,注射力在至少三个月内保持基本上相同。参见实例10和11。在一些实施例中,在约25°C的容器封闭储存条件下,屈服应力在至少一个月内保持基本上相同。参见实例13。在特定实施例中,向组合物中添加絮凝剂可防止颗粒沉降,防止针堵塞。

[0185] 如本文所描述的,使用尺寸排阻色谱法(SEC)、差示扫描荧光法(DSF)、圆二色性(CD)、阳离子交换色谱法(CIEX)和亚可见颗粒(SvP)分析完成了组合物中的颗粒结构稳定性的表征。另外,使用药代动力学(PK)和免疫原性研究分析了生物活性的保存。参见实例7和8。

[0186] 本文还描述了SEC数据证实,与含有聚集体(与含有96.6%单体(蛋白质含量507mg/mL)的重新调配的颗粒组合物相比)的标记调配物(作为FDA批准的调配物的水性mAb)相比,处理时观察到最小的聚集体形成。参见实例11。在40°C下储存30天后,DSF显示样品的热漂移小于1°C,并且CD无法检测到二级结构(β 片层百分比)的任何差异。CIEX用于按照规定(ICH Q6B)分析蛋白质的带电变体,以确保在本文所描述的制备期间和储存时没有发生化学修饰。在某些实施例中,组合物在储存时可能比FDA标记的调配物更不容易发生化学修饰。这是由于蛋白质作为颗粒在固态下更稳定。

[0187] 在40°C下储存30天后,通过流式细胞术测定证明了生物活性保存。在FDA标记调配物与如本文所描述的那些组合物之间没有明显的可辨别差异。如本文实例4和实例5所示,在FDA标签调配物的情况下,储存后生物活性显著降低,而对于组合物中的颗粒,没有观察到活性降低。

[0188] 在体内研究开始之前,用于组合物的颗粒是在基本上无菌的条件下获得的。细菌内毒素水平比公认的注射标准(0.05EU/mg至0.25EU/mg)低约3个数量级。另外,微生物生长测定指示没有可观察到的生长。

[0189] 本文所描述的组合物在大鼠药代动力学(PK)、SC清除(小鼠)和功效(小鼠异种移植)方面与水性FDA标记调配物相当。PK曲线在实例7中示出,mAb微粒悬浮液(SC注射)显示出比水性mAb SC注射更高的生物利用度。参见图11。已经证明,与标准水性调配物相比,颗粒的体内溶解行为确保了组合物可以以更高的速率清除注射部位,因为未溶解的颗粒可能会引发免疫原性反应。在一些实施例中,与包含至少一种呈可溶性形式(例如,单体形式)的治疗生物制品的水性组合物相比,组合物的药代动力学(PK)有所改进。参见图11。曲线下

面积 (AUC) 从时间零到无穷大, 表示随时间变化的总药物暴露。峰浓度是用于确定药物给药的药代动力学量度。最大浓度 (Cmax) 是给予剂量后血液、脑脊液或靶器官中的药物的最高浓度。Tmax 是在施用需要吸收的药物 (例如口服药物) 后, 药物达到最大浓度 (Cmax) 所需的时间。Tmax 由药物吸收和药物消除的速率决定。在 Tmax 时, 这些值相等。在某些实施例中, 与包含至少一种呈可溶性形式的治疗生物制品的水性组合物相比, 组合物的 AUC、Cmax 和/或 Tmax 有所改进。

[0190] 在一些实施例中, 透明质酸酶的施用允许通过皮下注射器注射施用具有絮凝剂的组合物的体积和流体分散增加。如本文所公开的, 通过预注射透明质酸酶, 可以大幅增加无需重悬的皮下施用的组合物的注射体积。如实例 9 所示, 这些透明质酸酶预注射部位显示出组合物注射速率的提高, 如通过注射时在施用部位处形成的皮肤水泡的外观所确定的。

[0191] 本文描述了本公开的特定实施例。当然, 对于本领域普通技术人员而言, 在阅读前述描述后, 这些特定实施例的等效物的变化、改变、修改和替代将变得显而易见。本发明人预期技术人员可以在适当时采用等效物的此类变化、改变、修改和替代, 并且发明人旨在使本公开以与本文具体描述的方式不同的其它方式来进行实践。本领域的技术人员将易于认识到多种可以改变、变更或修改以产生本质上相似结果的非关键参数。因此, 在适用法律允许的情况下, 本公开包括所附权利要求中叙述的主题的所有修改和等效物。此外, 除非本文另外指明或以其它方式明显与上下文相矛盾, 否则本公开涵盖上述要素在其所有可能变型中的任何组合。

[0192] 总体上描述了本公开, 通过参考以下实例将更容易理解本公开, 这些实例仅出于说明本公开的某些方面和实施例的目的而被包括在内, 并且不旨在限制。

[0193] 试剂盒

[0194] 在各个实施例中, 设想了一种试剂盒, 其包含药学上有效的组合物, 所述组合物包含多个治疗颗粒, 其中絮凝剂悬浮在药学上可接受的液体载体中。例如, 试剂盒可以包括一个或多个另外的容器, 每个容器具有一种或多种从商业和用户角度来看期望使用本文所描述组合物的各种材料 (如试剂, 任选地呈浓缩形式和/或装置)。此类材料的非限制性示例包括但不限于稀释剂、过滤器、针、注射器、药筒、装置、载体、包装、容器、小瓶和/或列出内容物和/或使用说明书的管标记, 以及具有使用说明书的包装插页。在一些实施例中, 本实施例考虑了一种用于施用实施例的疗法的试剂盒。试剂盒可以包含一个或多个密封的预填充注射器、药筒或便携式药物递送注射装置, 其含有本公开的药物组合物中的任一种药物组合物。试剂盒可以包括例如包含至少一种治疗生物制品的至少多个颗粒, 以及用于制备、调配和/或施用实施例的组分或进行所公开的治疗方法的一个或多个步骤的试剂。在一些实施例中, 试剂盒还可以包含合适的容器, 所述合适的容器是不会与试剂盒的组分反应的容器, 如 Eppendorf 管、注射器、瓶、管或便携式药物递送注射装置。容器可以由如塑料或玻璃等可消毒材料制成。在特定实施例中, 组合物从预填充注射器或便携式药物递送注射装置中分配。在某些实施例中, 试剂盒包含注射器或便携式药物递送注射装置; 以及组合物, 所述组合物包含: 悬浮在药学上可接受的液体载体中的多个颗粒, 其中所述颗粒 (例如, 基本上所有的所述颗粒) 包含至少一种治疗生物制品或其盐; 以及絮凝剂, 其中所述组合物中的所述絮凝剂的浓度小于约 50mg/mL; 并且其中所述组合物中所述治疗生物制品或其盐的浓度大于约 250mg/mL。

[0195] 试剂盒可以进一步包括概述本文所述方法的程序步骤的说明书,并且将遵循与本文所描述或本领域普通技术人员已知的基本相同的程序。指令信息可以位于含有机可读指令的计算机可读介质中,当使用计算机执行所述指令时,导致显示用于递送药学上有效量的治疗生物制品的真实或虚拟程序。

[0196] 标记任选地位于容器上或与容器相关。例如,当将形成标记的字母、数字或其它字符附着、模制或蚀刻到容器本身中时,标记位于容器上;当标记存在于也容纳容器的接收器或载体中例如作为包装插页时,标记与容器相关。另外,标记可以用于指示内容物将用于特定的治疗应用。另外,标记还指示内容物的使用说明,如在本文所描述的方法中。在某些实施例中,组合物存在于包装或分配器装置中,所述包装或分配器装置含有一个或多个含有本文所提供的治疗生物制品的单位剂型。例如,包装含有金属或塑料箔,如泡罩包装。或者,包装或分配器装置可以附有施用说明书。或者,包装或分配器可以附有由管控药品的制造、使用或销售的政府机构规定的形式的与容器相关联的公告,所述公告反映了机构对于人用或兽医施用的药物的形式的批准。例如,此类告示是美国食品药品监督管理局批准的处方药标记,或批准的产品插页。在一些实施例中,制备含有本文所提供的治疗颗粒和絮凝剂的组合物,将其在相容的药物液体载体中调配,放置在适当的容器中,并标记以治疗所指示的病状。

[0197] 在一些情况下,如本文所提供的液体组合物在预填充注射装置中调配,例如,注射器或便携式药物递送注射装置。在一些实施例中,颗粒悬浮液(例如,组合物)调配为以下的待施用的体积:约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4或约2.5mL。在一些实施例中,待施用的组合物的体积小于约2.5mL。在某些实施例中,待施用的组合物的体积小于约2.0mL,优选地小于约1.5mL,更优选地小于约1.0mL,并且最优选地小于约0.5mL。

[0198] 在其它情况下,所述方法进一步包含施用至少一种透明质酸降解剂,例如,与组合物同时、顺序或间歇施用的药学上有效量的至少一种透明质酸降解剂。在一些实施例中,待施用的透明质酸降解剂的体积小于约2.0L,例如,小于约1.8、1.5、1.2、1.0、0.8、0.5、0.3、0.1L,或为约800、700、600、500、400、300、200、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9.0、8.0、7.0、6.0、5.0、4.0、3.0或约2.5mL。在一些实施例中,待施用的组合物小于约20.0mL。在某些实施例中,待施用的组合物小于约10.0mL。在一些实施例中,待施用的组合物小于约5.0mL。

[0199] 在一些实施例中,此类试剂盒包含泡罩包装中的本公开的预填充注射装置,例如,注射器或便携式药物递送注射装置。泡罩包装本身内部可以是无菌的。在一些实施例中,根据本公开的预填充注射装置(例如,注射器或便携式药物递送注射装置)可以在经历灭菌(例如终端消毒)之前放置在此类泡罩包装内。

[0200] 总体上描述了本公开,通过参考以下实例将更容易理解本公开,这些实例仅出于说明本公开的某些方面和实施例的目的而被包括在内,并且不旨在限制。

[0201] 例示

[0202] 缩略语

[0203] Å 埃

[0204] aa 氨基酸

- [0205] BSA 牛血清白蛋白
- [0206] °C 摄氏度
- [0207] cm 厘米
- [0208] d 天
- [0209] DI 去离子
- [0210] DP 分散相
- [0211] EA 乙酸乙酯
- [0212] ELISA 酶联免疫吸附测定
- [0213] EO 油酸乙酯
- [0214] eq. 当量
- [0215] Et 乙基
- [0216] eV 电子伏特
- [0217] FDS 经过滤的药物物质
- [0218] FA 絮凝剂
- [0219] FV 絮凝体积
- [0220] g 克
- [0221] GC 气相色谱法
- [0222] h 小时
- [0223] HDPE 高密度聚乙烯
- [0224] hIgG 人IgG
- [0225] HPLC 高效液相色谱法
- [0226] HSA 人血清白蛋白
- [0227] Hz 赫兹
- [0228] ID 内径
- [0229] IV 静脉内
- [0230] K 千
- [0231] KF 卡尔·费歇尔
- [0232] kJ 千焦
- [0233] kPa 千帕
- [0234] kV 千伏
- [0235] L 升
- [0236] LC-MS 液相色谱质谱法
- [0237] LD 激光衍射
- [0238] LDS 液体药物物质
- [0239] Lyo 冻干
- [0240] m 元
- [0241] mAb 单克隆抗体
- [0242] MALDI-MS 基质辅助激光解吸电离质谱法
- [0243] Me 甲基

- [0244] MHz 兆赫
[0245] min 分钟
[0246] μg 微克
[0247] μL 微升
[0248] μm 微米
[0249] μM 微摩尔
[0250] mg 毫克
[0251] mL 毫升
[0252] mm 毫米
[0253] mM 毫摩尔
[0254] mol 摩尔
[0255] $\text{mPa} \cdot \text{s}$ 毫帕·秒
[0256] mTorr 毫托
[0257] N 牛顿
[0258] nBA 乙酸正丁酯
[0259] nm 纳米
[0260] p 对
[0261] PBS 磷酸盐缓冲盐水
[0262] PEG 聚乙二醇
[0263] PEGA 聚乙二醇聚丙烯酰胺
[0264] PI 压力指示器
[0265] ppm 百万分之
[0266] ps 皮秒
[0267] PS 80 聚山梨醇酯80
[0268] PTFE 聚四氟乙烯
[0269] rcf 相对离心力
[0270] RH 相对湿度
[0271] RP-HPLC 反相高效液相色谱法
[0272] rpm 每分钟转数
[0273] RT 室温
[0274] s 秒
[0275] SC 皮下
[0276] sec 秒
[0277] SEM 扫描电子显微镜
[0278] SLPM 标准升/分钟
[0279] t 叔
[0280] tert 叔
[0281] UHMW 超高分子量聚乙烯
[0282] μm 微米

[0283] UOM 测量单位

[0284] UTW 超薄壁

[0285] UV 紫外

[0286] V 伏

[0287] VIS 可见

[0288] vol% 体积百分比

[0289] wt% 重量百分比

[0290] 材料

[0291] 人IgG (IRHUGGF-LY, >97%) 和牛IgG (IRBVGGF) 以粉末或以水溶液的形式从创新研究公司 (Innovative Research) 获得。牛血清白蛋白 (BSA) 和人血清白蛋白 (HSA) 购自西格玛奥德里奇公司 (Sigma-Aldrich)。单克隆抗体 (mAb) 以水溶液的形式提供和接收。罗氏公司 (Roche) 的利妥昔单抗的生物仿制药购自以10mg/mL利妥昔单抗、9mg/mL氯化钠、7.35mg/mL柠檬酸钠二水合物和0.7mg/mL聚山梨醇酯80的水性组合物的形式提供抗体的供应商。罗氏公司的曲妥珠单抗的生物仿制药购自以水性组合物的形式提供抗体的金斯瑞生物科技股份有限公司 (Genscript Biotech Corporation)。用于处理颗粒的定制“进料溶液”的组合物是通过脱盐,随后浓缩和添加期望的赋形剂或通过直接交换缓冲液来对接收的调配物进行改性而产生的。颗粒组合物中使用的所有赋形剂均已用于现有批准的生物制品注射剂。浓缩柱购自密理博西格玛公司 (Millipore Sigma, 用于蛋白质纯化和浓缩的 **Amicon®** Ultra 15mL过滤器,截留为10-50kDa), 并且必要时用于: (i) 达到期望的单克隆抗体浓度, 以及 (ii) 在颗粒形成之前交换缓冲液/赋形剂。在某些情况下, Zeba脱盐柱 (THERMO FISHER SCIENTIFIC™ 87773) 也用于从溶液中去掉盐。通常, 通过电导率测量和/或元素分析确定的脱盐的溶液中的残留盐与蛋白质的比率 (wt/wt) <1%。所有赋形剂均购自西格玛奥德里奇公司, 并且按原样使用。

[0292] 方法

[0293] FLOWCAM™: 使用FLOWCAM™ (动态图像分析仪器) 测量粒度筛选。样品在异丙醇中稀释至约1mg/mL, 并且通过薄通道。记录颗粒的图像, 并且根据大小和形状进行分析 (计数加权)。

[0294] 图像分析: 在SEM图像上使用ImageJ分析测量粒径和圆形成度。对例如500倍或1000倍的图像进行分析。在图像上运行ImageJ颗粒分析工具, 鉴定出圆形成度>0.8且大小大于0.5 μm的对象以及各对象轮廓。对这些轮廓进行了目视检查以确保拟合良好。任何错误鉴定的颗粒都会被手动剔除, 并且任何遗漏的颗粒都被手动包括在内并使用ImageJ直径工具进行测量。基于 (i) 最小颗粒重叠, (ii) 颗粒与背景之间的良好对比度, 以及 (iii) 提供至少10像素的颗粒占有率的分辨率, 选择显微镜图像进行进一步分析。这使得颗粒易于鉴定, 并且减少了基于分辨率的误差。应用二值阈值将颗粒与背景分离, 并且应用分水岭分割算法以确保单独测量单个颗粒。然后使用以下参数将ImageJ工具“分析颗粒”应用于二值图像: 圆形成度为0.5至1.0; 大小为5至无穷平方微米; 边缘排除; 填补孔洞。鉴定的颗粒的轮廓覆盖到原始图像上。然后丢弃被错误鉴定的颗粒, 如被鉴定为单个颗粒的簇或轮廓与颗粒不匹配的颗粒。通过手动跟踪颗粒的轮廓并使用ImageJ的测量工具来测量遗漏的颗粒。

[0295] 加速储存方案: 将所有样品转移到玻璃底板和2R肖特小瓶 (Schott vial) 中进行

老化(通常为2mL或4mL体积,取决于样品)。玻璃底板和2R肖特小瓶用石蜡膜密封,放入4℃、25℃、40℃、50℃或60℃下的烘箱中,并且在老化时段中进行目视检查以确保完整性和稳定性。

[0296] 粘度测量:除非另有说明,否则悬浮液粘度是在25℃下使用AR-G2流变仪(TA仪器公司)和25mm板测量的。测量是在1000s⁻¹下进行的,这低于27号针所经历的剪切速率。每个测量重复三次(重复间的间隔约60秒)以评估悬浮液的短期物理稳定性。在每次测量之前,记录校准标准以验证仪器设置。

[0297] 可注射性测量:除非另有说明,否则在0.1毫升/秒喷射1mL悬浮液(400mg/mL颗粒)期间,使用定制的力传感器设备和具有27号超薄壁针(TSK公司(TSK))的1-mL Norm ject型注射器测量注射器力(注射力)。

[0298] 卡尔·费歇尔:使用卡尔·费歇尔分析进行水分含量测试。在烘箱中将大约100mg的颗粒加热至150℃并用库仑法确定释放的水。

[0299] 骨骼密度:通过气体测比重术测量骨骼密度。气体是氮气或其它相容气体,并且颗粒质量为0.0413g。

[0300] 颗粒溶解:将磷酸盐缓冲盐水(PBS)添加到干燥颗粒样品中以产生50mg/mL的最终浓度(颗粒质量/mL溶液,96孔板)。一定时段后,从样品小瓶中取出10μL等分试样,并且测量并记录280nm处的吸光度。对所有样品的Ab(例如,mAb)浓度与时间的关系进行绘图。

[0301] 盐含量:通过使用电感耦合等离子体光发射光谱法(ICP-OES)测量钠含量来记录盐含量。使用钠标准品(ICPTRACECERT®,1000mg/L)制备校准曲线。使用100ppm钠的经稀释的标准溶液完成质量控制。然后分析溶解在2vol%硝酸(10mL)中的颗粒的样品(约15mg),其产生了低于仪器对钠的约0.5ppm的检测限的强度。这指示小于0.034wt%的钠含量和小于0.1wt%的总盐含量(假设柠檬酸钠和氯化钠已被等量去除)。

[0302] 尺寸排阻色谱法(SEC)测量:在AGILENT ADVANCEBIO™ SEC(300mm×2.7μm,300 Å柱)上,在SEC缓冲液(25mM磷酸盐,250mM NaCl,pH 6.8)中以1毫升/分钟的流速运行20μL样品(1mg/mL)的注射液,持续15分钟。使用以下参数通过自动积分进行峰分析:斜率灵敏度=0.5,峰宽值=0,最小峰高=0,最小峰面积值=0,肩峰关闭,最小峰面积百分比0,标准切线切削模式,高级基线校正,前峰切削高度比为0,尾峰切削高度比为0,峰谷比为0,并且切削谷比为0。可替代地,在AGILENT ADVANCEBIO™ SEC(300mm×2.7μm,300 Å柱)上,在SEC缓冲液(25mM磷酸盐,250mM NaCl,pH 6.8)中以1毫升/分钟的流速运行20μL样品(1mg/mL)的注射液,持续15分钟。使用以下参数通过自动积分进行峰分析:斜率灵敏度=0.5,峰宽值=0,最小峰高=0,最小峰面积值=0,肩峰关闭,最小峰面积百分比0,标准切线切削模式,高级基线校正,前峰切削高度比为0,尾峰切削高度比为0,峰谷比为0,并且切削谷比为0。

[0303] 阳离子交换色谱法(CIEX)测量:在加速储存条件下,使用AGILENT BIOMAB™ NP5,4.6×250mm,PEEK离子交换柱,在第0天、第7天和第30天对每个样品进行电荷变体分析。在水中透析过夜后,以1mg/mL的浓度制备样品。用以下制备缓冲液A:30mM磷酸盐,pH:6.3,以及NaCl:0mM。用以下制备缓冲液B:缓冲液A:30mM磷酸盐,pH 6.3加NaCl:175mM。样品以由100%缓冲液A开始的梯度运行,在20分钟的过程内斜升到100%缓冲液B,之后将梯度设置为在接下来的1分钟内返回到100%缓冲液A和0%缓冲液B。在注射下一个样品之前,系统在100%缓冲液A中重新平衡10分钟。积分是以手动切削峰模式进行的,以反映AGILENT™数据。

[0304] 流式细胞术:将100万个Raji细胞(100 μ L/孔)在96孔‘V底’板上的每个孔中铺板,向孔中添加10 μ L的起始浓度为200 μ L的mAb、标记、颗粒或悬浮液。mAb标记、颗粒和悬浮液的稀释因子为3X。将板在4 $^{\circ}$ C下温育30分钟。将板在2000rpm下离心5分钟,并且用PBS洗涤3次。以1:200的稀释度添加100 μ L的PE缀合的山羊抗人IgG作为二级抗体。将板以2000rpm离心5分钟,并且用PBS洗涤3次。然后将细胞重悬在200 μ L的冷PBS中并在Life Technologies ATTUNETM NXT流式细胞仪上进行分析。

[0305] 扫描电子显微镜 (SEM):使用HITACHITM TM3030Plus或TM1000台面显微镜收集选定样品的电子显微照片。样品被固定在导电胶带上并在低真空抗充电环境中进行检查,从而避免了样品制备的需要。

[0306] 图像分析:基于(i)最小颗粒重叠,(ii)颗粒与背景之间的良好对比度,以及(iii)提供至少10像素的颗粒占有率的分辨率,选择显微镜图像进行进一步分析。这使得颗粒易于鉴定,并且减少了基于分辨率的误差。应用二值阈值将颗粒与背景分离,并且应用分水岭分割算法以确保单独测量单个颗粒。然后使用以下参数将ImageJ工具“分析颗粒”应用于二值图像:圆形度为0.5至1.0;大小为5至无穷平方微米;边缘排除;填补孔洞。鉴定的颗粒的轮廓覆盖到原始图像上。然后丢弃被错误鉴定的颗粒,如被鉴定为单个颗粒的簇或轮廓与颗粒不匹配的颗粒。通过手动跟踪颗粒的轮廓并使用ImageJ的测量工具来测量遗漏的颗粒。

[0307] 密度分析:通过使用ACCUPYCTM II 1340气体置换测比重术系统检查大约0.1g的粉末来确定来自选定样品的颗粒的骨骼密度。

[0308] 水含量分析:通过将大约0.1g的粉末放入具有卡尔·费歇尔滴定仪的烘箱中并加热样品来确定来自选定样品的颗粒中的水分。

[0309] ELISA测定:ELISA测定用于在选定样品上以变性敏感的方式检测人抗体。首先将人IgG在PBS中铺板1小时,随后用洗涤缓冲液(PBS+0.05%吐温20)洗涤三次,持续4分钟,随后用2% BSA(西格玛公司(Sigma))在洗涤缓冲液中封闭45分钟,随后与稀释(20 μ g/mL)蛋白A-HRP(ABCAMTM)一起温育45分钟,随后用洗涤缓冲液温育三次,持续3分钟,随后与TMB(ABCAMTM)一起温育10分钟,最终随后用STOP溶液(ABCAMTM)淬灭反应液。在THERMO MULTISKAN SPECTRUMTM上进行比色读数。

[0310] 亚可见颗粒 (SvP) 分析:使用Fluid Imaging Technologies FLOWCAMTM PV-100系统分析亚可见颗粒(SvP)。用于分析的样品在无菌离心管中用经过滤的水(MILLI-QTM)重构至所关注的浓度。此后调查了三组样品。这些包括(i)用于重构的稀释剂的样品,(ii)用于颗粒形成过程的进料溶液的等分试样,即第一水性液体的样品,以及(iii)重构的材料。

[0311] 加速储存:除非另有说明,否则通过将选定样品在温育箱或烘箱中在高温(40 $^{\circ}$ C)下维持限定的时段在加速条件下对所述选定样品进行储存。样品保存在2mL或4mL WHEATONTM玻璃小瓶中,并且用石蜡膜密封。

[0312] 反向气相色谱法 (IGC):使用反向气相色谱法分析粉末状样品。用200至300mg的粉末状样品填充圆柱形柱以构成固定相。在惰性气体吹扫后,将一系列气体探针注射到柱上。确定每个探针的保留体积可以评估每个样品的表面能的色散和极性组分。

[0313] X射线衍射 (XRD):将样品包装到0.7mm直径的玻璃毛细管中。粉末图案是在配备有入射光束聚焦镜和X’CELEATORTM检测器的PANALYTICAL EMPYREANTM衍射仪上测量的。使用

Mo K α 辐射测量了图案(1-50°2 θ , 0.0167113°步长, 4秒/步长, 1/4°发散狭缝, 0.02弧度索勒狭缝(Soller slit))。如果静电效应(在评估冻干控制的情况下, 这是在研钵和研杵中研磨后发生的)阻止了将样品包装到毛细管中, 则在配备有LYNXEYE™位置敏感检测器的BRUKER™ D2相位衍射仪上从平板样本测量其粉末图案。使用来自5-100°2 θ 的Cu K α 辐射以0.0202144°的步幅测量图案, 对1.0秒/步幅进行计数。采用标准仪器设置(30kV, 10mA, 0.6mm发散狭缝、2.5°索勒狭缝和3mm散射屏高度)。

[0314] 微流粒度筛选(MPS): 使用FLOWCAM™ PV-100进行粒度分析的流动成像显微镜。为了研究颗粒的大小和分散性, 通过超声波处理将5mg的粉末分散在10mL的干异丙醇中。异丙醇连续相防止颗粒溶解, 即防止重构。将0.3mL注射到细胞中并使用0.15毫升/分钟的流速拍摄颗粒的图像。分析中报告了圆形度大于0.9的颗粒, 并且从分析中去除了任何双像, 以给出颗粒在1至100 μ m的范围内的分布和分散性。

[0315] 动态蒸气吸附(DVS): 使用动态水蒸气吸附分析粉末。将大约50mg的粉末状样品装载到仪器的微量天平的盘中。将样品等温保持在22°C下, 并且在整个测量过程中监测样品质量。在0%RH吹扫以去除表面水后, 样品室中的相对湿度(RH)以每小时4%RH的恒定速率斜升至90%RH。样品在90%RH下保持一小时, 然后作为阶跃变化将RH降至0%。将样品在0%RH下保持一小时, 之后终止测量。

[0316] 动态扫描量热法(DSC): 使用动态扫描量热法分析粉末状样品。将5至10mg的粉末状样品装载到铝坩埚中并气密密封。将坩埚装载到仪器中, 并且在温度以5°C/分钟的恒定速率从-80至200°C, 任选地从20至180°C斜升的同时监测进入样品的热流。

[0317] USP<790>: 根据USP<790>标准, 在大于2000lux的照明条件下, 在白色和黑色背景下目视观察溶解的颗粒的样品。选择哑光处理的高密度聚乙烯片材作为背景以减少眩光。用照度计(Dr. Meter公司(Dr. Meter), LX1330B)证实观察点处的照度。将样品旋转, 然后将其保持在背景处并观察5秒。

[0318] 絮凝体积: 絮凝体积可以通过将颗粒以适当的浓度悬浮在期望的液体载体中来测量。然后, 通常通过摇动或机械方式搅拌悬浮液, 以确保颗粒在测量开始时均匀分散在流体中。搅拌停止后, 计时立即开始。将混合物静置, 并且观察并记录固体随时间的沉淀或沉降程度。

[0319] 实例1

[0320] 蛋白质颗粒制备的通用方案: 1. 将蛋白质水溶液调节到50-160mg/mL的最终浓度。2. 然后将赋形剂添加到所得溶液中, 并且然后通过小型0.22 μ m过滤器过滤以从所得水性“进料”溶液中去除的任何外来固体。3. 将脱水溶剂(例如, 乙酸正丁酯)添加到容器(2mL至200L容器)中。4. 然后以各种流速(例如, 至多100毫升/分钟)将蛋白质进料溶液添加到容器中。5. 然后将混合物搅拌(例如, 经受剪切场或至多25,000rpm)一定时段(例如, 至多5分钟)以产生水性液滴, 随后将所述水性液滴脱水(时间取决于脱水溶剂体积、混合物的rpm和流速)以形成悬浮在混合物中的蛋白质颗粒。6. 然后将蛋白质颗粒从液体混合物中分离出来(例如, 过滤、离心和倾析等)。7. 去除液体混合物(水性液体和脱水溶剂)。8. 从蛋白质颗粒中去除蛋白质颗粒中的残留溶剂(例如, 水性液体和脱水溶剂)(例如, 真空干燥、气体干燥、气体喷射、提取溶剂等), 并且然后调节颗粒中的水分含量(例如, 湿气体、提取溶剂等)。9. 然后将一部分蛋白质颗粒溶解在DI水中, 并且温育以完全再溶解以进行表征。10. 然后分析

溶液以测量蛋白质质量(使用FLOWCAM™的SvP分析以及使用HPLC-SEC的可溶性聚集体(例如,SEC)、碎裂(例如,SEC)、电荷变体的变化(例如,离子交换色谱法(SCEX))分析和蛋白质浓度。200mg/mL至800mg/mL范围内的蛋白质浓度已根据通用方案进行处理(颗粒蛋白质载量为至少60至93%(w/w))。与起始的进料水溶液相比,具有至多85%蛋白质载量的颗粒显示出改进的稳定性。

[0321] 靶大小和分散性范围内的Ab颗粒的制备:根据通用方案形成利妥昔单抗、曲妥珠单抗、人或牛IgG颗粒,并且提供了10mg的颗粒进行分析。基于计数加权的粒度分析(FLOWCAM™)报告了平均粒径D10、D50和D90。颗粒的平均粒度D10、D50和D90被确定为平均粒度为5-50μm,并且D90<60μm。颗粒具有以下粒度统计:平均直径=5-50μm。获得了各批次颗粒的SEM。如图1所示,以1000倍放大率拍摄图像。使用ImageJ分析进行图像处理和统计,计数加权并提供用于悬浮液研究的具有期望的物理特性(例如,圆形度、内部空隙空间、蛋白质重量、稳定性和质量等)的蛋白质颗粒。

[0322] 通过SEC确定颗粒中的聚集、碎裂和电荷变体的变化:将干粉末样品在超纯水中溶解至5%(w/v),并且在60RPM下摇动。确定一式三份蛋白质浓度后,用PBS将样品稀释至1mg/mL,并且注射器过滤到HPLC小瓶中。将载体液体中的样品重悬并立即以500RPM离心每个样品,在不干扰沉降的颗粒的情况下抽吸(并丢弃)所得载体液体上清液。在向颗粒中添加水并混合后,以60RPM摇动样品。在初始蛋白质浓度确定(从底部或水层)后,用PBS稀释每个样品并一式三份(从底部或水层)测量蛋白质浓度。然后用PBS稀释每个样品,并且注射器过滤到HPLC小瓶中,过滤前将针丢弃(以防止载体液体转移)。所有样品均使用AGILENT™ 1260Infinity II生物惰性LC系统和TSKgel SuperSW HTP柱(4μm,4.6mmID×150mmL)进行分析,所述柱用200mM精氨酸-HCl、100mM磷酸钠,pH 6.5平衡。自动进样器和柱室分别维持在4℃和20℃下,并且监测280nm处的UV吸光度。运行时间为10分钟。报告了积分的高分子量(聚集体)、单体和低分子量峰的面积%。

[0323] 通过SCEX确定颗粒中的聚集、碎裂和电荷变体的变化:将干粉末样品在超纯水中溶解至5%(w/v),并且在60RPM下摇动。确定一式三份蛋白质浓度后,用超纯水将样品稀释,并且注射器过滤到HPLC小瓶中。将载体液体中的样品重悬并立即以500RPM离心每个样品,在不干扰沉降的颗粒的情况下抽吸(并丢弃)所得载体液体上清液。在向颗粒中添加水并混合后,以60RPM摇动样品。在初始蛋白质浓度确定(从底部或水层)后,用超纯水稀释每个样品并一式三份(从底部或水层)测量蛋白质浓度。然后用超纯水稀释每个样品,并且注射器过滤到HPLC小瓶中,过滤前将针丢弃(以防止载体液体转移)。所有样品均使用AGILENT™ 1260Infinity II生物惰性LC系统和THERMO SCIENTIFIC MABPAC™ SCX-10RS柱(5μm,2.1mmID×150mmL)进行分析,所述柱用100%流动相A(THERMO SCIENTIFIC™ 1X CX-1pH梯度缓冲液A)平衡。梯度为0-20%流动相B(THERMO SCIENTIFIC™ 1X CX-1pH梯度缓冲液B)。自动进样器和柱室分别维持在4℃和30℃下,并且监测280nm处的UV吸光度。报告了积分的酸性、中性(主)和碱性峰的面积%。

[0324] 实例2

[0325] 蛋白质颗粒组合物的通用方案:将含有赋形剂(例如,组氨酸、精氨酸·HCl、PS80、PS20、海藻糖、NaCl、蔗糖、甲硫氨酸、脯氨酸、磷酸钠)的利妥昔单抗、曲妥珠单抗或IgG(人或牛)颗粒以200-700mg/mL的浓度在有机载体液体或至少两种有机载体液体(例如,油酸乙

酯、芝麻油、中链甘油三酯(MCT)、饱和植物脂肪酸C8和C10的丙二醇二酯(PGD)、三醋精、辛酸甘油三酯)的混合物中制成悬浮液。这是通过将蛋白质颗粒添加到有机载体液体中并使用混合器(例如,转子定子等)产生稀释悬浮液来实现的。将稀释悬浮液通过60 μ m过滤器过滤,并且将悬浮液调节至期望的蛋白质浓度。向此悬浮液中添加絮凝剂以达到至多10mg/mL的絮凝剂总浓度,其中蛋白质浓度为200-800mg/mL。最初使用涡流和/或机械混合将此悬浮液混合1分钟,以产生期望的絮凝体积,所述絮凝体积保持稳定至少1个月。

[0326] HIgG颗粒组合物:将HIgG颗粒(74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80(或PS20)或78%蛋白质:2%组氨酸:19%精氨酸:1% PS80或89%蛋白质:3%组氨酸:7%精氨酸:1% PS80或89%蛋白质:3%组氨酸:7%精氨酸:1%海藻糖(或甲硫氨酸)或88%蛋白质:3%组氨酸:7%精氨酸:1% PS80:1%甲硫氨酸(或NaCl、蔗糖、脯氨酸、磷酸钠))制成500mg/mL浓度的油酸乙酯中的悬浮液。这是通过将19-23g的颗粒添加约450mL的油酸乙酯中,并且使用转子定子混合器产生稀释悬浮液实现的。将稀释悬浮液通过60 μ m过滤器筛分,并且通过离心调节到500mg/mL的HIgG浓度。用移液管向此悬浮液的等分试样中添加絮凝剂(聚山梨醇酯80)以达到至多10mg/mL的最终总浓度,其中HIgG浓度为500mg/mL。将此悬浮液涡旋,并且然后机械混合1分钟,产生稳定的悬浮液(絮凝体积),与没有絮凝剂的颗粒悬浮液相比,所述悬浮液保持一致至少一个月。HIgG和BIgG可以互换使用。根据实例1完成蛋白质的表征,并且与起始进料水溶液相比,其显示出改进的稳定性。

[0327] 利妥昔单抗颗粒组合物:将利妥昔单抗颗粒(98%蛋白质:2%组氨酸或80%蛋白质:2%组氨酸:18%精氨酸)制成500和700mg/mL浓度的油酸乙酯中的悬浮液。这是通过将颗粒添加约450mL的油酸乙酯中,并且使用转子定子混合器产生稀释悬浮液实现的。将稀释悬浮液通过60 μ m过滤器筛分,并且通过离心调节到500或700mg/mL的利妥昔单抗浓度。用移液管向此悬浮液的等分试样中添加絮凝剂(聚山梨醇酯80)以达到至多10mg/mL的最终总浓度,其中利妥昔单抗浓度为500或700mg/mL。将此悬浮液涡旋,并且然后机械混合1分钟,产生稳定的悬浮液(絮凝体积),与没有絮凝剂的颗粒悬浮液相比,所述悬浮液保持一致至少一个月。根据实例1完成蛋白质的表征,并且与起始进料水溶液相比,其显示出改进的稳定性。

[0328] 曲妥珠单抗颗粒组合物:根据利妥昔单抗方案,将曲妥珠单抗颗粒(71%蛋白质:2%组氨酸:26%精氨酸:1% PS80)制成500或700mg/mL浓度的油酸乙酯中的悬浮液。根据利妥昔单抗方案,产生了至少一个月保持一致的稳定悬浮液(絮凝体积)。根据实例1完成表征,并且与起始进料水溶液相比,其显示出改进的稳定性。

[0329] 实例3

[0330] 具有高浓度、稳定絮凝体积和低注射力的蛋白质颗粒组合物:

[0331] 单位“mPa $\cdot$ s”和“cP”在最广泛的意义上可以互换使用。

[0332] 流变学:产生了具有以下特性的利妥昔单抗、曲妥珠单抗、牛IgG或人IgG颗粒的悬浮液:蛋白质载量>250mg/mL,并且表观粘度<20cP(mPa $\cdot$ s)。使用平行板流变仪或本领域已知的其它方法测量粘度。悬浮液在不同浓度的载体液体中制备。当浓度>300mg/mL时,测量的粘度为约20cP(mPa $\cdot$ s)。当考虑较低粘度载体时,可以实现甚至更高的浓度。

[0333] 流变学(40 $^{\circ}$ C下第0天、第7天、第30天):跟踪随时间推移的颗粒(利妥昔单抗、曲妥珠单抗、牛IgG或人IgG)的悬浮液的粘度,以确保其在7天和30天加速储存期间的变化不超

过5%。在每个时间点,悬浮液的粘度 $<20\text{cP}(\text{mPa} \cdot \text{s})$,其中蛋白质载量 $>250\text{mg/mL}$ 。基于 280mg/mL 蛋白质悬浮液的制备,满足浓度条件。立即测量第0天样品。根据上述老化程序对第7天和第30天样品进行老化。在 1000s^{-1} 的剪切速率下进行测量。在第0天,悬浮液的粘度测量为 16.87cP 。在第7天,粘度降低至 16.33cP 。在第30天,粘度与第0天相比增加了29%,达到 21.83cP ,并且略高于 20cP 的极限。然而,使用此类小板(25mm)、小仪器间隙(150微米)和小样品体积,估计测量中的误差可能高达30%。

[0334] 卡尔·费歇尔滴定:使用卡尔·费歇尔滴定确定固体颗粒(利妥昔单抗、曲妥珠单抗、牛IgG或人IgG)的水含量以限定颗粒的组分组成。对于利妥昔单抗、曲妥珠单抗、牛IgG或人IgG中的每一者,测量、记录并确定颗粒的水含量为1-6wt%。

[0335] 粘度的确定:将 25mm 3度锥体(CP25-3,安东帕公司(Anton Paar))装载到流变仪(安东帕公司模块化紧凑型流变仪(MCR)92系列)上。将板温热到 25°C 。将具有絮凝剂的悬浮液涡旋,直至视觉上均匀为止。将 250uL 移液到基板上,并且以 950 1/s 的剪切速率测量样品。

[0336] 蛋白质含量的确定:通过涡旋分散具有絮凝剂的颗粒悬浮液,在超纯水中稀释至2.5%(v/v),并且在60RPM下摇动30分钟;将对应的干粉样品溶解在超纯水中至5%(w/v),并且在60RPM下摇动30分钟。在确定一式三份蛋白质浓度(来自悬浮液的底部或水层)后,通过将平均再溶解的蛋白质颗粒浓度和再溶解体积的乘积除以微粒的质量来计算颗粒中的蛋白质的质量百分比。然后将悬浮液的平均浓度(通过水性/调配物载体液体稀释因子校正)除以颗粒中的蛋白质的此质量百分比来计算悬浮液中的颗粒的理论质量。结果与实例1和2中所示的蛋白质含量相当。

[0337] 溶解:在第0天、第7天和第30天记录每种悬浮液的溶解速率。在不同的时间点记录溶解,证实颗粒在约20分钟内溶解,并且悬浮液在约60-80分钟内溶解。将颗粒和悬浮液溶解在PBS中至 10mg/mL 的最终浓度,并且在摇杆上摇晃。第0天、第7天和第30天的颗粒的溶解也在 40°C 下储存。

[0338] USP<790>:在溶解的颗粒的样品中确定可见颗粒的存在。USP<790>用于确定是否存在“可见”范围($>100\mu\text{m}$)内的颗粒。对溶解的颗粒的观察用于评估可见颗粒的存在。在适当的照明下,用白色和黑色背景进行了短暂的观察(5秒)。观察到了一些潜在的小颗粒,但肉眼很难看到,可能将其归类为亚可见颗粒。鉴于这些颗粒可能被认为是亚可见的,已经使用了其它方法来进一步研究,如下文所描述的。

[0339] 亚可见颗粒分析:研究了溶解的颗粒中存在的亚可见颗粒物质。在颗粒溶解后进行亚可见颗粒分析。此数据与其它竞争性颗粒形成技术进行了比较。SvP分析由颗粒分析仪进行,其中颗粒计数根据对照样品中的背景信号进行了调节。样品中测量的亚可见颗粒计数低于任何其它完成技术(包括标准冻干)。

[0340] 絮凝体积:将BIgG颗粒添加到 3mL 的油酸乙酯中,随后添加0.1重量%至0.01重量%的絮凝剂(卵磷脂或PS 80)以形成 500mg/mL 的蛋白质浓度。首先混合悬浮液并计算絮凝体积,并且将其与不含絮凝剂的悬浮液进行比较。图2示出了絮凝剂对颗粒团聚和絮凝体积的影响。0.01重量%和0.1重量%的卵磷脂可减少颗粒团聚和絮凝体积。与不含絮凝剂的悬浮液相比,PS 80.01重量%和0.1重量%增加了颗粒团聚和絮凝体积。在这两种情况下,没有观察到絮凝体积的减少,并且在 25°C 下保持稳定至少三个月。

[0341] 可注射性: 测量通过针向悬浮液中注射絮凝剂的力, 并且验证注射力在24小时后保持相同, 注射前没有重悬。如上文所获得的, 将蛋白质的浓度为500mg/mL的BIgG颗粒和在E0中为0.1重量%的PS80的悬浮液装载到具有18-G针(3英寸)的5mL注射器中。注射力小于2.0N, 并且在储存24小时后保持相同。作为参考, 使用15mPa·s标准品对配备有注射器针的空注射器的致动力进行了比较, 并且结果表明注射力均低于2.0N。这些研究表明, 注射组合物的力保持稳定至少一个月。

[0342] 实例4

[0343] 颗粒和悬浮液质量研究:

[0344] 设计: 采用类似于实例1-3的程序获得具有絮凝剂的颗粒悬浮液。在5、25和40℃的条件下, 对具有絮凝剂的蛋白质颗粒悬浮液的稳定性进行了为期三个月的评估, 以确定与蛋白质液体药物(LDS)(例如, 起始进料水溶液)相比, 颗粒悬浮液组合物的稳定性。

[0345] 组合物: 采用类似于实例1-3的程序获得具有絮凝剂的颗粒悬浮液, 其中所述絮凝剂(600mg/mL蛋白质和0.1mg/mL PS80; 74%蛋白质: 2%组氨酸: 24%精氨酸: 1% PS80)调配成颗粒, 所述颗粒然后悬浮在油酸乙酯中。

[0346] 通过切向流过滤(TFF)的缓冲液交换: 蛋白质进料溶液通过渗滤制备到所需的缓冲混合物中。使用配备有中空纤维过滤模块(MiniKros采样器)的KrosFlow KR2i TFF系统(瑞普利金公司(Repligen))进行进料制备。对每种调配物用适当的缓冲液进行了多次渗滤体积交换。

[0347] FIB-SEM成像: 使用扫描电子显微镜(HITACHI™, TM-1000)对颗粒进行成像。将颗粒的样品安装到粘合台上进行分析。使用15kV的加速电压以不同的放大率捕获图像。

[0348] 通过切向流过滤(TFF)的缓冲液交换: 蛋白质进料溶液通过渗滤制备到所需的缓冲混合物中。使用配备有中空纤维过滤模块(MiniKros采样器)的KrosFlow KR2i TFF系统(瑞普利金公司)进行进料制备。对每种调配物用适当的缓冲液进行了多次渗滤体积交换。

[0349] SEM成像: 使用扫描电子显微镜(HITACHI™, TM-1000)对颗粒进行成像。将颗粒的样品安装到粘合台上进行分析。使用15kV的加速电压以不同的放大率捕获图像。

[0350] 卡尔·费歇尔库仑法: 使用配备有860KF THERMOPREP™烘箱的Metro0hm(899库仑计)通过卡尔·费歇尔分析测试水分含量。在烘箱中将颗粒加热至165℃并用库仑法确定释放的水。

[0351] 颗粒溶解: 向干燥颗粒样品中添加水以产生最终蛋白质浓度。将样品放置在60RPM下的章动混合器上, 持续一定时段。通过从样品中取出等分试样并测量280nm处的吸光度(使用消光系数 $E_{1\%}^{1\text{cm}} = 1.69\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)来记录最终溶解浓度。

[0352] 浊度: 将重构的颗粒溶液的等分试样转移到1-cm路径长度的比色皿中。使用NANODROP™ One UV-VIS分光光度计(THERMO SCIENTIFIC™)记录405nm处的吸光度。结果表明, 与起始进料水溶液和颗粒相比, 浊度有所改进。

[0353] 尺寸排阻色谱法(SEC)测量: 在Tosoh TSKgel SuperSW mAb HTP(4.6mm ID×15cm L)柱上, 使用包含100mM磷酸二氢钠和200mM L-精氨酸单盐酸盐的流动相(pH6.5), 以约0.35毫升/分钟的流速运行样品的注射液10分钟。手动检查峰以确保准确鉴定, 并且使用本领域已知的参数通过自动整合进行分析。

[0354] 强阳离子交换色谱法(SCEX): 使用梯度法以0.4毫升/分钟的流速注射溶解在

MILLI-Q™水中的样品,所述梯度法从100%流动相pH梯度缓冲液A开始到100%流动相pH梯度缓冲液B,随后在MabPac™ SCX-10RS分析柱(2.1mm ID×15cm L,5μm柱)上洗涤和重新平衡,总运行时间为40分钟。手动检查峰以确保准确鉴定,并且使用本领域已知的参数通过自动整合进行分析。

[0355] 疏水性相互作用色谱法(HIC):使用梯度法以1毫升/分钟的流速运行溶解在包含750mM硫酸铵、50mM磷酸二氢钠二水合物,pH 6.0(1mg/mL)的稀释剂中的样品的注射液,所述梯度法从包含2M硫酸铵、50mM磷酸二氢钠二水合物,pH 6.0的50%流动相A开始,到包含50mM磷酸二氢钠二水合物,pH 6.0的100%流动相B,随后使用50%流动相A洗涤和重新平衡,在MabPac™ HIC-20HPLC柱(5μm,4.6mm ID×25cm L柱)上的总运行时间为60分钟。手动检查峰以确保准确鉴定,并且使用本领域已知的参数通过自动整合进行分析。

[0356] 粒度筛选(激光衍射):使用Horiba LA-960S通过激光衍射进行粒度分析。将干颗粒以约0.1mg/mL的浓度悬浮在异丙醇中。在颗粒测量仪器内对颗粒悬浮液进行超声处理以确保均匀性,并且然后通过Horiba粒度分析仪进行循环和搅拌。使用异丙醇的流动相进行粒度分析,并且计算体积平均粒度分布。

[0357] 微流成像:进行流动成像显微镜(FLowCAM™,流体成像技术公司(Fluid Imaging Technologies))以对蛋白质LDS和颗粒调配物中的亚可见颗粒进行定量。首先使用上文所描述的颗粒溶解方法再溶解颗粒,并且用超纯水稀释至1mg/mL。为进行分析,以0.15毫升/分钟的流速引入水性样品。记录并报告每mg蛋白质的颗粒计数。

[0358] 结果:与蛋白质液体药物物质(LDS)一起评估了干颗粒和具有絮凝剂的颗粒悬浮液的稳定性。在5、25和40℃下跟踪稳定性,在7天、14天、1个月、3个月、6个月、9个月和12个月时收集数据。在每个时间和温度下测量LDS和悬浮液的颗粒稳定性、蛋白质稳定性。对颗粒和颗粒悬浮液的分析证实,如通过单体曲线(SEC)、电荷变体曲线的维持(CEX)、同种型/假定氧化(HIC)和胶体稳定性(浊度和亚可见颗粒)测量的,蛋白质质量保持恒定。在每种情况下,用絮凝剂针对颗粒和颗粒悬浮液测量蛋白质进料溶液。在5、25和40℃下以干粉末和颗粒悬浮液形式储存的颗粒显示出光滑的且为球形的形态。在这些温度下三个月的过程里,没有观察到颗粒形态或粒度分布的变化。颗粒的水分含量在所有储存温度和时间长度内保持恒定。在5、25和40℃下,通过SEC对蛋白质聚集体的分析进行了至多12个月的测量。对于标准品,进行了相对于Δ(Mon+Dim)%和Δ(Dim+Agg)%,赋形剂选择(组氨酸、精氨酸·HCl和PS80)对hIgG颗粒(不含絮凝剂)的稳定性的影响的比较,并且在40℃下储存了12个月以评估与LDS样品相比随时间推移的聚集。如图3所示,与在相同温度(40℃下持续12个月)下储存的hIgG颗粒和具有絮凝剂的悬浮液样品相比,在40℃下储存12月的LDS样品表现出高蛋白质聚集。

[0359] 具有絮凝剂的颗粒悬浮液的低聚集率证明与蛋白质LDS相比,其稳定性有所改进。在5、25和40℃下,通过SCEX测量蛋白质至多90天内的电荷变体曲线。颗粒和具有絮凝剂的颗粒悬浮液没有观察到明显的变化,这证明与蛋白质LDS相比,在40℃下的稳定性有所改进。HIC用于测量蛋白质的潜在氧化。在5、25和40℃下,通过HIC测量蛋白质至多90天内的假定全局氧化程度。没有观察到明显的变化指示与相同温度和时间下的蛋白质LDS相比,颗粒和具有絮凝剂的颗粒悬浮液在25和40℃下展示出对氧化应激的改进的稳定性。为了进一步探究水性介质中再溶解的颗粒的蛋白质质量,在不同温度下储存后分析了可见和亚可见颗

粒。溶解后,蛋白质溶液在40℃下储存至多90天后基本上不含可见颗粒和亚可见颗粒。对于具有絮凝剂的颗粒悬浮液,在所有储存时间和温度下,蛋白质浓度、粘度和注射力都没有显著变化。

[0360] 实例5

[0361] 通过结构测定的具有絮凝剂的蛋白质的稳定性(40℃下第0天、第7天、第30天):

[0362] 尺寸排阻色谱法(SEC):目的是收集SEC数据,以评估在存在絮凝剂的情况下,蛋白质单体在40℃下储存30天后的降解。SEC是基于蛋白质液体药物物质(LDS)、颗粒和具有絮凝剂的悬浮液进行的。获得了每种样品的单体、聚集体和片段数据。在40℃下储存后的第0天、第7天和第30天,记录了SEC数据,并且通过用絮凝剂处理和储存证明了蛋白质单体的良好稳定性。与具有絮凝剂的颗粒悬浮液相比,LDS的30天样品对单体的保存较差,每种所述悬浮液的单体保存率>98%。

[0363] 阳离子交换色谱法(CIEX):收集CIEX数据以评估电荷变体物种的分布以及其在40℃下在存在絮凝剂的情况下储存30天的变化。用絮凝剂对LDS、颗粒和悬浮液进行CIEX。获得并分析了每个样品的酸性、主要和碱性物种数据。与30天老化后悬浮液中不存在此类变化相比,选择CIEX数据点突出了标记调配物所经历的酸性转变。来自悬浮液的蛋白质与未处理的材料相似,而LDS则经历了高降解。CIEX数据按建议记录,并且通过在40℃下储存絮凝剂后的第0天、第7天和第30天用絮凝剂储存证明了电荷变体的良好稳定性。由于变体中的酸性转变,与具有絮凝剂的颗粒悬浮液相比,LDS的30天样品对电荷变体分布的保存率极低。

[0364] 蛋白质的聚集、碎裂和电荷变体的变化:除非另有说明,否则根据实例1-3使用尺寸排阻色谱法(HPLC-SEC)收集聚集和碎裂数据。除非另有说明,否则根据实例1-3,使用强阳离子交换色谱法(CIEX)收集电荷变体物种的分布以及其变化。结果表明,与起始LDS相比,具有絮凝剂的悬浮液的稳定性有所改进。

[0365] 实例6

[0366] 絮凝剂和蛋白质浓度研究:

[0367] 对平均滑动力与至多700mg/mL的颗粒悬浮液浓度(74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80)的关系进行绘图。20N(牛顿)被接受为典型滑动力限制的参考。

[0368] 通过增加絮凝剂和蛋白质浓度的絮凝体积:使用油酸乙酯作为液体载体,使用浓度范围为300至700mg/mL的BIgG产生蛋白质颗粒悬浮液,其中絮凝剂(PS80)浓度为0至10mg/mL,并且储存24小时。图4示出了絮凝体积研究的絮凝剂和蛋白质浓度参数的列表。表1示出了随着BIgG和PS80的浓度的增加,絮凝体积增加。

[0369] 表1

[0370]

BIgG (mg/mL)	PS80 (mg/mL)	FV %
400	0	53
	0.01	54
	0.1	61
	1	72
	10	67
500	0	70
	0.01	70
	0.1	76
	1	86
	10	81
600	0	79
	0.01	79
	0.1	84
	1	94
	10	90
700	0	84
	0.01	82
	0.1	88
	1	93
	10	94

[0371] 通过增加絮凝剂和蛋白质浓度的可注射性:使用油酸乙酯作为液体载体,以500至700mg/mL的浓度范围产生使用BIgG的蛋白质颗粒悬浮液,其中絮凝剂(PS80)浓度为0至10mg/mL,使用20号和22号13mm(半英寸)针(株式会社日本生物制剂(Japan Bio Products))附接到1mL注射器。表2示出了随着BIgG和PS80的浓度的增加,絮凝体积增加,其中注射力没有实质性变化。

[0372] 表2

	BIgG (mg/mL)	PS80 (mg/mL)	FV%	注射器力/N
[0373]	500	0.10	92	2.0
		1.00	86	2.0
		10.0	93	2.6
	600	0.00	90	2.9
		0.01	89	2.7
		0.10	86	2.8
		1.00	96	2.0
		10.0	96	3.0
	700	1.00	87	2.5
		10.0	94	2.2

[0374] 使用辛酸甘油三酯的可注射性:使用辛酸甘油三酯作为载体液体,以620mg/mL的浓度(74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80)产生使用BIgG的蛋白质颗粒悬浮液,其中絮凝剂(PS80)的浓度为0.1mg/mL。24小时后,没有观察到絮凝体积的变化。使用附接到1mL注射器的22号13mm(半英寸)针(株式会社日本生物制剂),注射力为5.2N,速度为0.1毫升/秒,如图5所示。

[0375] 絮凝体积和储存:使用油酸乙酯作为液体载体,以556mg/mL的浓度(74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80)产生使用BIgG的蛋白质颗粒悬浮液,其中絮凝剂(PS80)浓度为0mg/mL和10mg/mL,并且在4℃至25℃下储存1个月。如图6所示,当将PS80添加到悬浮液中1个月后,在4℃或25℃下没有观察到絮凝体积的变化。此外,使用附接到1mL注射器的20号13mm(半英寸)针(株式会社日本生物制剂),注射力在2.4N下保持基本上相同(至多14秒)。参见图7。

[0376] 通过针规格的注射力:使用油酸乙酯作为液体载体,以640mg/mL的浓度(74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80)产生使用BIgG的蛋白质颗粒悬浮液,其中絮凝剂(PS80)浓度为10mg/mL,使用附接到1mL注射器的20号、25号和27号13mm(半英寸)针(株式会社日本生物制剂)。24小时后,絮凝体积保持在100%,所有三种针大小的注射力都没有实质性变化(20号针为3N,25号针为6N,并且27号针为16N)。参见图8。

[0377] 使用27号UTW针的注射力:使用油酸乙酯作为液体载体,以625mg/mL的浓度(74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80)产生使用BIgG的蛋白质颗粒悬浮液,其中絮凝剂(PS80)浓度为10mg/mL,使用附接到1mL注射器的27号UTW,13mm(半英寸)针(株式会社日本生物制剂)。24小时后,絮凝体积保持在100%,其中注射力(17.4N)没有实质性变化。图9示出了在625mg/mL的蛋白质浓度下使用27号UTW针的注射力与注射时间的关系。

[0378] 胶囊储存:使用油酸乙酯作为液体载体,以556mg/mL的浓度制备使用BIgG的蛋白质颗粒悬浮液,其中絮凝剂(PS80)浓度为10mg/mL,并且将其添加到两个没有气泡的明胶胶囊(18mm长,梅德乐公司(Medlab))中。1个月后,絮凝体积保持在100%,其中没有可观察到的蛋白质颗粒的沉降。参见图10A和10B。

[0379] 实例7

[0380] 药代动力学(PK):皮下施用Ab微粒悬浮液显示出比水性Ab注射液更高的生物利用度:

[0381] 组合物:研究的范围涉及具有以下组合物的四个队列:1) IV Ab水性利妥昔单抗:30mg/mL,2) SC Ab水溶液:30mg/mL利妥昔单抗(抗CD-20抗体)、4mg/mL组氨酸、1mg/mL海藻糖、0.7mg/mL氯化钠和0.6mg/mL聚山梨醇酯80,3) SC Ab蛋白质微粒悬浮液:30mg/mL利妥昔单抗(抗CD-20抗体)、4mg/mL组氨酸、1mg/mL海藻糖、0.7mg/mL氯化钠和0.6mg/mL聚山梨醇酯80调配为颗粒组合物,然后用浓度为10mg/mL的絮凝剂(PS80)悬浮在油酸乙酯(非水性载体媒剂)中。悬浮液的浓度为30mg/mL;以及4) SC悬浮液媒剂:油酸乙酯(非水性载体媒剂)。

[0382] 动物:雌性野生型白化斯普拉格-道利大鼠(Albino Sprague Dawley Rats,查尔斯河实验室(Charles River Lab))被圈养在塔夫斯大学比较医学服务中心(Tufts University Comparative Medicine Services,Tufts CMS)处的动物设施中。动物的所有使用均按照美国国家科学研究委员会(National Research Council)的“实验室动物护理和使用指南(Guide for the care and use of laboratory animals)”进行,并且按照机构动物护理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee,IACUC)批准的详细书面方案进行。

[0383] 给药、研究设计和分析:所有颗粒组合物注射均使用具有27号针的100 μ L汉密尔顿氏玻璃注射器(Hamilton glass syringe)完成。没有实施将颗粒重悬在注射器中的方案。所有水性和非水性媒剂注射均使用具有钉入式(staked-in)30号针的300 μ L胰岛素注射器完成。没有实施将颗粒重悬在注射器中的方案。斯普拉格-道利大鼠用于此研究。使用了以下研究设计:1) IV Ab水溶液:剂量=10mg/kg;体积=100 μ L;n=5,2) SC Ab水溶液:剂量=10mg/kg;体积=100 μ L;n=5,3) SC Ab微粒悬浮液:剂量=10mg/kg;体积=100 μ L;n=5,4) SC悬浮液媒剂:体积=100 μ L;n=3。在0小时、3小时、6小时、9小时、1天、2天、3天、5天、6天、9天、12天(14天、16天、19天、21天和23天:这些时间点低于所利用的测定的检测限)收集血浆样品。在所有数据点,从尾静脉出血处用EDTA毛细管(紫色)从每只大鼠收集血液。将从血液中获得的血浆稀释至10,000倍用于使用ELISA的分析。血浆样品由第三方合同研究组织(瑞博奥公司(Ray Biotech):RayBio®人IgG ELISA试剂盒)使用抗人IgG ELISA测定评估。测试制品利妥昔单抗S.C.注射液:AUC 5.8(小时*毫克/毫升),Cmax 34.0(μ g/mL),Tmax 57.6(小时)。测试制品油酸乙酯(E0)中的利妥昔单抗微粒悬浮液S.C.注射液:AUC 6.3(小时*毫克/毫升),Cmax 36.7(μ g/mL),Tmax 67.2(小时)。如图11所示,利妥昔单抗微粒悬浮液显示出比水性利妥昔单抗注射液更高的生物利用度。

[0384] 毒性和局部耐受性研究和分析:在注射前和注射后至多3天对注射部位进行水肿(肿胀)和红斑(发红)评估。利用德莱塞评分(Draize scoring)基于应答的严重程度对部位进行评分(0-4最大值)。在第0天(注射前)、第1天(注射后)和第7天(注射后),组合物组(100mg/kg、500mg/mL)中的5只动物中的任一只动物没有观察到异常发现。

[0385] 红斑和焦痂形成:无红斑-0;非常轻微的红斑(几乎无法察觉)-1;定义明确的红斑-2;中度至重度红斑-3;重度红斑(牛肉发红)至焦痂形成,红斑的预防分级-4。

[0386] 水肿形成:无水肿-0;非常轻微的水肿(几乎无法察觉)-1;轻微水肿(由明确隆起定义明确区域边缘)-2;中度水肿(隆起大约1mm)-3;重度水肿(隆起超过1mm并延伸超出暴

露区域)-4。

[0387] 德莱塞评分:在第0天(注射前)、第1天(注射后)和第7天(注射后)记录了个体动物存在或不存在发现。组中的所有5只动物在注射后3天内水肿和红斑评分均为零,指示组合物样品耐受良好,无毒性。

[0388] 详细的临床观察:将动物从笼中取出并进行观察。这些包括但不限于评估皮肤、皮毛、眼睛、耳朵、鼻子、口腔、胸腔、腹部、外生殖器、四肢和脚、呼吸和循环效应、自主效应(如唾液分泌)、神经系统效应(包括颤抖、抽搐、对处理的反应性、异常行为)。在第0天(注射前)、第1天(注射后)和第7天(注射后),组合物组(100mg/kg、500mg/mL)中的5只动物中的任一只动物没有观察到异常发现,指示组合物样品耐受良好,没有可观察到的毒性。

[0389] 实例8

[0390] 免疫原性:皮下施用Ab微粒悬浮液未显示出免疫应答存在:

[0391] 组合物:研究的范围涉及具有以下组合物的四个队列:1) SC载体液体对照:油酸乙酯;10 μ L, 2) SC mAb水溶液:20mg/mL利妥昔单抗生物仿制药(抗CD-20抗体)、4mg/mL组氨酸、1mg/mL海藻糖、0.7mg/mL氯化钠和0.6mg/mL聚山梨醇酯80;10 μ L, 3) SC mAb微粒悬浮液:20mg/mL利妥昔单抗生物仿制药(抗CD-20抗体)、4mg/mL组氨酸、1mg/mL海藻糖、0.7mg/mL氯化钠和0.6mg/mL聚山梨醇酯80调配为颗粒,然后用浓度为10mg/mL的絮凝剂(PS80)悬浮在油酸乙酯(非水性载体媒剂)中;10 μ L以及4) SC降解的水性mAb:利妥昔单抗生物仿制药(抗CD-20抗体),经受加热和搅拌以产生阳性对照样品;10 μ L。

[0392] 动物:雌性野生型Balb/c小鼠(查尔斯河实验室)被圈养在塔夫斯大学比较医学服务中心(Tufts CMS)处的动物设施中。所有动物程序均由Tufts CMS的机构动物护理和使用委员会(IACUC)正式审查和批准。

[0393] 给药、研究设计和分析:所有颗粒组合物注射均使用具有27号针的100 μ L汉密尔顿氏玻璃注射器进行。所有水性和非水性媒剂注射均使用具有钉入式30号针的300 μ L胰岛素注射器进行。没有实施将颗粒重悬在注射器中的方案。10周龄的Balb/c雌性小鼠(查尔斯河实验室)用于此研究。使用了以下研究设计:1) SC载体液体对照:体积=10 μ L;n=10, 2) SC利妥昔单抗水溶液:剂量=10mg/kg;体积=10 μ L;n=10, 3) SC利妥昔单抗微粒悬浮液:剂量=10mg/kg;体积=10 μ L;n=10, 4) SC降解的利妥昔单抗水溶液:剂量=10mg/kg, 体积=10 μ L;n=10。在第0天和第35天收集血浆样品。在所有数据点,从面静脉出血处用EDTA毛细管从每只小鼠收集血液。将从血液获得的血浆稀释至2,500倍用于使用Meso ScaleDiscovery®电化学发光(MSD-ECL)平台的分析。用等浓度(0.5 μ g/mL)的SULFO-TAG和生物素化的利妥昔单抗在测定稀释剂(具有0.02%吐温20的PBS中的1% MSD阻断剂A)中稀释制成主混合物。通过将小鼠抗利妥昔单抗抗体(GenScript A01970-40)以1000ng/mL、333ng/mL、111ng/mL、37ng/mL、12ng/mL、4ng/mL、1ng/mL和0ng/mL连续稀释制成ADA标准曲线。首先,将50 μ L的主混合物添加到圆底96孔聚丙烯板的每个孔中。然后,向每个孔中添加25 μ L的ADA标准品或4%血浆样品。将板密封并在4°C下适度摇动温育过夜。将150 μ L的阻断溶液(PBST中的3% w/v MSD阻断剂A)添加到96孔链霉亲和素(Streptavidin)板(MSD L55SA)的每个孔中。将板密封并在室温下适度摇动温育至少30分钟,然后用200 μ L PBST洗涤。将50 μ L溶液从聚丙烯板的每个孔转移到链霉亲和素板。然后将板密封并在室温下以400-700rpm摇动温育1小时,随后用200 μ L PBST洗涤3次。将150 μ L 2X读取缓冲液添加到每个孔中。使用MSD QUICKPLEX仪

器对板进行分析。此研究的结果表明,基于利妥昔单抗的重复剂量抗药物抗体(免疫原性),皮下施用Ab微粒悬浮液没有显示出免疫应答存在。

[0394] 实例9

[0395] 透明质酸酶的施用允许通过皮下注射器注射施用具有絮凝剂的组合物的体积和流体分散增加:

[0396] 采用与实例1-4中所描述的类似的程序进行颗粒和悬浮液产生。颗粒调配物:HIgG74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80提供了光滑的且为球形的颗粒,其中颗粒水含量为3%。FIB-SEM显示颗粒没有内部空隙空间。悬浮液调配物:载体液体油酸乙酯,蛋白质含量100mg/mL,1% PS80。絮凝体积在25℃下保持稳定至少1个月。SVP>2 μ m,通过Aura归一化的每mg蛋白质(1.8E5)测量,SEC 98.9%单体数据表明,颗粒在约25℃下至少保持稳定1个月。

[0397] 组合物:研究的范围涉及一个猪肚样品8"×18"双套袋(波士顿的Savenor's肉店(Savenor's,Boston)),并且平衡到生理温度,具有使用以下组合物的两组注射部位:PBS溶液的第1组注射部位;以及透明质酸酶预注射后施用的SC Ab悬浮液的第2组注射部位:i)于8.5mg/ml NaCl、10mM柠檬酸-柠檬酸钠、0.9mg/ml EDTA-2Na、0.3mg/ml CaCl₂,pH 5.2中的2000U的透明质酸酶(Creative Biomart公司(Creative Biomart));随后是ii)SC Ab悬浮液。悬浮液的浓度为100mg/mL的蛋白质。没有实施将颗粒重悬在注射器中的方案。

[0398] 给药、研究设计和分析:允许一份五磅重的带皮猪肚达到生理温度。使用酒精彻底清洁皮肤侧,并且然后用无菌纱布擦干。没有实施将颗粒重悬在注射器中的方案。在皮肤绷紧的同时,使用24mL Henke-Ject注射器和27G UTW针以45度角在皮肤下方皮下注射PBS溶液(第1组)。分配悬浮液,直到产生阻止悬浮液的进一步分配的足够的背压为止。分配的体积为1.4mL,并且平均注射速率为0.025毫升/秒。在透明质酸酶预注射后皮下施用SC Ab悬浮液重复实验(第2组),使用1mL结核菌素(Tuberculin)注射器和25G UTW针以45度角在皮肤下方皮下预注射1mL的透明质酸酶混合物。约5-10分钟的时段后,使用24mL Henke-Ject注射器和25G UTW针以45度角将SC Ab悬浮液皮下注射到同一注射部位中。分配悬浮液,直到足够的背压阻止悬浮液的进一步分配为止。平均体积为5.3mL,并且平均注射速率为0.045毫升/秒。研究的终点包括注射体积测量和注射部位的定性评估。所有注射均使用相同的注射力进行。

[0399] 结果:此研究的目的是确定当作为单一剂量皮下给予时可以给药的最大可行体积。实验指示,通过预注射透明质酸酶(总体积5.3mL),皮下施用的SC Ab悬浮液的注射体积(总体积1.4mL)可以大幅增加,并且这些透明质酸酶注射的部位显示出Ab颗粒组合物的注射速率的改进,如通过治疗部位处形成的皮肤水泡的外观以及注射力的降低(注射速率的提高)和更大的注射体积所确定的。

[0400] 实例10

[0401] 采用与实例1-4类似的程序进行颗粒和悬浮液产生。颗粒调配物:利妥昔单抗160mg/mL(98%)、组氨酸2.63mg/mL(3%),pH:6.0。悬浮液调配物:载体液体油酸乙酯,蛋白质含量620mg/mL,固体载量843mg/mL。

[0402] 颗粒产生和液滴生成(Kinematica公司(Kinematica)/20mm)研究:扩散相:连续相(nBA)比率1/200,至少16mL:3.2L,其中混合器速度为(10000rpm)/60秒混合。通过离心和随

后的干燥(空气10-75RH)进行的固体-液体分离过程提供了光滑的且为球形的颗粒,其中粒度分布(D10/D50/D90)为9.34/20.32/40.58 μm ,颗粒水含量为3.4%(图12)。FIB-SEM显示颗粒没有内部空隙空间(图13)。

[0403] 使用油酸乙酯作为载体液体,填充体积为2.56mL。悬浮液分散过程和参数:使用RSM 5000rpm进行120秒以及过滤(60 μm)。将10 μL 的于油酸乙酯(1% PS80)中的储备100mg/mL PS80溶液添加到悬浮液中并涡旋以混合。在25℃下,絮凝体积保持稳定至少3个月。将1mL的悬浮液转移到1mL Gerresheimer 13mm注射器中,并且将25号UTW针添加到注射器中。以0.05毫升/秒(51.1毫米/分钟)或0.1毫升/秒(189.4毫米/分钟)和0.05毫升/秒(94.6毫米/分钟)测量注射器力。

[0404] 注射器力结果。图14示出了当以0.05毫升/秒注射620mg/mL利妥昔单抗悬浮液时的滑动力为16N。

[0405] 自动注射器力结果。注射器装载有620mg/mL悬浮液,并且放置在测试设备中以模拟弹簧驱动自动注射器。弹簧能够以16N从注射器中喷射悬浮液。

[0406] 实例11

[0407] 采用与实例1-4类似的程序进行颗粒和悬浮液产生。颗粒调配物:利妥昔单抗70mg/mL(80%)、组氨酸2.2mg/mL(2%)、精氨酸.HCl 15.3mg/mL(18%),pH:6.0。悬浮液调配物:载体液体油酸乙酯,蛋白质含量507mg/mL,固体载量735mg/mL。

[0408] 颗粒产生和液滴生成(Kinematica公司/20mm)研究:扩散相:连续相(nBA)比率1/200,至少20mL:4L,其中混合器速度为(8000rpm)/60秒混合。通过离心和随后的干燥(空气10-75RH)进行的固-液分离过程提供了光滑的且为球形的颗粒,其中粒度分布(D10/D50/D90)为6.6/11.4/19.3 μm ,颗粒水含量为3%(图15)。FIB-SEM显示颗粒没有内部空隙空间(图16)。SVP>2 μm ,通过Aura归一化的每mg蛋白质(3.5E5)测量,Pro-A,16.00%氧化,SCEx(酸性/中性/碱性%)7.7/82.7/9.6,SEC 96.6%单体数据表明,颗粒保持稳定至少3个月。

[0409] 使用油酸乙酯作为载体液体,填充体积为3.2mL。悬浮液分散过程和参数:使用RSM 6000rpm进行15分钟以及过滤(60 μm)。将10 μL 的于油酸乙酯(1% PS80)中的储备100mg/mL PS80溶液添加到悬浮液中并涡旋以混合。在25℃下,絮凝体积保持稳定至少3个月。将1mL的悬浮液转移到2.25mL Neopak注射器中,并且将27号STW x 1/2"针添加到注射器中。以0.1毫升/秒(189.4毫米/分钟)测量注射器力。

[0410] 注射器力结果。图17示出了当以0.1毫升/秒注射507mg/mL利妥昔单抗悬浮液时的滑动力为30N。

[0411] 实例12

[0412] 采用与实例10和11类似的程序进行曲妥珠单抗颗粒和悬浮液产生。颗粒调配物:曲妥珠单抗71.4mg/mL(71%)、组氨酸2.2mg/mL(2%)、精氨酸.HCl 15.3mg/mL(26%)、PS80 0.9mg/mL(1%),pH:6.0。悬浮液调配物:载体液体油酸乙酯,蛋白质含量507mg/mL,固体载量735mg/mL。

[0413] 颗粒产生和液滴生成(Kinematica公司/20mm)研究:扩散相:连续相(nBA)比率1/200,至少18mL:3.6L,其中混合器速度为(4000rpm)/60秒混合。通过离心和随后的干燥(空气10-75RH)进行的固体-液体分离过程提供了光滑的且为球形的颗粒,SEC单体数据表明,颗粒保持稳定至少3个月。

[0414] 絮凝体积和储存结果。1个月后,絮凝体积保持稳定,为100%,其中没有可观察到的蛋白质颗粒的沉降。

[0415] 注射器力结果。1个月后,结果表明507mg/mL曲妥珠单抗悬浮液的滑动力没有变化。

[0416] 实例13

[0417] 采用与实例1-4类似的程序进行颗粒和悬浮液产生。颗粒调配物:HIgG 74%蛋白质:2%组氨酸:24%精氨酸:1% PS80提供了光滑的且为球形的颗粒,其中颗粒水含量为3%。FIB-SEM显示颗粒没有内部空隙空间。悬浮液调配物:载体液体油酸乙酯,蛋白质含量500mg/mL,1% PS80。絮凝体积在25℃下保持稳定至少1个月。SVP>2 μ m,通过Aura归一化的每mg蛋白质(1.8E5)测量,SEC 98.9%单体数据表明,颗粒在约25℃下至少保持稳定1个月。

[0418] 絮凝体积和储存稳定性结果。在4℃、25℃和40℃下1个月后,絮凝体积保持稳定,为100%,其中没有可观察到的蛋白质颗粒的沉降。在4℃、25℃和40℃下跟踪500mg/mL HIgG悬浮液的储存稳定性,在1个月、2个月和3个月时收集数据,其中PS80于油酸乙酯中的浓度为0mg/mL、0.1mg/mL和1.0mg/mL。数据表明,在4℃、25℃和40℃下储存至多3个月后,SVP>2 μ m计数随着油酸乙酯中的PS80的浓度的增加而减少。对于在25℃和40℃下储存至少3个月的500mg/mL HIgG悬浮液,通过于E0中的1.0mg/mL的PS80,SVP计数减少了至少4倍。

[0419] 注射器力结果。将1mL悬浮液转移到1mL Schott SyriQ BioPure注射器中,并且将27号1/2"针添加到注射器中。以0.1毫升/秒(189.4毫米/分钟)测量注射器力。注射器力结果表明,当以0.1毫升/秒注射500mg/mL HIgG悬浮液时的滑动力为16N。

[0420] 屈服应力的测量结果通过平行板流变仪(ANTON PAAR™ MCR 92)获得。结果表明,观察到屈服应力,这指示在添加絮凝剂后形成了稳定的絮凝体积,使颗粒悬浮液能够流动。

[0421] 实例14

[0422] 具有多于一种蛋白质的颗粒组合物:

[0423] 采用与实例10-12类似的程序进行利妥昔单抗和曲妥珠单抗悬浮液产生。颗粒调配物(实例11和12):利妥昔单抗70mg/mL(80%)、组氨酸2.2mg/mL(2%)、精氨酸.HCl15.3mg/mL(18%),pH:6.0;以及曲妥珠单抗71.4mg/mL(71%)、组氨酸2.2mg/mL(2%)、精氨酸.HCl 15.3mg/mL(26%)、PS80 0.9mg/mL(1%),pH:6.0。悬浮液调配物:载体液体油酸乙酯(2% PS80)至悬浮液中并涡旋混合,221.2mg的利妥昔单抗和310.5mg的曲妥珠单抗总共531.7mg(蛋白质含量400mg/mL),颗粒蛋白质百分比70%。

[0424] 絮凝体积和悬浮液稳定性结果。1个月后,絮凝体积保持稳定,为100%,其中没有可观察到的利妥昔单抗和曲妥珠单抗颗粒的沉降。1个月后,对颗粒和颗粒悬浮液的分析证实,当PS80在油酸乙酯中调配并在25℃下储存至少1个月时,如由SEC通过单体曲线测量的蛋白质质量略有下降。

[0425] 实例15

[0426] 具有至少两种载体液体的蛋白质颗粒组合物:

[0427] 采用与实例1-4类似的程序进行颗粒和悬浮液产生。颗粒调配物:HIgG 130mg/mL(88%)、组氨酸5.0mg/mL(3%)、精氨酸.HCl 9.8mg/mL(7%)、甲硫氨酸2.0(1%)、PS80 0.1(1%),pH:5.5。悬浮液调配物:载体液体40/60油酸乙酯:芝麻油,蛋白质含量400mg/mL,固体载量452mg/mL,絮凝剂:0或2mg/mL。

[0428] 颗粒产生和液滴生成 (Kinematica公司/20mm) 研究: 扩散相: 连续相 (nBA) 比率1/200, 至少20mL:4L, 其中混合器速度为 (8000rpm) /60秒混合。通过离心和随后的干燥 (空气 10-75RH) 进行的固体-液体分离过程提供了光滑的且为球形的颗粒, 其中粒度分布 (D10/D50/D90) 为6.1/10.1/15.7 μ m, 颗粒水含量为3%。FIB-SEM显示颗粒没有内部空隙空间。SVP >2 μ m, 通过Aura

[0429] 归一化的每mg蛋白质 (3.5E5) 测量, Pro-A, 16.00% 氧化, SCEX (酸性/中性/碱性%) 7.7/82.7/9.6, SEC 96.6% 单体数据表明, 颗粒保持稳定至少3个月。

[0430] 使用40/60油酸乙酯: 芝麻油作为载体液体, 填充体积为3.2mL。悬浮液分散过程和参数: 使用RSM 6000rpm进行15分钟以及过滤 (60um)。将10uL的于油酸乙酯 (1% PS80) 中的储备100mg/mL PS80溶液添加到悬浮液中并涡旋以混合。与不含絮凝剂的悬浮液 (1个月后为62.3%) 相比, 絮凝体积在25℃下保持稳定至少1个月 (74.8%)。将1mL的悬浮液转移到2.25mL Gerresheimer注射器中, 并且将27号TW x 1/2"针添加到注射器中。以0.1毫升/秒 (189.4毫米/分钟) 测量注射器力。在室温下储存, 翻起直到观察到絮凝体积没有变化为止 (至少储存1个月)。

[0431] 絮凝体积和储存稳定性结果。与不含絮凝剂的悬浮液 (1个月后为62.3%) 相比, 在25℃下1个月, 絮凝体积保持稳定, 为74.8%, 没有可观察到的蛋白质颗粒的沉降。在25℃下跟踪400mg/mL HIgG悬浮液的储存稳定性, 在1个月时收集数据, 其中PS80于40/60油酸乙酯: 芝麻油中的浓度为0mg/mL和0.1mg/mL。数据表明, 在25℃下储存至多至少1个月后SVP >2 μ m计数随着在40/60油酸乙酯: 芝麻油中调配的PS80的浓度的增加而减少。

[0432] 注射器力结果。将1mL的悬浮液转移到1mL Gerresheimer注射器中, 并且将27号TW x 1/2"针添加到注射器中。以0.1毫升/秒 (189.4毫米/分钟) 测量注射器力。注射器力结果表明, 当以0.1毫升/秒注射时, 使用40/60油酸乙酯: 芝麻油作为载体液体的具有絮凝剂的400mg/mL HIgG悬浮液的滑动力为20.1N, 当与不含絮凝剂的悬浮液相比时为27.4N。与不含絮凝剂的悬浮液 (31.8cP) 相比, 发现粘度为23.3cP。

[0433] 屈服应力的测量结果通过平行板流变仪 (ANTON PAAR™ MCR 92) 获得。结果表明, 观察到屈服应力, 这指示在添加絮凝剂后形成了稳定的絮凝体积, 使颗粒悬浮液能够流动。

[0434] 实例16

[0435] 具有作为载体液体的MCT的蛋白质颗粒组合物:

[0436] 采用与实例1-4类似的程序进行颗粒和悬浮液产生。颗粒调配物: HIgG 130mg/mL (88%)、组氨酸5.0mg/mL (3%)、精氨酸.HCl 9.8mg/mL (7%)、甲硫氨酸2.0 (1%)、PS80 0.1 (1%), pH: 5.5。悬浮液调配物: 载体液体MCT, 蛋白质含量400mg/mL, 固体载量452mg/mL, 絮凝剂: 0或2mg/mL。

[0437] 颗粒产生和液滴生成 (Kinematica公司/20mm) 研究: 扩散相: 连续相 (nBA) 比率1/200, 至少20mL:4L, 其中混合器速度为 (8000rpm) /60秒混合。通过离心和随后的干燥 (空气 10-75RH) 进行的固体-液体分离过程提供了光滑的且为球形的颗粒, 其中粒度分布 (D10/D50/D90) 为6.1/10.1/15.7 μ m, 颗粒水含量为3%。FIB-SEM显示颗粒没有内部空隙空间。SVP >2 μ m, 通过Aura

[0438] 归一化的每mg蛋白质 (3.5E5) 测量, Pro-A, 16.00% 氧化, SCEX (酸性/中性/碱性%) 7.7/82.7/9.6, SEC 96.6% 单体数据表明, 颗粒保持稳定至少3个月。

[0439] 使用MCT作为载体液体,填充体积为3.2mL。悬浮液分散过程和参数:使用RSM 6000rpm进行15分钟以及过滤(60um)。将10uL的于MCT(1% PS80)中的储备100mg/mL PS80溶液添加到悬浮液中并涡旋以混合。与不含絮凝剂的悬浮液(1个月后为65.1%)相比,絮凝体积在25℃下保持稳定至少1个月(87.6%)。将1mL的悬浮液转移到2.25mL Gerresheimer注射器中,并且将27号TW x 1/2"针添加到注射器中。以0.1毫升/秒(189.4毫米/分钟)测量注射器力。在室温下储存,翻起直到观察到絮凝体积没有变化为止(至少储存1个月)。

[0440] 絮凝体积和储存稳定性结果。与不含絮凝剂的悬浮液(1个月后为65.1%)相比,在25℃下1个月,絮凝体积保持稳定,为87.6%,没有可观察到的蛋白质颗粒的沉降。在25℃下跟踪400mg/mL HIgG悬浮液的储存稳定性,在1个月时收集数据,其中PS80于MCT中的浓度为0mg/mL和0.1mg/mL。数据表明,在25℃下储存至多至少1个月后SVP>2μm计数随着在MCT中调配的PS80的浓度的增加而减少。

[0441] 注射器力结果。将1mL的悬浮液转移到1mL Gerresheimer注射器中,并且将27号TW x 1/2"针添加到注射器中。以0.1毫升/秒(189.4毫米/分钟)测量注射器力。注射器力结果表明,当以0.1毫升/秒注射时,使用40MCT作为载体液体的具有絮凝剂的400mg/mL HIgG悬浮液的滑动力为31.8N,当与不含絮凝剂的悬浮液相比时为38.9N。与不含絮凝剂的悬浮液(45.2cP)相比,发现粘度为36.9cP。

[0442] 屈服应力的测量结果通过平行板流变仪(ANTON PAAR™ MCR 92)获得。结果表明,观察到屈服应力,这指示在添加絮凝剂后形成了稳定的絮凝体积,使颗粒悬浮液能够流动。

[0443] 通过引用的方式并入

[0444] 本文提及的所有出版物和专利均通过引用以其全文并入本文,就如同每个单独的出版物或专利被明确地且单独地指出通过引用并入一样。在冲突的情况下,以本申请(包括本文中的任何定义)为准。

[0445] 等效物

[0446] 虽然已经讨论了本公开的特定方面和实施例,但是上述说明书是说明性的而非限制性的。在阅读了本说明书和下面的权利要求书后,本公开的许多变化对于本领域技术人员而言将变得显而易见。本公开的全部范围应参考权利要求书连同其等同物的全部范围以及说明书连同此类变化来确定。

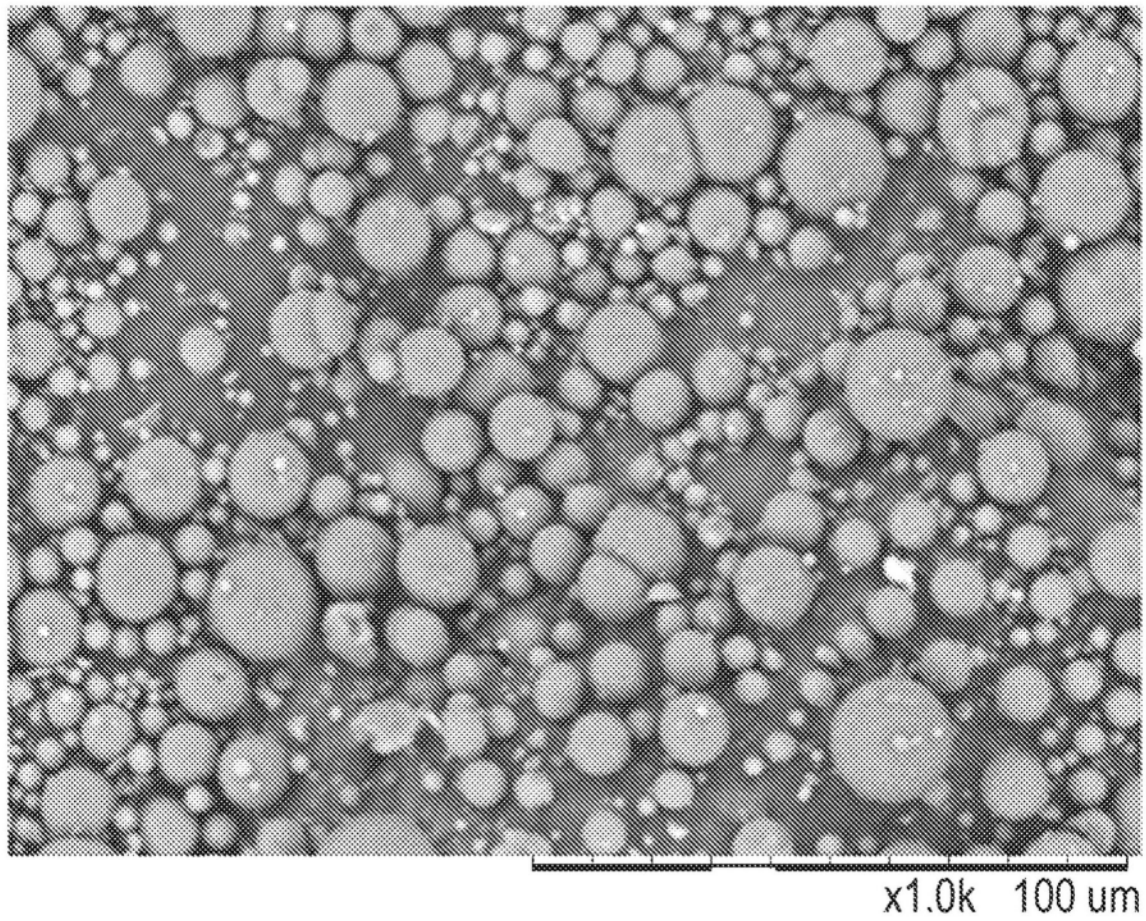


图1

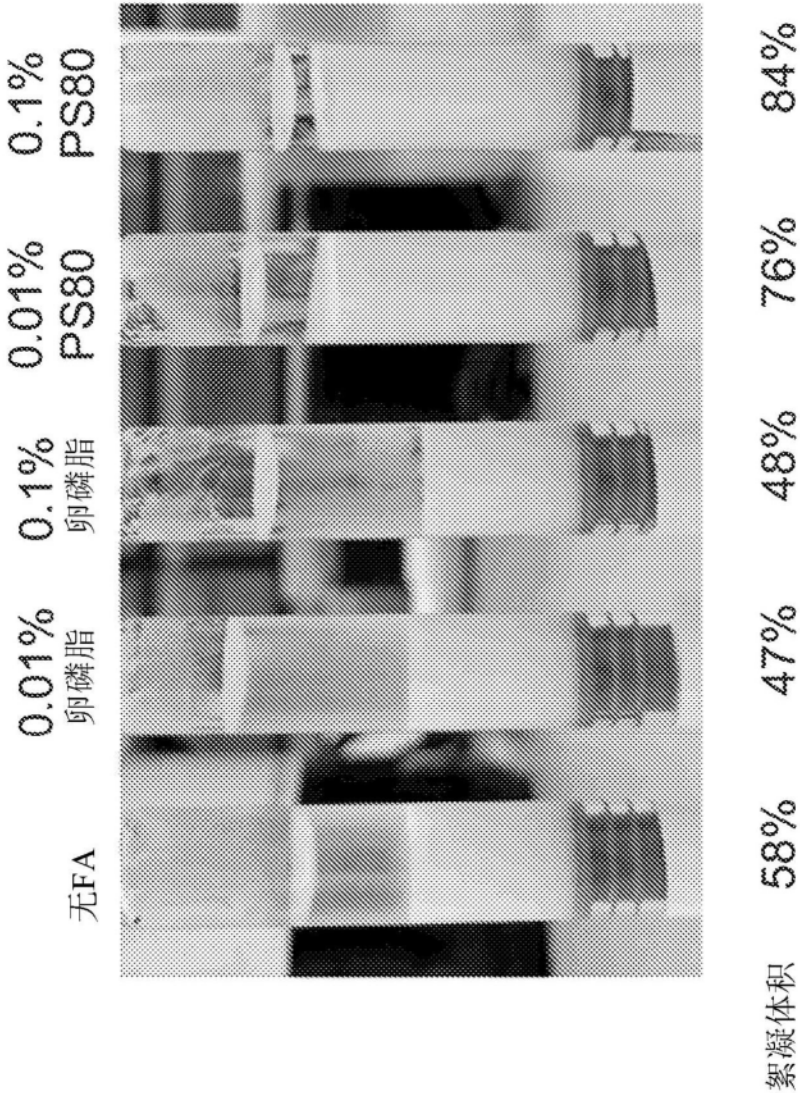


图2

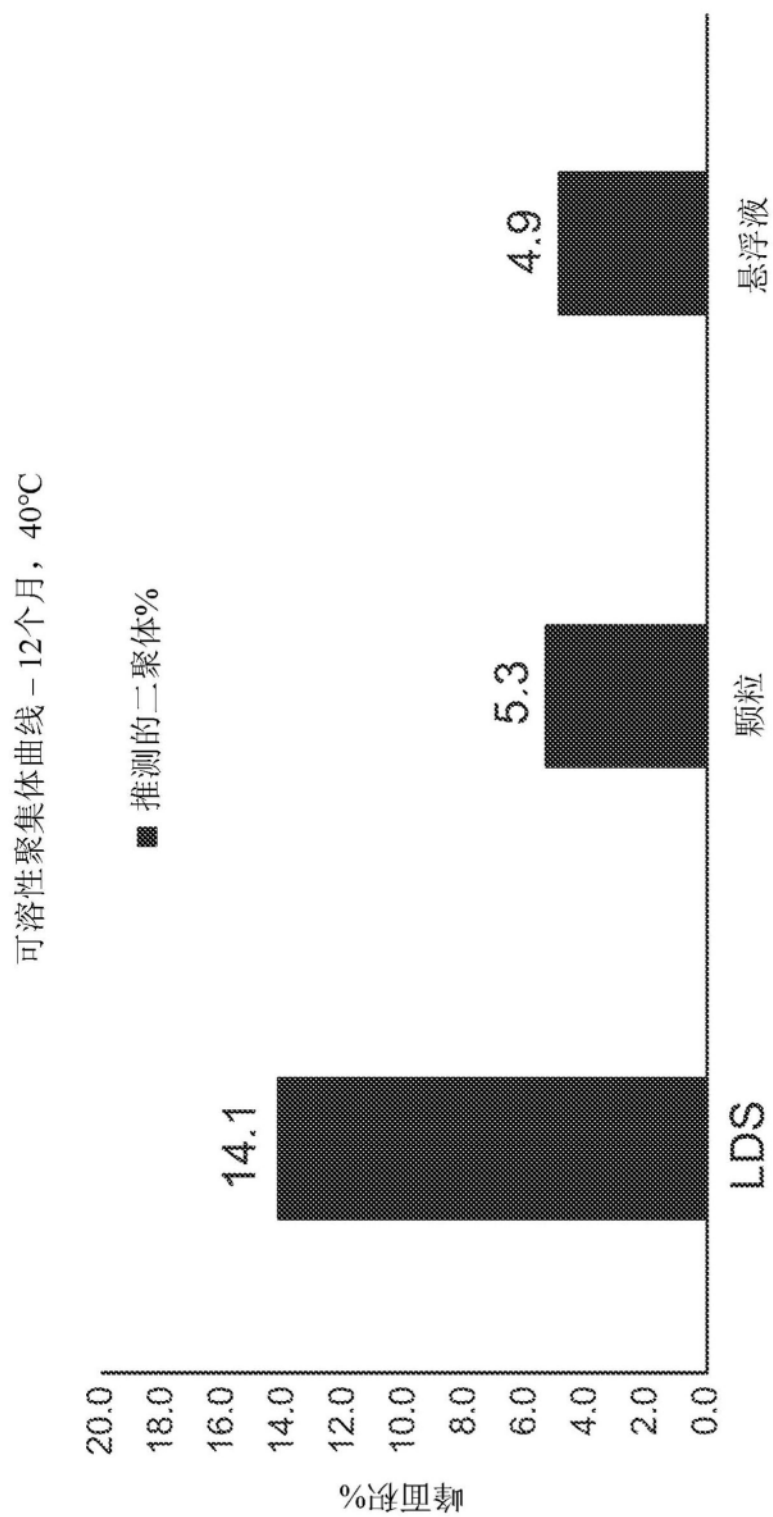


图3

增加的絮凝剂 (mg/mL) →

增加的蛋白质 (mg/mL) ↓	300 0.00	300 0.01	300 0.10	300 1.00	300 10.0
	400 0.00	400 0.01	400 0.10	400 1.00	400 10.0
	500 0.00	500 0.01	500 0.10	500 1.00	500 10.0
	600 0.00	600 0.01	600 0.10	600 1.00	600 10.0
	700 0.00	700 0.01	700 0.10	700 1.00	700 10.0

图4

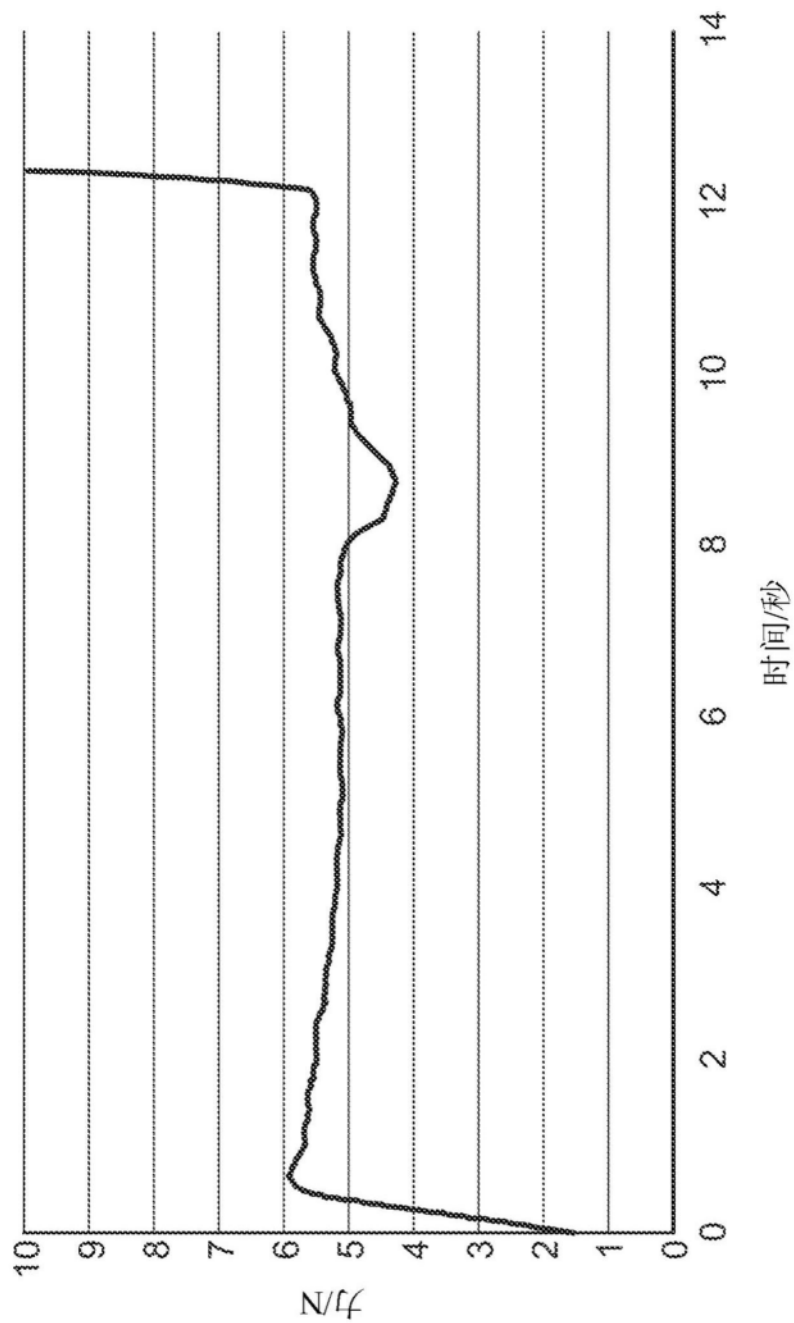


图5

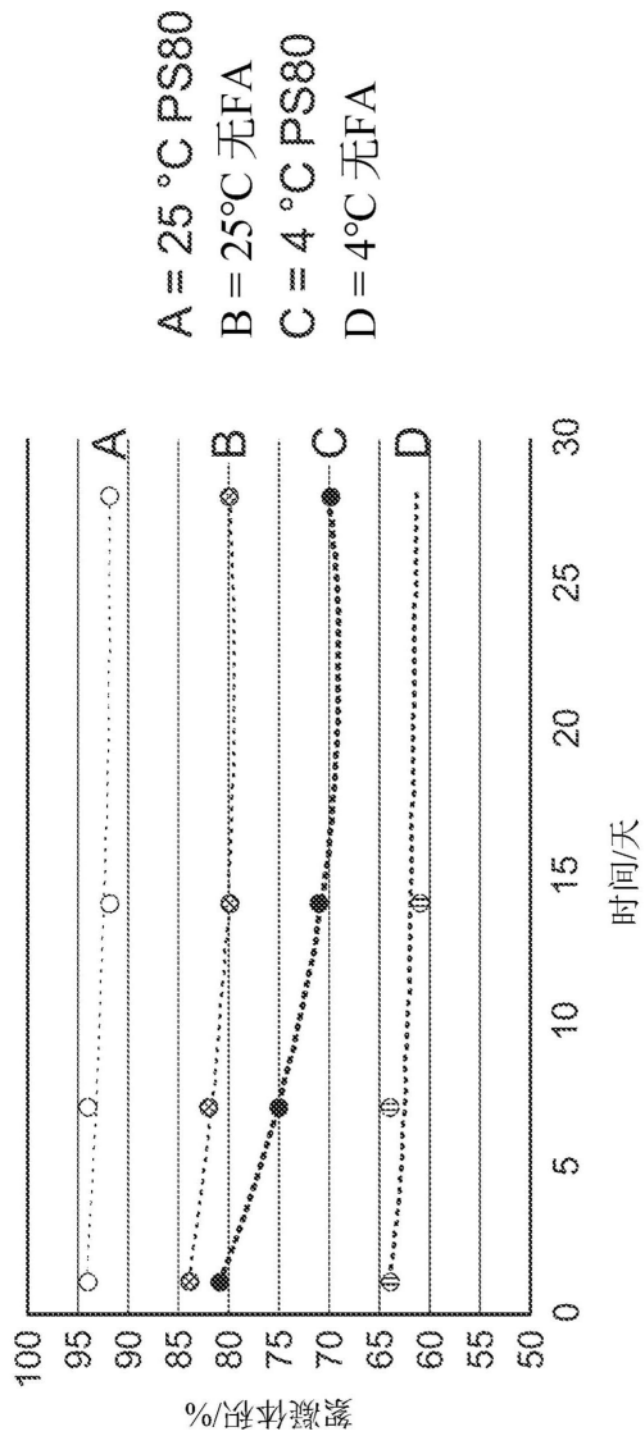


图6

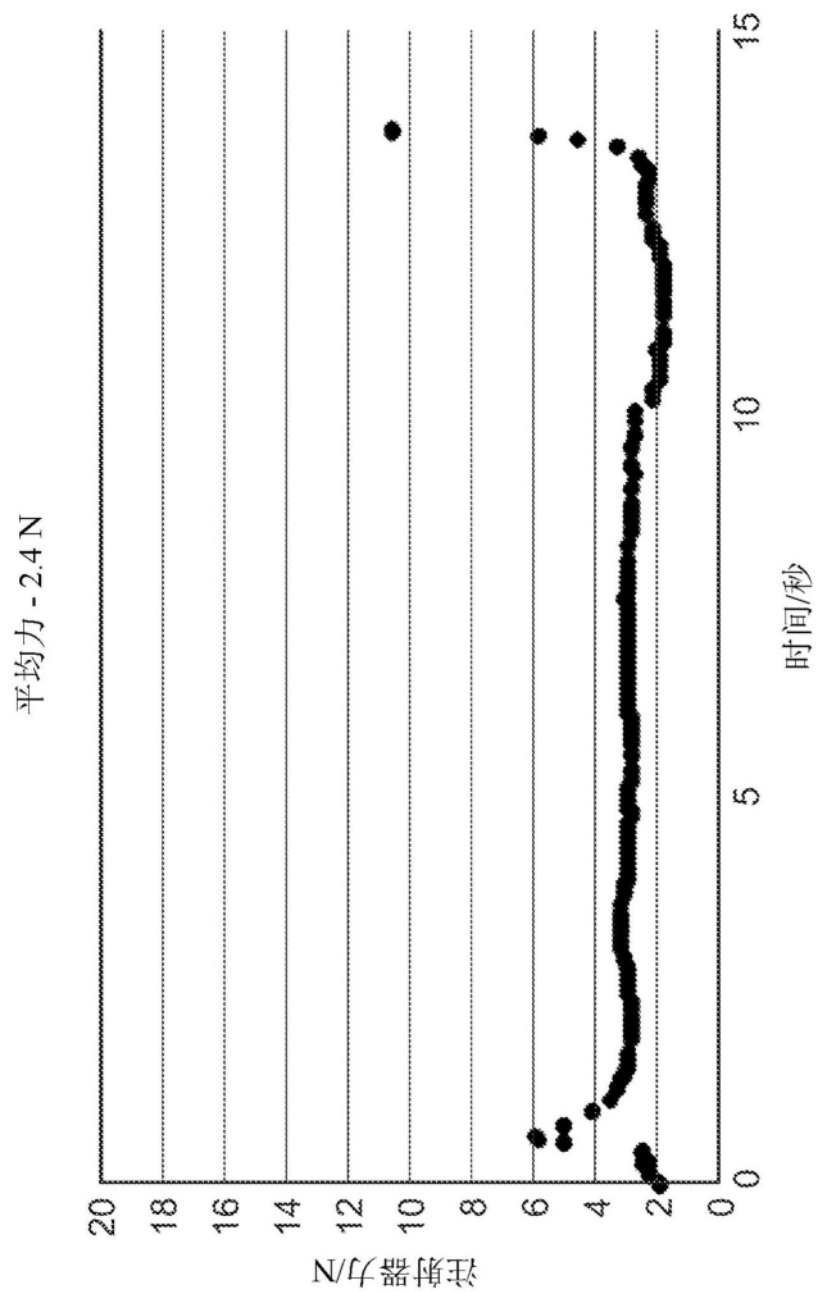


图7

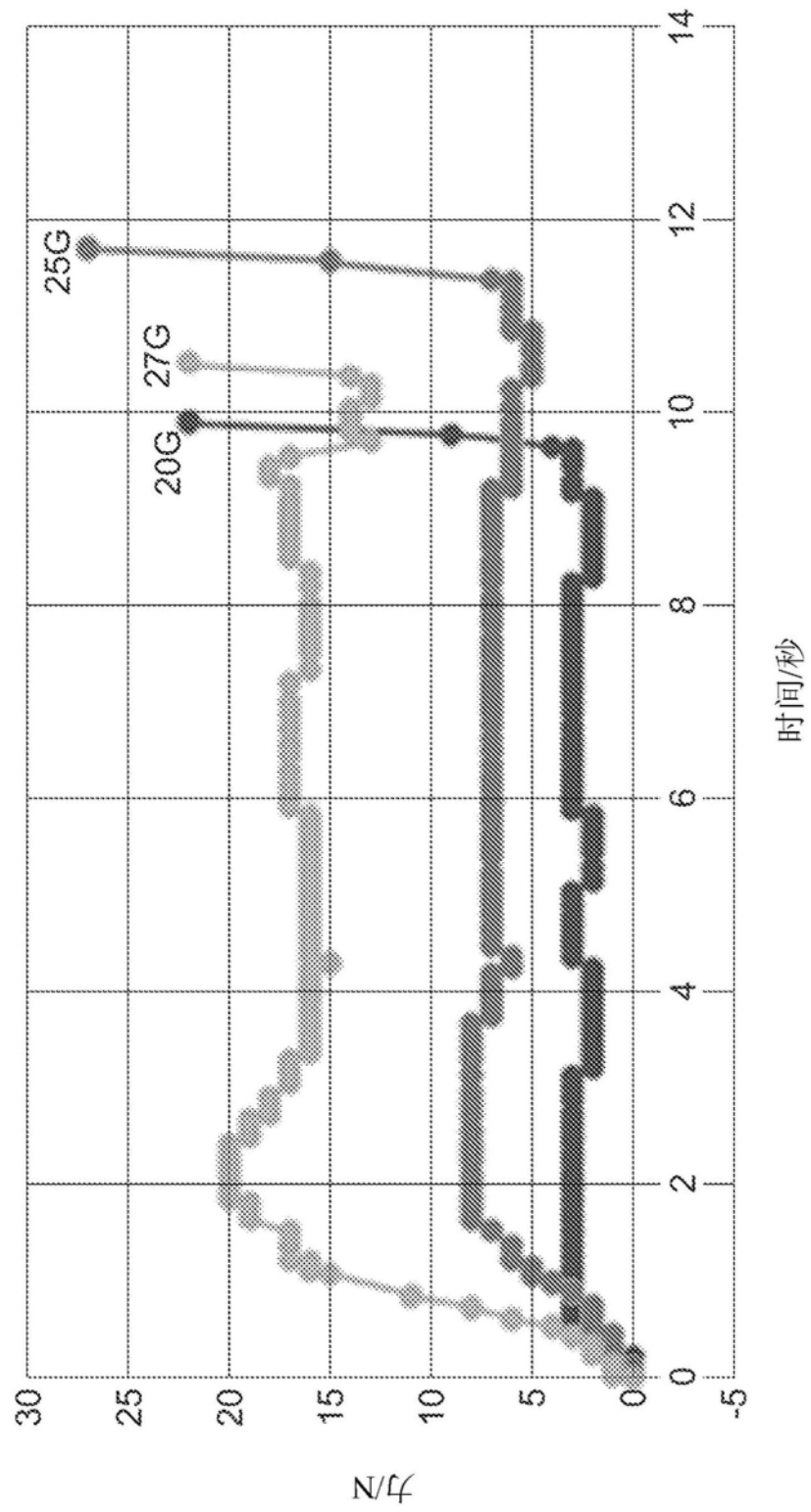


图8

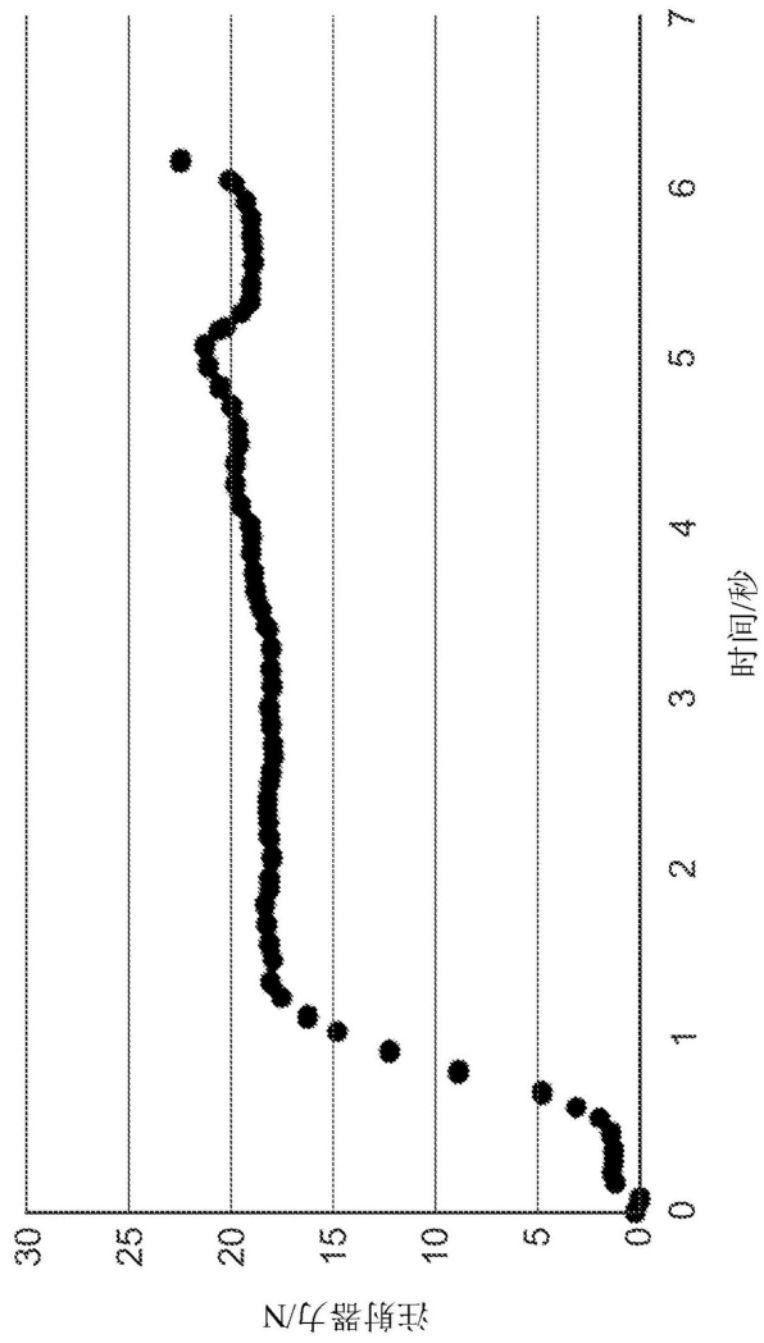


图9



图10A

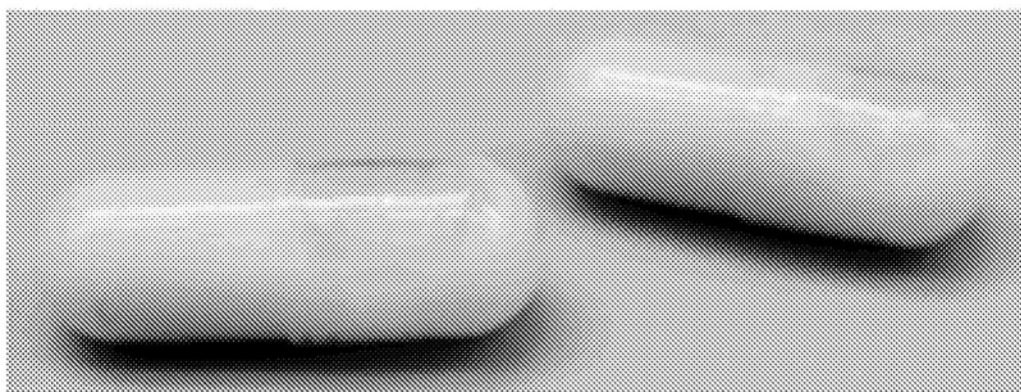


图10B

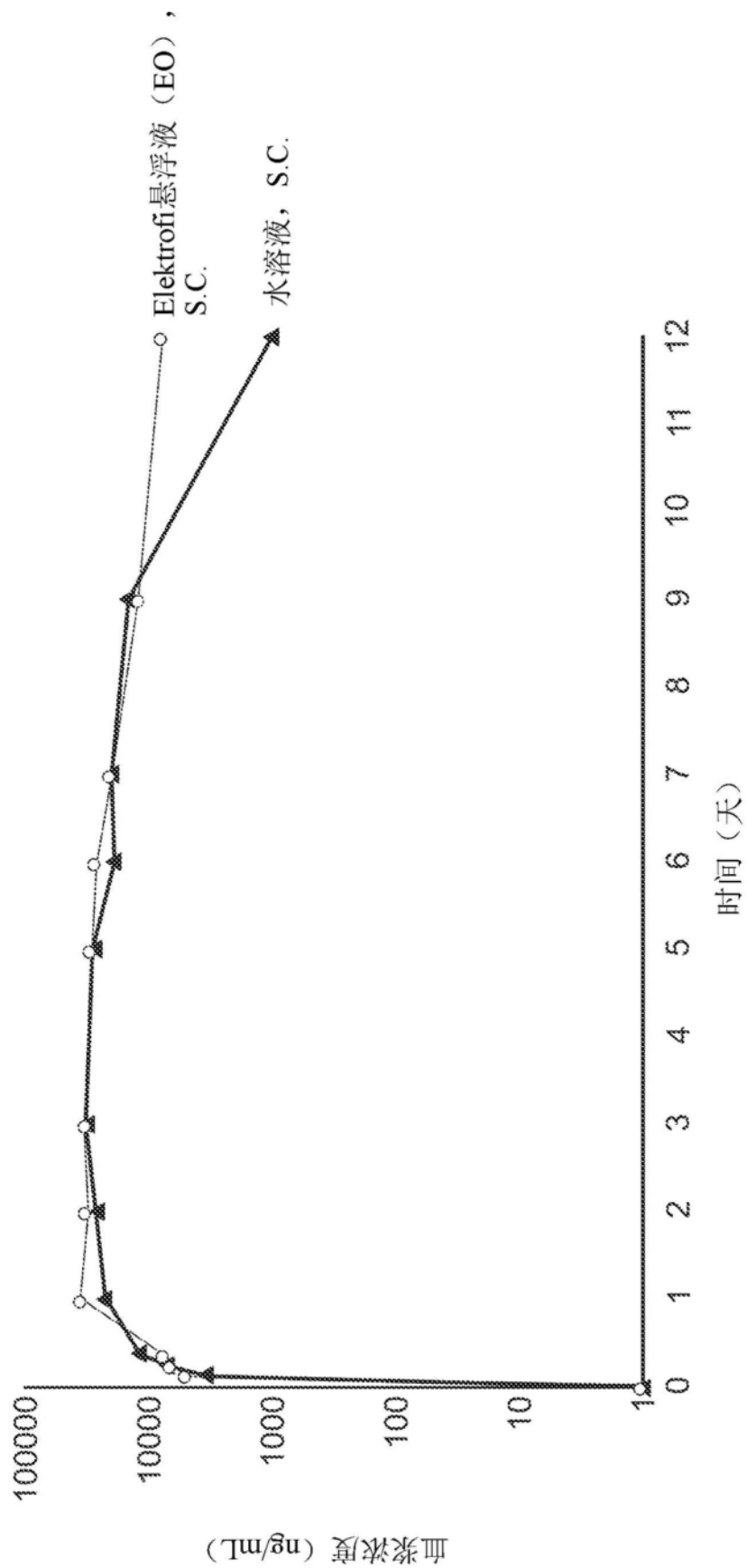


图11

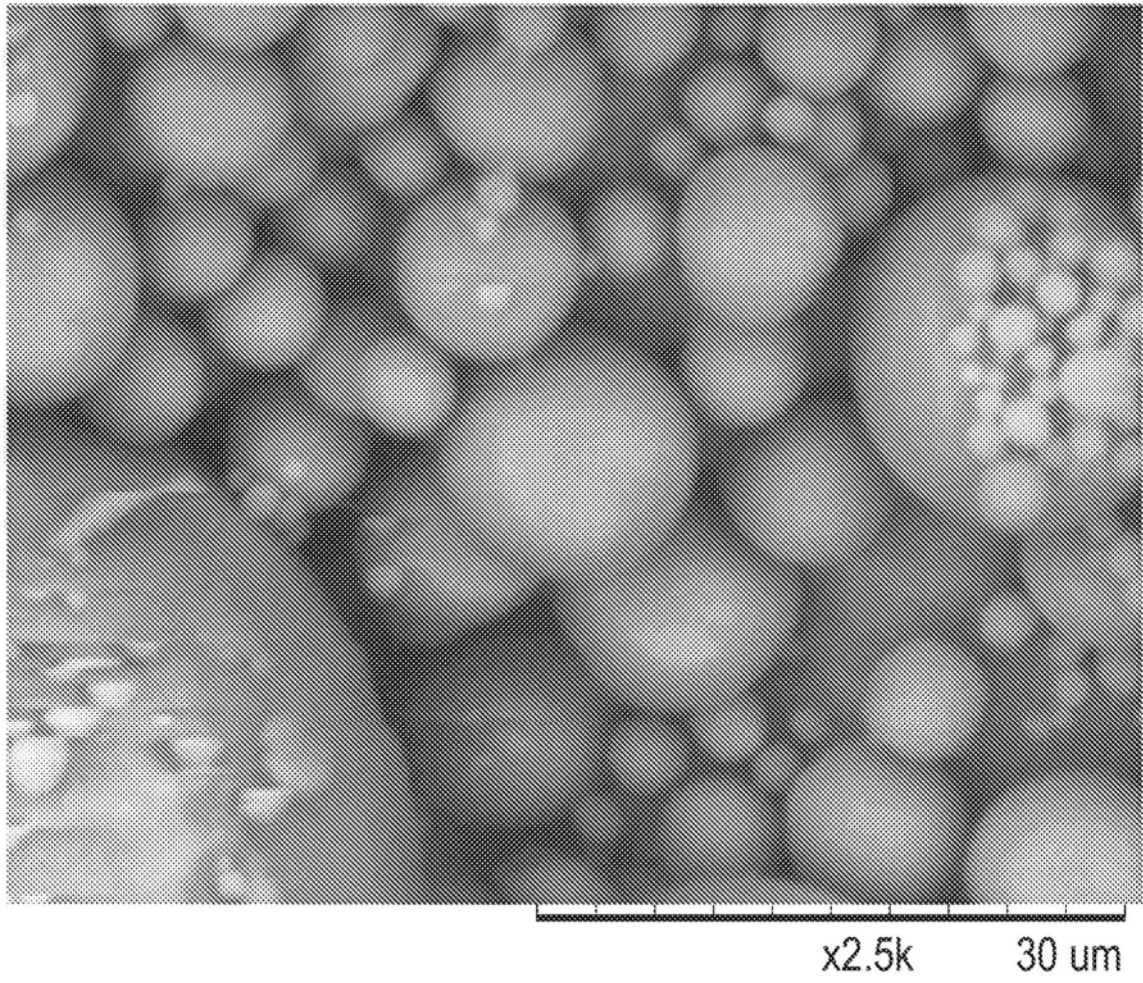


图12

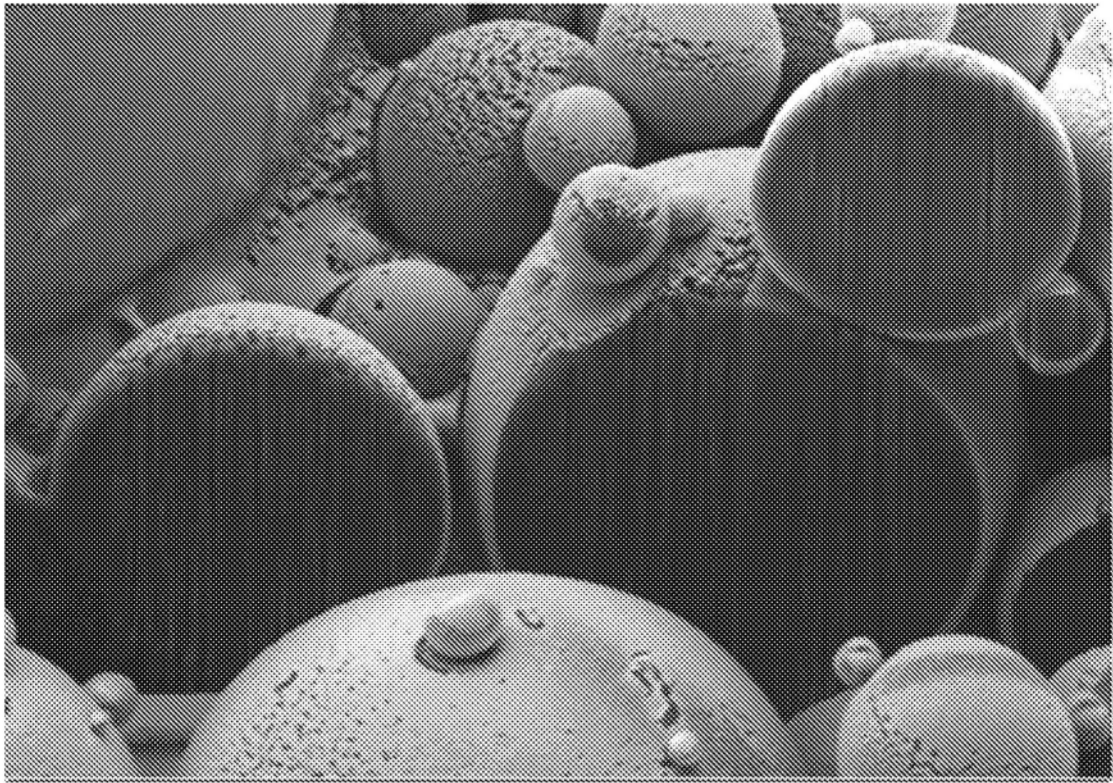


图13

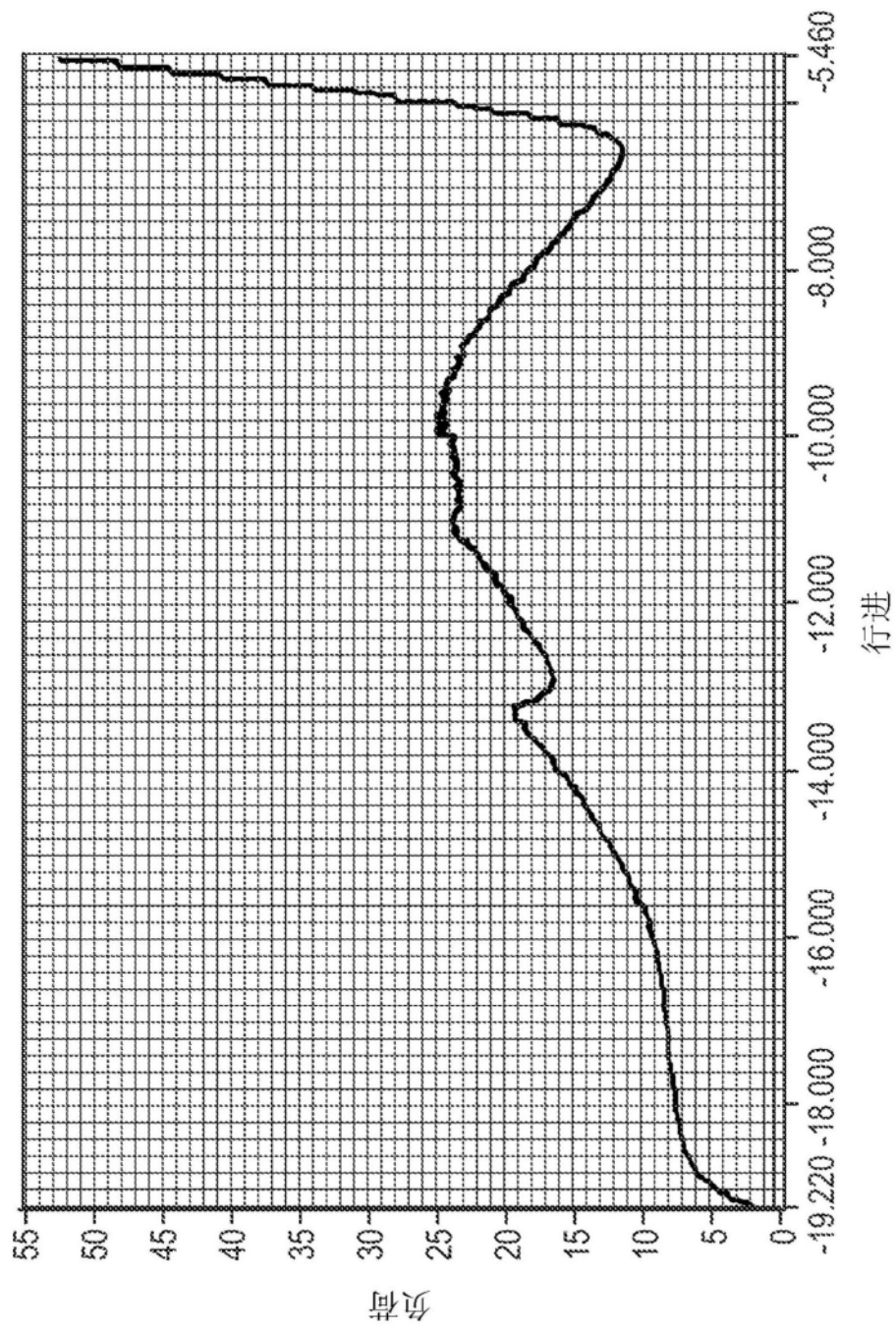


图14

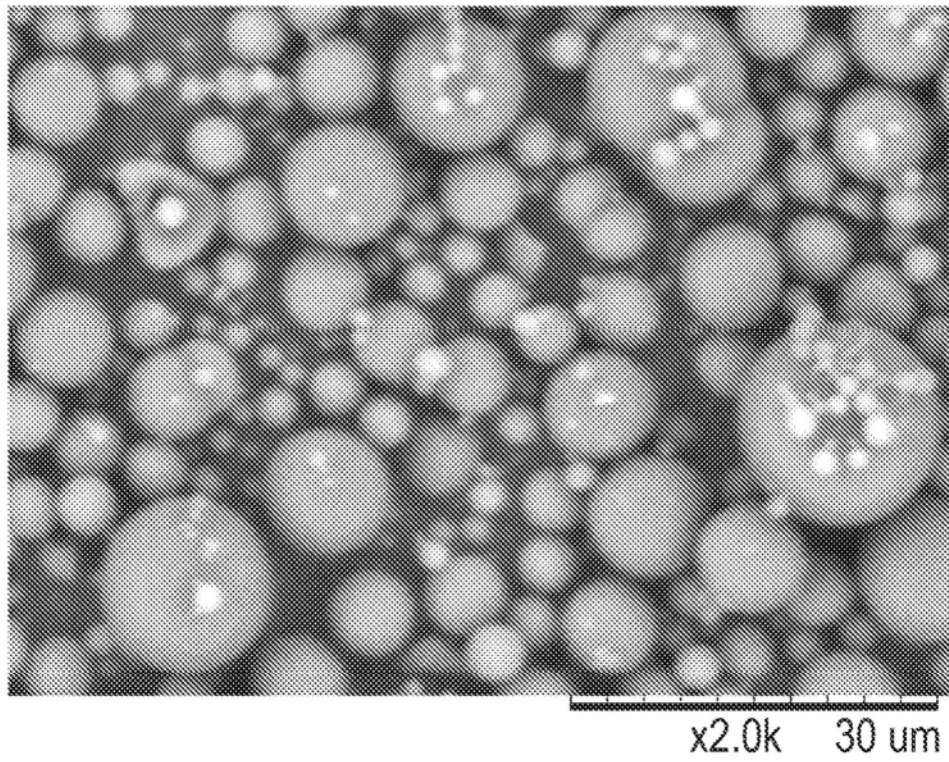


图15

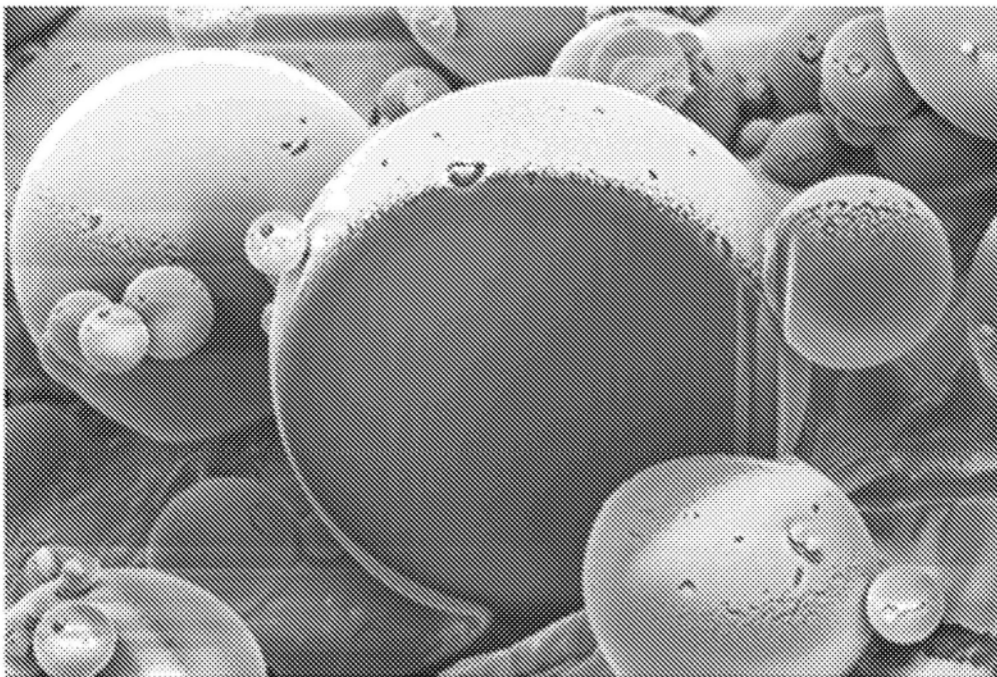


图16

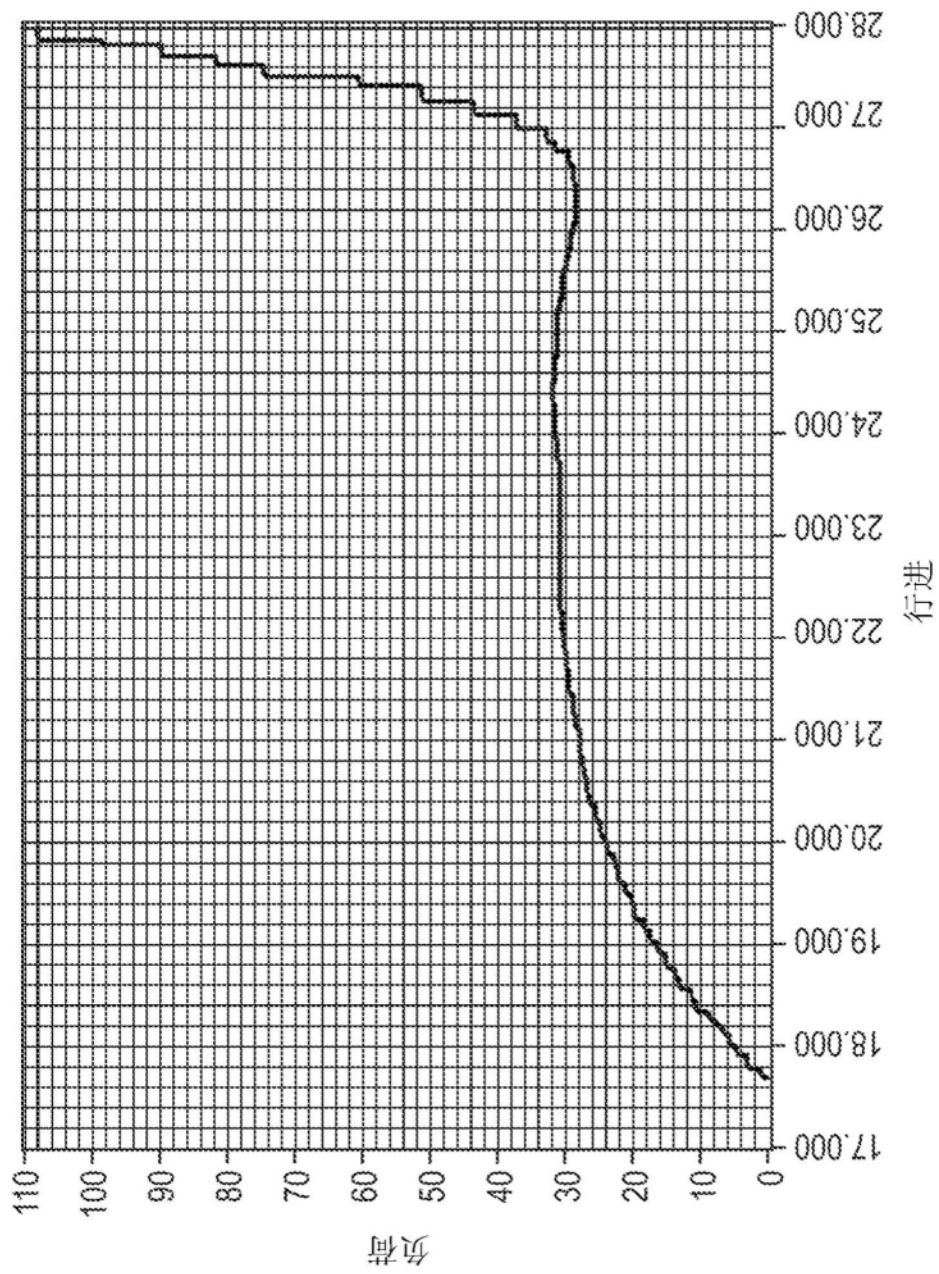


图17