

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 97100809

※ 申請日期： 97.1.9

※IPC 分類：

C07K16/24 (2006.01)
A61K39/395 (2006.01)
A61P11/06 (2006.01)
A61P37/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

抗介白素-13(IL-13)抗體之調配物及其用途

ANTI-IL-13 ANTIBODY FORMULATIONS AND USES THEREOF

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

惠氏公司 / WYETH

代表人：(中文/英文)

卡南 威廉 H. / CALNAN, WILLIAM H.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國紐澤西州麥迪遜市·吉拉達農場5號

Five Giralda Farms, Madison, NJ 07940, U.S.A.

國 籍：(中文/英文)

美國 / U.S.A.

三、發明人：(共 4 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 百利 安東尼 B. / BARRY, ANTHONY B.
2. 克洛威利 湯瑪斯 J. / CROWLEY, THOMAS J.
3. 迪克森 丹尼爾 A. / DIXON, DANIEL A.
4. 瑟利 艾琳 C. / SOLEY, ERIN CHRISTINE

國 籍：(中文/英文)

- 1.~4. 美國 / U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為：。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、 2007/01/09、 60/879,500

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☒ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☒ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

相關申請案之交互參照

- 本案請求美國臨時專利申請案第60/879,500號，申請日
- 5 2007年1月9日之權益，該案內容全文以引用併入此處。

發明領域

本發明係關於抗體領域，更特別係關於抗體之儲存。

【先前技術】

發明背景

- 10 抗體及衍生自抗體之蛋白質具有多項用途。經由將抗體儲存於調配物中可協助抗體用於此等應用用途，該等調配物係使用相對簡單之配方來促進抗體於多種不同條件下之安定性。若一調配物用於治療用途，則重要地該調配物需允許儲存，而活性組分之活性並無無法接受之損失，最
- 15 小化非期望產物諸如無活性聚積體的累積，配合活性組分之適當濃度，以及未含有與治療應用不相容之組分。欲用於下游加工處理之蛋白質，例如欲綴合至另一個實體來製造治療劑之蛋白質儲存用之調配物不可含有將干擾該製造過程之組分。

20 【發明內容】

發明概要

本發明係關於用於儲存抗IL-13抗體用之調配物。該調配物可用於例如作為藥學調配物。如此，於一個態樣中，本發明係關於一種抗IL-13抗體調配物，其包括(a)一抗IL-13

抗體；(b)一冷凍保護劑；及(c)一緩衝劑，讓該調配物之pH為約5.5至6.5。於若干實施例中，該調配物為液體調配物、凍乾調配物、重新調製之凍乾調配物、或噴霧調配物。於若干實施例中，於該調配物中之該抗IL-13之濃度為約0.5
5 毫克/毫升至約250毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約45毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約100毫克/毫升，約100毫克/毫升至約200毫克/毫升，或約50毫克/毫升至約250毫克/毫升。於該調配物之若干實施例中，該抗IL-13抗體為人化抗體(例如部分人化抗體或完全人化抗體)。於若干實施例中，該抗
10 體為 κ 輕鏈構成體抗體。於若干實施例中，該抗體為IgG1抗體、IgG2抗體、或IgG4抗體。於若干實施例中，於該調配物中之該抗IL-13抗體為單株抗體。於若干實施例中，該調配物之該抗IL-13抗體為述於美國專利申請案11/149,309(美國專利公告案20060073148)、美國專利申請案11/155,843
15 (美國專利公告案20060063228)、或WO 2006/085938之抗體。於特定實施例中，該抗IL-13抗體為IMA-638(參考第34圖)或IMA-026(參考第35圖)。

該調配物之冷凍保護劑可為例如約2.5%至約10% (重量/體積(w/v))蔗糖或海藻糖。於若干情況下，該調配物之
20 低溫保護基非為組胺酸。於若干實施例中，調配物中之該緩衝劑為約4 mM至約60 mM組胺酸緩衝液，約5mM至約25 mM丁二酸鹽緩衝液，或約5 mM至約25 mM乙酸鹽緩衝液。該調配物之緩衝劑之pH通常為約5.0至7.0。於若干特定實施例中，該調配物之緩衝劑之pH為5.0、5.5、6.0或6.5。

除了冷凍保護劑及緩衝劑之外，本發明調配物含有其它賦形劑。於若干實施例中，該調配物包括濃度約0%至0.2%之界面活性劑。於若干情況下，該調配物含有大於0%至至多約0.2%聚山梨糖醇酯-20、聚山梨糖醇酯-40、聚山梨糖醇酯-60、聚山梨糖醇酯-65、聚山梨糖醇酯-80或聚山梨糖醇酯-85。於特定實施例中，該調配物含有0.001%、0.002%、0.003%、0.004%、0.005%、0.006%、0.007%、0.008%、0.009%、0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.11%、0.12%、0.13%、0.14%、0.15%、0.16%、0.17%、0.18%、0.19%或0.2%聚山梨糖醇酯-80。該調配物也包括約0.01%至約5%精胺酸。如特定實施例中，該調配物含有0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09%、0.1%、0.11%、0.12%、0.13%、0.14%、0.15%、0.16%、0.17%、0.18%、0.19%、0.2%、0.3%、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%、2.5%、3%、3.5%、4.0%、4.5%、或5%精胺酸。於若干實施例中，該調配物也包括約0.001%至約0.05%吐溫(Tween) 20或吐溫80。於特定實施例中，該調配物含有0.005%、0.008%、0.01%、0.2%、0.03%、0.04%、或0.05%吐溫20或吐溫80。於若干實施例中，本發明調配物含有界面活性劑及精胺酸、精胺酸及吐溫、或精胺酸、吐溫及吐溫以外之界面。於其它實施例中，該調配物也包括下列中之一者或多者：約1%至約10%山梨糖醇、約0.1%至約2%甘胺酸、約

5 mM至約150 mM蛋胺酸、及約5 mM至約100 mM氯化鈉。

調配物也包括一第二抗體或其抗原結合片段。例如，該第二抗體可為抗IL-13抗體或其IL-13結合片段，其中該第二IL-13抗體具有與該調配物之該第一IL-13抗體不同之抗原決定部位特異性。其它可與抗IL-13抗體共同調配之抗體之非限制性實例包括抗IgE抗體或其IgE結合片段、抗IL-4抗體或其IL-4結合片段、抗TNF- α 抗體或其TNF- α 結合片段、抗C5抗體或其補體結合片段、及抗IL-9抗體或其IL-9結合片段。調配物也包括可用於治療發炎病症之一第二治療性活性劑或藥理活性劑。

於該調配物之若干實施例中，(a)該抗體為人化鼠抗IL-13抗體；(b)該冷凍保護劑為約0.02%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖；及(c)該緩衝劑為約4mM至約60 mM組胺酸緩衝液。於若干情況下，此種調配物也含有約0.01%至約5%精胺酸。於若干情況下，本調配物也含有約0.001%至約0.05%吐溫。於其它情況下，本調配物含有約0.01%至約5%精胺酸及約0.001%至約0.05%吐溫。於若干實施例中，該調配物進一步含有下列組分之一者或多者：約1%至約10%山梨糖醇，約0.1%至約2%甘胺酸，約5 mM至約150 mM蛋胺酸，及約5 mM至約100 mM氯化鈉。於若干情況下，本調配物也含有大於0%至至多約0.2%界面活性劑(例如聚山梨糖醇酯-20、-40、-45、-60、-65、-80、-85)。

於該調配物之若干實施例中，(a)該抗體為IMA-638或IMA-026；(b)該冷凍保護劑為約0.02至約10% (重量/體積)

蔗糖或海藻糖；及(c)該緩衝劑為約10 mM丁二酸鹽緩衝液，pH 6.0。於該調配物之其它實施例中，(a)該抗體為IMA-638或IMA-026；(b)該冷凍保護劑為約0.02%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖；及(c)該緩衝劑為約10 mM乙酸鹽緩衝液，pH 6.0。

於另一個面相中，提供一種噴霧調配物其包含(a)一抗IL-13抗體；(b)約5%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖；及(c)具有pH約5.5至6.5之一緩衝劑。於若干情況下，此種調配物也含有約0.01%至約5%精胺酸。於若干情況下，本調配物也含有約0.001%至約0.05%吐溫。於其它情況下，本調配物含有約0.01%至約5%精胺酸及約0.001%至約0.05%吐溫。於若干實施例中，該調配物進一步含有下列組分之一者或多者：約1%至約10%山梨糖醇，約0.1%至約2%甘胺酸，約5 mM至約150 mM蛋胺酸，及約5 mM至約100 mM氯化鈉。於若干情況下，本調配物也含有大於0%至至多約0.2%界面活性劑(例如聚山梨糖醇酯-20、-40、-45、-60、-65、-80、-85)。於若干情況下，該噴霧調配物也包括可用於治療氣喘或慢性阻塞性肺疾之一治療劑。

於另一個面相中，提供一種凍乾調配物其包含(a)一抗IL-13抗體；(b)約5%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖；及(c)具有pH約5.5至6.5之一緩衝劑。於若干情況下，此種調配物也含有約0.01%至約5%精胺酸。於若干情況下，本調配物也含有約0.001%至約0.05%吐溫。於其它情況下，本調配物含有約0.01%至約5%精胺酸及約0.001%至約0.05%

吐溫。於若干實施例中，該調配物進一步含有下列組分之一者或多者：約1%至約10%山梨糖醇，約0.1%至約2%甘胺酸，約5 mM至約150 mM蛋胺酸，及約5 mM至約100 mM氯化鈉。於若干情況下，本調配物也含有大於0%至至多約
5 0.2%界面活性劑(例如聚山梨糖醇酯-20、-40、-45、-60、-65、-80、-85)。於若干情況下，該凍乾調配物也包括可用於治療氣喘或慢性阻塞性肺疾之一治療劑。

於某些實施例中，抗體於該調配物中於-80°C儲存至少18個月，於-80°C儲存至少24個月，於-20°C儲存至少18個月，
10 於-20°C儲存至少24個月，於2°C-8°C儲存至少18個月，於2°C-8°C儲存至少24個月，於25°C儲存至少18個月，於25°C儲存至少24個月後，該抗體維持完好。於若干情況下，該調配物於-80°C儲存至少18個月，於-80°C儲存至少24個月，於-20°C儲存至少18個月，於-20°C儲存至少24個月，
15 於2°C-8°C儲存至少18個月，於2°C-8°C儲存至少24個月，於25°C儲存至少18個月，於25°C儲存至少24個月後，包括少於10%高分子量(HMW)物種。本發明也包括其中該HMW物種係使用尺寸排除高效液相層析術(SEC-HPLC)檢定分析之實施例。本發明也包括其中該調配物於-80°C儲存至少18
20 個月，於-80°C儲存至少24個月，於-20°C儲存至少18個月，於-20°C儲存至少24個月，於2°C-8°C儲存至少18個月，於2°C-8°C儲存至少24個月，於25°C儲存至少18個月，於25°C儲存至少24個月後，包括少於10%低分子量(LMW)物種之實施例。於某些情況下，LMW物種係使用SEC-HPLC檢定

分析。於該調配物之若干實施例中，當凍乾抗體調配物重新調製時，該調配物比較於凍乾前之調配物保有至少90%該抗體結構。抗體結構例如係經由結合檢定分析、表面電荷檢定分析、生物檢定分析、或HMW物種對LMW物種之比測定。

於另一個面相中，本發明係關於一種用於治療IL-13相關病症之藥學組成物。該藥學組成物包括如此處所述之一種抗IL-13抗體調配物，例如含有一人化抗體及其它如此處所述特徵之調配物。

於又另一個面相中，本發明係有關藥學組成物之製造，該組成物包括一種抗體調配物，其包括(a)一抗IL-13抗體；(b)一冷凍保護劑；及(c)一緩衝劑，讓該調配物之pH為約5.5至6.5。於若干情況下，該藥學組成物之抗IL-13抗體為述於美國專利申請案11/149,309(美國專利公告案20060073148)、美國專利申請案11/155,843(美國專利公告案20060063228)、或WO 2006/085938之抗體。於特定實施例中，該抗IL-13抗體為IMA-638或IMA-026。於若干情況下，該藥學組成物也含有約0.01%至約5%精胺酸。於若干情況下，該藥學組成物也含有約0.001%至約0.05%吐溫。於其它情況下，該藥學組成物含有約0.01%至約5%精胺酸及約0.001%至約0.05%吐溫。於若干實施例中，該藥學組成物進一步含有下列組分中之一者或多者：約1%至約10%山梨糖醇，約0.1%至約2%甘胺酸，約5 mM至約150 mM蛋胺酸，及約5 mM至約100 mM氯化鈉。於若干情況下，本調配物也

含有大於0%至至多約0.2%界面活性劑(例如聚山梨糖醇酯-20、-40、-45、-60、-65、-80、-85)。

於另一個面相中，本發明係關於一種治療IL-13相關病症之方法，該方法包含投予藥學上有效量之IL-13抗體調配物。該調配物包括(a)一抗IL-13抗體；(b)一冷凍保護劑；及(c)一緩衝劑，讓該調配物之pH為約5.5至6.5。於若干情況下，該調配物之抗IL-13抗體為述於美國專利申請案11/149,309 (美國專利公告案20060073148)、美國專利申請案11/155,843 (美國專利公告案20060063228)、或WO 2006/085938之抗體。於特定實施例中，該抗IL-13抗體為IMA-638或IMA-026。於若干情況下，該調配物也含有約0.01%至約5%精胺酸。於若干情況下，該調配物也含有約0.001%至約0.05%吐溫。於其它情況下，該調配物含有約0.01%至約5%精胺酸及約0.001%至約0.05%吐溫。於若干實施例中，該調配物進一步含有下列組分之一者或多者：約1%至約10%山梨糖醇，約0.1%至約2%甘胺酸，約5 mM至約150 mM蛋胺酸，及約5 mM至約100 mM氯化鈉。於若干情況下，本調配物也含有大於0%至至多約0.2%界面活性劑(例如聚山梨糖醇酯-20、-40、-45、-60、-65、-80、-85)。

於若干實施例中，本發明方法包括組合療法。組合療法係指兩種或多種不同治療性化合物組合投藥之任一形式，讓當先前投予之治療性化合物於體內仍然有效時，投予該第二化合物(例如兩種化合物於病人體內同時有效，可包括兩種化合物之協同增效效果)。該組合療法也包括抗IL-13

抗體分子於一種或多種額外治療劑共同配方及/或共同投藥，該額外治療劑例如為一種或多種細胞激素及生長因子抑制劑、免疫遏止劑、抗炎劑(例如系統性抗炎劑)、代謝抑制劑、酶抑制劑、及/或胞毒劑或細胞抑制劑。IL-13結合劑

5 及其它治療劑也可分開投予。

於該方法之某些實施例中，該IL-13相關病症為發炎疾病。於若干實施例中，該發炎疾病係選自於由下列所組成之組群：關節炎、氣喘、發炎性腸病、發炎性皮膚病、多發性硬化症、骨質疏鬆、腱炎、過敏病症、回應於對宿主之傷害之發炎、敗血病、類風濕性關節炎、骨關節炎、腸躁症、潰瘍性大腸炎、牛皮癬、系統性紅斑性狼瘡、及任何其它自體免疫病。於該方法之某些實施例中，該IL-13相關病症為過敏性氣喘、非過敏性氣喘、併發過敏性氣喘與非過敏性氣喘、運動誘發型氣喘、藥物誘發型氣喘、職業

10 型氣喘、末期氣喘、B細胞慢性淋巴細胞性白血病(B細胞CLL)、何杰金氏病、血吸蟲病之組織纖維化、自體免疫性風濕病、發炎性腸病、類風濕性關節炎、涉及呼吸道發炎之病症、嗜伊紅血球增多、纖維化及過度產生黏液(例如囊腫性纖維化及肺纖維化)；異位性病症(例如過敏性鼻炎)；

15 皮膚之發炎性病症及/或自體免疫病症(例如異位性皮膚炎)、胃腸器官之發炎性病症及/或自體免疫病症(例如發炎性腸病(IBD))、肝之發炎性病症及/或自體免疫病症(例如肝硬化)；病毒性感染；硬皮病及其它器官之纖維化諸如肝纖維化、過敏性結膜炎、濕疹、蕁麻疹、食物過敏、慢性阻

20

塞性肺疾(COPD)、潰瘍性大腸炎、勞斯肉瘤病毒感染、葡萄膜炎、硬皮病或骨質疏鬆症。於該方法之若干實施例中，該抗體調配物係經吸入投予、噴霧投予或注射投予。

於若干實施例中，提供包含此處所述調配物之預填充
5 溶液之一種注射器。於一特定實施例中，該預填充注射器之包含 100 毫克 / 毫升抗 IL-13 抗體 (例如 IMA-026、IMA-638)、10 mM 組胺酸、5% 蔗糖、0.01% 吐溫-80、40 mM NaCl、pH 6.0。於另一個特定實施例中，於該預填充注射器中之該調配物進一步包含約 0.1% 至約 2% 精胺酸。於若干
10 情況下，該注射器裝設有一自動注射器裝置。於其它實施例中，提供此處所述調配物之經鼻投藥裝置。於若干情況下，提供如此處所述調配物之投藥用經皮貼片。又有其它情況下，提供投予如此處所述調配物之靜脈輸注袋。於特定實施例中，該靜脈輸注袋被提供以生理食鹽水或 5% 葡萄
15 糖。

於其它實施例中，提供包含如此處所述調配物之一容器之一種套件組。該套件組視需要可包括使用指示。於若干情況下，該套件組中之該容器為塑膠小瓶或玻璃小瓶或注射器。

20 除非另行定義，否則此處使用之全部科技術語皆具有如本發明所屬技藝界熟諳技藝人士共同了解之相同定義。雖然類似於或相當於此處所述之方法及材料可用於本發明之實施或測試，但適當方法及材料係說明如下。此處所述全部公告案、專利申請案、專利案全文皆以引用方式併入

此處。此外，材料、方法、及實例僅供舉例說明之用而非限制性。

本發明之其它特性及優點由詳細說明部分、附圖、及由申請專利範圍將更為彰顯。

5 圖式簡單說明

第1圖為顯示實驗結果之線圖，於該實驗中，於經凍乾且經儲存以及於適當時間點重新調製之抗IL-13抗體調配物中之HMW物種之百分比係使用尺寸排除層析術-高效液相層析術(SEC-HPLC)測定。% HMW=於HMW物種中之總
10 蛋白質百分比。樣本於重新調製前係儲存於4°C、25°C及40°C長達24個月。

第2圖為顯示實驗結果之線圖，於該實驗中，經凍乾、經儲存且於適當時間點經重新調製之抗IL-13抗體調配物之生物活性係以占抗IL-13抗體標準品之百分比測定。資料
15 係以每毫克蛋白質之單位作為比活性表示。樣本於重新調製前係儲存於4°C、25°C及40°C長達24個月。

第3圖為顯示實驗結果之線圖，其中於100毫克/毫升液體抗IL-13抗體調配物中之HMW物種百分比係於4°C、15°C、25°C及40°C儲存長達24個月後，使用SEC-HPLC測定。

20 第4圖為顯示實驗結果之線圖，其中於100毫克/毫升液體抗IL-13抗體調配物中之LMW物種百分比係於4°C、15°C、25°C及40°C儲存長達24個月後，使用SEC-HPLC測定。

第5圖為顯示實驗結果之線圖，其中於一液體調配物中之抗IL-13抗體之結合活性百分比係於4°C、15°C、25°C及

40°C 儲存長達6個月後檢定分析測定。結合活性係以相對於標準品之百分比表示。

第6圖為顯示實驗結果之線圖，其中100毫克/毫升抗IL-13抗體調配物之生物活性係以占抗IL-13抗體標準品之百分比測定。資料係以每毫克蛋白質之單位作為比活性表示。樣本於重新調製前係儲存於4°C、15°C、25°C及40°C長達24個月。

第7圖為線圖，顯示檢定分析儲存於4°C、15°C、25°C及40°C長達24個月之液體調配物中之蛋白質濃度之實驗結果。

第8圖為低於周圍經調變之差動掃描量熱術(mDSC)測定經冷凍濃縮之非晶相之玻璃轉換溫度之線圖。

第9A圖為於-25°C，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9B圖為由-25°C升高至-15°C，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9C圖為由-15°C降至-18°C，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9D圖為由-18°C升高至-8°C，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9E圖為由-8°C升高至-4°C，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9F圖為由-4°C降至-16°C，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第10圖為線圖，顯示積極凍乾週期之週期軌跡。溫度

係對兩種不同抗體組成物(標示為MYO-029及IMA-638)、儲存壽命(貯架)、及露點顯示。壓力係使用電容測壓計及皮拉尼(Pirani)錶檢定分析顯示。

第11圖為顯示對照凍乾週期之一週期軌跡之線圖。溫度及壓力試樣係如同第10圖。

第12圖為顯示退火凍乾週期之一週期軌跡之線圖。溫度及壓力試樣係如同第10圖。

第13圖為分別對應於第10-12圖，對積極凍乾週期、對照凍乾週期及退火凍乾週期，顯示於一次乾燥期間之產物溫度之線圖。

第14圖為顯示對照樣本之經調變差動掃描量熱術熱分析圖之線圖。觀察兩個玻璃轉換溫度(於逆熱流測定)，一者始於 51.3°C ，一者始於 74.5°C 。

第15圖為線圖，顯示三個樣本(對照、積極及退火)於醃胺I區之富立葉轉換紅外光譜術之結果。

第16圖為顯示樣本之重新調製時間呈儲存時間之函數之線圖。樣本為對照、積極及退火，且樣本係儲存於 5°C 或 50°C 。

第17圖為顯示使用紫外光-可見光光譜術(A_{280})檢定分析之蛋白質濃度之線圖。樣本係如同第16圖。

第18圖為顯示使用紫外光-可見光光譜術(A_{420})檢定分析之溶液光散射之線圖。樣本係如同第16圖。

第19圖為顯示使用SEC-HPLC檢定分析HMW物種之結果之線圖。樣本係如同第16圖。

第20圖為顯示接受試驗之抗體之結合親和力呈儲存時間之函數之線圖。樣本係如同第16圖。

第21圖為顯示於小瓶及注射器中進行IMA-638賦形劑過篩中回收百分比之柱狀圖，其中該IMA-638抗體之濃度係
5 藉UV/Vis測定。

第22圖為於40°C由t=0至6週，於小瓶及注射器中進行之IMA-638賦形劑過篩中，HMW物種之變化百分比之柱狀圖。

第23圖為於40°C由t=0至6週，於小瓶及注射器中進行之IMA-638賦形劑過篩中，LMW物種之變化百分比之柱狀圖。

10 第24圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於約200 rpm振搖24小時後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之濃度之柱狀圖。

第25圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於約200 rpm振搖24小時後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之
15 HMW物種百分比之柱狀圖。

第26圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於一個(FT1)、三個(FT3)及五個(FT5)冷凍-解凍週期(冷凍週期於-80°C；解凍週期於37°C)後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之濃度之柱狀圖。

20 第27圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於一個(FT1)、三個(FT3)及五個(FT5)冷凍-解凍週期(冷凍週期於-80°C；解凍週期於37°C)後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之HMW物種百分比之柱狀圖。

第28圖為顯示儲存於4°C長達7個月之注射器中，於

IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

第29圖為顯示儲存於25°C長達7個月之注射器中，於IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

第30圖為顯示儲存於40°C長達7個月之注射器中，於
5 IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

第31圖為顯示於40°C儲存長達28週之注射器中，於含有0.01%吐溫及0%至2%精胺酸之IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

第32圖為顯示IL-13抗體、IMA-026之HMW物種百分比
10 之線圖，該抗體係於凍乾且儲存於4°C、25°C及40°C長達12個月後重新調製。

第33圖為顯示IMA-026抗體之生物活性之線圖，該抗體係於凍乾且儲存於4°C、25°C及40°C長達12個月後重新調製。

第34圖提供IMA-638抗體重鏈(SEQ ID NO:1)及輕鏈
15 (SEQ ID NO:2)之胺基酸序列。由重鏈DNA序列所編碼之最末一個胺基酸殘基Lys448於成熟經過分泌形式之IMA-638中只觀察得小量，推定於胞內處理期間藉中國倉鼠卵巢(CHO)細胞蛋白酶而由散裝單株抗體中移除。因此IMA-638重鏈之羧基端為Gly₄₄₇。於重組衍生抗體及血漿衍生抗體中
20 觀察得羧基端離胺酸處理，但顯然並未影響其功能。

第35圖提供IMA-026抗體重鏈(SEQ ID NO:3)及輕鏈(SEQ ID NO:4)之胺基酸序列。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

已經識別適合用於抗IL-13抗體之儲存之包括抗IL-13
抗體之調配物(「調配物」)。於該調配物中之抗體之完好通
常可於各種條件下呈液體或呈凍乾製品長時間儲存後仍然
維持完好。舉例言之，暴露於寬廣範圍之儲存溫度(例如
5 -80°C至40°C)、剪切應力(例如振搖)及界面應力(冷凍-解凍
週期)後仍然充分維持抗體的完好。此外，對於凍乾材料，
於重新調製過程中仍然充分維持抗體的完好。此外，用作
為藥物之抗體完好充分維持，如由LMW物種及HMW物種
之累積相當低、試管內生物活性、試管內結合活性、及霧
10 化後安定性獲得驗證。

調配物

如此處所述之一種抗IL-13抗體調配物包括抗IL-13抗
體、可用作為冷凍保護劑之化合物、及緩衝劑。調配物之
pH通常為pH 5.5-6.5。於若干實施例中，調配物係呈液體儲
15 存。於其它實施例中，調配物係製備呈液體，然後於儲存
前經乾燥，例如藉凍乾或藉噴乾乾燥。乾燥後之調配物可
呈乾化合物使用，例如呈噴霧劑或粉末使用，或例如使用
水、緩衝液、或其它適當液體重新調製成其原先濃度或另
一種濃度使用。抗體純化過程係設計成允許抗體轉移入適
20 合呈凍結液體長時間儲存之調配物，以及隨後用於冷凍乾
燥(例如使用組胺酸/蔗糖調配物)冷凍乾燥。調配物係使用
特定濃度蛋白質凍乾。然後凍乾後之調配物視需要使用適
當稀釋劑(例如水)重新調製，來將原先調配物組分再度溶解
至適當濃度，通常為比較凍乾前之濃度為相等濃度或更高

濃度。凍乾調配物可重新調製來製造一調配物，依據添加至該凍乾產物之水量或稀釋劑數量相對於原先被凍乾的液體體積決定，該調配物具有與原先濃度(亦即凍乾前)不同的濃度(例如參考實例6，參見下文)。

- 5 經由檢定分析一或多項抗體完好之參數，可識別適當抗IL-13抗體調配物。檢定分析的參數通常為HMW物種百分比或LMW物種百分比。HMW物種百分比或LMW物種百分比係呈調配物中之總蛋白質含量百分比測定，或呈百分比隨著時間(亦即於儲存期間)增高之變化測定。於可接受調配
- 10 物中之HMW物種之總百分比為於呈凍乾產物或液體於2°C至40°C(例如於2°C至25°C、於2°C至15°C、於2°C至8°C、於約2°C、或於約25°C)儲存歷至少一年後係不大於10% HMW物種；為於呈凍乾產物或液體於2°C至40°C儲存歷至少一年後係不大於約10% LMW物種。「約」一詞表示所引述之數
- 15 值之±20%。如此，「約20°C」表示16°C至24°C。典型地，安定性輪廓資料為對冷藏產品於2°C-8°C及對室溫產品於25°C係低於10% HMW/LMW。HMW物種或LMW物種係於呈凍乾產物儲存的調配物於該凍乾產物重新調製後檢定分析。
- 40°C為加速條件，該加速條件通常係用於測試安定性及測
- 20 定短期暴露於非儲存條件例如於產品出貨的轉運期間之安定性之測定。

當所檢定分析之參數為HMW物種或LMW物種之變化百分比時，於儲存後於一種或兩種物種之總蛋白質百分比係與儲存前(例如調配物製備時)於一種或兩種物種中之總

蛋白質百分比做比較。測定百分比差異。通常，於2°C-8°C或25°C儲存約18個月至24個月後，於液體調配物中之HMW物種或LMW物種中之蛋白質百分比變化係不大於10%，例如不大於約8%、不大於約7%、不大於約6%、不大於約5%、
5 不大於約4%、或不大於約3%。「約」表示占所引述數值之±20%。如此，約10%表示8%至12%呈凍乾製品儲存之調配物於儲存於2°C-8°C（例如4°C）約18個月至24個月後，於重新調製後通常具有少於約5%、少於約4%、少於約3%、或少於約2% HMW物種；或少於約5%、少於約4%、少於約
10 3%、或少於約2% LMW物種。

調配物可呈凍乾產物儲存例如至少兩年，至少三年，至少四年，或至少五年。於一個實例中，一種抗IL-13抗體調配物含有100毫克/毫升抗IL-13抗體，10 mM組胺酸，5%蔗糖，且具有pH 6.0。於另一個實例中，一種抗IL-13抗體
15 調配物含有100毫克/毫升抗IL-13抗體，10 mM組胺酸，5%蔗糖，0.01%吐溫80，2%精胺酸，且具有pH 6.0。於另一個實例中，一種抗IL-13抗體調配物含有0.5毫克/毫升抗IL-13抗體，10 mM組胺酸，5%蔗糖，且具有pH 6.0。於又另一個實例中，一種抗IL-13抗體調配物含有0.5毫克/毫升抗
20 IL-13抗體，10 mM組胺酸，5%蔗糖，0.01%吐溫80，2%精胺酸，且具有pH 6.0。

有關調配物組分及調配物中抗IL-13抗體之完好性之檢定分析方法之相關額外細節提供於下文。

抗體

抗IL-13抗體為此處所述調配物者組分。如此處使用，除非另行載明，否則「抗體」一詞包括多株抗體、單株抗體、具有多抗原決定部位特異性之抗體組成物、生物特異性抗體、二價抗體、形成抗體之一部分之單鏈分子、雜交

5 抗體諸如完全人化抗體或部分人化抗體、抗原結合抗體片段諸如Fab片段、F(ab')₂片段、及Fv片段、及前述之修改(例如PEG化抗體或抗體片段)。用於調配物中之抗IL-13抗體分子可為人、人化、CDR-接枝、嵌合型、突變型、親和力成熟型、脫免疫化、合成、或以其它方式於試管內產生的蛋白質。於一個實施例中，該IL-13抗體為人化抗體。於一個

10 實施例中，該IL-13抗體於人體內不具有抗原性，也不會造成HAMA反應。

抗IL-13抗體分子可用來於活體內調節(例如抑制)至少一種IL-13抗體關聯之活性。IL-13抗體可用來治療或預防

15 IL-13相關聯之病症，或改善其至少一種症狀。與IL-13相關聯之病症之實例包括發炎病症(例如肺發炎)、呼吸病症(例如氣喘包括過敏性氣喘及非過敏性氣喘、慢性阻塞性肺疾(COPD))、以及涉及呼吸道發炎之病症、嗜伊紅血球增加、纖維化病症(例如囊性纖維化、肝纖維化、及肺纖維化)、硬

20 皮病、黏液製造過量；異位性病症(例如異位性皮膚炎、蕁麻疹、濕疹、過敏性鼻炎、及過敏性腸胃炎)、IL-13相關聯之癌症(例如白血病、神經膠母細胞瘤、或淋巴瘤例如何杰金氏淋巴瘤)、胃腸道病症(例如發炎性腸病)、肝病(例如肝硬化)、及病毒性感染。

調配物中之抗體濃度通常為約0.1毫克/毫升至約250毫克/毫升，例如約0.5毫克/毫升至約100毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約1.0毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約45毫克/毫升，約1毫克/毫升至約10毫克/毫升，約10毫克/毫升至約40
5 毫克/毫升，約10毫克/毫升至約50毫克/毫升，約50毫克/毫升至約100毫克/毫升，約100毫克/毫升至約200毫克/毫升，約200毫克/毫升至約250毫克/毫升抗IL-13。於範圍之內文中，「約」表示該範圍所引述之數值下限之-20%至該範圍所引述之數值上限之+20%。於範圍之內文中，例如約10毫克
10 /毫升至約100毫克/毫升者表示約8毫克/毫升至120毫克/毫升。於若干情況下，調配物中之抗體濃度可為例如約0.1毫克/毫升至約200毫克/毫升，例如約0.5毫克/毫升至約100毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約1.0毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約45毫克/毫升，約1毫克/毫升至約10毫克/毫升，約10
15 毫克/毫升至約40毫克/毫升，約10毫克/毫升至約50毫克/毫升，約50毫克/毫升至約100毫克/毫升，約100毫克/毫升至約200毫克/毫升抗IL-13。此種抗體調配物可用作為治療劑。如此，調配物中之抗體濃度係足夠提供調配物中以體積計算之劑量可由接受治療之個體所忍受，且適合用於該
20 投藥方法之劑量。於一個非限制性實施例中，欲皮下供給高劑量，其中體積限制小(例如每次注射約1毫升至1.2毫升)，抗體濃度通常至少為100毫克/毫升或以上，例如100毫克/毫升至500毫克/毫升，100毫克/毫升至250毫克/毫升，或100毫克/毫升至150毫克/毫升。此種高濃度例如可經由將

凍乾調配物於適當體積之稀釋劑(例如無菌注射用水、經緩衝之食鹽水)中重新調製來達成。於某些情況下，重新調製後之調配物具有約100毫克/毫升至500毫克/毫升(例如100毫克/毫升、125毫克/毫升、150毫克/毫升、175毫克/毫升、
5 200毫克/毫升、250毫克/毫升、275毫克/毫升、300毫克/毫升、350毫克/毫升、375毫克/毫升、400毫克/毫升、425毫克/毫升、450毫克/毫升、475毫克/毫升及500毫克/毫升)之濃度。用於透過吸入遞送，調配物通常略微濃縮(例如約100毫克/毫升至500毫克/毫升)，來於有限體積之供吸入用之噴
10 霧劑中提供足夠劑量。於若干情況下，使用低濃度(例如約0.05毫克/毫升至1毫克/毫升)。技藝界已知調整適合遞送方法例如噴射霧化器或計量劑量噴霧器之遞送劑量。

可用於抗IL-13抗體調配物之抗體包括鼠抗IL-13抗體及人化鼠抗IL-13抗體。抗體可為κ輕鏈抗體。抗體可為天然抗體或經工程處理成為IgG、IgE、IgA、IgM抗體或IL-13
15 結合片段，如前文所述。於若干情況下，抗體為IgG1、IgG2或IgG4抗體。供本發明使用之抗IL-13抗體之實例係屬於美國專利申請案11/155,843、美國專利申請案11/149,309及WO 200/085938，各案內容以引用方式併入此處。供本發明使
20 用之抗IL-13抗體之非限制性實例包括IMA-638(第34圖)及IMA-026(第35圖)。於若干實施例中，該抗IL-13抗體重鏈具有約80%、約85%、約90%、約91%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、或約99%與SEQ ID NO:1之序列相同度；而該輕鏈具有約80%、約

85%、約90%、約91%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、或約99%與SEQ ID NO:2之序列相同度；該抗體結合IL-13。於若干實施例中，該抗IL-13抗體重鏈具有約80%、約85%、約90%、約91%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、或約99%與SEQ ID NO:3之序列相同度；而該輕鏈具有約80%、約85%、約90%、約91%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、或約99%與SEQ ID NO:4之序列相同度；該抗體結合IL-13。於某些實施例中，抗IL-13抗體係以相當於 K_D 小於 5×10^{-7} M、 1×10^{-7} M、 5×10^{-8} M、 1×10^{-8} M、 5×10^{-9} M、 1×10^{-9} M，更典型地小於 5×10^{-10} M、 1×10^{-10} M、 5×10^{-11} M、 1×10^{-11} M、或更佳之親和力結合IL-13。將取代導入蛋白質之方法為技藝界眾所周知。於一個實施例中，IL-13抗體可以 10^3 至 10^8 M⁻¹/秒，典型為 10^4 至 10^7 M⁻¹/秒範圍之動力學與IL-13結合。於又另一個實施例中，IL-13結合劑具有於 10^{-2} 至 10^{-6} /秒，典型為 10^{-2} 至 10^{-5} /秒範圍之解離動力學。於一個實施例中，IL-13結合劑係以類似於(例如於因數20、10或5以內)單株抗體MJ 2-7或C65 (參考美國專利公告案20060073148)或其改性形式例如嵌合形式或人化形式(例如此處所述之人化形式)之親和力及/或動力學結合至IL-13例如人IL-13。IL-13結合劑之親和力及結合動力學例如可使用生物感測器技術(百歐可(BIACORE))測試。

緩衝劑及冷凍保護劑

如此處所述之調配物之pH通常為約pH 5.0至約7.0，例如約pH 5.5至約6.5，約pH 5.5至約6.0，約pH 6.0至約6.5、pH 5.5、pH 6.0或pH 6.5。大致上，使用可將溶液維持於pH 5.0至6.5之緩衝劑來製備調配物，例如具有pKA約6.0之緩衝劑。適當緩衝劑包括但非限於組胺酸緩衝劑、2-咪啉基乙烷磺酸(MES)、二甲基胍酸鹽、磷酸鹽、乙酸鹽、丁二酸鹽及檸檬酸鹽。緩衝劑之濃度為約4 mM至約60 mM，例如約5 mM至約25 mM，例如組胺酸通常係以至多60 mM之濃度使用。於若干情況下，組胺酸緩衝劑係以約5 mM或約10 mM之濃度使用。於其它情況下，乙酸鹽或丁二酸鹽緩衝劑係以約5 mM或約10 mM之濃度使用。

抗IL-13抗體調配物包括冷凍保護劑。冷凍保護劑為技藝界已知，且包括例如蔗糖、海藻糖及甘油。通常使用於生物系統中具有低毒性之冷凍保護劑。冷凍保護劑係以約0.5%至15%，約0.5%至2%，約2%至5%，約5%至10%，約10%至15%，及約5% (重量/體積)之濃度含括於該調配物。

可用於抗IL-13抗體調配物作為緩衝劑之組胺酸緩衝劑具有冷凍保護劑性質。於本發明之若干實施例中，組胺酸緩衝劑係結合冷凍保護劑諸如糖例如蔗糖而使用。本發明之調配物特別排除以任何實質用量使用組胺酸，例如調配物之緩衝劑組分及冷凍保護劑組分皆非為組胺酸。

調配物之黏度通常為與調配物之投藥途徑可相容之黏度。於若干實施例中，調配物之黏度為1 cP至2 cP，或類似於水之黏度(約1 cP)。於其它實施例中，調配物之黏度為約

5 cP至約40 cP。於特定實施例中，調配物之黏度為1 cP、2 cP、3 cP、4 cP、5 cP、10 cP、15 cP、20 cP、25 cP、30 cP、35 cP、或40 cP。

界面活性劑

5 於某些實施例中，界面活性劑含括於調配物。界面活性劑之實例包括但非限於非極性界面活性劑諸如聚山梨糖醇酯類(例如聚山梨糖醇酯-20、聚山梨糖醇酯-40、聚山梨糖醇酯-60、聚山梨糖醇酯-65、聚山梨糖醇酯-80、或聚山梨糖醇酯-85)；波洛薩摩類(poloxamers) (例如波洛薩摩
10 188)；崔頓(Triton)；硫酸十二烷基酯鈉(SDS)；硫酸月桂酯鈉；辛基糖苷鈉；月桂基-磺基苯胺、肉豆蔻基-磺基苯胺、亞麻油基-磺基苯胺、硬脂基-磺基苯胺、月桂基-肌胺酸、肉豆蔻基-肌胺酸、亞麻油基-肌胺酸、硬脂基-肌胺酸、月桂基-苯胺、肉豆蔻基-苯胺、鯨蠟基-苯胺、月桂醯胺基丙基-苯
15 胺、可可醯胺基丙基-苯胺、亞麻油醯胺基丙基-苯胺、肉豆蔻醯胺基丙基-苯胺、棕櫚醯胺基丙基-苯胺、異硬脂醯胺基丙基-苯胺(例如月桂醯胺基丙基)、肉豆蔻醯胺基丙基-、棕櫚醯胺基丙基、或異硬脂醯胺基丙基-二甲基胺；可可醯基牛磺酸甲酯鈉、或油醯基牛磺酸甲酯二鈉；及摩納夸特
20 (Monaquat)系列(摩納工業公司(Mona Industries, Inc.)，紐澤西州派特森)、聚乙二醇、聚丙二醇、及乙二醇與丙二醇之共聚物(例如普隆尼克(pluronic)、PF68)。

界面活性劑之添加量為當使用例如HMW物種或LMW物種之SEC-HPLC檢定分析時，可將重新調製後之蛋白質的

聚集降至可接受的程度，及減少於抗IL-13抗體調配物之凍乾產物重新調製後之顆粒的形成。也顯示添加界面活性劑可縮短凍乾之抗IL-13抗體調配物之重新調製時間，以及協助溶液的除氣。舉例言之，界面活性劑可以由約0.001%至5 0.5%，例如由約0.005%至0.05%，約0.005%至約0.2%，及約0.01%至0.2%之數量存在於調配物(液體或凍乾前)。

添加至抗IL-13調配物

調配物係呈無菌溶液或無菌凍乾產物儲存。經由含括至少一種抗菌劑及/或抗真菌劑諸如對羥苯甲酸酯類、氯丁10 醇、酚、抗壞血酸、硫柳汞等於調配物，也可達成預防調配物中之微生物的作用。於若干情況下，凍乾產物係使用制菌水(例如含有0.9%苣醇之水)重新調製。一調配物中含括保藏劑之考量為技藝界所已知，如同已知與特定調配物及特定遞送方法可相容之保藏劑之識別方法亦為技藝界所15 已知(例如參考Gupta等人(2003)，AAPS Pharm. Sci. 5:文章8，第1-9頁)。

於若干情況下，該調配物為等張性。通常，技藝界已知對溶液滲透度/張性有貢獻之任一種組分可添加至調配物(例如鹽類、糖類、多元醇類、或其組合)。等張性通常係20 使用等張濃度之基本調配物中之一個組分(例如蔗糖)來達成；或經由添加額外組分諸如糖、多元醇諸如甘露糖醇或山梨糖醇、或鹽諸如氯化鈉來達成。

於若干情況下，鹽用於抗IL-13抗體調配物，例如來達成等張性，或來增加調配物之抗IL-13抗體的完好。適合使

用之鹽類討論參見上文。鹽濃度可由0 mM至約300 mM。

於某些情況下，調配物係使用吐溫(例如吐溫20、吐溫80)製備來減少界面降級。吐溫濃度可由約0.001%至約0.05%。

於一個實例中，吐溫80於調配物中係使用0.01%濃度。

- 5 於某些其它情況下，調配物係使用精胺酸製備。調配物中之精胺酸濃度可由約0.01%至約5%。於一個實例中，精胺酸係以2%濃度用於調配物。於若干情況下，吐溫及精胺酸二者添加至本文所述之IL-13調配物。

- 又有其它情況下，調配物可使用：山梨糖醇、甘胺酸、
 10 蛋胺酸、或氯化鈉中之至少一者製備。若山梨糖醇含括於調配物，則可添加至約1%至約10%濃度。於一實例中，山梨糖醇於調配物中之濃度為5%。若甘胺酸含括於該調配物，則可添加至約0.1%至約2%濃度。於一個實例中，甘胺酸於調配物中之濃度為1%。若蛋胺酸含括於調配物，則可
 15 添加約5mM至約150 mM濃度。於一個實施例中，蛋胺酸係以100 mM濃度添加至調配物。於另一個實施例中，蛋胺酸係以70 mM濃度添加至調配物。若氯化鈉含括於調配物，則可添加約5mM至約100 mM濃度。於一個實施例中，氯化鈉係以55 mM濃度添加至調配物。

20 儲存及製備方法

冷凍

於若干情況下，含抗體之調配物冷凍儲存。如此，期望調配物於此等條件下包括於冷凍-解凍週期下相對安定。一種測定調配物之適宜性之方法係讓樣本調配物接受

- 至少兩個，例如3、4、5、8、10、或更多個冷凍(例如於-20℃或-80℃)及解凍(例如於37℃水中快速解凍或於2℃-8℃緩慢解凍)週期，測定於該等冷凍-解凍週期積聚之LMW物種及/或HMW物種數量，且將該數量與於冷凍-解凍程序前樣本中之LMW物種或HMW物種之存在量做比較。LMW物種或HMW物種增加指示安定性降低。

凍乾

- 調配物可於凍乾後儲存。因此，凍乾後測試調配物中之蛋白質組分安定性，可用來測定調配物之適宜性。該方法係類似於前文對冷凍所述，但樣本調配物係經凍乾而非冷凍，重新調製成為其原先體積，及測試LMW物種及/或HMW物種之存在。凍乾樣本調配物與未經凍乾之相對應之樣本調配物做比較。凍乾樣本比較相對應樣本中，LMW物種或HMW物種增加，指示凍乾樣本之安定性降低。適合測試凍乾方案之方法實例提供於實例5，參見下文。

- 大致上，凍乾方案包括將一樣本載荷入凍乾機內、預冷卻週期、冷凍、起始真空、斜坡爬升至一次乾燥溫度、一次乾燥、斜坡爬升至二次乾燥溫度、二次乾燥、及樣本加塞。凍乾方案可選擇之額外參數包括真空(例如以微米表示)及冷凝器溫度。溫度之適當斜坡爬升速率為約0.1℃/分鐘至2℃/分鐘，例如0.1℃/分鐘至1.0℃/分鐘，0.1℃/分鐘至0.5℃/分鐘，0.2℃/分鐘至0.5℃/分鐘，0.1℃/分鐘，0.2℃/分鐘，0.3℃/分鐘，0.4℃/分鐘，0.5℃/分鐘，0.6℃/分鐘，0.7℃/分鐘，0.8℃/分鐘，0.9℃/分鐘，及1.0℃/分鐘。一個

凍乾週期之冷凍期間之適當托架溫度通常係由約-55°C至-5°C、-25°C至-5°C、-20°C至-5°C、-15°C至-5°C、-10°C至-5°C、-10°C、-11°C、-12°C、-13°C、-14°C、-15°C、-16°C、-17°C、-18°C、-19°C、-20°C、-21°C、-22°C、-23°C、-24°C、或-25°C。

- 5 一次乾燥與二次乾燥之托架溫度可不同，例如一次乾燥可於比二次乾燥更低溫進行。於一個非限制性實例中，一次乾燥可於0°C執行，而二次乾燥係於25°C執行。

- 於若干情況下，冷凍期間以及起始真空之前使用退火方案。於此等情況下，需選擇退火時間，溫度通常係高於組成物之玻璃轉換溫度。通常，退火時間為約2至15小時，約3至12小時，約2至10小時，約3至5小時，約3至4小時，約2小時，約3小時，約5小時，約8小時，約10小時，約12小時，或約15小時。退火溫度通常係由約-35°C至約-5°C，例如由約-25°C至約-8°C，約-20°C至約-10°C，約-25°C，約-20°C，約-15°C，約0°C，或約-5°C。於若干情況下，退火溫度通常由-35°C至5°C，例如由25°C至-8°C，-20°C至-10°C，-25°C，-20°C-15°C，0°C，或5°C。
- 10
15

- 於一個實例中，此處所述調配物中之抗IL-13抗體驗證為對多種凍乾參數而言為強勁，該等凍乾參數包括：是否存在有於高於玻璃轉換溫度(T_g)之預先真空加熱處理(退火)步驟、由-25°C至30°C之一次乾燥托架溫度、及於25°C-30°C之二次乾燥時間2小時至9小時。
- 20

於一個非限制性實例中，10 mM組胺酸、5%蔗糖、pH 6.0於蛋白質濃度50毫克/毫升IL-13之調配物係散裝調配且

經凍乾。於凍乾後，產物以約半量填充量重新調製來遞送
100毫克/毫升蛋白質。IL-13抗體於凍乾至極端產物溫度時
驗證為強勁(參考後文實例及第10-12圖)。於50°C儲存4週之
安定性輪廓資料係與使用多個冷凍乾燥週期製備之材料相
5 同(例如參考第16-20圖)，若干於一次乾燥期間之產物溫度
有接近10°C差異(例如參考第13圖)。通常，凍乾週期係由10
小時至100小時，例如20小時至80小時，30小時至60小時，
40小時至60小時，45小時至50小時，50小時至65小時。

抗體調配物之儲存溫度範圍之非限制性實例為約
10 -20°C至約50°C，例如約-15°C至約30°C，約-15°C至約20°C，
約5°C至約25°C，約5°C至約20°C，約5°C至約15°C，約2°C至
約12°C，約2°C至約10°C，約2°C至約8°C，約2°C至約6°C，
2°C，3°C，4°C，5°C，6°C，7°C，8°C，10°C，15°C，或25°C。
儘管有儲存溫度，但於某些情況下，於此等組成物可能預
15 期之儲存及運輸條件下短暫性發生之溫度變化下，樣本保
持安定。

噴霧-乾燥

於若干情況下，調配物經過噴霧乾燥然後儲存。噴霧
乾燥係使用技藝界已知方法進行，可修改來使用液體噴霧
20 乾燥或冷凍噴霧乾燥[例如使用諸如得自尼洛公司(Niro
Inc.) (威斯康辛州，馬迪森)、亞波頓顆粒技術公司(Upperton
Particle Technologies) (英國諾丁罕)或布奇(Buchi) (布林克
曼儀器公司(Brinkman Instruments Inc.)，紐約威斯伯瑞)或
美國專利公告案20030072718及20030082276之該等方法]。

抗體完好之測定

- LMW物種及HMW物種之積聚為抗體安定性之有用測量手段。LMW物種或HMW物種積聚於調配物係指示儲存作為調配物之一部分之蛋白質不安定。帶有HPLC之尺寸排除層析術可用來測定LMW物種及HMW物種的存在。此等測量之適當系統為技藝界所已知，例如HPLC系統(瓦特斯公司(Waters)，麻省密耳福)。其它技藝界已知系統可用來評估調配物中之抗體的完好，該等系統例如SDS-PAGE (監測HMW物種及LMW物種)、抗體活性之生物檢定分析、酶
- 5 聯結免疫吸附檢定分析、結合經純化之IL-13蛋白質之能力、及陽離子交換-HPLC (CEX-HPLC；來測定變化與監視表面電荷)。於一個實例中，生物檢定分析為基於細胞之生物檢定分析，其中檢驗於不同濃度經調配之抗體的存在下，IL-13-相依性細胞增生之抑制作用，來驗證生物活性，
- 10 亦即驗證結合IL-13且將IL-13由細胞隔離之能力。
- 15

製造物件

- 本發明亦提供一種製造物件，其包括如此處所述之調配物且提供使用該調配物之指示。該製造物件包括適合用來盛裝該調配物之容器。適當容器可為，但非限制性，瓶子、小瓶、注射器、試驗管、霧化器(例如超音波霧化器或振搖篩網霧化器)、靜脈輸注溶液袋、或吸入器(例如計量劑量吸入器(MDI)或乾粉吸入器(DPI))。容器可由任一種適當材料製成，諸如玻璃、金屬或塑膠諸如聚碳酸酯、聚苯乙烯、或聚丙烯。大致上，容器係由不會從調配物中吸附顯
- 20

著量之蛋白質之材料，也不會與調配物之各個組分反應之材料所製成。於若干實施例中，該容器為帶有威斯特(West) 4432/50 1319聚矽氧化灰色瓶塞或威斯特4023杜拉芙洛(Durafluor)瓶塞之透明玻璃小瓶。於若干實施例中，容器為

5 注射器。於特定實施例中，該調配物包含100毫克/毫升抗IL-13抗體(例如IMA-026、IMA-638)、10 mM組胺酸、5%蔗糖、0.01%吐溫-80、40 mM NaCl、pH 6.0於預填充注射器。於若干實施例中，注射器適合用於自動注射器裝置。

霧化器之實例於非限制性實例中，包括噴射霧化器、

10 超音波霧化器、及振搖篩網霧化器。此等類別使用不同方法來由液體形成噴霧。大致上，可於此等調配物中維持蛋白質完好之任一種噴霧產生性裝置皆適合用於遞送如此處所述之調配物。

欲用來投予個體例如用作為藥物之調配物必須為無

15 菌。此點係經由使用技藝界已知方法達成，例如於液體調配物或凍乾調配物重新調製之前或之後，通過無菌過濾膜過濾而達成。另外，當不會破壞結構時，調配物之各組分可藉高壓鍋滅菌，然後與過濾滅菌或輻射滅菌組分組合來製造該調配物。

20 治療方法

抗IL-13抗體調配物可用於治療與IL-13非期望之表現或活性相關聯之病症。此等病症包括發炎病症諸如關節炎、氣喘、發炎性腸病、發炎性皮膚病、多發性硬化症、骨質疏鬆、腱炎、過敏病症、回應於對宿主之傷害之發炎、

敗血病、類風濕性關節炎、骨關節炎、腸躁症、潰瘍性大腸炎、牛皮癬、系統性紅斑性狼瘡、及任何其它自體免疫病。於該方法之某些實施例中，該IL-13相關病症為過敏性氣喘、非過敏性氣喘、B細胞慢性淋巴細胞性白血病(B細胞

5 CLL)、何杰金氏病、血吸蟲病之組織纖維化、自體免疫性風濕病、發炎性腸病、類風濕性關節炎、涉及呼吸道發炎之病症、嗜伊紅血球增多、纖維化及過度產生黏液(例如囊腫性纖維化及肺纖維化)；異位性病症(例如過敏性鼻炎)；皮膚之發炎性病症及/或自體免疫病症(例如異位性皮膚

10 炎)、胃腸器官之發炎性病症及/或自體免疫病症(例如發炎性腸病(IBD))、肝之發炎性病症及/或自體免疫病症(例如肝硬化)；病毒性感染；硬皮病及其它器官之纖維化諸如肝纖維化、過敏性結膜炎、濕疹、蕁麻疹、食物過敏、慢性阻塞性肺疾(COPD)、潰瘍性大腸炎、呼吸道融合病毒感染、

15 葡萄膜炎、硬皮病或骨質疏鬆症。如此，抗IL-13抗體調配物可用作為藥學組成物。

本發明提供處理有病症風險(或易感)或患有病症或併發與脫序的或非期望的IL-13表現或活性之病症之預防方法及治療方法二者。如此處使用，「治療」一詞係定義為治

20 療劑施用或投予個體，或治療劑施用或投予由一個體分離之組織或細胞系，該個體患有疾病、疾病症狀、或好發疾病，用於治療、治癒、減輕、緩解、變更、補救、改善、改進或影響該疾病、該疾病症狀或好發該疾病。

抗IL-13抗體調配物可使用技藝界已知方法投予有需

要處理之個體，該等投藥方法包括經口、經腸道外、皮下、肌肉、靜脈、關節內、支氣管內、腹內、囊內、軟骨內、腔內、腹腔內、小腦內、腦室內、大腸內、頸內、胃內、肝內、心肌內、眼內、骨內、骨盆內、心包內、腹膜內、
 5 胸膜內、攝護腺內、肺內、直腸內、腎內、網膜內、脊椎內、滑液內、胸內、子宮內、膀胱內、病灶內、大劑量、陰道、直腸、經頰、舌下、鼻內、經皮(局部)、或經黏膜投予。用於藉吸入投藥，化合物係呈噴霧由含有適當推進劑例如氣體諸如二氧化碳之加壓容器或配送器或由霧化器呈
 10 氣霧劑噴霧形式遞送。於若干實施例中，該調配物係呈持續釋放配方、長期釋放配方、定時釋放配方、控制釋放配方、或連續釋放配方投藥。於若干實施例中，長效調配物用來將抗體投予有需要的個體。

口服組成物或腸道外組成物可呈溶液投藥且劑量均勻
 15 之單位劑型製備。如此處使用「單位劑型」係指適合對欲治療的個體呈單位劑量之實體上分開單元；各個單元含有預定量之活性化合物，該預定量經計算來產生與所選定之藥學載劑相關聯之期望的治療效果。於吸入方法例如經計量劑量吸入器之情況下，該裝置經設計可遞送適量調配物。

20 藉技藝界已知之製藥程序，使用例如測定LD₅₀(對50%族群之致命劑量)及ED₅₀(用於50%族群之治療有效劑量)之細胞培養或實驗動物，可測定調配物之毒性及療效。毒性與療效間之劑量比為治療指數，可以LD₅₀/ED₅₀比表示。

得自細胞培養檢定分析及動物研究之資料可用來調配

一定範圍之劑量供人類使用。此種調配物之劑量通常係在包括ED₅₀而極少有毒性或無毒性之循環濃度範圍。依據所採用之劑型及利用之投藥途徑決定，劑量可於此範圍以內改變。對任何用於本發明方法之調配物，治療有效劑量初步可由細胞培養檢定分析估計。一劑劑量可於動物研究模型中調配來達成如於細胞培養中測定之包括IC₅₀ (亦即可達成症狀之半最大抑制之試驗化合物濃度)之濃度範圍。此項資訊可用來更準確判定用於人體之有用劑量。且將濃度例如可藉高效液相層析術或特定結合檢定分析(例如ELISA)測定。適當動物研究模型為技藝界已知，包括但非限於非人靈長類，其中回應於抗原挑釁驗證有效之非人靈長類，以及於抗原挑釁後之抗原敏感羊及天竺鼠。

調配物通常之遞送方式讓劑量至少約為0.1毫克抗IL-13抗體/千克體重(通常約1毫克/千克至約10毫克/千克)。若抗體欲作用於腦部，則以50毫克/千克至100毫克/千克劑量為適當。當直接遞送至作用部位，例如當藉吸入而直接投藥至肺臟組織時(比較腸道外投藥)可降低劑量。此處所述調配物可用於此處所述之任一種治療方法之藥物。

組合治療

於本發明之若干面相中，此處所述調配物可經修改來投予作為與其它藥劑之綜合治療的一部分。組合治療係指組合兩種或多種不同治療性化合物之任一種投藥形式，讓先前投予之治療性化合物於體內仍然有效時，投予第二化合物(例如兩種化合物可於病人體內同時有效，可包括兩種

化合物之協同效果)。舉例言之，不同治療性化合物可於同一配方中投藥，或於分開配方中同時或連續投藥。如此，接受此種治療之個體可獲得不同治療性化合物之組合(聯合)效果。較佳可與IL-13抗體共同投藥及/或共同配方之額外治療劑之實例包括：吸入性類固醇； β -激動劑例如短效性 β -激動劑或長效性 β 激動劑；白三烯或白三烯受體拮抗劑；組合藥物例如阿德維爾(ADVAIR)；IgE抑制劑例如抗IgE抗體(例如索雷爾(XOLAIR))；磷酸二酯酶抑制劑(例如PDE4抑制劑)；黃嘌呤類；抗膽鹼激性藥；肥大細胞安定劑諸如克摩林(cromolyn)；IL-4抑制劑；IL-5抑制劑；伊歐塔辛(eotaxin)/CCR3抑制劑；及抗組織胺類。此種組合物可用來治療氣喘及其它呼吸病症。可與IL-13抗體共同投予及/或共同調配之治療劑之額外實例包括下列中之一者或多者：TNF拮抗劑(例如TNF受體例如p55或p75人TNF受體或其衍生物之可溶性片段，例如75 kd TNFR-IgG (75kD TNF受體-IgG融合蛋白、恩布雷爾(ENBRELL))；TNF酶拮抗劑例如TNF α 轉化酶 (TACE)抑制劑；蕁毒鹼受體拮抗劑；TGF- β 拮抗劑；干擾素 γ ；波菲尼冬(perfenidone)；化學治療劑例如甲胺喋呤(methotrexate)、雷芙諾麥(leflunomide)或希洛里莫(sirolimus) (拉帕黴素(rapamycin))或其類似物例如CCI-779；COX2及cPLA2抑制劑；NSAID；免疫調節劑；p38抑制劑、TPL-2、Mk-2及NF κ B抑制劑等。

例如於發炎病症之情況下，如此處所述之抗IL-13抗體調配物可與可用於發炎疾病或病症治療之一種或多種其它

藥劑組合投予。此等藥劑可連同抗IL-13抗體調配，或與分開調配物實質上同時投藥或循序投藥。於若干情況下，該藥劑可為具有與該調配物之抗IL-13抗體不同的抗原決定部位之IL-13抗體。其它可用於治療發炎疾病或病症之藥劑

5 包括但非限於抗炎劑或消炎藥。消炎藥包括例如糖皮質激素類諸如可體松(cortisone)、氫可體松(hydrocortisone)、普尼松(prednisone)、普尼索隆(prednisolone)、芙可妥隆(flucortolone)、崔安喜農(triamcinolone)、甲基普尼索隆、普尼里定(prednylidene)、帕拉美沙松(paramethasone)、德莎

10 美沙松(dexamethasone)、貝它美沙松(betamethasone)、貝克美沙松(beclomethasone)、芙沛尼里定(fluprednylidene)、德索喜美沙松(desoxymethasone)、芙喜諾隆(flucinolone)、芙尼沙松(flunethasone)、迪芙可妥隆(diflucortolone)、克可妥隆(clocortolone)、克貝它梭(clobetasol)及芙可汀(flucortin)

15 丁酯；免疫遏止劑諸如抗TNF(例如伊塔納賽(etanercept)、英菲喜麥(infliximab))及IL-1抑制劑；青黴胺(penicillamine)；非類固醇抗炎藥(NSAID)其涵蓋消炎藥、止痛藥及解熱藥諸如水楊酸、希勒可喜(celecoxib)、迪芙尼撒(difunisal)及得自經取代之苯乙酸鹽或2-苯丙酸鹽諸如亞

20 克菲奈(alclofenac)、伊布特奈(ibutenac)、伊布波芬(ibuprofen)、可林達奈(clindanac)、芬克拉(fenclorac)、凱托波芬(ketoprofen)、菲諾波芬(fenoprofen)、英多波芬(indoprofen)、芬克菲奈(fenclofenac)、迪克菲奈(diclofenac)、芙羅比波芬(flurbiprofen)、皮波芬(pipirofen)、

拿波森(naproxen)、貝諾撒波芬(benoxaprofen)、卡波芬(carprofen)及喜克波芬(cicloprofen)；歐喜康(oxican)衍生物諸如派洛喜康(piroxican)；鄰胺基苯甲酸衍生物諸如美菲拿米酸(mefenamic acid)、芙菲拿米酸(flufenamic acid)、妥菲拿米酸(wolfenamic acid)及美克菲拿米酸(meclofenamic acid)、經苯胺基取代之菸鹼酸衍生物諸如菲拿玫(fenamates)迷芙米酸(miflumic acid)、克尼辛(clonixin)及芙尼辛(flunixin)；雜芳基乙酸類其中該雜芳基為2-吡啶-3-基或吡咯-2-基諸如英多美沙辛(indomethacin)、歐美塔辛(oxmetacin)、英查佐(intrazol)、艾席美塔金(acemetazin)、辛美塔辛(cinmetacin)、左美皮拉(zomepirac)、妥美汀(tolmetin)、科皮拉(colpirac)及泰波菲尼酸(tiaprofenic acid)；蘇林達克(sulindac)型伊蘭基(idenyl)乙酸；止痛活性雜芳氧基乙酸類諸如班哲達克(benzadac)；苯丁脞；伊托多辣(etodolac)；納布內同(nabunetone)；及疾病改性抗風濕藥(DMARD) 諸如甲胺喋呤、金鹽、羥氯奎(hydroxychloroquine)、蘇法沙拉今(sulfasalazine)、喜克波靈(ciclosporin)、阿哲席平(azathioprine)、及雷芙諾麥(leflunomide)。

其它可用於發炎疾病或病情治療用之治療劑包括抗氧化劑。抗氧化劑可為天然或合成。抗氧化劑例如為超氧化物歧化酶(SOD)、21-胺基類固醇/胺基吡啶、維生素C或維生素E等。多種其它抗氧化劑為熟諳技藝人士眾所周知。

如此處所述之抗IL-13抗體調配物可用作為發炎病症

治療劑化之一部分，該治療計畫可組合多種不同抗炎劑。

舉例言之，如此處所述之抗IL-13抗體調配物可與IL-4抑制劑、IL-5抑制劑、IgE抑制劑、IL-9抑制劑、TNF拮抗劑、

伊歐塔辛/CCR3拮抗劑、NSAID、DMARD、免疫遏止劑、

5 磷酸二酯酶抑制劑、或抗組織胺中之一者或多者組合投

藥。於本案之一個實施例中，如此處所述之抗IL-13抗體調

配物可組合甲胺喋呤投予。於另一個實施例中，如此處所

述之抗IL-13抗體調配物可組合TNF- α 抑制劑投予。於氣喘

情況下，如此處所述之抗IL-13抗體調配物可組合NSAID、

10 皮質類固醇、白三烯調節劑、長效性 β 腎上腺素激動劑、茶

鹼、抗組織胺及克摩林中之一者或多者一起投藥。

於癌症病例，如此處所述之抗IL-13抗體調配物可與一種或多種抗血管新生因子、化學治療劑或作為放射性治療

之輔劑組合投予。進一步涵蓋如此處所述之抗IL-13抗體調

15 配物之投予將作為癌症治療計畫之一部分，該癌症治療計

畫可組合多種不同癌症治療劑。於腸躁症(IBD)之情況下，

如此處所述之抗IL-13抗體調配物可與一種或多種抗炎劑

且可額外與經修改之膳食計畫一起投予。

實例

20 進一步藉下列實例舉例說明本發明。該等實例僅供舉

例說明之用。而絕非解譯為限制本發明之範圍或內容。

實例1：凍乾抗IL-13調配物之安定性

儲存欲用於例如治療用途之抗體之一種方法係呈藉凍

乾製備乾粉儲存。如此研究經過凍乾之抗IL-13調配物之長

期安定性。簡言之，含有人化抗IL-13抗體(50毫克/毫升)，
10 mM組胺酸，5%蔗糖(w/v)，pH 6.0之調配物係藉過濾滅
菌製備，約3.2毫升配送入5毫升去除熱原之玻璃管小瓶內
然後凍乾。調配物於4°C、25°C、或40°C儲存1個月、2個月、
5 3個月、6個月及12個月，以及於4°C及25°C儲存18個月及24
個月，然後使用1.3毫升無菌水(USP)來重新調製，將重新
調製後之調配物調整至1.6毫升，讓該調配物為100毫克/毫
升抗IL-13抗體，20 mM組胺酸，及10%蔗糖，pH 6.0。

HMW物種百分比係使用SEC-HPLC檢定分析。於凍乾
10 及重新調製前，調配物中之HMW物種百分比係占調配物之
總蛋白質之約1%-1.5%，於全部於4°C及25°C儲存之樣本中
也占約1%-2% (第1圖)。於40°C儲存12個月後，調配物約為
3.5% HMW物種(第1圖)。如此樣本於5°C及25°C儲存24個
月，樣本中之HMW物種含量實質並未升高。

15 凍乾後之抗IL-13抗體調配物也使用基於細胞之檢定
分析接受生物活性之檢定分析，其中於不同濃度經調配之
抗體存在下，檢驗IL-13相依性細胞增生之醫治作用，驗證
生物活性，亦即結合IL-13與阻隔IL-13於細胞之能力。檢定
分析結果係與使用未儲存之不同的抗IL-13抗體之結果相
20 比較。第2圖顯示得自此種生物檢定分析集合之資料。總而
言之，儲存24個月後任何試樣之生物活性量實質並無改
變。如此，如生物活性測定，該調配物適合用於凍乾調配
物儲存至少24個月。

此等資料驗證如此處所述之凍乾抗IL-13調配物適合

用於至少儲存24個月。

實例2：高濃度液體調配物之安定性

於若干情況下，期望以液體形式儲存抗IL-13抗體調配物。如此，研究含相對高濃度抗IL-13抗體之液體抗IL-13
5 調配物之長期安定性。簡言之，經由將於去除熱原玻璃小瓶中之調配物過濾滅菌，製備含人化抗IL-13抗體(100毫克/毫升)，10 mM組胺酸，5%蔗糖(w/v)，pH 6.0之調配物供儲存。調配物係儲存於2°C-8°C、15°C、或25°C，6週、3個月、6個月、9個月、12個月、18個月及24個月，或於40°C儲存
10 約6週、3個月、及6個月，每次檢定分析是否存在有HMW物種、LMW物種、生物活性及濃度。

HMW物種之百分比係使用SEC-HPLC檢定分析。於儲存前於調配物中之高分子量物種之百分比係占調配物之總蛋白之2%-3%，及於2°C-8°C、15°C及25°C (第3圖)儲存達9
15 個月之樣本中約為2%-4%，以及於2°C-8°C及15°C儲存長達24個月約為2%-4%。於40°C儲存6個月後，調配物含有低於9% HMW物種(第3圖)。如此，於低溫條件下儲存24個月之樣本中，HMW物種濃度實質並未增加。

於抗IL-13抗體調配物中之LMW物種之百分比也於該
20 100毫克/毫升抗IL-13抗體調配物中檢定分析。於儲存前於調配物中之LMW物種之百分比係占儲存前調配物之總蛋白之1%-2%，及於2°C-8°C、15°C及25°C (第4圖)儲存達9個月之樣本中約為1%-3%，以及於2°C-8°C儲存長達24個月約為1%-3%。於40°C儲存6個月後，調配物含有低於11% LMW

物種(第4圖)。如此，於低溫條件下儲存24個月之樣本中，LMW物種濃度實質並未增加。

使用該100毫克/毫升抗IL-13抗體調配物又檢驗另一種安定性：結合活性安定性。此等實驗中，於2°C-8°C、15°C、
5 25°C及40°C儲存1個月、3個月、及6個月，以及於2°C-8°C及25°C只儲存9個月後，該配方之結合活性百分比於對照組做比較。該檢定分析特別監測抗IL-13結合至經標記的IL-13細胞激素試劑之結合親和力。

調配物之初始結合親和力約占參考樣本之120%，於6
10 個月之試驗期對任何樣本實質上不變(第5圖)。測量得之結合活性高達參考樣本之約200%，此等檢定分析通常觀察得誤差，實質反映出樣本之結合活性隨著時間的經過並無變化，結合結果並無溫度相關趨勢。

生物檢定分析也用作為100毫克/毫升抗IL-13抗體調配
15 物之安定性參數。檢定分析係如前文實例1所述進行。樣本於2°C-8°C、15°C及25°C儲存約6週、3個月、6個月、9個月、12個月、18個月、或24個月，或於40°C儲存約6週、3個月或6個月。資料也以每毫克之結合單位表示(第6圖)。

於儲存前樣本約為 4.5×10^7 單位/毫克，培養後約為
20 $4.5-7.5 \times 10^7$ 單位/毫克。如此實質上反應出儲存期間樣本之生物活性無改變。數值變化反映出檢定分析特有之變異。由於樣本之生物活性量並未減低，故此等資料進一步證實抗IL-13調配物用於儲存之適宜性。

也藉UV/Vis檢定分析於2°C-8°C、15°C及25°C儲存約6

週、3個月、6個月、9個月、12個月、18個月、或24個月，或於40°C儲存約6週、3個月或6個月之100毫克/毫升抗IL-13抗體調配物之濃度。液體調配物濃度為全部研究之溫度實質類似(第7圖)。

5 實例3：低濃度液體調配物之儲存

欲進一步檢驗本發明調配物及其用於抗IL-13抗體之儲存之適宜性，測試含相對低濃度抗IL-13之一種調配物。該調配物為含有0.5毫克/毫升人化抗IL-13抗體，10 mM組胺酸，5%蔗糖，於pH 6.0之液體調配物。樣本於5°C儲存6個月及12個月後測試，然後測試多種安定性參數；HMW物種、LMW物種蛋白質濃度、及結合活性。HMW物種及LMW物種係使用所述方法檢定分析，參見上文。蛋白質濃度係使用紫外光-可見光光譜檢定分析，經由測量樣本於280奈米之光密度，扣除於320奈米之散射，使用蛋白質之莫耳濃度吸收性計算。結果摘述於表1。

表1

參數	T=0	6個月	12個月
% HMW物種 (占總量之百分比)	0.02%	0.03%	0.08%
%LMW物種 (占總量之百分比)	0.12%	0.41%	0.79%
濃度	0.44毫克/毫升	0.51毫克/毫升	0.59毫克/毫升
%結合活性 (占標準品之百分比)	未測定	126%	128%

此等資料驗證於所檢定分析之安定性參數中之任一者並無實質變化，證實含有相對低濃度抗IL-13抗體之抗IL-13抗體調配物之適宜性。

20 實例4：噴霧抗IL-13調配物之適宜性

抗IL-13抗體調配物之一項用途係例如藉霧化來直接投予肺臟系統。欲測試調配物霧化之適宜性，0.5毫克/毫升人化抗IL-13抗體，10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0之調配物使用市售霧化器噴霧，回收該氣霧，經由檢定分析降級5 (HMW物種之形成)、使用SEC-HPLC之回收率及結合活性來測試完好。結果摘述於表2。

表2

參數(方法)	對照(霧化前)	霧化後
% HMW物種(SEC-HPLC)	0.75	0.80
%回收率(SEC-HPLC)	100%	99%
濃度(紫外光-可見光光譜術)	20.7毫克/毫升	21.3毫克/毫升
%結合活性(ELISA)	189%	186%

此等資料驗證於所檢定分析之安定性參數中之任一者並無實質變化，證實抗IL-13抗體調配物用作為霧化劑型之適宜性。10

實例5：混合及過濾

於前述調配物中之抗IL-13抗體驗證對兩種常見製造單元操作亦即混合及過濾為強勁。簡言之，抗IL-13抗體係於可媲美製造期間所使用之下降漿葉速度及時間，於50毫15 克/毫升蛋白質濃度混合。所收集之各樣本相對於起始物料，濃度(使用紫外光-可見光光譜術檢定分析)、高分子量物種(使用SEC-HPLC檢定分析)及生物活性(使用結合檢定分析)並未顯示任何變化。

於混合研究後，使用氮氣加壓，抗IL-13抗體通過常用20 0.22微米滅菌過濾器。大致上，氮壓力係低於約30 psig。於

過濾後，相較於起始物料，濃度(使用紫外光-可見光光譜術檢定分析)、高分子量物種(使用SEC-HPLC檢定分析)及生物活性(使用結合檢定分析)並未顯示任何變化。

實例6：凍乾及重新調製

- 5 於抗體之凍乾及重新調製條件方案之一個非限制性實例中，含10 mM組胺酸，5% (50毫克/毫升)蔗糖，pH 6.0及3.2毫升抗體濃度為50毫克/毫升之調配物配送入透明玻璃管小瓶(有威斯特4432/50 1319聚矽氧化灰色瓶塞)內及凍乾。冷凍乾燥時，小瓶之乾含量如下：160毫克抗體， 3.2×10^{-5} 莫耳組胺酸及160毫克蔗糖。基於固體密度(於約1克/毫升密度約為320毫克)，由凍乾所得固體餅之體積約為0.32毫升。欲重新調製樣本，1.3毫升水添加至小瓶內容物。小瓶內容物溶解於定量稀釋劑(1.3毫升)，加上固體本身的體積(0.3毫升)，共約1.6毫升，調配物濃度為約100毫克/毫升抗體約20 mM組胺酸，及約10%蔗糖，pH 6.0。

實例7：樣本之製備及凍乾

抗IL-13抗體樣本之製備

- 20 濃度為約85毫克/毫升之人化抗IL-13抗體於20 mM組胺酸，10%蔗糖pH 6.0之冷凍樣本於37°C水浴中解凍。使用6 kD-8 kD分子量截留史貝車/波(Spectra/Por)透析管，一整份125毫升解凍後之材料對10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0透析。所得溶液以10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0稀釋至50毫克/毫升目標(抗IL-13抗體調配物用作為藥物)。

凍乾實務

全部回合中，於門前有鋁箔屏障及托架高度63毫米用來減少凍乾機內部輻射。於全部回合中，一個托盤完全填滿來維持凍乾機上的一致負載。全部蛋白質小瓶之瓶塞經過高壓滅菌及乾燥。全部蛋白質小瓶皆以去離子水且經過
5 去除熱原水清洗。用來填裝托盤其餘部分之小瓶及瓶塞者未經處理。

於生物安全櫥中，以無菌方式製備以抗IL-13抗體調配物播種之小瓶，目標量為160毫克/小瓶。於各個回合前，安定性研究用之小瓶以實例6所述之3.2毫升新製調配物填充(先前未經凍乾材料)。凍乾期間，額外小瓶以與目標凍乾
10 週期可相容性之適當緩衝液填充來維持凍乾機之一致負載。透過蛋白質陣列內部之熱偶的使用來監視凍乾情況。經調變之差動掃描量熱術(mDSC)

全部mDSC之樣本皆以調變形式進行，幅度為0.5°C及
15 時間長度為100秒。用於凍乾後粉末，樣本以2°C/分鐘加熱至150°C。全部粉末樣本皆係使用經過氮氣掃除之手套箱製備。對液體樣本，全部溫度斜坡皆係以0.5°C/分鐘執行，溫度係匹配凍乾週期所使用之溫度。終加熱斜坡係於2°C/分鐘進行來放大玻璃轉換。液體樣本係於實驗室工作台製備。

20 凍乾顯微術

欲進行凍乾顯微術，樣本以0.5°C/分鐘冷凍至-40°C來模擬凍乾狀況。於真空起始後，溫度徐緩升高來觀察樣本之結構變化呈昇華期間之溫度之函數。凍乾顯微術不允許控制壓力，故樣本係於完全真空下乾燥。

水分分析

- 使用卡爾費雪(Karl Fischer)滴定來檢定分析凍乾後樣本中之水分。凍乾後之樣本使用3毫升甲醇重新調製。進行重複注射或三重注射500微升。於使用後注射1%水標準品
- 5 用於適宜性檢驗。

富立葉轉換紅外光光譜術(FTIR)

- FTIR測量於乾粉狀態之抗體之二次結構。含有約1毫克經配方之乾燥後的蛋白質分散於300毫克KBr之丸粒經加壓及掃描200次。於資料收集後，分析涉及蔗糖安慰劑光譜之
- 10 扣除、基準線校正、平滑化、二次微分、及面積規度化。

安定性

- 調配物中之凍乾抗體之安定性係以儲存時間及溫度之函數評估。凍乾後之抗IL-13抗體樣本係於凍乾後、於2°C-8°C儲存4週後及於50°C儲存2週及4週後檢定分析。冷凍
- 15 後樣本儲存於大型冷凍室內。高溫樣本儲存於設定於50°C之雷蘭英瑞培育器(Lab Line Imperial Incubator)內。於適當時間點，樣本由儲存中取出，於檢定分析前，讓其溫熱或冷卻至室溫。

重新調製與目測外觀

- 20 得自凍乾後分析及儲存安定性分析二者之經凍乾調配物之小瓶係於以1.2毫升無菌注射用水重新調製之前、之中及之後目測檢查。小瓶於照明箱內相對於黑白背景目測檢查餅色彩、完好性、水分、顆粒、及缺陷，隨後進行重新調製。於目測檢驗凍乾餅後，使用去除捲邊器由小瓶去除

- 瓶帽及捲邊密封。移開瓶塞，使用適當滴量管小心將無菌注射用水緩慢配送入小瓶內部。稀釋劑係以攪動配送來確保凍乾餅的完全濕潤。一旦稀釋劑已經完全配送，使用標準實驗室計時器開始重新調製的計時，且將小瓶加塞。當
- 5 末塊固體溶解時，重新調製完成。用雙手來滾轉小瓶也可協助重新調製。當凍乾餅於重新調製過程時，紀錄有關溶解溶液之觀察諸如澄清度、氣泡及起泡。一旦重新調製完成，紀錄重新調製時間，小瓶靜置於工作台上數分鐘，讓所得溶液可沈降，重新調製期間所形成之大部分氣泡散
- 10 逸。然後重新調製後之溶液於光箱中相對於黑白背景檢查色彩澄清度及顆粒。

高效尺寸排除層析術(SEC-HPLC)

- 2微升抗IL-13抗體調配物之淨樣本注入有防衛管柱(托索哈斯(TosoHaas)零組件號碼08541及08543)之G3000swx1
- 15 管柱上。動相為添加250 mM氯化鈉之磷酸鹽緩衝食鹽水(PBS)。流速為0.75毫升/分鐘，執行時間為30分鐘。紫外光吸光比係於波長280奈米監測。層析圖使用瓦特斯Empower軟體積分來分開抗IL-13抗體主峰與高分子量物種及低分子量物種。
- 20 供濃度測定用之紫外光-可見光吸光比光譜術(A_{280})

具有抗體100毫克/毫升濃度之調配物樣本，經由添加10微升樣本至1990微升及3990微升10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0而分別稀釋至約0.5毫克/毫升及0.25毫克/毫升。200微升所得溶液置於96孔微板之各孔內，連同緩衝液空白

組。孔板於史貝車麥普拉司(Spectramax® Plus)孔板讀取器讀取於波長280奈米及320奈米之紫外光吸光比。由280奈米吸光比扣掉320奈米吸光比，除以消光係數(1.405毫升/毫克-厘米)乘以徑長(1厘米)，測定各孔內溶液之蛋白質濃度。

- 5 應用適當稀釋因數，測定平均蛋白質濃度。

供光散射之紫外光-可見光吸光比光譜術(A_{420})

各200微升欲分析之各種抗IL-13抗體樣本計量入96孔微孔板之各孔。緩衝液空白組用作為對照組。孔板係於史貝車麥普拉司孔板讀取器讀取於420奈米波長之可見光吸光比。

- 10

電化學冷光(ECL)結合檢定分析

樣本利用大腸桿菌(*E. coli*) Flag抗IL-13抗體結合檢定分析格式(百歐維瑞司公司(Bio Veris)，馬里蘭州蓋塞堡)接受結合分析。檢定分析係對計量入96孔孔板格式之樣本進行。

- 15

抗IL-13抗體生物檢定分析

樣本使用TF-1細胞增生生物檢定分析來測試生物活性。IL-13抗體於活體內阻斷IL-13細胞激素結合至細胞表面受體，防止涉及過敏病及氣喘病因之載有受體之細胞活化。本研究所使用之試管內生物檢定分析模型包含一細胞系(人TF1紅血球性白血病細胞系；ATCC CRL-2003)，該細胞系可表現IL-13受體且可於IL-13細胞激素之存在下增生。

- 20

藉IL-13抗體抑制TF1細胞之IL-13反應，係使用4-參數邏輯方程式帶入。經由將IL-13抗體試驗樣本之抑制曲線與

用作為檢定分析標準品之參考材料之抑制曲線做比較，來測定生物活性(相對強度)。

週期發展策略

使用一系列循序步驟(容後詳述)來發展出凍乾週期。

5 臨界產物溫度之識別

- 抗IL-13抗體之臨界產物溫度係藉兩種正交方法，亦即調變差動掃描量熱術(mDSC)及冷凍乾燥顯微術識別。此二方法可用來識別冷凍製品之玻璃轉換溫度(mDSC)及所造成之瘍陷(冷凍乾燥顯微術)。可於一次乾燥期間將產品維持於此溫度之凍乾週期須獲得完好的餅結構。最低適合溫度推定為-25°C，故此溫度常含括於設計用來測試發展如此處所述之抗體配方及凍乾方法時的測試條件及配方中。

凍乾週期執行

- 基於由所述研究所得結果，參見上文，於發展適當凍乾程序，用來製備適合用於儲存及其它程序之凍乾調配物時，進行三個不同凍乾週期來檢驗三項感興趣之參數。第一項檢驗參數為控制週期，重複得自先前安定性研究之週期。全部先前發展安定性週期皆係利用本週期，故作為此項分析的起點。

- 第二個測試參數為退火之衝擊。使用前述控制週期凍乾之抗IL-13抗體調配物之重新調製相當長，例如約100秒至500秒(第16圖)。含括高於冷凍溶液之玻璃轉換溫度之退火，作為於冷凍加熱處理之額外步驟，用來加大於起始真空之前之冰晶尺寸。此種加大的冰晶尺寸，結果導致凍乾

結束時乾燥餅之孔隙大小增加。大孔隙允許水滲透入凍乾餅改良，而改良重新調製。

- 第三個測試的參數為積極週期。將一次乾燥溫度提升顯著高於控制週期之設定點，可顯著提高一次乾燥期間之
- 5 抗IL-13抗體調配物之產品溫度。此項凍乾週期係用來評估抗IL-13抗體調配物對凍乾期間之產品溫度的敏感度，而可用來評估於執行正式的凍乾強勁性研究之前，於早期臨床批次期間評估製造偏差。

凍乾週期之評估

- 10 對抗IL-13抗體調配物所選用之凍乾週期之評估分成兩個面相：基於對凍乾後所進行之測試進行即刻比較，於加速條件下培育之後所造成的可能的長期衝擊。

臨界產品溫度識別

- 抗IL-13抗體調配物產品含有近50%蛋白質。如此，蛋
- 15 白質預期主控冷凍狀態及凍乾狀態之物理性質。於凍乾前，次周圍調變差動掃描量熱術(mDSC)搜尋調配物之冷凍濃縮非晶相之玻璃轉換溫度。本實驗中，抗IL-13抗體為5%蔗糖，10 mM組胺酸，pH 6.0中50毫克/毫升濃度。於此等條件下，最低識別之轉換係於-11°C (第8圖)。經由檢定分
- 20 析冷凍乾燥顯微術溫度進行可驗證臨界溫度(第9A-9F圖)。於此等實驗中，由-25°C加熱至-15°C，結構喪失，而冷卻至-18°C再度獲得結構。由-10°C加熱至-4°C的熔解起點，結構進一步喪失。全部變化皆為可逆，如樣本冷卻至-16°C時觀察得的可相媲美的結構可證。如此，於約-15°C觀

察得可逆轉換，另一次轉換出現於 -10°C 至 -6°C 。溫度降至低於 -16°C ，結果導致可媲美原先結構之乾燥結構。基於此項資訊，選定 -15°C 產物溫度作為臨界溫度來於凍乾期間維持低於該臨界溫度。本方法驗證選擇凍乾臨界溫度之方法。

- 5 連續執行三個凍乾週期。週期軌跡係如第10-12圖所示。全部週期於一次乾燥及二次乾燥期間皆維持於100 mT室壓。斜坡速率對全部斜坡皆維持於 $0.5^{\circ}\text{C}/\text{分鐘}$ ，但第11圖及第12圖之一次乾燥與二次乾燥間除外，此等週期為 $0.2^{\circ}\text{C}/\text{分鐘}$ 。改變的參數摘述於表3。

10 表3.凍乾參數之比較(末個熱偶達到托架溫度之一次乾燥時間)

步驟	積極	控制	退火
退火	-	-	8小時
一次乾燥	12小時	21小時	21小時
二次乾燥	3小時	4小時	4小時

凍乾週期之評估：凍乾後

- 三個週期(控制、積極、及退火)各自於一次乾燥期間之產品(抗IL-13抗體)之溫度輪廓資料顯示於第13圖，退火產物熱偶及控制產物熱偶類似，而積極週期之托架溫度升高，結果導致一次乾燥期間提升近 10°C 。
- 15

- 於凍乾後，得自三個凍乾週期各自之抗IL-13抗體調配物小瓶測試生物化學的完好，呈固體以及呈調配後液體之完好情況。固態係使用下列方法評估：mDSC (測定玻璃轉換溫度)、BET表面積測量、卡爾費雪水分滴定、富立葉轉換紅外光光譜術(測定蛋白質二次結構)及餅外觀。重新調製後之液體係藉重新調製時間評估；目測外觀評估；於280奈
- 20

米之紫外光吸光比評估蛋白質濃度；於420奈米之可見光吸光比評估光散射；SEC-HPLC評估高分子量定量；CEX-HPLC評估表面電荷之非同質性及IGEN結合，以及TF-1生物檢定分析評估生物活性。

5 全部三個週期皆製造白色固體餅，無明顯缺陷包括顆粒及水分。控制週期之mDSC熱記錄圖顯示於第14圖。表5摘述各個週期之一次熱轉換之結果。於53°C之轉換之幅度不如另外兩個凍乾週期大，但仍然可檢測。此項轉換顯然並未影響蛋白質於50°C加速儲存時之安定性。

10 比較凍乾後調配物之二次結構，顯示蛋白質之二次結構於三個樣本間皆可相媲美(表4，第15圖)。第15圖顯示於樣本抗體之醯胺I區，粉末富立葉轉換紅外光光譜術(FTIR)之二次微分，圖中各次掃描之累進面積規度化至1。表4含括之資訊表示於 β -片頻帶($1624-1657\text{ cm}^{-1}$)，占總面積之分量，作為各樣本間比較的基礎。當比較乾燥狀態之二次結構與液體狀態之調配物時，發現相對 β -片面積有差異(液體為0.37相對於凍乾粉末為0.25-0.27)。此項差異之最可能原因係凍乾狀態不存在有水，及蛋白質組態之相對應變化。

15 表4.測量得之玻璃轉換溫度(Tg)，BET表面積，殘餘水分及凍乾後之二次結構

週期	Tg(°C)	BET表面積 (平方米/克)	水分	β -片頻帶深度
積極	86	0.48	0.45%	0.255
控制	84	0.64	0.73%	0.249
退火	85	0.59	0.59%	0.270

20 得自各個週期之一個小瓶以1.2毫升無菌注射用水重新調製。對各個週期記錄於重新調製期間之外觀、重新調

- 製時間、及重新調製後60分鐘之外觀，摘述於表6。全部三個週期皆要求物理性攪動(於雙手間的滾動)來溶解餅。積極週期(第1週期)及控制週期(第2週期)之餅開始崩解，於製造有用之時框內溶解：重新調製時間分別為140秒及73秒。許多重新調製時間係耗在溶解更小的更頑強的餅塊。退火週期樣本(第3週期)重新調製所耗時間最長。結果駁斥退火步驟將導致重新調製時間縮短的理論，推定原因在於形成更為多孔之餅。餅於重新調製時間維持完好，於373秒緩慢溶解，類似溶解的來福沙維(Lifesaver)。全部三個週期於重新調製期間皆產生不等量之泡沫。控制週期產生最大量泡沫，其次為退火週期，再其次為積極週期，如藉於420奈米之UV/Vis之溶液散射可知(參考表5)。一旦重新調製，讓樣本沈降60分鐘。此時，大部分的泡沫皆已經散逸，使用光箱對著黑白背景檢查，全部三種溶液皆有類似的外觀。全部三個週期皆帶有黃色且為微乳白色，退火樣本略微更佳乳白。

- 使用此處所述檢定分析，檢定分析全部三個樣本之生物化學完好性。此等資料驗證顯示重新調製後抗IL-13抗體調配物之完好性呈凍乾週期之函數並無顯著差異。經由測定調配物中之抗體濃度驗證回收的蛋白質質量，全部三個週期大致相等。藉尺寸排除層析術測定調配物中之高分子量化合物之數量、及藉陽離子交換層析術測定表面電荷非均質量對全部三個週期大致上相等。藉IGEN結合檢定分析及TF-1生物檢定分析測得分子之功能性呈凍乾週期之函數並

無可識別之變化。

表5.重新調製後資料

	1.2毫升重新調製(考慮餅目標100毫克/毫升)		
檢定分析	第1週期 (積極)	第2週期 (控制)	第3週期 (控制帶有8小時退火)
重新調製 期間外觀	泡沫散逸相當快速。大塊餅難以重新調製。激烈振搖來形成溶液	極端形成泡沫散逸較不快速。大塊餅難以重新調製。激烈振搖來形成溶液	極端發泡、大型氣泡、散逸遠更緩慢。於極微緩慢之重新調製期間濾餅維持其形狀。激烈振搖來形成溶液
重新調製後外觀 (60分鐘)	帶黃色之微乳白色。氣泡仍然維持	目測為帶黃色之較高乳白色。氣泡仍然維持	帶黃色之微乳白色。氣泡仍然維持
重新調製時間	140秒	73秒	373秒
A420	0.227	0.518	0.257
A280 (毫克/毫升)	103.6	100.5	104.1
SEC-HPLC % HMW	1.1	1.1	1.1
IGEN %結合	153	153	164
比活性 (單位/毫克)	6.0E+07	5.8E+07	6.8E+07

安定性

雖然對如此處所述調配物中之抗IL-13抗體完好性呈

5 所研究之凍乾週期之函數顯然並無即刻凍乾後影響，但要緊地需評估儲存安定性是否呈凍乾週期之函數變化。為了測試此點，如「安定性」上方章節摘述，執行短期加速安定性研究。監測樣本之重新調製時間、藉於280奈米之UV/Vis測得蛋白質濃度變化、藉於420奈米之UVVis測定溶

10 液光散射變化、藉SEC-HPLC測定高分子量聚積體之變化、及藉IGEN結合檢定分析測定結合活性之改變。

第16圖為作圖顯示重新調製時間呈儲存時間及儲存溫度之函數。雖然重新調製時間之絕對數目有變異，但趨勢

係類似凍乾後分析觀察得之趨勢，但積極週期及退火週期儲存於5°C除外。控制週期樣本最快重新調製，接著為積極週期樣本。退火週期樣本之重新調製最慢。積極週期樣本及儲存於5°C之退火樣本於各個時間點之變異以及與凍乾後趨勢之偏差可能係由於一項或多項控制不佳之變數的緣故。包括重新調製期間濾餅之濕潤速率；當注射用水配送入小瓶時多少濾餅及哪一部分濾餅被濕潤；以及重新調製期間小瓶攪動的激烈程度。全部此等變數皆為主觀且為操作員相依性，可能影響重新調製時間及光散射。

10 第17圖顯示，於儲存期間(0週至4週)或呈溫度之函數(5°C及50°C)，測試的三個週期間之蛋白質濃度並無顯著變化。蛋白質濃度由初始時間點至兩週升高，可能係由於由一個時間點至次一個時間點之重新調製量測量準確度差異所致。

15 如第18圖所示，於儲存過程中或呈溫度之函數，三個週期間之溶液散射並無顯著變化。控制週期於初時間點結果升高係由於樣本處理之額外氣泡夾帶緣故，而非由於週期差異結果。

也檢定分析樣本於儲存期間存在的HMW物種百分比。檢定分析係使用SEC-HPLC執行。如第19圖所示，資料驗證於儲存期間，三個不同凍乾週期間之高分子量聚積體百分比並無顯著變化。

樣本也使用96孔格式之孔板檢定分析(IGEN)來檢定分析結合狀況。第20圖顯示於2°C-8°C或50°C，於4週過程中，

調配物中之抗IL-13抗體之結合呈凍乾週期之函數並無顯著變化。

此等資料驗證調配物中之抗IL-13抗體呈所研究的三個凍乾週期之函數，有可相媲美之安定性輪廓資料。增加
5 退火步驟顯然造成重新調製的惡化而非改善。由於一次乾燥期間，觀察得產物溫度升高近10°C，故積極週期將作為強勁程度評估。

結論

調配物中之抗IL-13抗體於凍乾至極端產物溫度驗證
10 為強勁。於50°C儲存4週之安定性輪廓資料係於一次加熱期間產物溫度有近10°C差異之材料約略相同。

實例8：IL-13抗體調配物

為了篩選IL-13抗體液體調配物可能的賦形劑，使用0.5
毫升100毫克/毫升IMA-638抗體，於帶有威斯特4432/50瓶
15 塞之13毫米威斯特玻璃小瓶內，或於BD海派克(Hypak)預先填充之注射器內，於40°C儲存溫度進行為期6週之短期加速安定性研究。然後使用於280奈米之吸光比測量濃度及藉SEC-HPLC測試抗體之安定性。

測試之配方包括由5.0至5.5至6.0之不等pH；不同緩衝
20 劑諸如組胺酸、丁二酸鈉、及乙酸鈉；不同蔗糖濃度(0%、2.5%、5.0%、及10%)；及其它添加劑諸如山梨糖醇、甘胺酸、精胺酸、及蛋胺酸。下表6提供於本篩選測試之調配物。

表6.液體調配物

號碼	配方
1	10 mM組胺酸，0%蔗糖，pH 6.0
2	10 mM組胺酸，2.5%蔗糖，pH 6.0
3	10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0
4	10 mM組胺酸，10%蔗糖，pH 6.0
5	10 mM組胺酸，0%蔗糖，pH 5.5
6	10 mM組胺酸，2.5%蔗糖，pH 5.5
7	10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 5.5
8	10 mM組胺酸，10%蔗糖，pH 5.5
9	10 mM組胺酸，5%山梨糖醇，pH 6.0
10	10 mM組胺酸，1%甘氨酸，pH 6.0
11	10 mM丁二酸鹽，5%蔗糖，pH 6.0
12	10 mM乙酸鹽，5%蔗糖，pH 5.0
13	10 mM乙酸鹽，5%蔗糖，pH 5.5
14	10 mM組胺酸，5%蔗糖，2%精氨酸，pH 6.0
15	10 mM組胺酸，5%蔗糖，100 mM蛋氨酸，pH 6.0

於40°C儲存6週之回收率百分比係藉UV/Vis測定抗體濃度評估，且係顯示於第21圖。各調配物間之回收率實質上類似，但調配物4及8所得回收率最高。

- 5 於40°C儲存6週之高分子量物種之增加百分比顯示於第22圖。預填充注射器比較小瓶有較少高分子量聚積體(參考第22圖，調配物4)。調配物6、8、14及15顯示高分子量物種的增加最少(0.5%至1.25%)。

- 10 於40°C儲存6週，低分子量物種之增加百分比顯示於第23圖。與HMW相反，比較玻璃小瓶，預填充注射器之LMW物種的增加通常為小量。調配物1-13之% LMW之變化約為3%-4%。

總結而言，大部分調配物驗證可接受之安定性輪廓資

料，驗證最佳pH 5-6.5，允許含括不同的適當賦形劑，並無任何賦形劑對蛋白質之安定性不利。

實例9：調配物對吐溫需求之評估

- 為了判定就界面降級而言，得自實例8之領先候選調配物是否需要吐溫，使用表7列舉之8個領先候選調配物進行振搖研究及冷凍-解凍研究。

表7.領先候選者

號碼	配方
1	10 mM組胺酸，0%蔗糖，pH 6.0
2	10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0
3	10 mM組胺酸，10%蔗糖，pH 6.0
4	10 mM組胺酸，5%蔗糖，0.01%吐溫80，pH 6.0
5	10 mM組胺酸，5%蔗糖，2%精胺酸，pH 6.0
6	10 mM組胺酸，5%蔗糖，2%精胺酸，0.01%吐溫80，pH 6.0
7	10 mM組胺酸，5%蔗糖，70 mM蛋胺酸，pH 6.0
8	10 mM組胺酸，5%蔗糖，70 mM蛋胺酸，0.01%吐溫80，pH 6.0

- 振搖研究係使用0.25毫升100毫克/毫升IMA-638液體調配物於玻璃小瓶進行，玻璃小瓶於凝膠振搖器上於室溫於約200 rpm振搖24小時。振搖之樣本濃度與未經振搖之樣本(對照)做比較。不同抗體調配物振搖後之IMA-638濃度顯示於第24圖。各調配物間之濃度實質上類似。第25圖提供IMA-638調配物振搖後之% HMW物種。各調配物間之HMW物種含量為約1.2%至約1.5%之範圍。

- 經由使用0.25毫升100毫克/毫升 IMA-638液體調配物於聚丙烯管進行冷凍-解凍研究，其中冷凍週期係於-80℃進行，解凍週期係於37℃進行。冷凍-解凍週期進行一次(FT1)、三次(FT3)、或五次(FT5)。冷凍-解凍週期後之樣本

比較未接受冷凍-解凍週期之對照組之濃度顯示於第26圖。冷凍-解凍後之% HMW物種也經測定且顯示於第27圖。冷凍-解凍後各調配物間之HMW物種百分比係於約1.2%至約1.5%之範圍。

- 5 吐溫的存在並未顯示使用此種條件對剪切敏感度之保護有明顯影響。

實例10：於預填充注射器中液體IL-13抗體調配物之評估

- 10 下表8所列舉之100毫克/毫升IMA-638抗體調配物包裝成於有威斯特4432/50瓶塞之BD海派克預填充注射器中之1毫升配方，該調配物之安定性係藉測定經歷7個月時間於4°C、25°C及40°C之% HMW物種。研究結果顯示於第28、29及30圖。

表8.海派克預填充注射器調配物

號碼	配方
1	10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0
2	10 mM組胺酸，5%蔗糖，0.01%吐溫80，pH 6.0
3	10 mM組胺酸，10%蔗糖，0.01%吐溫80，pH 6.0
4	10 mM組胺酸，5%蔗糖，2%精胺酸，0.01%吐溫80，pH 6.0
5	10 mM組胺酸，5%蔗糖，55 mM NaCl，0.01%吐溫80，pH 6.0

- 15 於4°C，由t=0個月至t=7個月有0.70%至0.90% HMW物種。於25°C有約0.75%至約2.00% HMW物種，聚積體隨著時間的經過而增加。於40°C，對調配物1-3及5於7個月，全部調配物中之聚集體隨著時間增加4.5%至6.5%。對調配物4觀察得之聚積體增加最少(7個月時約為3%)。

- 20 精胺酸及吐溫添加至10 mM組胺酸及5%蔗糖所組成之調配物，於所研究之全部溫度於預填充注射器可改善IL-13

抗體之安定性。

如此，此等賦形劑中之一者或二者可對抗IL-13調配物提供額外安定性效果。

實例11：精胺酸對預填充注射器中之IMA-638液體調配物之

5 效果

調配於10 mM組胺酸，5%蔗糖，及0.01%吐溫80及100毫克/毫升IMA-638抗體調配物，於40°C儲存於含威斯特W4023杜拉芙洛瓶塞之預先填充的1毫升BD海派克SCF注射器4週、8週、12週、及28週後，藉追蹤HMW物種之變化百分比來研究添加低濃度精胺酸(0.1%-2%)對該調配物之安定性的影響。此項研究結果顯示於第31圖。

資料指出添加精胺酸可降低隨著時間之經過所形成之HMW聚積體數量。

實例12：由帕里洛普(PARI LC Plus)霧化器噴霧之IMA-638

15 氣霧之特徵

本發明之IL-13抗體調配物可藉多種手段投予個體，包括呈氣霧來投予個體。氣霧為液體或固體顆粒於空氣中之懸浮體。於本發明之若干實施例中，IL-13抗體調配物係用於肺臟遞送。肺臟遞送之藥物顆粒典型係以氣動直徑特徵化，而非以幾何直徑特徵化。氣動直徑為具有與該感興趣顆粒相同重力沈降速度之單位密度(1克/毫升)球體之直徑。氣動直徑考慮影響顆粒於空氣中之表現之物理性質，諸如密度及形狀。顆粒沈降速度係與氣動直徑成正比。空氣攜帶顆粒質量相對於氣動直徑之散度之中間值稱作為質

量中間氣動直徑(MMAD)。幾何標準差(GSD)為有關MMAD散度之測量值。最後，細小顆粒分量(FPF)為小於規定之氣動直徑(小於4.7微米)之顆粒之分量。MMAD、GSD及FPF係藉安德森(Anderson)串級衝擊器(ACI)測定。ACI測量由霧化器、計量劑量吸入器、乾粉吸入器、環境等所產生之小滴/顆粒之粒徑分布。

本實驗中，測定由帕里洛普霧化器從50毫克/毫升及0.5毫克/毫升IMA-638調配物(10 mM組胺酸，5%蔗糖，pH 6.0)所產生之氣霧之MMAD、GSD及FPF。表9提供本研究結果。

10 表 9

	50毫克/毫升IMA-638	0.5毫克/毫升IMA-638
MMAD	3.45	3.37
GSD	1.82	2.88
FPF<4.7微米	0.44	0.39

所評估之IMA-638調配物提供極為適合藉噴霧經肺遞送抗IL-13抗體之氣霧特性(包括粒徑及蛋白質完好性)。

實例13：凍乾IL-13抗體IMA-026之安定性

研究經凍乾之抗IL-13抗體調配物之長期安定性。簡言之，藉無菌過濾製備含抗IL-13抗體、IMA-026(50毫克/毫升)、10 mM組胺酸、5%蔗糖(w/v)、pH 6.0之調配物，約3.2毫升配送入有威斯特4432/50 1319聚矽氧化灰色瓶塞之5毫升去熱原玻璃管小瓶，然後凍乾。調配物於4℃、25℃或40℃儲存1個月、2個月、3個月、6個月，及於4℃、25℃及40℃儲存12個月，然後凍乾產物使用1.3毫升無菌水(USP)重新調製來將重新調製後之調配物調整至約1.6毫升，讓調配物

為100毫克/毫升抗IL-13抗體、20 mM組胺酸、及10%蔗糖、pH 6.0。

HMW物種之百分比係使用SEC-HPLC檢定分析。凍乾與重新調製前，調配物中之HMW物種百分比係占調配物之總蛋白質之約1%，於儲存於4°C及25°C之全部樣本也為約1% (第32圖)。於40°C儲存12個月後，調配物約含3.0% HMW物種(第32圖)。如此，儲存於5°C及25°C樣本中之HMW物種之含量實質上並未增加。

經凍乾之抗IL-13抗體調配物也使用基於細胞之檢定分析來檢定分析其生物活性，其中IL-13相依性細胞增生之抑制係於不同濃度經調配之抗體存在下檢驗來驗證生物活性，亦即結合IL-13以及將IL-13與細胞隔離之能力。檢定分析結果與使用未經儲存之抗IL-13抗體之結果相比較。第33圖驗證由此種生物檢定分析集合所得資料。總而言之，12個月儲存後，任何樣本之生物活性量並無實質變化。如此，藉生物活性測定，調配物適合用於凍乾調配物儲存至少12個月。

此等資料驗證如此處所述經凍乾之抗IL-13調配物係適合儲存至少12個月。

20 實例14：經凍乾之IL-13抗體，IMA-026之安定性

本實驗係如實例1所述進行，但所使用之抗體為IMA-026。所使用之IMA-026配方為：50毫克/毫升、IMA-026、10 mM組胺酸、5%蔗糖、0.01%吐溫-80、pH 6.0。結果係實質上類似實例1所得結果。如此，凍乾後之IMA-026

類似凍乾後之IMA-638為安定調配物。

實例15：含或未含吐溫之IMA-026之氣霧化

本實驗中，研究IMA-026氣霧化對% HMW、%回收率、及生物活性之影響。本實驗所得資料顯示於下表10。

5 表10

	% HMW	%回收率*	生物活性(單位/毫克)
霧化前	0.13	100.0	6.40 E+07
霧化-不含吐溫	0.13	76.0	7.30 E+07
霧化-含吐溫	0.14	81.3	6.08 E+07

*= 藉SEC-HPLC

由表10可知，含或未含吐溫之IMA-026於霧化前與霧化後之性質實質類似。如此IMA-026適合用作為噴霧調配物。

10 其它實施例

須了解雖然本發明已經結合其詳細說明做說明，但前文說明僅供舉例說明而非囿限本發明之範圍，本發明之範圍係由隨附之申請專利範圍界定。其它面相、優點及修改皆係屬於如下申請專利範圍之範圍內。

15 【圖式簡單說明】

第1圖為顯示實驗結果之線圖，於該實驗中，於經凍乾且經儲存以及於適當時間點重新調製之抗IL-13抗體調配物中之HMW物種之百分比係使用尺寸排除層析術-高效液相層析術(SEC-HPLC)測定。% HMW=於HMW物種中之總蛋白質百分比。樣本於重新調製前係儲存於4℃、25℃及20 40℃長達24個月。

第2圖為顯示實驗結果之線圖，於該實驗中，經凍乾、經儲存且於適當時間點經重新調製之抗IL-13抗體調配物之生物活性係以占抗IL-13抗體標準品之百分比測定。資料係以每毫克蛋白質之單位作為比活性表示。樣本於重新調製前係儲存於4°C、25°C及40°C長達24個月。

第3圖為顯示實驗結果之線圖，其中於100毫克/毫升液體抗IL-13抗體調配物中之HMW物種百分比係於4°C、15°C、25°C及40°C儲存長達24個月後，使用SEC-HPLC測定。

第4圖為顯示實驗結果之線圖，其中於100毫克/毫升液體抗IL-13抗體調配物中之LMW物種百分比係於4°C、15°C、25°C及40°C儲存長達24個月後，使用SEC-HPLC測定。

第5圖為顯示實驗結果之線圖，其中於一液體調配物中之抗IL-13抗體之結合活性百分比係於4°C、15°C、25°C及40°C儲存長達6個月後檢定分析測定。結合活性係以相對於標準品之百分比表示。

第6圖為顯示實驗結果之線圖，其中100毫克/毫升抗IL-13抗體調配物之生物活性係以占抗IL-13抗體標準品之百分比測定。資料係以每毫克蛋白質之單位作為比活性表示。樣本於重新調製前係儲存於4°C、15°C、25°C及40°C長達24個月。

第7圖為線圖，顯示檢定分析儲存於4°C、15°C、25°C及40°C長達24個月之液體調配物中之蛋白質濃度之實驗結果。

第8圖為低於周圍經調變之差動掃描量熱術(mDSC)測定經冷凍濃縮之非晶相之玻璃轉換溫度之線圖。

第9A圖為於-25℃，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9B圖為由-25℃升高至-15℃，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

- 5 第9C圖為由-15℃降至-18℃，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9D圖為由-18℃升高至-8℃，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

- 10 第9E圖為由-8℃升高至-4℃，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

第9F圖為由-4℃降至-16℃，抗IL-13抗體之冷凍乾燥顯微影像之翻拍。

- 15 第10圖為線圖，顯示積極凍乾週期之週期軌跡。溫度係對兩種不同抗體組成物(標示為MYO-029及IMA-638)、儲存壽命(貯架)、及露點顯示。壓力係使用電容測壓計及皮拉尼(Pirani)錶檢定分析顯示。

第11圖為顯示對照凍乾週期之一週期軌跡之線圖。溫度及壓力試樣係如同第10圖。

- 20 第12圖為顯示退火凍乾週期之一週期軌跡之線圖。溫度及壓力試樣係如同第10圖。

第13圖為分別對應於第10-12圖，對積極凍乾週期、對照凍乾週期及退火凍乾週期，顯示於一次乾燥期間之產物溫度之線圖。

第14圖為顯示對照樣本之經調變差動掃描量熱術熱分

析圖之線圖。觀察兩個玻璃轉換溫度(於逆熱流測定)，一者始於 51.3°C ，一者始於 74.5°C 。

第15圖為線圖，顯示三個樣本(對照、積極及退火)於醃胺I區之富立葉轉換紅外光譜術之結果。

- 5 第16圖為顯示樣本之重新調製時間呈儲存時間之函數之線圖。樣本為對照、積極及退火，且樣本係儲存於 5°C 或 50°C 。

第17圖為顯示使用紫外光-可見光光譜術(A_{280})檢定分析之蛋白質濃度之線圖。樣本係如同第16圖。

- 10 第18圖為顯示使用紫外光-可見光光譜術(A_{420})檢定分析之溶液光散射之線圖。樣本係如同第16圖。

第19圖為顯示使用SEC-HPLC檢定分析HMW物種之結果之線圖。樣本係如同第16圖。

- 15 第20圖為顯示接受試驗之抗體之結合親和力呈儲存時間之函數之線圖。樣本係如同第16圖。

第21圖為顯示於小瓶及注射器中進行IMA-638賦形劑過篩中回收百分比之柱狀圖，其中該IMA-638抗體之濃度係藉UV/Vis測定。

- 20 第22圖為於 40°C 由 $t=0$ 至6週，於小瓶及注射器中進行之IMA-638賦形劑過篩中，HMW物種之變化百分比之柱狀圖。

第23圖為於 40°C 由 $t=0$ 至6週，於小瓶及注射器中進行之IMA-638賦形劑過篩中，LMW物種之變化百分比之柱狀圖。

第24圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於約200 rpm振搖24小時後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之濃

度之柱狀圖。

第25圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於約200 rpm振搖24小時後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之HMW物種百分比之柱狀圖。

- 5 第26圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於一個(FT1)、三個(FT3)及五個(FT5)冷凍-解凍週期(冷凍週期於-80℃；解凍週期於37℃)後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之濃度之柱狀圖。

- 10 第27圖顯示於室溫於凝膠振搖器上於一個(FT1)、三個(FT3)及五個(FT5)冷凍-解凍週期(冷凍週期於-80℃；解凍週期於37℃)後，於含吐溫或不含吐溫之調配物中之IMA-638之HMW物種百分比之柱狀圖。

第28圖為顯示儲存於4℃長達7個月之注射器中，於IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

- 15 第29圖為顯示儲存於25℃長達7個月之注射器中，於IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

第30圖為顯示儲存於40℃長達7個月之注射器中，於IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

- 20 第31圖為顯示於40℃儲存長達28週之注射器中，於含有0.01%吐溫及0%至2%精胺酸之IMA-638液體調配物中之HMW物種百分比之線圖。

第32圖為顯示IL-13抗體、IMA-026之HMW物種百分比之線圖，該抗體係於凍乾且儲存於4℃、25℃及40℃長達12個月後重新調製。

第33圖為顯示IMA-026抗體之生物活性之線圖，該抗體係於凍乾且儲存於4°C、25°C及40°C長達12個月後重新調製。

第34圖提供IMA-638抗體重鏈(SEQ ID NO:1)及輕鏈(SEQ ID NO:2)之胺基酸序列。由重鏈DNA序列所編碼之最末一個胺基酸殘基Lys448於成熟經過分泌形式之IMA-638中只觀察得小量，推定於胞內處理期間藉中國倉鼠卵巢(CHO)細胞蛋白酶而由散裝單株抗體中移除。因此IMA-638重鏈之羧基端為Gly₄₄₇。於重組衍生抗體及血漿衍生抗體中觀察得羧基端離胺酸處理，但顯然並未影響其功能。

第35圖提供IMA-026抗體重鏈(SEQ ID NO:3)及輕鏈(SEQ ID NO:4)之胺基酸序列。

【主要元件符號說明】

(無)

五、中文發明摘要：

提供適合用於與IL-13之非期望表現或非期望活性相關聯之病症之調配物。

六、英文發明摘要：

Formulations suitable for treatment of disorders associated with undesirable expression or activity of IL-13 are provided.

十、申請專利範圍：

1. 一種抗IL-13抗體調配物，包含：
 - (a)一抗IL-13抗體；
 - (b)一冷凍保護劑；及
 - (c)一緩衝劑，其中該調配物之pH為約5.5至約6.5。
2. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物為一液體調配物、一凍乾調配物、一重新調製成為液體之一凍乾調配物、或一噴霧調配物。
3. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中於該調配物中之該抗IL-13抗體之濃度為：約0.5毫克/毫升至約250毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約45毫克/毫升，約0.5毫克/毫升至約100毫克/毫升，約100毫克/毫升至約200毫克/毫升，或約50毫克/毫升至約250毫克/毫升。
4. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該抗IL-13抗體為人化抗體。
5. 如申請專利範圍第4項之調配物，其中該抗體為 κ 輕鏈構成體抗體。
6. 如申請專利範圍第4項之調配物，其中該抗體係選自於由IgG1抗體、及IgG2抗體、及IgG4抗體所組成之組群。
7. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該抗IL-13抗體為單株抗體。
8. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該抗IL-13抗體為IMA-638或IMA-026。
9. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該冷凍保護劑為

約2.5%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖。

10. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該緩衝劑為約4 mM至約60 mM組胺酸緩衝液，約5mM至約25 mM丁二酸鹽緩衝液，或約5 mM至25 mM乙酸鹽緩衝液。
11. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含濃度約0%至約0.2%之界面活性劑。
12. 如申請專利範圍第4項之調配物，其中該界面活性劑係選自於由聚山梨糖醇酯-20、聚山梨糖醇酯-40、聚山梨糖醇酯-60、聚山梨糖醇酯-65、聚山梨糖醇酯-80、聚山梨糖醇酯-85及其組合所組成之組群。
13. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含約0.01%至約5%精胺酸。
14. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含約0.001%至約0.05%吐溫(Tween)。
15. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含下列中之至少一者：約1%至約10%山梨糖醇、約0.1%至約2%甘胺酸、約5 mM至約150 mM蛋胺酸、及約5 mM至約100 mM氯化鈉。
16. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含一第二抗體或其抗原結合片段，其中該第二抗體係選自於由下列所組成之組群：具有與該調配物之該IL-13抗體不同的抗原決定部位特異性之一抗IL-13抗體、抗IgE抗體、抗C5抗體、抗IL-4抗體、抗TNF- α 抗體、及抗IL-9抗體。

17. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含選自於由抗組織胺、抗炎劑、長效支氣管擴張劑(LABA)、吸入性皮質類固醇(ICS)、及白三烯抑制劑所組成之組群中之一種可用於治療發炎病症之第二治療-或藥理-活性劑。
18. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中
- (a)該抗體為人化鼠抗IL-13抗體；
 - (b)該冷凍保護劑為約0.02%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖；及
 - (c)該緩衝劑為約4mM至約60 mM組胺酸緩衝液，pH 6.0。
19. 如申請專利範圍第18項之調配物，其中該調配物進一步包含約0.01%至約5%精胺酸。
20. 如申請專利範圍第18項之調配物，其中該調配物進一步包含約0.001%至約0.05%吐溫(Tween)。
21. 如申請專利範圍第18項之調配物，其中該調配物進一步包含下列中之至少一者：約1%至約10%山梨糖醇、約0.1%至約2%甘胺酸、約5 mM至約150 mM蛋胺酸、及約5 mM至約100 mM氯化鈉。
22. 如申請專利範圍第18項之調配物，進一步包含大於0%至至多約0.2%聚山梨糖醇酯80。
23. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中
- (a)該抗體為IMA-638或IMA-026；
 - (b)該冷凍保護劑為約0.02至約10% (重量/體積)蔗

糖或海藻糖；及

(c)該緩衝劑為約10 mM丁二酸鹽緩衝液，pH 6.0。

24. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中

(a)該抗體為IMA-638或IMA-026；

(b)該冷凍保護劑為約0.02%至約10% (重量/體積)

蔗糖或海藻糖；及

(c)該緩衝劑為約10 mM乙酸鹽緩衝液，pH 6.0。

25. 一種抗IL-13抗體之噴霧調配物，包含：

(a)一抗IL-13抗體；

(b)約5%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖；及

(c)一具有pH約5.5至6.5之緩衝劑。

26. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含約0.01%至約5%精胺酸。

27. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含約0.001%至約0.05%吐溫(Tween)。

28. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中該調配物進一步包含下列中之至少一者：約1%至約10%山梨糖醇、約0.1%至約2%甘胺酸、約5 mM至約150 mM蛋胺酸、及約5 mM至約100 mM氯化鈉。

29. 如申請專利範圍第25項之噴霧調配物，進一步包含可用於治療氣喘或慢性阻塞性肺疾之一治療劑。

30. 一種抗IL-13抗體之凍乾調配物，包含：

(a)一抗IL-13抗體；

(b)約5%至約10% (重量/體積)蔗糖或海藻糖；及

(c)一具有pH約5.5至6.5之緩衝劑。

31. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中於-80°C至少18個月，於-80°C至少24個月，於-20°C至少18個月，於-20°C至少24個月，於2°C-8°C至少18個月，於2°C-8°C至少24個月，於25°C至少18個月，或於25°C至少24個月後，比較原先調配物，高分子量(HMW)物種及低分子量(LMW)物種之增加百分比係少於5%。
32. 如申請專利範圍第31項之調配物，其中HMW物種及LMW物種係使用尺寸排除-高效液相層析術(SEC-HPLC)檢定分析。
33. 如申請專利範圍第1項之調配物，其中抗體於2°C-8°C儲存至少18個月，或於2°C-8°C儲存至少24個月後，該IL-13抗體中之至少90%為單元抗體。
34. 如申請專利範圍第33項之調配物，其中該抗體之單元性質係藉結合檢定分析、表面電荷檢定分析、生物檢定分析、或HMW物種對LMW物種之比測定。
35. 一種用於IL-13相關病症之治療之藥學組成物，該藥學組成物包含如申請專利範圍第1項之抗IL-13抗體調配物。
36. 如申請專利範圍第35項之藥學組成物，其中該組成物進一步包含約0.01%至約5%精胺酸。
37. 如申請專利範圍第35項之藥學組成物，其中該組成物進一步包含約0.001%至約0.05%吐溫(Tween)。
38. 如申請專利範圍第35項之藥學組成物，其中該組成物進

一步包含下列中之至少一者：約1%至約10%山梨糖醇、約0.1%至約2%甘胺酸、約5 mM至約150 mM蛋胺酸、約5 mM至約100 mM氯化鈉，及大於0%至至多約0.2%界面活性劑。

39. 如申請專利範圍第35項之藥學組成物，其中該組成物包含人化IL-13抗體。

40. 一種藥學組成物之製造方法，該組成物包含一抗體調配物包含

(a)一抗IL-13抗體；

(b)一冷凍保護劑；及

(c)一緩衝劑，其中該調配物之pH為約5.5至約6.5。

41. 一種治療IL-13相關病症之方法，該方法包含投予藥學上有效量之一抗體調配物包含：

(a)一抗IL-13抗體；

(b)一冷凍保護劑；及

(c)一緩衝劑，其中該調配物之pH為約5.5至約6.5。

42. 如申請專利範圍第41項之方法，其中該IL-13相關病症係選自於由下列所組成之組群：過敏性氣喘、非過敏性氣喘、併發過敏性氣喘與非過敏性氣喘、運動誘發氣喘、藥物誘發氣喘、職業型氣喘、末期氣喘、慢性阻塞性肺疾、關節炎、發炎性腸病、發炎性皮膚病、多發性硬化症、骨質疏鬆症、腱炎、過敏病症、回應於侵害宿主之發炎、敗血病、類風濕性關節炎、骨關節炎、腸躁症、潰瘍性大腸炎、乾癬、系統性紅斑性狼瘡、自體免

疫病、B細胞慢性淋巴細胞性白血病(B細胞CLL)、何杰金氏病、及血吸蟲病之組織纖維化。

43. 如申請專利範圍第41項之方法，其中該抗體調配物係藉選自於下列所組成之組群之一方法投予：經口、經鼻、長效製劑、腸道外、皮下、肌肉、靜脈、關節內、支氣管內、腹內、囊內、軟骨內、腔內、腹腔內、小腦內、腦室內、大腸內、頸內、胃內、肝內、心肌內、眼內、骨內、骨盆內、心包內、腹膜內、胸膜內、攝護腺內、肺內、直腸內、腎內、網膜內、脊椎內、滑液內、胸內、子宮內、膀胱內、病灶內、大劑量、陰道、直腸、經頰、舌下、鼻內、經皮(局部)、經黏膜、或持續釋放投予。
44. 一種含有如申請專利範圍第1項之調配物之經預填充溶液之注射用注射器。
45. 一種用於經鼻投予包含如申請專利範圍第1項之調配物及一藥學上可接受之分散劑之裝置。
46. 一種經皮貼片，包含如申請專利範圍第1項之調配物及任選地一藥學上可接受之載劑。
47. 一種靜脈輸注袋，包含如申請專利範圍第1項之調配物及任選地生理食鹽水或5%葡萄糖。
48. 一種套件組，包含包含如申請專利範圍第1項之調配物之至少一個容器及使用指示。
49. 如申請專利範圍第48項之套件組，其中該容器為玻璃小瓶或注射用注射器。
50. 一種預填充注射用注射器，包含如下調配物：

(a) 100毫克/毫升抗IL-13抗體；

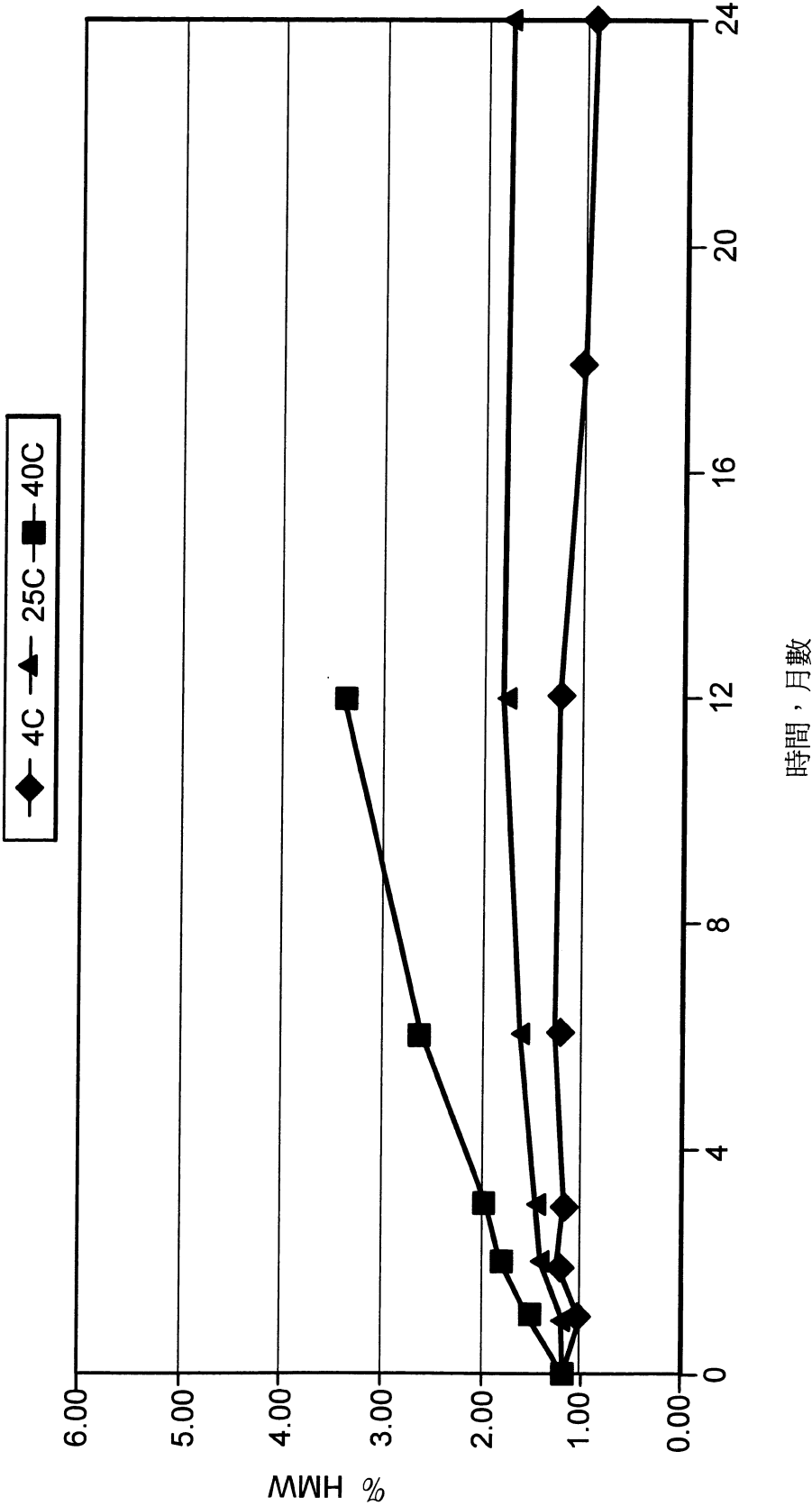
(b) 10 mM組胺酸；

(c) 5%蔗糖；

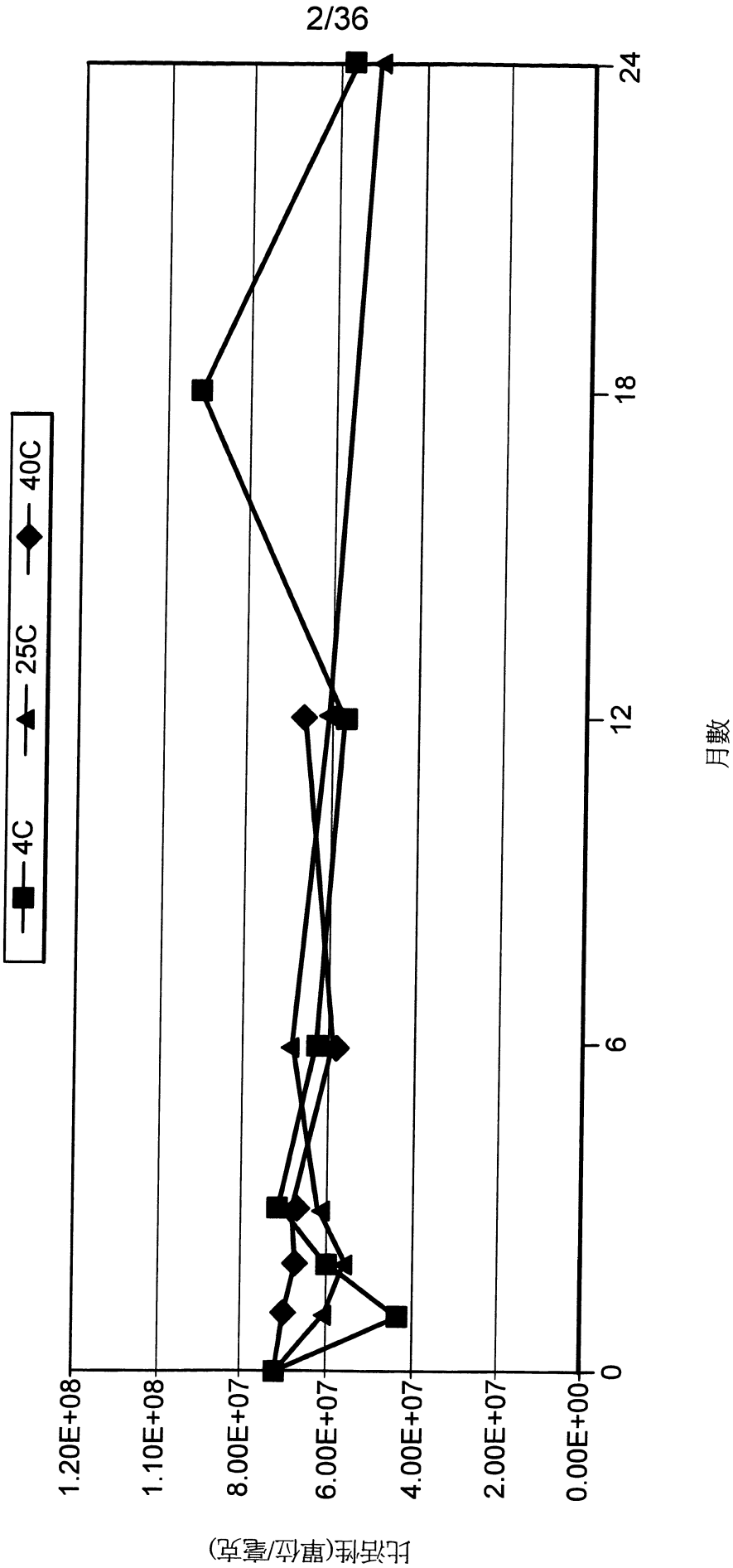
(d) 0.01%吐溫-80；

(e) 40 mM NaCl，

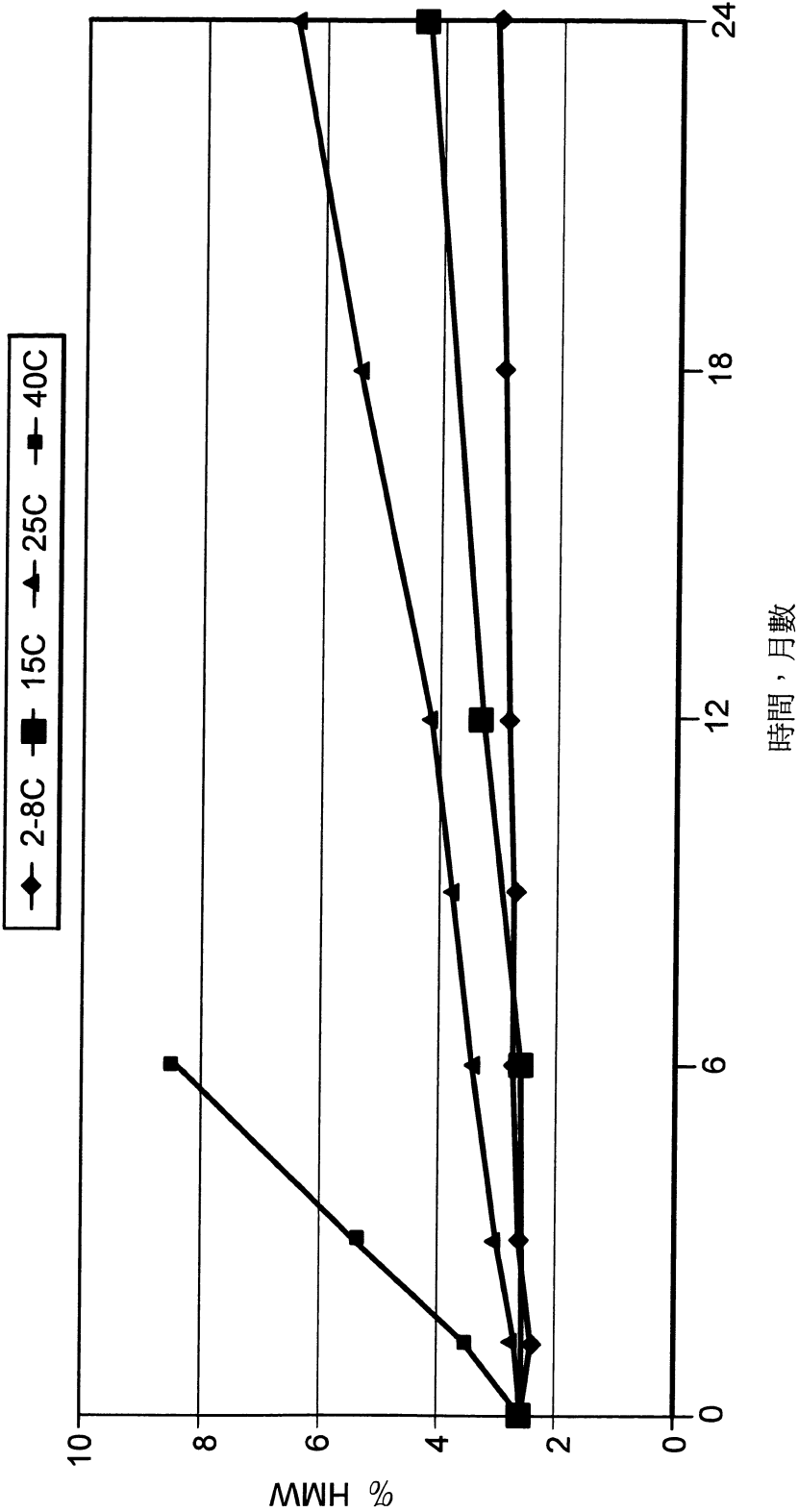
其中該調配物之pH為6.0。



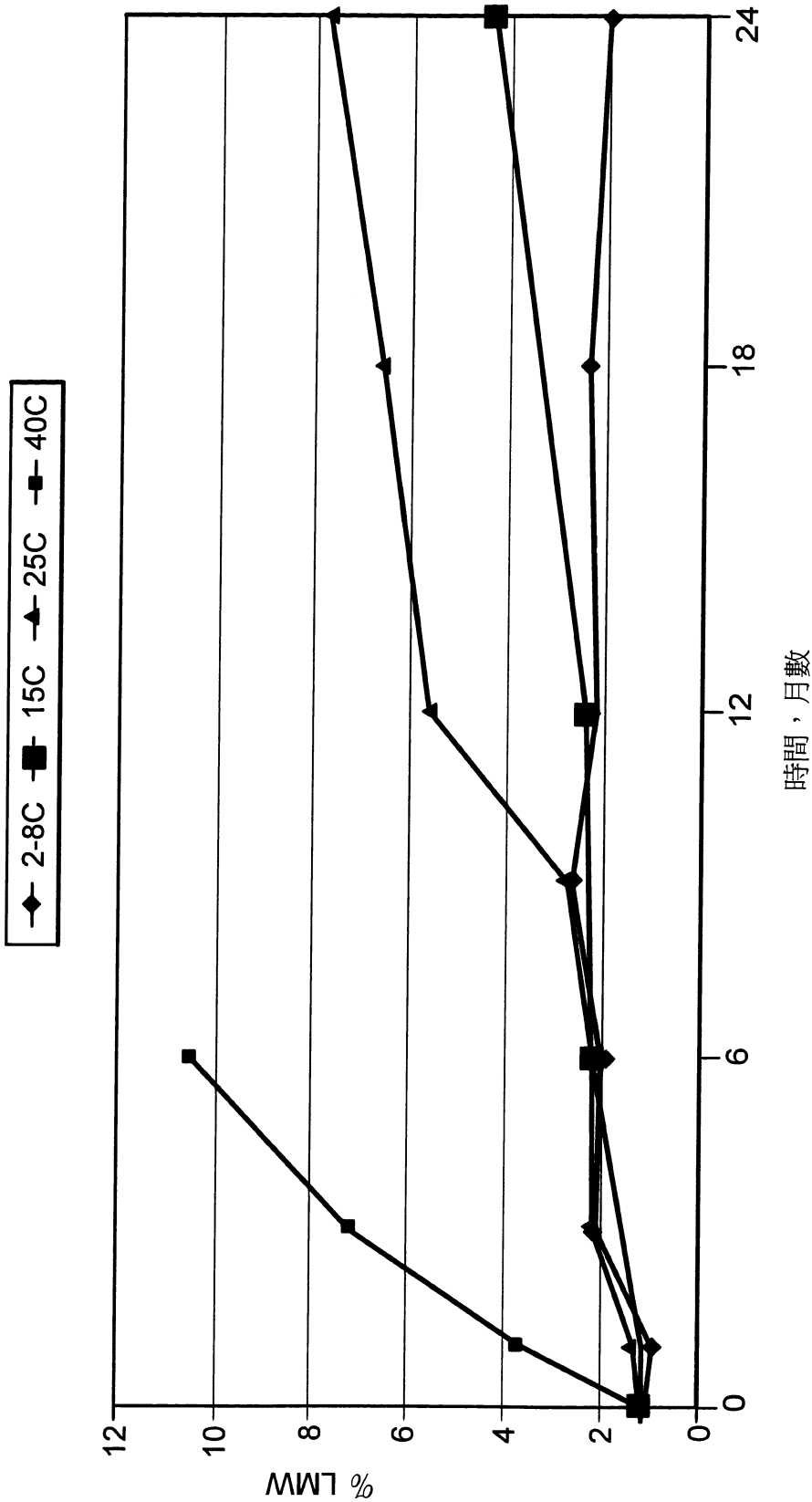
第1圖



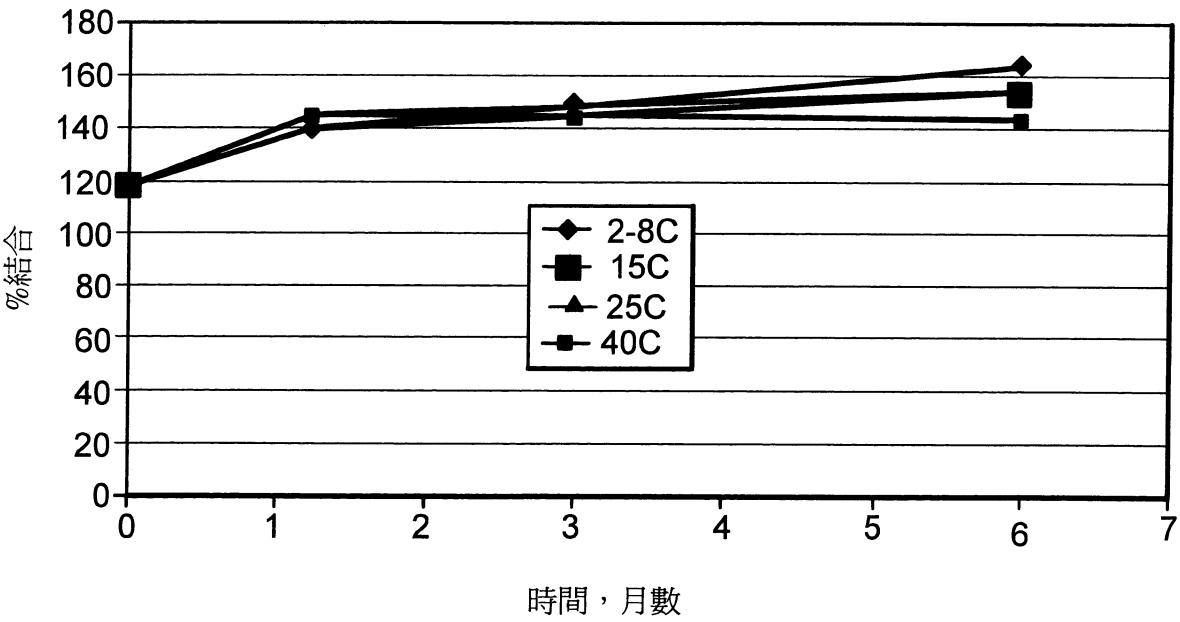
第2圖



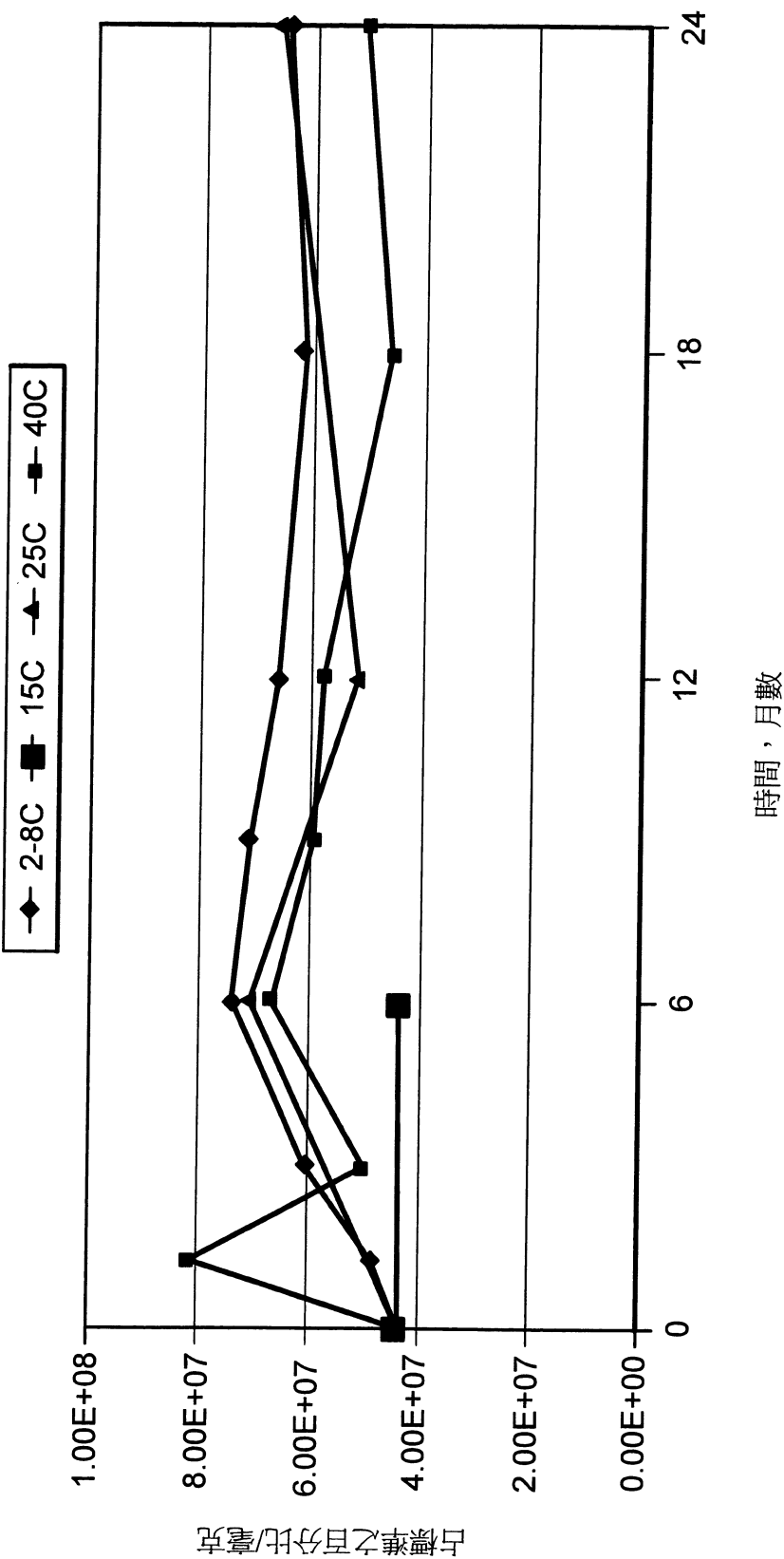
第3圖



第4圖



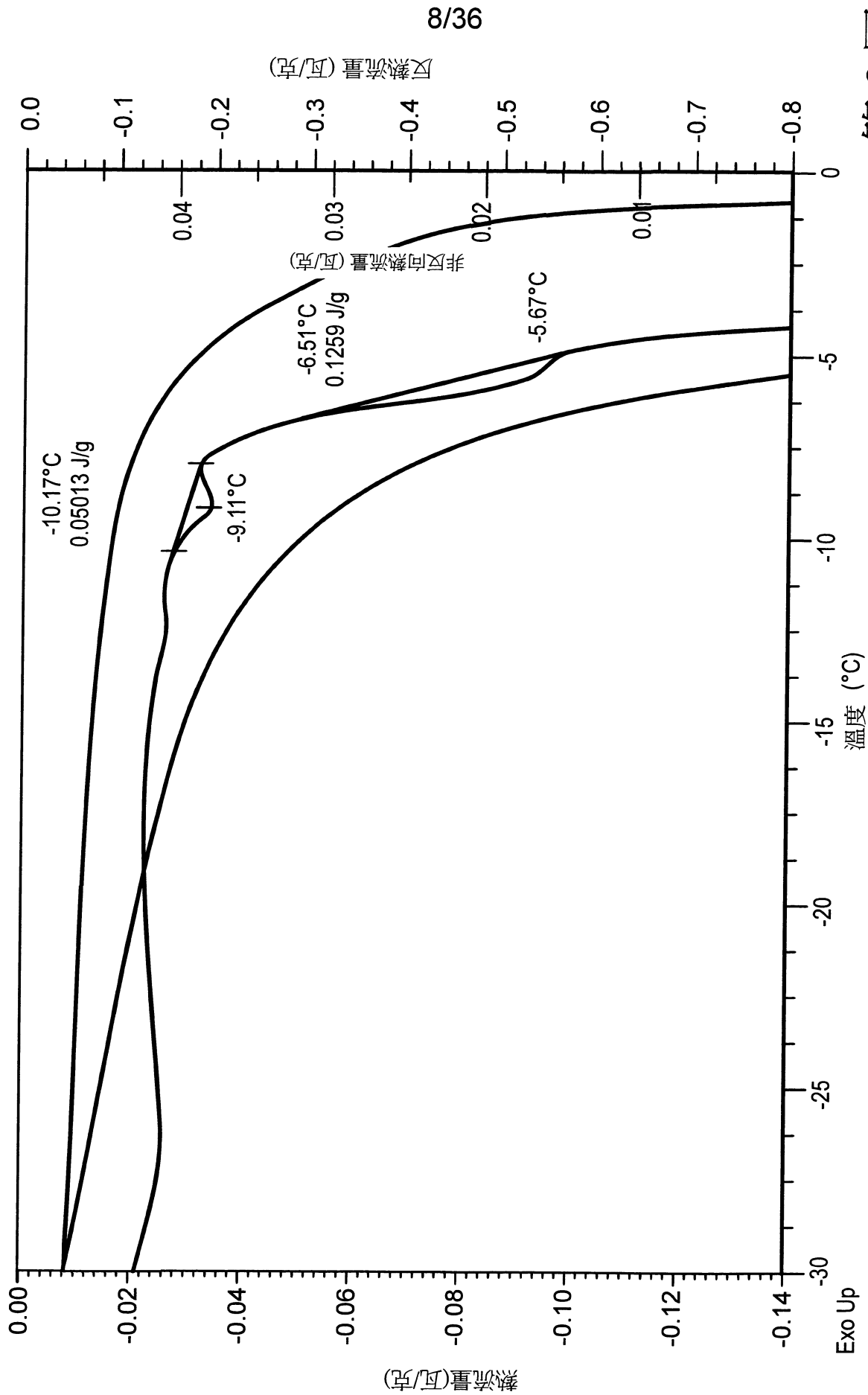
第 5 圖



第6圖

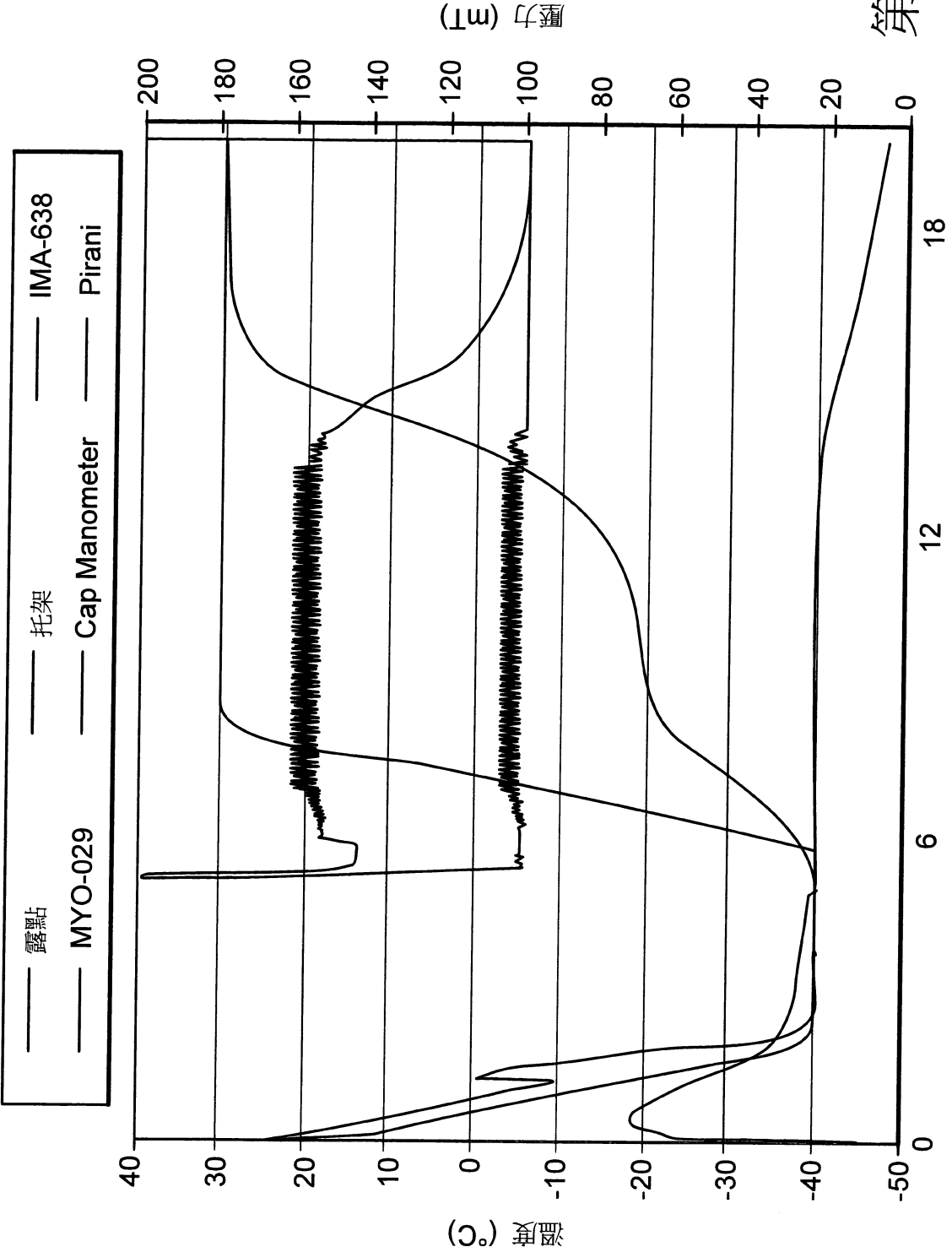


第7圖



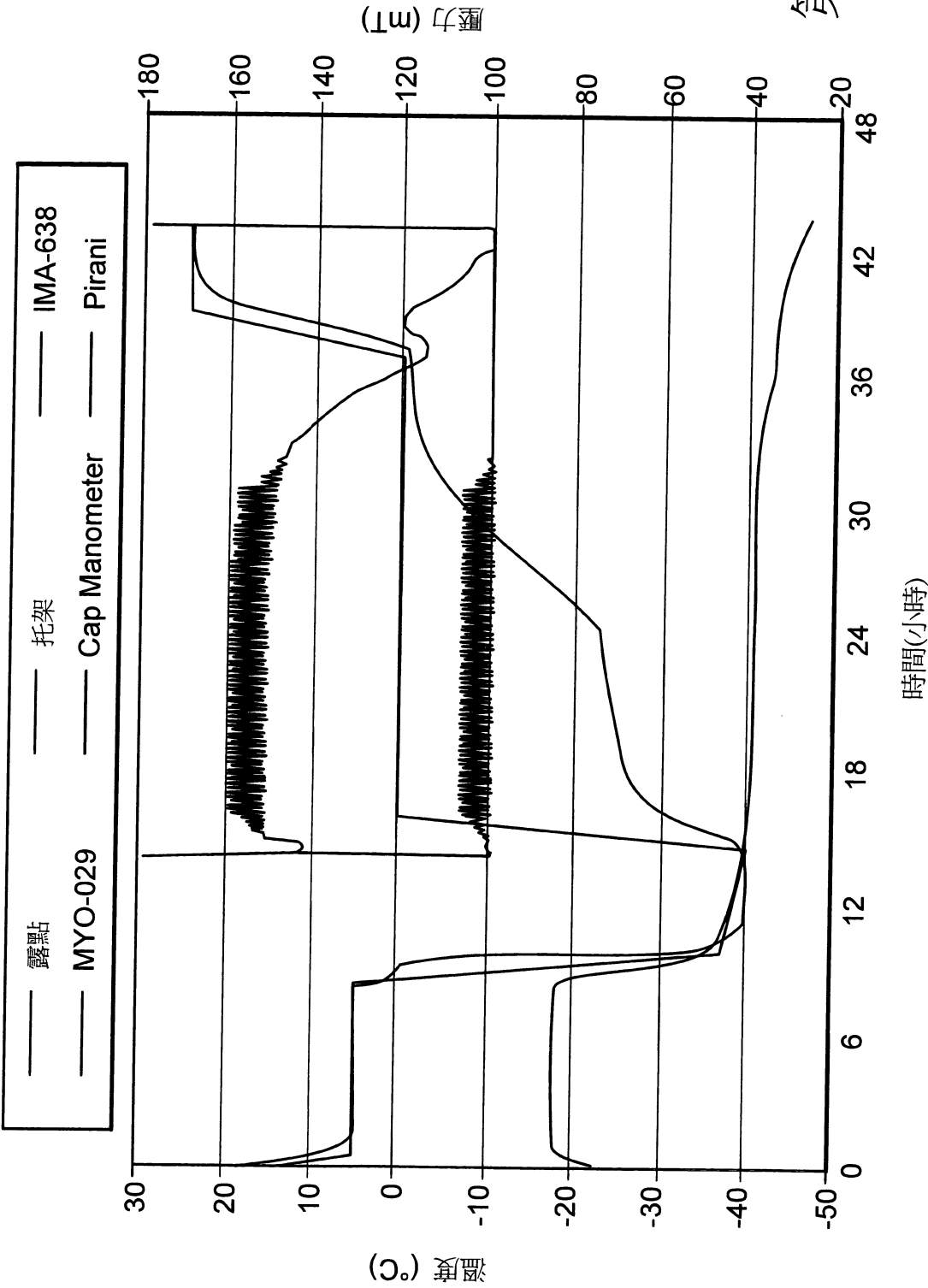
第8圖

Universal V3.9A TA Instruments

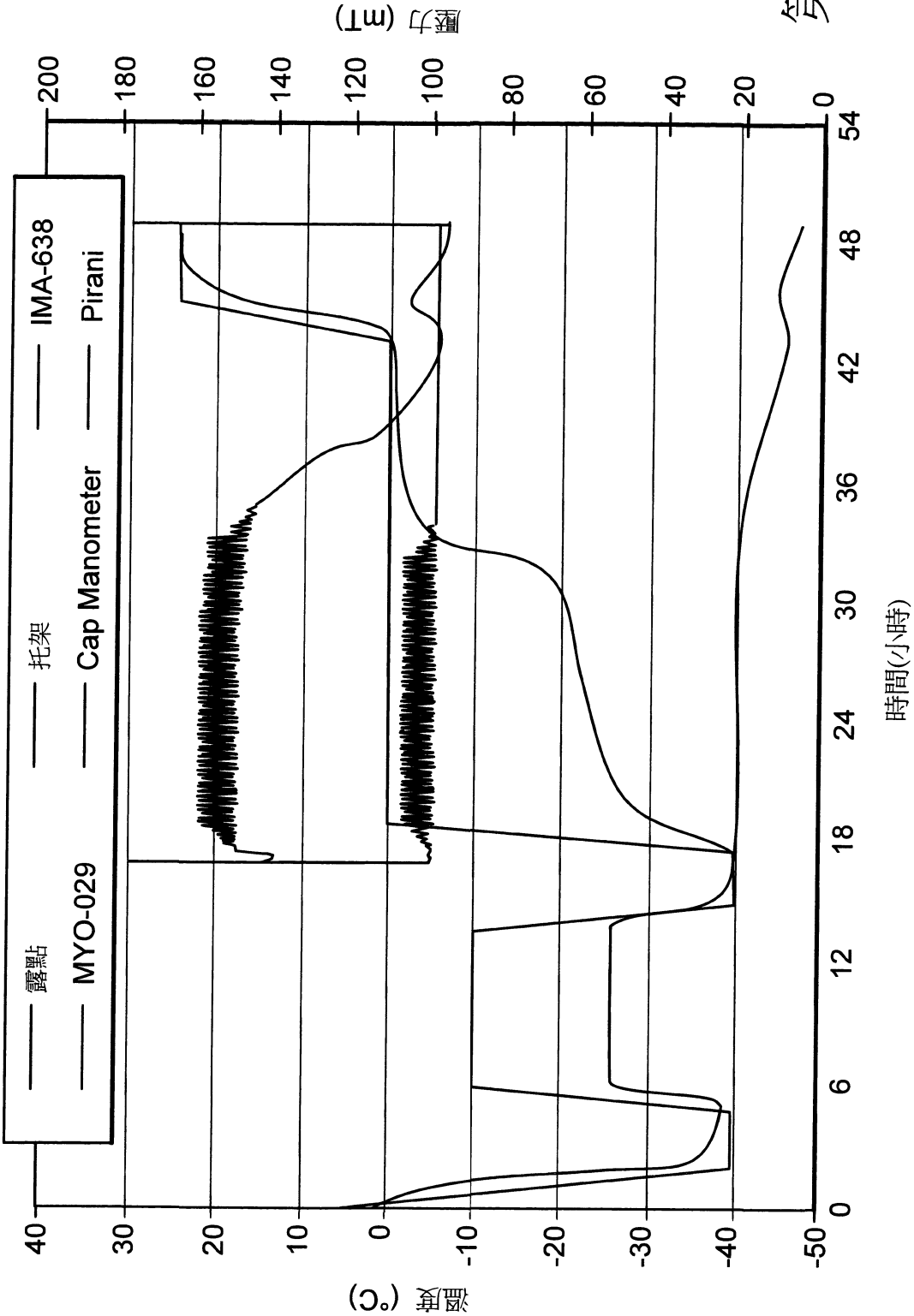


第 10 圖

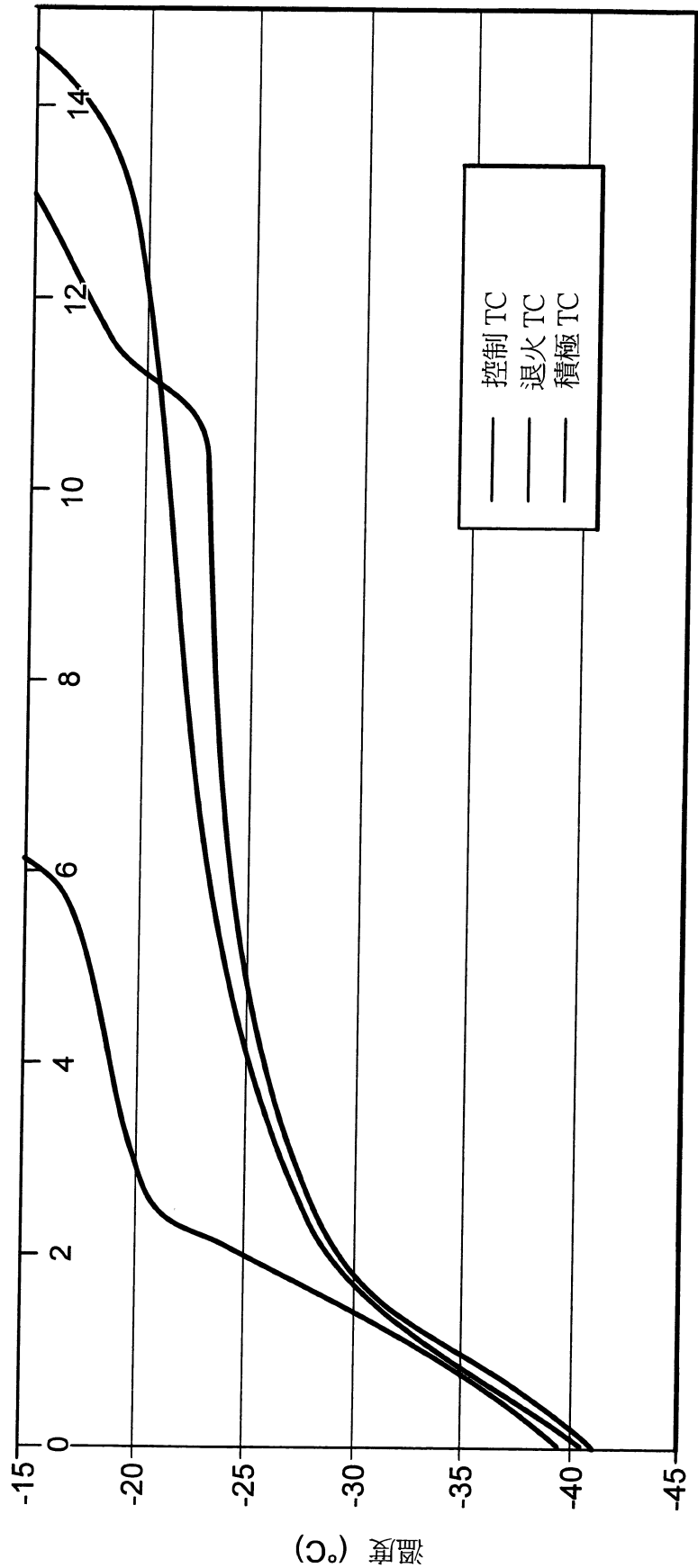
時間(小時)



第11圖



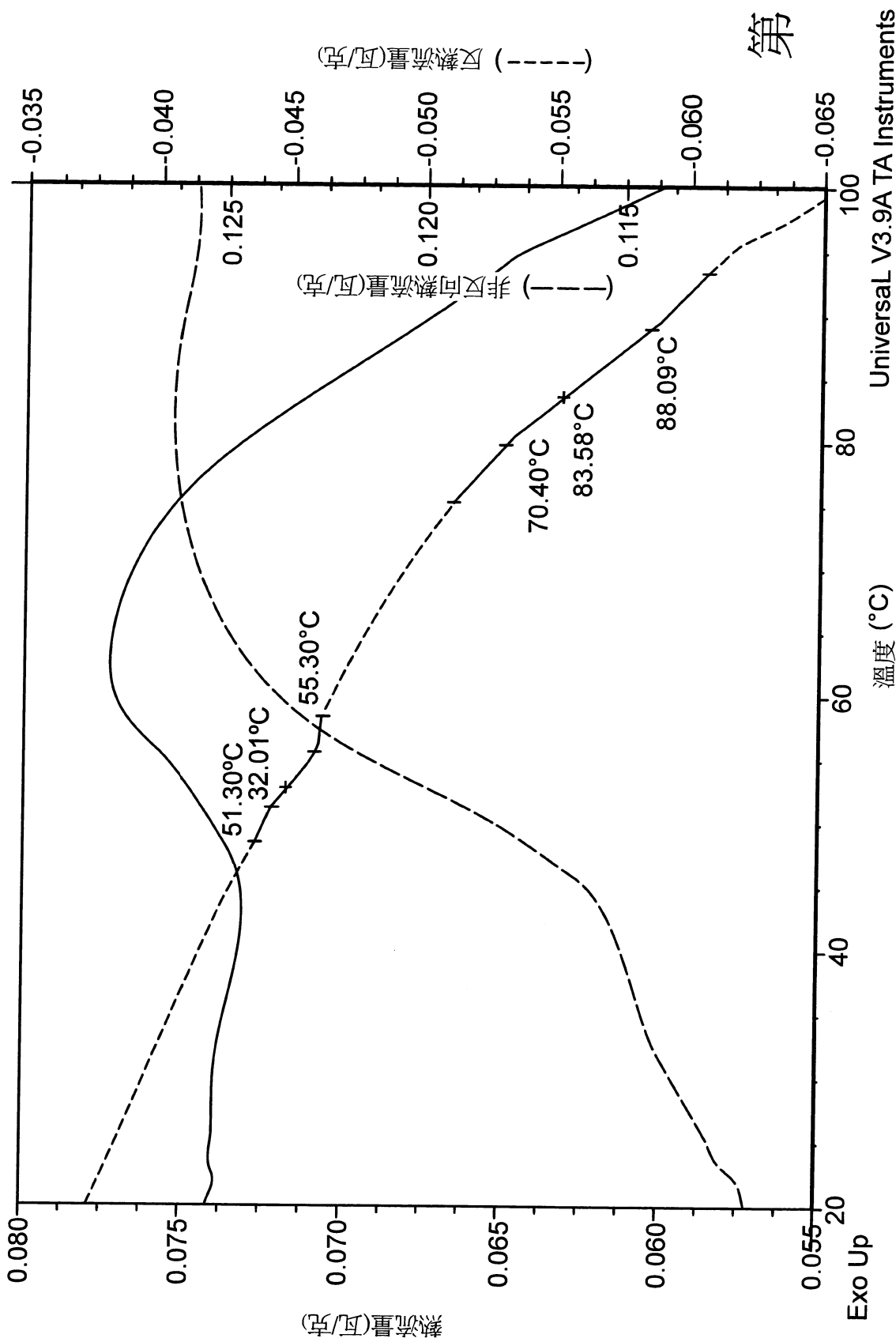
第12圖

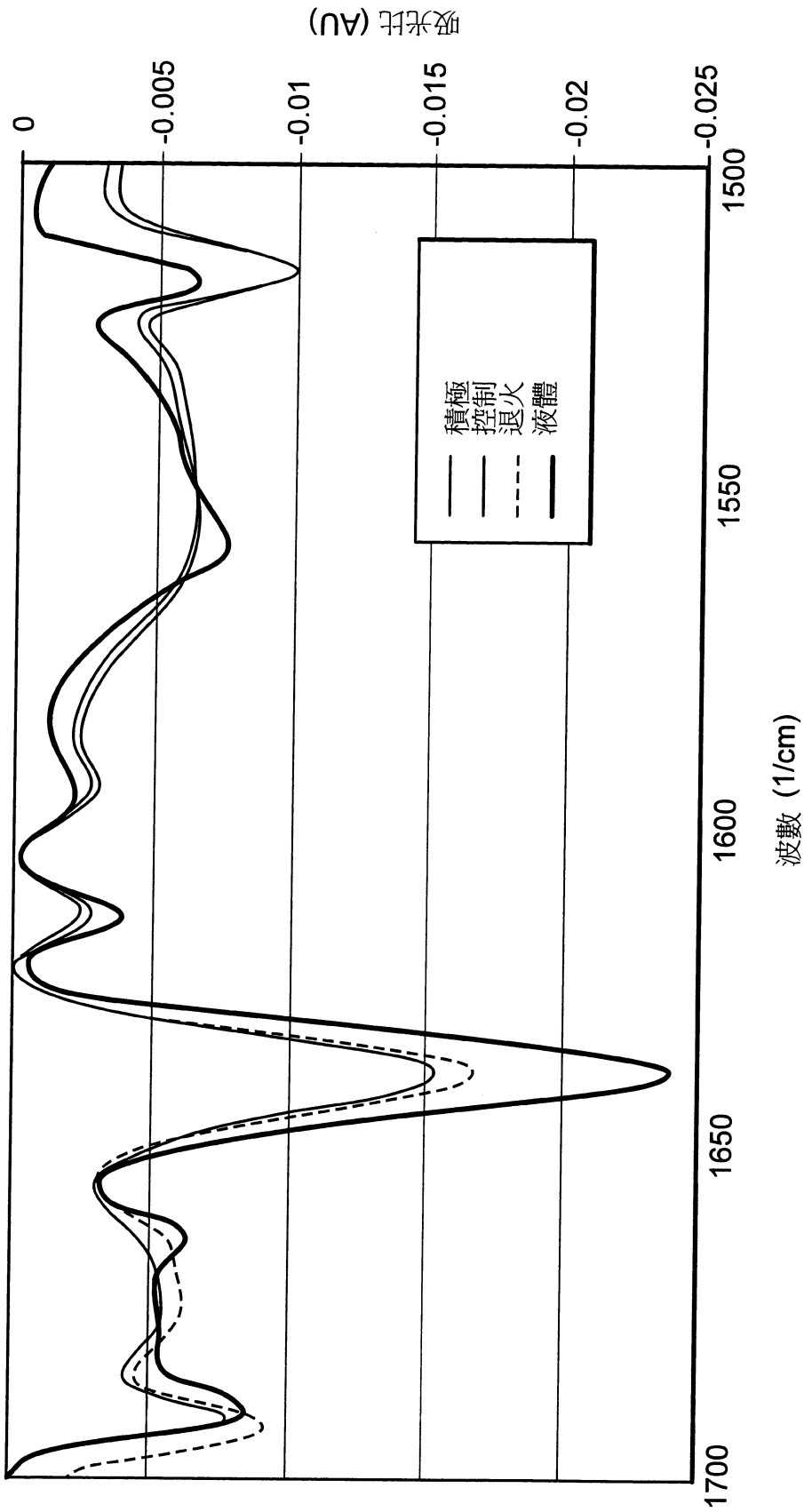


時間

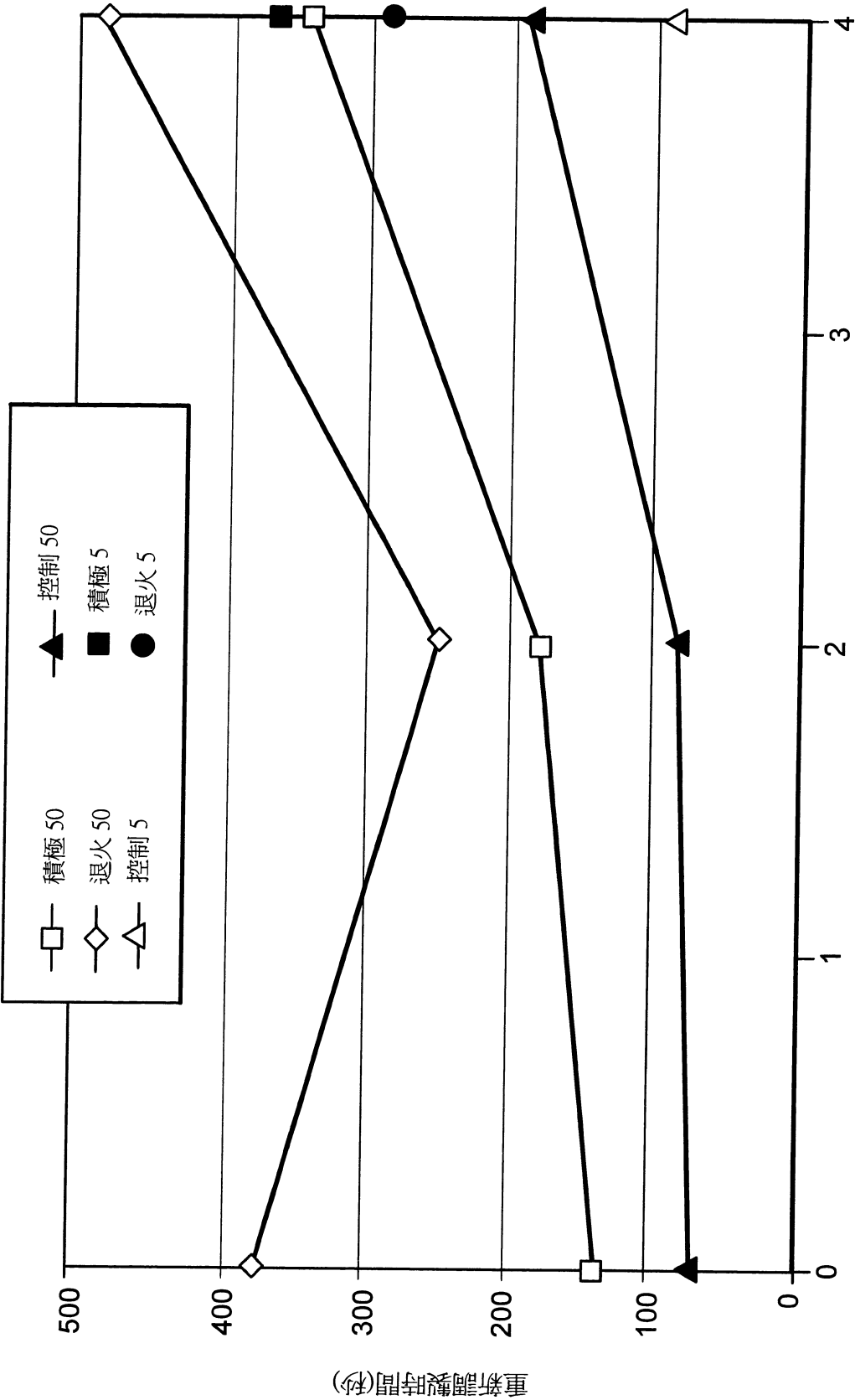
第13圖

第14圖

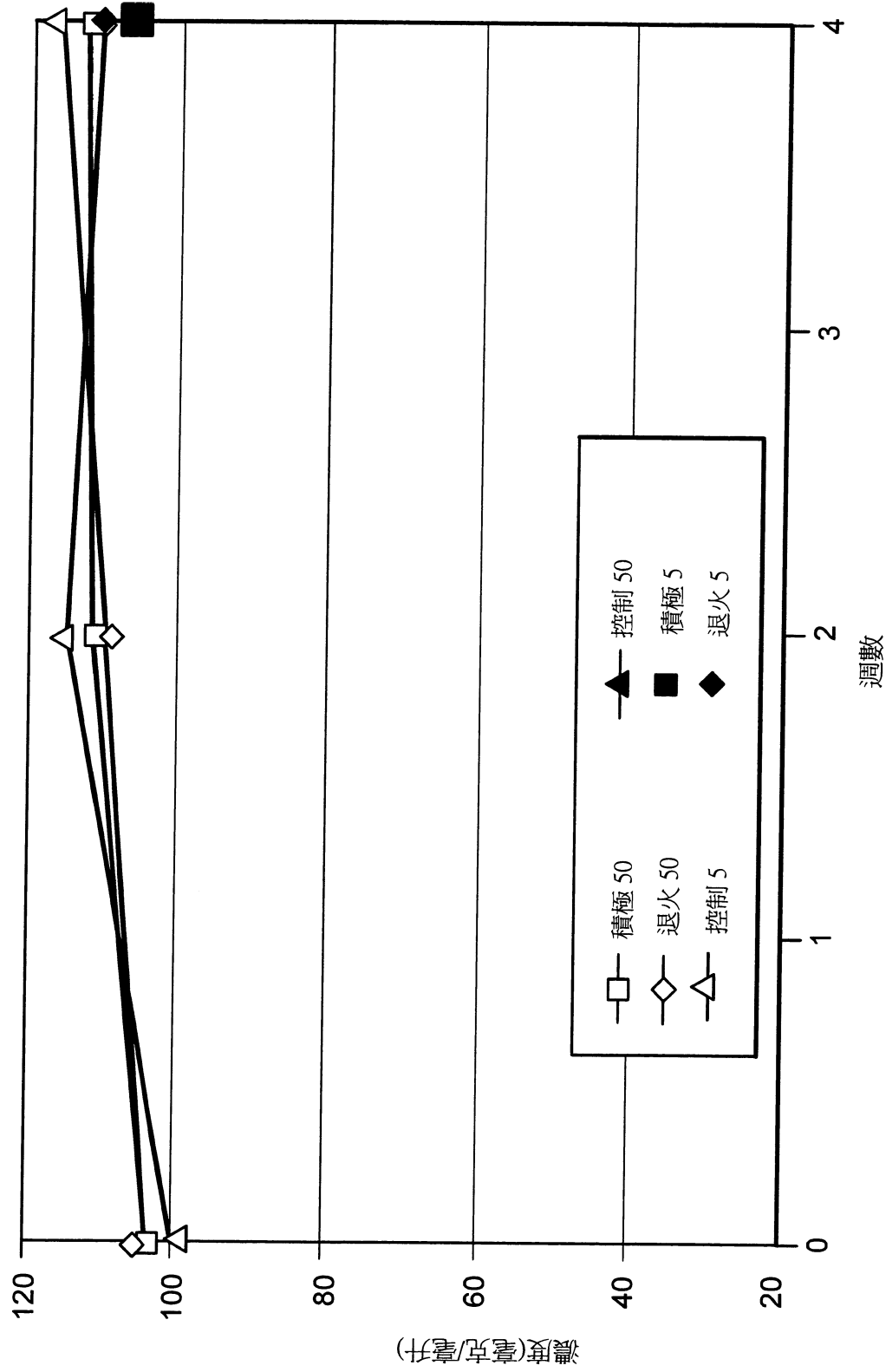




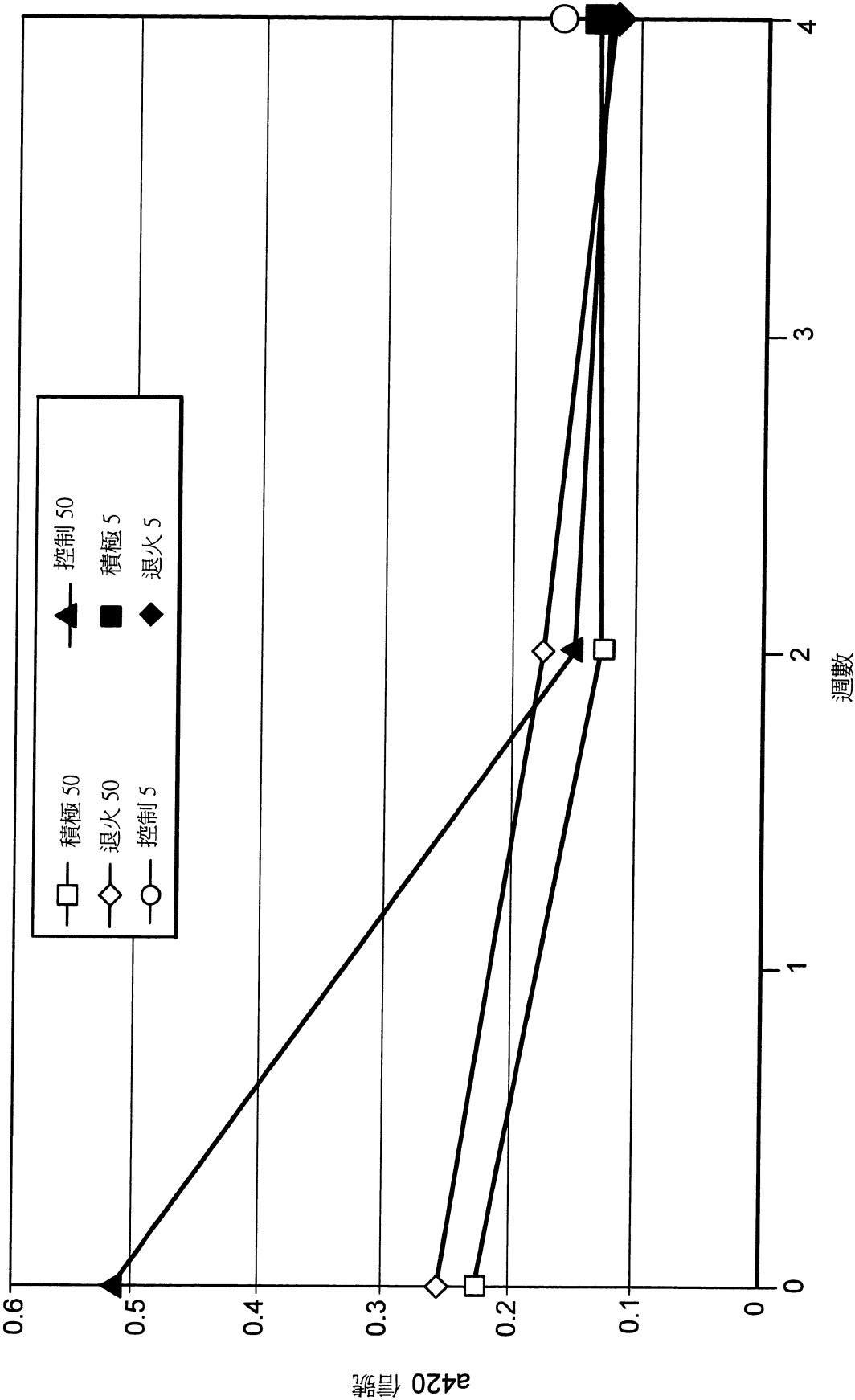
第15圖



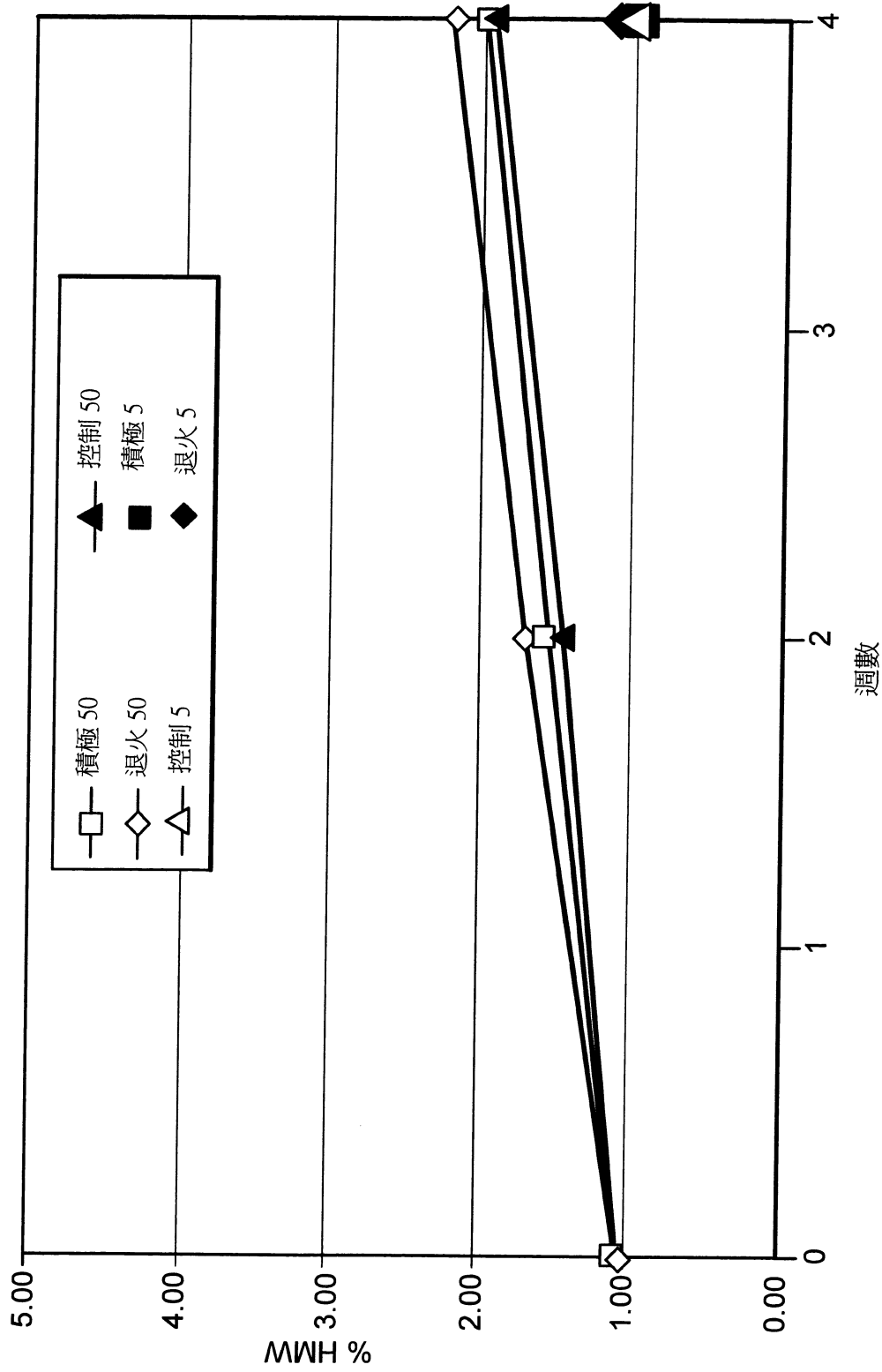
第16圖



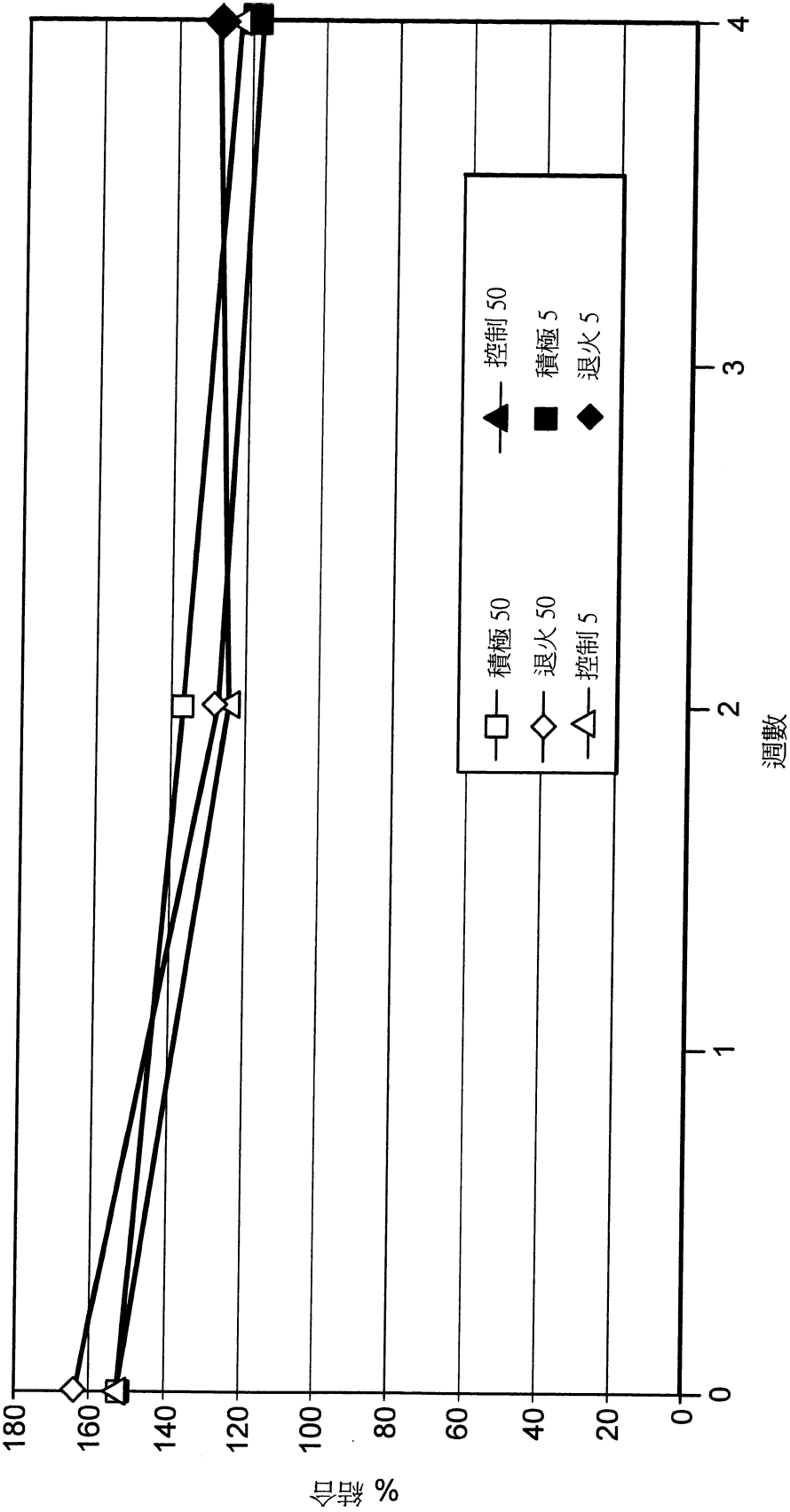
第17圖



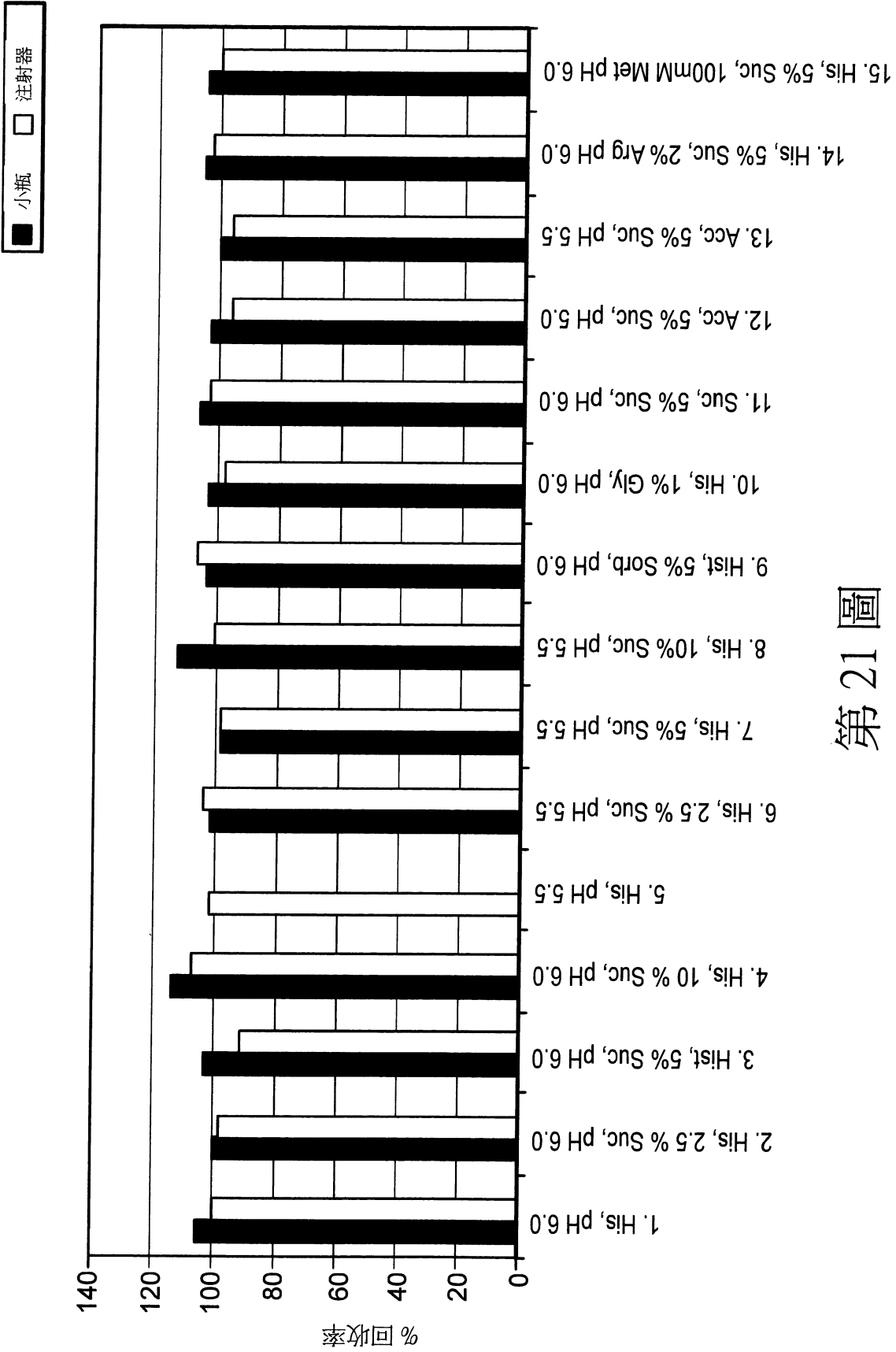
第18圖



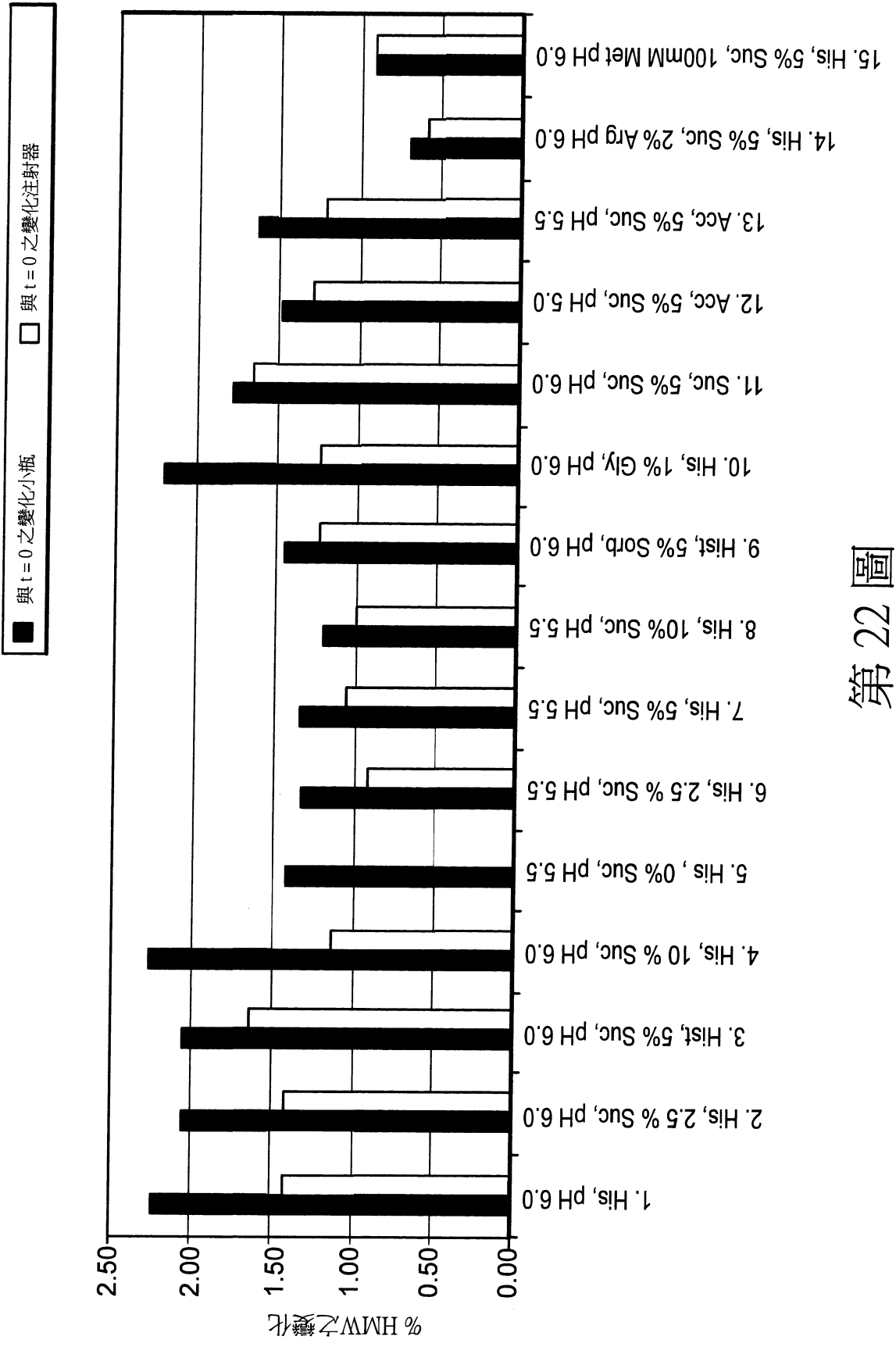
第 19 圖

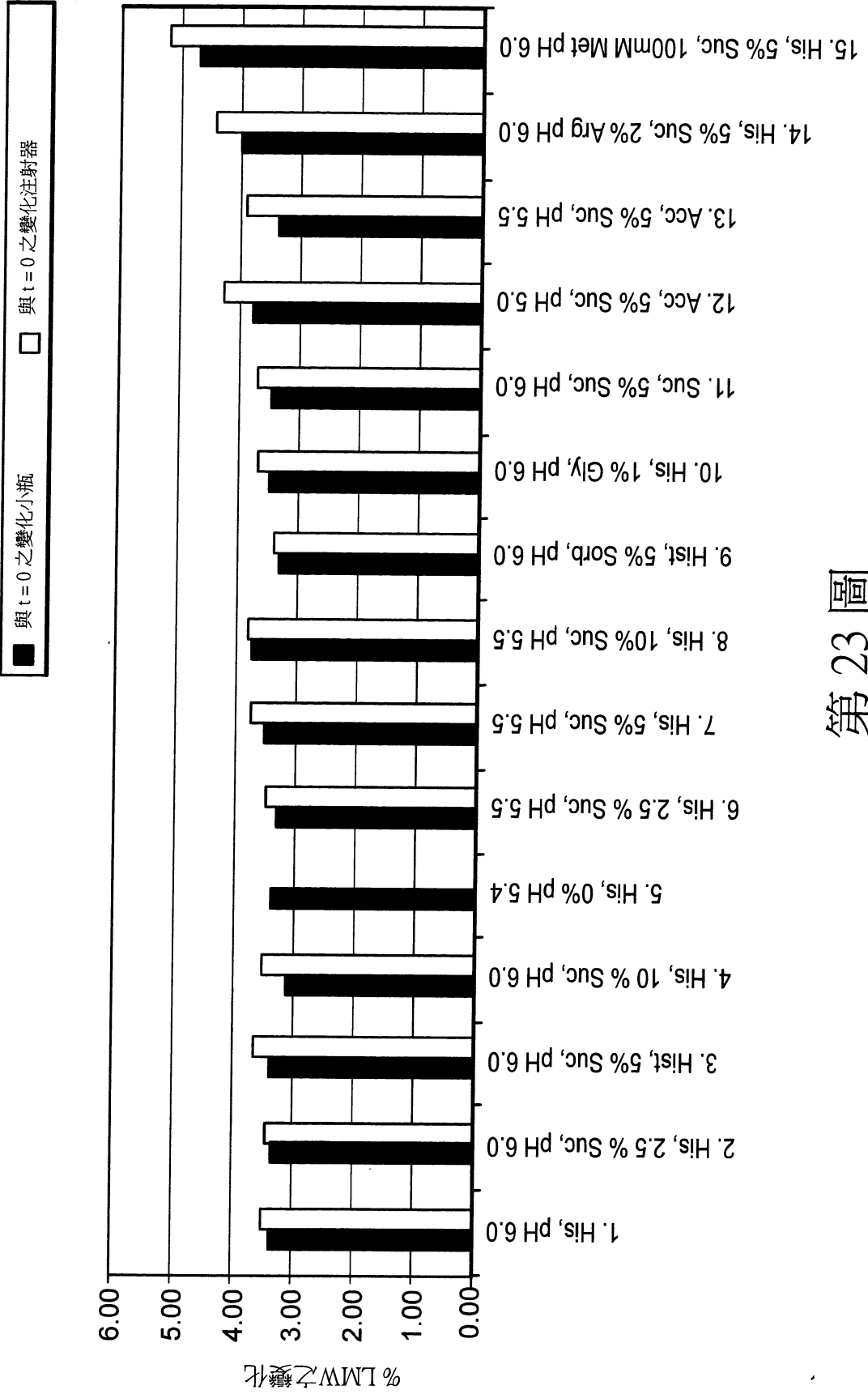


第 20 圖

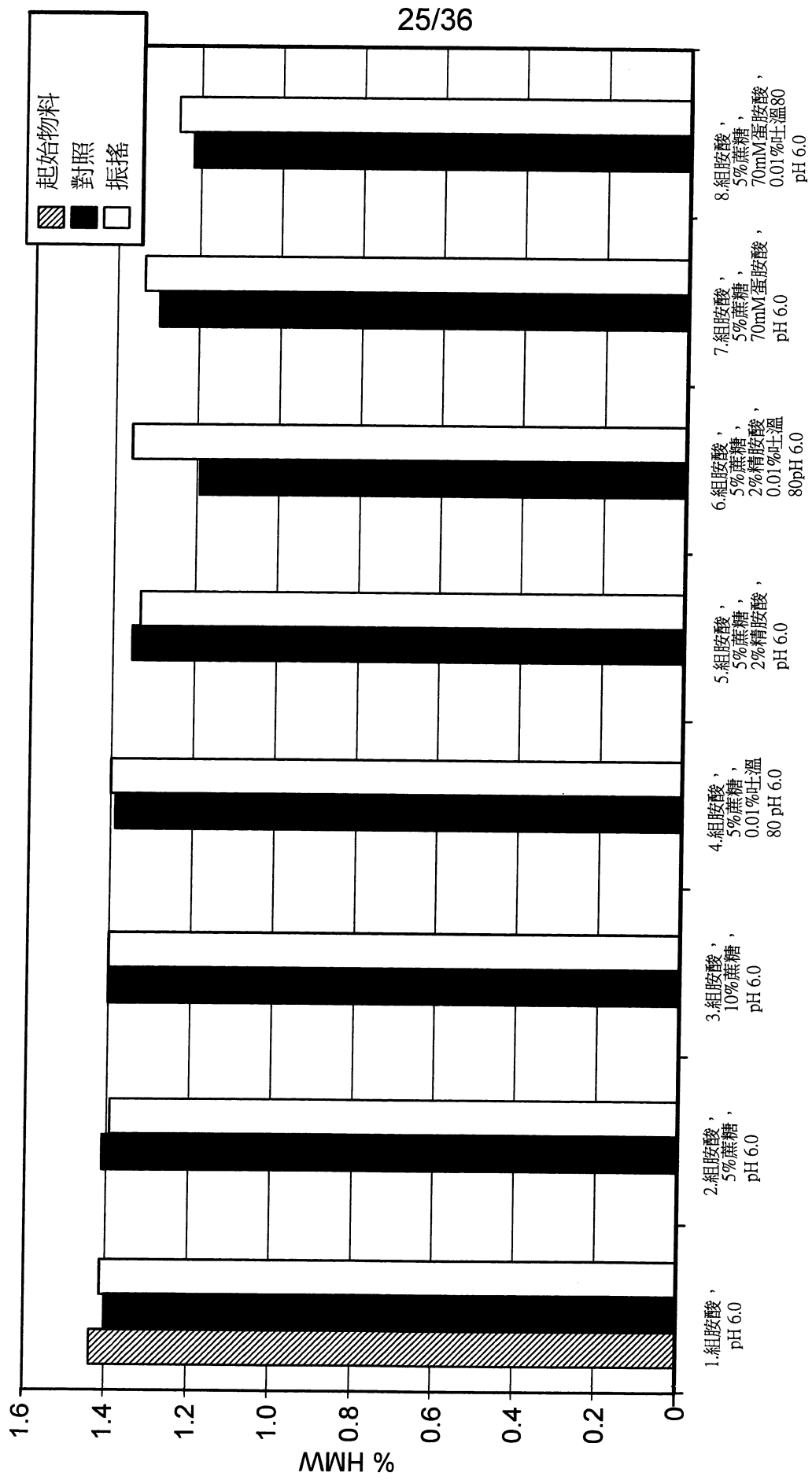


第 21 圖

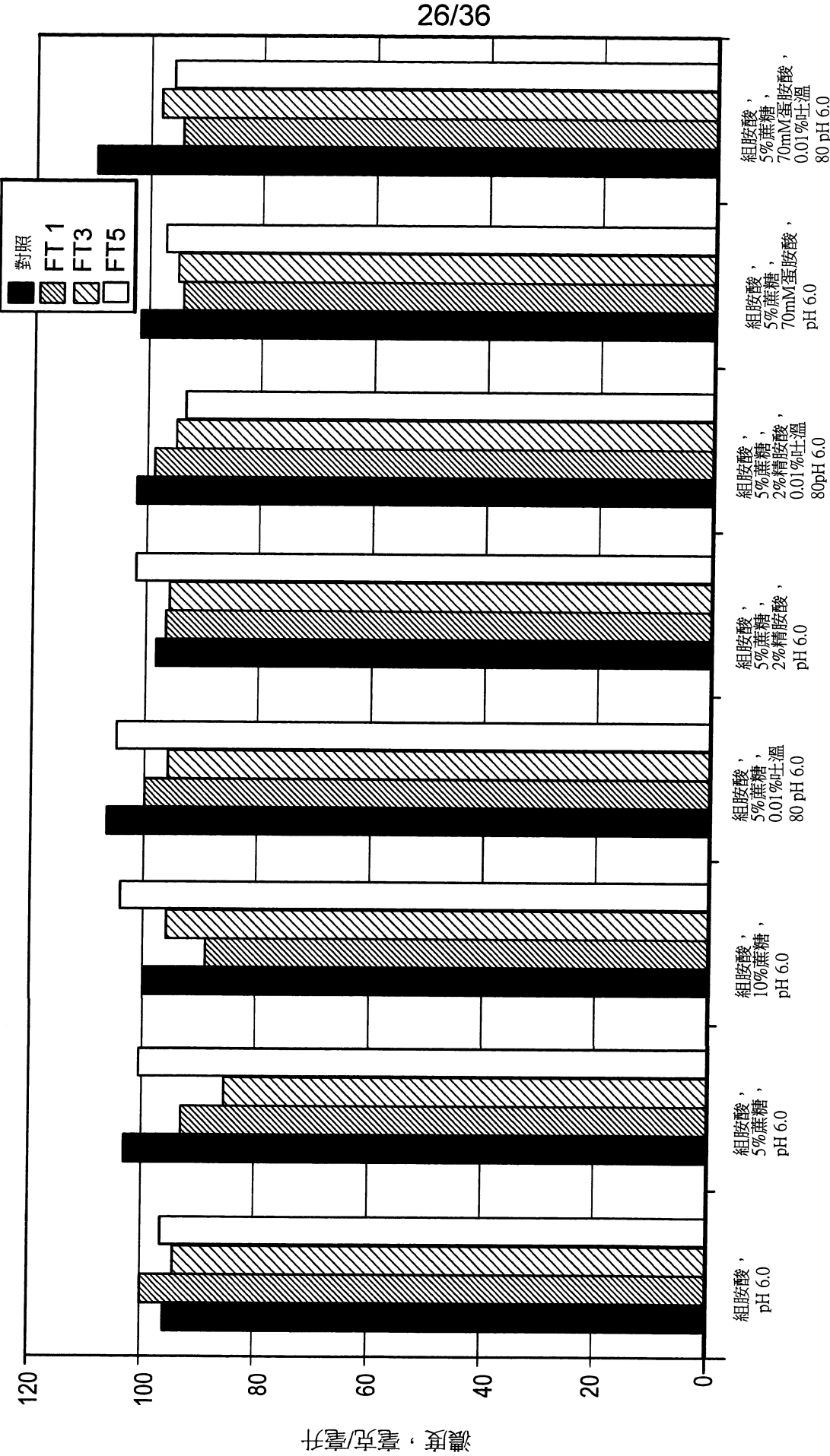




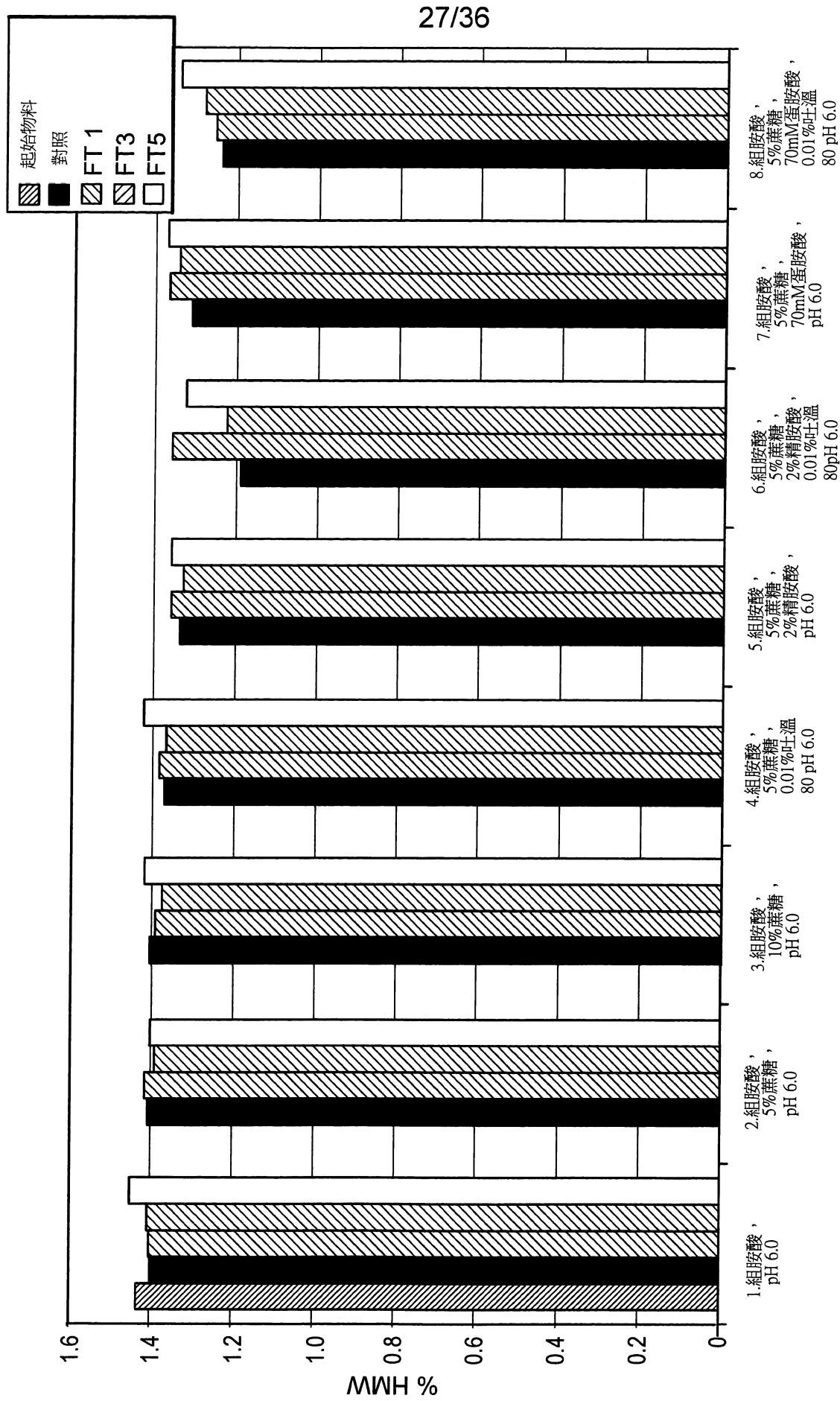




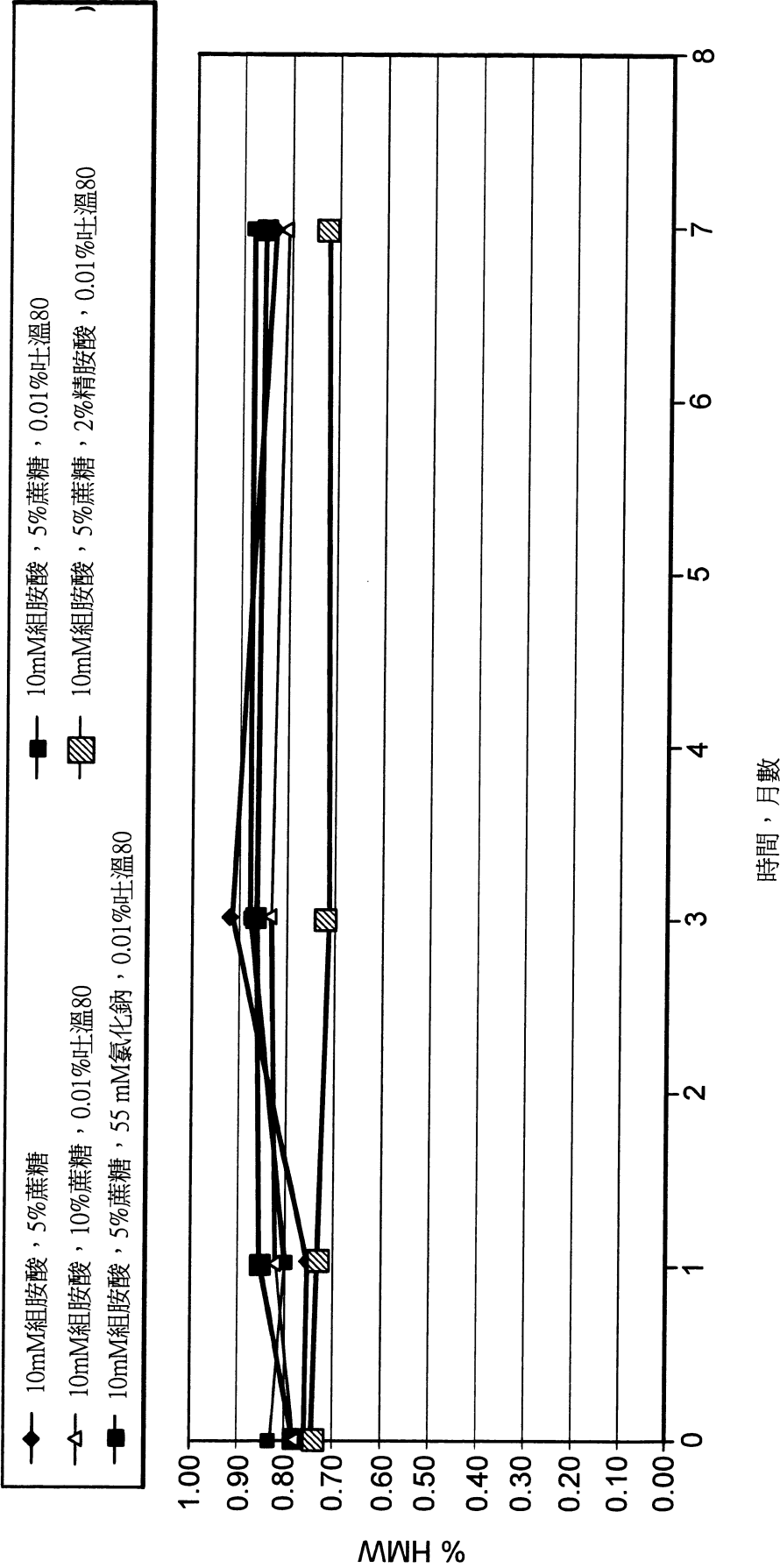
第 25 圖



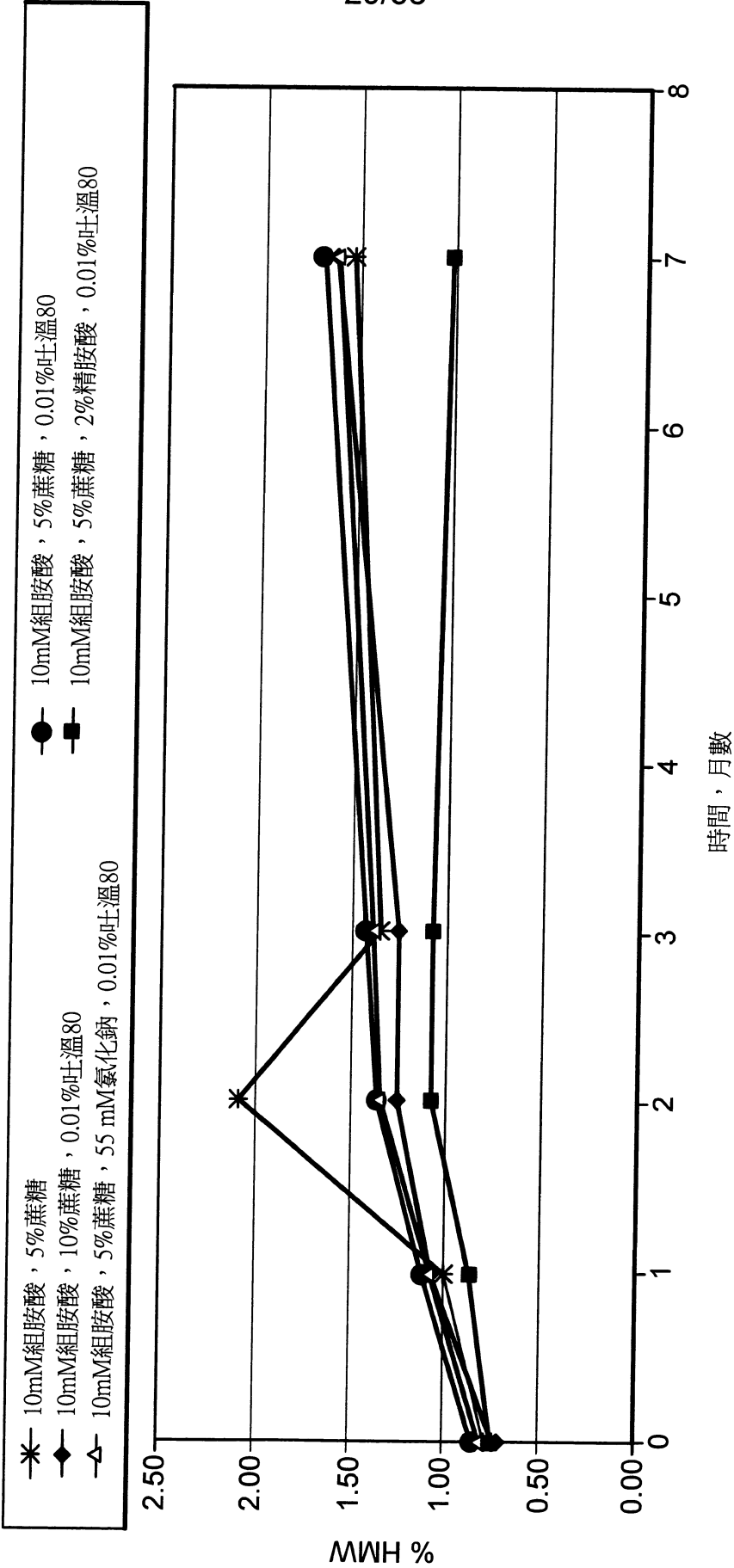
第26圖



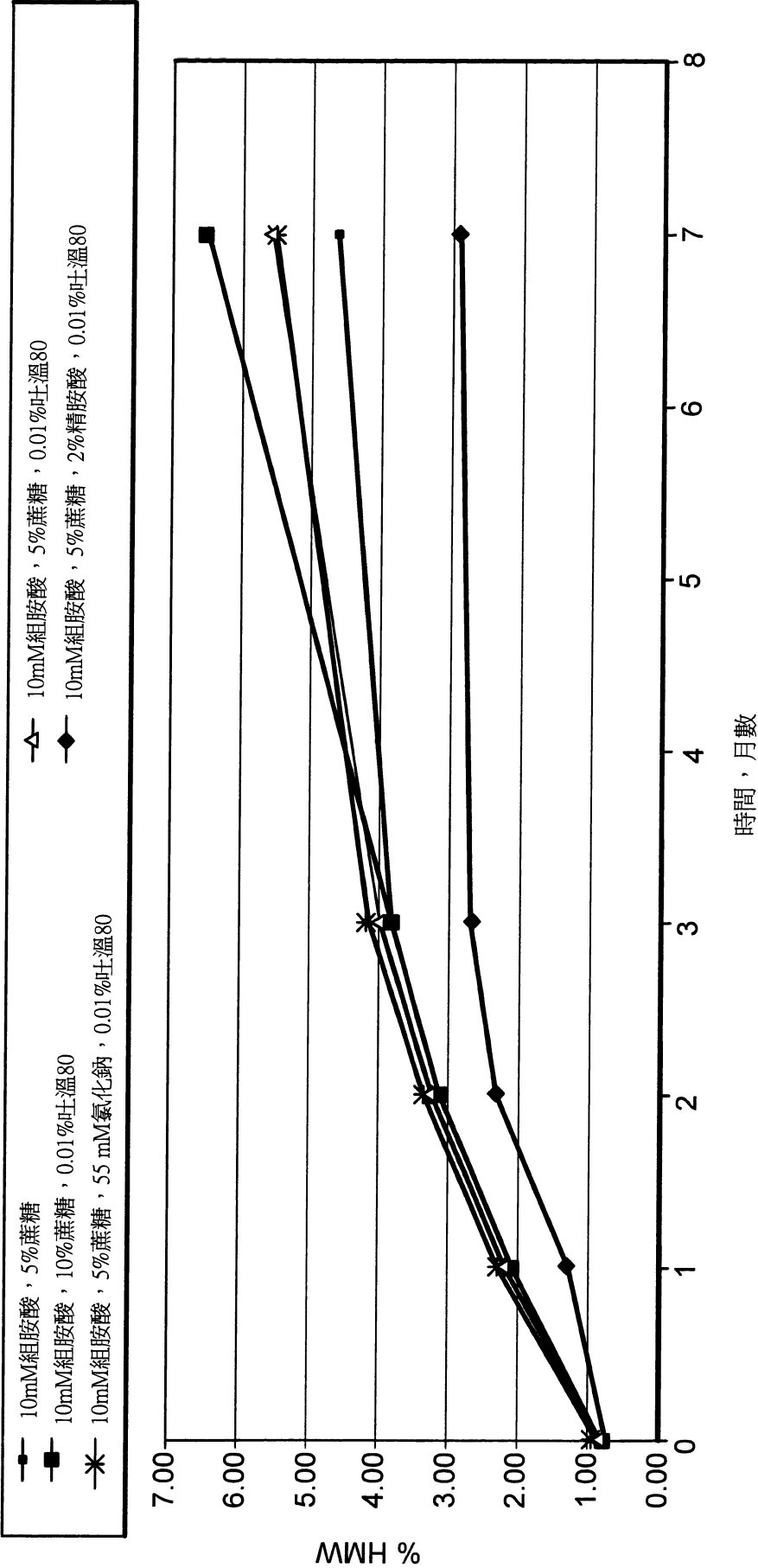
第27圖



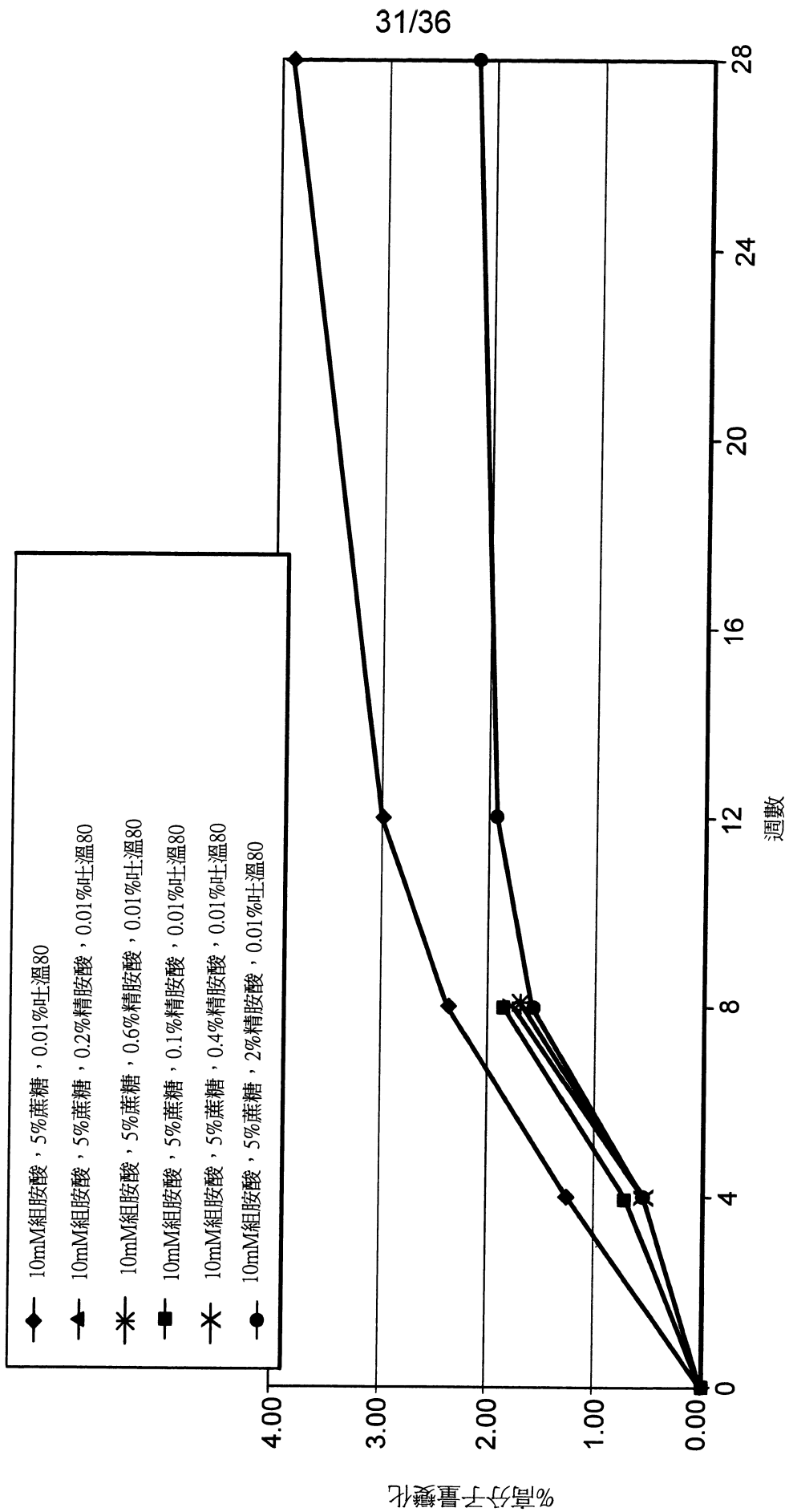
第28圖



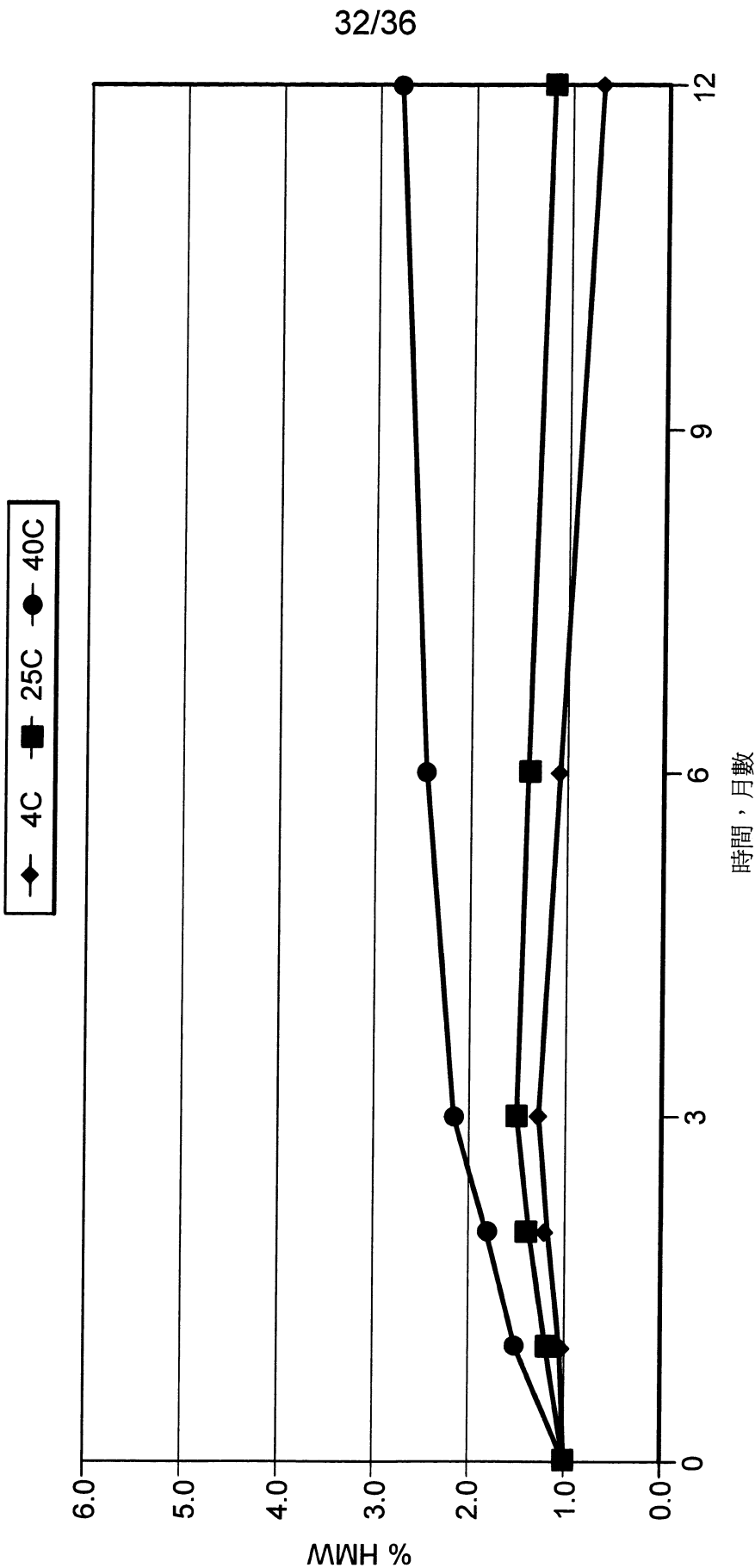
第29圖



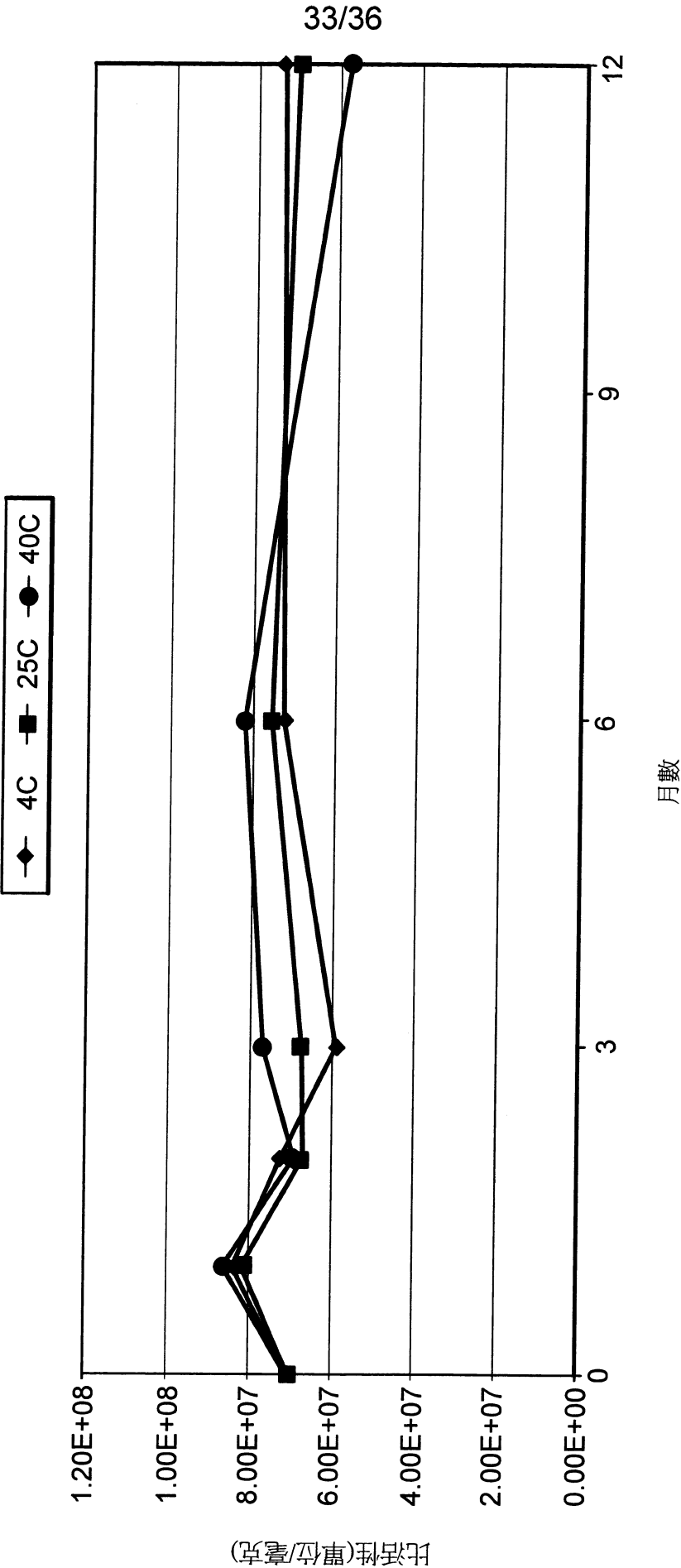
第30圖



第31圖



第 32 圖



第33圖

預測IMA-638輕鏈和重鏈之胺基酸序列

重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTISYAMSWVRQAPGKGLEWVASISSGGNTYYPD ¹ SVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLDGY ² YFGFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVN ³ HKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEALGAPSVFLPPKPKD ⁴ TLNISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNV ⁵ VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK [SEQ ID NO:1]
輕鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASESDNYGKSLMHWYQQKPGKAPKLLIYRASNL ¹ ESGVPSRFSGSG SGTDFTLTIS ² SLQPEDFATYYCQQSNEDPPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFY ³ YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS ⁴ TYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC [SEQ ID NO:2]

兩個突變的殘基降低 Fc 效應物功能係藉下方畫線指示，
而 N-鏈接糖苷化同位序列係以粗體字指示

第 34 圖

第 35A 圖
第 35B 圖

IMA-026
全長胺基酸序列

IMA-026爲人化抗IL-13抗體，人IgG1mut/κ 同基因型

重鏈

可變區架構--人IGHV3-h*01或IGHV3-h*02

CDR係植基於KABAT識別(下方畫線)。衍生自小鼠單株抗體。

恆定區：人IgG1帶有L234A和G237A突變(設計來降低效應物功能)
於 Asn 297(灰色影線)含有一個 N-鏈接的糖苷化

胺基酸序列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWIGRIDPANDNIKYDP
KFQGRFTISADNAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYFCARSENWYDFFDYWGQGTLVTVSSAST
KGPSVFPPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEALGAPSVFLPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYINSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
[SEQ ID NO: 3]

KABAT
VH CDR1 DTYIH [SEQ ID NO:5]
VH CDR2 RIDPANDNIKYDPKFOG [SEQ ID NO:6]
VH CDR3 SEENWYDFFDY [SEQ ID NO:7]

IMGT系統
VH CDR1 GFNIKDTY [SEQ ID NO:8]
VH CDR2 IDPANDNI [SEQ ID NO:9]
VH CDR3 SEENWYDFDY [SEQ ID NO:10]

輕鏈
可變區架構--人IGKV1D-39*01
CDR係植基於KABAT識別(下方畫線)。衍生自小鼠單株抗體。
恆定區--人κ

DIQMTQSPSSLSASVCDRVVTITCRSSQSIVHSNGNTYLEWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGV
PSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYCFQGSHIPYTFFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSITYSLSTLTLSKADYEKH
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC [SEQ ID NO:4]

KABAT
VL CDR1 RSSQSIVHSNGNTYLE [SEQ ID NO:11]
VL CDR2 KVSNRFS [SEQ ID NO:12]
VL CDR3 FOGSHIPYT [SEQ ID NO:13]

IMGT系統
VL CDR1 QSIVHSNGNTY [SEQ ID NO:14]
VL CDR2 KVS [SEQ ID NO:15]
VL CDR3 FQGSHIPYT [SEQ ID NO:16]

第 35B 圖

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 () 圖。(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)