



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119971024 A

(43) 申请公布日 2025. 05. 13

(21) 申请号 202411964617.5

(22) 申请日 2014.10.23

(30) 优先权数据

61/895143 2013.10.24 US

(62) 分案原申请数据

201480055263.0 2014.10.23

(71) 申请人 阿斯利康(瑞典)有限公司

地址 瑞典南泰利耶

(72) 发明人 W·利奇 R·勒乌斯

J·麦克吉夫尼 K·纽厄尔

K·D·斯图尔特

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

专利代理师 李唐 张华

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 47/18 (2017.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61P 11/14 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

权利要求书1页 说明书42页

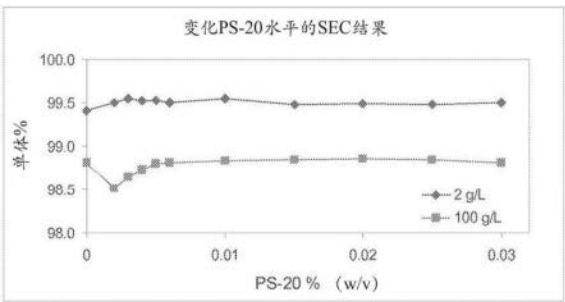
序列表(电子公布) 附图16页

(54) 发明名称

稳定的水性抗体配制品

(57) 摘要

本发明涉及稳定的水性抗体配制品。在一些实施例中,稳定的水性配制品包含约2mg/mL至约100mg/mL的抗-IL5R抗体,以及约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。本发明还提供这类抗体配制品的制备方法和使用方法。



1. 一种稳定的水性抗体配制品, 包含:
 - a. 约2mg/mL至约100mg/mL的抗体, 其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区, 其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列, 并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列; 以及
 - b. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。
2. 如权利要求1所述的抗体配制品, 进一步包含不带电的赋形剂。
3. 如权利要求2所述的抗体配制品, 其中该不带电的赋形剂是海藻糖。
4. 如权利要求1至3中任一项所述的抗体配制品, 包含约2至约20mg/ml的该抗体。
5. 如权利要求1至3中任一项所述的抗体配制品, 包含约20至约100mg/ml的该抗体。
6. 如权利要求4所述的抗体配制品, 其中该不带电的赋形剂的浓度是约20mM至约80mM。
7. 如权利要求5所述的抗体配制品, 其中该不带电的赋形剂的浓度是约200mM至约400mM。
8. 如权利要求4所述的抗体配制品, 进一步包含精氨酸。
9. 如权利要求8所述的抗体配制品, 其中该精氨酸是L-精氨酸。
10. 如权利要求8所述的抗体配制品, 包含约100mM至约200mM L-精氨酸。

稳定的水性抗体配制品

本申请是申请日为2014年10月23日的中国专利申请201480055263.0“稳定的水性抗体配制品”的分案申请。

技术领域

[0001] 本发明涉及稳定的水性抗体配制品。在一些实施例中,稳定的水性配制品包含:约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特(Kabat)定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。本发明还提供这类抗体配制品的制备方法和使用方法。

背景技术

[0002] 抗体由于其靶标识别的特异性而一直用于治疗不同疾病和病症,借此在全身性给予后产生高度选择性的结果。为了保持抗体有效,抗体必须在生产、纯化、运输和储存期间维持其生物活性。已开发出新的生产和纯化技术以允许生产大量的高度纯化的单克隆抗体。然而,仍然存在使这些抗体稳定以便运输和储存的难题,并且甚至还存在提供呈适合于给药的剂型的抗体的难题。

[0003] 变性、聚集、污染和粒子形成可以构成抗体配制和储存中的重大障碍。由于抗体的多种多样性,没有适合于所有抗体的储存的通用配方或条件。适合于一种抗体的储存的最佳配方和条件对于该抗体通常是特定的。因此,抗体储存配方和方法通常是商业抗体研究和开发过程的重要部分。

[0004] 已提议用以克服与抗体稳定性相关联的难题的不同方法。例如,在一些情况下,经常将抗体冻干,然后在给予之前不久进行复水。然而,复水通常不理想,因为这会在给药过程中增加额外的步骤,并且可能向配制品引入污染物。另外,即使是复水的抗体也可能遭受聚集和粒子形成。因此,存在提供可以克服与运输和储存相关联的难题的稳定的水性抗体配制品的需要。

发明内容

[0005] 本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(b)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

[0006] 在一些实施例中,该水性配制品进一步包含不带电的赋形剂。在一些实施例中,该不带电的赋形剂是海藻糖。在一些实施例中,该不带电的赋形剂的浓度是约20mM至约80mM。在一些实施例中,该不带电的赋形剂的浓度是约200mM至约400mM。

[0007] 该抗体可以按不同浓度存在。在一些实施例中,该配制品包含约2至约20mg/ml的

该抗体。在一些实施例中,该配制品包含约20至约100mg/ml的该抗体。在一个实施例中,该配制品包含30mg/ml的该抗体。

[0008] 该配制品可以进一步包含精氨酸。在一些实施例中,该精氨酸是L-精氨酸。在一些实施例中,该配制品包含约100mM至约200mM L-精氨酸。在一些实施例中,该配制品包含约120mM至约140mM L-精氨酸,以及约40mM至约60mM不带电的赋形剂。在一个实施例中,该配制品包含约125mM L-精氨酸。在一个实施例中,该配制品包含约130mM L-精氨酸。

[0009] 在一些实施例中,该配制品进一步包含组氨酸。在一些实施例中,该组氨酸的浓度是约15mM至约30mM。在一个实施例中,该组氨酸的浓度是约20mM。

[0010] 在一些实施例中,该抗体不经受冻干。

[0011] 在一些实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中所述配制品在于约40°C下储存至少1个月是稳定的。在一些实施例中,该配制品在于约25°C下储存至少3个月是稳定的。在一些实施例中,该配制品在于约5°C下储存至少18个月是稳定的。在一些实施例中,在约40°C下储存至少1个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少80%的对IL-5R多肽的结合能力。在一些实施例中,在约5°C下储存至少6个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少80%的对IL-5R多肽的结合能力。在一些实施例中,在约40°C下储存至少1个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少95%的对IL-5R多肽的结合能力。在一些实施例中,在约5°C下储存至少6个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少95%的对IL-5R多肽的结合能力。在一些实施例中,如通过HPSEC所测定的,在于约40°C下储存至少1个月,小于2%的抗体形成聚集体。在一些实施例中,如通过HPSEC所测定的,在于约5°C下储存至少12个月,小于2%的抗体形成聚集体。

[0012] 在一些实施例中,如通过目视检查所测定的,在于约40°C下储存至少1个月,该配制品基本上不含粒子。在一些实施例中,如通过目视检查所测定的,在于约5°C下储存至少12个月,该配制品基本上不含粒子。

[0013] 在一些实施例中,该配制品是可注射的配制品。在一些实施例中,该配制品适合于静脉内、皮下或肌肉内给予。

[0014] 在一些实施例中,本发明涉及一种含有如在此描述的抗体配制品的密封容器。在一些实施例中,本发明涉及一种适合于向人类肠胃外给予的药物单位剂型,该药物单位剂型包含在适合容器中的如在此描述的抗体配制品。在一些实施例中,该抗体配制品是静脉内、皮下或肌肉内给予的。在一些实施例中,该适合容器是预填充的注射器。在一些实施例中,该预填充的注射器包括注射针。在一些实施例中,该注射针是29G薄管注射针。在一些实施例中,该预填充的注射器是塑料注射器或玻璃注射器。在一些实施例中,该预填充的注射器是由基本上不含钨的材料制成。

[0015] 在一些实施例中,该预填充的注射器涂覆有硅酮。在一些实施例中,该预填充的注射器包括具有含氟聚合物树脂圆盘的柱塞。在一些实施例中,该预填充的注射器包含:(a) 约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含

SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(b)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。在一些实施例中,该预填充的注射器进一步包含:(c)约40mM至约60mM海藻糖,以及(d)约110mM至约150mM L-精氨酸。在一些实施例中,本发明涉及一种预填充的注射器,该预填充的注射器包含:(a)约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(b)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。在一些实施例中,该配制品进一步包含:(c)约200mM至约300mM海藻糖。

[0016] 在一些实施例中,本发明涉及一种试剂盒,该试剂盒包含在此描述的配制品、在此描述的容器、在此描述的单位剂型或在此描述的预填充的注射器。

[0017] 在一些实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;(c)约40mM至约60mM海藻糖;(d)约110mM至约150mM L-精氨酸;以及约15mM至约30mM组氨酸。在一个实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.006%的聚山梨醇酯-20;(c)约50mM海藻糖;(d)约130mM L-精氨酸;以及(e)约20mM组氨酸。

[0018] 在一些实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;(c)约200mM至约300mM海藻糖;以及(d)约15mM至约30mM组氨酸。在一个实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.006%的聚山梨醇酯-20;(c)约250mM海藻糖;以及(d)约20mM组氨酸。在另一个实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约30mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.006%的聚山梨醇酯-20;(c)约250mM海藻糖;以及(d)约20mM组氨酸。

[0019] 在一些实施例中,本发明涉及一种制备稳定的水性抗体配制品的方法,该方法包括:(a)将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该

轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列；(b) 将该分离的抗体放置在稳定化配制品中以形成该稳定的水性抗体配制品，其中所得稳定的水性抗体配制品包含：(i) 约2mg/mL至约100mg/mL的抗体以及(ii) 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

[0020] 在一些实施例中，本发明涉及一种制备稳定的水性抗体配制品的方法，该方法包括：(a) 将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL，其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列；(b) 将该抗体稀释于溶液中达到约2mg/mL至约20mg/mL的抗体，该溶液包含：(i) 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20；(ii) 约40mM至约60mM海藻糖；以及(iii) 约110mM至约150mM L-精氨酸。

[0021] 在一些实施例中，本发明涉及一种制备稳定的水性抗体配制品的方法，该方法包括：(a) 将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL，其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列；(b) 将该抗体稀释于溶液中达到约20mg/mL至约100mg/mL的抗体，该溶液包含：(i) 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20；以及(ii) 约200mM至约300mM海藻糖。

[0022] 在一些实施例中，本发明涉及一种制备包含抗体的复水抗体配制品的方法，其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，该方法包括：(a) 从细胞培养物纯化该抗体；(b) 冻干该分离的抗体；(c) 将该冻干的抗体添加至水性溶液中以形成复水的抗体配制品，其中该复水的抗体配制品包含：(i) 约2mg/mL至约100mg/mL的抗体以及(ii) 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

[0023] 在一些实施例中，本发明涉及一种包含抗体的抗体配制品，其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，其中该抗体配制品基本上不含粒子。在一些实施例中，该抗体配制品包含抗体，其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，其中该抗体配制品基本上不含活性谷胱甘肽S-转移酶(GST)。在一些实施例中，该抗体配制品基本上不含GST。在一些实施例中，当在38°C-42°C下储存至少1个月时，该抗体配制品基本上不含粒子。在一些实施例中，当在2°C-6°C下储存至少6个月时，该抗体配制品基本上不含粒子。在一些实施例中，当在2°C-6°C下储存至少18个月时，该抗体配制品基本上不含粒子。

[0024] 在一些实施例中，本发明涉及一种纯化抗体的方法，其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区，其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列，该方法包括：(a) 获得包含该抗体的细胞培养物；(b) 对该抗体执行亲和色谱法；(c) 对该抗体执行阳离子交换；(d) 对该抗体执行混合模式色谱法。在一些实施例中，该方法进一步包括

病毒灭活过程和/或渗滤过程。

[0025] 在一些实施例中,本发明涉及一种治疗受试者中的肺部疾病或病症的方法,该方法包括给予治疗有效量的在此描述的抗体配制品、在此描述的容器、在此描述的单位剂型或在此描述的预填充的注射器。在一些实施例中,该肺部疾病或病症是嗜酸性粒细胞性疾病或病症。在一些实施例中,该肺部疾病或病症是哮喘、COPD、嗜酸性粒细胞性气喘、嗜酸性粒细胞性和嗜中性粒细胞性合并哮喘、阿司匹林敏感的哮喘、变应性支气管肺曲菌病、急性和慢性嗜酸性粒细胞性支气管炎、急性和慢性嗜酸性粒细胞性肺炎、丘-施二氏综合征、高嗜酸性粒细胞综合征、药品、刺激物和辐射诱发的肺嗜酸性粒细胞增多症、感染诱发的肺嗜酸性粒细胞增多症(真菌、结核病、寄生虫)、自体免疫相关的肺嗜酸性粒细胞增多症、嗜酸性粒细胞性食管炎、克罗恩病或它们的组合。在一些实施例中,该肺部疾病或病症是哮喘。在一些实施例中,该肺部疾病或病症是慢性阻塞性肺病(COPD)。

附图说明

[0026] 图1.抗-IL5R抗体的氨基酸序列。

[0027] 图2表示溶液中聚山梨醇酯-20对单体分数的影响。需要高于0.005%的聚山梨醇酯浓度来完全维持单体水平。

[0028] 图3表示2g/L溶液中聚山梨醇酯-20对亚可见性粒子计数的影响。 $>2\mu\text{m}$ 的粒子的数据未示出,但是表现出与更大的粒子类似的模式。数据指示2g/L溶液中的亚可见性粒子水平不受任何聚山梨醇酯水平控制。

[0029] 图4表示100g/L溶液中聚山梨醇酯-20对亚可见性粒子计数的影响。 $>2\mu\text{m}$ 的粒子的数据未示出,但是表现出与更大的粒子类似的模式。数据指示在100g/L溶液中高于0.003%的聚山梨醇酯水平控制亚可见性粒子水平。

[0030] 图5.随溶液pH和蛋白质浓度而变的HPLC单体(%)和其他(%)。在5.5-6.5的pH范围内,单体损失被最小化。

[0031] 图6.随溶液pH和蛋白质浓度而变的粒子形成,包括通过MFI测量的 $>10\mu\text{m}$ 的亚可见性粒子和通过与标准比较评估的可见粒子。亚可见性粒子计数取决于蛋白质浓度,但是未显示出随pH而变的趋势。在5.5-6.5的pH范围内,在较低的蛋白质浓度溶液中观察到更多的可见粒子。

[0032] 图7.经长径比过滤以去除硅油液滴的 $>10\mu\text{m}$ 的亚可见性粒子计数。该数据将刚运送后的SVP计数与在25°C下储存1个月后的那些进行比较。独立于PS-20,对于低蛋白质浓度观察到高计数。

[0033] 图8.针对不同蛋白质浓度和配制品通过MFI测定的模拟运输后 $>10\mu\text{m}$ 的粒子计数。更高离子强度的配制品更加稳定,就像 $\geq 10\text{g/L}$ 海藻糖配制品。

[0034] 图9.针对2g/L蛋白质和不同配制品通过MFI测定的模拟运输后 $>10\mu\text{m}$ 的粒子计数。精氨酸浓度应当 $>50\text{mM}$,并且NaCl浓度应当 $>75\text{mM}$ 。

[0035] 图10.针对2g/L蛋白质和不同配制品通过MFI测定的模拟运输后 $>10\mu\text{m}$ 的粒子计数。在此范围内的任何赋形剂浓度都是可接受的。

[0036] 图11.针对2g/L蛋白质和不同配制品通过MFI测定的模拟运输后 $>10\mu\text{m}$ 的粒子计数。

[0037] 图12. 示出小瓶和预填充的注射器中的2mg/mL、20mg/mL以及100mg/mL配制品的单体损失。所有PFS显示出与小瓶且与彼此类似的损失。

[0038] 图13. 示出区间策略的图形表示。蓝色指示含精氨酸或NaCl的配制品。绿色指示海藻糖配制品。数据点是制备的样品并且线指示可用于获得中间剂量的区间选项。

[0039] 图14. 用于2号稳定性研究的测试计划。所标记的所有测试都对抗体配制品进行。黄色阴影指示将对安慰剂进行的测试。符号“ABC”指示以下测试的提交物:效能(生物测定)、RP-HPLC、cIEF、非还原型生物分析器以及还原型生物分析器。

[0040] 图15是示出针对两种配制品区间的被制备来限定随蛋白质浓度和聚山梨醇酯-20(“PS-20”)浓度而变的设计空间的样品的图。

[0041] 图16是运送后通过MFI测定的时间0点时的亚可见性粒子的图。结果显示,如果不存在PS-20则粒子形成,但是0.002% PS-20足以抑制运送后的粒子形成。

[0042] 图17(A-D). 可见粒子观察结果针对外观标准来评分并且此处在第9个月时间点示出。观察是在非常接近光的情况下进行的。所示的样品包括含有海藻糖配制品的预填充的注射器(“PFS”) (图17A)、含有海藻糖配制品的小瓶(图17B)、含有精氨酸配制品的PFS(图17C)、以及含有精氨酸配制品的小瓶(图17D)。该数据支持0.006% PS-20的目标以及在PFS中0.002%-0.01% PS-20的可接受范围。小瓶被示出为最坏情况比较。

[0043] 图18与可见粒子关联比较了用于捕获样品时间增加的不同SVP方法。流式细胞术和通过MFI测定的小粒子计数(>1 μ m和>2 μ m)同样可以捕获该趋势。

[0044] 图19是PFS(图19A)和小瓶(图19B)中的海藻糖配制品的外观标准分数和MFI结果(>1 μ m的粒子)的比较。观察到两种方法的良好一致性,它们都指示可接受PS-20范围是0.002%-0.01%。

[0045] 图20表示如实例3中概述的区间设计以及在ABC中执行的提前批次稳定性研究。橙色阴影区域指示精氨酸配制品并且蓝色阴影区域指示海藻糖配制品,全部配制品都具有0.006% PS-20。

[0046] 图21表示抗体净化过程的一个示意性实例。

[0047] 图22表示抗-IL5R抗体纯化中所使用的蛋白A柱的通流的2D凝胶分析。

具体实施方式

[0048] 应该领会的是在此示出和描述的这些具体的实现方式是实例,并且不旨在以任何方式以另外方式限制本申请的范围。还应该领会的是在此描述的本发明的各个实施例和特征都可以按任何和所有方式组合。

[0049] 在此提及的这些公开的专利、专利申请、网站、公司名称、以及科学文献特此以其全文形式通过引用而结合,达到如同每个被确切并单独地表明而通过引用结合的相同程度。在此引用的任何参考文件与本说明书的具体传授之间的任何冲突应以有利于后者的方式来解决。同样,在单词或短语的领域理解的定义与如在本说明书中确切传授的该单词或短语的定义之间的任何冲突应以有利于后者的方式来解决。

[0050] 如在本说明书中所使用,单数形式“一个/种(a, an)”以及“该”具体地还涵盖它们所提及的术语的复数形式,除非本内容清楚地另外指明。

[0051] 贯穿本披露,除非另外指明,所有百分数、比率以及类似物的表达是“按重量计”。

如在此使用的,“按重量计”与术语“按质量计”是同义的并且指示在此所定义的比率或百分比是根据重量而不是体积、厚度或一些其他量度来表示的。

[0052] 在此使用术语“约”以意指大约(approximately)、在……的附近(in the region of)、粗略地(roughly)、或左右(around)。当术语“约”与一个数值范围结合使用时,它通过扩展列举的数值的上限和下限将该范围加以修饰。通常,在此使用术语“约”以将一个数值以高于和低于该规定值的10%的变化加以修饰。

[0053] 在此使用的技术术语和科学术语具有由本申请涉及的领域的普通技术人员通常理解的含义,除非另外定义。在此参考了本领域的普通技术人员已知的不同方法和材料。陈述重组DNA技术的一般原理的标准参考作品包括萨姆布鲁克等人,“分子克隆:实验指南”,第2版,冷泉港实验室,纽约(1989)(Sambrook et al.,“Molecular Cloning:A Laboratory Manual,”2nd Ed.,Cold Spring Harbor Laboratory Press,New York(1989));考夫曼等人编,“医学生物学分子和细胞方法手册”,CRC出版社,博卡拉顿(1995)(Kaufman et al.,Eds.,“Handbook of Molecular and Cellular Methods in Biology in Medicine,”CRC Press,Boca Raton(1995));以及麦克弗森编,“定向诱变:实用方法”,IRL出版社,牛津(1991)(McPherson,Ed.,“Directed Mutagenesis:A Practical Approach,”IRL Press,Oxford(1991)),这些作品各自的披露内容以其全文通过引用结合在此。

[0054] 本发明涉及稳定的水性抗体配制品。如在此描述的,术语“抗体配制品”是指包含一种或者抗体分子的组合物。在本发明中术语“抗体”不受具体限制。为清楚起见,“抗体”取其最广泛的含义并且包括任何免疫球蛋白(Ig)、其活性或所希望的变体以及其活性或所希望的片段(例如,Fab片段、骆驼科动物抗体(单链抗体)以及纳米抗体)。术语“抗体”还可以指二聚体或多聚体。抗体可以是多克隆的或单克隆的,并且可以是天然存在的或重组产生的。因此,人类抗体、非人类抗体、人源化抗体以及嵌合抗体均包括在术语“抗体”内。典型地,抗体是以下类别中的一者的单克隆抗体:IgG、IgE、IgM、IgD以及IgA;并且更典型地是IgG或IgA。

[0055] 本发明的抗体可以来自任何动物来源,包括鸟类和哺乳动物。在一些实施例中,本发明的方法的抗体是人类、鼠类(例如小鼠和大鼠)、驴、绵羊、兔、山羊、豚鼠、骆驼、马或鸡的。如在此使用的,“人类”抗体包括具有人类免疫球蛋白的氨基酸序列的抗体,并且包括从人类免疫球蛋白文库分离的抗体或来自针对一种或多种人类免疫球蛋白的转基因的且不表达内源性免疫球蛋白的动物。参加,例如,库克拉帕提(Kucherlapati)等人的美国专利号5,939,598。

[0056] 本发明的抗体可以包括例如天然抗体、完整的单克隆抗体、多克隆抗体、由至少两个完整抗体形成的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)、抗体片段(例如,结合和/或识别一种或多种抗原的抗体片段)、人源化抗体、人类抗体(雅克博维茨等人,美国科学院院刊90:2551(1993)(Jakobovits et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:2551(1993));雅克博维茨等人,自然362:255-258(1993)(Jakobovits et al.,Nature 362:255-258(1993));布鲁格曼等人,免疫学年度综述7:33(1993)(Bruggermann et al.,Year in Immunol.7:33(1993));美国专利号5,591,669和5,545,807)、从抗体噬菌体文库分离的抗体和抗体片段(麦考夫迪等人,自然348:552-554(1990)(McCafferty et al.,Nature 348:552-554(1990));克拉克森等人,自然352:624-628(1991)(Clackson et al.,Nature 352:624-628

(1991)); 马克思等人, 分子生物学杂志222:581-597 (1991) (Marks et al., J.Mol.Biol.222:581-597 (1991)); 马克思等人, 生物技术10:779-783 (1992) (Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)); 沃特豪斯等人, 核酸研究21:2265-2266 (1993) (Waterhouse et al., Nucl.Acids Res.21:2265-2266 (1993)))。通过本发明的方法纯化的抗体可以重组地融合至异源多肽的N-或C-末端或用化学方法耦合(包括共价地和非共价地耦合)至多肽或其他组合物上。例如, 通过本发明的方法纯化的抗体可以重组地融合或耦合至在检测测定中可用作标签的分子和效应分子(诸如异源多肽、药物或毒素)上。参见例如PCT公开WO 92/08495; WO 91/14438; WO 89/12624; 美国专利号5,314,995; 以及EP 396,387。

[0057] 在一些实施例中, 本发明的抗体配制品包含抗-IL5受体(抗-IL5R)抗体。本发明的抗体特异性地结合感兴趣的抗体或其片段, 并且不特异性结合其他抗原或其片段。例如, 抗-IL5R抗体将免疫特异性地结合白细胞介素-5受体多肽并且不特异性结合其他多肽。优选地, 免疫特异性地结合IL-5受体的抗体或抗体片段所具有的对IL-5受体或IL-5受体多肽的片段的亲和力比对其他多肽或其他多肽片段的亲和力高。抗体的亲和力是其在单个抗原-抗体位点与特异性抗原结合的量度, 并且实质上是抗体和特定表位的抗原结合位点之间的相互作用中存在的所有吸引力和斥力的总和。抗体对特定抗原(例如, IL-5多肽或IL-5多肽的片段)的亲和力可以通过平衡常数K表示, 其由等式 $K = [Ag\ Ab] / [Ag][Ab]$ 定义, 是抗体结合位点的亲和力, 其中[Ag]是游离抗原的浓度, [Ab]是游离抗体的浓度并且[Ag Ab]是抗原-抗体复合物的浓度。当抗原和抗体在一起强烈反应时将存在非常少的游离抗原或游离抗体, 并且因此抗体的平衡常数或亲和力将是高的。当抗原和抗体之间配合良好时出现高亲和力抗体(关于抗体亲和力的讨论, 参见西加尔和罗恩编, 1994, 免疫学和炎症-基本机制和临床后果, 麦格劳-希尔公司, 纽约, 第56-57页 (Sigal and Ron ed., 1994, Immunology and Inflammation-Basic Mechanisms and Clinical Consequences, McGraw-Hill, Inc. New York at pages 56-57); 以及西摩等人, 1995, 免疫学-健康科学介绍, 麦格劳-希尔图书公司, 澳大利亚, 第31-32页 (Seymour et al., 1995, Immunology-An Introduction for the Health Sciences, McGraw-Hill Book Company, Australia at pages 31-32))。优选地, 免疫特异性地结合IL-5多肽或其片段的抗体或抗体片段不与其他抗原交叉反应。即, 抗体或抗体片段免疫特异性地结合IL-5多肽或其片段的能量高于对其他多肽或其他多肽的片段的能量(关于抗体特异性的讨论, 参见例如保罗编, 1989, 基础免疫学, 第2版, 乌鸦出版社, 纽约, 第332-336页 (Paul ed., 1989, Fundamental Immunology, 2nd ed., Raven Press, New York at pages 332-336))。免疫特异性地结合IL-5多肽的抗体或抗体片段可以通过例如免疫测定诸如放射免疫测定(RIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)以及BIAcore测定或本领域技术人员已知的其他技术来鉴别(关于用以测定体内抗体-抗原相互作用的不同测定的讨论, 参见例如西摩等人, 1995, 免疫学-健康科学介绍, 麦格劳-希尔图书公司, 澳大利亚, 第33-41页 (Seymour et al., 1995, Immunology-An Introduction for the Health Sciences, McGraw-Hill Book Company, Australia at pages 33-41))。免疫特异性地结合IL-5多肽或其片段的抗体或抗体片段仅对IL-5多肽起反作用并且不对其他活性起显著反作用。

[0058] 在一个实施例中, IL-5R多肽是人类IL-5R、其类似物、衍生物或片段。人类IL-5R的

核苷酸序列可以见于GenBank数据库(参见,例如登录号M96652.1)。人类IL-5R的氨基酸序列可以见于GenBank数据库(参见,例如登录号Q01344)。这些登录号中的每个明确通过引用结合在此。

[0059] 在一些实施例中,该抗体配制品包含抗-IL5R抗体,例如人类抗-IL5R抗体。在一些实施例中,该抗-IL5R抗体包含:包含SEQ ID NO:2的轻链和包含SEQ ID NO:4的重链。在另一些实施例中,该抗-IL5R抗体包含:包含SEQ ID NO:1的轻链可变区和包含SEQ ID NO:3的重链可变区。在另一个实施例中,该抗-IL5R抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列。本领域普通技术人员将很容易就能鉴别乔西亚(Chothia)所定义的、艾伯姆(Abm)所定义的或其他CDR。

[0060] 在一个实施例中,抗-IL5R抗体是贝那利珠单抗。用于在此提供的方法中的关于贝那利珠单抗(或其片段)的信息可以发现于美国专利申请公开号US2010/0291073 A1,该文献的披露内容通过引用以其全文结合在此。

[0061] 如在此使用的,在抗体的背景中的术语“类似物”或“抗体类似物”是指具有与抗体类似或一致的功能,但不一定包含与抗体类似或一致的氨基酸序列或拥有与抗体类似或一致的结构第二抗体,即抗体类似物。具有类似氨基酸序列的抗体是指满足以下各项中的至少一个的抗体类似物:(a)具有与抗体的氨基酸序列至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%一致的氨基酸序列的抗体类似物;(b)由在严格条件下与编码以下抗体的核苷酸序列杂交的核苷酸序列编码的抗体类似物,该抗体具有至少5个连续的氨基酸残基、至少10个连续的氨基酸残基、至少15个连续的氨基酸残基、至少20个连续的氨基酸残基、至少25个连续的氨基酸残基、至少40个连续的氨基酸残基、至少50个连续的氨基酸残基、至少60个连续的氨基酸残基、至少70个连续的氨基酸残基、至少80个连续的氨基酸残基、至少90个连续的氨基酸残基、至少100个连续的氨基酸残基、至少125个连续的氨基酸残基、或至少150个连续的氨基酸残基;以及(c)由与编码抗体的核苷酸序列至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少99%一致的核苷酸序列编码的抗体类似物。具有与抗体类似的结构抗体类似物是指具有与抗体类似的二级结构、三级结构或四级结构的蛋白质试剂。抗体类似物或抗体的结构可以通过本领域技术人员已知的方法来测定,包括但不限于肽测序、X线衍射晶体分析法、核磁共振、圆形二向色性以及晶体电子显微镜法。

[0062] 为了测定两个氨基酸序列或两个核酸序列的百分比一致性,以最佳比较目的对序列进行比对(例如,可在第一氨基酸序列或核酸序列中引入空位以便与第二氨基酸或核酸序列进行最佳比对)。然后比较相对应的氨基酸位置或核苷酸位置处的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的一个位置被与第二序列中的对应位置相同的氨基酸残基或核苷酸占据时,该分子被认为是在那个位置处一致的。两个序列之间的百分比一致性是这些序列所共享的一致位置的数目的函数(即, $\% \text{一致性} = \frac{\text{一致的重叠位置数目}}{\text{位置总数}} \times 100\%$)。在一个实施例中,这两个序列长度相同。

[0063] 两个序列之间的百分比一致性的测定还可以使用数学算法完成。用于比较两个序

列的数学算法的一个非限制性实例是卡尔林和阿尔丘尔,1990,美国科学院院刊87:2264-2268(Karlin and Altschul,1990,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.87:2264-2268)的,如在卡尔林和阿尔丘尔,1993,美国科学院院刊90:5873-5877(Karlin and Altschul,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.90:5873-5877)中修改的算法。这种算法被并入阿尔丘尔等人,1990,分子生物学杂志215:403(Altschul et al,1990,J.Mol.Biol.215:403)的NBLAST和XBLAST程序中。采用NBLAST核苷酸程序参数设定例如分数=100,字长=12执行BLAST核苷酸搜索,以便获得与本发明的核酸分子同源的核苷酸序列。采用XBLAST程序参数设定例如分数=50,字长=3执行BLAST蛋白质搜索,以便获得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以利用如阿尔丘尔等人,1997,核酸研究25:3389-3402(Altschul et al,1997,Nucleic Acids Res.25:3389-3402)中描述的空位BLAST程序。可替代地,可以使用PSI-BLAST执行迭代搜索,从而检测分子之间的远缘关系(同上)。当利用BLAST程序、空位BLAST程序以及PSI-Blast程序时,可以使用各自程序(例如,XBLAST和NBLAST)的缺省参数(参见例如NCBI网站)。用于序列比较的数学算法的另一种优选的非限制性实例是迈尔斯和米勒,1988,CABIOS 4:11-17(Myers and Miller,1988,CABIOS 4:11-17)的算法。这种算法被并入ALIGN程序(2.0版本)中,它是GCG序列比对软件包的一部分。当利用ALIGN程序来比较氨基酸序列时,可以使用PAM 120权重残基表、空位长度罚分12以及空位罚分4。

[0064] 在一些实施例中,抗体配制品中的抗体先纯化,之后添加到该抗体配制品中。术语“分离”和“纯化”是指将抗体与存在抗体的组合物(例如包含宿主细胞蛋白的组合物)中的杂质或其他污染物分开。在一些实施例中,将至少50%、70%、80%、90%、95%、98%、99%、99.5%、或99.9%(w/w)的杂质纯化离开抗体。例如,在一些实施例中,抗体例如抗-IL5R抗体的纯化包括将该抗体与最初存在于该组合物中的99%(w/w)的宿主细胞蛋白分开。

[0065] 在一些实施例中,术语“分离”和“纯化”是指将抗体(例如抗-IL5R抗体)与组合物中的杂质或其他污染物在一定程度上分开以与政府组织(例如世界卫生组织或美国食品与药物管理局)的准则一致。

[0066] 纯化抗体的方法对于本领域的技术人员来说是已知的。用于实施纯化的适合技术包括不同类型的色谱法,诸如亲和色谱法、疏水性相互作用、离子交换(诸如阳离子交换色谱法或混合模式色谱法)以及渗滤。

[0067] 亲和色谱法是指借助抗体的特异性结合特性将抗体结合至该抗体的亲和配体的分离方法。功能性亲和配体可以固定在固体或半固体支持体上,从而使得当包含该抗体的组合物经过配体和固体支持体时,具有针对该配体的特异性结合亲和力的抗体吸附到该配体上,并且一种或多种其他杂质不被吸附(或以较低的亲和力结合),并且可以与抗体分开。不典型地结合(或不良好地结合)的杂质的实例包括过程相关的杂质(例如,宿主细胞蛋白、DNA、培养基组分)和一些产物相关的杂质(例如,抗体片段)。在一些实施例中,将包含该配体的固体支持体用缓冲液洗涤一次或多次,以去除额外的杂质,之后将吸附的抗体从配体和支持体去除。在已经将一种或多种杂质去除之后,可以将吸附的抗体从配体和支持体去除(洗脱),导致抗体与原初组合物的分离。从配体和支持体去除抗体的方法取决于配体,并且对于本领域的技术人员来说是已知的,并且可以包括例如环境方面(例如,pH)的改变、离液剂或变性剂的添加、或可商购的洗脱缓冲液的添加。在一些实施例中,可以对组合物使用

多于一个亲和纯化过程。不同的亲和配体是本领域已知的,包括蛋白A和蛋白G(以及它们的组合)。固定配体是可商购的。例如,蛋白A亲和系统包括MabSelect、MabSelect SuRe、MabSelect Xtra、MabSelect SuRe LX、Sepharose CL-4B、ProSep vA、ProSep vA Ultra以及Ceramic HyperD。

[0068] 离子交换色谱法包括阳离子交换色谱法和混合色谱法。阳离子交换色谱法是指抗体和一些杂质或多种杂质可以基于电荷差采用阳离子交换基质来分离的任何方法。阳离子交换基质大体上包括共价结合的负电荷基团。可以使用弱的或强的阳离子交换树脂。通常,强阳离子交换树脂包括含有磺酸或磺酸酯基团(取决于pH)的被负载的有机基团。弱阳离子交换树脂通常包括含有羧酸或羧酸酯基团(取决于pH)的被负载的有机基团。在某些实施例中,可以使用多峰阳离子交换树脂,其结合了另外的结合机制以及离子相互作用,例如氢键相互作用和疏水相互作用中的一者或多者。适合的阳离子交换树脂的实例是本领域中熟知的,并且可以包括但不限于Fractogel、羧甲基(CM)、磺乙基(SE)、磺丙基(SP)、磷酸盐(P)以及磺酸盐(S)、PROPAC WCX-10TM(戴安公司(Dionex))、Capto S、S-交联琼脂糖FF、Fractogel EMD SO₃M、Toyopearl Megacap II SP 550C、Poros 50HS、以及SP-交联琼脂糖基质。在一些实施例中,可以对该组合物使用多于一个阳离子交换色谱过程。

[0069] 混合模式色谱法是指利用固定相与分析物之间的多于一种形式的相互作用以便实现它们与杂质(例如,过程相关的杂质,诸如宿主细胞蛋白、DNA和/或内源性或外来病毒)的分离的方法。适合的阴离子交换基质的实例在本领域中是已知的,并且可以包括但不限于Capto Adhere、Sartobind Q、Natrix Q、Chromasorb Q以及Mustang Q。

[0070] 在一些实施例中,额外的过滤步骤可以用于去除杂质。例如,在一些实施例中,使用纳米过滤或超滤。纳米过滤包括使组合物通过具有例如小于75nm、小于50nm以及甚至小于15nm的孔径大小的基质以将杂质例如病毒与抗体分开。可使用的可商购纳米过滤器和超滤器是由不同的供应商生产的,例如密理博公司(比勒利卡,马萨诸塞州,例如Viresolve Pro和Viresolve Pro+)、颇尔公司(东山,纽约州)(Pall Corporation(East Hills, N.Y.))、GE医疗科学(皮斯卡塔韦,新泽西州)(GE Healthcare Sciences(Piscataway, N.J.))、以及赛多利斯公司(哥廷根,德国)(Sartorius Corporation(Goettingen, Germany))。

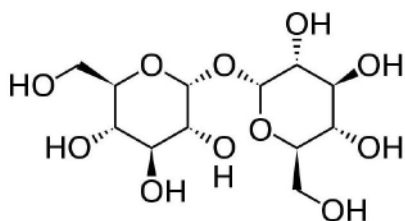
[0071] 在一些实施例中,本发明的抗体(例如抗-IL5R,包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列)为1mg/ml至200mg/ml、2mg/ml至100mg/ml、2mg/ml至30mg/ml、2mg/ml至25mg/ml、2mg/ml至20mg/ml、3mg/ml、4mg/ml、5mg/ml、6mg/ml、7mg/ml、8mg/ml、9mg/ml、10mg/ml、11mg/ml、12mg/ml、13mg/ml、14mg/ml、15mg/ml、16mg/ml、17mg/ml、18mg/ml、19mg/ml或20mg/ml。在一些实施例中,本发明的抗体,例如抗-IL5R,浓度为约20mg/ml、25mg/ml、30mg/ml、40mg/ml、45mg/ml、50mg/ml、55mg/ml、60mg/ml、65mg/ml、70mg/ml、75mg/ml、80mg/ml、85mg/ml、90mg/ml、95mg/ml或100mg/ml。

[0072] 本发明的抗体配制品可以包含不带电的赋形剂。术语赋形剂是指与在此描述的抗体一起配制的无药理学活性的物质。在一些实施例中,该赋形剂可以有助于防止变性或以其他方式有助于使抗体稳定化。可以用于药物组合物的适合赋形剂是本领域熟知的。实例

可以取自例如手册:热纳罗,阿方索R:“雷明顿的制药科学”,麦克出版公司,宾夕法尼亚州伊斯顿,1990 (Gennaro, Alfonso R.: “Remington’s Pharmaceutical Sciences”, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990)。在一些实施例中,该赋形剂是“不带电的”赋形剂,即该赋形剂不携带正“+”电荷或负“-”电荷。在一些实施例中,该赋形剂选自下组,该组由以下各项组成:果糖、葡萄糖、甘露糖、山梨糖、木糖、乳糖、麦芽糖、蔗糖、右旋糖酐、淀粉酶、糊精、环糊精、可溶淀粉、海藻糖、山梨醇、赤藓糖醇、异麦芽糖醇、乳糖醇、麦芽糖醇、木糖醇、甘油、乳糖醇、羟乙基淀粉、水溶性葡聚糖。

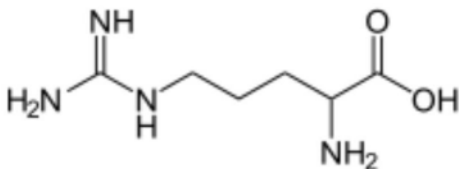
[0073] 在一些实施例中,在抗体配制品中,该不带电的赋形剂是约1mM至约1M、约2mM至约500mM、约5mM至约400mM、约10mM至约300mM、或约20mM至约250mM。在一些实施例中,在抗体配制品(例如包含2至20mg/mL抗体的抗体配制品)中,该不带电的赋形剂是约5mM至约150mM、约10mM至约100mM、约20mM至约80mM、约30mM、约40mM、约50mM、约60mM、或约70mM。在一个实施例中,在抗体配制品中,该不带电的赋形剂是约50mM。在一些实施例中,在抗体配制品(例如包含20至100mg/mL抗体的抗体配制品)中,该不带电的赋形剂是约50mM至约800mM、约100mM至约500mM、约150mM至约400mM、约200mM、约400mM、约200mM、约300mM、或约250mM。在一个实施例中,在抗体配制品中,该不带电的赋形剂是约250mM。

[0074] 在一些实施例中,该不带电的赋形剂是海藻糖,如通过以下化学式表示的:



[0075] 在一些实施例中,在抗体配制品中,该海藻糖是约1mM至约1M、约2mM至约500mM、约5mM至约400mM、约10mM至约300mM、或约20mM至约250mM。在一些实施例中,在抗体配制品(例如包含2至20mg/mL抗体的抗体配制品)中,该海藻糖是约5mM至约150mM、约10mM至约100mM、约20mM至约80mM、约30mM、约40mM、约50mM、约60mM、或约70mM。在一个实施例中,在抗体配制品中,该海藻糖是约50mM。在一些实施例中,在抗体配制品(例如包含20至100mg/mL抗体的抗体配制品)中,该海藻糖是约50mM至约800mM、约100mM至约500mM、约150mM至约400mM、约200mM、约400mM、约200mM、约300mM、或约250mM。在一个实施例中,在抗体配制品中,该海藻糖是约250mM。

[0076] 本发明的抗体配制品包含精氨酸。精氨酸是一种有条件的非必需氨基酸,其可以由以下化学式表示:



如在此使用的,精氨酸可以包括游离碱形式的精氨酸,以及其所有的盐。在一些实施例中,精氨酸包括其药学上可接受的盐。例如,精氨酸将包括精氨酸盐酸盐。如在此使用的,精氨酸还包括所有对映异构体(L-精氨酸和S-精氨酸),以及对映异构体的任何组合(例如,50% L-精氨酸和50% S-精氨酸;90%-100% L-精氨酸和10%-0% S-精氨酸等)。在

一些实施例中,术语“精氨酸”包括大于99%的L-精氨酸和小于1%的S-精氨酸。在一些实施例中,术语“精氨酸”包括对映异构体纯的L-精氨酸。在一些实施例中,精氨酸是药物级精氨酸。

[0077] 抗体配制品中可以存在不同浓度的精氨酸。在一些实施例中,该抗体配制品包含大于50mM的精氨酸、大于75mM的精氨酸、大于100mM的精氨酸、大于125mM的精氨酸、大于130mM的精氨酸、大于150mM的精氨酸、大于175mM的精氨酸、或大于200mM的精氨酸。

[0078] 在一些实施例中,该抗体配制品包含多至800mM的精氨酸、多至600mM的精氨酸、多至400mM的精氨酸、多至200mM的精氨酸、多至150mM的精氨酸、多至130mM的精氨酸、或多至125mM的精氨酸。在一些实施例中,该抗体配制品包含50mM至300mM、75mM至250mM、100mM至200mM、110mM至160mM、120mM至150mM、或约125mM的精氨酸。在一些实施例中,该抗体配制品包含125mM精氨酸。在一些实施例中,该抗体配制品包含130mM精氨酸。在一些实施例中,精氨酸是以足以维持该配制品的重量摩尔渗透压浓度的量来添加的。在一些实施例中,精氨酸是以足以获得高渗溶液的量来添加的。申请人已发现,在一些实施例中,该抗体配制品的增加的离子强度提供了增加的稳定性和粒子形成的减少。

[0079] 在此描述的抗体配制品可以具有不同粘度。测量抗体配制品粘度的方法对于本领域的技术人员来说是已知的,并且可以包括例如流变仪(例如,具有50mm、40mm或20mm板附件的Anton Paar MCR301流变仪)。在本发明的一些实施例中,在1000每秒剪切速率的高剪切极限下报告粘度。在一些实施例中,该抗体配制品具有小于20厘泊(cP)、小于18cP、小于15cP、小于13cP、或小于11cP的粘度。在一些实施例中,该抗体配制品具有小于13cP的粘度。本领域技术人员将了解粘度取决于温度,因此除非另外说明,否则在此提供的粘度是在25℃下测量的,除非另外说明。

[0080] 术语“注射力”是使该抗体配制品通过注射针所需的压力的量(牛顿)。注射力与将该抗体配制品给予受试者时该抗体配制品所提供的阻力的量相关。注射力将取决于给药注射针的规格,以及温度。在一些实施例中,该抗体配制品在通过27Ga薄管PFS注射针时具有小于15N、12N、10N或8N的注射力。在一些实施例中,该抗体配制品在通过29Ga薄管PFS注射针时具有小于15N、12N、10N或8N的注射力。

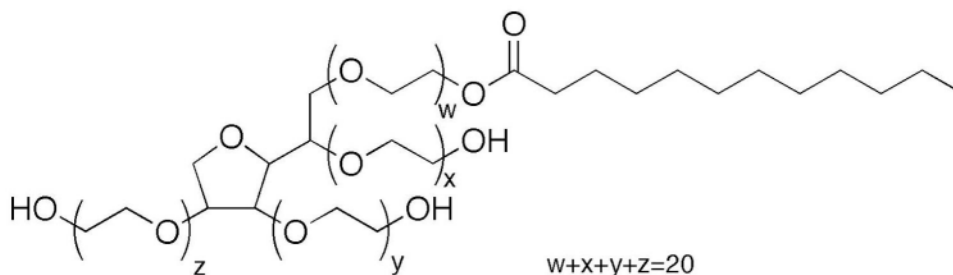
[0081] 该抗体配制品可以具有不同的摩尔渗透压浓度。测量抗体配制品的摩尔渗透压浓度的方法对于本领域的技术人员来说是已知的,并且可以包括例如渗压计(例如先进仪器公司2020(Advanced Instrument Inc 2020)冰点降低渗压计)。在一些实施例中,该配制品具有在200与600mosm/kg之间、在260与500mosm/kg之间、或在300与450mosm/kg之间的摩尔渗透压浓度。

[0082] 本发明的抗体配制品可以具有不同的pH水平。在一些实施例中,该抗体配制品的pH是在4与7之间、在4.5与6.5之间、或在5与6之间。在一些实施例中,该抗体配制品的pH是5.0。在一些实施例中,该抗体配制品的pH是6.0。在一些实施例中,该抗体配制品的pH是 ≥ 7.0 。可以利用不同手段实现所希望的pH水平,包括但不限于添加适当缓冲剂。

[0083] 该抗体配制品中可以包含其他不同的组分。在一些实施例中,该抗体配制品可以包含缓冲剂(例如,组氨酸、乙酸盐、磷酸盐或柠檬酸盐缓冲剂)、表面活性剂(例如,聚山梨醇酯)和/或稳定剂(例如,人类血白蛋白)等。在一些实施例中,该抗体配制品可以包含药学上可接受的载体,包括例如离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(诸如人类血

清白蛋白)、缓冲物质(诸如磷酸盐)、蔗糖、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和的植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或者电解质(诸如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐)、硅溶胶、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、以及聚乙二醇。在一些实施例中,该抗体配制品进一步包含表面活性剂。在一些实施例中,该表面活性剂选自下组,该组由以下各项组成:聚山梨醇酯、十二烷基硫酸钠、以及非离子型表面活性剂。

[0084] 在一些实施例中,该表面活性剂是聚山梨醇酯20,即聚氧乙烯(20)失水山梨醇单月桂酸酯,如通过以下化学式表示的:



聚山梨醇酯20(PS-20)可商购自若干商业供应商,例如 **Alkest®** TW 20(奥克斯腾,巴西(Oxiteno, Brazil)) 和 **Tween®** 20(皮尔斯,罗克福德(Pierce, Rockford IL))。申请人已发现,通过谨慎地控制该抗体配制品中PS-20的浓度,当长时间储存时抗体具有增加的稳定性和降低的粒子形成量。

[0085] 在一些实施例中,PS-20是该抗体配制品的约0.001%至约0.02%、约0.002%至约0.015%、约0.002%至约0.01%、约0.004%至约0.009%、约0.005%至约0.008%、约0.007%或约0.006%。

[0086] 在一些实施例中,该抗体配制品进一步包含组氨酸。在一些实施例中,该抗体配制品包含约1mM至约100mM、约5mM至约80mM组氨酸、约10mM至约60mM组氨酸、约15mM至约50mM组氨酸、约15mM至约30mM组氨酸、或约20mM组氨酸。

[0087] 在一些实施例中,可将不同组分从该抗体配制品中省去,或者可以“基本上不含”那种组分。如在此使用的,术语“基本上不含”是指抗体配制品,所述配制品含有小于0.01%、小于0.001%、小于0.0005%、小于0.0003%、或小于0.0001%的指定组分。

[0088] 在一些实施例中,该抗体配制品基本上不含糖类,即该抗体配制品,所述配制品含有小于0.01%、小于0.001%、小于0.0005%、小于0.0003%、或小于0.0001%的糖类。如在此使用的,术语“糖类”是指为多元醇的衍生物的一类分子。糖类常被称为碳水化合物,并且可以含有不同量的糖(sugar/saccharide)单元,例如单糖类、二糖类和多糖类。在一些实施例中,该配制品基本上不含二糖。在一些实施例中,该配制品基本上不含还原糖、非还原糖或糖醇。在一些实施例中,该抗体配制品基本上不含脯氨酸、谷氨酸盐、山梨醇、二价金属离子和/或琥珀酸盐。

[0089] 在一些实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a) 约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b) 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;(c) 约40mM至约60mM海藻糖;以及(d) 约110mM至约150mM L-精氨酸。

酸。在一些实施例中,该配制品进一步包含约20mM组氨酸。在一个实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.006%的聚山梨醇酯-20;(c)约50mM海藻糖;(d)约130mM L-精氨酸;以及约20mM组氨酸。

[0090] 在一些实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;(c)约200mM至约300mM海藻糖;以及(d)约20mM组氨酸。在一个实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.006%的聚山梨醇酯-20;(c)约250mM海藻糖;以及(d)约20mM组氨酸。在另一个实施例中,本发明涉及一种稳定的水性抗体配制品,该稳定的水性抗体配制品包含:(a)约30mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;(b)约0.006%的聚山梨醇酯-20;(c)约250mM海藻糖;以及(d)约20mM组氨酸。

[0091] 本发明的抗体配制品是水性溶液。在一些实施例中,该抗体配制品还未经受冻结温度,和/或还未冷冻,即它们保持液态。在一些实施例中,该抗体配制品中的抗体还未经受冻干。

[0092] 如在此使用的,术语“稳定性”大体上涉及维持生物活性剂(诸如蛋白质、肽或另一种生物活性大分子)的完整性或将生物活性剂的降解、变性、聚集或解折叠最小化。如在此使用的,“改善的稳定性”大体意思是,在已知导致降解、变性、聚集或解折叠的条件下,感兴趣的蛋白质(例如,诸如抗-IL5R的抗体)、肽或另一种生物活性大分子维持相比对照蛋白质、肽或另一种生物活性大分子而言更大的稳定性。

[0093] 在一些实施例中,稳定性是指抗体配制品具有低至不可检测的粒子形成水平。如在此使用的,短语“低至不可检测的粒子形成水平”是指样品含有小于30粒子/mL、小于20粒子/mL、小于20粒子/mL、小于15粒子/mL、小于10粒子/mL、小于5粒子/mL、小于2粒子/mL或小于1粒子/mL,如通过HIAC分析或视觉分析所测定的。在一些实施例中,在该抗体配制品中未检测到粒子,无论是通过HIAC分析还是通过视觉分析。

[0094] 在一些实施例中,稳定性是指减少的抗体片段化。如在此使用的,术语“低至不可检测的片段化水平”是指样品经HPSEC测定等于或大于80%、85%、90%、95%、98%或99%的总蛋白在(例如)单个峰内,或经还原型毛细管凝胶电泳(rCGE)测定在两个峰(例如重链和轻链)(或与亚单位数目相同的峰数目)内,代表非降解抗体或非降解片段,并且不含各自具有多于5%、多于4%、多于3%、多于2%、多于1%或多于0.5%的总蛋白的其他单峰。如在此使用的,术语“还原型毛细管凝胶电泳”是指在足以减小抗体中的二硫键的还原条件下的

毛细管凝胶电泳。

[0095] 本领域技术人员将了解,除配制品的组成之外,蛋白质的稳定性取决于其他特性。例如,稳定可受温度、压力、湿度、pH以及辐射外在形式影响。因此,除非另外说明,否则在此提及的稳定性被视为在5°C、一个大气压、50%相对湿度、6.0的pH以及正常辐射背景水平下测量的。该抗体配制品中的抗体的稳定性可以通过不同手段来测定。在一些实施例中,抗体稳定性通过尺寸排阻色谱法(SEC)来测定。SEC基于分析物的流体动力学大小、扩散系数以及表面特性分离分析物(例如,大分子诸如蛋白质和抗体)。因此,例如SEC可以将处于其天然三维构象的抗体与处于不同变性状态的抗体和/或已降解的抗体分开。在SEC中,固定相通常由惰性粒子组成,这些惰性粒子被填充到玻璃柱或钢柱内的致密三维基质中。流动相可以是纯水、水性缓冲剂、有机溶剂、这些物质的混合物、或其他溶剂。固定相粒子具有小的孔和/或通道,其将仅允许低于某一大小的物质进入。因此,大粒子被排除在这些孔和通道之外,并且较小的粒子从流动的流动相去除。粒子固定在固定相孔中所花费的时间部分取决于粒子可以透入孔的速度。粒子从流动相流去除致使它们花费更长的时间从柱洗脱,并且导致基于粒子大小差异粒子之间的分离。

[0096] 在一些实施例中,SEC与鉴别技术结合来鉴别或表征蛋白质或其片段。蛋白质鉴别和表征可以通过不同技术来完成,包括但不限于色谱技术(例如,高效液相色谱法(HPLC))、免疫测定、电泳、紫外/可见/红外光谱法、喇曼光谱法、表面增强拉曼光谱法、质谱法、气相色谱法、静态光散射(SLS)、傅里叶变换红外光谱法(FTIR)、圆二色性(CD)、尿素诱导的蛋白质解折叠技术、内在色氨酸荧光、差示扫描量热法和/或ANS蛋白结合。

[0097] 在一些实施例中,蛋白质鉴别通过高压液相色谱法实现。执行HPLC的不同仪器和设备对于本领域技术人员来说是已知的。通常HPLC涉及将含有感兴趣的蛋白质的液体溶剂装载到分离柱上,分离在此处发生。HPLC分离柱填充有固体粒子(例如,二氧化硅、聚合物、或吸附剂),并且样品混合物在与柱粒子相互作用时分离成多种化合物。HPLC分离受液体溶剂的条件(例如,压力、温度)、样品混合物与液体溶剂之间的化学相互作用(例如,疏水性、质子化等)、以及样品混合物与分离柱内装填的固体粒子之间的化学相互作用(例如,配体亲和、离子交换等)。

[0098] 在一些实施例中,SEC和蛋白质鉴别在同一设备中发生或同时发生。例如,SEC和HPLC可以组合,经常称为SE-HPLC。

[0099] 在一些实施例中,该水性配制品包含约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中所述配制品在于约40°C下储存至少1个月后是稳定的。在一些实施例中,该配制品在于约25°C下储存至少3个月后是稳定的。在一些实施例中,该配制品在于约5°C下储存至少6个月后是稳定的。在一些实施例中,该配制品在于约5°C下储存至少12个月后是稳定的。在一些实施例中,该配制品在于约5°C下储存至少18个月后是稳定的。在一些实施例中,该配制品在于约5°C下储存至少24个月或36个月后是稳定的。

[0100] 术语“稳定的”可以是相对的且不是绝对的。因此,在一些实施例中,当抗体在2°C至8°C下储存6个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。在一些实施例中,当抗体在2°C至

8°C下储存12个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。在一些实施例中,当抗体配制品中的抗体在2°C至8°C下储存18个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。在一些实施例中,当抗体配制品中的抗体在2°C至8°C下储存24个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。

[0101] 在一些实施例中,当抗体在23°C至27°C下储存3个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。在一些实施例中,当抗体在23°C至27°C下储存6个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。在一些实施例中,当抗体在23°C至27°C下储存12个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。在一些实施例中,当抗体在23°C至27°C下储存24个月时如果经SEC HPLC测定小于20%、小于15%、小于10%、小于5%或小于2%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。

[0102] 在一些实施例中,当抗体在40°C下储存时如果经SEC HPLC测定小于6%、小于4%、小于3%、小于2%或小于1%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。在一些实施例中,当抗体在5°C下储存时如果经SEC HPLC测定小于6%、小于4%、小于3%、小于2%或小于1%的抗体降解、变性、聚集或解折叠,则该抗体是稳定的。

[0103] 在一些实施例中,本发明的抗体配制品被视为稳定的,如果在8周、4个月、6个月、9个月、12个月或24个月的时间内,如通过本领域技术人员已知的抗体结合测定例如ELISA所测量的,抗体相比于参考抗体几乎未表现出配制品的抗体(包括其抗体片段)的结合活性的损失的话。在一些实施例中,在约40°C下储存至少1个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、或至少约99%的对IL-5受体多肽的结合能力。在一些实施例中,在约5°C下储存至少6个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约98%、或至少约99%的对IL-5受体多肽的结合能力。在一些实施例中,在约40°C下储存至少1个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少95%的对IL-5受体多肽的结合能力。在一些实施例中,在约5°C下储存至少6个月的抗体相比未被储存的参考抗体保留至少95%的对IL-5受体多肽的结合能力。

[0104] 该抗体配制品可以提供低至不可检测的抗体聚集水平。如在此使用的,短语“低至不可检测的聚集水平”是指如通过高效尺寸排阻色谱法(HPSEC)或静态光散射(SLS)技术测量的,按蛋白质的重量计抗体含有不多于约5%、不多于约4%、不多于约3%、不多于约2%、不多于约1%以及不多于约0.5%的聚集。在一些实施例中,如通过HPSEC所测定的,在于约40°C下储存至少4周后,小于2%的抗体形成聚集体。在一些实施例中,如通过HPSEC所测定的,在于约5°C下储存至少3个月、至少6个月、至少9个月、至少12个月、至少15个月、至少18个月、至少24个月、或至少36个月后,小于2%的抗体形成聚集体。

[0105] 申请人已发现,在此提供的抗体配制品使得粒子形成大幅减少,如通过目视检查、微流成像(MFI)、或尺寸排阻色谱法(SEC)所测定的。在一些实施例中,如通过目视检查所测

定的,在于约40°C下储存至少1个月后,该配制品基本上不含粒子。在一些实施例中,如通过目视检查所测定的,在于约5°C下储存至少6个月、至少9个月、至少12个月、至少15个月、至少18个月、至少24个月、或至少36个月后,该配制品基本上不含粒子。

[0106] 在一些实施例中,本发明的抗体配制品可以用于制药目的。在制药应用领域使用的抗体必须具有高纯度,尤其是对于来自细胞培养物的污染物而言,该细胞培养物包括细胞蛋白污染物、细胞DNA污染物、病毒以及其他可传染的药剂。参见“WHO关于在生物制品生产中作为体外基质的动物细胞的应用要求:关于生物活性物质No.50的要求”878号,附录1,1998(“WHO Requirements for the use of animal cells as in vitro substrates for the production of biologicals:Requirements for Biological Substances No.50.” No.878.Annex 1,1998)。响应于关于污染物的关注点,世界卫生组织(WHO)对多种污染物水平进行设限。例如,WHO建议对于蛋白产品而言每个剂量的DNA限值小于10ng。同样地,美国食品与药品管理局(FDA)设定DNA限值为小于或等于0.5pg/mg蛋白。因此,在一些实施例中,本发明涉及满足或超过如一个或多个政府机构例如美国食品与药品管理局和/或世界卫生组织所限定的污染物限值的抗体。

[0107] 在一些实施例中,在此描述的抗体配制品是药学上可接受的。“药学上可接受的”是指抗体配制品,其在合理的医学判断力范围内适合用于与人类和动物的组织接触而没有过度的毒性、或其他与合理益处/风险比相称的并发症。

[0108] 抗体配制品的纯度可以变化。在一些实施例中,感兴趣的治疗性抗体(例如抗-IL5R抗体)大于该抗体配制品中存在的总多肽的90%(重量/重量)。在一些实施例中,感兴趣的治疗性抗体(例如抗-IL5R)大于该抗体配制品中存在的总多肽的95%(重量/重量)、98%(重量/重量)、99%(重量/重量)、99.5%(重量/重量)、99.9%(重量/重量)。

[0109] 在此提供的配制品可以适合于治疗受试者。如在此使用的,“受试者”可以与“患者”互换使用并且是指被分类为哺乳动物的任何动物,包括人类和非人类,例如但不限制于家畜和农畜、动物园动物、体育用动物以及宠物。在一些实施例中,受试者指的是人类。

[0110] 术语“治疗”(“treat”和“treatment”)指的是治疗性治疗和预防、保持或防止性措施,其中目标是预防或减慢(减轻)不希望的生理病状、病症或疾病,或者获得有益的或希望的临床结果。术语“治疗”(“treat”、“treatment”和“treating”)是指通过给予一种或多种疗法(包括但不限于给予一种或多种预防剂或治疗剂)减少或改善这种疾病或病症(例如,特征在于IL-5多肽的异常表达和/或活性的疾病或病症、特征在于IL-5多肽或其一种或多种亚单位的异常表达和/或活性的疾病或病症、自身免疫性疾病、炎性疾病、增生性疾病或感染)的进展、严重性和/或持续时间,或者改善这种疾病或病症的一种或多种症状。在某些实施例中,此类术语是指炎症相关的嗜酸性粒细胞介导的炎症的减轻。在其他实施例中,此类术语是指肥大细胞释放的致炎因子的减少,或此类致炎因子的生物效应的减少。在其他实施例中,此类术语是指过度增殖细胞(例如,癌性细胞)的生长、形成和/或数目增加的减少。在又其他实施例中,此类术语是指气道、皮肤、胃肠道或其组合的炎症的减少。在又其他实施例中,此类术语是指与哮喘相关联的症状的减少。在又其他实施例中,此类术语是指与慢性阻塞性肺病(COPD)相关联的症状的减少。

[0111] 本发明的抗体配制品可以通过不同手段给予受试者。在一些实施例中,该抗体配制品适合于肠胃外给予,例如经由吸入(例如,粉末或喷雾剂)、透粘膜、静脉内、皮下或肌内

给予。在一些实施例中,该配制品是可注射的配制品。在一些实施例中,本发明涉及一种包含如在此描述的任何抗体配制品的密封容器。

[0112] 在一些方面,本发明涉及不同的药物剂型。不同的剂型可以应用于在此提供的配制品。参见,例如药物剂型:肠胃外药物,第1卷,第2版(Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volume 1, 2nd Edition)。在一个实施例中,本发明的药物单位剂型包含在适合容器(例如,小瓶或注射器)中的抗体配制品。在一个实施例中,本发明的药物单位剂型包含静脉内、皮下或肌内递送的抗体配制品。在另一个实施例中,本发明的药物单位剂型包含气雾剂递送的抗体配制品。在特定实施例中,本发明的药物单位剂型包含皮下递送的抗体配制品。在另一个实施例中,本发明的药物单位剂型包含气雾剂递送的抗体配制品。在另外的实施例中,本发明的药物单位剂型包含鼻内给予的抗体配制品。

[0113] 本发明的抗体配制品可以通过制备含有供一次使用的等份的水性抗体配制品的小瓶作为单位剂型来制备。例如,每小瓶的单位剂量可以含有1ml、2ml、3ml、4ml、5ml、6ml、7ml、8ml、9ml、10ml、15ml或20ml不同浓度的特异性结合IL5受体的抗体,该抗体的浓度范围为约0.1mg/ml至约300mg/ml。必要的话,可以通过向每个小瓶添加无菌稀释剂来将这些制剂调整至所希望的浓度。在特定实施例中,本发明的水性抗体配制品作为无菌液体被配制到单次剂量小瓶中,该无菌液体含有:约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;约40mM至约60mM海藻糖;以及约110mM至约150mM L-精氨酸。在另一个特定实施例中,本发明的水性抗体配制品作为无菌液体被配制到单次剂量小瓶中,该无菌液体含有:约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;以及约200mM至约300mM海藻糖。在一个实施例中,本发明的抗体以2至20mg/ml提供在3cc USPI型硼硅酸盐琥珀色小瓶(西部药物服务公司—零件号6800-0675(West Pharmaceutical Services—Part No.6800-0675))中。在一个实施例中,本发明的抗体以20至100mg/ml提供在3cc USPI型硼硅酸盐琥珀色小瓶中。目标填充体积是1.2mL。

[0114] 本发明的抗体配制品可以通过制备含有供一次使用的等份的水性抗体配制品的预填充注射器作为单位剂型来制备。例如,每预填充注射器的单位剂量可以含有0.1ml、0.2ml、0.3ml、0.4ml、0.5ml、0.6ml、0.7ml、0.8ml、0.9ml、1ml、2ml、3ml、4ml、5ml、6ml、7ml、8ml、9ml、10ml、15ml或20ml不同浓度的特异性结合IL-5多肽的抗体,该抗体的浓度范围为约2mg/ml至约100mg/ml。在特定实施例中,本发明的水性抗体配制品作为无菌液体被配制到单次剂量预填充注射器中,该无菌液体含有:约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;约40mM至约60mM海藻糖;以及约110mM至约150mM L-精氨酸。在特定实施例中,本发明的水性抗体配制品作为无菌液体被配制到单次剂量预填充注射器中,该无菌液体含有:约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该

抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;以及约200mM至约300mM海藻糖。

[0115] 不同剂量的量可以单次使用来给予。例如,在一些实施例中,可以单次剂量给予0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.8mg、0.9mg、1.0mg、1.1mg、1.2mg、1.3mg、1.4mg、1.5mg、1.6mg、1.7mg、1.8mg、1.9mg、2mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、12mg、14mg、16mg、18mg、20mg、30mg、40mg、50mg、70mg或100mg的抗体。

[0116] 可以使用不同类型的注射器。可以在给予受试者之前立刻,例如在给予受试者之前小于1周、1天、6小时、3小时、2小时、1小时、30分钟、20分钟或10分钟将注射器填充抗体配制品。在一些实施例中,可以在零售点处,或通过对受试者进行治疗的设施将注射器填充抗体配制品。在一些实施例中,在给予受试者之前大于1天、2天、4天、1周、2周、1个月、2个月、3个月、6个月、12个月、18个月、24个月、3年或4年,将注射器预填充,例如将注射器填充抗体配制品。在一些实施例中,该预填充注射器包括注射针,例如27G常规薄管注射针、27G薄管注射针、29G常规薄管注射针、或29G薄管注射针。在一些实施例中,该预填充注射器包括29G薄管注射针。

[0117] 在一些实施例中,可以使用适合于给予所希望的受试者的任何注射器。在一些实施例中,该注射器是塑料注射器或玻璃注射器。在一些实施例中,该注射器是由基本上不含钨的材料制成。在一些实施例中,该注射器涂覆有硅酮。在一些实施例中,该预填充的注射器包括具有含氟聚合物树脂圆盘的柱塞。注射器的实例可以包括但不限于1ml长的Hypak™ for Biotech(碧迪公司(Becton Dickinson)),其具有1mL长的Becton Dickinson Hypak柱塞挡止器4023Flurotec Daikyo Si1000(目录号47271919)、C3Pin(批号E912701);0.8mg硅油的Hypak™ for Biotech(碧迪公司);以及CZ注射器(West公司,目录号19550807)。

[0118] 本发明的水性抗体配制品可以通过不同除菌方法,包括无菌过滤、辐射等来除菌。在特定实施例中,渗滤的抗体配制品用预除菌的0.2微米过滤器无菌过滤。本发明的已除菌的水性抗体配制品可以给予受试者以防止、治疗和/或管理免疫应答,例如炎症应答。

[0119] 在一些实施例中,该预填充的注射器包含:(a) 约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(b) 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。在一些实施例中,该预填充的注射器进一步包含:(c) 约40mM至约60mM海藻糖,以及(d) 约110mM至约150mM L-精氨酸。在一些实施例中,该预填充的注射器包含:(a) 约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(b) 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。在一些实施例中,该预填充的注射器进一步包含:(c) 约200mM至约300mM海藻糖。

[0120] 在一些实施例中,本发明涉及一种试剂盒,该试剂盒包含在此描述的抗体配制品、在此描述的容器、在此描述的单位剂型或在此描述的预填充的注射器中的任一者。

[0121] 在一些实施例中,本发明还可以涉及一种制备包含抗体的稳定的水性抗体配制品

的方法,该方法包括:(a)将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(b)将该分离的抗体放置在稳定化配制品中以形成该稳定的水性抗体配制品,其中所得稳定的水性抗体配制品包含:(i)约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(ii)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。在一些实施例中,本发明涉及一种制备稳定的水性抗体配制品的方法,该方法包括:(a)将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(iii)约110mM至约150mM L-精氨酸,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列。在一些实施例中,本发明涉及一种制备稳定的水性抗体配制品的方法,该方法包括:(a)将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(iii)约20mM组氨酸,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列。

[0122] 虽然本发明的许多方面涉及水性配制品,但应该指出出于等效目的,本发明的抗体或抗体配制品可以被冻干,如果需要的话。因此,本发明涵盖冻干形式的本发明配制品,或稍后被复水成水性形式的冻干抗体。在一些实施例中,本发明涉及一种制备复水抗体配制品的方法,该复水抗体配制品包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,该方法包括:(a)从细胞培养物纯化该抗体; (b)冻干该分离的抗体; (c)将该冻干的抗体添加至水性溶液中以形成复水的抗体配制品,其中该复水的抗体配制品包含:(i)约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及(ii)约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

[0123] 在一些实施例中,本发明人已发现,具有增加的谷胱甘肽S-转移酶(GST)的抗-IL5R抗体配制品引起减少的(例如,不可检测的)粒子形成。去除粒子对于避免潜在的免疫原性以及限制对产品质量的影响是重要的。在一些实施例中,GST浓度通过亲和色谱法来减小。在一些实施例中,GST浓度通过使用蛋白A柱来减小。在一些实施例中,蛋白A柱是

MabSelect Sure (GE医疗生命科学 (GE Healthcare Life Sciences))。在一些实施例中, GST浓度通过使用混合模式色谱法来减小。在一些实施例中,混合模式柱是CaptoTMAdhere (GE医疗生命科学)。

[0124] 在一些实施例中,本发明涉及一种包含抗体的抗体配制品,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中该抗体配制品基本上不含粒子。在一些实施例中,术语“基本上不含粒子”是指当在灯箱下观察时不存在可见的粒子。在一些实施例中,术语“基本上不含粒子”与如先前描述的短语“低至不可检测的粒子形成水平”同义。在一些实施例中,基本上不含粒子是指样品含有小于30粒子/mL、小于20粒子/mL、小于20粒子/mL、小于15粒子/mL、小于10粒子/mL、小于5粒子/mL、小于2粒子/mL或小于1粒子/mL,其中粒子大于25 μ m并且粒子计数是通过HIAC分析或视觉分析测得的。在一些实施例中,基本上不含粒子是指样品含有1至50粒子/mL、2至40粒子/mL、3-30粒子/mL、4至25粒子/mL、或5至20粒子/mL,其中粒子大于25 μ m并且粒子计数是通过HIAC分析或视觉分析测得的。在一些实施例中,术语“可见粒子”是指大于25 μ m的粒子。

[0125] 在一些实施例中,基本上不含粒子是指样品含有1至200粒子/mL、10至150粒子/mL、30-100粒子/mL、或40至80粒子/mL,其中粒子大于5 μ m并且粒子计数是通过HIAC分析或视觉分析测得的。在一些实施例中,术语“可见粒子”是指大于5 μ m的粒子。在一些实施例中,在该抗体配制品中未检测到粒子,无论是通过HIAC分析还是通过视觉分析。

[0126] 在一些实施例中,本发明涉及一种包含抗体的抗体配制品,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中该抗体配制品基本上不含谷胱甘肽S-转移酶 (GST)。除非另外说明,否则术语“基本上不含谷胱甘肽S-转移酶”或“基本上不含GST”将涵盖缺乏活性GST (但是可以含有非活性GST) 的组合物以及不具有GST蛋白 (无论是活性形式还是非活性形式) 的组合物。在一些实施例中,本发明涉及一种包含抗体的抗体配制品,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中该抗体配制品基本上不含活性GST。术语“活性GST”是指能够催化谷胱甘肽 (GSH) 的硫醇基形成至亲电子化合物诸如1-氯-2,4-二硝基苯 (CDNB) 以便形成GS-DNB轭合物的GST。GST或谷胱甘肽S-转移酶是指这样的酶家族:其能够催化多种反应,但主要是还原型谷胱甘肽经由巯基轭合至亲电中心 (例如芳香族化合物、双键、C-Cl_x等) 的反应。GST单体大体上在22-29kDa的范围内,并且它们可以作为二聚体、三聚体还有杂二聚体 (具有其他蛋白质) 出现。在一些实施例中,术语GST是指能够催化谷胱甘肽 (GSH) 的硫醇基形成至1-氯-2,4-二硝基苯 (CDNB) 以便形成GS-DNB轭合物的蛋白质。

[0127] 在一些实施例中,本发明涉及一种包含抗体的抗体配制品,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中该抗体配制品当在38°C-42°C下储存至少1个月、至少2个月、至少3个月、至少4个

月、至少5个月、至少6个月、至少8个月、至少10个月、至少12个月、或至少18个月时基本上不含粒子。在一些实施例中,本发明涉及一种包含抗体的抗体配制品,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中该抗体配制品当在2°C-6°C下储存至少1个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少8个月、至少10个月、至少12个月、至少18个月、至少24个月、至少30个月、至少36个月、或至少48个月时基本上不含粒子。

[0128] 在一些实施例中,该抗体配制品基本上不含GST。在一些实施例中,术语“基本上不含GST”是指抗体配制品具有的GST活性小于约0.5个单位/mg抗体、小于约0.3个单位/mg抗体、小于约0.1个单位/mg抗体、小于约0.08个单位/mg抗体、小于约0.05个单位/mg抗体、小于约0.03个单位/mg抗体、小于约0.01个单位/mg抗体、小于约0.005个单位/mg抗体、小于约0.001个单位/mg抗体、小于约 5×10^{-3} 个单位/mg抗体、小于约 1×10^{-4} 个单位/mg抗体、小于约 1×10^{-5} 个单位/mg抗体、或小于约 1×10^{-6} 个单位/mg抗体。在一些实施例中,术语“基本上不含”是指GST的水平使用常见GST检测技术是不可检测的。

[0129] 测定GST活性的不同方法对于本领域的技术人员来说是已知的。在一些实施例中,GST活性使用谷胱甘肽(GSH/GSSG/总)荧光测定试剂盒(生物视野,旧金山(BioVision, San Francisco CA))来测定。

[0130] 在一些实施例中,本发明涉及一种纯化抗体的方法,该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,该方法包括:(i)获得包含该抗体的细胞培养物;(ii)对该抗体执行亲和色谱法;(iv)对该抗体执行阳离子交换;(v)对该抗体执行混合模式色谱法。在一些实施例中,本发明涉及一种纯化抗体的方法,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,该方法包括:(i)获得包含该抗体的细胞培养物;(ii)将该抗体结合至蛋白A柱;(iii)将该抗体从该蛋白A柱洗脱;(iv)对该抗体执行阳离子交换;(v)对该抗体执行混合模式色谱法。在一些实施例中,该纯化抗体的方法进一步包括病毒灭活过程。在一些实施例中,该病毒灭活步骤通过将pH降低至小于4.0来执行。在一些实施例中,该方法进一步包括渗滤过程。在一些实施例中,该方法进一步包括过滤过程。在一些实施例中,该过滤过程足以去除活性病毒粒子。

[0131] 在一些实施例中,本发明涉及一种治疗患者的方法。在一些实施例中,本发明包括向有需要的受试者给予在此描述的抗体配制品、在此描述的容器、在此描述的单位剂型或在此描述的预填充的注射器。

[0132] 在一些实施例中,本发明适合于通过给予在此描述的抗体配制品来治疗肺部疾病或病症。在一些实施例中,本发明涉及一种通过给予在此描述的抗体配制品来治疗患有嗜酸性粒细胞性疾病或病症的患者的方法。在一些实施例中,本发明涉及一种治疗受试者中的肺部疾病或病症的方法,该方法包括给予在此描述的抗体配制品。在一些实施例中,本发明涉及一种治疗受试者中的嗜酸性粒细胞性疾病或病症的方法,该方法包括给予在此描述的抗体配制品。在一些实施例中,本发明涉及受试者中以下肺部疾病或病症的治疗:例如,

哮喘、COPD、嗜酸性粒细胞性气喘、嗜酸性粒细胞性和嗜中性粒细胞性合并哮喘、阿司匹林敏感的哮喘、变应性支气管肺曲菌病、急性和慢性嗜酸性粒细胞性支气管炎、急性和慢性嗜酸性粒细胞性肺炎、丘-施二氏综合征、高嗜酸性粒细胞综合征、药品、刺激物和辐射诱发的肺嗜酸性粒细胞增多症、感染诱发的肺嗜酸性粒细胞增多症(真菌、结核病、寄生虫)、自体免疫相关的肺嗜酸性粒细胞增多症、嗜酸性粒细胞性食管炎、或克罗恩病或它们的组合,该方法包括给予在此描述的抗体配制品。在一些实施例中,本发明涉及受试者中哮喘的治疗,该方法包括给予在此描述的抗体配制品。在一些实施例中,本发明涉及受试者中COPD的治疗,该方法包括给予在此描述的抗体配制品。

[0133] 在一些实施例中,给予治疗有效量的在此描述的抗体配制品以治疗病状。如在此使用的,术语“治疗有效量”是指疗法(例如,免疫特异性结合IL-5受体多肽的抗体)的量,该量足以降低疾病或病症(例如,特征在于IL-5多肽的异常表达和/或活性的疾病或病症、特征在于IL-5多肽或其一种或多种亚单位的异常表达和/或活性的疾病或病症、自身免疫性疾病、炎性疾病、增生性疾病或感染(优选呼吸道感染)或其一种或多种症状)的严重性,减小呼吸道病症的持续时间,改善这种疾病或病症的一种或多种症状,防止这种疾病或病症的进展,致使这种疾病或病症的消退,或者增强或改善另一种疗法的治疗效果。在一些实施例中,治疗有效量不能事先指定,并且可以由照护者(例如,由医师或其他医疗服务提供者)使用各种方式(例如剂量调整)确定。适当的治疗有效量还可以通过常规实验使用例如动物模型来确定。

[0134] 术语“疗法(“therapies”和“therapy”)”可以指代可以用于预防、治疗、管理或改善疾病或病症(例如,特征在于IL-5多肽的异常表达和/或活性的疾病或病症、特征在于IL-5多肽或其一种或多种亚单位的异常表达和/或活性的疾病或病症、自身免疫性疾病、炎性疾病、增生性疾病或感染(优选呼吸道感染)或其一种或多种症状)的任何方案、方法和/或试剂。在某些实施例中,术语“疗法(“therapies”和“therapy”)”是指生物疗法、支持疗法和/或熟练的医疗人员已知的可用于治疗、管理、预防或改善这种疾病或病症或一种或多种症状的其他疗法。

[0135] 如在此使用的,术语“治疗方案”是指用于安排一种或多种具有治疗效果的疗法(例如,治疗剂)的给予的剂量和时间的方案。

[0136] 本发明的抗体配制品的给药途径可以例如经由口服、经肠胃外、经吸入或局部给药模式。如在此使用的术语肠胃外包括例如静脉内、动脉内、腹膜内、肌内、皮下、直肠或经阴道给药。在一些实施例中,该抗体是抗-IL5R抗体,并且给药途径是肌肉注射。虽然所有这些给药形式可清楚地考虑为是在本发明的范围之内,但在一些实施例中,该抗体配制品适合于经由注射、特别是经由静脉内或动脉内注射或滴注给药。

[0137] 在一些实施例中,本发明的组合物和方法使得制造商能够以更有效的方式生产适用于向人类给予的抗体配制品,该方式为降低成本、减少方法步骤、降低错误机会、降低不安全或不适当添加剂引入的机会、减少浪费、增加储存时间等等。

本发明还涉及以下实施方案:

1. 一种稳定的水性抗体配制品,包含:

a. 约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻

链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及

- b. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。
2. 如实施方案1所述的抗体配制品,进一步包含不带电的赋形剂。
3. 如实施方案2所述的抗体配制品,其中该不带电的赋形剂是海藻糖。
4. 如实施方案1至3中任一项所述的抗体配制品,包含约2至约20mg/ml的该抗体。
5. 如实施方案1至3中任一项所述的抗体配制品,包含约20至约100mg/ml的该抗体。
6. 如实施方案4所述的抗体配制品,其中该不带电的赋形剂的浓度是约20mM至约80mM。
7. 如实施方案5所述的抗体配制品,其中该不带电的赋形剂的浓度是约200mM至约400mM。
8. 如实施方案4所述的抗体配制品,进一步包含精氨酸。
9. 如实施方案8所述的抗体配制品,其中该精氨酸是L-精氨酸。
10. 如实施方案8所述的抗体配制品,包含约100mM至约200mM L-精氨酸。
11. 如实施方案8所述的抗体配制品,包含约120mM至约140mM L-精氨酸,以及约40mM至约60mM不带电的赋形剂。
12. 如实施方案1至11中任一项所述的抗体配制品,进一步包含组氨酸。
13. 如实施方案12所述的抗体配制品,其中该组氨酸的浓度是约15mM至约30mM。
14. 如实施方案1至13中任一项所述的抗体配制品,其中所述抗体未经受冻干。
15. 一种稳定的水性抗体配制品,包含约2mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中所述配制品在于约40°C下储存至少1个月是稳定的。
16. 一种稳定的水性抗体配制品,包含:
 - a. 约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;
 - b. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;
 - c. 约40mM至约60mM海藻糖;
 - d. 约110mM至约150mM L-精氨酸;以及
 - e. 约15mM至约30mM组氨酸。
17. 一种稳定的水性抗体配制品,包含:
 - a. 约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;
 - b. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;
 - c. 约200mM至约300mM海藻糖;以及
 - d. 约15mM至约30mM组氨酸。
18. 一种稳定的水性抗体配制品,包含:

a. 约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;

b. 约0.006%的聚山梨醇酯-20;

c. 约50mM海藻糖;

d. 约130mM L-精氨酸;以及

e. 约20mM组氨酸。

19. 一种稳定的水性抗体配制品,包含:

a. 约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;

b. 约0.006%的聚山梨醇酯-20;

c. 约250mM海藻糖;以及

d. 约20mM组氨酸。

20. 一种稳定的水性抗体配制品,包含:

a. 约30mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;

b. 约0.006%的聚山梨醇酯-20;

c. 约250mM海藻糖;以及

d. 约20mM组氨酸。

21. 如实施方案1至20中任一项所述的抗体配制品,其中该配制品在于约25°C下储存至少3个月是稳定的。

22. 如实施方案1至21中任一项所述的抗体配制品,其中该配制品在于约5°C下储存至少18个月是稳定的。

23. 如实施方案1至22中任一项所述的抗体配制品,其中在约40°C下储存至少1个月的该抗体相比未被储存的参考抗体保留至少80%的对IL-5R多肽的结合能力。

24. 如实施方案1至23中任一项所述的抗体配制品,其中在约5°C下储存至少6个月的该抗体相比未被储存的参考抗体保留至少80%的对IL-5R多肽的结合能力。

25. 如实施方案1至24中任一项所述的抗体配制品,其中在约40°C下储存至少1个月的该抗体相比未被储存的参考抗体保留至少95%的对IL-5R多肽的结合能力。

26. 如实施方案1至25中任一项所述的抗体配制品,其中在约5°C下储存至少6个月的该抗体相比未被储存的参考抗体保留至少95%的对IL-5R多肽的结合能力。

27. 如实施方案1至26中任一项所述的抗体配制品,其中如通过HPSEC所测定的,在于约40°C下储存至少1个月,小于2%的该抗体形成聚集体。

28. 如实施方案1至27中任一项所述的抗体配制品,其中如通过HPSEC所测定的,在于约5°C下储存至少12个月,小于2%的该抗体形成聚集体。

29. 如实施方案1至28中任一项所述的抗体配制品,其中如通过目视检查所测定的,在于约40°C下储存至少1个月,该配制品基本上不含粒子。

30. 如实施方案1至29中任一项所述的抗体配制品,其中如通过目视检查所测定的,在于约5°C下储存至少12个月后,该配制品基本上不含粒子。

31. 如实施方案1至30中任一项所述的抗体配制品,其中该配制品是可注射的配制品。

32. 如实施方案1至31中任一项所述的抗体配制品,其中该配制品适合于静脉内、皮下或肌内给予。

33. 一种密封容器,含有如实施方案1至32中任一项所述的抗体配制品。

34. 一种适合于向人类肠胃外给予的药物单位剂型,包含在适合容器中的如实施方案1至32中任一项所述的抗体配制品。

35. 如实施方案34所述的药物单位剂型,其中该抗体配制品是静脉内、皮下或肌内给予的。

36. 如实施方案34或35所述的药物单位剂型,其中该适合容器是预填充的注射器。

37. 如实施方案36所述的药物单位剂型,其中该预填充的注射器包括注射针。

38. 如实施方案37所述的药物单位剂型,其中该注射针是29G薄管注射针。

39. 如实施方案36至38中任一项所述的药物单位剂型,其中该预填充的注射器是塑料注射器或玻璃注射器。

40. 如实施方案36至39中任一项所述的药物单位剂型,其中该预填充的注射器是由基本上不含钨的材料制成。

41. 如实施方案36至40中任一项所述的药物单位剂型,其中该预填充的注射器涂覆有硅酮。

42. 如实施方案36至41中任一项所述的药物单位剂型,其中该预填充的注射器包括具有含氟聚合物树脂圆盘的柱塞。

43. 一种预填充的注射器,包含:

a. 约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及

b. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

44. 如实施方案38所述的预填充的注射器,进一步包含:

c. 约40mM至约60mM海藻糖;以及

d. 约110mM至约150mM L-精氨酸。

45. 一种预填充的注射器,包含:

a. 约20mg/mL至约100mg/mL的抗体,其中该抗体包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列,

b. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

46. 如实施方案40所述的预填充的注射器,进一步包含:

c. 约200mM至约300mM海藻糖。

47. 一种预填充的注射器,包含:

a. 约2mg/mL至约20mg/mL的抗体,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;以及

b. 约0.006%的聚山梨醇酯-20。

48. 如实施方案47所述的预填充的注射器, 进一步包含:

c. 约50mM海藻糖; 以及

d. 约130mM L-精氨酸。

49. 一种预填充的注射器, 包含:

a. 约20mg/mL至约100mg/mL的抗体, 其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区, 其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列, 并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;

b. 约0.006%的聚山梨醇酯-20。

50. 如实施方案49所述的预填充的注射器, 进一步包含:

c. 约250mM海藻糖。

51. 一种预填充的注射器, 包含:

a. 约30mg/mL的抗体, 其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区, 其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列, 并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列; 以及

b. 约0.006%的聚山梨醇酯-20。

52. 如实施方案51所述的预填充的注射器, 进一步包含:

c. 约250mM海藻糖。

53. 一种试剂盒, 包含如实施方案1至32中任一项所述的配制品、如实施方案33所述的容器、如实施方案34至42中任一项所述的单位剂型或如实施方案43至52中任一项所述的预填充的注射器。

54. 一种制备稳定的水性抗体配制品的方法, 该方法包括:

a. 将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL, 其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区, 其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列, 并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;

b. 将该分离的抗体放置在稳定化配制品中以形成该稳定的水性抗体配制品, 其中该所得稳定的水性抗体配制品包含:

i. 约2mg/mL至约100mg/mL的该抗体; 以及

ii. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

55. 一种制备稳定的水性抗体配制品的方法, 该方法包括:

a. 将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL, 其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区, 其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列, 并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;

b. 将该抗体稀释于溶液中达到约2mg/mL至约20mg/mL的该抗体, 该溶液包含:

i. 约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;

ii. 约40mM至约60mM海藻糖; 以及

iii. 约110mM至约150mM L-精氨酸。

56. 一种制备稳定的水性抗体配制品的方法, 该方法包括:

a. 将抗体纯化至约1mg/mL至约400mg/mL, 其中该抗体包含重链可变区和轻链可变

区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列;

b.将该抗体稀释于溶液中达到约20mg/mL至约100mg/mL的该抗体,该溶液包含:

i.约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20;以及

ii.约200mM至约300mM海藻糖。

57.一种制备包含抗体的复水抗体配制品的方法,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,该方法包括:

a.从细胞培养物纯化该抗体;

b.冻干该分离的抗体;

c.将该冻干的抗体添加至水性溶液中以形成复水的抗体配制品,其中该复水的抗体配制品包含:

i.约2mg/mL至约100mg/mL的该抗体;以及

ii.约0.002%至约0.01%的聚山梨醇酯-20。

58.一种包含抗体的抗体配制品,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中该抗体配制品基本上不含粒子。

59.一种包含抗体的抗体配制品,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,其中该抗体配制品基本上不含活性谷胱甘肽S-转移酶(GST)。

60.如实施方案59所述的抗体配制品,其中该抗体序列基本上不含GST。

61.如实施方案58所述的抗体配制品,其中该抗体配制品当在38°C-42°C下储存至少1个月时基本上不含粒子。

62.如实施方案58所述的抗体配制品,其中该抗体配制品当在2°C-6°C下储存至少6个月时基本上不含粒子。

63.一种纯化抗体的方法,其中该抗体包含重链可变区和轻链可变区,其中该重链可变区包含SEQ ID NO:5-7的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,并且其中该轻链可变区包含SEQ ID NO:8-10的卡巴特定义的CDR1、CDR2和CDR3序列,该方法包括:

a.获得包含该抗体的细胞培养物;

b.对该抗体执行亲和色谱法;

c.对该抗体执行阳离子交换;

d.对该抗体执行混合模式色谱法。

64.如实施方案63所述的方法,进一步包括病毒灭活过程。

65.如实施方案63所述的方法,进一步包括渗滤过程。

66.一种治疗受试者中的肺部疾病或病症的方法,该方法包括给予治疗有效量的如实施方案1至32中任一项所述的抗体配制品、如实施方案33所述的容器、如实施方案34至

42中任一项所述的单位剂型或如实施方案43至52中任一项所述的预填充的注射器。

67. 如实施方案49所述的方法, 其中该肺部疾病或病症是嗜酸性粒细胞性疾病或病症。

68. 如实施方案49所述的方法, 其中该肺部疾病或病症是哮喘、COPD、嗜酸性粒细胞性气喘、嗜酸性粒细胞性和嗜中性粒细胞性合并哮喘、阿司匹林敏感的哮喘、变应性支气管肺曲菌病、急性和慢性嗜酸性粒细胞性支气管炎、急性和慢性嗜酸性粒细胞性肺炎、丘-施二氏综合征、高嗜酸性粒细胞综合征、药品、刺激物和辐射诱发的肺嗜酸性粒细胞增多症、感染诱发的肺嗜酸性粒细胞增多症(真菌、结核病、寄生虫)、自体免疫相关的肺嗜酸性粒细胞增多症、嗜酸性粒细胞性食管炎、克罗恩病或它们的组合。

69. 如实施方案49所述的方法, 其中该肺部疾病或病症是哮喘。

70. 如实施方案49所述的方法, 其中该肺部疾病或病症是慢性阻塞性肺病。

实例

实例1

[0138] 执行配制品研究以形成适用于以2-100mg的剂量经由皮下递送从预填充的注射器(或经由备用配置)递送的抗-IL5R抗体配制品。确切地说, 形成两种单独抗体浓度的配制品, 即2-20mg/mL配制品和20-100mg/mL配制品。

1. 材料和方法

a. 抗-IL5R来源和配制品制备

[0139] 在这些研究中使用多个批次的抗-IL5R。所有这些批次以不同规模通过MedImmune产生, 并且在渗滤和浓缩至在pH 6的20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐中大约130g/L的浓度后递送。一些批次还在渗滤缓冲液中具有250mM海藻糖。

[0140] 抗-IL5R还通过掺入于赋形剂添加缓冲剂(EAB)中来配制, 以实现100g/L的抗-IL5R浓度以及缓冲剂和赋形剂物质的适当浓度。由100g/L配制品制备更低浓度的药品。

2. 加速应力方法

a. 在增加温度下储存

[0141] 将小瓶和注射器储存在受控稳定性腔室中以在储存期间维持恒温。将腔室维持在2°C-8°C、23°C-27°C/60%RH、或38°C-42°C/75%RH, 但下文将提及它们的中点温度5°C、25°C或40°C。除非另外指出, 否则小瓶直立储存, 并且预填充的注射器尖端向下储存。

b. 冻融循环

[0142] 受控的和不受控的冻融循环均在这些研究中使用。不受控的冻融通过将小瓶在-40°C腔室中冷冻以及在室温下融化来完成。

c. 运输和摇荡

[0143] 使用多种方法来调研运输对抗-IL5R的影响。通过在150rpm下摇荡24小时对小瓶进行台式摇荡。通过将产品运送至场外位置来模仿实际运输。产品经历两次往返运送并且在4天内经历地面运输和航空运输。使用冷冻袋和冰袋的组合来将产品温度维持在2°C-8°C, 并且通过传感器进行监测, 该传感器指示低于0°C或高于9°C的温度。

[0144] 对于筛选研究, 使用振动台(运输模拟器)模拟运输。产品经历“航空”运输和“地面”运输的模式与在往返运送过程中经历的模式相同。该过程历时12小时, 并且再次用冰袋将温度控制在2°C-8°C; 不使用传感器。在实际运送或模拟运送过程中选择水平取向作为最

坏的取向,原因在于气泡行进的可能性以及药物与整个筒体、针头和止挡器接触的可能性。

3. 实验方法

a. 遵循或源自SOP的方法

[0145] 通过与粒子和乳光标准比较来进行目视检查。通过SE-HPLC监测聚集和片段化。对于浓度低于10g/L的抗-IL5R,使用更大体积的注射以实现类似的每次注射总蛋白质量。一些样品还用于cIEF测量和RP-HPLC以监测片段化。

b. 蛋白质浓度

[0146] 通过连续重量稀释将蛋白质稀释至大约0.5g/L并且在280nm下测量吸光度来测量蛋白质浓度。由衰减系数和稀释因数计算浓度,并且对于高于50g/L的初始浓度矫正密度对重量稀释的影响。

c. 亚可见性粒子计数

[0147] 使用MFI和HIAC制出亚可见性粒子计数。对于MFI,在掺水运行日光照明之后,纯粹运行0.9mL溶液。头0.2mL用于吹洗系统并且不包括在分析中。使用<0.85的长径比过滤器去除球形气泡或硅油液滴。对于HIAC,将浓度>5g/L的溶液稀释至大约5g/L,同时纯粹运行稀释样品。稀释在层流洁净工作台中用20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐pH 6缓冲剂进行,在即将使用时过滤。在测试之前在真空下对样品脱气至少30分钟。将三次运行的平均值乘以稀释因数,得到最终结果。通过HIAC硅油液滴未与蛋白质粒子区分。

4. 数据和讨论

a. 聚山梨醇酯-20浓度筛选

[0148] 第一个目标是最优化水性抗体配制品中的PS-20浓度。聚山梨醇酯被包含在溶液中以方便防止蛋白质在界面处变性和聚集,并且预期液体产品和冻干产品中所需的浓度不同。主要的界面应力出现在冻融和运输期间,所以实验计划集中在模仿这些。先前的实验表明,0.02%聚山梨醇酯20足以完全避免这些应力(数据未示出)。作为验证,将这些应力以预期用于临床生产的顺序连续组合,并且在应力后加长孵育期以增强任何蛋白质粒子的生长。首选,药品经历三次不受控的冻融循环,并且将材料过滤并填充到小瓶中。然后将其在摇荡台上摇荡,并且在40°C下孵育一周,之后通过SE-HPLC和MFI进行测试。测试条件是浓度范围的限值2和100g/L,在240mM海藻糖、20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐(pH 6),以及水平从0变化至0.03%w/v的PS-20中配制。结果显示在图2、3和4中。

[0149] 单体分数数据显示2g/L溶液保持纯的而不管聚山梨醇酯水平如何,但少量的聚山梨醇酯-20(低于大约0.005%)导致小量的100g/L的聚集,但这些结果本身并不指示“失效边缘”。所利用的应力是剧烈的,并且降解水平是最小的,因此所测试的任何PS-20水平从SEC聚集体角度来看都将是足够的。在2g/L下,亚可见性粒子计数是相当高的,并且不受测试范围内的聚山梨醇酯-20控制。在100g/L下,高亚可见性粒子计数受0.003%或更多的PS-20的存在的控制。总之该数据指示PS-20水平应维持在0.003%或高于0.003%。

[0150] 对于低浓度溶液,需要控制亚可见性粒子的替代性方法,如以下讨论的。

b. pH的筛选

[0151] 在2、20以及100g/L溶液中研究溶液pH的影响,其中pH值为5至7.5。配制品的其余部分是恒定的,并且包括240mM海藻糖、20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐以及0.02% PS-20。制备溶液并且在40°C下储存至少一个月,之后进行测试。对于所有样品,评估经SE-HPLC测定的

单体损失、经MFI测定的亚可见性粒子以及经目视检查发现的可见粒子。对100g/L样品进行另外的测试,包括RP-HPLC和cIEF。结果提供在表5和6中。

[0152] 在5.5-6.5的pH范围内,聚集和片段化被最小化。得自cIEF的结果与pH 7.0及以上pH下的参考标准一致。亚可见性粒子计数既不低,也不显示与溶液pH的任何模式。在pH 5.5-6.5下,可见粒子分数更高。即使这些分数很高,但经检查这些样品接近于常规看见更高粒子计数时的光。有可能源材料也导致高的粒子水平,因为这种材料的HCP水平因在蛋白A上的进一步纯化而减少。此研究表明,从粒子形成角度来看,最优pH将是pH 5或 $pH \geq 7$ 。然而,由于可见粒子分数被理解为在此处被估计过高,所以源于此研究pH未从pH 6.0变化。

c. 运送影响

[0153] 配制品需要稳健以承受运送,所以在预填充的注射器中在不同蛋白质和PS-20浓度下进行测试。配制品变化之处为2-100g/L抗-IL5R和0-0.05% PS-20,其他条件恒定,即240mM海藻糖,20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐,pH 6。在2g/L下测试多个其他条件,包括甘氨酸、氯化钙、pH 5.5、pH 6.5、0.02%聚山梨醇酯-80。这些条件中没有一个是显示优于具有聚山梨醇酯-20的pH 6的海藻糖配制品的改进,因此下文不作进一步讨论。

[0154] 将1mL的样品填充到具有0.4mg硅油的平台PFS中。将样品运送,在5°C、25°C和40°C下储存,并且通过目视检查、MFI以及HIAC在两个月内进行测试。结果呈现在图7中。

[0155] 该图示出在于25°C下储存1个月后的得自MFI的亚可见性粒子计数。得自HIAC或在其他温度下储存后的亚可见性粒子计数显示与所示的数据集类似的趋势。目视检查未指示任何样品的高可见粒子计数,含有氯化钙的样品除外。高蛋白质浓度溶液(≥ 20 g/L)是稳健的能够承受运送,只要存在一些PS-20。因此,对于20-100g/L的溶液,在长期稳定性研究中使用海藻糖配制品。

[0156] 运送数据验证了低浓度配制品不稳健,如通过高的和高度可变的亚可见性粒子计数所观察的。该数据还显示仅通过聚山梨醇酯未解决问题,因此需要重新配制低浓度溶液。

d. 低浓度DS的重新配制

[0157] 低浓度重新配制筛选通过模拟运输加压,并且通过MFI测试。所示的亚可见性粒子计数是经长径比过滤的 $>10\mu m$ 的粒子;对于其他粒子大小趋势相似。

[0158] 在制造过程中,将产生含有海藻糖的高浓度(≥ 100 g/L)未配制药品(UDS)并且冷冻。这种高浓度中间体的储存是必要的,以便使得能够稀释成跨越2-100mg/mL配制品范围的不同配制品。由UDS稀释可以导致一些海藻糖残留;为了组合物的均匀性,对于整个低剂量范围将使用单一的海藻糖浓度。缓冲剂和pH不变。

[0159] 使用初次筛选来确定海藻糖配制品稳定情况下的最小蛋白质浓度,并且通过在150mM海藻糖以及75mM精氨酸盐酸盐或氯化钙中配制确定增加的离子强度的影响。以下示出的结果指示, ≥ 10 g/L的蛋白质浓度是稳定的,但是为了稳健性,将低浓度范围设定为2-20g/L。增加离子强度在两种赋形剂情况下均产生更稳定的溶液。参见,例如图8。

[0160] 接下来的研究集中在最优化精氨酸或NaCl浓度;对于所有研究,使用2g/L的蛋白质浓度作为最坏情况。对于每种赋形剂,在0.02% PS-20下运行宽的和窄的赋形剂浓度筛选。在海藻糖量变化的情况下运行初始精氨酸筛选,其中溶液通过将270mM精氨酸与250mM海藻糖混合来制备。目的是维持重量摩尔渗透压浓度,但是计算有误(精氨酸盐酸盐是二价的),所以含有精氨酸的溶液是高渗的。基于由100g/L备料稀释后20g/L下的残留海藻糖,其

余的赋形剂浓度筛选在40或50mM下的恒定海藻糖浓度下进行。结果提供在图9和10中。

[0161] 宽的精氨酸和NaCl筛选结果指示,浓度需要大于50mM精氨酸或75mM NaCl,以便产生稳定的配制品。75-150mM精氨酸或100-200mM NaCl的窄浓度筛选导致整个范围内低的粒子计数。这指示,处于这些范围中间的浓度应该产生稳健的配制品;130mM被选择为结合50mM残留海藻糖等渗。

[0162] 使用相同的方法针对新配制品检查PS-20浓度最优化。这些实验是与窄的赋形剂浓度筛选同时进行的,所以使用中点浓度。测试条件是0.01-0.1% PS-20,115mM精氨酸盐酸盐,40mM海藻糖;以及0.01-0.05% PS-20,150mM NaCl,50mM海藻糖。几个样品用0.02% PS-80测试,但是产生了比相对应的PS-20结果更高的计数(数据未示出)。对于所测试的所有聚山梨醇酯水平来说粒子计数都是低的,这表明在新的配制品中不必将该水平从0.02%变化。参见,例如图11。

[0163] 低浓度抗-IL5R的重新配制结果指示,精氨酸或NaCl都能够在短期内使配制品稳定。对于2-20g/L的蛋白质浓度,所考虑的配制品是130mM精氨酸盐酸盐,或130mM NaCl,与50mM海藻糖,20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐,0.02% PS-20,pH 6。

e.小瓶和PFS考量

[0164] 以上形成的三种配制品(在海藻糖中20-100mg/mL、在海藻糖/精氨酸中2-20mg/mL以及在海藻糖/NaCl中2-20mg/mL)对于小瓶和PFS配置都是适当的。小瓶配置是具有4432/50West塞子的3cc Schott小瓶。有关小瓶配置的最大风险是塞子上的硅油水平,所以长期稳定性研究用所具有的硅油水平($0.039\text{mg}/\text{cm}^2$)高于通常所用的硅油水平($0.007-0.024\text{mg}/\text{cm}^2$)的塞子进行。

[0165] 对于抗-IL5R配制品测试的注射器是平台注射器,即BD 1mL长PFS,其具有削边凸缘、桩式29G薄管注射针,含有0.4mg硅油,并且覆盖有BD260刚性针罩(目录号47363119)。

f.长期稳定性研究

执行两个长期稳定性研究以验证根据筛选研究所做的决定。1号稳定性研究调研PFS和小瓶中的海藻糖和精氨酸/海藻糖配制品的长期稳定性。另外,进行PFS比较,这在此处不进行论述。针对1号研究中检验的配置起始2号稳定性研究以提供来自另一批材料的数据,并且还调研NaCl/海藻糖配制品区间以及PFS和小瓶中从1/2mL至1mL的填充体积的影响。

i.1号稳定性研究:抗-IL5R PFS稳定性说明

[0166] 在注射器中进行稳定性研究,使用小瓶作为对照。在每个主要容器中测试配制品区间的每个端点。所测试的注射器是平台Hypak™ for Biotech;这是一种1mL长的BD玻璃注射器,几乎不含钨,具有29G薄管注射针和0.4mg硅油。所使用的小瓶是3cc Schott小瓶,其具有West 4423/50塞子和密封件。

[0167] 所填充的配制品是以下:

- 2和20mg/mL抗-IL5R抗体,125mM精氨酸盐酸盐,50mM海藻糖,20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐,0.02% PS-20,pH 6;以及
- 20和100mg/mL抗-IL5R抗体,250mM海藻糖,20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐,0.02% PS-20,pH 6。

A.抗-IL5R预填充注射器的纯度说明

[0168] 对于任何配制品都不存在主要容器对单体损失的显著影响。观察到蛋白质浓度的一些影响,但是单体损失率是一如既往地低的。参见图12A。

B. 抗-IL5R预填充注射器的粒子分析说明

粒子形成被认为是抗-IL5R的主要降解途径,所以它被认为在确定适合的PFS中起到重大作用。通过HIAC的亚可见性粒子测量显示PFS中粒子数目的增加,这可能归因于硅油液滴(参见,图12B和12C)。然而,对于所有配置,总粒子计数仍然远低于USP限值,即6000个>10 μ m的粒子/mL以及600个>25 μ m的粒子/mL。MFI用作正交法并且示出类似的结果,尽管在容器之间观察到较少的差异,因为在MFI软件中可以将硅油液滴从结果中滤除。

ii. 在5°C下在Hypak™ for Biotech注射器中的稳定性的概述

[0169] 表1示出可供用于在5°C下在Hypak™ for Biotech注射器中长达16个月(精氨酸配制品)和24个月(海藻糖配制品)的抗-IL5R的稳定性数据(1号稳定性研究)的概述。检测到可视粒子,这导致PS-20浓度从0.02%降低至0.006%。未鉴别到其他高风险,但亚可见性粒子计数是可变的。

表1

测定		所有测试时间点的结果的范围			
		2 mg/mL Arg	20 mg/mL Arg	20 mg/mL Tre	100 mg/mL Tre
外观(可见粒子, 最坏观察结果)		< STD 1	= STD 4	= STD 2	< STD 3
HIAC (粒子/mL)	> 10 μ m	< 590	< 3,000	< 1,800	< 2,000
	> 25 μ m	< 30	< 20	< 30	< 60
MFI (粒子/mL)	> 10 μ m	< 110	< 2,200	< 1,400	< 1,700
	> 25 μ m	< 50	< 100	< 60	< 480*
SEC (单体损失%/年)		0%	0.1%	0.1%	0.2%
RP (片段%)		$\leq 2.0\%$	$\leq 1.8\%$	$\leq 1.9\%$	$\leq 1.9\%$
通过英斯特朗拉压强度试验仪测得的功能力(松脱力和下滑力)		< 6N	< 7N	< 7N	< 12N
生物测定(效能%)		93% - 116%	92% - 103%	95% - 111%	88% - 99%
生物分析器	还原型	与参考标准一致			
	非还原型	与参考标准一致			
cIEF		与参考标准一致			

在5°C下在Hypak for Biotech注射器中持续16个月的多种配制品中的抗-IL5R的稳定性概述。外观结果包括粒子,其通过减少PS-20浓度(在单独的报告中涉及)得以缓解。亚可见性粒子结果是可变的,但是没有观察到趋势。所有其他结果在稳定产品的预期之

内。*

iii.2号稳定性研究

[0170] 2号稳定性研究是在预填充的注射器和小瓶中的相同稳定性研究,其被设计来决定低剂量配制品和填充体积,以及验证安慰剂稳定性。

[0171] 先前用于选择PFS的稳定性研究仅具有1mL的填充体积。然而,较低填充体积存在多种潜在益处,包括减少的注射疼痛、缩小的皮肤下肿块、更快速的给药以及从给药位点的泄露。

[0172] 用于1mL填充选项的区间策略是两种蛋白质浓度区间,即用于低剂量的2-20g/L,以及用于高剂量的20-100g/L。用于1/2mL填充的相同区间覆盖1-50mg的剂量范围,并且对于50-100mg剂量还要求从1/2mL至1mL的100g/L填充体积区间。为清楚起见,这个结果被图13中。在两种情况下,在基于精氨酸和NaCl的配制品中研究最低剂量区间。

[0173] 所填充的药品和安慰剂如下:

- 所有溶液:20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐,0.02% PS-20,pH 6.0
- 2Arg/20Arg:2或20g/L抗-IL5R,125mM精氨酸盐酸盐,50mM海藻糖
- 2NaCl/20NaCl:2或20g/L抗-IL5R,130mM NaCl,50mM海藻糖
- 20Tre/100Tre:20或100g/L抗-IL5R,250mM海藻糖
- Arg安慰剂:125mM精氨酸盐酸盐,50mM海藻糖
- NaCl安慰剂:130mM NaCl,50mM海藻糖
- Tre安慰剂:250mM海藻糖

[0174] 对于任何小瓶配置或PFS中的安慰剂未将1mL填充体积配置放置在测试中是为了减小研究的总大小,这是因为1/2mL填充体积由于更高的表面积-体积比而最可能是最坏情况配置。

[0175] 运送所有这些样品,并且然后置于5°C、25°C和40°C的稳定性研究中。在稳定性研究过程中将小瓶倒置储存以使与塞子的接触最小化。当在以往研究中发现可见粒子时,针对此稳定性研究已收集了6周数据。另外,在此研究的第3个月和第6个月时间点之间在NaCl配制品中观察到粒子(数据未示出),由此导致NaCl配制品被排除,而精氨酸配制品得到支持。

[0176] 缓解可见粒子形成所需的额外配制工作在以下实例中描述并且导致聚山梨醇酯-20浓度从0.02%降低至0.006%。对于此配制品未观察到其他稳定性问题,并且未观察到容器或填充体积的显著影响。一年稳定性数据概述于图14中,包括可见粒子分数、经SEC测定的纯度损失、经HPLC测定的粒子计数以及效能(并未在所有时间点测试所有配置)。

实例1的结论

[0177] 使用不同应力方法实施配制品筛选,包括冷冻/融化、搅动、硅油掺入以及加速稳定性。使用长期稳定性验证筛选研究的结果。2b期海藻糖配制品对于具有增加的聚山梨醇酯浓度的高浓度液体来说是成功的,但当扩展到低浓度液体时显示出不稳定性,主要是因为亚可见性粒子的形成。通过利用精氨酸盐酸盐或氯化钠增加离子强度来对低浓度范围进行重新配制,产生稳定的溶液。

[0178] 为了覆盖宽的可能剂量范围(2-100mg),三种潜在配制品区间如下:

- 2-20g/L,130mM精氨酸盐酸盐,50mM海藻糖二水合物,20mM组氨酸/组氨酸盐酸

盐,0.02% PS-20,pH 6.0;

- 2-20g/L,130mM氯化钠,50mM海藻糖二水合物,20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐,0.02% PS-20,pH 6.0;以及
- 20-100g/L,250mM海藻糖二水合物,20mM组氨酸/组氨酸盐酸盐,0.02% PS-20,pH 6.0。

[0179] 长达24个月的长期稳定性指示,三种配制品在2-8℃下就搅动而言是稳定的,对硅油相对不敏感,并且与小瓶和PFS相容。此外,在升高温度下观察到极微的降解。连续观察两种低浓度配制品,由于相比精氨酸选项增加的可见粒子形成,NaCl选项被淘汰,从而产生两种配制品区间。数据指示,对于1mL或1/2mL填充体积,预填充的注射器是可接受的主要容器。可见粒子形成仍然是这些配制品的问题,该问题如在以下实例中解决。

实例2-抗-IL5R配制品中的粒子形成

[0180] 在之前的长期稳定性研究中,在小瓶和PFS中的水性抗-IL5R配制品中检测到可见粒子,其中第一次检测发生在第6个月时间点(数据未示出)。进行研究以缓解长时间储存的包含聚山梨醇酯20(PS-20)的抗-IL5R抗体配制品中的可见粒子形成。以下实例描述了包含不同PS-20和蛋白质浓度的配制品的长期研究,以验证PS-20浓度在缓解粒子形成中的重要性。此研究产生了可接受的0.002%-0.01% PS-20范围。

缩写和定义

缩写	定义	缩写	定义
cIEF	毛细管等电聚焦	MFI	微流成像
DLS	动态光散射	PS	聚山梨醇酯
DP	药品	PFS	预填充的注射器
DS	药品	RP	反相色谱法
FC	流式细胞术	SEC	尺寸排阻色谱法
缩写	定义		
Arg	精氨酸配制品: 130 mM精氨酸盐酸盐, 50 mM海藻糖二水合物, 20 mM组氨酸/组氨酸盐酸盐, pH 6.0, 不同PS-20		
Tre	海藻糖配制品: 250 mM海藻糖二水合物, 20 mM组氨酸/组氨酸盐酸盐, pH 6.0, 不同PS-20		

初步研究

[0181] 在实例1所描述的长期稳定性研究中检测粒子形成。然而,粒子是极度小的并且更像云状物而不是单独粒子出现。为了看见粒子,接近光源检查样品。因为这些粒子不同于小瓶和PFS标准组中的粒子,所以在每个时间点将这些样品与彼此以及标准进行比较。

[0182] 最初在第6个月时间点在具有0.02% PS-20的100g/L Tre小瓶中检测粒子。

[0183] 在(1)小瓶和(2)预填充的注射器(PFS)中比较6个月长和11个月长样品。两种研究都显示,小瓶中的粒子形成比PFS中的更严重,但当时PFS标准不可用所以无法进行多个比较。将PFS中的样品倾析并注射到小瓶中以便进行外观测试。在这些小瓶中未观察到更多的粒子,这验证了差异并非程长效应。在海藻糖配制品中,这种小瓶-PFS差异比精氨酸配制品中的更显著。

[0184] 对运送后的小瓶和PFS中的100g/L Tre配制品中的不同PS-20浓度(0、0.01%、0.02%和0.03%)进行比较。在第11个月时间点,0和0.01%PS-20的较低PS-20浓度完全不含粒子。在0.02%和0.03% PS-20的小瓶和PFS中,粒子都是可见的。在第20个月,0和0.01% PS-20PFS以及0% PS-20小瓶仍然是澄清的,但是0.01%小瓶具有非常小量的卷状粒子。

[0185] 在定向研究中,当保持接近光源时,在100g/L Tre,0.02% PS-20的小瓶和PFS中粒子是清晰可见的,在一些情况中早在第3-4个月就这样了。在Tre区间的低浓度(20g/L)端点,粒子形成慢得多,并且仅在第21个月在小瓶中观察到。在任何PS-20浓度的20g/L Tre PFS中都未观察到粒子,数据长达21个月可用。精氨酸配制品中的粒子形成在某种程度上是较缓慢的,其中在0.02% PS-20情况下在第6-9个月,在区间的高浓度(20g/L)端点观察到粒子。在任一容器中在任何PS-20浓度的2g/L Arg配制品中都未观察到粒子,数据长达16个月可用。

[0186] 加速和应力温度研究未提供对粒子形成的启示。在40°C下,在3个月的测试周期内完全没有粒子形成。在25°C下,与5°C相比粒子形成是类似的或稍微减少。

[0187] 此数据指示,区间的高蛋白质浓度端点出现可见粒子的风险高,而低端点从长远来看是潜在有风险的。据调研,减小PS-20浓度缓解粒子形成。主要容器仍然是平台PFS,但使用小瓶作为早期粒子形成读数据,因为小瓶中的粒子形成更严重并且更容易看出。

不同PS-20浓度的调研

[0188] 设计扩展的稳定性研究以调研不同配制品、不同PS-20浓度以及不同抗体浓度中的粒子形成。将所有样品填充到PFS和小瓶中,两次运送到单独的位置以模拟配送过程,并放置在5°C稳定性研究中。每月一次执行外观测试。另外在时间零点、第3个月、第6个月和第9个月对样品子组进行SEC、HIAC和MFI测试。图15示出制备作为此研究的一部分的样品。

[0189] 如图16中针对时间零点的PFS的MFI数据所示,在无任何PS-20的情况下,在运送后亚可见性粒子形成。最低PS-20测试水平(0.002%)或更多足以使得免受运送应力。另外,经验证,在使用尺度缩小模型的槽中,最低PS-20浓度(0.002%)足以使得免受DS运送应力(数据未示出)。

[0190] 粒子的外观结果显示,在高于0.01% PS-20的小瓶中存在显著的粒子形成,而在0.02% PS-20的PFS中两种配制品区间均存在一些粒子,且在两种区间的最低浓度端点观察到更少的粒子。参见图17。对于100g/L Tre,第一次观察到粒子是在第3个月,20g/L Arg是在第6个月。附图示出在最晚时间点即第9个月时蛋白质浓度和PS-20浓度对粒子形成的影响。应当指出,粒子形成观察均是接近于光源进行的。

[0191] 外观数据对PS-20浓度设定了0.01%的上限,而亚可见性粒子计数设定了0.002%的下限(根据可用数据,实际限值可能更低)。将此可接受范围的中点(0.006%)设定为新的PS-20浓度。

[0192] 对于区间端点样品PFS的总稳定性得到证实,包括2g/L Arg和20g/L Arg的长达9个月的数据,以及20g/L Tre和100g/L Tre的长达18个月的数据。测试以下测定:

A. 0.002、0.006和0.01% PS-20:外观、HIAC、MFI以及SEC。

B. 仅仅0.006% PS-20:英斯特朗拉压强度试验仪、生物测定、生物分析器、RP以及cIEF。

所有数据均指示,新的配制品是稳定且低风险的。数据概述示于表2中。

表2

测定		所有测试样品的结果
外观 (可见粒子, 最坏观察结果)		< Std 2
HIAC (粒子/mL)	> 10 μm	< 640 / mL
	> 25 μm	< 30 / mL
MFI (粒子/mL)	> 10 μm	< 610 / mL
	> 25 μm	< 60 / mL
SEC (单体损失%/年)		0.0 - 0.4%/年
RP (片段%)		$\leq 1.8\%$
通过英斯特朗拉压强度试验仪测得的功能力	松脱力	$\leq 8.5 \text{ N}$
	下滑力	$\leq 11.8 \text{ N}$
生物测定 (效能%)		86% – 109%
生物分析器	还原型	与参考标准一致
	非还原型	与参考标准一致
cIEF		与参考标准一致

[0193] 得自实例2的数据指示,PS-20浓度减少至0.006%缓解了粒子形成并且产生了持续至少9个月(精氨酸配制品)或18个月(海藻糖配制品)稳定的抗体配制品产品,没有指示即将到来的损坏的迹象。

实例3

用于粒子检测的正交法

[0194] 粒子检测和定量的主要方法是如实例2中所例证的通过目视检查进行的外观测试。出于多种原因,目视检查是可变的。总的来说,由于人类感官的固有可变性,目视检查是变化的,从而使得不同个体产生不同结果。由于这些粒子非常小的尺寸,所以它们的能见度高度取决于光量,并且它们不同于小瓶和PFS的标准。这些因素增加了时间点之间以及分析员之间的结果可变性。

[0195] 调研正交法以验证外观结果。海藻糖配制品中形成的粒子太小以致于不能单独看见,所以调研了亚可见性粒子方法。通过DLS、FC、HIAC以及MFI比较来自第2周、以及第2个月、第5个月和第9个月的不同批次的最坏情况样品(100g/L,Tre,0.02% PS-20,小瓶)。

[0196] 在100g/L下进行DLS,导致对如预期的主峰和所有峰大小的不可靠性的低估。检测2个月、5个月和9个月长的样品的大峰,其大小为1.4-2.2 μm 。即使所报告的大小不是可靠的,但峰的存在与可见粒子相关。然而,报告的粒子大小和粒子峰的强度都不与目视外观结果相关。

[0197] 对于所有样品,HIAC结果类似;未检测出粒子。

[0198] 对于所有样品,>10 μm 和>25 μm 的粒子的MFI计数是类似的。然而,>1 μm 和>2 μm 的粒子的MFI计数以及FC计数趋向目视外观结果并且随着样品年龄增加。这些样品的结果显示于图18中。

[0199] 进一步的实验指示,通过MFI测定的>1 μm 的粒子提供了相比更大的粒子或FC计数

(数据未示出)更可靠的与目视外观的趋势。

[0200] 对20g/L Arg样品进行类似的实验,显示出可见粒子,但这些正交法中没有一个是成功检测到这些粒子。精氨酸配制品中形成的粒子显得比海藻糖中形成的粒子更大并且作为单独粒子被看见,这可能是它们未被亚可见性粒子方法检测到的原因。

[0201] 在实例2中使用MFI验证PS-20浓度的影响。对于实例2的第9个月时间点的MFI与外观分数的比较显示于图19中。连同额外的测量(未示出),该比较指示当MFI计数超过大约100,000个粒子(>1 μ m)/mL时粒子可见。MFI结果对以下结论提供了额外的支持:即粒子形成通过0.002%-0.01%的PS-20得到缓解,尤其是在PFS中。小瓶数据被视为最坏情况,并且也在0.006% PS-20的目标浓度下稳定。

实例4

稳定性研究

[0202] 进行额外的稳定性研究以调研具有新的目标PS-20浓度(0.006%)的先前研究的所有配置,并且以便添加这些配制品是稳定的可信度。区间包括蛋白质浓度区间以及填充体积区间,并且图示在图20中。

[0203] 填充体积区间的增加增大了海藻糖配制品所覆盖的剂量范围。这些额外的配置降低了与精氨酸配制品相关联的风险,该精氨酸配制品更具风险是因为粒子形成更加缓慢且无法通过正交法检测到。此稳定性研究中包括的样品是:

- 0、2和20g/L, 1mL填充,精氨酸配制品,0.006% PS-20;
- 0和2g/L, 0.3mL填充,精氨酸配制品,0.006% PS-20;
- 0、20、50和100g/L, 1mL填充,海藻糖配制品,0.006% PS-20;以及
- 0和20g/L, 0.3mL填充,海藻糖配制品,0.006% PS-20。

[0204] 将样品两次运送至场外位置以模拟配送过程并且然后放置在5°C、25°C以及40°C稳定性研究中。

[0205] 对于精氨酸配制品收集九个月数据,并且对于海藻糖配制品已经收集十二个月数据。这些结果与历史数据一致,并且直到这个时间点在这些样品中未观察到粒子。另外,随时间的推移尚未观察到亚可见性粒子的趋势,尽管出现一些适度高的超偏值。所有分析的结果范围显示于表3中。

表3

测定		所有测试样品的结果的范围		
		5°C (9个月Arg配制品或12个月Tre配制品)	25°C (6个月)	40°C (1个月)
外观 (可见粒子, 最坏观察结果)		= Std 0	< Std 1	= Std 0
HIAC (粒子/mL)	> 10 μ m	< 2,400 / mL	< 1,900 / mL	< 1,900 / mL
	> 25 μ m	< 110 / mL	< 110 [†] / mL	< 100 / mL
MFI (粒子/mL)	> 10 μ m	< 100 / mL	< 700 / mL	< 50 / mL
	> 25 μ m	< 50 / mL	< 40 / mL	< 10 / mL
SEC (单体损失)		0 - 0.3%/年	0.1 - 0.6%/月	2.2 - 3.5%/月

RP (片段%)		≤ 1.7%	≤ 3.6%	≤ 4.4%
通过英斯特朗拉压强度试验仪测得的功能力 (松脱力和下滑力)		≤ 11.7 N	未测试	未测试
生物测定 (效能%)		84% – 122%	83% – 113%	83% – 110%
生物分析器	还原型	与参考标准一致		
	非还原型	与参考标准一致		
cIEF		与参考标准一致		与第1个月的参考标准不一致

†44个测量值中43个落入此范围,但还测量到一个347个粒子/mL的超偏值。

[0206] 该数据支持此配制品区间被建议用于全剂量范围。海藻糖区间比精氨酸区间的风险低,并且被建议用于低到6mg的剂量。

实例2-4的结论

[0207] 先前长期稳定性研究中的粒子观察结果引起对可以改变以改善稳定性的配制品变量的调研。测试并分析关键变量,即蛋白质浓度和聚山梨醇酯浓度。基于以上呈现的数据,从0.002%至0.01%的可允许聚山梨醇酯范围和0.006%的目标被确定为用于抗-IL5R抗体配制品的最优配方。这种观察结果得到18个月和12个月可用数据的两个稳定性研究的支持,主要是目视外观测试的支持。

[0208] 还观察到,通过在20mg/mL下使用0.3-1.0mL的体积区间,可以使用在6-20mg范围内的海藻糖配制品而不是精氨酸配制品。发现,由于更大的数据集和更好的检测,海藻糖配制品比精氨酸配制品更可预测。

实例5

[0209] 进行集中于减少宿主细胞蛋白 (HCP) 的额外纯化发展以便确定HCP对粒子形成的影响。如图21所概述地纯化抗-IL5R。

[0210] 对蛋白A柱的通流的2D凝胶分析指示,存在若干种蛋白种类。参见,例如图22。如通过反相质谱法 (RP-MS) 所测定的,主要杂质包括约60%的Fab片段、约5%的轻链 (LC) 和片段、以及约40%的非抗-IL5R相关宿主细胞蛋白 (HCP)。非抗-IL5R相关HCP包括谷胱甘肽S-转移酶 (GST)、果糖二磷酸醛缩酶、以及转二巯丙酮基酶。

[0211] 使蛋白A柱的通流进一步通过蛋白L柱以进一步将 (1) Fab片段与 (2) 非抗-IL5R HCP分离。据发现,非抗-IL5R HCP中的一些材料造成粒子形成,并且不是Fab片段 (数据未示出)。

[0212] 为了确定是哪种主要HCP造成粒子形成,首先调研GST。通过以下步骤调研GST对粒子形成的作用: (1) 选择性去除GST以确定对粒子形成的影响; (2) 分析粒子小粒以确定小粒中GST的存在;以及 (3) 将GST添加至抗-IL5R配制品中以确定对粒子形成的影响。

[0213] 使用由谷胱甘肽-交联琼脂糖凝胶合物制成的亲和基质特异性去除GST的初步证据表明,去除GST使得粒子形成减少 (数据未示出)。对由蛋白A通流形成的小粒的分析指示小粒中存在高浓度的GST (数据未示出)。

[0214] 将GST添加到缺乏粒子的纯化抗-IL5R配制品中以确定GST对粒子配制品的影响。GST获自商业来源(Prospec)。将GST添加到包含50mg/mL抗-IL5R、20mM组氨酸盐酸盐缓冲剂、9% (w/v) 海藻糖、0.02% PS-20, pH 6.0的配制品中,产生3.8µg/mg和7.6µg/mg的GST浓度。将样品在38°C-42°C下孵育。通过将样品放置在灯箱下来观察粒子。观察粒子形成所需的孵育时间取决于存在的GST的水平。对于3.8µg/mg和7.6µg/mg GST掺加的样品两者,在38°C-42°C下在24小时后观察到粒子(数据未示出)。

[0215] 这些结果表明,向抗-IL5R配制品中掺加GST导致抗-IL5R配制品中粒子形成。

实例6

[0216] 调研通过不同手段纯化的不同抗-IL5R配制品中的GST活性。作为预备,使用GST活性测定(生物视野)来确定GST浓度以形成标准曲线。GST催化谷胱甘肽(GSH)的硫醇基形成至亲电子化合物诸如1-氯-2,4-二硝基苯(CDNB)以便形成GS-DNB轭合物,该轭合物在340nm下检测到。因此,在340nm处的吸收增加与GST活性成正比。使用此测定,针对使用不同程序纯化的不同抗-IL5R配制品(样品A-J)测定GST浓度。注意到GST浓度与粒子形成之间的相关性。结果被提供于表4中。

表4

样品	GST浓度	粒子描述
A	188.4	大量的粒子(最多的)
B	0.422	几乎不含粒子*
C	2.074	几乎不含粒子*
D	1930.5	大量的粒子
E	1950.6	大量的粒子
F	1774.2	大量的粒子
G	40.6	粒子形成
H	1.073	一些粒子
I	<LL0Q	不含粒子
J	5.416	粒子形成

*一些粒子,但不多LL0Q=定量下限。

[0217] 此证据证实GST的存在与粒子形成有相互关系。

实例7

[0218] 调研不同纯化柱以鉴别出最有效的减少抗-IL5R配制品中GST浓度的方法。参见表5。如实例7中所概述的测定GST浓度。

表5

描述	GST浓度(µg/ml)
CM产品	5.935
HA产品	1.255
MabSelect Sure洗脱产品	<LL0Q
CaptoAdhere产品	<LL0Q
CEX产品*	9.228
CEX产品*	21.081

*测定两个单独批次的抗-IL5R抗体的GST浓度。

[0219] 表5表明,蛋白A柱 (MabSelect Sure) 和混合模式色谱法柱 (CaptoAdhere) 两者均成功地在抗-IL5R抗体纯化过程中将GST浓度降低至可检测水平以下。

实例8

[0220] 调研其他抗体制品中GST的存在。还调研这些抗体制品中粒子的存在。结果连同评价呈现在表6中。

表6

抗体配制品	是否检测到活性 GST?	是否趋向粒子形成?	评价
抗-IL5R	是	是	不适用
A	是	不适用	粒子数据不足以确定趋势
B	否 (除了 1 个样品)	否	表明对于此抗体 GST 可能不是粒子形成的原因。
C	是	不适用	活性 GST, 但无粒子形成
D	是	不适用	粒子数据不足以确定趋势

[0221] 在此说明的所有各个实施方案或任选项可以在任一或所有变体中组合。虽然本发明参考其一些实施例已经进行了具体示出和描述,但本领域普通技术人员应当理解的是,它们仅借助于实例来呈现,并不具有限制性,并且可以在不背离本发明的精神和范围的情况下在其中进行形式和细节上的各种改变。因此,本发明的宽度和范围应当不限于以上描述的示例性实施例中的任一个,而应当仅根据以下权利要求书和它们的等效物来限定。

[0222] 将在此引用的所有文件 (包括期刊文章或摘要、公开的或相应的美国或国外专利申请书、颁布或国外专利、或任何其他文献) 各自通过引用 (包括在引用的文献中呈现的所有数据、表、图和正文) 而完整地结合于此。

SEQ ID NO: 1: 抗-IL5R的可变轻链

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGTSEDIINYLNWYQQKPGKAPKLLIYHTSRLQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYTLPTYTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 2: 抗-IL5R的轻链

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGTSEDIINYLNWYQQKPGKAPKLLIYHTSRLQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGYTLPTYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 3: 抗-IL5R的可变重链

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVIHWVRQRPGQGLAWMGYINPYNDG
TKYNERFKGKVTITSDRSTSTVYMELSSLRSEDYAVYLCGREGIRYYGLLGDYWGQGT
LTVSS

SEQ ID NO: 4: 抗-IL5R的重链

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYVIHWVRQRPGQGLAWMGYINPYNDG
TKYNERFKGKVTITSDRSTSTVYMELSSLRSEDYAVYLCGREGIRYYGLLGDYWGQGT
LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPSSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 5: 抗-IL5R的VH CDR1

SYVIH

SEQ ID NO: 6: 抗-IL5R的VH CDR2

YINPYNDGTYNERFKG

SEQ ID NO: 7: 抗-IL5R的VH CDR3

EGIRYYGLLGDY

SEQ ID NO: 8: 抗-IL5R的VL CDR1

GTSEDIINYLN

SEQ ID NO: 9: 抗-IL5R的VL CDR2

HTSRLQS

SEQ ID NO: 10: 抗-IL5R的VL CDR3

QQGYTLPTY

图1

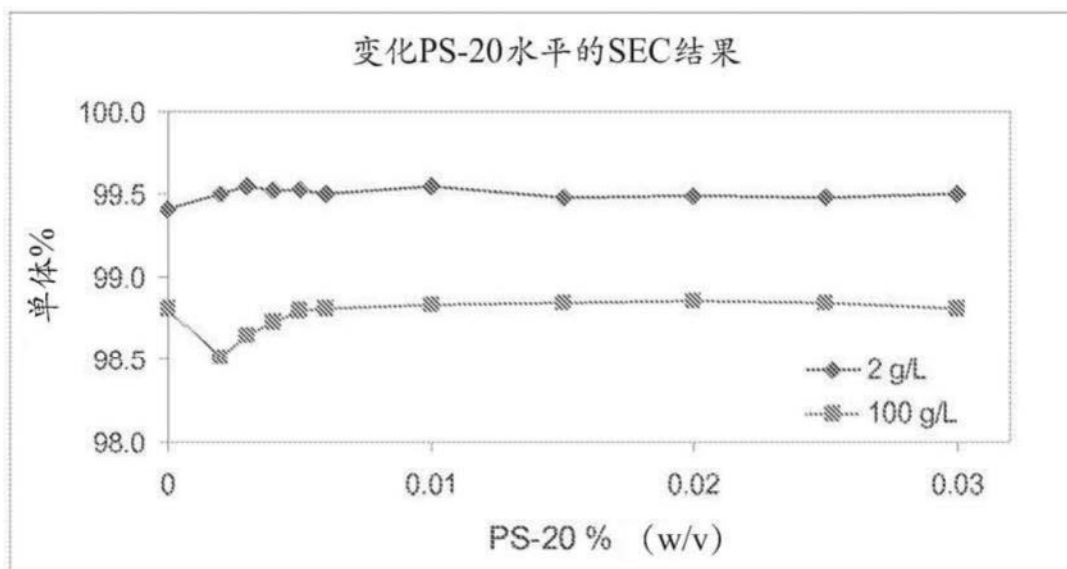


图2

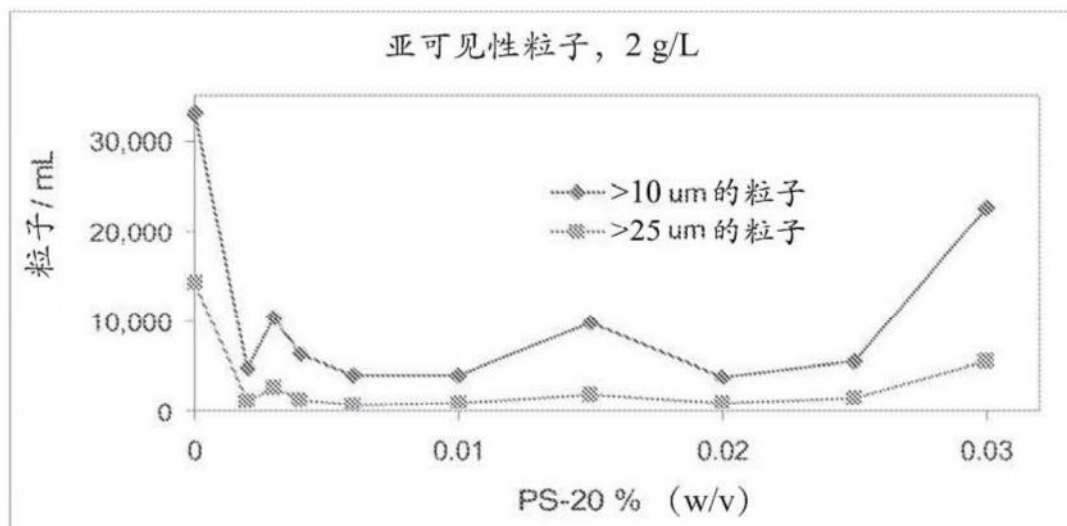


图3

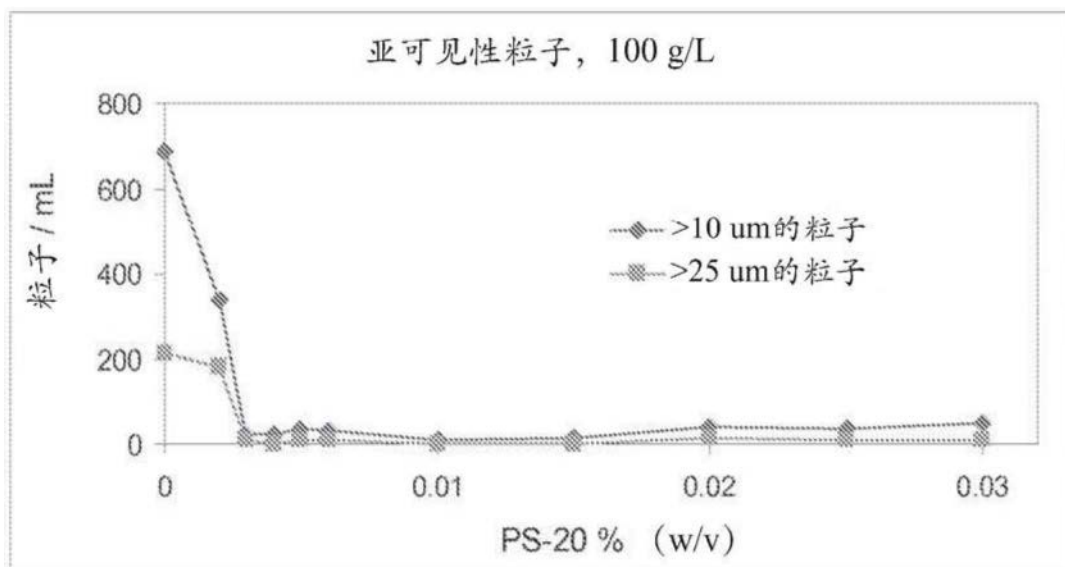


图4

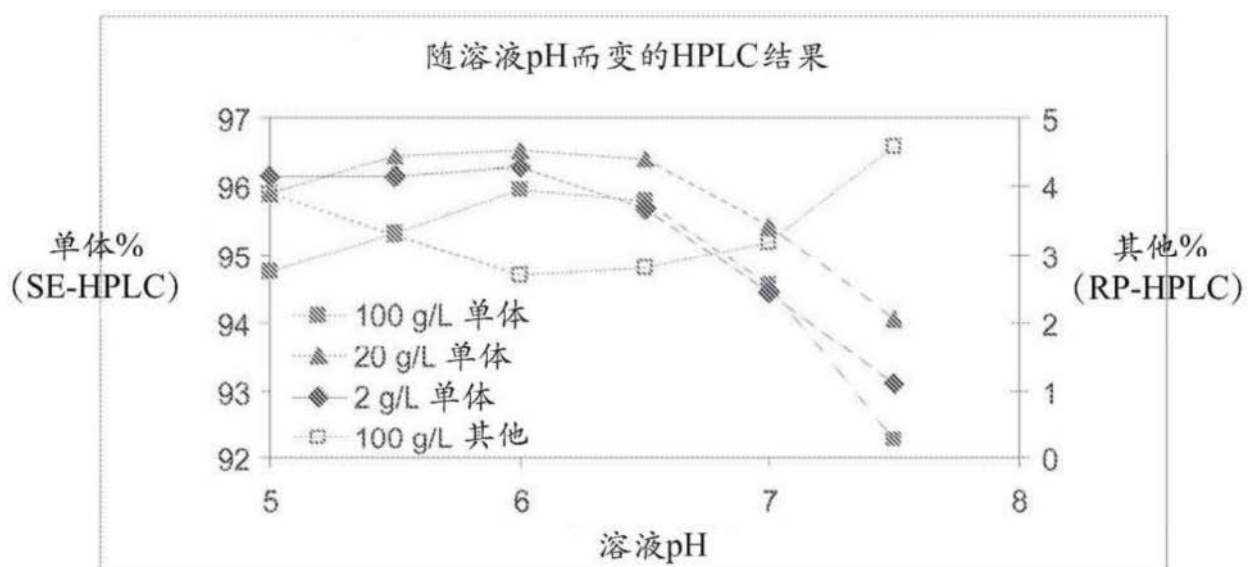


图5

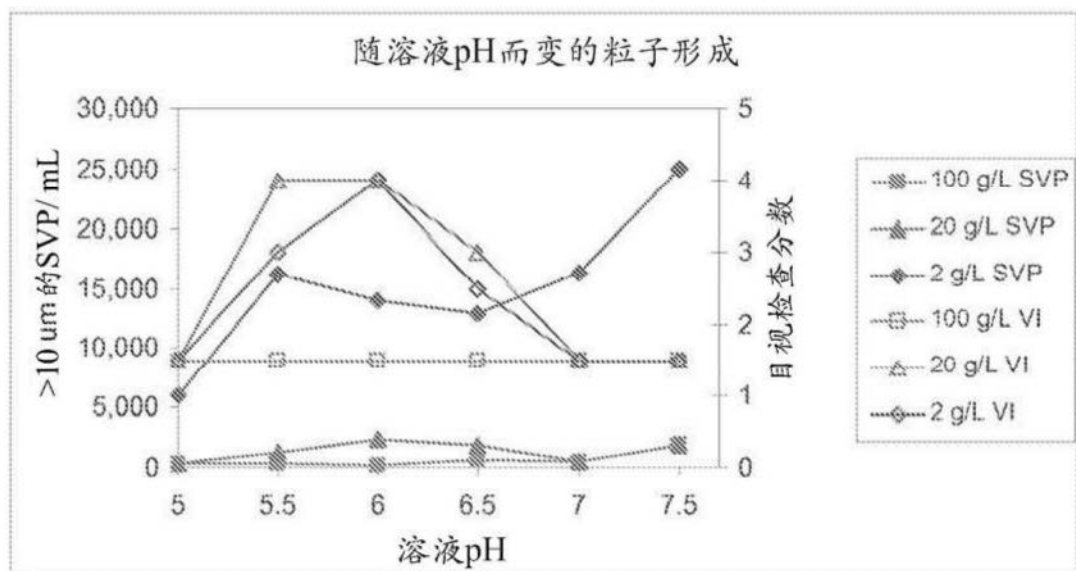


图6

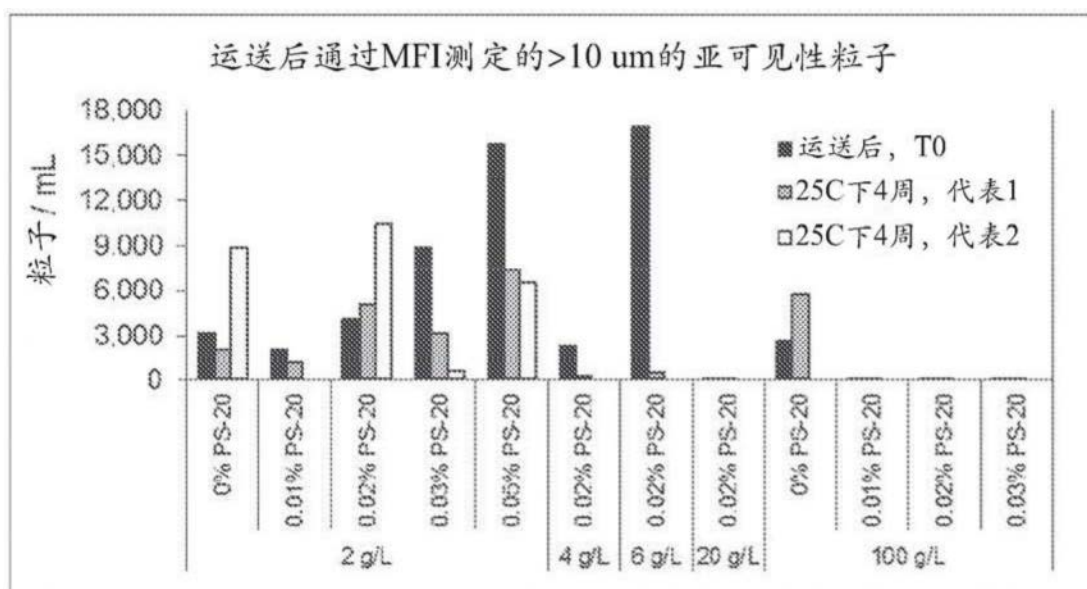


图7

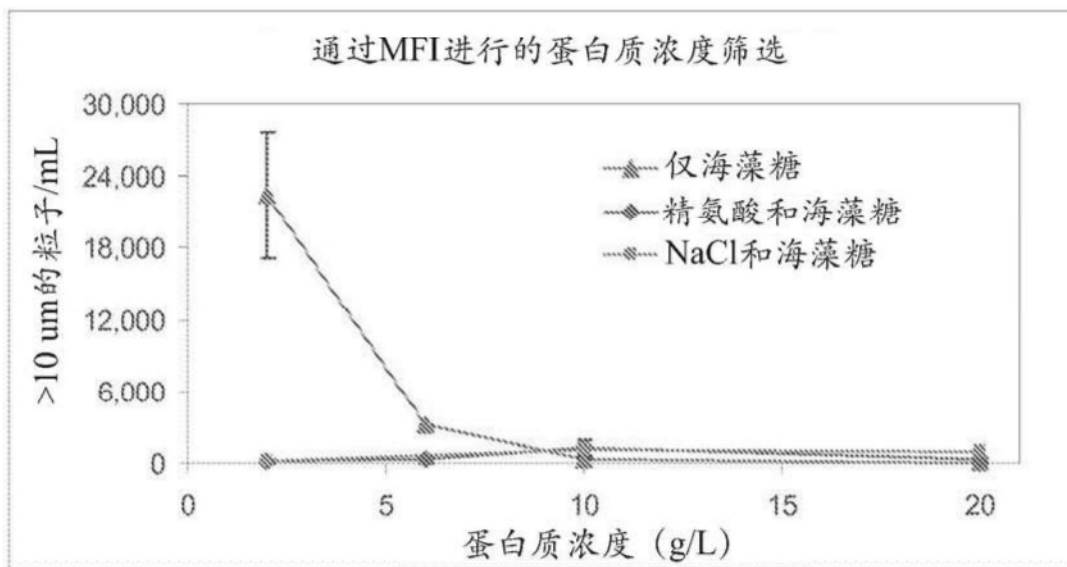


图8

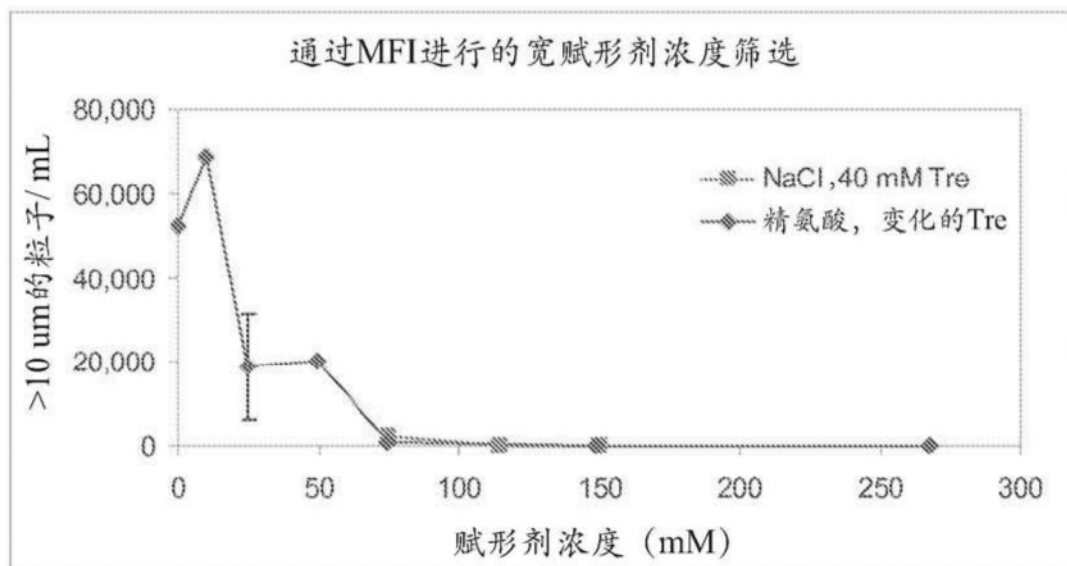


图9

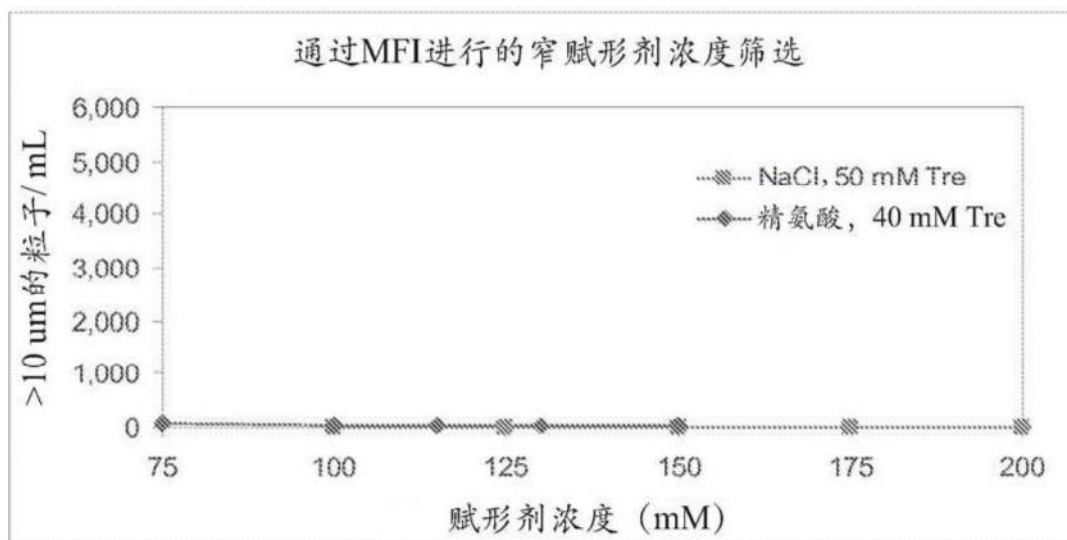


图10

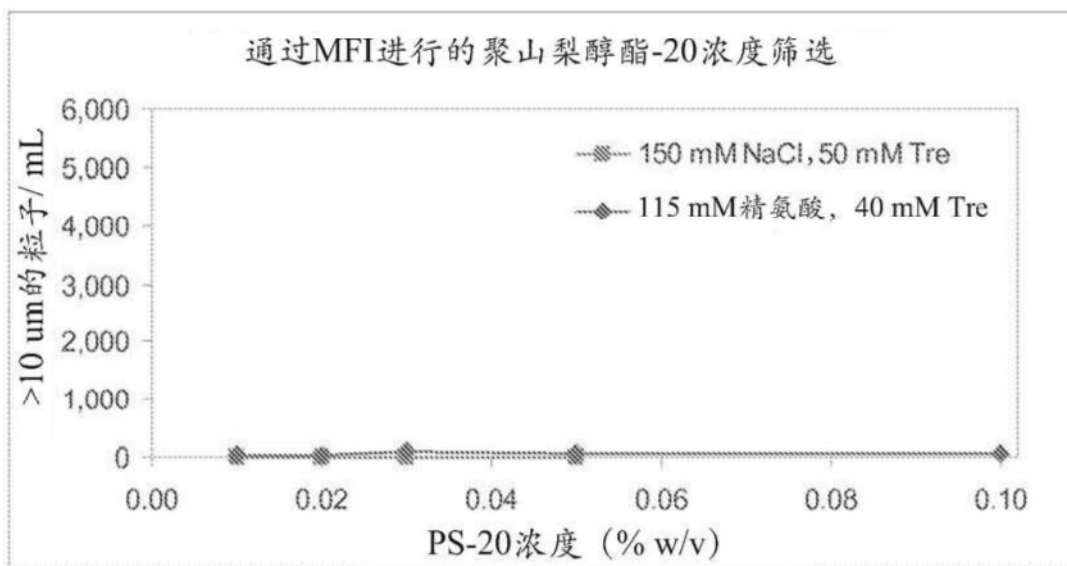


图11

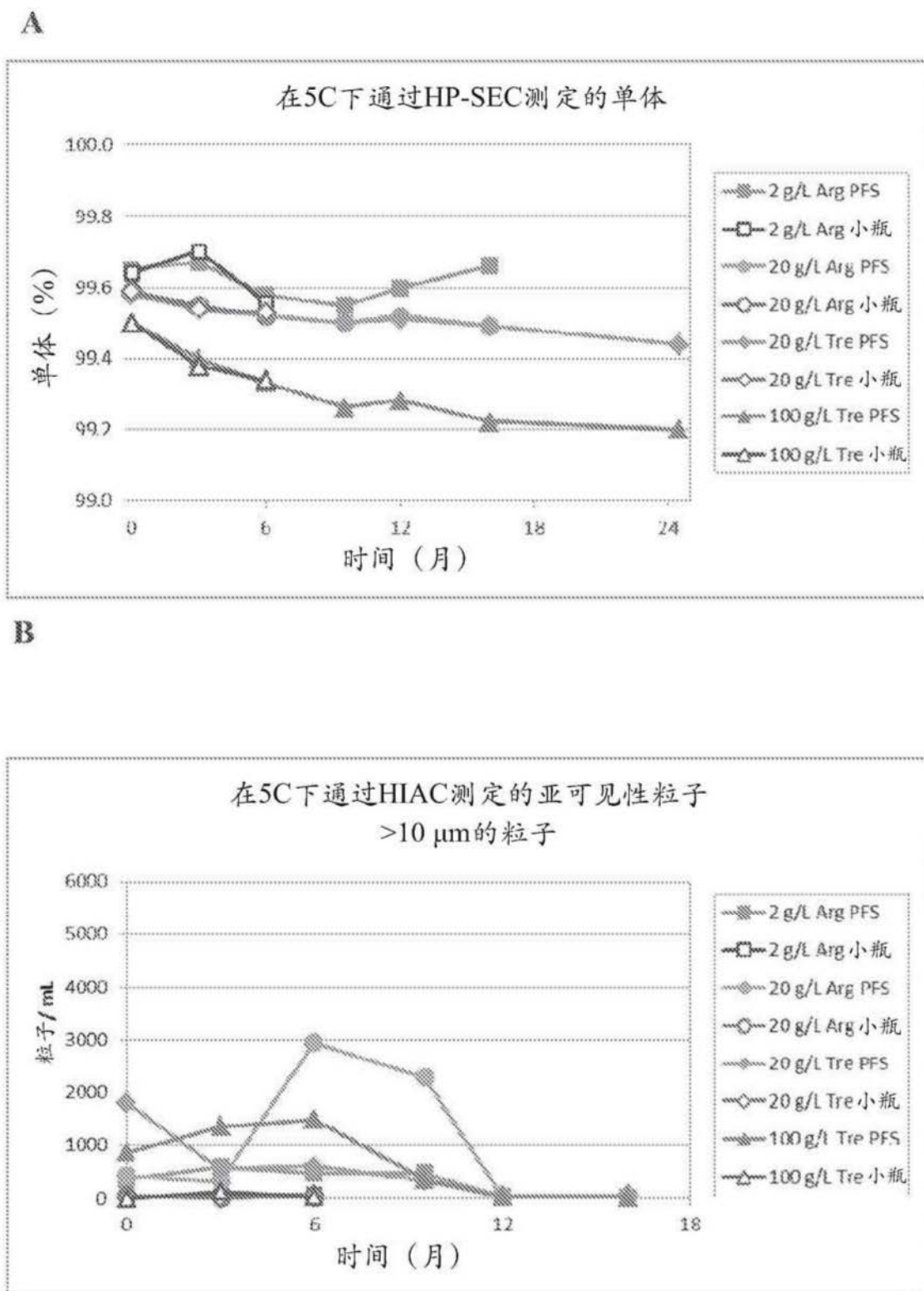


图12

C.

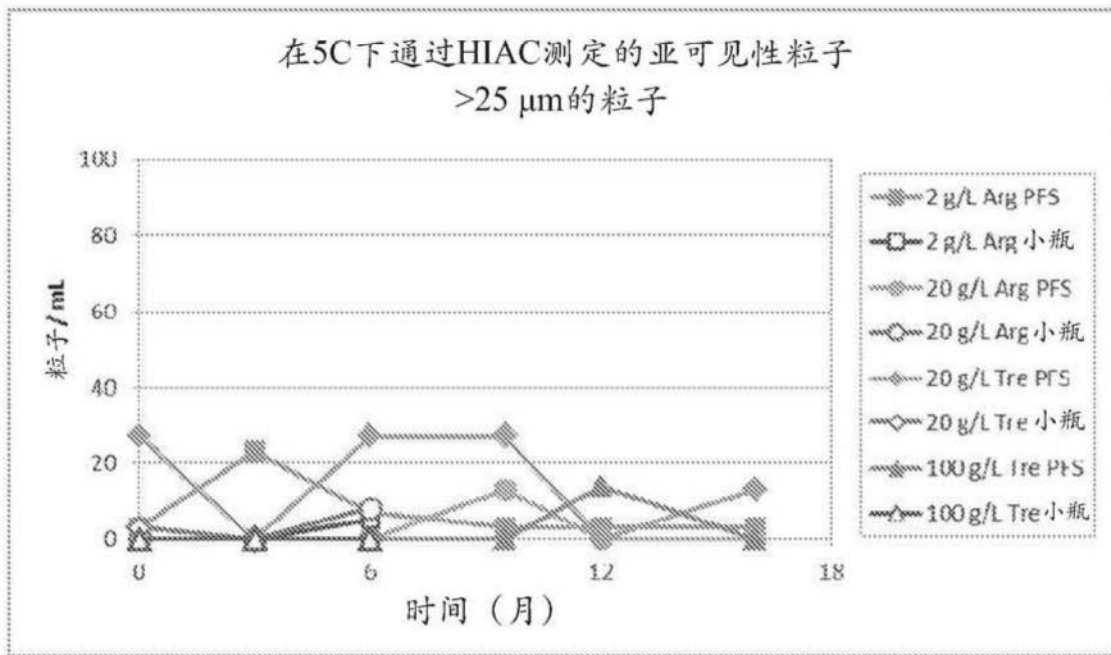


图12(续)

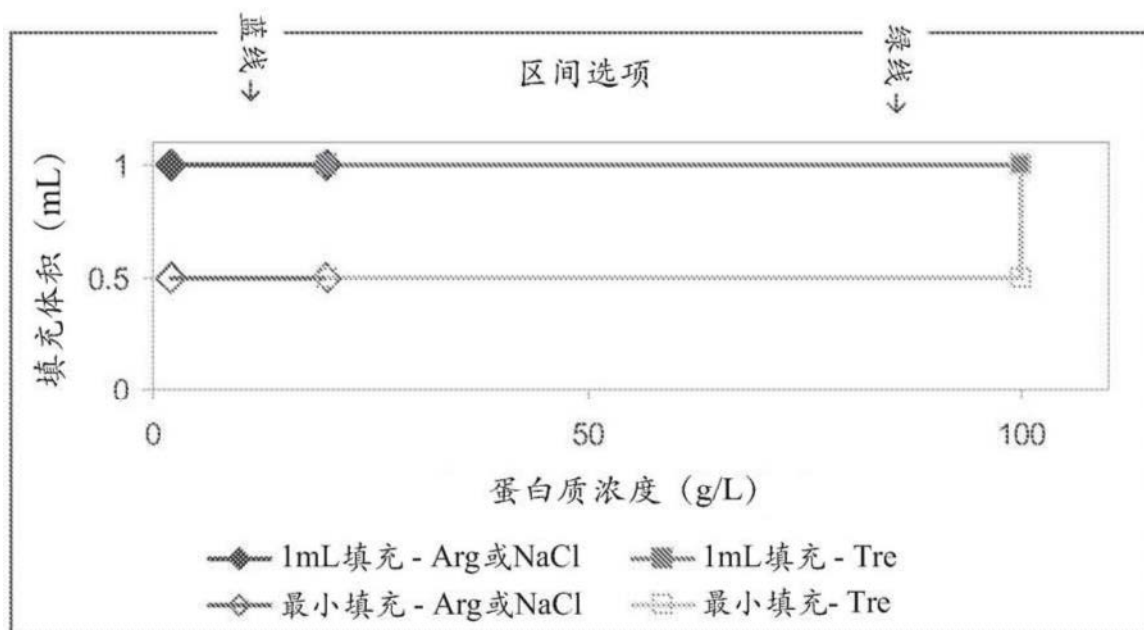


图13

配制品	蛋白质浓度和 填充配置	可见粒子 (最坏观察 结果)	通过SEC测定 的单体损失	通过HIAC测定 的亚可见性粒 子 (粒子/mL)		效能
				>10 μm	>25 μm	
130 mM精 氨酸, 50 mM海藻 糖, 20 mM组氨 酸, 0.02% PS-20, pH 6.0	2 g/L, 1 mL PFS	= STD 0	0.0%/年	<590	<20	>100%
	2 g/L, 1/2 mL PFS	= STD 0	0.0%/年	<680	<20	>100%
	2 g/L, 1/2 mL 小瓶	= STD 1	0.0%/年	<80	<10	>100%
	20 g/L, 1 mL PFS	< STD 4	0.0%/年	<2010*	<70	>97%
	20 g/L, 1/2 mL PFS	仅T0测试				
	20 g/L g, 1/2 mL 小瓶	= STD 1	0.1%/年			>100%
250 mM海 藻糖, 20 mM组氨 酸, 0.02% PS-20, pH 6.0	20 g/L, 1 mL PFS	= STD 1	0.0%/年	<540	<20	>91%
	20 g/L, 1/2 mL PFS	< STD 1	0.1%/年	<230	<10	>95%
	20 g/L, 1/2 mL 小瓶	= STD 2	0.5 %/年	<120	<20	>100%
	100 g/L, 1 mL PFS	< STD 3	0.2 %/年	<1000	<40	>92%
	100 g/L, 1/2 mL PFS	仅T0测试				
	100 g/L, 1/2 mL 小瓶	= STD 1	0.4 %/年	<100	<30	>99%

*一个超偏值为2010个粒子/mL。其他6个测量值<820个粒子/mL，包括迟于该超偏值测量的3个。

图14

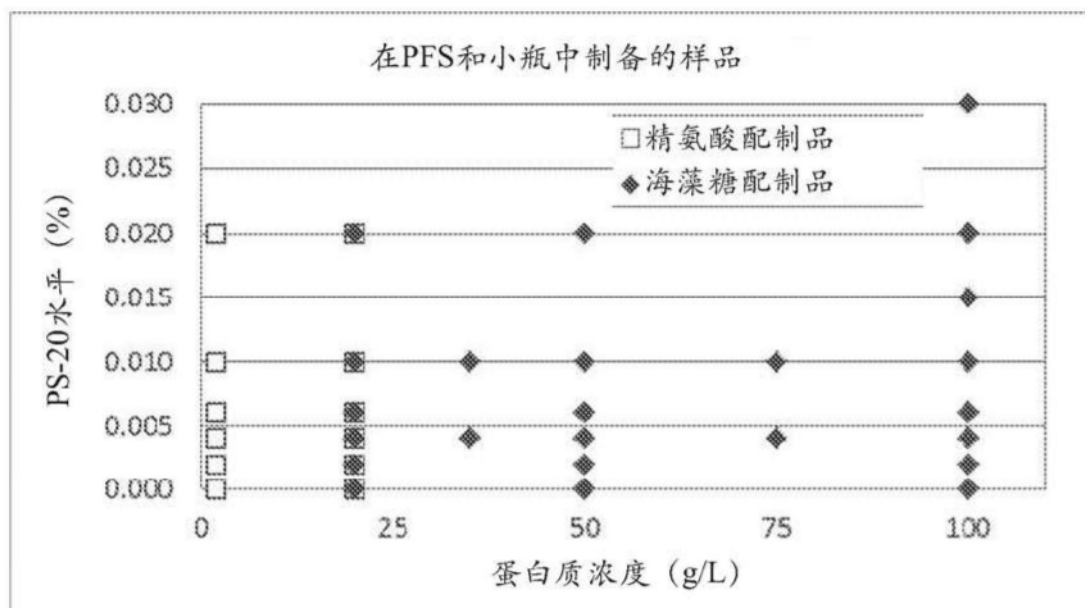


图15

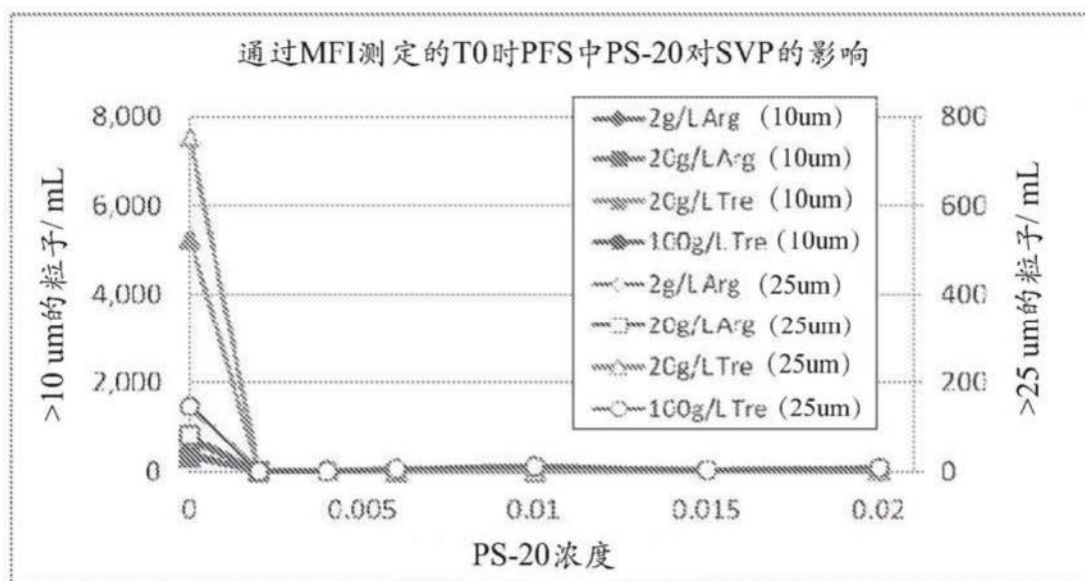


图16

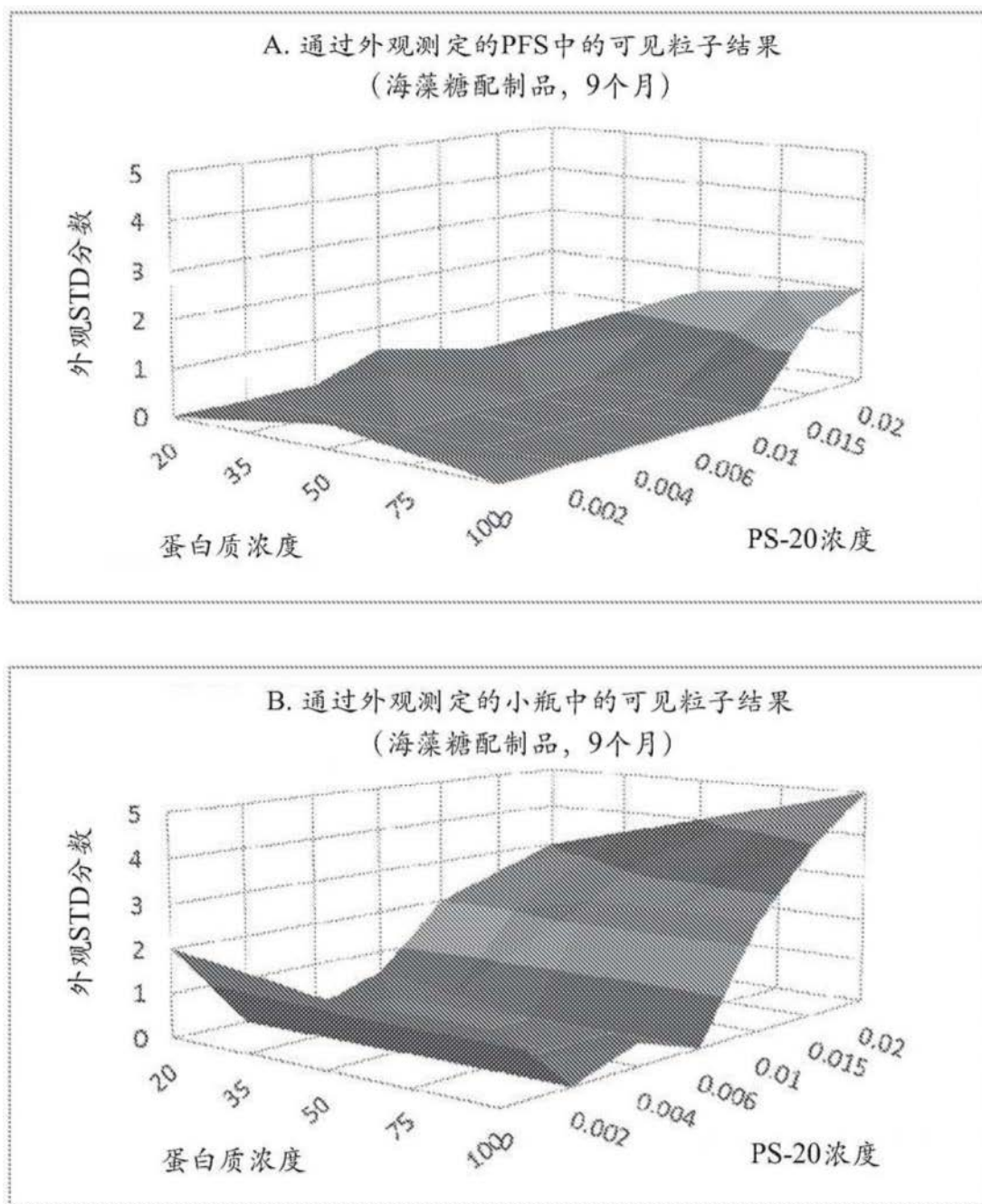


图17

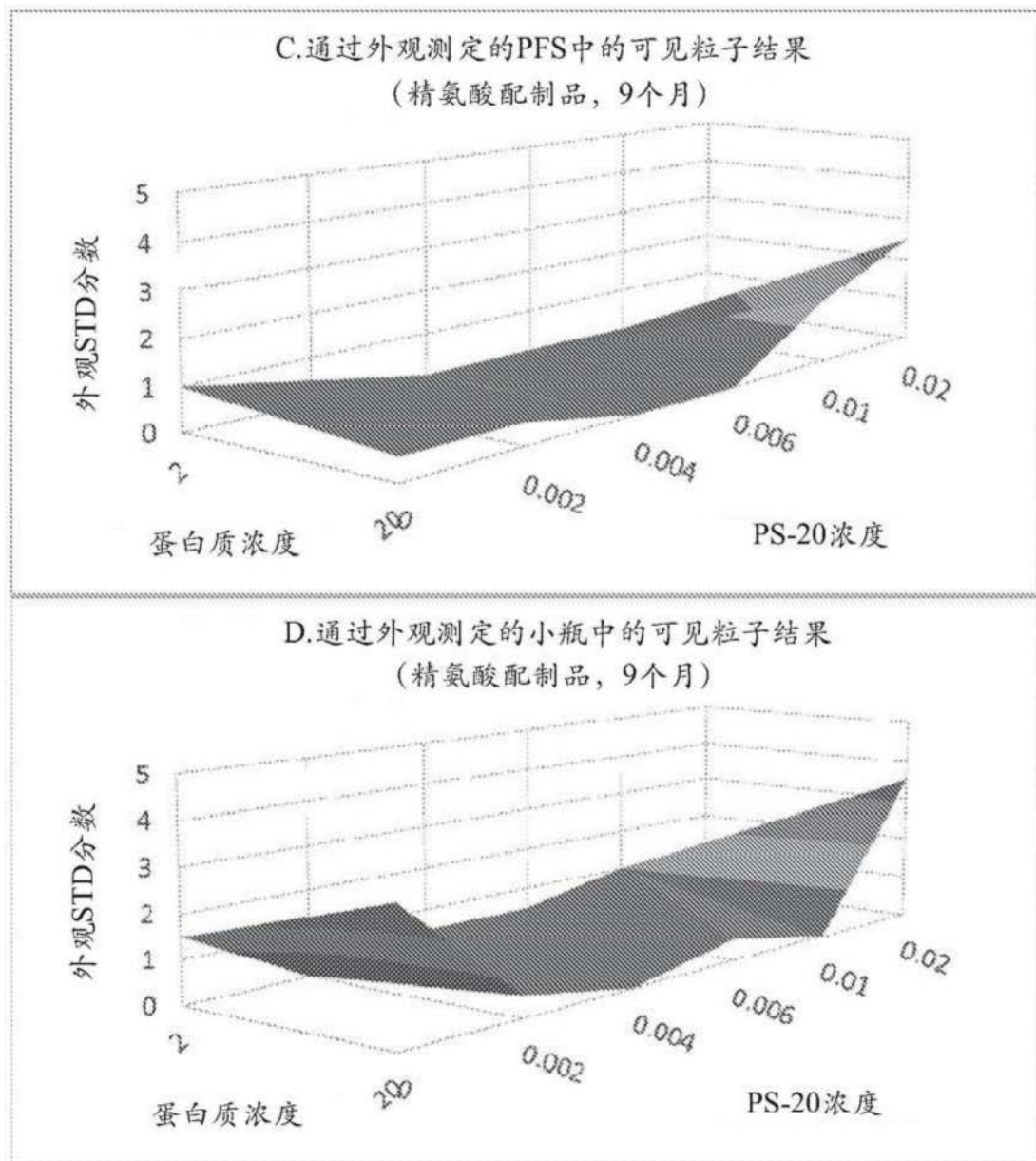


图17续

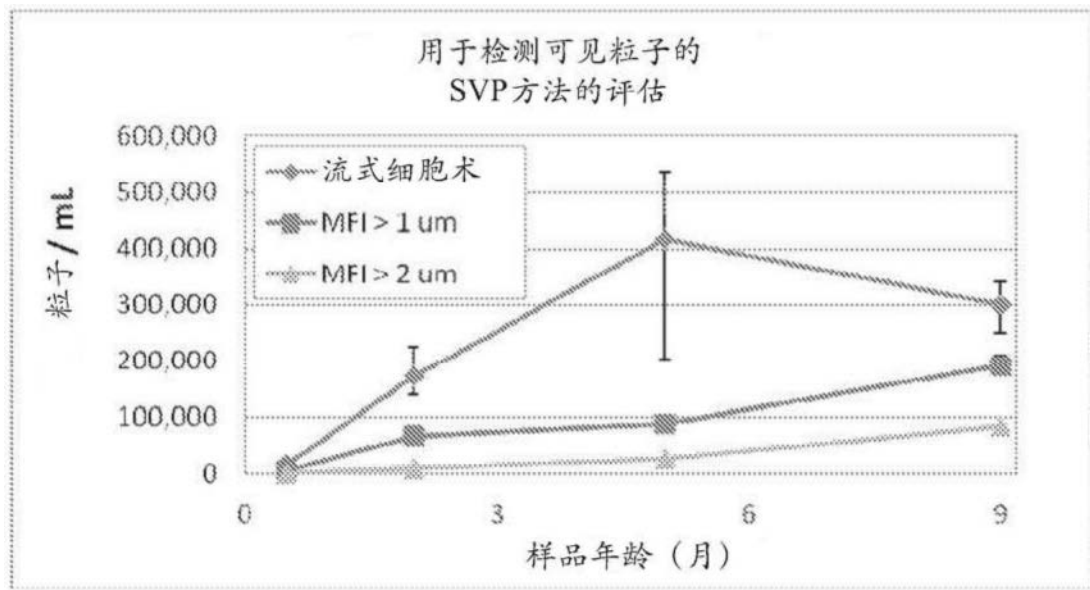


图18

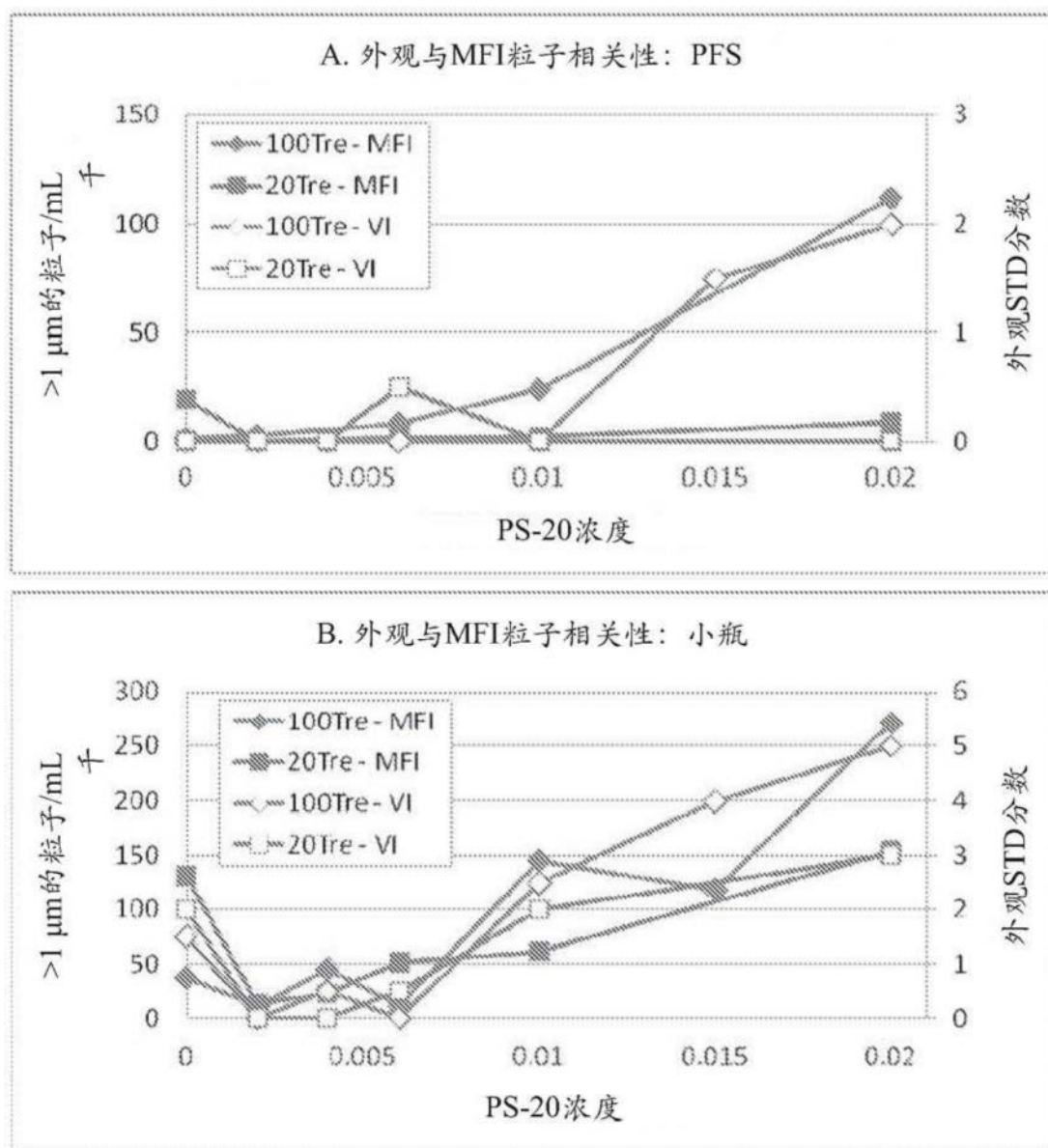


图19

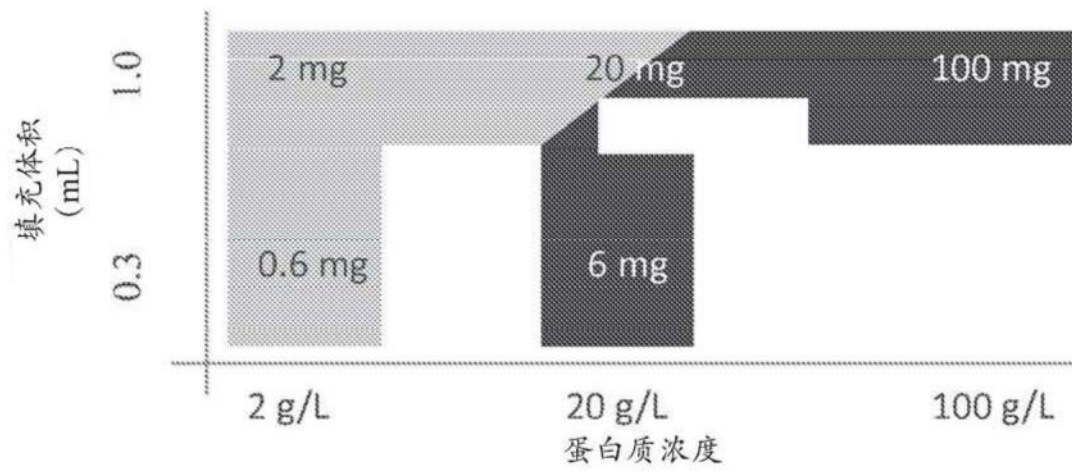


图20

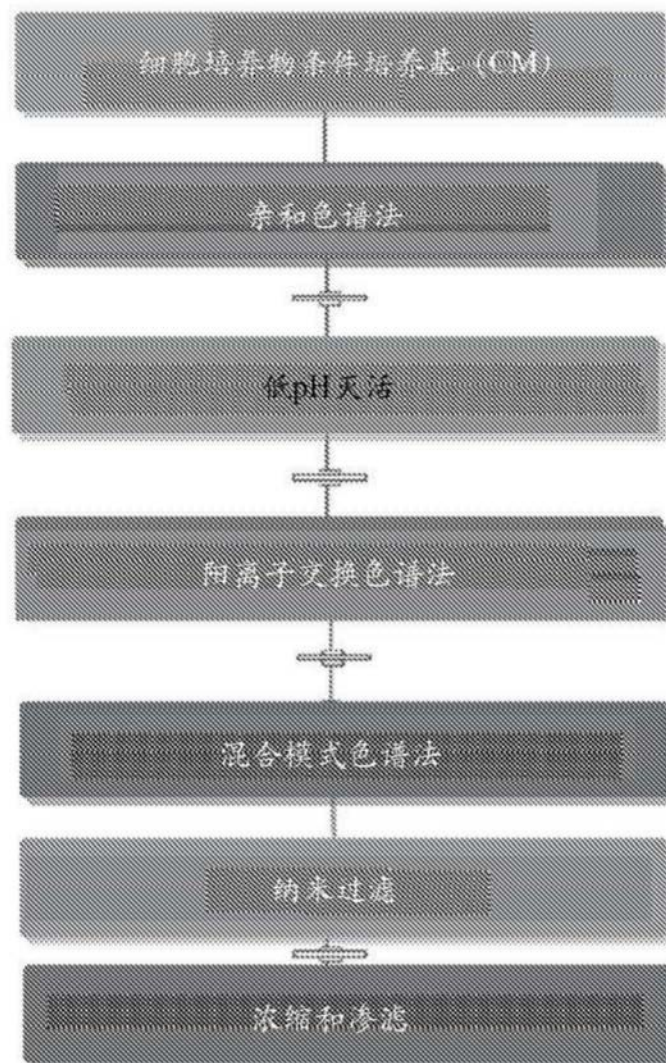


图21

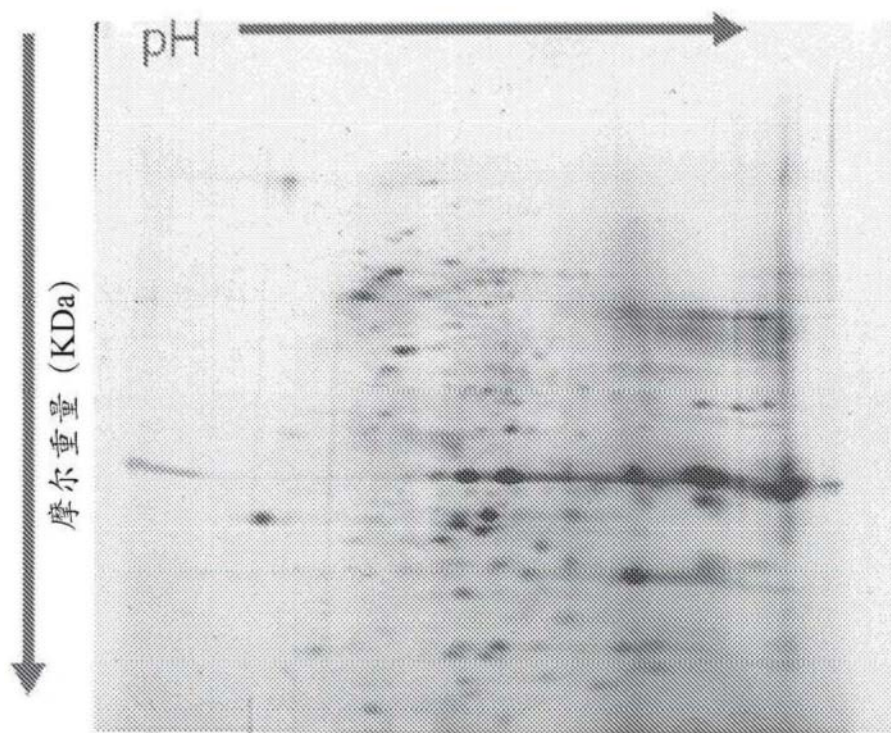


图22