



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113056482 A

(43) 申请公布日 2021.06.29

(21) 申请号 201980076016.1

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所  
11256

(22) 申请日 2019.10.14

代理人 陈文平 吴斌

(30) 优先权数据

62/747,418 2018.10.18 US

(51) Int.Cl.

C07K 16/24 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 47/36 (2006.01)

2021.05.18

A61P 35/00 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 9/19 (2006.01)

PCT/US2019/056027 2019.10.14

A61K 47/12 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/081408 EN 2020.04.23

A61K 47/18 (2006.01)

(71) 申请人 默沙东公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 V·哈舍米 A·德

C·N·纳拉西曼

权利要求书3页 说明书34页

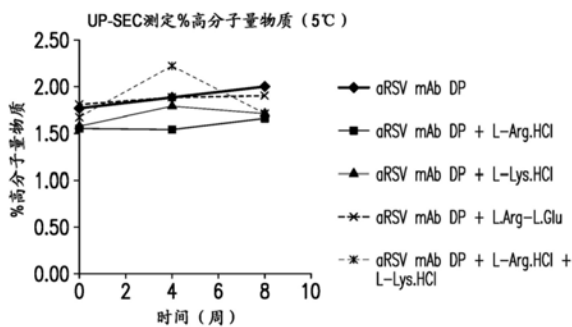
序列表8页 附图17页

(54) 发明名称

抗RSV抗体的制剂及其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及包含与呼吸道合胞病毒(RSV)结合的抗体或其抗原结合片段的稳定制剂,以及该制剂用于预防和/或治疗RSV相关疾病的方法。



1. 抗RSV抗体制剂,包括:
  - a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;
  - b) 约5mM至约20mM组氨酸;
  - c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;
  - d) 选自下组的赋形剂  
约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,  
约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,  
约25mM至约75mM L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐与约25mM至约75mM L-谷氨酸盐或L-谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物,和  
约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物;和
  - e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。
2. 权利要求1所述的抗RSV抗体制剂,包括:
  - a) 约50mg/ml至约250mg/ml的抗RSV抗体或其抗原结合片段;
  - b) 约5mM至约20mM的组氨酸;
  - c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;
  - d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐;和
  - e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。
3. 权利要求1所述的抗RSV抗体制剂,包括:
  - a) 约50mg/ml至约250mg/ml的抗RSV抗体或其抗原结合片段;
  - b) 约5mM至约20mM的组氨酸;
  - c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;
  - d) 约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐;和
  - e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。
4. 权利要求1所述的抗RSV抗体制剂,包括:
  - a) 约50mg/ml至约250mg/ml的抗RSV抗体或其抗原结合片段;
  - b) 约5mM至约20mM的组氨酸;
  - c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;
  - d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-谷氨酸盐或L-谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物;和
  - e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。
5. 权利要求1所述的抗RSV抗体制剂,包括:
  - a) 约50mg/ml至约250mg/ml的抗RSV抗体或其抗原结合片段;
  - b) 约5mM至约20mM组氨酸;
  - c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;
  - d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物;和
  - e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。
6. 权利要求1-5中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其包含约125mg/mL至约175mg/mL的

所述抗RSV抗体或其抗原结合片段。

7. 权利要求1-5中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其包含约150mg/ml的所述抗RSV抗体或其抗原结合片段。

8. 权利要求1-5中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其包含约150mg/mL至约200mg/mL的所述抗RSV抗体或其抗原结合片段。

9. 权利要求1-5中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其包含约175mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

10. 权利要求1-5中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其包含约175mg/mL至约225mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

11. 权利要求1-5中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其包含约200mg/ml的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

12. 权利要求1-11中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其进一步包含约25至约75 $\mu$ M的DTPA。

13. 权利要求1至12中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其进一步包含约1mM至约20mM的L-蛋氨酸。

14. 权利要求1至13中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其中所述pH为5.5至6.5。

15. 权利要求1-14中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其中所述pH为6.0。

16. 权利要求1-15中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其中所述抗RSV抗体包含具有SEQ ID NO:1-6氨基酸序列的互补决定区。

17. 权利要求1-15中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其中所述抗RSV抗体包含具有SEQ ID NO:7氨基酸序列的重链可变区和SEQ ID NO:8氨基酸序列的轻链可变区。

18. 权利要求1-15中任意一项所述的抗RSV抗体制剂,其中所述抗RSV抗体包含由SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列组成的重链免疫球蛋白和由SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列组成的轻链免疫球蛋白。

19. 在有需要的人类患者中治疗或预防RSV感染的方法,其包括:向所述患者施用有效量的权利要求1-18中任意一项的抗RSV抗体制剂。

20. 权利要求19所述的方法,其中所述有效量的抗RSV抗体制剂包含约10mg至约150mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

21. 权利要求19所述的方法,其中所述有效量的抗RSV抗体制剂包含约25mg至约125mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

22. 权利要求19所述的方法,其中所述有效量的抗RSV抗体制剂包含约50mg至约100mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

23. 权利要求19所述的方法,其中所述有效量的抗RSV抗体制剂包含约100mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

24. 权利要求19-23中任意一项所述的方法,其中所述抗RSV抗体制剂通过肌肉内施用来施用。

25. 权利要求1-18中任意一项所述的抗RSV抗体制剂用于治疗或预防人类患者的RSV感染的方法。

26. 权利要求1-18中任意一项所述的抗RSV抗体制剂在制备用于治疗或预防人类患者

的RSV感染的药物中的用途。

## 抗RSV抗体的制剂及其使用方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及包含与呼吸道合胞病毒 (RSV) 结合的抗体或其抗原结合片段的稳定制剂。还提供了用本发明的制剂预防和/或治疗RSV相关疾病的方法。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 不适用。

[0004] 电子提交的序列表的引用

[0005] 本申请的序列表是通过EFS-Web以ASCII格式的序列表电子提交的, 文件名为“24641WOPCT-SEQLIST.TXT”, 创建日期为2019年10月9日, 大小为9.19KB。通过EFS-Web提交的该序列表是说明书的一部分, 以引用的方式全部并入。

### 背景技术

[0006] 副粘病毒是包膜的反义RNA病毒, 是重要的人类和动物病原体。人类呼吸道合胞病毒 (hRSV, RSV) 属于副粘病毒科 (Paramyxoviridae), 肺炎链球菌亚科 (subfamily Pneumovirinae)。已经确定了两个亚型, 即A型和B型, 它们是导致6个月以下儿童严重有时甚至致死的呼吸道感染的主要原因。患有基础疾病 (如COPD, 哮喘和癌症) 的成年人以及免疫力低下的成年人, 包括HIV或移植后, 也有发展为严重RSV感染的风险。50岁以上成人因急性呼吸道感染而住院的年住院率中有15%是由RSV引起的。在美国, RSV每年导致超过100,000例的住院治疗, 据估计每年在全球造成约160,000例的死亡。目前, 尚无用于RSV的疫苗, 而福尔马林灭活病毒试验与RSV感染婴儿疾病严重程度的增加是相关的。其他家族成员, 包括人间质肺病毒 (hMPV) 和人副流感病毒 (hPIV) 也与hRSV类似, 也引起了急性呼吸系统疾病。

[0007] hRSV基因组是大约15kb的单链反义RNA分子, 编码11种蛋白质。这些蛋白质中的两种是病毒体主要的表面糖蛋白。它们是 (i) 附着蛋白G, 其介导病毒与细胞结合, 和 (ii) 融合蛋白F, 其在感染周期的初始阶段既促进病毒与细胞膜的融合, 还促使被感染细胞膜与邻近细胞的膜融合并形成特征性合胞体。附着蛋白G结合细胞表面受体并与F蛋白相互作用。这种相互作用触发F蛋白的构象变化介导膜融合, 从而将病毒核糖核蛋白复合物释放到宿主细胞质中。

[0008] 已经证明针对F蛋白或G蛋白的单克隆抗体在体外具有中和作用, 而在体内具有预防作用。参见例如Beeler and Coelingh 1989, J.Virol.63:2941-50; Garcia-Barreno et al., 1989, J.Virol.63:925-32; Taylor et al., 1984, Immunology 52:137-142; Walsh et al., 1984, Infection and Immunity 43:756-758和美国专利第5,842,307号和第6,818,216号。其他hRSV抗体描述于国际专利申请号W094/06448和W092/04381和美国专利第8,221,759号和第9,963,500号。

[0009] 用于人类受试者的抗体必须在使用前储存并运输到给药地点。在受试者中可再现地达到所需抗体药物水平, 需要将药物以维持药物生物活性的制剂形式存储。存在获得稳定制剂的抗RSV抗体药物用途的需求, 例如用于预防和/或治疗RSV相关疾病。优选地, 这样

的制剂将表现出长的保存期限,在存储和运输时是稳定的,并且适合于以高浓度例的剂量进行施用,例如通过皮下给药;同时还适合于低浓度给药,如通过静脉内给药。

[0010] 本发明的制剂可用于需要皮下递送给药的患者。为了向患者提供最大的治疗益处,期望用于皮下(SC)递送的制剂包含较高的抗体浓度(75-200mg/ml)。由于皮下注射制剂的历史生物利用率为50-60%并且抗体产品预期的剂量范围较大,因此皮下给药制剂通常需要较高浓度的API。然而,高浓度的抗体或其抗原结合片段可能导致产品出现其他不希望获得特性,例如,由于粘度增加而致的降低的注射性以及高于生理学的渗透压和聚集性。因此,优选的用于SC施用的抗体产物需要平衡浓度的影响以及保持提供最高治疗益处的药物水平。理想的产品包括较高的蛋白浓度,较低的粘度,与生理条件相似的渗透压,和在典型的存储条件下的较低的聚集水平。高蛋白浓度下粘度的增加不仅可能使用注射器从其容器中抽出产品变得困难,并且还会使从注射器中将所需剂量注射到患者体内(可注射性)存在困难。有利地,本发明的实施方案提供了制剂,其包含高浓度的抗体或其抗原结合片段,并且在皮下递送中具有可接受的粘度水平。另外,本发明的制剂不会导致高水平的聚集,在实施例中进行更为详细地展示。

### 发明内容

[0011] 本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a)约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)约5mM至约20mM的缓冲液;c)一种稳定剂,选自:(i)约6%至约8%重量/体积(w/v)的非还原糖;(ii)约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,L-脯氨酸或L-脯氨酸的药学上可接受的盐,L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,L-谷氨酸或L-谷氨酸的药学上可接受的盐,或上述氨基酸的混合,和(iii)约25 $\mu$ M至75 $\mu$ M的螯合剂;d)约0.01%至约0.10%的非离子表面活性剂;e)约1mM至约20mM的抗氧化剂。

[0012] 在另一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a)约50mg/mL至约150mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b)约5mM至约20mM组氨酸;c)约6%至约8%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM L-精氨酸与约25mM至约75mM L-谷氨酸的混合物,和约25mM至约75mM的L-精氨酸(HCl)和约25mM至约75mM的L-赖氨酸(HCl)的混合物;e)约25 $\mu$ M至75 $\mu$ M的DTPA;f)约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80;g)约1mM至约20mM L-蛋氨酸。

[0013] 在另一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a)约100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b)约10mM组氨酸;c)约7%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,约50mM的L-精氨酸(HCl),约50mM的L-赖氨酸(HCl),约25mM L-精氨酸与约25mM L-谷氨酸的混合物,和约25mM L-精氨酸(HCl)和约25mM L-赖氨酸(HCl)的混合物;e)约50 $\mu$ M的DTPA;f)约0.02%的聚山梨酯80;和可选的g)约1mM至约20mM L-蛋氨酸。

[0014] 在另一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a)100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b)10mM组氨酸;c)7%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,50mM的L-精氨酸(HCl),50mM的L-赖氨酸(HCl),25mM L-精氨酸与25mM L-谷氨酸的混合物,和25mM L-精氨酸(HCl)和25mM L-赖氨酸(HCl)的混合物;e)50 $\mu$ M的DTPA;f)0.02%的聚山梨酯80;和可选的g)1mM至20mM L-蛋氨酸。

[0015] 在另一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 10mM组氨酸;c) 7% (w/v) 重量/体积的蔗糖;d) 25mM L-精氨酸(HCl)和25mM L-赖氨酸(HCl)的混合物;e) 50 $\mu$ M的DTPA;f) 0.02%的聚山梨酯80。

[0016] 在另一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,组成为:a) 100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 10mM组氨酸;c) 7% (w/v) 的蔗糖;d) 25mM L-精氨酸(HCl)和25mM L-赖氨酸(HCl)的混合物;e) 50 $\mu$ M的DTPA;f) 0.02%的聚山梨酯80。

[0017] 在另一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至约20mM组氨酸;c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;d) 选自下组的赋形剂,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM L-精氨酸与约25mM至约75mM L-谷氨酸的混合物,和约25mM至约75mM的L-精氨酸和约25mM至约75mM的L-赖氨酸的混合物;e) 约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80。

[0018] 在一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至约20mM组氨酸;c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,e) 约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80。在一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至20mM组氨酸;c) 4%至8% (w/v) 的蔗糖;d) 25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐;e) 0.01%至0.10%的聚山梨酯80。

[0019] 在一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至约20mM组氨酸;c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;d) 约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,e) 约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80。在一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至20mM组氨酸;c) 4%至8% (w/v) 的蔗糖;d) 25mM至75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐;e) 0.01%至0.10%的聚山梨酯80。

[0020] 在另一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至约20mM组氨酸;c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-谷氨酸或L-谷氨酸的药学上可接受的盐,e) 约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80。在一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至20mM组氨酸;c) 4%至约8% (w/v) 的蔗糖;d) 25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和25mM至75mM的L-谷氨酸或L-谷氨酸的药学上可接受的盐,e) 0.01%至0.10%的聚山梨酯80。

[0021] 在一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 约5mM至约20mM组氨酸;c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖;d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,e) 约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80。在一个实施方式中,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,包含:a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体

或其抗原结合片段;b) 约5mM至20mM组氨酸;c) 4%至8% (w/v) 的蔗糖;d) 25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和25mM至75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,e) 0.01%至0.10%的聚山梨酯80。

[0022] 在某些实施方案中,所述制剂的pH在5.5至6.5之间。

[0023] 在某些实施方案中,所述制剂的pH为6.0。

[0024] 本文还提供了在有需要的人类患者中预防和/或治疗RSV相关疾病的方法,包括:向患者施用有效量的本发明的抗RSV抗体制剂。

[0025] 本文还提供了在有需要的人类患者中治疗或预防RSV感染的方法,其包括:向患者施用有效量的本发明的抗RSV抗体制剂。

[0026] 本文还提供了在有需要的人类患者中治疗或预防RSV感染的方法,该方法包括:向该患者施用有效量的本发明的抗RSV抗体制剂,其中该有效量包括固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段,其中固定剂量为约10至约100mg。

[0027] 本文还提供了在需要其的人类患者中治疗或预防RSV感染的方法,包括:向患者施用有效量的本发明的抗RSV抗体制剂,其中通过皮下给药来施用抗RSV抗体制剂;或其中抗RSV抗体制剂通过静脉内给药来施用;或其中抗RSV抗体制剂通过肌肉内给药来施用。

[0028] 本文还提供了本发明的抗RSV抗体制剂在治疗或预防人类患者的RSV感染中的用途。

## 附图说明

[0029] 图1A-1C显示了抗RSV抗体制剂在5℃储存条件下UPSEC%HMW、%mAb(单体)和%LMW随时间变化的数据。

[0030] 图2A-2C显示了抗RSV抗体制剂在25℃储存条件下UPSEC%HMW、%mAb(单体)和%LMW随时间变化的数据

[0031] 图3A-3C显示了抗RSV抗体制剂在40℃储存条件下UPSEC%HMW、%mAb(单体)和%LMW随时间变化的数据。

[0032] 图4A-4B显示了抗RSV抗体制剂在5℃储存条件下的HP-IEX%总酸性峰和%主峰随时间变化的数据。

[0033] 图5A-5B显示了抗RSV抗体制剂在25℃储存条件下的HP-IEX%总酸性峰和%主峰随时间变化的数据。

[0034] 图6A-6B显示了抗RSV抗体制剂在40℃储存条件下的HP-IEX%总酸性峰和%主峰随时间变化的数据。

[0035] 图7显示了辅料降低100mg/mL抗RSV抗体粘度的结果(所有实验重复n=5以得出标准偏差)。

[0036] 图8A-8C显示了抗RSV抗体制剂在5℃储存条件下UPSEC%HMW、%mAb(单体)和%LMW随时间变化的数据。

[0037] 图9A-9C显示了抗RSV抗体制剂在25℃储存条件下UPSEC%HMW、%mAb(单体)和%LMW随时间变化的数据。

[0038] 图10A-10C显示了抗RSV抗体制剂在40℃储存条件下UPSEC%HMW、%mAb(单体)和%LMW随时间变化的数据。

[0039] 图11A-11B显示了抗RSV抗体制剂在5℃储存条件下的HP-IEX%总酸性峰和%主峰随时间变化的数据。

[0040] 图12A-12B显示了抗RSV抗体制剂在25℃储存条件下的HP-IEX%总酸性峰和%主峰随时间变化的数据。

[0041] 图13A-13B显示了抗RSV抗体制剂在40℃储存条件下的HP-IEX%总酸性峰和%主峰随时间变化的数据。

[0042] 图14显示了PS80在40℃时的降解百分比结果。

[0043] 图15显示了使用80mM组氨酸、70mM赖氨酸或70mM精氨酸赋形剂的制剂粘度对比的条形图。

[0044] 发明详述

[0045] 本发明提供的稳定制剂,包含与RSV结合的抗RSV抗体或抗原结合片段。本发明提供的稳定制剂,包含人RSV F蛋白结合的抗RSV抗体或抗原结合片段,其可用于治疗或预防人RSV感染的方法。

[0046] 在本文公开的制剂中使用的抗体描述于美国专利No.9,963,500。本文公开的制剂中使用的示例性抗体描述于美国专利No.9,963,500。该示例性抗体包含具有以下氨基酸序列的互补决定区(CDRs):SEQ ID NO:1(重链CDR 1)、SEQ ID NO:2(重链CDR 2)、SEQ ID NO:3(重链CDR 3)、SEQ ID NO:4(轻链CDR 1)、SEQ ID NO:5(轻链CDR 2)和SEQ ID NO:6(轻链CDR 3)。此外,该示例性抗体包含具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的氨基酸序列的重链和轻链可变区。此外,该示例性抗体包含由SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成的重链和轻链免疫球蛋白。

[0047] 1. 定义和缩写

[0048] 在整个说明书中都使用了定义。在整个说明书和权利要求书中都定义了缩写。

[0049] 为了使本发明更容易理解,下面具体定义了某些技术和科学术语。除非在本文的其他地方进行了特别定义,否则本文中使用的所有其他技术和科学术语具有本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0050] 在整个说明书中和在权利要求书中所使用的,单数形式“一个”,“一种”和“该”包括复数引用,除非上下文另外明确指出。

[0051] 除非上下文清楚地指出了所指示的可能性之一,否则对“或”的引用表示一种或两种可能性。在某些情况下,使用“和/或”来突出其中一种或两种可能性。

[0052] 当列举值的范围时,例如“50mg至100mg之间的量”,该范围旨在包括所列举的值。

[0053] “给药”和“治疗”,例如将其施用于动物、人类、实验对象、细胞、组织、器官或生物体液,是指将外源性药物,治疗剂,诊断剂或组合物与动物、人类、受试者、细胞、组织、器官或生物体液接触。细胞处理包括将试剂与细胞接触以及将试剂与体液接触,所述体液与细胞相接触。“给药”和“治疗”还指体外和离体治疗,例如,细胞被试剂、诊断、结合化合物或另一个细胞处理。

[0054] “RSV相关疾病”是指由呼吸道合胞病毒(RSV)感染直接或间接引起的任何疾病,以及使患者容易受到RSV感染的疾病或症状。属于前一类的疾病包括肺炎和细支气管炎。属于后一类的疾病和症状(例如,患者处于严重RSV感染风险中的疾病和症状)包括囊性纤维化,先天性心脏病,癌症,与年龄相关的免疫抑制,接受移植者,以及通常会导致免疫抑制状态

的任何疾病或免疫系统功能下降,例如术后器官移植方案或早产。

[0055] “治疗”或“正在治疗 (treating)”是指在具有一种或多种疾病症状或怀疑患有某种疾病的受试者或患者的内部或外部施用治疗剂,例如含有本发明的任何抗体或抗原结合片段的制剂,且该治疗剂具有治疗活性。通常,以有效减轻被治疗的受试者或人群中的一种或多种疾病症状的量施用所述药物,无论是通过以任何临床可测量的程度诱导此类症状的消退还是对其进行抑制。有效减轻任何特定疾病症状的治疗剂的量可以根据诸如患者的疾病状态,年龄和体重以及药物在受试者中引起期望的响应的能力等因素而变化。可以通过医师或其他熟练的医疗保健提供者通常使用的任何临床测量方法来评估疾病症状是否得到缓解,以评估该症状的严重程度或进展状态。抗RSV抗体的治疗也可以与其他干预措施(抗体,核酸,疫苗和小分子化合物)结合使用,以治疗其他呼吸道病原体。

[0056] “预防”或“正在预防 (preventing)”是指在可能被RSV感染的对象或患者内部或外部施用预防剂,例如含有本发明的任何抗体或抗原结合片段的制剂,该预防剂具有预防活性。预防包括降低随后RSV感染的可能性或严重程度,减轻RSV感染后与下呼吸道感染 (LRI) 相关的症状,以及诱导免疫力以预防RSV感染。通常,以有效中和肺和/或鼻子中的RSV的量施用药剂,以阻断感染。有效改善任何特定疾病症状的预防剂的量可以根据诸如患者的年龄和体重,以及该试剂在受试者中引起期望的响应的能力等因素而变化。可以通过医师或其他熟练的医疗保健提供者通常使用的任何临床测量方法来评估疾病症状是否得到缓解,以评估该症状的严重程度或进展状态,或者在某些情况下可以减轻住院的需要。

[0057] 术语“患者”(在本文中可替代地称为“受试者”或“个体”)是指哺乳动物(例如大鼠,小鼠,狗,猫,兔)能够用本发明的制剂治疗,最优选是人。在一些实施方案中,患者是成年患者。在其他实施方式中,患者是儿科患者。哪些“需要治疗”的人包括可以从用本发明的制剂治疗中受益的那些患者。

[0058] 术语“药物有效量”或“有效量”是指将足够的治疗制剂引入患者以治疗疾病或病症的量。本领域技术人员认识到,该水平可以根据患者的特征(例如年龄,体重等)而变化。

[0059] 如本文所用,短语“固定剂量”是指施用于患者的活性成分的量(例如,毫克)。

[0060] 术语“约”,当修饰物质或组合物的量(例如,mM或M)、制剂组分的百分比(v/v或w/v),溶液/制剂的pH或表征方法中的步骤的参数的值在正负5%的范围内变化。可能例如通过在物质或组合物的制备、表征和/或使用中涉及的典型测量、处理和取样程序;通过这些程序中的疏忽错误(inadvertent error);通过用于制备或使用组合物或实施程序的成分的制造、来源或纯度中的差异;等等而发生的数值量的变化。

[0061] 在整个说明书和权利要求书中使用的短语“基本上由……组成”,诸如“基本上由……组成 (consist essentially of)”或“基本上正在由……组成 (consisting essentially of)”的变体,表示包括任何所列举的元件或元件组,并且可选地包括其他元件。与所述元素具有相似或不同性质的元素,它们不会实质性改变特定剂量方案、方法或制剂的基本或新颖性质。作为非限制性实例,基本上由所列举的氨基酸序列组成的结合化合物还可包括一个或多个氨基酸,包括一个或多个氨基酸残基的取代,其实质上不影响结合化合物的性质。

[0062] 在整个说明书和权利要求书中,以包括性含义使用“包括”或诸如“包括 (comprise)”、“包括 (comprises)”或“包括 (comprised of)”的变体,是指存在所述特征

但不排除存在或添加以下特征。除非上下文由于表达语言或必要的暗示另外需要,否则可以实质上增强本发明的任何实施例的操作或实用性的其他特征。

[0063] 短语“药物制剂”是指这样的制剂,制剂形式为允许活性成分有效并且不包含对要施用该制剂的受试者有毒的其他组分。术语“制剂”和“药物制剂”在全文中可互换使用。

[0064] 短语“药学上可接受的”是指可以合理地施用于受试者以提供有效剂量的所用活性成分的赋形剂(载体,添加剂)和组合物,并且其“通常被认为是安全的”,例如在生理上可耐受的和当施用于人时,通常不会产生变态反应或类似的不良反应,例如胃部不适等。在另一个实施方案中,该术语是指由联邦或州政府的监管机构批准或在美国药典或另一种普遍认可的药典中列出的分子实体和组合物,其可用于动物,尤其是人类。

[0065] 如本文所用,术语“有效量”是指引起研究人员,兽医,医生或其他临床医生所寻求的在组织,系统,动物或人中的产生生物学或医学反应的活性化合物或药剂的量。在一个实施方案中,有效量是用于减轻所治疗疾病或病症的症状的“治疗有效量”。在另一个实施方案中,有效量是用于预防所预防的疾病或病症的症状的“预防有效量”。

[0066] “稳定的”制剂是其中其中的蛋白质在储存时基本上保持其物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物学活性的制剂。用于测量蛋白质稳定性的各种分析技术在本领域中是可用的,并且在肽和蛋白质药物递送(Peptide and Protein Drug Delivery,247-301, Vincent Lee Ed.,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,Pubs.1991)和Jones A.Adv.Drug Delivery Rev.10:29-90,(1993)中进行了综述。可以在选定的温度下选定的时间段内测量稳定性。例如,在一个实施方案中,稳定的制剂是具有冷藏温度(2-8℃)下至少12个月未观察到明显变化。在另一个实施方案中,稳定的制剂是在冷藏温度(2-8℃)下观察至少18个月没有显著变化的制剂。在另一个实施方案中,稳定的制剂是在室温(23-27℃)下观察至少3个月没有显著变化的制剂。在另一个实施方案中,稳定的制剂是在室温(23-27℃)下观察至少6个月没有显著变化的制剂。在另一个实施方案中,稳定的制剂是在室温(23-27℃)下观察至少12个月没有显著变化的制剂。在另一个实施方案中,稳定的制剂是在室温(23-27℃)下观察至少18个月没有显著变化的制剂。抗体制剂的稳定性标准如下。通常,通过SEC-HPLC测定不超过10%,优选5%的抗体单体被降解。通常,该制剂是无色的,或者通过视觉分析是澄清至微乳白色。通常,制剂的浓度、pH和重量摩尔渗透压浓度变化不超过+/-10%。效力通常在对照或参考的60-140%之内,最好在80-120%之内。通常,观察到不超过10%,优选5%的抗体剪切,即例如通过HP-SEC测定的%低分子量物质。典型地,观察到不超过抗体聚集的10%,优选不超过“5%”,即例如通过HP-SEC测定的高分子量物质的百分比%。

[0067] 短语“抗RSV抗体”是指针对RSV的F蛋白或G蛋白的单克隆抗体。抗RSV抗体在美国专利No.9,963,500中公开和描述。特定的抗RSV抗体在美国专利No.9,963,500中公开和描述,其包括互补决定区(CDRs)的氨基酸序列为:SEQ ID NO:1(重链CDR 1),SEQ ID NO:2(重链CDR 2),SEQ ID NO:3(重链CDR 3),SEQ ID NO:4(轻链CDR 1),SEQ ID NO:5(轻链CDR 2)和SEQ ID NO:6(轻链CDR 3)。此外,抗RSV抗体在美国专利No.9,963,500中公开和描述,其包含重链和轻链可变区,所述重链和轻链可变区分别具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的氨基酸序列。此外,在美国专利No.9,963,500中公开和描述了特定的抗RSV抗体,其包含重链和轻链免疫球蛋白,其分别由SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成。

[0068] 如果通过目视检查颜色和/或透明度、紫外光散射、尺寸排阻色谱法(SEC)或动态

光散射测定,抗体未显示出明显的聚集、沉淀和/或变性增加,则该抗体在药物制剂中“保持其物理稳定性”。可以通过确定蛋白质三级结构的荧光光谱和确定蛋白质二级结构的FTIR光谱评估蛋白质构象的变化。

[0069] 如果抗体没有显示出明显的化学变化,则在药物制剂中“保持其化学稳定性”。化学稳定性可以通过检测和量化蛋白质的化学变化形式来评估。经常改变蛋白质化学结构的降解过程包括水解或剪切(通过尺寸排阻色谱法和SDS-PAGE等方法评估),氧化(通过诸如肽图结合质谱或MALDI/TOF/MS等方法评估),脱酰胺作用(通过离子交换色谱法、毛细管等电聚焦、肽图、异天冬氨酸测量等方法进行评估)和异构化(通过测量异天冬氨酸含量,肽图进行评估等)。

[0070] 如果在给定时间内抗体的生物活性在制备成药物制剂后的预定范围内,则抗体在药物制剂中“保留其生物活性”。抗体的生物学活性可以例如通过抗原结合实验来确定。本发明的制剂包括重构的或呈液体形式的具有生物活性的抗体及其片段。

### [0071] 2. 本发明制剂

[0072] 本发明的制剂使抗体聚集体的形成最小化,增加了稳定性并降低了粘度。

[0073] 本发明包括抗RSV抗体或其抗原结合片段的各种制剂,以下内容进行更详细地描述。例如,本发明包括包含以下成分的制剂:(i)抗RSV抗体或其抗原结合片段,(ii)缓冲液(例如组氨酸),(iii)稳定剂(如非还原糖,例如蔗糖);(iv)非离子表面活性剂(例如聚山梨酯80);(v)抗氧化剂(例如蛋氨酸)。在进一步的实施方案中,本发明的制剂包含降粘剂(例如,精氨酸或其药学上可接受的盐;赖氨酸或其药学上可接受的盐;精氨酸和赖氨酸的混合物或其药学上可接受的盐,精氨酸和谷氨酸的混合物或其药学上可接受的盐,和/或组氨酸或其药学上可接受的盐)和/或金属螯合剂(例如DTPA)。

### [0074] 3. 抗RSV抗体及其抗原结合片段

[0075] 本发明提供了包含抗RSV抗体的稳定的生物制剂,所述抗RSV抗体包含如下氨基酸序列的互补决定区(CDRs):SEQ ID NO:1(重链CDR1),SEQ ID NO:2(重链CDR2),SEQ ID NO:3(重链CDR3),SEQ ID NO:4(轻链CDR1),SEQ ID NO:5(轻链CDR2)和SEQ ID NO:6(轻链CDR3)。本发明还提供了包含抗RSV抗体的稳定的生物制剂,所述抗RSV抗体包含具有SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的氨基酸序列的重链和轻链可变区,分别的重链和轻链免疫球蛋白分别由SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:10的氨基酸序列组成。制备抗RSV抗体的方法公开并描述于美国专利No.9,963,500,通过引用方式整体并入到本文中。SEQ ID NO:1-10列于下表A中:

[0076] 表A:序列信息

SEQ ID NO:	序列
1	DSAMS
2	FIKSKTYGGTKEYAASVKG
3	GAPYGGNSDY YYGLDV
4	RTSQDVRGALA
5	DASSLET
6	QQFLDFPFT
7	EVQLVESGGGLVLRPGRSLRLSCTVSGFSFDDSAMSWVRQAPGKGLEWISFIKSKTYGGTKEYAASVKG RFTISRDDSKNIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR GAPYGGNSDY YYGLDVWGQGT TTVT

[0077]

8	MTQSPSSLSASVGDVRTITCRTSQDVRGALAWYQQKPGKAPKLLIFDASSLETGVPSRFSGS GSGTVFTLTISSLQPEDFAAYCQQFLDFPFTFGQGTRLEIKRT
9	EVQLVESGGGLVLRPGRSLRLSCTVSGFSFDDSAMSWVRQAPGKGLEWISFIKSKT YGGTKEYAASVKGRFTISRDDSKNIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRGPYGGNSDY YYGLDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHE ALHNHYTQKSL SLSPGK
10	DIQMTQSPSSLSASVGDVRTITCRTSQDVRGALAWYQQKPGKAPKLLIFDASSLE TGVPSRFSGSGSGTVFTLTISSLQPEDFAAYCQQFLDFPFTFGQGTRLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0078] 在本文所述制剂的一些实施方案中,API (“活性药物成分”,即抗RSV抗体或其抗原结合片段)以约50mg/mL至约250mg/mL的浓度存在。在制剂的一些实施方案中,API (即抗RSV抗体或其抗原结合片段)以约75mg/mL至约200mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以约90mg/mL至约110mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以约100mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以90mg/mL至110mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以100mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以75mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以50mg/mL的浓度存在。

[0079] 在本文所述制剂的一些实施方案中,API (“活性药物成分”,即抗RSV抗体或其抗原结合片段)以约50mg/mL至约250mg/mL的浓度存在。在制剂的一些实施方案中,API (即抗RSV抗体或其抗原结合片段)以约75mg/mL至约200mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以约90mg/mL至约110mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以约100mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以90mg/mL至110mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以100mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以75mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以50mg/mL的浓度存在。

[0080] 在一些实施方案中,API以约125mg/mL至约175mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以约140mg/mL至约160mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以约150mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以125mg/mL至175mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以140mg/mL至160mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以150mg/mL的浓度存在。

[0081] 在一些实施方案中,API以约150mg/mL至约200mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以约165mg/mL至约185mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以约175mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以150mg/mL至200mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以165mg/mL至185mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以175mg/mL的浓度存在。

[0082] 在一些实施方案中,API以约175mg/mL至约225mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以约190mg/mL至约210mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以约200mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以175mg/mL至225mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以190mg/mL至210mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以200mg/mL的浓度存在。

[0083] 在一些实施方案中,API以约200mg/mL至约250mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以约215mg/mL至约235mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以约225mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以200mg/mL至250mg/mL的浓度存在。在一些实施方案中,API以215mg/mL至235mg/mL的浓度存在。在另一个实施方案中,API以225mg/mL的浓度存在。

[0084] 在本文公开制剂的一些实施方案中,API (即抗RSV抗体或其抗原结合片段)以固定剂量 (例如以毫克计的量) 存在。在本文公开的制剂的一些实施方案中,API以约10mg至约150mg的固定剂量存在。在一些实施方案中,API以10mg至150mg的固定剂量存在。在一些实施方案中,API以约25mg至约125mg的固定剂量存在。在一些实施方案中,API以25mg至125mg的固定剂量存在。在一些实施方案中,API以约50mg至约100mg的固定剂量存在。在一些实施方案中,API以50mg至100mg的固定剂量存在。

[0085] 4. 制剂辅料

[0086] 发明的制剂包含至少一种使制剂稳定的辅料。

[0087] 在本发明制剂的一些实施方案中,稳定剂是非还原糖。在本发明的实施方案中,非还原糖是蔗糖。在进一步的实施方案中,非还原糖是葡萄糖。在另外的实施方案中,非还原糖是海藻糖。在另外的实施方案中,非还原糖是乳糖。在其他实施方案中,非还原糖是棉子糖。

[0088] 在一些实施方案中,本发明的抗RSV抗体制剂包含选自以下的稳定剂:约4%至约8%重量/体积(w/v)的蔗糖,葡萄糖,海藻糖,乳糖或棉子糖。

[0089] 在一些实施方案中,稳定剂是约4%至约8%w/v的蔗糖。在一些实施方案中,稳定剂是4%至8%w/v的蔗糖。

[0090] 在一些实施方案中,稳定剂是约6%至约8%w/v的蔗糖。

[0091] 在一些实施方案中,稳定剂是4%至8%w/v的蔗糖。

[0092] 在一些实施方案中,稳定剂为约4%至约8%w/v的海藻糖。在一些实施方案中,稳定剂为4%至8%w/v的海藻糖。

[0093] 在一些实施方案中,稳定剂为约6%至约8%w/v的海藻糖。在一些实施方案中,稳定剂是6%至8%w/v的海藻糖。

[0094] 在一些实施方案中,稳定剂为约6.5%至约7.5%w/v蔗糖。在一些实施方案中,稳定剂是6.5%至7.5%w/v的蔗糖。

[0095] 在一些实施方案中,稳定剂是6%至8%的蔗糖。

[0096] 在一些实施方案中,稳定剂是6.5%至7.5%w/v的蔗糖。

[0097] 在一些实施方案中,稳定剂是7%蔗糖。

[0098] 本发明的制剂包含精氨酸,例如L-精氨酸,或其药学上可接受的盐,例如HCl;赖氨酸,例如L-赖氨酸,或其药学上可接受的盐,例如HCl;或精氨酸(L-精氨酸)或其药学上可接受的盐(HCl)和赖氨酸(L-赖氨酸)或其药学上可接受的盐(HCl)的组合;或精氨酸(L-精氨酸)或其药学上可接受的盐(HCl)与谷氨酸盐(L-谷氨酸盐)或其药学上可接受的盐的组合;所有这都可以为制剂提供额外的稳定性以及控制粘度,从而可以在高API浓度下进行配制。

[0099] 除了上述指定量/浓度的抗RSV抗体或其抗原结合片段和稳定剂以外,本发明的制剂还包含缓冲剂。在一些实施方案中,缓冲剂以约5mM至约20mM的量存在,其提供约5至约7的pH。在一些实施方案中,缓冲剂以5mM至20mM的量存在,其提供5至7的pH值。

[0100] 在本发明的一些实施方案中,缓冲剂为制剂提供约5.5至约6.5的pH。在本发明的一些实施方案中,缓冲剂为制剂提供的pH为5.5至6.5。在一些实施方案中,缓冲液的pH在约6.0的范围内。在其他实施方案中,pH为6.0。

[0101] 在特定的实施方案中,缓冲液的pH为约5.7,约5.8,约5.9,约6.0,约6.1,约6.2或约6.3。在特定的实施方案中,缓冲液的pH为5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2或6.3。将pH值控制在此范围内的缓冲液包括琥珀酸盐(钠或钾),组氨酸,乙酸钠,磷酸盐(钠或钾),Tris(三(羟甲基)氨基甲烷),二乙醇胺,柠檬酸盐(钠)和其他有机酸缓冲液。

[0102] 在本发明的一些实施方案中,缓冲剂是组氨酸或乙酸盐,其pH为约5.5至约6.5。在本发明的一些实施方案中,缓冲剂是pH为5.5至6.5的组氨酸或乙酸盐。在一些实施方案中,

缓冲液是L-组氨酸缓冲液。在冻干制剂的实施方案中,优选缓冲液不是乙酸盐,因为乙酸盐缓冲液系统与冻干过程不相容。

[0103] 当列举pH值的范围时,例如“5.5至6.5之间的pH”,该范围旨在包括所列举的值。除非另有说明,对于冻干配方,pH是指本发明的冻干制剂重构后的pH。通常使用标准玻璃球pH计在25℃下测量pH。如本文所用,包含“在pH X的组氨酸缓冲液”的溶液是指在pH X且包含组氨酸缓冲液的溶液,例如,pH旨在表述溶液的pH。

[0104] 除了上述指定量/浓度的抗RSV抗体或其抗原结合片段,稳定剂和缓冲剂外,本发明的制剂还包含抗氧化剂。在本发明的实施方案中,抗氧化剂是蛋氨酸。在本发明的实施方案中,抗氧化剂是L-蛋氨酸或其药学上可接受的盐。在进一步的实施方案中,蛋氨酸是L-蛋氨酸。在其他实施方案中,抗氧化剂是L-蛋氨酸HCl。在其他实施方案中,抗氧化剂是组氨酸。

[0105] 在一些实施方案中,抗氧化剂(例如L-蛋氨酸)以约1mM至约20mM的量存在于本发明的制剂中。在一些实施方案中,抗氧化剂以约5mM至约20mM,约5mM至约15mM,约5mM至约10mM的量存在。在一些实施方案中,抗氧化剂以约1mM,约2mM,约3mM,约4mM,约5mM,约6mM,约7mM,约8mM,约9mM,大约10mM,大约11mM,大约12mM,大约13mM,大约14mM,大约15mM,大约16mM,大约17mM,大约18mM,大约19mM或大约20mM。在一些实施方案中,抗氧化剂以5mM至20mM,5mM至15mM,5mM至10mM的量存在。在一些实施方案中,抗氧化剂以1mM,2mM,3mM,4mM,5mM,6mM,7mM,8mM,9mM,10mM,11mM,12mM,13mM,14mM,15mM,16mM,17mM,18mM,19mM或20mM。

[0106] 在其中抗氧化剂是组氨酸的实施方案中,组氨酸可以以高达100mM的量存在。在这样的实施方案中,组氨酸可以在本文所述的制剂中用作缓冲剂,抗氧化剂和/或降低粘度。在一些实施方案中,组氨酸可以约10-20mM,约20-30mM,约30-40mM,约40-50mM,约50-60mM,约60-70mM,约70-80mM的浓度存在,约80-90mM或约90-100mM的浓度存在。在一些实施方案中,组氨酸可以以10-20mM,20-30mM,30-40mM,40-50mM,50-60mM,60-70mM,70-80mM,80-90mM,或90-100mM的浓度存在。在一些实施方案中,组氨酸可以以约10mM,约20mM,约30mM,约40mM,约50mM,约60mM,约70mM,约80mM,约90mM或约100mM的浓度存在。在一些实施方案中,组氨酸可以以10mM,15mM,20mM,25mM,30mM,35mM,40mM,45mM,50mM,55mM,60mM,65mM,70mM,75mM,80mM,85mM,90mM,95mM或100mM的浓度存在。

[0107] 除了上述指定量/浓度的抗RSV抗体或其抗原结合片段,稳定剂,缓冲剂和抗氧化剂以外,本发明的制剂还包含表面活性剂。通常在加工条件例如纯化,过滤,冷冻干燥,运输,储存和递送期间,将表面活性剂添加到制剂中以提供稳定性,减少和/或防止聚集或防止和/或抑制蛋白质破坏。在本发明的一些实施方案中,表面活性剂可用于为活性成分(即抗RSV抗体或其抗原结合片段)提供额外的稳定性。

[0108] 可用于本发明制剂的表面活性剂包括但不限于:非离子表面活性剂,例如聚氧乙烯脱水山梨糖醇脂肪酸酯(聚山梨酯,以商品名TWEEN(Uniquema Americas LLC, Wilmington, DE)出售),包括聚山梨酯-20(聚氧乙烯脱水山梨糖醇单月桂酸酯), Polysorbate-40(聚氧乙烯脱水山梨糖醇单棕榈酸酯), Polysorbate-60(聚氧乙烯脱水山梨糖醇单硬脂酸酯)和Polysorbate-80(聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯);聚氧乙烯烷基醚,例如BRIJ 58(Uniquema Americas LLC, Wilmington, DE)和BRIJ 35;泊洛沙姆(例如泊洛沙姆188);TRITON X-100(德克萨斯州休斯顿的碳化物公司)和TRITON X-114;NP40;Span

20, Span 40, Span 60, Span 65, Span 80和Span 85; 乙烯和丙二醇的共聚物(例如PLURONIC系列非离子表面活性剂, 例如PLURONIC F68, PLURONIC 10R5, PLURONIC F108, PLURONIC F127, PLURONIC F38, PLURONIC L44, PLURONIC L62 (BASF公司, 德国Ludwigshafen); 以及十二烷基钠硫酸盐(SDS)。

[0109] 本发明制剂中所包含的表面活性剂的量应足以实现所需的功能, 即以所需的最小量稳定制剂中的药物活性药物成分(即抗RSV抗体或其抗原结合片段)。通常, 表面活性剂以约0.008%至约0.1%w/v的浓度存在。在本发明该方面的一些实施方案中, 表面活性剂在制剂中的存在量为约0.01%至约0.04%w/v; 和约0.01%至约0.03%w/v, 约0.01%至约0.02%w/v, 约0.015%至约0.04%w/v; 约0.015%至约0.03%w/v, 约0.015%至约0.02%w/v, 约0.02%至约0.04%w/v, 约0.02%至约0.035%w/v或约0.02%至约0.03%w/v。在特定的实施方案中, 表面活性剂的存在量为约0.02%w/v。在替代实施方案中, 表面活性剂的存在量为约0.01%, 约0.015%, 约0.025%, 约0.03%, 约0.035%或约0.04%w/v。

[0110] 在本发明的示范性实施方案中, 表面活性剂是选自以下的非离子表面活性剂: 聚山梨酯20, 聚山梨酯80和F127。在优选的实施方案中, 表面活性剂是聚山梨酯80。

[0111] 在特定实施方案中, 抗RSV抗体制剂包含约0.01%至约0.04%w/v的PS80。在进一步的实施方案中, 抗RSV抗体制剂包含约0.008%, 约0.01%, 约0.015%, 约0.02%, 约0.025%, 约0.03%, 约0.035%, 约0.04%或约0.045%w/v的PS80。在特定实施方案中, 抗RSV抗体制剂包含约0.02%w/v的PS80。在一些实施方案中, 抗RSV抗体制剂包含0.01%至0.04%w/v的PS80。在一些实施方案中, 抗RSV抗体制剂包含0.0080, 0.01%, 0.015%, 0.02%, 0.025%, 0.03%, 0.035%, 0.04%或0.045%w/v的PS80。在特定实施方案中, 抗RSV抗体制剂包含0.02%w/v的PS80。

[0112] 在特定的实施方案中, 本发明的抗RSV抗体制剂包含选自DTPA和EDTA的螯合剂。在一些实施方案中, 螯合剂是DTPA。在进一步的实施方案中, DTPA的量为约10 $\mu$ M至约90 $\mu$ M, 约25 $\mu$ M至约75 $\mu$ M或约50 $\mu$ M。在一些实施方案中, 螯合剂是DTPA。在一些实施方案中, DTPA的量为10 $\mu$ M至90 $\mu$ M, 25 $\mu$ M至75 $\mu$ M或50 $\mu$ M。

[0113] 除了抗RSV抗体或其抗原结合片段外, 该调配物的实施例可包含稳定剂、缓冲剂、抗氧化剂、表面活性剂和螯合剂, 其量/浓度如上所述。

[0114] 本发明还提供如本文所述的抗RSV抗体制剂, 其中所述制剂包含在玻璃瓶或注射装置(例如注射器)中。

[0115] 在进一步的实施方案中, 本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂在2-8 $^{\circ}$ C下储存12个月后, 通过还原CE-SDS测定重链和轻链的百分率 $>$ 96%。

[0116] 在进一步的实施方案中, 本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂在2-8 $^{\circ}$ C下储存12个月后, 通过非还原性CE-SDS测定的配方中完整IgG的百分率 $>$ 97%。

[0117] 在进一步实施方案中, 本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂, 其中在2-8 $^{\circ}$ C下储存12个月后, HP-SEC测定的单体百分率 $>$ 98.5%。

[0118] 在附加实施方案中, 本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂在2-8 $^{\circ}$ C下储存12个月后, HP-SEC测定的高分子量物质百分量 $<$ 1.5%。

[0119] 在进一步实施方案中, 本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂在25 $^{\circ}$ C下储存12个月后, HP-SEC测定的单体百分比 $>$ 98.0%。

[0120] 在附加实施方案中,本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂,其中在25℃下储存该制剂后℃6个月后,HP-SEC测定的高分子量物种百分比<2%。

[0121] 在进一步实施方案中,本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂在40℃下储存3个月后,HP-SEC测定单体百分比>94.0%,>94.5%或>95.0%。

[0122] 在附加实施方案中,本发明提供如本文所述的抗RSV抗体制剂在40℃下储存3个月后,HP-SEC测定的高分子量物质百分率分别为<5.5%、<5.0%或<4.4%。

#### [0123] 5. 本发明的特定方面和实施方案

[0124] 在一个方面,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,其包含:a)约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)约5mM至约20mM的缓冲液;c)一种稳定剂,选自:(i)约6%至约8%重量/体积(w/v)的非还原糖;(ii)约25mM至约75mM的L-精氨酸,或L-精氨酸的药学上可接受的盐;约25mM至约75mM的L-脯氨酸或L-脯氨酸的药学上可接受的盐;约25mM至约75mM的L-谷氨酸盐或L-谷氨酸盐的药学上可接受的盐;约25mM至约75mM的L-赖氨酸,或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,或这些氨基酸的混合物,以及(iii)约25μM至75μM的螯合剂;d)约0.01%至约0.10%的非离子表面活性剂;e)约1mM至约20mM的抗氧化剂。

[0125] 在另一方面,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,其包含:a)约50mg/mL至约150mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b)约5mM至约20mM组氨酸;c)约6%至约8%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,约25mM-约75mM的L-精氨酸(HCl)和L-谷氨酸的混合物,和约25mM-约75mM的L-精氨酸(HCl)和L-赖氨酸(HCl)的混合物;e)约25至75μM的DTPA;f)约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80;g)约1mM至约20mM的L-蛋氨酸。

[0126] 在另一方面,本发明提供抗RSV抗体制剂,其包含:a)100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)10mM组氨酸;c)7%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,50mM的L-精氨酸(HCl),50mM的L-赖氨酸(HCl),25mM的L-精氨酸和25mM的L-谷氨酸的混合物以及25mM的L-精氨酸(HCl)和25mM的L-赖氨酸(HCl);e)50μM的DTPA;f)0.02%的聚山梨酸酯80;g)1mM至20mM的L-蛋氨酸。

[0127] 在另一方面,本发明提供抗RSV抗体制剂,其包含:a)100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)10mM组氨酸;c)7%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)25mM的L-精氨酸(HCl)和25mM的L-赖氨酸(HCl)的混合物;e)50μM的DTPA;f)0.02%聚山梨酯80。

[0128] 在另一方面,抗RSV抗体或其抗原结合片段的浓度为约50mg/mL至约150mg/mL。在另一方面,抗RSV抗体或其抗原结合片段的浓度为约75mg/mL至约125mg/mL。在另一方面,抗RSV抗体或其抗原结合片段的浓度为50mg/mL至150mg/mL。在另一方面,抗RSV抗体或其抗原结合片段的浓度为75mg/mL至125mg/mL。在另一方面,抗RSV抗体或其抗原结合片段的浓度为100mg/mL。在另一方面,抗RSV抗体或其抗原结合片段的浓度为75mg/mL。在另一方面,抗RSV抗体或其抗原结合片段的浓度为50mg/mL。

[0129] 在另一方面,所述制剂的pH在约5.5至约6.5之间。在另一方面,所述制剂的pH在5.5至6.5之间。在另一方面,该制剂的pH为6.0。

[0130] 在另一方面,缓冲液是组氨酸。在另一方面,组氨酸的浓度为约1mM至约20mM。在另一方面,组氨酸的浓度为约5mM至约15mM。在另一方面,组氨酸的浓度为1mM至20mM。在另一

方面,组氨酸的浓度为5mM至15mM。在另一方面,组氨酸的浓度为10mM。

[0131] 在另一个方面,本发明制剂包含的稳定剂选自非还原糖;L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐;L-脯氨酸或L-脯氨酸的药学上可接受的盐;L-谷氨酸盐或L-谷氨酸盐的药学上可接受的盐;L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐;或这些氨基酸的混合物。在另一方面,本发明制剂包含选自下组的赋形剂,约50mM L-精氨酸(HCl),约50mM L-赖氨酸(HCl),约25mM L-精氨酸和约25mM L-谷氨酸的混合物的赋形剂,和约25mM L-精氨酸(HCl)和约25mM L-赖氨酸(HCl)的混合物。

[0132] 在另一方面,本发明制剂包含浓度为约25 $\mu$ M至约75 $\mu$ M的螯合剂,其为DTPA。在另一方面,本发明制剂包含螯合剂为约50 $\mu$ M浓度的DTPA。在另一方面,本发明制剂包含螯合剂为50 $\mu$ M浓度的DTPA。

[0133] 在另一方面,该制剂包含浓度为约0.01%至约0.10%w/v的非离子型表面活性剂PS80。在另一方面,所述制剂包含浓度为约0.02%w/v的PS80的非离子表面活性剂。在另一方面,所述制剂包含浓度为0.02%w/v的非离子型表面活性剂PS80。

[0134] 在另一方面,所述制剂包含浓度为约1mM至约20mM的抗氧化剂,其为L-蛋氨酸。在另一方面,所述制剂包含浓度为约10mM的抗氧化剂,其为L-蛋氨酸。在另一方面,所述制剂包含抗氧化剂,其为浓度为10mM的L-蛋氨酸。

[0135] 在另一方面,本发明提供一种抗RSV抗体制剂,其包含:a)约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)约5mM至约20mM组氨酸;c)约4%至约8%(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的赖氨酸,约25mM至约75mM L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-谷氨酸或L-谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物;e)约0.01%至约0.10%(w/v)的聚山梨酯80。

[0136] 在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含:a)约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)约5mM至约20mM组氨酸;c)约4%至约8%(w/v)的蔗糖;d)约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐;e)约0.01%至约0.10%(w/v)的聚山梨酯80。在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含:a)50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b)5mM至20mM组氨酸;c)4%至8%(w/v)的蔗糖;d)25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐;e)0.01%至0.10%(w/v)的聚山梨酯80。

[0137] 在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含:a)约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)约5mM至约20mM组氨酸;c)约4%至约8%(w/v)的蔗糖;d)约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐;e)约0.01%至约0.10%(w/v)的聚山梨酯80。在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含:a)50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原其结合片段;b)5mM至20mM组氨酸;c)4%至8%(w/v)的蔗糖;d)25mM至75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐;e)0.01%至0.10%(w/v)的聚山梨酯80。

[0138] 在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含:a)约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;和b)约5mM至约20mM组氨酸;c)约4%至约8%(w/v)的蔗糖;d)约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-谷氨酸盐或L-

谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物；e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。在一个实施方案中，抗RSV抗体制剂包含：a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；b) 5mM至20mM组氨酸；c) 4%至约8% (w/v) 蔗糖；d) 25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐与25mM至75mM的L-谷氨酸盐或L-谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物；e) 0.01%至0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。

[0139] 在一个实施方案中，抗RSV抗体制剂包含：a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；和b) 约5mM至约20mM组氨酸；c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖；d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物；e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。在一个实施方案中，抗RSV抗体制剂包含：a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或抗原-其结合片段；b) 5mM至20mM组氨酸；c) 4%至8% (w/v) 的蔗糖；d) 25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐与25mM至75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物；e) 0.01%至0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。

[0140] 在另一方面，本发明提供了一种抗RSV抗体制剂，其包含：a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；和b) 约5mM至约100mM组氨酸；c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖；d) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。在一个实施方案中，本发明提供了一种抗RSV抗体制剂，其包含：a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；b) 5mM至100mM组氨酸；c) 4%至8% (w/v) 的蔗糖；d) 0.01%至0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。

[0141] 一方面，抗RSV抗体制剂包含：a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；和b) 约5mM至约100mM组氨酸；c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖；d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐；e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。在一个实施方案中，抗RSV抗体制剂包含：a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或抗原-其结合片段；b) 5mM至100mM组氨酸；c) 4%至8% (w/v) 的蔗糖；d) 25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐；e) 0.01%至0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。

[0142] 一方面，抗RSV抗体制剂包含：a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；和b) 约5mM至约100mM组氨酸；c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖；d) 约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐；e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。在一个实施方案中，抗RSV抗体制剂包含：a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；b) 5mM至100mM组氨酸；c) 4%至8% (w/v) 的蔗糖；d) 25mM至75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐；e) 0.01%至0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。

[0143] 一方面，抗RSV抗体制剂包含：a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；和b) 约5mM至约100mM组氨酸；c) 约4%至约8% (w/v) 的蔗糖；d) 约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-谷氨酸盐或L-谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物；e) 约0.01%至约0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。在一个实施方案中，抗RSV抗体制剂包含：a) 50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段；b) 5mM至100mM组氨酸；c) 4%至约8% (w/v) 蔗糖；d) 25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐与25mM至75mM的L-谷氨酸盐或L-谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物；e) 0.01%至0.10% (w/v) 的聚山梨酯80。

[0144] 一方面，抗RSV抗体制剂包含：a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结

合片段;和b)约5mM至约100mM组氨酸;c)约4%至约8% (w/v)的蔗糖;d)约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物;e)约0.01%至约0.10% (w/v)的聚山梨酯80。在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含:a)50mg/mL至250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b)5mM至100mM组氨酸;c)4%至8% (w/v)的蔗糖;d)25mM至75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐与25mM至75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物;e)0.01%至0.10% (w/v)的聚山梨酯80。

[0145] 在以上方面和实施方案的特定实施方案中,组氨酸浓度在约70mM至约90mM之间。在一些实施方案中,组氨酸浓度在70mM至90mM之间。在一些实施方案中,组氨酸浓度为约80mM。在一些实施方案中,组氨酸浓度为80mM。

[0146] 在以上方面和实施方案的一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含约125mg/mL至约175mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含125mg/mL至175mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含约150mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一个实施方案中,抗RSV抗体制剂包含150mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

[0147] 在上述方面和实施方案的一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含约150mg/mL至约200mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含150mg/mL至200mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含约175mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含175mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

[0148] 在上述方面和实施方案的一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含约175mg/mL至约225mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含175mg/mL至225mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含约200mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含200mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

[0149] 在以上方面和实施方案的一些实施方案中,抗RSV抗体制剂还包含约25至约75 $\mu$ M的二乙基三胺五乙酸(DTPA)。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂还包含25至75 $\mu$ M的二乙基三胺五乙酸(DTPA)。

[0150] 在上述方面和实施方案的一些实施方案中,抗RSV抗体制剂还包含约1mM至约20mM的L-蛋氨酸。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂还包含1mM至20mM的L-蛋氨酸。

[0151] 在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂的pH为5.5至6.5。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂的pH为约6.0。在一些实施方案中,抗RSV抗体制剂的pH为6.0。

[0152] 在一些实施方案中,抗RSV抗体包含具有SEQ ID NO:1-6的氨基酸序列的CDR。在一些实施方案中,抗RSV抗体包含具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的轻链可变区。抗RSV抗体包含由SEQ ID NO:9所示氨基酸序列组成的重链免疫球蛋白和由SEQ ID NO:10所示氨基酸序列组成的轻链免疫球蛋白。

[0153] 在一个方面,本发明内容提供了一种在有需要的人类患者中治疗或预防RSV感染的方法,该方法包括:向患者施用有效量的上述方面和实施方案中任一项的抗RSV抗体制剂。

[0154] 在前述方法的一些实施方案中,抗RSV抗体制剂包含的有效量约10mg至约150mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,有效量的抗RSV抗体制剂包含10mg至150mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,有效量的抗RSV抗体制剂包含约25mg至约125mg之间的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,有效量的抗RSV抗体制剂包含25mg至125mg之间的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,有效量的抗RSV抗体制剂包含约50mg至约100mg之间的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,有效量的抗RSV抗体制剂包含50mg至100mg之间的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,有效量的抗RSV抗体制剂包含约100mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。在一些实施方案中,有效量的抗RSV抗体制剂包含约100mg的固定剂量的抗RSV抗体或其抗原结合片段。

[0155] 在前述方法的一些实施方案中,通过肌肉内给药来施用抗RSV抗体制剂。

[0156] 在一些实施方案中,本发明内容提供了前述方面或实施方案中任一项的抗RSV抗体制剂用于治疗或预防人类患者的RSV感染的方法的。

[0157] 在一些实施方案中,本发明内容提供了前述方面或实施方案中任一项的抗RSV抗体制剂在制备用于治疗或预防人类患者的RSV感染的药物中的用途。

[0158] 在本发明的一些实施方案中,本文所述的任何制剂是水溶液。在替代实施方案中,本发明提供了冻干的制剂,其通过冻干水性制剂以提供本发明的重构制剂,如下文更全面地讨论。

#### [0159] 6. 冻干药物组合物

[0160] 治疗性蛋白质(例如抗RSV抗体或其抗原结合片段)的冻干制剂具有几个优点。通常,冻干制剂比溶液制剂具有更好的化学稳定性,因此增加了半衰期。冻干制剂还可以根据临床因素以不同的浓度重构,如给药途径或给药量。例如,如果需要皮下给药,可以以高浓度(即以小体积)重构冻干制剂,或者如果是静脉内给药则可以以较低浓度重构。如果对特定受试者需要高剂量则也可能需要高浓度,特别是如果必须将注射量降至最低的皮下给药。一种这样的冻干抗体制剂公开于美国专利No.6,267,958中,其通过引用的方式整体并入本文。另一种治疗性蛋白质的冻干制剂公开于美国专利No.7,247,707中,其全部内容通过引用的方式合并入本文。

[0161] 通常,冻干制剂是预期在高浓度情况下重构而制备的药物产品(DP,在一个示例性实施方案中为抗RSV抗体或其抗原结合片段),即预期在小体积的水中重构。随后可以用水或等渗缓冲液稀释,然后将其稀释至较低浓度。通常,在以高DP浓度重新配制时,本发明的冻干制剂中所包含的赋形剂的含量将产生大致等渗的制剂,例如用于皮下给药。在较大体积的水中重构以产生较低的DP浓度将必定会降低重构溶液的张力,但这种降低在非皮下(的意义不大,如静脉内给药。如果在较低的DP浓度下需要等渗,可将冻干的粉末重新配制在标准的少量水中,然后再用等渗稀释剂(如0.9%的氯化钠)稀释。

[0162] 在本发明的一个实施方案中,将抗RSV抗体(或其抗原结合片段)配制成冻干粉,以重构并用于静脉、皮下或肌内给药。在某些实施方案中,以约50mg/小瓶提供抗体(或其抗原结合片段),并在使用前用无菌水重构以注射。如果需要,可以在无菌IV容器中用0.9%氯化钠注射液USP无菌稀释重组抗体。在一些实施方案中,重构制剂的目标pH为 $5.5 \pm 0.5$ 。在各

种实施方案中,本发明的冻干制剂能够将抗RSV抗体重构为高浓度,例如约20、25、30、40、50、60、75、100、125、150、175mg/mL或更高。

[0163] 冻干制剂本定义为基本上是干燥的,因此浓缩的概念在描述它们时无用。用单位剂量小瓶中组分的重量来描述冻干制剂是更有用的,但是也存在问题,因为其随剂量或瓶大小而变化。在描述本发明的冻干制剂时,有用的是将组分的含量表示为相同样品(例如小瓶)中组分重量与药物物质(DS)的重量比。该比率可以用百分比标识。该比率反映了本发明的冻干制剂的固有性质,与小瓶尺寸、用量和重构方案无关。

[0164] 在其他实施方案中,抗RSV抗体或其抗原结合片段的冻干制剂,是根据用于制备冻干制剂的冻干前溶液来定义的,如冻干前溶液。在一个实施方案中,冻干前溶液包含浓度为约10mg/mL、约25mg/mL或约50mg/mL的抗体或其抗原结合片段。这样的冻干前溶液的pH值为4.4-5.2(包括约4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1和5.2),例如优选约pH 4.8或约pH 5.5。

[0165] 在其他实施方案中,抗RSV抗体或其抗原结合片段的冻干制剂是根据从冻干制剂产生的重构溶液来定义的。

[0166] 重构溶液可以包含抗体或其抗原结合片段,浓度为约50、60、75、80、90或100mg/mL或更高浓度,例如150mg/mL,167mg/mL,200mg/mL)的,或高达约250mg/mL。这样的重构溶液的pH可以是约5.5,或在约pH 5.0至约6.0的范围内。

[0167] 本发明的冻干制剂是通过将冻干前溶液冻干(冷冻干燥)而形成的。冷冻干燥是通过将制剂冷冻并随后在适合于初级干燥的温度下升华水来完成的。在这种条件下,产品温度低于制剂的共晶点或塌陷温度。通常,在合适的压力下,初次干燥的货架温度将在约-30至25°C的范围内(提供产品在初次干燥期间保持冷冻),通常在约50至250mTorr的范围内。配方、大小、盛装样品的容器类型(如玻璃小瓶)、以及液体的体积决定了干燥所需的时间,该时间可以从几小时到几天不等(例如40-60小时)。第二干燥阶段可以在约0-40°C下进行,这主要取决于容器的类型和尺寸以及所用蛋白质的类型。二次干燥时间取决于产品中所需的残留水分含量,通常需要至少约5小时。通常,冻干制剂的水分含量小于约5%,优选小于约3%。压力可以与在初级干燥步骤中使用的压力相同。冷冻干燥条件可以根据制剂和小瓶尺寸而变化。

[0168] 在某些情况下,可能希望在容器中进行蛋白制剂的冻干,在容器中进行蛋白质重构以避免转移步骤。在这种情况下,该容器可以是例如3、5、10、20、50或100cc的小瓶。

[0169] 在给药前将本发明的冻干制剂重构。可以以约10、15、20、25、30、40、50、60、75、80、90或100mg/mL或更高浓度如150mg/mL,200mg/mL,250mg/mL或300mg/mL直至约500mg/mL)的浓度重构蛋白质。在皮下递送重构制剂的情况下,高蛋白浓度特别有用。但是,对于其他给药途径,例如静脉内给药,可能需要较低浓度的蛋白质(例如约5-50mg/mL)。

[0170] 重构通常在约25°C的温度下进行以确保完全水合,尽管根据需要可以采用其他温度。重构所需的时间将取决于例如稀释剂类型,赋形剂和蛋白质的量。稀释剂的例子包括无菌水,注射用抑菌水(BWFI),pH缓冲溶液(例如磷酸盐缓冲盐水),无菌盐溶液,林格氏溶液或葡萄糖溶液。

[0171] 本发明提供了从冻干制剂重构的液体抗RSV抗体制剂,其中重构溶液包含:a)约50mg/mL至约150mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b)约5mM至约20mM组氨酸;c)约6%

至约8%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-脯氨酸或L-脯氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-谷氨酸盐或L-谷氨酸盐的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-精氨酸和L-谷氨酸,以及约25mM至约75mM的L-精氨酸(HCl)和L-赖氨酸(HCl)的混合物;e)约25 $\mu$ M至75 $\mu$ M的DTPA;f)约0.01%至约0.10%的聚山梨酯80;g)约1mM至约20mM的L-蛋氨酸。

[0172] 本发明提供了从冻干制剂重构的液体抗RSV抗体制剂,其中重构溶液包含:a) 100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 10mM的组氨酸;c) 7%重量/体积(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,50mM的L-精氨酸(HCl),50mM的L-赖氨酸(HCl),25mM的L-精氨酸和25mM的L-谷氨酸的混合物以及25mM L-精氨酸(HCl)和25mM L-赖氨酸(HCl)的混合物;e) 50 $\mu$ M的DTPA;f) 0.02%的聚山梨酯80;g) 1mM至20mM的L-蛋氨酸。

[0173] 本发明提供了从冻干制剂重构的液体抗RSV抗体制剂,其中重构溶液包含:a) 100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 10mM的组氨酸;c) 7%重量/体积(w/v)的蔗糖;d) 25mM的L-精氨酸(HCl)和25mM的L-赖氨酸(HCl)的混合物;e) 50 $\mu$ M的DTPA;f) 0.02%聚山梨酯80。

[0174] 本发明还提供了由冻干制剂重构的液体抗RSV抗体制剂,其中重构溶液包含:a) 约50mg/mL至约250mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段。;b) 约5mM至约20mM的组氨酸;c) 约4%至约8%(w/v)的蔗糖;d)选自下组的赋形剂,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐,约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐与约25mM至约75mM的L-谷氨酸盐或L-谷氨酸的药学上可接受的盐的混合物,以及约25mM至约75mM的L-精氨酸或L-精氨酸的药学上可接受的盐和约25mM至约75mM的L-赖氨酸或L-赖氨酸的药学上可接受的盐的混合物形成的组;e) 约0.01%至约0.10%(w/v)的聚山梨酯80。

#### [0175] 7. 液体药物组合物

[0176] 液体抗体制剂通过将液体形式的药品物质(如抗RSV抗体)放入所需的缓冲液中进行制备,使用缓冲溶液将其调整到预期的缓冲区作为纯化过程的最后步骤。在该实施方案中没有冻干步骤。将最终缓冲液中的药物浓缩至所需浓度。将诸如蔗糖,蛋氨酸和聚山梨酯80的赋形剂添加到药品物质中,并使用适当的缓冲液将其稀释至最终蛋白质浓度。将最终配制的药品物质过滤,例如使用0.22 $\mu$ m的过滤器过滤,填充到最终容器(例如玻璃小瓶或注射器)中。此类液体制剂的示例为最终的液体制剂包含:a) 100mg/mL的抗RSV抗体或其抗原结合片段;b) 10mM的组氨酸;c) 7%重量/体积(w/v)的蔗糖;d) 25mM的L-精氨酸(HCl)和25mM的L-赖氨酸(HCl)的混合物;e) 50 $\mu$ M的DTPA;f) 0.02%聚山梨酯80。

#### [0177] 8. 使用方法

[0178] 本发明还涉及在受试者中预防或治疗RSV感染的方法,该方法包括给予受试者有效量的本发明的任何制剂;即本文所述的任何制剂。在该方法的一些实施方案中,通过静脉内给药将制剂施用于受试者。在其他实施方案中,通过皮下给药将制剂施用于受试者。在其他实施方案中,通过肌内给药来施用制剂。

[0179] 在一个具体的实施方案中,以有效降低RSV滴度的用量,向哺乳动物(优选人)施用本发明的预防的、治疗的或药物形式的制剂用于治疗、预防或改善与RSV感染有关的一种或

多种症状。根据该实施方案,有效量的抗RSV抗体或抗体片段降低了肺中的RSV滴度,例如通过痰样品中RSV的浓度或来自哺乳动物的肺中的灌洗液来测量。在另一个实施方案中,以中和和/或阻断哺乳动物RSV感染有效的用量,向哺乳动物(优选人)施用本发明的预防的、治疗的或药物形式的制剂用于治疗、预防或改善与RSV感染有关的症状。

[0180] 本发明的制剂还可以免疫治疗地用于人和其他动物中的RSV疾病。如本文所用的术语“免疫疗法地(immunotherapeutically)”或“免疫疗法(immunotherapy)”,与本发明所述的抗RSV抗体或抗原结合片段相结合,表示预防性和治疗性给药,并通过基本上纯化的多肽产物产生被动免疫,以及通过转移多核苷酸序列的编码产物或其部分作为基因疗法。被动免疫包括向有需要的受试者进行主动体液免疫的转移或提供抗体。因此,在本发明的某些实施方案中,本发明提供了向面临RSV感染风险的患者提供转移主动体液免疫的方法和提供RSV抗体或其抗原结合片段如IgG抗体的方法。因此,可以将单克隆抗体或其抗原结合片段施用于高危受试者,以降低RSV疾病的可能性和/或严重性,或者施用于已经表现出活跃RSV感染的受试者。

[0181] 本发明还提供了一种在细胞、组织、器官、动物或患者中调节或治疗至少一种成年或儿童RSV相关疾病的方法,所述疾病包括但不限于下呼吸道感染,肺炎,气管支气管炎,细支气管炎,支气管炎,以及任何相关的感染或炎症性疾病,例如但不限于至少一种,或者至少一种炎症性疾病与以下相关,全身性炎症反应综合征,败血症综合征,革兰氏阳性脓毒症,革兰氏阴性脓毒症,培养阴性脓毒症,真菌性脓毒症,嗜中性白血球热,尿毒症,脑膜炎球菌血症,成人呼吸窘迫综合征,变应性鼻炎,常年性鼻炎,哮喘,全身过敏反应,受体过敏反应,慢性阻塞性肺疾病(COPD),超敏性肺炎,细胞内生物引起的肉芽肿,药物敏感性,恶病质,囊性纤维化,新生儿慢性肺病。细胞、组织、器官、动物或患者中的至少一种传染病,包括但不限于以下至少一种:急性或慢性细菌感染,急性和慢性寄生虫或感染过程,包括细菌,病毒和真菌感染,HIV感染,HIV神经病,脑膜炎,肝炎(A,B或C等),化脓性关节炎,腹膜炎,肺炎,会厌炎,大肠杆菌E.coli 0157:h7,溶血性尿毒症综合征,溶栓性血小板减少性紫癜,疟疾,登革热出血性发烧,利什曼病,麻风病,中毒性休克综合征,链球菌性肌炎,气体坏疽,结核分枝杆菌,鸟分枝杆菌胞内菌,卡氏肺孢子虫肺炎,盆腔炎,睾丸炎,附睾炎,军团菌,莱姆病,甲型流感,爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus),器官相关噬血细胞综合征(vital-associated hemophagocytic syndrome),器官性脑炎(vital encephalitis),无菌性脑膜炎等。这样的方法可以任选地包括将有效量的包含至少一种RSV抗体或其抗原性片段的组合物或药物组合物,施用于需要这种调节、治疗或疗法的细胞、组织、器官、动物或患者。

[0182] 在一个实施方案中,预防的、治疗的或药物的制剂包括本发明所述的抗RSV抗体或其片段,其可施于哺乳动物、优选人,从而治疗、预防或改善与RSV感染有关的一种或多种症状。在另一个实施方案中,预防的、治疗的或药物的制剂包括本发明所述的抗RSV抗体或其片段,其可施于患有囊性纤维化、支气管肺发育不良、先天性心脏病、先天性免疫缺陷或获得性免疫缺陷的人,或者进行了移植(例如,骨髓、肺或造血干细胞移植(HSCT))的人,从而治疗治疗、预防或改善与RSV感染有关的一种或多种症状。

[0183] 在一个实施方案中,预防的、治疗的或药物的制剂包括本发明所述的抗RSV抗体或其片段,其可施于人类婴儿、优选早产的人类婴儿或者因RSV感染有住院风险的人类婴

儿,从而治疗、预防或改善与RSV感染有关的一种或多种症状。在另一个实施方案中,预防的、治疗的或药物的本发明制剂被施于老年人或团体家庭(例如,疗养院或康复中心)或免疫受损个体。

[0184] 在另一个实施方案中,本发明提供了一种预防由RSV引起的呼吸道感染的方法。在另一个实施方案中,本发明提供了一种预防由RSV引起的下呼吸道感染的方法。在另一个实施方案中,本发明提供了一种预防由RSV A型和B型毒株引起的下呼吸道感染的方法。在另一个实施方案中,本发明提供了一种预防由RSV A型和B型毒株引起的婴儿下呼吸道感染的方法,该婴儿在给药时出生 $\geq 29$ 周且 $\leq 8$ 个月大。在另一个实施方案中,在另一个实施方案中,本发明提供了一种预防由RSV引起的婴儿下呼吸道感染的方法,所有婴儿进入其第一个RSV季节,和患有慢性肺病或先天性心脏病的儿童进入其第一个和第二个RSV季节。

#### [0185] 9. 一般方法

[0186] 分子生物学中的标准方法描述于Sambrook,Fritsch and Maniatis(1982和1989第二版,2001第三版)Molecular Cloning,A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY;Sambrook and Russell(2001)Molecular Cloning,3<sup>rd</sup> ed.,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY;Wu(1993)Recombinant DNA,Vol.217,Academic Press,San Diego,CA)。标准方法也出现在Ausubel等人(2001),(2001)Current Protocols in Molecular Biology,Vols.1-4,John Wiley and Sons,Inc.New York,NY,其描述了细菌细胞克隆和DNA突变(第1卷)、哺乳动物细胞和酵母克隆(第2卷)、糖缀合物和蛋白质表达(第3卷)和生物信息学(第4卷)。

[0187] 蛋白质纯化的方法,包括免疫沉淀、层析、电泳、离心和结晶是被描述的(Coligan等人,(2000)Current Protocols in Protein Science,Vol.1,John Wiley and Sons,Inc.,New York)。化学分析、化学修饰、翻译后修饰、融合蛋白的产生,蛋白质的糖基化是被描述的(参见例如Coligan等人,(2000)Current Protocols in Protein Science,Vol.2,John Wiley and Sons,Inc.,New York;Ausubel等人,(2001)Current Protocols in Molecular Biology,Vol.3,John Wiley and Sons,Inc.,NY,NY,第16.0.5-16.22.17页;Sigma-Aldrich,Co.Co.(2001)Products for Life Science Research,St.Louis,MO;第45-89页;Amersham Pharmacia Biotech(2001)BioDirectory,Piscataway,NJ,第384-391页)。多克隆和单克隆抗体的产生、纯化和片段化是被描述的(Coligan,et al.(2001)Current Protocols in Immunology,Vol.1,John Wiley and Sons,Inc.,New York;Harlow and Lane(1999)Using Antibodies,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY;Harlow and Lane, supra)。表征配体/受体相互作用的标准技术是可行的(参见,例如,Coligan,et al.(2001)Current Protocols in Immunology,Vol.4,John Wiley,Inc.,New York)。

[0188] 单克隆抗体、多克隆抗体和人源化抗体是可以制备的(参见,例如,Sheperd和Dean(eds.)(2000)Monoclonal Antibodies,Oxford Univ.Press,New York,NY;Kontermann和Dubel(eds.)(2001)Antibody Engineering,Springer-Verlag,New York;Harlow和Lane(1988)Antibodies A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,第139-243页;Carpenter等人((2000)J.Immunol.165:6205;He,et al.(1998)J.Immunol.160:1029;Tang等人,(1999)J.Biol.Chem.274:27371-27378;Baca等人,

(1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684; Chothia et al. (1989) *Nature* 342:877-883; Foote和Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499; 美国专利号6,329,511)。

[0189] 人源化的替代方法是使用噬菌体展示人抗体文库或转基因小鼠中的人抗体文库 (Vaughan等人 (1996) *Nature Biotechnol.* 14:309-314; Barbas (1995) *Nature Medicine* 1:837-839; Mendez et al. (1997) *Nature Genetics* 15:146-156; Hoogenboom和Chames (2000) *Immunol. Today* 21:371-377; Barbas等人. (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay等人. (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin等人. (1999) *Nature Biotechnol.* 17:397-399)。

[0190] 抗原的纯化对于产生抗体不是必需的。可以用带有目标抗原的细胞免疫动物。然后可以从被免疫的动物中分离脾细胞,并且可以将脾细胞与骨髓瘤细胞系融合以产生杂交瘤 (参见,例如, Meyaard等人 (1997) *Immunity* 7:283-290; Wright等人 (2000) *Immunity* 13:233-242; Preston等同上; Kaithamana等 (1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164)。

[0191] 抗体可以缀合至例如小药物分子、酶、脂质体、聚乙二醇 (PEG)。抗体可用于治疗、诊断、试剂盒或其他目的,并且包括抗体偶联物,如染料、放射性同位素、酶或金属 (例如胶体金) (参见,例如, Le Doussal等人. (1991) *J. Immunol.* 146:169-175; Gibellini等人. (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898; Hsing和Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811; Everts等人. (2002) *J. Immunol.* 168:883-889)。

[0192] 流式细胞术的方法,包括荧光激活细胞分选 (FACS) 是可行的 (参见,例如, Owens等人. (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) *Flow Cytometry*, 2<sup>nd</sup> ed.; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ)。

[0193] 荧光试剂适于修饰核酸,包括包括核酸引物和探针、多肽和抗体,可以用于例如诊断试剂,是可行的 (Molecular Probes (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO)。

[0194] 免疫系统组织学的标准方法是被描述的 (参见,例如, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt等人. (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis等人. (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY)。

[0195] 用于确定例如抗原性片段、前导序列、蛋白质折叠、功能域、糖基化位点和序列比对软件包和数据库是可行的 (参见例如 GenBank, Vector NTI Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DECYPHER (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne等人. (2000) *Bioinformatics* 16:741-742; Menne等人. (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Menne等人. (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690)。

[0196] 10. 分析方法

[0197] 适用于评估产品稳定性的分析方法包括尺寸排阻色谱 (SEC), 动态光散射测试 (DLS), 差示扫描量热法 (DSC), 异天冬氨酸定量, 价效, 340nm处的UV, UV光谱和傅立叶变换红外吸收光谱仪。SEC (J. Pharm. Scien., 83:1645-1650, (1994); Pharm. Res., 11:485 (1994); J. Pharm. Bio. Anal., 15:1928 (1997); J. Pharm. Bio. Anal., 14:1133-1140 (1986)) 测量产品中单体的百分比, 并提供有关可溶性聚集体含量信息。DSC (Pharm. Res., 15:200 (1998); Pharm. Res., 9:109 (1982)) 给出了蛋白质变性温度和玻璃化转变温度的信息。DLS (American Lab., November (1991)) 测量平均扩散系数, 并给出可溶和不可溶聚集体含量的信息。340nm处的UV可测量340nm处的散射光强度, 并提供有关可溶和不可溶聚集体含量的信息。紫外光谱法测量278nm处的吸光度并提供蛋白质浓度的信息。傅立叶变换红外吸收光谱仪 (Eur. J. Pharm. Biopharm., 45:231 (1998); Pharm. Res., 12:1250 (1995); J. Pharm. Scien., 85:1290 (1996); J. Pharm. Scien., 87:1069 (1998)) 测量酰胺I带的IR光谱, 并给出蛋白质二级结构的信息。

[0198] 样品中的异天冬氨酸含量使用 Isoquant Isoaspartate 检测系统 (Promega) 进行测量。该试剂盒使用酶蛋白异二十碳烯基甲基转移酶 (PIMT) 来特异性检测目标蛋白中异天冬氨酸残基的存在。PIMT在 $\alpha$ -羧基位置催化甲基从S-腺苷-L-蛋氨酸向异天冬氨酸的转移, 在此过程中产生S-腺苷-L-同型半胱氨酸 (SAH)。这是一个相对较小的分子, 通常可以使用试剂盒中提供的SAH HPLC标准品通过反相HPLC进行分离和定量。

[0199] 抗体的效力或生物同一性可以通过其与抗原结合的能力来衡量。抗体与其抗原的特异性结合可以通过本领域技术人员已知的任何方法来定量, 例如, 免疫测定, 例如ELISA (酶联免疫吸附测定)。

[0200] 为了描述和公开可能与本发明结合使用的方法和材料, 本文引用的所有出版物均通过引用并入本文。

[0201] 已经在参考附图中描述了本发明的不同实施方式, 应当理解, 本发明不限于那些精确的实施方案, 并且本领域技术人员可以进行各种改变和修改而不背离本发明所附权利要求所限定的范围或精神。

## 具体实施方式

[0202] 实施例1

[0203] 抗RSV抗体制剂在不同pH值下的稳定性

[0204] 这项研究是在10mM组氨酸缓冲液中以100mg/mL的抗RSV抗体浓度进行。将7% (w/v) 的蔗糖添加到制剂中, 以增加分子的整体稳定性 (作为稳定剂和非离子等张调节剂)。简而言之, 将药物 (DS) 以100mg/mL的浓度配制在10mM组氨酸, 7%蔗糖中, pH值分别为5.5、6.0和pH 6.5。将配制好的DS装入小瓶中, 并在5°C (环境湿度), 25°C (60%相对湿度) 和40°C (75%相对湿度) 避光条件下稳定保存三个月。

[0205] 通过尺寸排阻色谱法 (SEC) 评估样品的纯度, 确定单体的百分比, 然后确定高分子量物质 (HMW) 和晚期洗脱峰 (LMW物质) 的百分比。使用流动相 (100mM磷酸钠和100mM氯化钠, pH 7.0) 将样品 (抗RSV抗体) 稀释至1.0mg/mL进行超高效排阻色谱法 (UP-SEC) 检测; 流速为0.5mL/min。将稀释后的样品注入 (5 $\mu$ L) 到安装有Waters BEH200色谱柱和UV检测器的UPLC中。样品中的蛋白质按大小分离, 并通过214nm的紫外线吸收进行检测。

[0206] 该实验用来研究pH对抗RSV抗体制剂稳定性的影响。根据长达3个月的热稳定性研究结果,在任何条件下,100mg/mL制剂在pH 5.5、6.0和6.5时的稳定性之间都没有可测量的差异。在5°C下,UP-SEC%单体含量没有变化。但是,在25°C时发现略有下降(~2%),而在40°C时出现了更明显的下降(~20%)。根据结果,选择pH 6.0进行进一步的开发(参见表1)。

[0207] 表1

制剂编号	描述				
A1	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	pH=5.5
A2	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	pH=6.0
A3	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	pH=6.5

[0209] 实施例2

[0210] 抗RSV抗体制剂赋形剂(氨基酸及其混合物)的筛选(以减少聚集)

[0211] 这项研究比较了抗RSV抗体在10mM组氨酸(pH=6),0.02%PS80、7%蔗糖中,在(i)-(iv)存在下的稳定性,(i)50mM的L-精氨酸.HCl或(ii)50mM的L-赖氨酸.HCl或(iii)25mM的L-精氨酸和25mM的L-谷氨酸的混合物,或(iv)25mM的L-精氨酸.HCl和25mM的L-赖氨酸.HCl。

[0212] 测试了这四种赋形剂在减少聚集,改善化学稳定性(参见实施例3)和降低粘度(参见实施例4)中的作用。四种被测试的赋形剂为:

[0213] (i) 50mM L-精氨酸.HCl;

[0214] (ii) 50mM L-赖氨酸.HCl;

[0215] (iii) 25mM L-精氨酸和25mM L-谷氨酸的混合物;和

[0216] (iv) 25mM L-精氨酸.HCl和25mM L-赖氨酸.HCl的混合物。

[0217] 对前两种赋形剂进行检测,以了解带正电荷的赖氨酸和精氨酸在氯化物抗衡离子存在下的作用。测试了第三种赋形剂以了解精氨酸在另一种抗衡离子(谷氨酸)存在下的作用。第四种赋形剂是前两种赋形剂的混合物,以确定这两种赋形剂是否能起到互补作用。据推测,这种混合物可能比个别赋形剂发挥更好的作用,因为赋形剂的混合物具有不同的pKa,并且不同地屏蔽mAb的表面变化分布,从而增加排斥相互作用,进而降低聚集性和粘度。

[0218] 为了评价制剂的稳定性,将这五种制剂装入小瓶中,在5°C(环境湿度),25°C(60%相对湿度)和40°C(75%相对湿度)避光条件下稳定保存八周。这五种制剂列于下表2。

[0219] 表2

制剂编号	描述				
1	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸(pH=6)	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	N/A
2	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸(pH=6)	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	50 mM L-精氨酸.HCl
3	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸(pH=6)	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	50 mM L-赖氨酸.HCl
4	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸(pH=6)	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	25 mM L-精氨酸和 25 mM L-谷氨酸的混合物
5	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸(pH=6)	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	25 mM L-精氨酸.HCl 和 25 mM L-赖氨酸.HCl 的混合物

[0221] 通过尺寸排阻色谱法 (SEC) 评估样品的纯度, 确定单体的百分比, 然后确定高分子量物质 (HMW) 和晚期洗脱峰 (LMW物质) 的百分比。使用流动相 (100mM磷酸钠和100mM氯化钠, pH 7.0) 将样品稀释至1.0mg/mL (抗RSV抗体) 进行超高效排阻色谱法检测。流速为0.5mL/min。将稀释后的样品注入 (5 $\mu$ L) 到安装有Waters BEH200色谱柱和UV检测器的UPLC中。样品中的蛋白质按大小分离, 并通过214nm的紫外线吸收进行检测。

[0222] 表3列出了用于评估高分子量物质 (HMW或聚集体), %单体和低分子量物质 (LMW) 的UPSEC数据。[T0=时间0; 4W=4周; 并且8W=8周]。

[0223] 表3

样品名称	峰		
	HMW	单体	LMW
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 5℃	1.77	98.1	0.09
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W5℃	1.88	98.0	0.11
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W25℃	2.86	96.9	0.21
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W40℃	4.05	93.2	2.77
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W5℃	2.00	97.9	0.13
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W25℃	3.13	96.6	0.28
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W40℃	4.83	91.1	4.05
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl T05℃	1.55	98.3	0.14
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 4W5℃	1.54	98.3	0.12
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 4W25℃	2.06	97.8	0.18
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 4W40℃	2.72	95.4	1.90
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 8W5℃	1.66	98.2	0.13
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 8W25℃	2.34	97.4	0.28
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 8W40℃	3.46	93.1	3.41
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl T05℃	1.58	98.3	0.12
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 4W5℃	1.79	98.1	0.12
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 4W25℃	2.17	97.6	0.20
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 4W40℃	3.01	95.1	1.87
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 8W5℃	1.71	98.2	0.13
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 8W25℃	2.51	97.2	0.27
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 8W40℃	3.94	92.5	3.58
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 T05℃	1.80	98.1	0.10
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 4W5℃	1.87	98.0	0.12
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 4W25℃	2.49	97.3	0.22
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 4W40℃	3.77	93.4	2.83
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 8W5℃	1.90	98.0	0.13

[0224]

[0225]

样品名称	峰		
	HMW	单体	LMW
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 8W25℃	2.68	97.0	0.31
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 8W40℃	4.40	91.8	3.80
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl T05℃	1.67	98.2	0.10
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 4W5℃	2.22	97.6	0.20
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 4W25℃	1.79	98.1	0.12
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 4W40℃	3.03	94.8	2.19
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 8W5℃	1.71	98.2	0.13
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 8W25℃	2.34	97.4	0.25
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 8W40℃	3.36	93.7	2.95

[0226] 如图1,图2和图3所示,对样品进行UP-SEC分析以确定高分子量物质百分比和单体百分比,结果表明,在5℃、25℃和40℃时,所有配方均显示出%高分子量物质峰和%低分子量物质峰增加的趋势(以及单体峰的百分比减少),直到8周的时间点。与40℃相比,在25℃时所有配方均显示出相似的趋势但变化较小。在5℃下,未观察到实质性变化。

[0227] 如图2和图3所示,与其他制剂相比,制剂1显示出%高分子量物质和%低分子量物质的更大增加。另外,制剂1显示出更多的单体%降低。因此,所有四组赋形剂均降低了%高分子量物质和%低分子量物质,从而提高了抗RSV抗体DP的稳定性。

[0228] 实施例3

[0229] 抗RSV抗体制剂赋形剂筛选(氨基酸及其混合物),可提高抗RSV抗体的化学稳定性

[0230] 这项研究比较了抗RSV抗体在10mM组氨酸(pH=6),0.02%PS80、7%蔗糖中,在(i)-(iv)存在下的稳定性,(i)50mM的L-精氨酸.HCl或(ii)50mM的L-赖氨酸.HCl或(iii)25mM的L-精氨酸和25mM的L-谷氨酸的混合物,或(iv)25mM的L-精氨酸.HCl和25mM的L-赖氨酸.HCl。

[0231] 测试了这四种赋形剂在改善化学稳定性作用。四种经测试的赋形剂为:

[0232] (i) 50mM L-精氨酸.HCl;

[0233] (ii) 50mM L-赖氨酸.HCl;

[0234] (iii) 25mM L-精氨酸和25mM L-谷氨酸的混合物;和

[0235] (iv) 25mM L-精氨酸.HCl和25mM L-赖氨酸.HCl的混合物。

[0236] 对前两种赋形剂进行检测,以了解带正电荷的赖氨酸和精氨酸在氯化物抗衡离子存在下的作用。测试了第三种赋形剂以了解精氨酸在另一种抗衡离子(谷氨酸)存在下的作用。第四种赋形剂是前两种赋形剂的混合物,以确定这两种赋形剂是否能起到互补作用。据推测,这种混合物可能比单独赋形剂发挥更好的作用,因为赋形剂的混合物具有不同的pKa,并且不同地屏蔽mAb的表面变化分布,这可能会影响mAb的化学降解。

[0237] 为了评价制剂的稳定性,将这五种制剂装入小瓶中,在5℃(环境湿度),25℃(60%相对湿度)和40℃(75%相对湿度)避光条件下稳定保存八周。这五种制剂列于下表2。

[0238] 使用离子交换色谱法评估化学稳定性并监测电荷变化随时间的变化曲线。离子交换HPLC方法中使用了Dionex ProPac WCX-10色谱柱和280nm的UV检测器。样品在纯净水中进行稀释,然后注入80μg进行分析。用于热稳定性样品的IEX分析流动相为以下梯度的流动相(流动相A:20mM MOPS,pH 7.2;流动相B:50mM磷酸钠,60mM氯化钠pH 8.0)。使用从20mM MOPS pH 7.2到50mM磷酸钠,60mM NaCl,pH 8.0的流动相梯度进行测定。UV检测在280nm进行。

[0239] 表4中列出了用于评估酸性变体,主峰百分含量和碱性变体百分含量的HP-IEX数据。[T0=时间0;4W=4周;并且8W=8周]。

[0240] 表4

[0241]

样品名称	报告的%峰面积		
	酸性变体	主峰	碱性变异
抗RSV抗体药品 对照组 T0 5℃	25.18	58.1	16.68
抗RSV抗体药品 对照组 T0 4W5℃	24.97	58.9	16.10

样品名称	报告的%峰面积		
	酸性变体	主峰	碱性变异
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W25℃	28.41	54.1	17.47
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W40℃	44.06	37.5	18.41
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W5℃	24.57	59.0	16.38
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W25℃	30.62	52.0	17.38
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W40℃	53.49	28.7	17.82
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl T05℃	24.23	59.8	15.92
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 4W5℃	24.43	59.2	16.35
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 4W25℃	26.05	56.6	17.39
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 4W40℃	35.13	46.0	18.88
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 8W5℃	24.00	59.7	16.34
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 8W25℃	28.25	53.2	18.54
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl 8W40℃	48.43	32.6	18.96
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl T05℃	23.98	60.3	15.72
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 4W5℃	24.08	59.8	16.09
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 4W25℃	25.25	57.4	17.37
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 4W40℃	34.94	45.7	19.36
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 8W5℃	23.95	59.9	16.14
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 8W25℃	27.79	53.6	18.59
抗 RSV 抗体药品+L-赖氨酸.HCl 8W40℃	48.05	32.7	19.28
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 T05℃	24.55	59.5	15.92
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 4W5℃	24.34	59.7	15.94
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 4W25℃	29.80	52.6	17.63
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 4W40℃	47.35	34.8	17.89
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 8W5℃	24.46	59.4	16.14
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 8W25℃	32.22	49.2	18.55
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.L-谷氨酸 8W40℃	55.41	26.8	17.77
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl T05℃	23.40	60.9	15.68
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 4W5℃	22.84	61.2	15.93
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 4W25℃	25.02	57.5	17.45
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 4W40℃	36.75	44.0	19.29
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 8W5℃	22.71	61.4	15.93
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 8W25℃	25.97	56.1	17.97
抗 RSV 抗体药品+L-精氨酸.HCl +L-赖氨酸.HCl 8W40℃	42.05	38.9	19.04

[0242] 如图4,图5和图6所示,对样品进行HP- IEX分析以确定化学稳定性,结果表明,在5℃,25℃和40℃的温度下,所有配方均显示出酸性峰百分比的增加趋势,并因此降低了单体峰的百分数,直至8周的时间点。与40℃比,在25℃下所有配方均显示出相似的趋势,但变化较小。在5℃下未观察到实质性变化。

[0244] 如图5和图6所示,与其他制剂相比,制剂1显示出更大的酸性峰%增加。另外,与其他制剂相比,制剂1显示出更大的主峰%降低。因此,所有四组赋形剂均降低了酸性峰%,从而提高了抗RSV抗体药品的化学稳定性。

[0245] 实施例4

[0246] 抗RSV抗体制剂赋形剂筛选(降低抗RSV抗体的粘度)

[0247] 这项研究比较了抗RSV抗体在10mM组氨酸(pH=6),0.02%PS80、7%蔗糖中,在(i)-(iv)存在下的稳定性,(i)50mM的L-精氨酸.HCl或(ii)50mM的L-赖氨酸.HCl或(iii)25mM的L-精氨酸和25mM的L-谷氨酸的混合物,或(iv)25mM的L-精氨酸.HCl和25mM的L-赖氨酸.HCl。

[0248] 测试了这四种赋形剂降低抗RSV抗体粘度的能力。四种经测试的赋形剂为:

[0249] (i) 50mM L-精氨酸.HCl;

[0250] (ii) 50mM L-赖氨酸.HCl;

[0251] (iii) 25mM L-精氨酸和25mM L-谷氨酸的混合物;和

[0252] (iv) 25mM L-精氨酸.HCl和25mM L-赖氨酸.HCl的混合物。

[0253] 对前两种赋形剂进行检测,以了解带正电荷的赖氨酸和精氨酸在氯化物抗衡离子存在下的作用。测试了第三种赋形剂以了解精氨酸在另一种抗衡离子(谷氨酸)存在下的作用。第四种赋形剂是前两种赋形剂的混合物,以确定这两种赋形剂是否能起到互补作用。据推测,这种混合物可能比单独赋形剂发挥更好的作用,因为赋形剂的混合物具有不同的pKa,并且不同地屏蔽mAb的表面变化分布,从而增加了排斥蛋白与蛋白的相互作用并降低了mAb的粘度。

[0254] 为了测量粘度,将样品装入500 $\mu$ l注射器中,并使用MVROC粘度计在20 $^{\circ}$ C下测量粘度(每个样品5次)。当样品从进样口的指定位置流经传感器的流道时,VROC传感器通过测量压降来检测粘度。测量粘度与剪切速率的关系,其中样品的剪切速率由样品粘度确定。

[0255] 如表5和图7所示,所有四组赋形剂均降低了抗RSV抗体药品的粘度。

[0256] 表5

[0257]

样品编号	样品	黏度值(cP)
S1	抗RSV抗体	4.3940 $\pm$ 0.1265
S2	抗RSV抗体+L-精氨酸.HCl	3.2658 $\pm$ 0.1585
S3	抗RSV抗体+L-赖氨酸.HCl	3.2916 $\pm$ 0.1633
S4	抗RSV抗体+(L-精氨酸.HCl+L-赖氨酸.HCl)	2.9982 $\pm$ 0.1435
S5	抗RSV抗体+(L-精氨酸+L-谷氨酸)	2.6344 $\pm$ 0.1288

[0258] 实施例5

[0259] 在抗RSV抗体制剂中添加螯合剂以减少聚集

[0260] 这项研究比较了在存在或不存在50 $\mu$ M的DTPA(二亚乙基三胺五乙酸酯)的情况下,抗RSV抗体在10mM组氨酸(pH=6),0.02%PS80、7%蔗糖中的稳定性。

[0261] 为了评估制剂的稳定性,将两种制剂装入小瓶中,并分别在5 $^{\circ}$ C(环境湿度),25 $^{\circ}$ C(60%相对湿度)和40 $^{\circ}$ C(75%相对湿度)下避光保持稳定八周。这两种制剂示于表6。

[0262] 表6

制剂编号	描述				
[0263] 1	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸 (pH=6)	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	N/A
2	抗 RSV 抗体 (100 mg/mL)	10 mM 组氨酸 (pH=6)	7% 蔗糖 (w/v)	0.02% PS80 (w/v)	50 $\mu$ M DTPA

[0264] 通过尺寸排阻色谱法 (SEC) 评估样品的纯度, 确定单体的百分比, 然后确定高分子量物质 (HMW) 和晚期洗脱峰 (LMW物质) 的百分比。使用超高效排阻色谱法 (UP-SEC) 进行检测, 使用流动相 (100mM磷酸钠和100mM氯化钠, pH7.0) 将样品稀释至1.0mg/mL; 流速为0.5mL/min。将稀释后的样品注入 (5 $\mu$ L) 到安装有Waters BEH200色谱柱和UV检测器的UPLC中。样品中的蛋白质按大小分离, 并通过214nm的紫外线吸收进行检测。

[0265] 表7显示了用于评估高分子量物质 (HMW或聚集体), %单体和LMW (低分子量物质) 水平的UPSEC数据。[T0=时间0; 4W=4周; 并且8W=8周]。

[0266] 表7

样品名称	峰		
	高分子量物质	单体	低分子量物质
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 5°C	1.77	98.1	0.09
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W5°C	1.88	98.0	0.11
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W25°C	2.86	96.9	0.21
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W40°C	4.05	93.2	2.77
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W5°C	2.00	97.9	0.13
[0267] 抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W25°C	3.13	96.6	0.28
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W40°C	4.83	91.1	4.05
抗 RSV 抗体药品+ DTPA T0 5°C	1.72	98.2	0.12
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 4W5°C	1.81	98.1	0.11
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 4W25°C	2.53	97.3	0.19
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 4W40°C	3.24	94.7	2.02
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 8W5°C	1.87	98.0	0.12
抗 RSV 抗体药品 + DTPA 8W25°C	2.68	97.1	0.21
抗 RSV 抗体药品 + DTPA 8W40°C	3.50	93.8	2.68

[0268] 如图8, 图9和图10所示, 对样品进行UP-SEC分析以确定HMW百分数和单体百分数, 结果表明, 在5°C, 25°C和40°C的温度下, 所有配方均显示出高分子量物质峰和低分子量物质峰的增加 (因此单体峰%下降), 直至8周的时间点。与40°C相比, 在25°C下, 两种配方均显示出相似的趋势, 但变化较小。在5°C下, 未观察到实质性变化。

[0269] 如图9和图10所示, 与制剂2相比, 制剂1显示出更大的高分子量物质%和低分子量物质%。另外, 与其他制剂相比, 制剂1显示出更大的主峰%降低。因此, DTPA (制剂2) 降低了高分子量物质%和低分子量物质%, 从而改善了抗RSV抗体DP的聚集。

[0270] 实施例6

[0271] 在抗RSV抗体制剂中添加螯合剂以提高抗RSV抗体的化学稳定性

[0272] 这项研究比较了在存在或不存在50 $\mu$ M的DTPA的情况下,抗RSV抗体在10mM组氨酸(pH=6)、0.02%PS80、7%蔗糖中的化学稳定性。

[0273] 为了评估制剂的化学稳定性,将两种制剂装入小瓶中,并分别在5 $^{\circ}$ C(环境湿度),25 $^{\circ}$ C(60%相对湿度)和40 $^{\circ}$ C(75%相对湿度)下避光保持稳定八周。两种制剂如实施例5中所提供。

[0274] 使用离子交换色谱法评估化学稳定性并监测电荷变化随时间的变化曲线。离子交换HPLC方法中使用了Dionex ProPac WCX-10色谱柱和280nm的UV检测器。样品在纯净水中进行稀释,然后注入80 $\mu$ g进行分析。用于热稳定性样品的IEX分析流动相为以下梯度的流动相(流动相A:20mM MOPS,pH 7.2;流动相B:50mM磷酸钠,60mM氯化钠pH 8.0)。使用从20mM MOPS pH 7.2到50mM磷酸钠,60mM NaCl,pH 8.0的流动相梯度进行测定。UV检测在280nm进行。

[0275] 表8中显示了用于评估酸性变体,主峰百分含量和碱性变体百分含量的HP-IEX数据。[T0=时间0;4W=4周;并且8W=8周]。

[0276] 表8

样品名称	报告的%峰面积		
	酸性变体	主峰	碱性变体
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 5 $^{\circ}$ C	25.18	58.1	16.68
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W5 $^{\circ}$ C	24.97	58.9	16.10
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W25 $^{\circ}$ C	28.41	54.1	17.47
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 4W40 $^{\circ}$ C	44.06	37.5	18.41
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W5 $^{\circ}$ C	24.57	59.0	16.38
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W25 $^{\circ}$ C	30.62	52.0	17.38
抗 RSV 抗体药品 对照组 T0 8W40 $^{\circ}$ C	53.49	28.7	17.82

样品名称	报告的%峰面积		
	酸性变体	主峰	碱性变体
抗 RSV 抗体药品+ DTPA T0 5 $^{\circ}$ C	22.96	61.5	15.54
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 4W5 $^{\circ}$ C	23.00	61.8	15.19
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 4W25 $^{\circ}$ C	24.32	58.4	17.26
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 4W40 $^{\circ}$ C	35.11	45.4	19.47
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 8W5 $^{\circ}$ C	22.79	61.0	16.25
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 8W25 $^{\circ}$ C	25.25	56.8	17.95
抗 RSV 抗体药品+ DTPA 8W40 $^{\circ}$ C	40.90	39.2	19.86

[0279] 如图11,图12和图13所示,对样品进行HP-IEX分析以确定化学稳定性,结果表明,在5 $^{\circ}$ C,25 $^{\circ}$ C和40 $^{\circ}$ C的温度下,两种配方均显示出酸性峰百分比增加,单体峰的百分比降低的趋势,直至8周的时间点。与40 $^{\circ}$ C比,在25 $^{\circ}$ C下两种配方均显示出相似的趋势,但变化较小。在5 $^{\circ}$ C下,未观察到实质性变化。

[0280] 如图12和13所示,与制剂2相比,制剂1显示出更大的酸性峰%增加。另外,与制剂2相比,制剂1显示出更大的主峰%降低。因此,DTPA(制剂2)降低了%的酸性峰,因此提高了抗RSV抗体药品的化学稳定性。

[0281] 实施例7

[0282] 在抗RSV抗体配方中添加螯合剂以减少PS80降解

[0283] 这项研究比较了在存在或不存在50 $\mu$ M的DTPA的情况下,抗RSV抗体中的PS80在10mM组氨酸(pH=6),0.02%PS80、7%蔗糖中的化学稳定性。长期储存mAb时通常会看到PS80的降解,并进行了实验以确定DTPA是否与PS80兼容。

[0284] 为了评估两种配方中PS80的化学稳定性,将这两种配方装入小瓶中,分别在5 $^{\circ}$ C(环境湿度),25 $^{\circ}$ C(60%相对湿度)和40 $^{\circ}$ C(75%相对湿度)下避光保持稳定八周。两种制剂如实施例5中所提供。

[0285] 表9中的结果显示了两种制剂的PS80的相似降解曲线。图14显示了40 $^{\circ}$ C下PS80的降解百分数。制剂2(在DTPA存在下)降解百分率略低。因此,DTPA可以防止PS80降解,并且这两种辅料(DTPA和PS80)是相互兼容的。[T0=时间0;4W=4周;并且8W=8周]。

[0286] 表9

[0287]

样品名称	PS80浓度
抗RSV抗体药品对照组T0 5 $^{\circ}$ C	0.28
抗RSV抗体药品对照组T0 4W5 $^{\circ}$ C	0.27
抗RSV抗体药品对照组T0 4W25 $^{\circ}$ C	0.21
抗RSV抗体药品对照组T0 4W40 $^{\circ}$ C	0.19
抗RSV抗体药品对照组T0 8W5 $^{\circ}$ C	0.25
抗RSV抗体药品对照组T0 8W25 $^{\circ}$ C	0.18
抗RSV抗体药品对照组T0 8W40 $^{\circ}$ C	0.16
抗RSV抗体药品+DTPA T0 5 $^{\circ}$ C	0.25
抗RSV抗体药品+DTPA 4W5 $^{\circ}$ C	0.23
抗RSV抗体药品+DTPA 4W25 $^{\circ}$ C	0.19
抗RSV抗体药品+DTPA 4W40 $^{\circ}$ C	0.17
抗RSV抗体药品+DTPA 8W5 $^{\circ}$ C	0.23
抗RSV抗体药品+DTPA 8W25 $^{\circ}$ C	0.16
抗RSV抗体药品+DTPA 8W40 $^{\circ}$ C	0.16

[0288] 实施例8

[0289] 增加赋形剂浓度以降低粘度并保持稳定性

[0290] 为了评估赋形剂浓度增加对降低粘度的作用,将抗RSV抗体以两种不同的浓度(约200mg/ml和154mg/mL)配制为四种不同的制剂:第一种制剂10mM组氨酸、7%蔗糖、0.02%PS80、pH6,以及三种配方中添加了额外高浓度的赋形剂:70mM组氨酸(总浓度为80mM组氨酸),70mM赖氨酸或70mM精氨酸。

[0291] 为了测量四种制剂的粘度,将样品装入500 $\mu$ l注射器中,并在室温下使用MVROC粘度计测量粘度(每个样品四次)。当样品从进样口的指定位置流经传感器的流道时,VROC传感器通过测量压降来检测粘度。粘度作为剪切速率的函数进行测量(以倒数秒[S $^{-1}$ ]为单

位)。使用的剪切速率为 $997\text{S}^{-1}$ 。图15的条形图比较了四种不同浓度的抗RSV抗体的各自浓度(约 $200\text{mg/ml}$ 和 $154\text{mg/mL}$ )。

[0292] 与 $10\text{mM}$ 组氨酸、 $7\%$ 蔗糖、 $0.02\%$ PS80、 $\text{pH}6$ 的制剂相比,添加更高浓度的组氨酸,赖氨酸和精氨酸显示出粘度的显著降低。如图15所示,在抗RSV抗体浓度为 $154\text{mg/mL}$ 时,四种制剂的粘度没有显著不同。但是,在约 $200\text{mg/mL}$ 的较高抗RSV抗体浓度下,与第一种制剂相比,使用另外的 $70\text{mM}$ 组氨酸, $70\text{mM}$ 赖氨酸或 $70\text{mM}$ 精氨酸的制剂显示出平均粘度显著降低。在 $10\text{mM}$ 组氨酸、 $7\%$ 蔗糖、 $0.02\%$ PS80、 $\text{pH}6$ 的制剂中, $213\text{mg/mL}$ 的抗RSV抗体的平均粘度为 $64.97$ 厘泊(cP)。使用 $70\text{mM}$ 组氨酸的其他赋形剂(总浓度为 $80\text{mM}$ 组氨酸)可将 $204\text{mg/mL}$ 抗RSV抗体制剂的平均粘度降至 $30.85\text{cP}$ 。使用 $70\text{mM}$ 赖氨酸作为赋形剂可将 $192\text{mg/mL}$ 抗RSV抗体制剂的平均粘度降至 $19.81\text{cP}$ 。使用 $70\text{mM}$ 精氨酸作为赋形剂可将 $217\text{mg/mL}$ 抗RSV抗体制剂的平均粘度降至 $29.27\text{cP}$ 。

[0293] 在 $5^\circ\text{C}$ 、 $25^\circ\text{C}$ 和 $40^\circ\text{C}$ 下跟踪每种制剂的稳定性3个月。通过尺寸排阻色谱法(SEC)评估样品的纯度,确定单体的百分比,然后确定高分子量物质(HMW)和晚期洗脱峰(LMW物质)的百分比。如实施例6中所述的离子交换色谱法,以评估化学稳定性并监测电荷变体随时间的变化曲线。值在下表10中列出。

[0294] 表10

	10mM 组氨酸 (213mg/mL)	80mM 组氨酸 (204mg/mL)	10mM 组氨酸, 70mM 赖氨酸 (192mg/mL)	10mM 组氨酸, 70mM 精氨酸 (217mg/mL)
[0295] 0月, 单体 % ( $5^\circ\text{C}$ / $25^\circ\text{C}$ / $40^\circ\text{C}$ )	97.2 / 97.2 / 97.2	98.0 / 98.0 / 98.0	97.7 / 97.7 / 97.7	97.6 / 97.6 / 97.6
高分子量物质 Wt. % ( $5^\circ\text{C}$ / $25^\circ\text{C}$ / $40^\circ\text{C}$ )	2.4 / 2.4 / 2.4	1.6 / 1.6 / 1.6	1.8 / 1.8 / 1.8	1.9 / 1.9 / 1.9
0月, 低分子量物质 Wt. % ( $5^\circ\text{C}$ / $25^\circ\text{C}$ / $40^\circ\text{C}$ )	0.4 / 0.4 / 0.4	0.4 / 0.4 / 0.4	0.5 / 0.5 / 0.5	0.5 / 0.5 / 0.5
3个月, 单体 % ( $5^\circ\text{C}$ / $25^\circ\text{C}$ / $40^\circ\text{C}$ )	96.9 / 93.4 / 26.5	97.7 / 96.3 / 36.8	97.3 / 62.4 / 52.2	97.3 / 94.4 / 3.8
[0296] 3个月, 高分子量物质 Wt. % ( $5^\circ\text{C}$ / $25^\circ\text{C}$ / $40^\circ\text{C}$ )	2.4 / 4.0 / 44.2	1.6 / 2.4 / 40.3	1.9 / 34.6 / 37.2	1.9 / 2.5 / 65.4
3个月, 低分子量物质 Wt. % ( $5^\circ\text{C}$ / $25^\circ\text{C}$ / $40^\circ\text{C}$ )	0.7 / 2.6 / 29.3	0.7 / 1.3 / 22.9	0.8 / 3.1 / 10.6	0.8 / 3.1 / 30.9

[0297] 与10mM组氨酸、7%蔗糖、0.02%PS80、pH6的制剂相比,添加更高浓度的组氨酸,赖氨酸和精氨酸不会导致高分子量种类或低分子量种类的显著增加,并且不会导致单体百分比显著降低。

## 序列表

<110> Merck Sharp & Dohme Corp.  
 Hashemi, Venus  
 De, Arnab  
 Narasimhan, Chakravarthy Nachu

<120> 抗 RSV 抗体的制剂及其使用方法

<130> 24641-W0-PCT

<150> US 62/747,418  
 <151> 2018-10-18

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1  
 <211> 5  
 [0001] <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 1

Asp Ser Ala Met Ser  
 1                    5

<210> 2  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 2

Phe Ile Lys Ser Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Lys Glu Tyr Ala Ala Ser  
 1                    5                    10                    15

Val Lys Gly

<210> 3  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 3

Gly Ala Pro Tyr Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val  
 1                    5                    10                    15

<210> 4  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 4

Arg Thr Ser Gln Asp Val Arg Gly Ala Leu Ala  
 1                    5                    10

[0002]

<210> 5  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 5

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Thr  
 1                    5

<210> 6  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 6

Gln Gln Phe Leu Asp Phe Pro Phe Thr  
 1                    5

<210> 7  
 <211> 124  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 具有氨基酸取代的 RB1 重链

<400> 7

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Arg Pro Gly Arg  
 1                    5                    10                    15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Phe Asp Asp Ser  
                   20                    25                    30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45

[0003]

Ser Phe Ile Lys Ser Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Lys Glu Tyr Ala Ala  
                   50                    55                    60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile  
 65                    70                    75                    80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
                   85                    90                    95

Tyr Cys Thr Arg Gly Ala Pro Tyr Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr  
                   100                    105                    110

Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr  
                   115                    120

<210> 8  
 <211> 106

<212> PRT

<213> 智人

<400> 8

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val  
1                   5                   10                   15

Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Asp Val Arg Gly Ala Leu Ala Trp  
                  20                   25                   30

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Phe Asp Ala  
                  35                   40                   45

Ser Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser  
                  50                   55                   60

[0004]

Gly Thr Val Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe  
65                   70                   75                   80

Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Leu Asp Phe Pro Phe Thr Phe Gly  
                  85                   90                   95

Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr  
                  100                   105

<210> 9

<211> 457

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> RB1+YTE 重链

<400> 9

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Arg Pro Gly Arg

1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Phe Asp Asp Ser	20	25	30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile	35	40	45
Ser Phe Ile Lys Ser Lys Thr Tyr Gly Gly Thr Lys Glu Tyr Ala Ala	50	55	60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ile	65	70	75
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr	85	90	95
[0005]			
Tyr Cys Thr Arg Gly Ala Pro Tyr Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr	100	105	110
Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala	115	120	125
Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser	130	135	140
Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe	145	150	155
Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly	165	170	175
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu			



355

360

365

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 370 375 380

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 385 390 395 400

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 405 410 415

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 420 425 430

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 435 440 445

[0007]

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455

&lt;210&gt; 10

&lt;211&gt; 214

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; RB1+YTE 轻链

&lt;400&gt; 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Asp Val Arg Gly Ala  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Phe Asp Ala Ser Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Val Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ala Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Leu Asp Phe Pro Phe  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

[0008] Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
 195 200 205

[0009] Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210

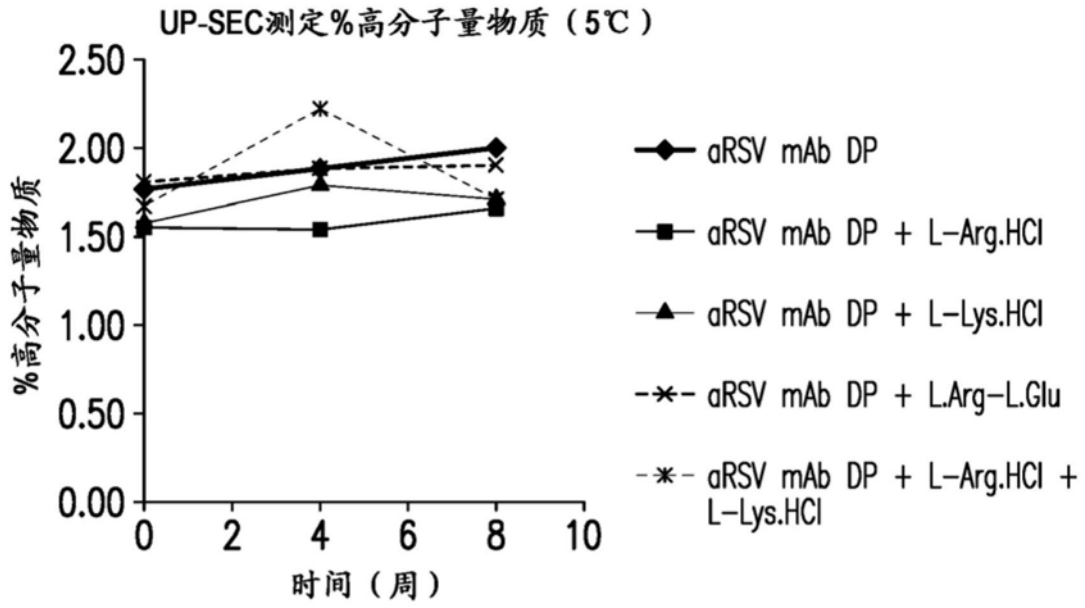


图1A

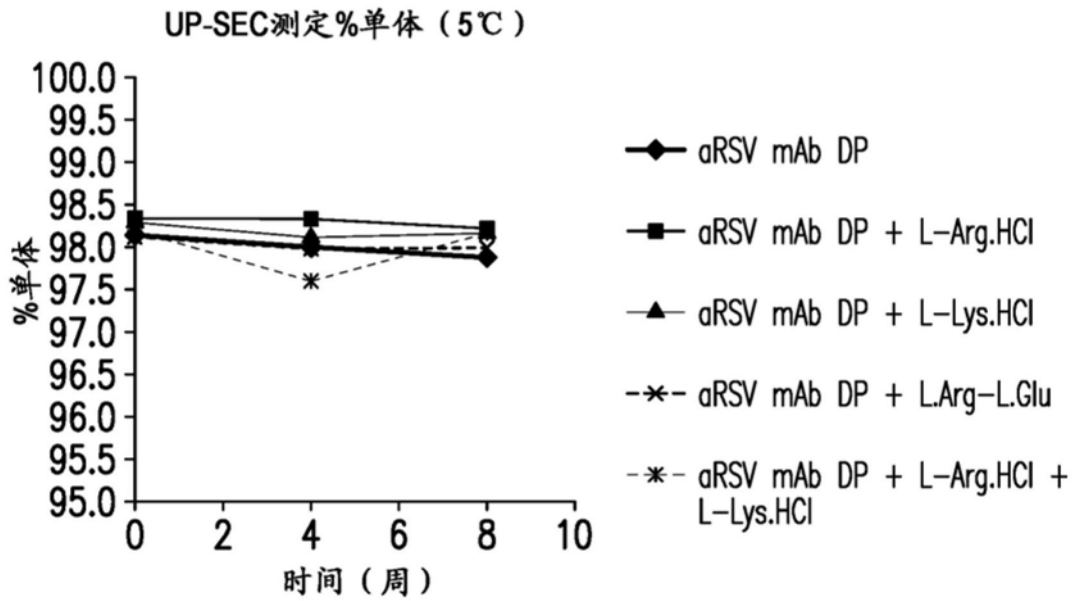


图1B

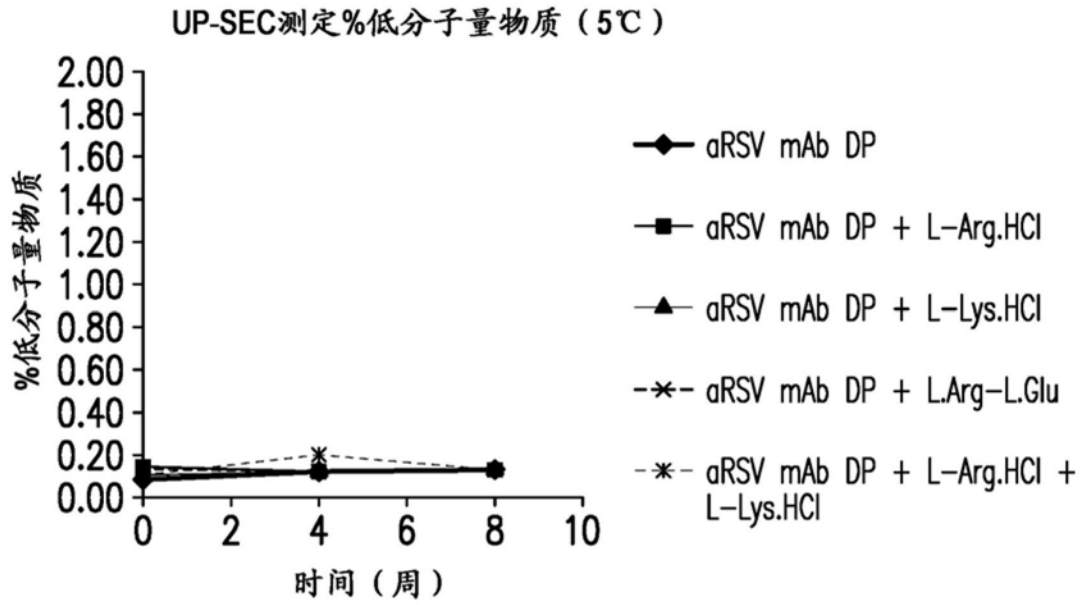


图1C

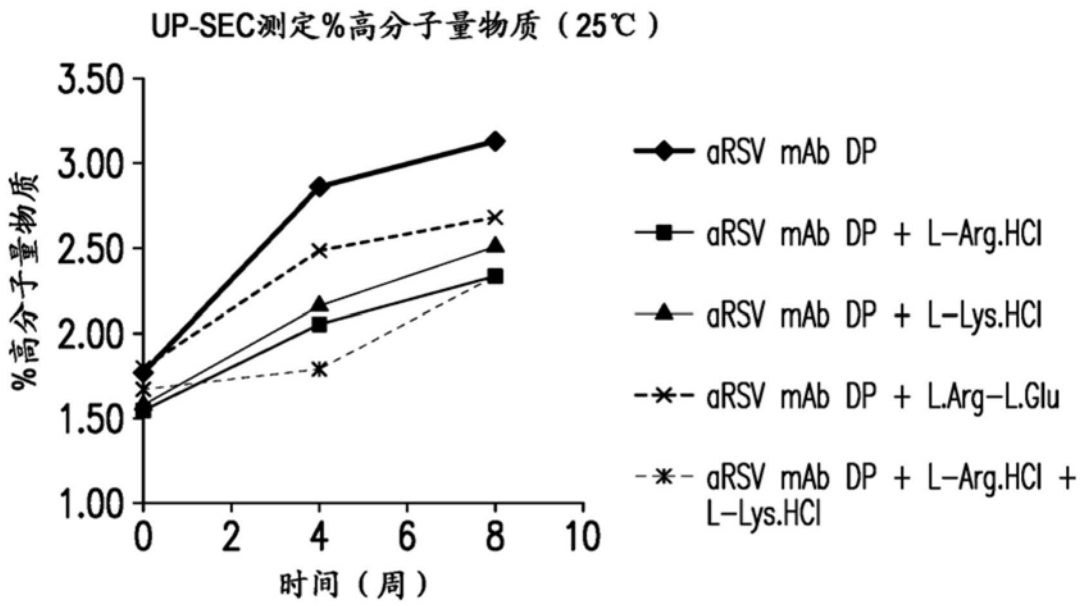


图2A

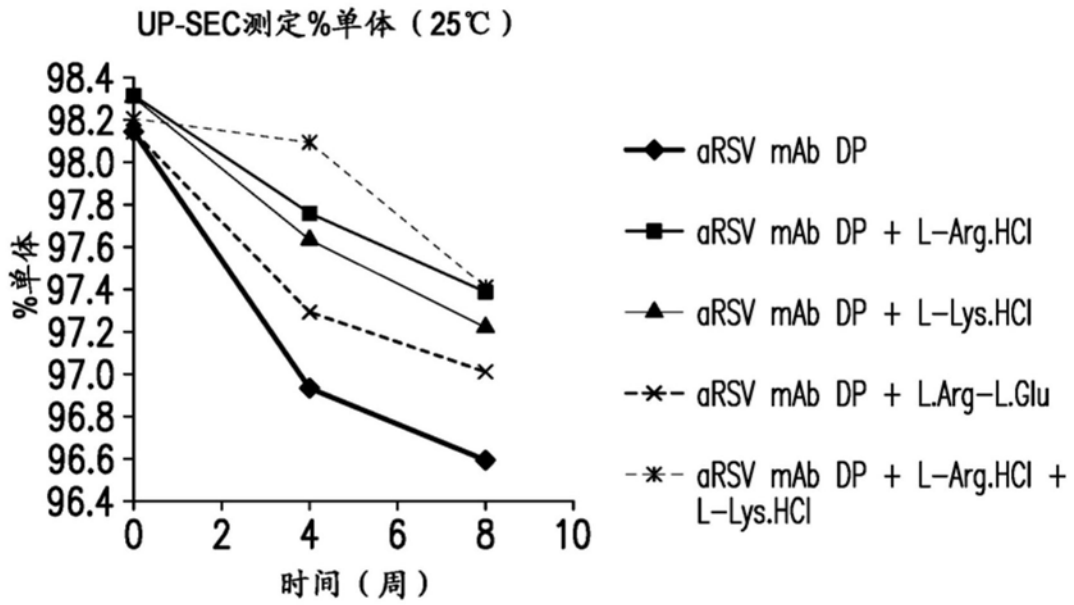


图2B

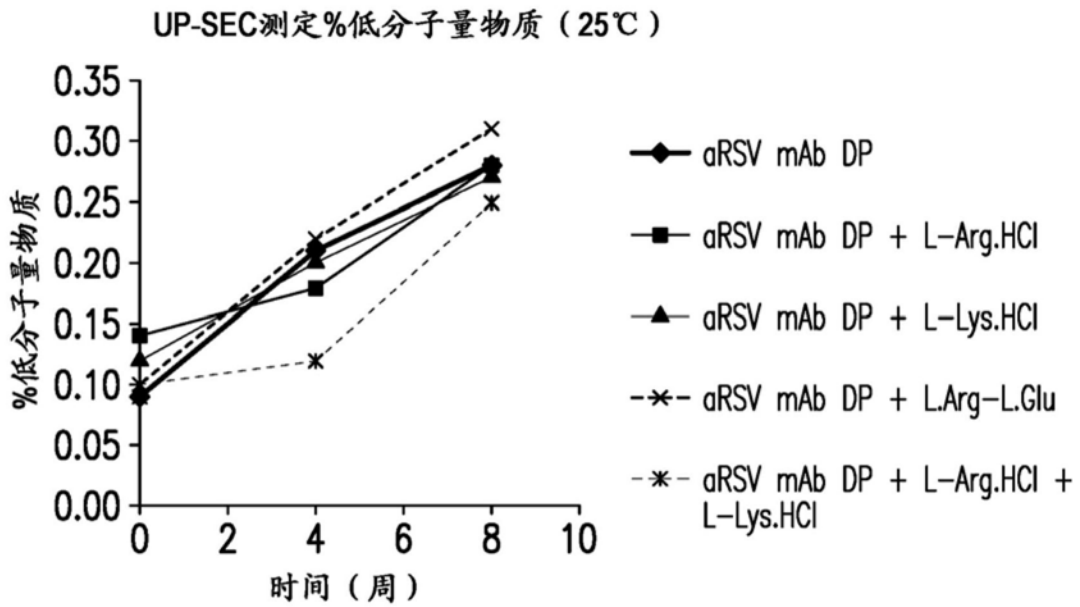


图2C

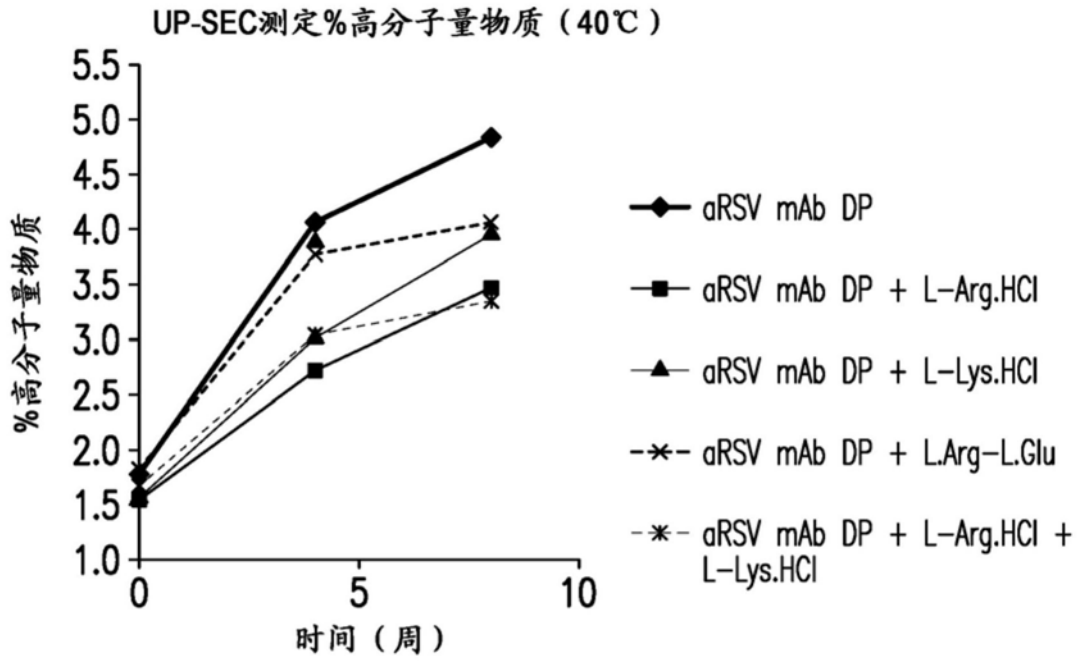


图3A

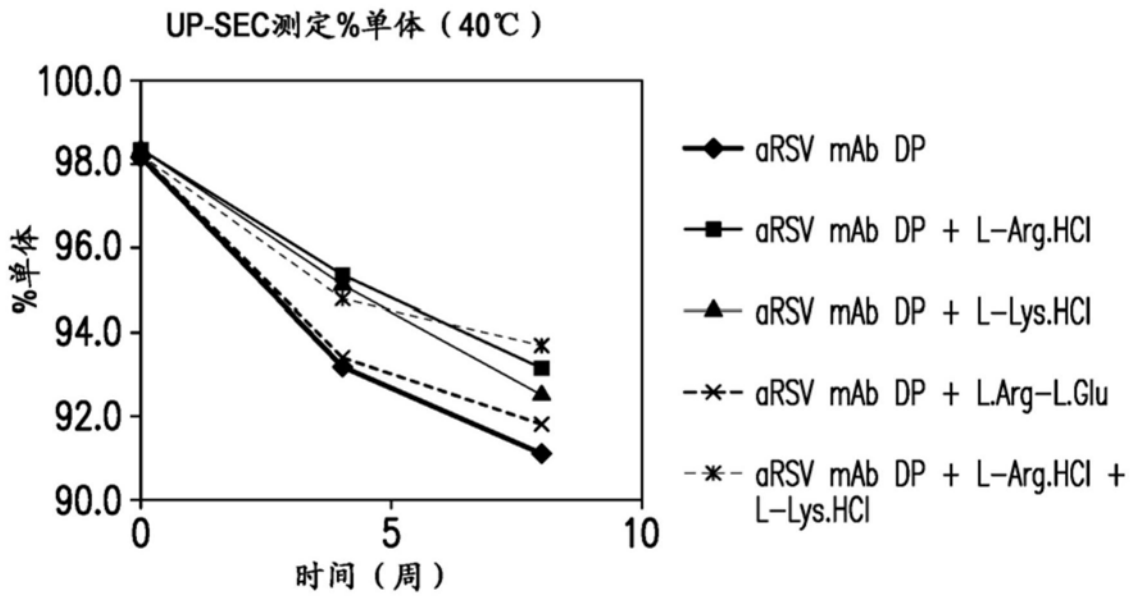


图3B

UP-SEC测定%低分子量物质 (40℃)

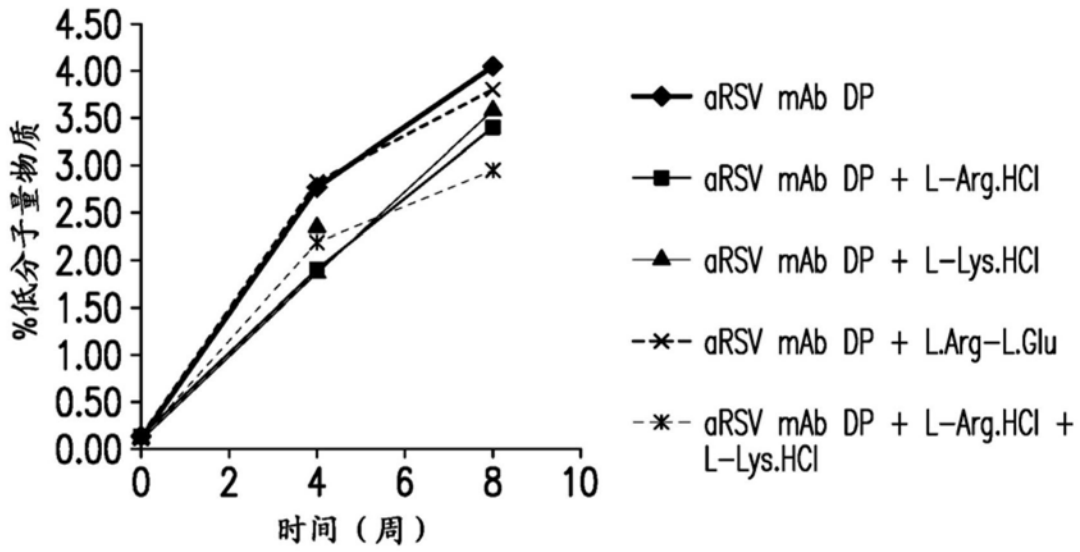


图3C

HP-IEX测定%酸性峰 (5℃)

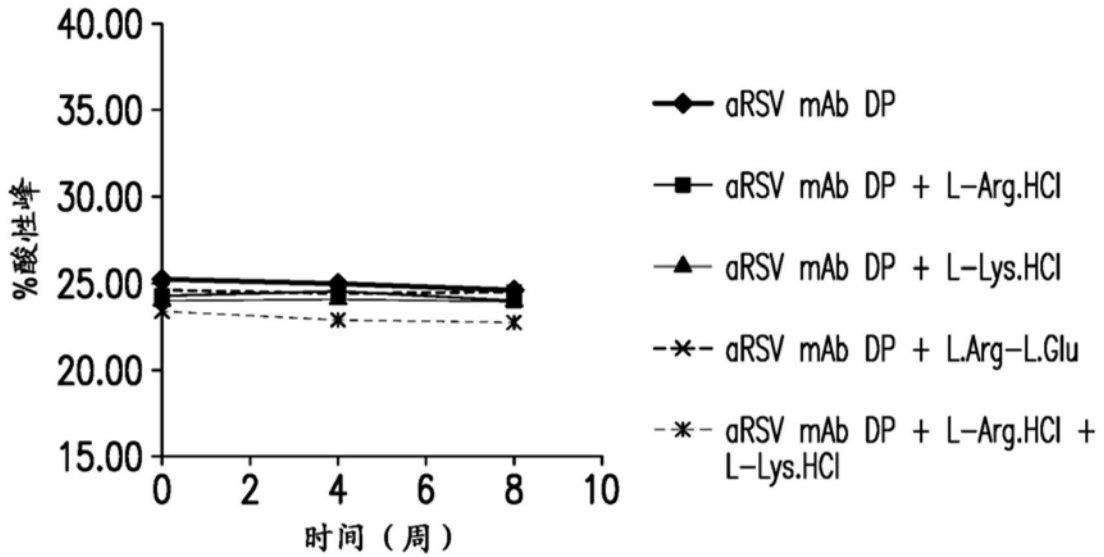


图4A

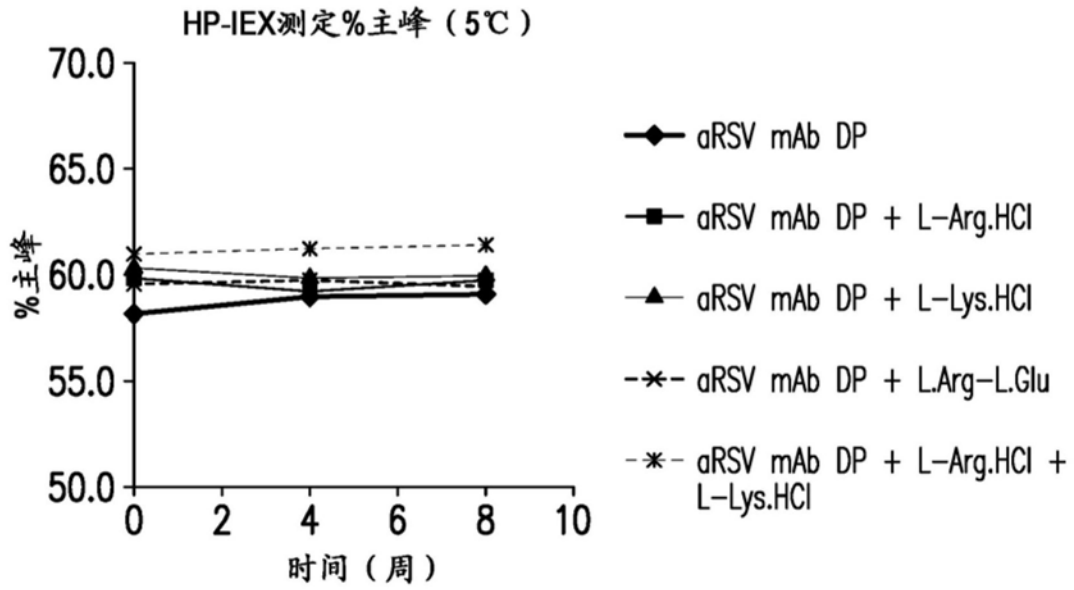


图4B

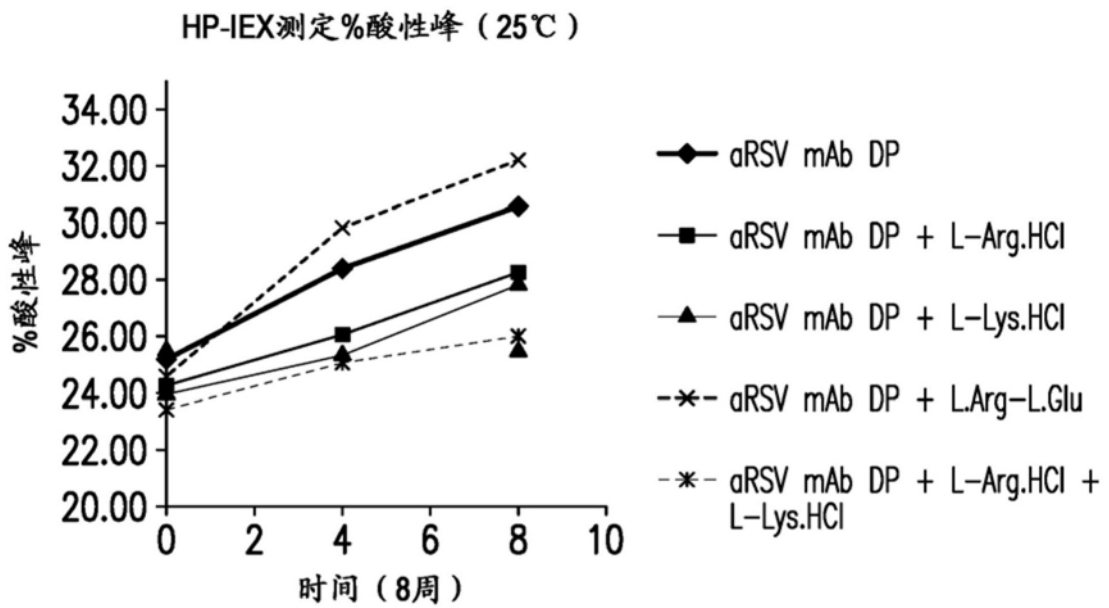


图5A

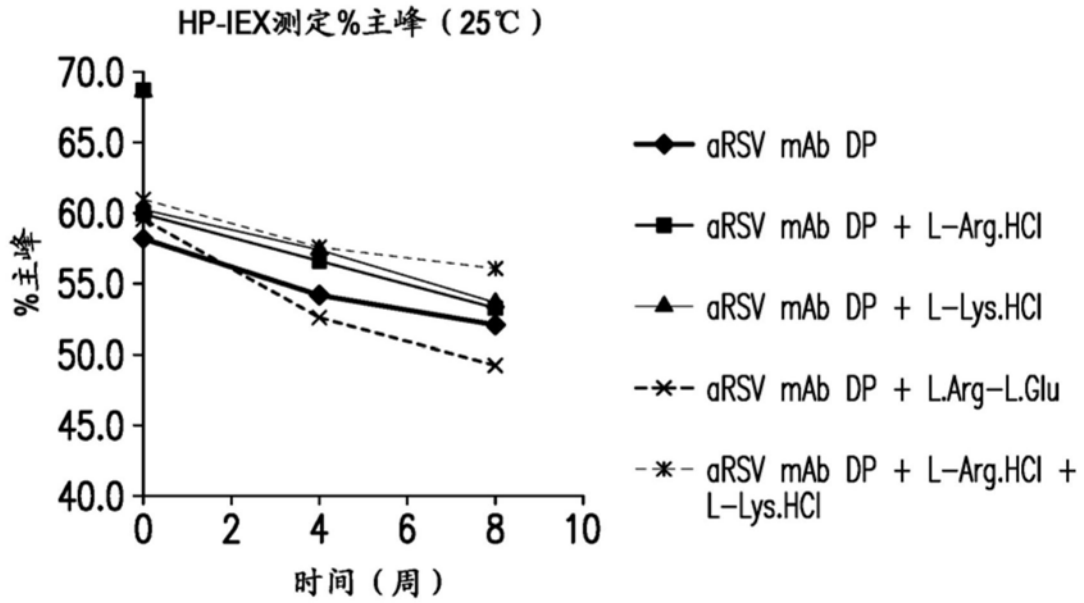


图5B

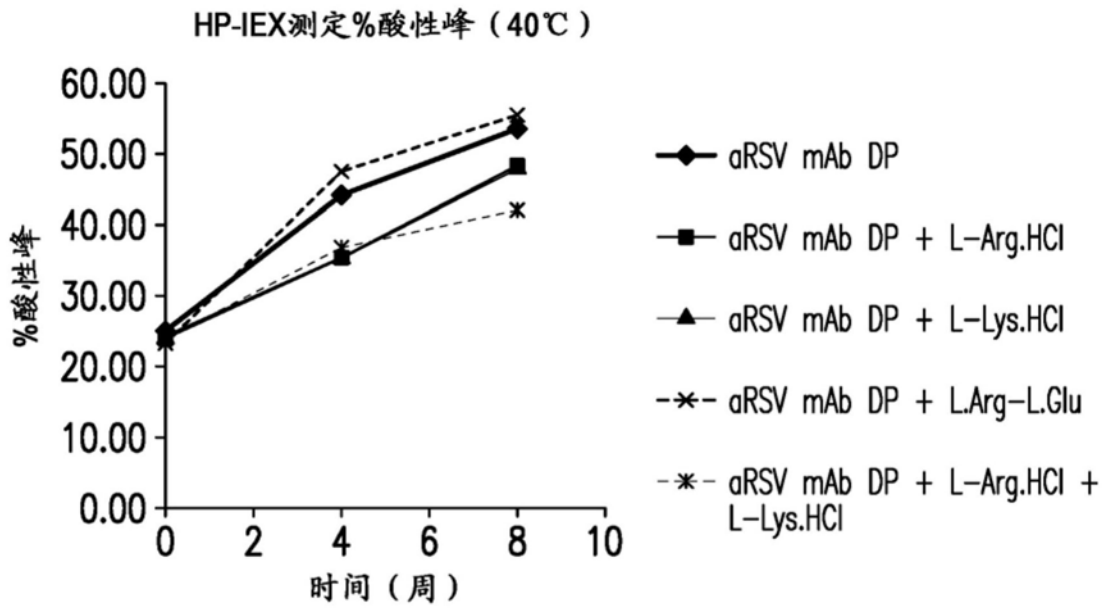


图6A

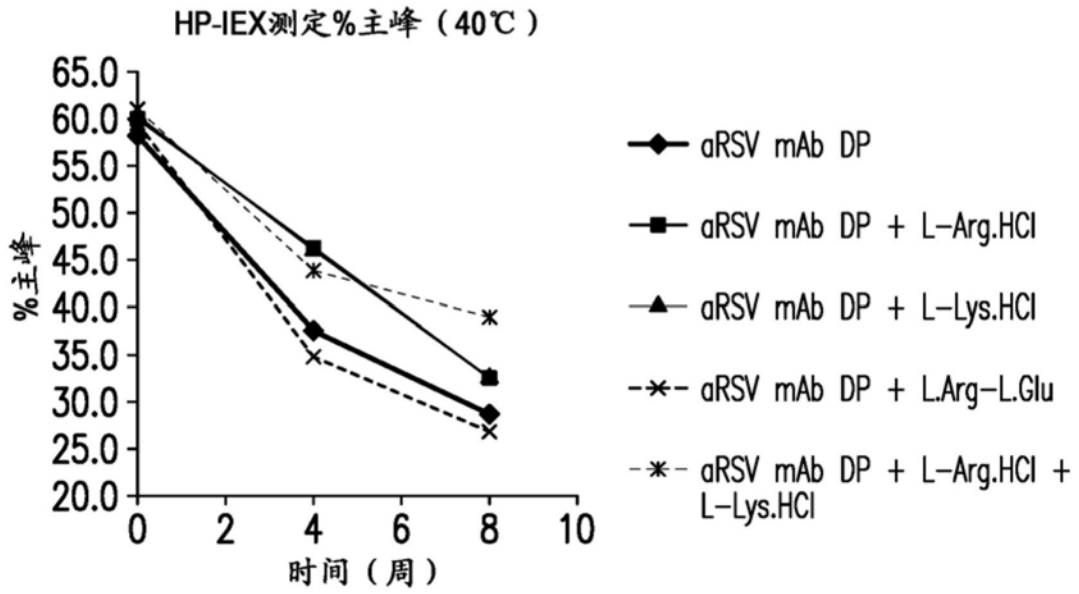


图6B

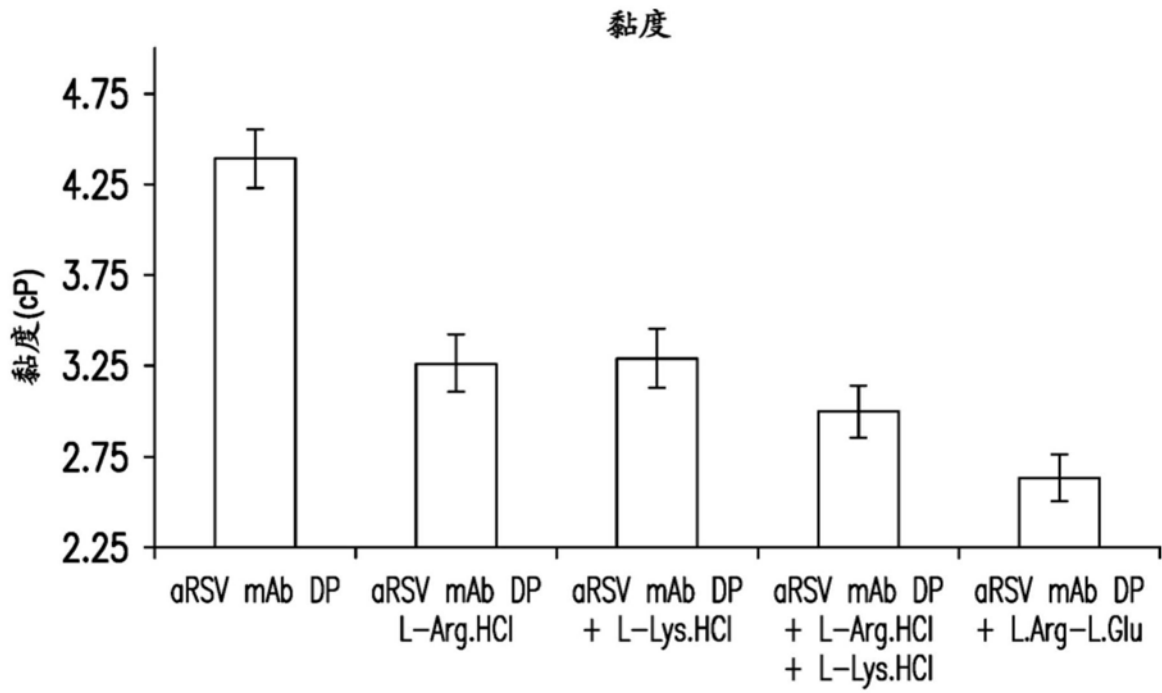


图7

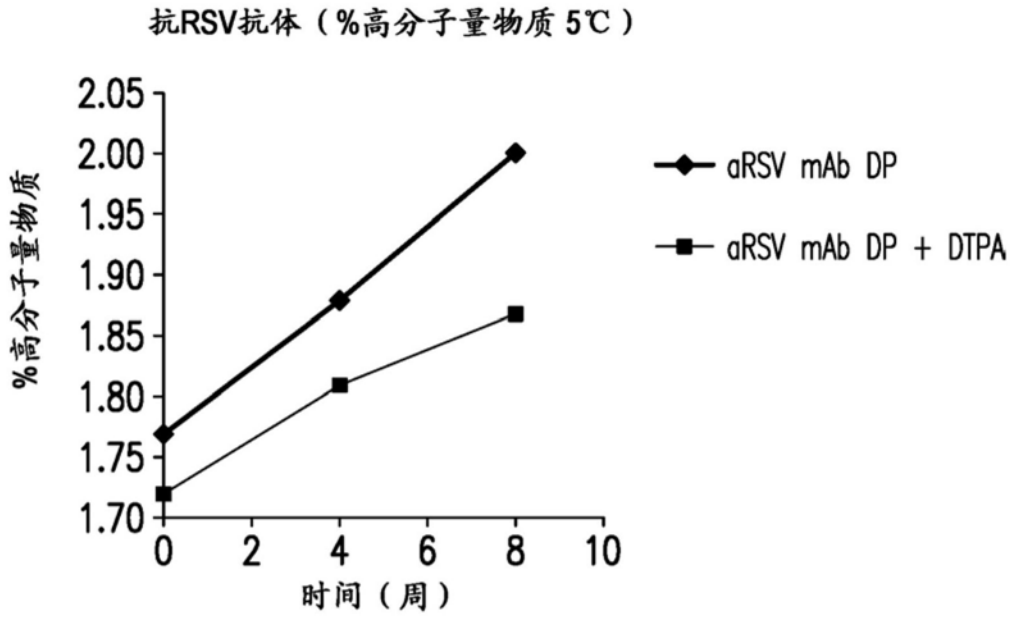


图8A

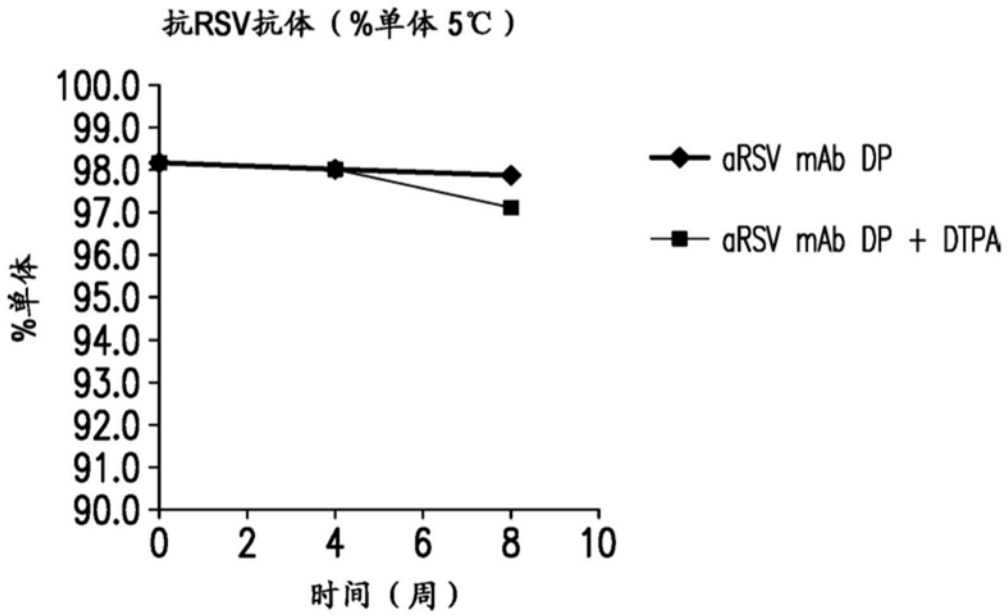


图8B

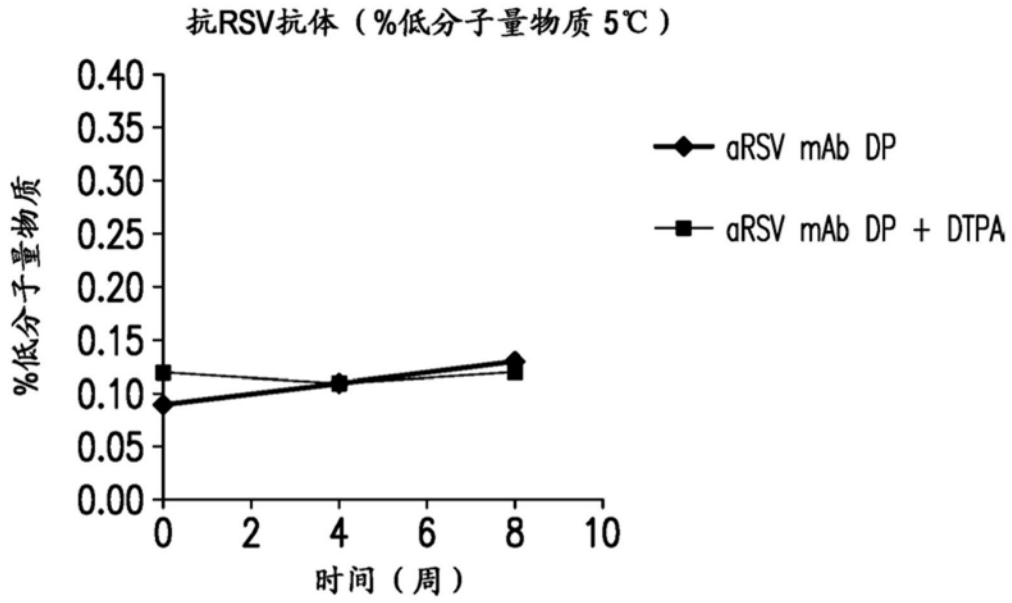


图8C

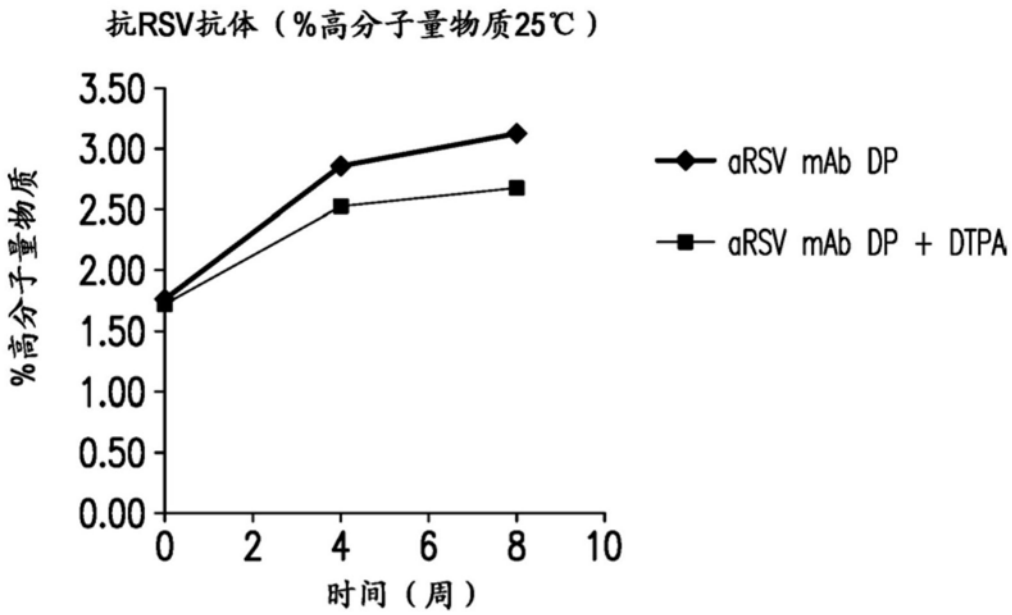


图9A

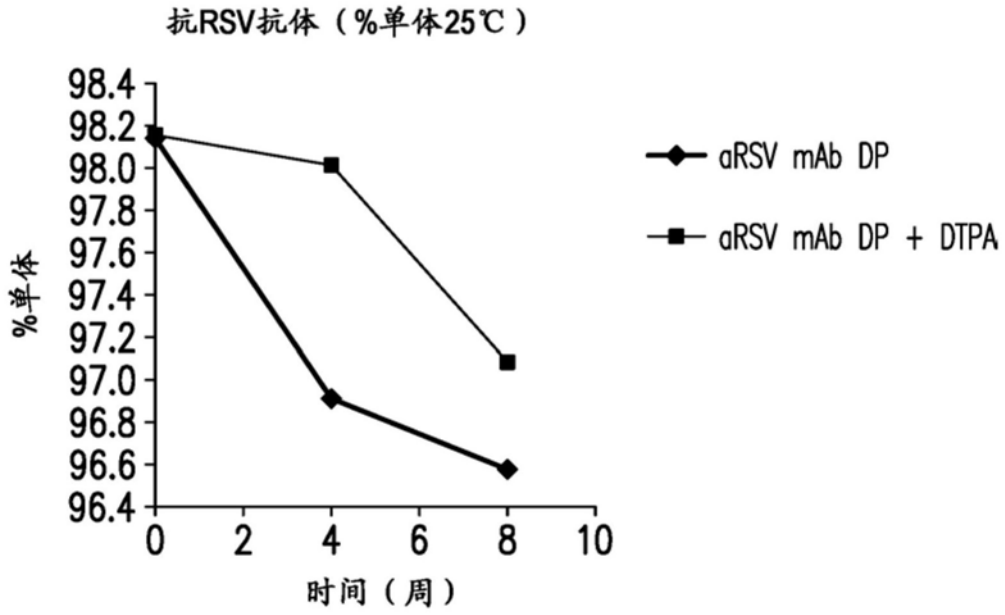


图9B

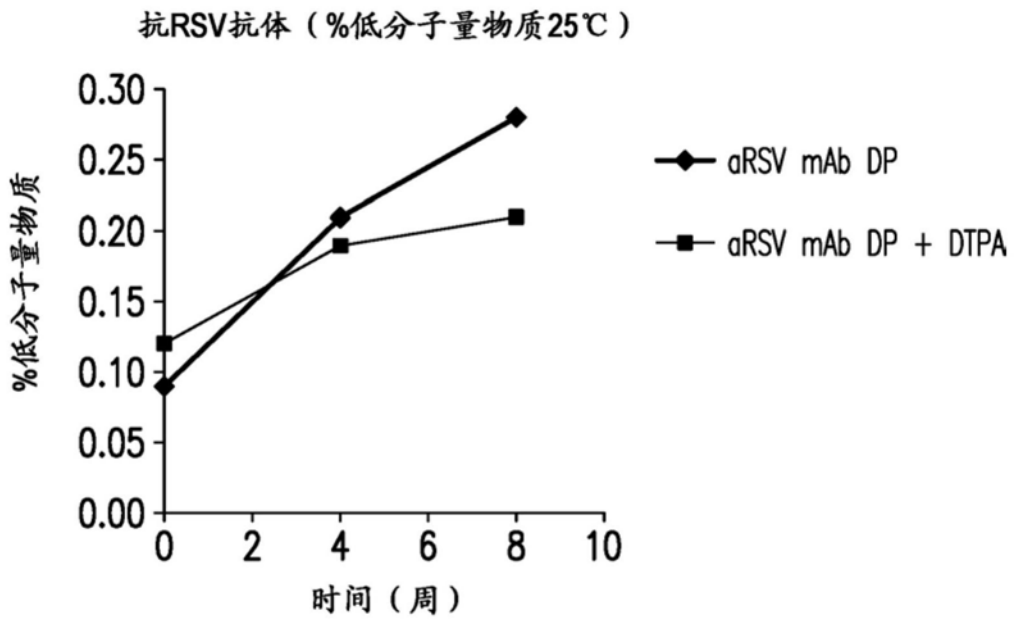


图9C

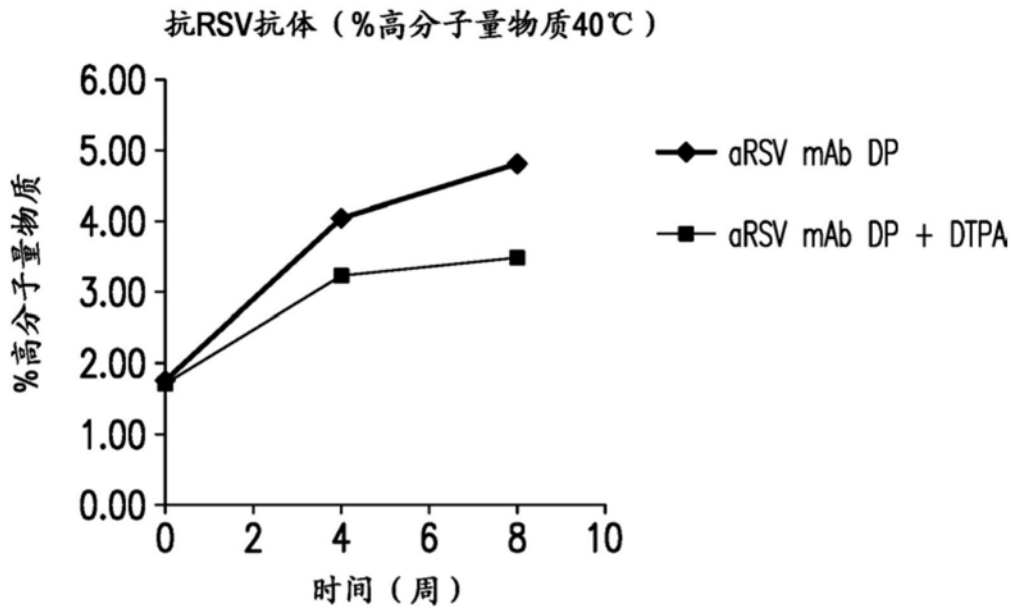


图10A

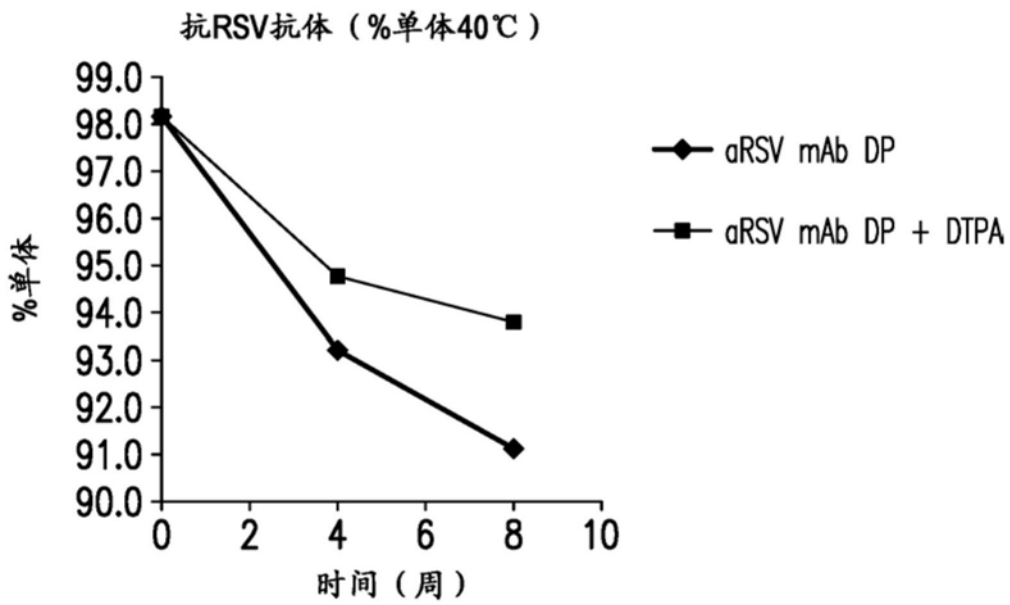


图10B

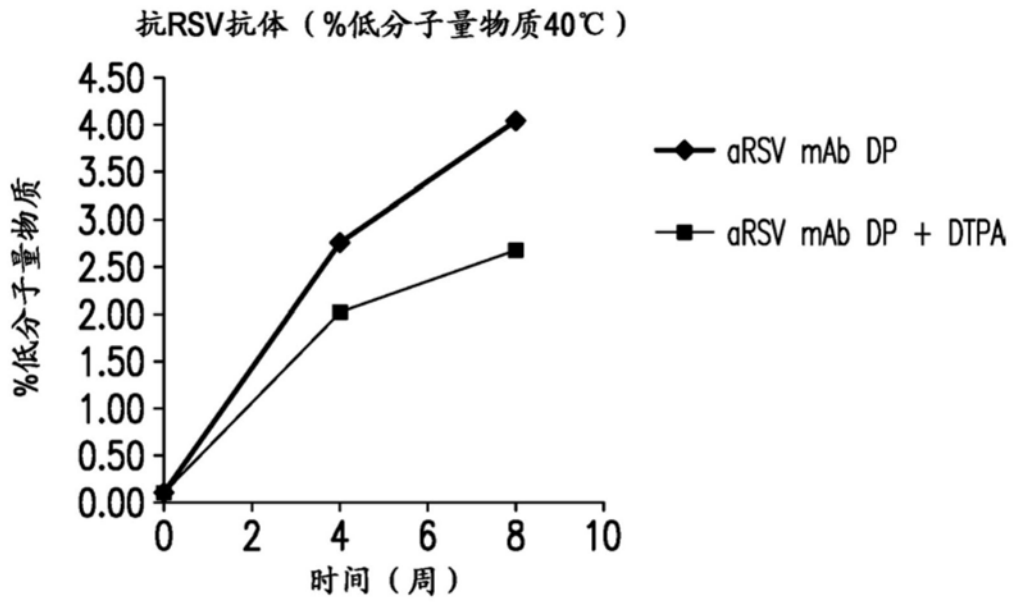


图10C

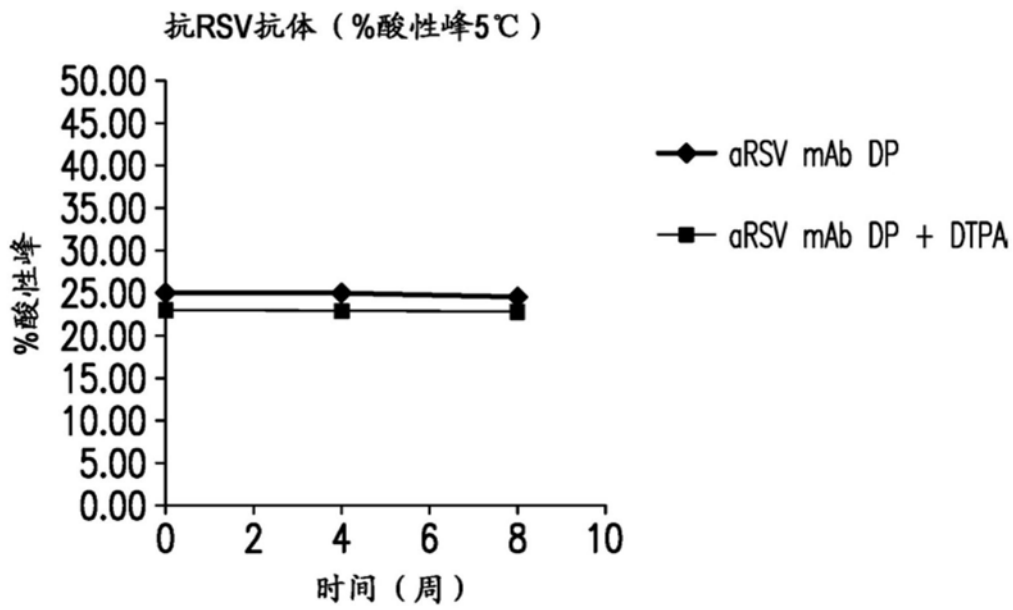


图11A

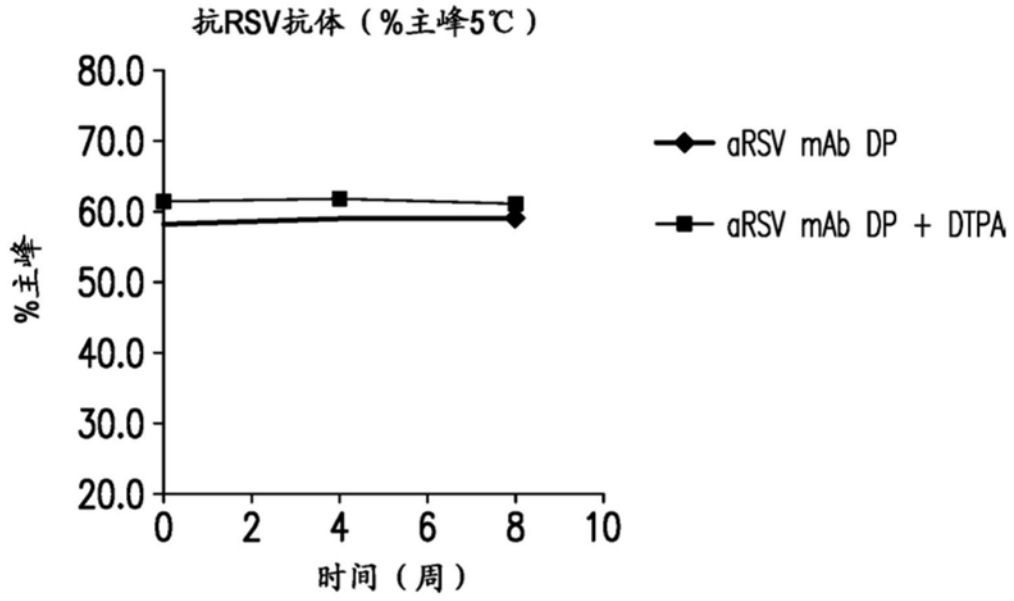


图11B

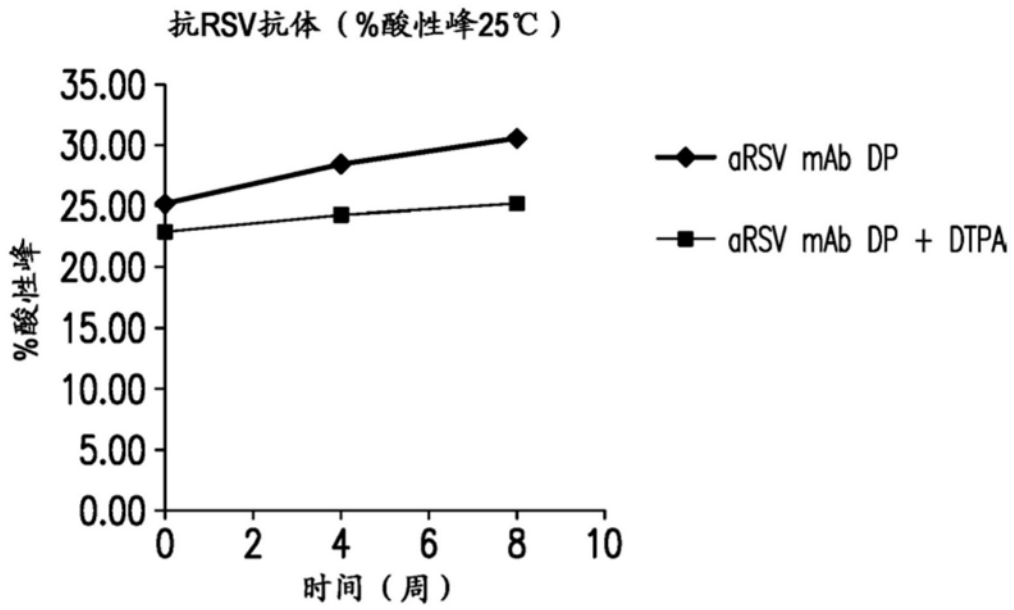


图12A

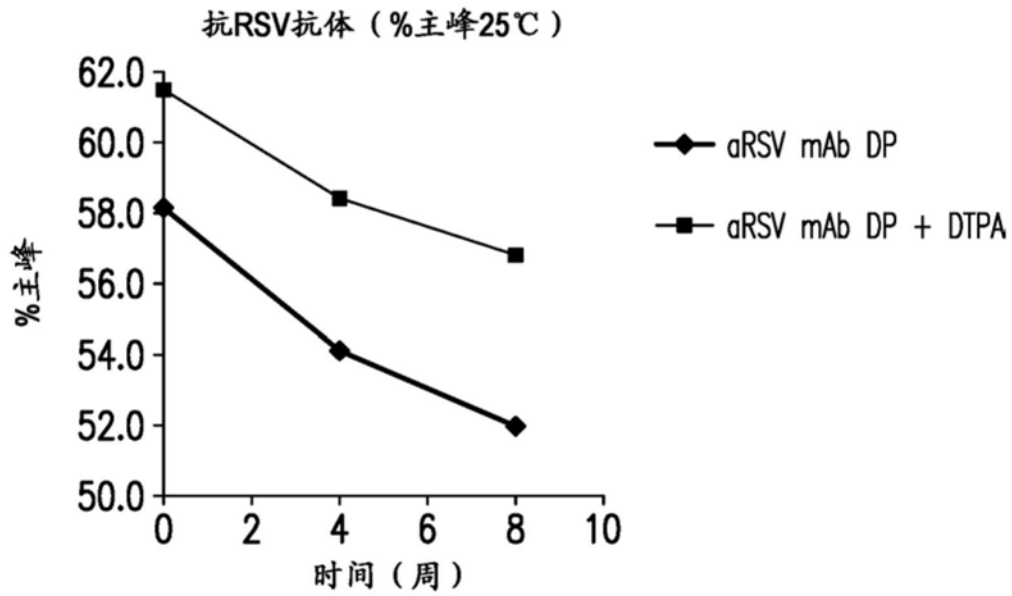


图12B

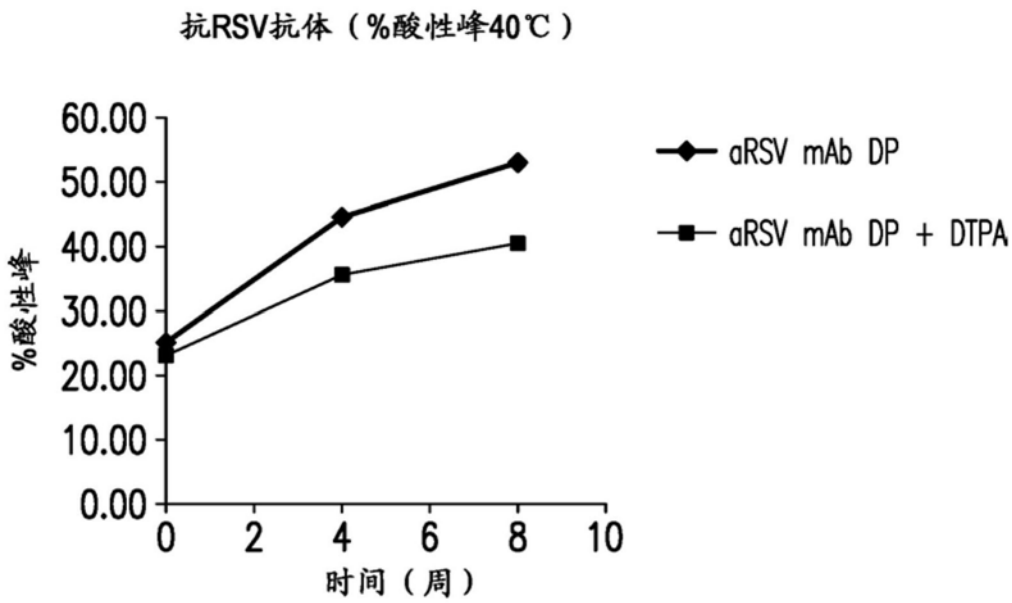


图13A

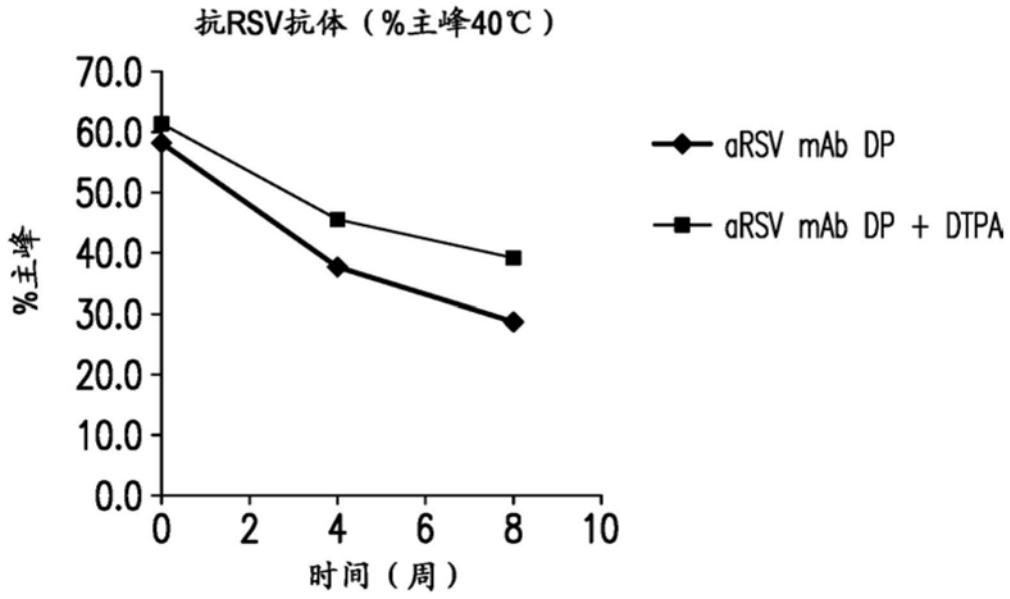


图13B

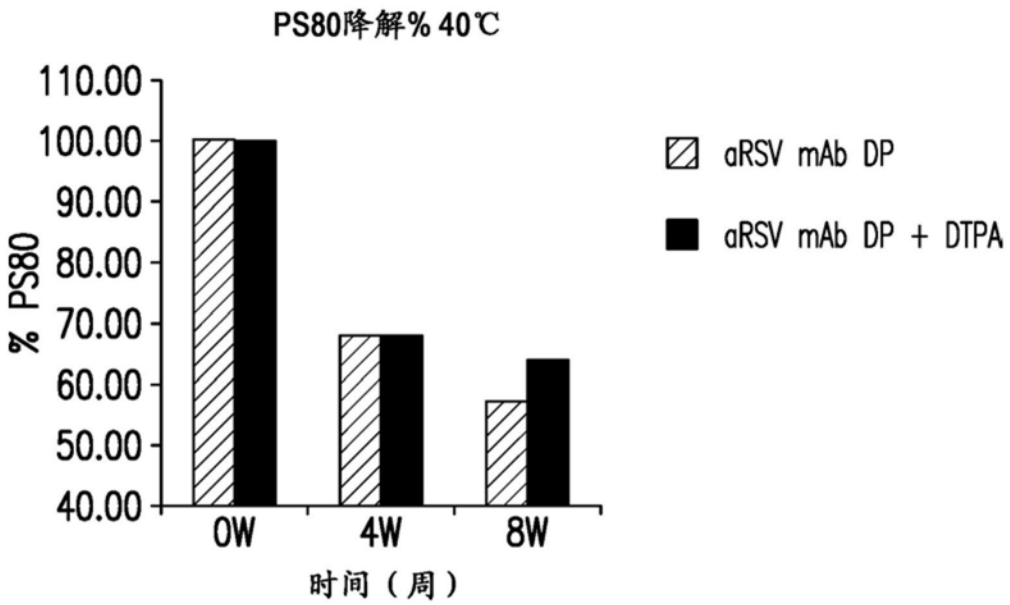


图14

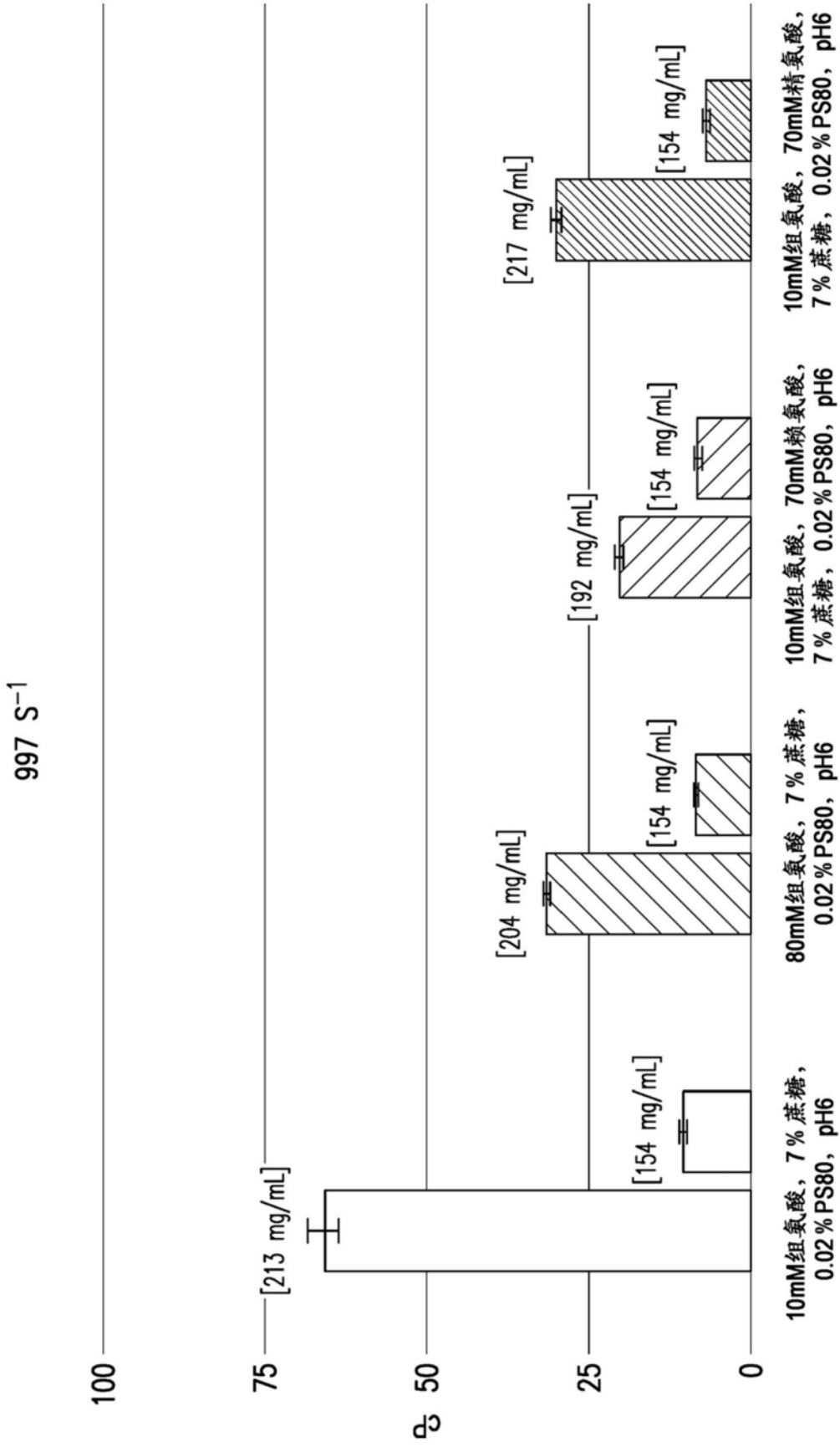


图15