



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108785670 A

(43)申请公布日 2018.11.13

| | | |
|----------------|----------------------|---------------------|
| (21)申请号 | 201810768437.8 | A61K 9/08(2006.01) |
| (22)申请日 | 2015.05.15 | A61K 47/26(2006.01) |
| (30)优先权数据 | | A61K 47/18(2006.01) |
| 14169754.0 | 2014.05.23 EP | C07K 16/24(2006.01) |
| (62)分案原申请数据 | | A61P 19/02(2006.01) |
| 201580039868.5 | 2015.05.15 | A61P 29/00(2006.01) |
| (71)申请人 | 费森尤斯卡比德国有限公司 | A61P 17/06(2006.01) |
| 地址 | 德国巴特洪堡 | A61P 19/08(2006.01) |
| (72)发明人 | G·里纳尔迪 S·弗拉塔坎杰里 | A61P 1/00(2006.01) |
| | A·德尔里奥 | |
| (74)专利代理机构 | 上海专利商标事务所有限公 | |
| | 司 31100 | |
| 代理人 | 江磊 | |
| (51)Int.Cl. | | |
| | A61K 39/395(2006.01) | |

权利要求书3页 说明书51页 附图11页

(54)发明名称

液体药物组合物

(57)摘要

本发明涉及阿达木单抗的新型液体药物组合物,其包括阿达木单抗或其生物仿制药、组氨酸缓冲剂例如组氨酸(或组氨酸缓冲系统,例如组氨酸/咪唑组氨酸)和糖稳定剂例如海藻糖。该组分组合产生(例如储存时和接触应变时)具有稳定性的制剂,其与本领域已知的那些改良相当并且具有更少的成分。这种优点会以最低的成本帮助阿达木单抗治疗的可用性变得更加广泛,并且延长预加载的递送装置(例如预填充注射器)的活力以减少不必要的药物浪费。

1. 一种水性药物组合物,所述组合物包含:
 - (a) 阿达木单抗;
 - (b) 组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);和
 - (c) 糖稳定剂,所述糖稳定剂选自下组:海藻糖、蔗糖、山梨醇、麦芽糖、乳糖、木糖醇、阿拉伯糖醇、赤藓糖醇、乳糖醇、麦芽糖醇和肌醇;
 - (d) 0.05mg/mL至2mg/mL的表面活性剂,其选自聚山梨酯20和聚山梨酯80;其中所述组合物:

pH为5.0至6.7;

不含除了组氨酸以外的氨基酸,或者含有(总体)浓度至多0.1mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸;

不含磷酸盐缓冲剂或含有浓度至多0.1mM的磷酸盐缓冲系统。
2. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述组合物包含浓度为25-75mg/mL的阿达木单抗。
3. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述组合物包含浓度为2-50mM的组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统)。
4. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述组合物包含浓度为50-400mM的糖稳定剂。
5. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述组合物包含浓度为0.9-1.5mg/mL的表面活性剂。
6. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述糖稳定剂是选自下组的糖醇:山梨醇、木糖醇、阿拉伯糖醇、赤藓糖醇、乳糖醇、麦芽糖醇和肌醇。
7. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述糖稳定剂是山梨醇。
8. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述表面活性剂是聚山梨酯20。
9. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述组合物还包含柠檬酸盐缓冲剂。
10. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,如果所述组合物包含氯化钠作为任选的等张剂,氯化钠的浓度为25-100mM。
11. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述组合物包含:
 - (a) 45-55mg/mL的阿达木单抗;
 - (b) 2-50mM的组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);和
 - (c) 50-300mM的山梨醇;以及
 - (d) 0.05mg/mL至2mg/mL的聚山梨酯20;其中所述组合物;

不含除了组氨酸以外的氨基酸,或者含有(总体)浓度至多0.1mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸;

不含磷酸盐缓冲剂或含有浓度至多0.1mM的磷酸盐缓冲系统。
12. 如前述权利要求中任一所述的水性药物组合物,其中所述组合物包含:
 - (a) 45-55mg/mL的阿达木单抗;

(b) 2-50mM的组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统)；

(c) 50-300mM的山梨醇；以及

(d) 0.9mg/mL至1.5mg/mL的聚山梨酯20；

其中所述组合物；

pH为5.0至6.7；

不含除了组氨酸以外的氨基酸；

不含磷酸盐缓冲剂。

13. 含前述权利要求中任一所述的水性药物组合物的药物递送装置。

14. 如权利要求1-12中任一所述的水性药物组合物，其用于治疗类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎。

15. 一种液体药物组合物，所述组合物包含：

(a) 阿达木单抗；

(b) 组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统)；和

(c) 糖稳定剂；

其中所述组合物的pH大于或等于pH 6.30。

16. 如权利要求15所述的液体药物组合物，其中所述组合物的pH在6.3和6.5之间。

17. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述糖稳定剂是海藻糖。

18. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述组合物(基本或完全)不含组氨酸以外的氨基酸或含有(总体)浓度至多0.1mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸。

19. 如权利要求4所述的液体药物组合物，其中所述组合物不含组氨酸以外的氨基酸。

20. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述组合物(基本或完全)不含表面活性剂，或含有(总体)浓度至多0.001mM的一种或多种表面活性剂。

21. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述组合物(基本或完全)不含精氨酸(适当地不含L-精氨酸)或含有浓度至多0.1mM的精氨酸。

22. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述组合物(基本或完全)不含磷酸盐缓冲剂或含有浓度至多0.1mM的磷酸盐缓冲系统。

23. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其还包含选自氯化钠、氯化钾、氯化镁或氯化钙的等张剂。

24. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中组合物的渗透压为220-390mOsm/kg。

25. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述液体药物组合物中阿达木单抗的蛋白质解折叠温度大于或等于70℃。

26. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述组合物以25-75:0.31-7.8:15-140的重量比例分别包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)和海藻糖。

27. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述组合物以45-55:0.77-2.2:65-72:2.7-3.1的重量比例分别包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)、海藻糖和氯化钠。

28. 如前述权利要求中任一所述的液体药物组合物，其中所述组合物包含：

- 45至约55mg/ml阿达木单抗;
 - 5至14mM组氨酸(或组氨酸缓冲系统);
 - 190至210mM海藻糖;
 - 40至60mM氯化钠;和
 - 水(用于注射的水);
 - 其中所述组合物:
 - o pH为6.3-6.5;
 - o 不含精氨酸或含有浓度至多0.001mM的精氨酸;
 - o 不含组氨酸以外的氨基酸或含有(总体)浓度至多0.001mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸;
 - o 不含表面活性剂,或含有(总体)浓度至多0.0001mM的一种或多种表面活性剂;和/或
 - o 不含磷酸盐缓冲剂(例如磷酸二氢钠、磷酸氢二钠)或含有浓度至多0.001mM的磷酸盐缓冲系统。
29. 含前述权利要求中任一所述的液体药物组合物的药物递送装置。
30. 如权利要求15-28中任一所述的液体药物组合物,其用于治疗类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎。

液体药物组合物

[0001] 本申请是相同申请人费森尤斯卡比德国有限公司提交的申请日为2015年5月15日、发明名称为“液体药物组合物”的中国发明专利申请201580039868.5的分案,要求欧洲申请14169754.0的优先权,优先权日为2014年5月23日。

[0002] 介绍

[0003] 本发明涉及新型蛋白质制剂。具体地,本发明涉及阿达木单抗的液体药物组合物、制造该组合物的方法、包含该组合物的试剂盒、包含该组合物的包装、制造该包装的方法、和使用该组合物和/或包装的治疗方法。

[0004] 背景

[0005] 肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 相关自身免疫疾病例如类风湿性关节炎、银屑病和其他自身免疫疾病的治疗已通过使用FDA批准的药物例如阿达木单抗 (HUMIRA[®], 雅培公司 (Abbott Corporation)) 来实现。阿达木单抗是人单克隆抗体,其抑制人TNF- α 活性从而阻止其活化TNF受体,继而下调与自身免疫疾病相关的炎症响应。阿达木单抗的批准医学适应症包括类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和幼年特发性关节炎。

[0006] 阿达木单抗通常通过皮下注射递送至患者,并且因此以液体形式提供,通常为包装例如药瓶、预装注射器或预装“笔式装置”。市售可得的笔式装置 (HUMIRA[®] Pen) 通常包含1mL预填充的玻璃注射器,其预装有0.8mL 40mg阿达木单抗的无菌制剂(见下),具有固定针头(灰色天然橡胶或无胶乳形式)和针套。阿达木单抗的市售制剂(HUMIRA[®])含有下述成分:

[0007]

| 成分 | 每容器含量(mg) (填充体积= 0.8 mL) | 含量(mg/mL) |
|--------|--------------------------|-----------|
| 阿达木单抗 | 40 | 50 |
| 一水合柠檬酸 | 1.04 | 1.3 |

[0008]

| | | |
|-----------|-------------------|-------------------|
| 二水合磷酸氢二钠 | 1.22 | 1.53 |
| 甘露醇 | 9.6 | 12 |
| 二水合磷酸二氢钠 | 0.69 | 0.86 |
| 聚山梨酯 80 | 0.8 | 1 |
| 氯化钠 | 4.93 | 6.16 |
| 柠檬酸钠 | 0.24 | 0.3 |
| WFI 和氢氧化钠 | q.b. 以调节 pH 至 5.2 | q.b. 以调节 pH 至 5.2 |

[0009] 阿达木单抗及其制备方法参见W097/29131 (BASF) 的D2E7以及本领域他处。

[0010] 虽然前述阿达木单抗市售制剂是稳定的(至少在某种程度上),但相关抗体可能并非长期或在应力条件下稳定,因此妨碍了该制剂的长期储存。制剂的此类降解可由于各种原因,包括:

[0011] ●物理效应,例如:

[0012] ○对相关蛋白分子的聚集的抑制不足(本应由吐温80行使的功能);

[0013] ○对沉淀的抑制不足;

[0014] ○对相关蛋白分子在水气界面或任何包装材料的接触表面的吸收的抑制不足(本应由吐温80行使的功能);

[0015] ○渗透压调节不足(本应由甘露醇行使的功能);

[0016] ●化学效应,例如:

[0017] ○氧化调节不足(本应由甘露醇行使的功能,可能受到吐温80的损害,其可促进双键氧化);

[0018] ○对光氧化的抑制不足;

[0019] ○对酯键水解的抑制不足,该水解会产生酸、醛和过氧化产物,从而影响抗体稳定性;

[0020] ○稳定和维持pH不足;

[0021] ○对蛋白质片段化的抑制不足;

[0022] ○对蛋白质解折叠的抑制不足;

[0023] 任何、一些或所有上述因素均可导致无活性的药物产品(这对医学治疗来说可能不安全)或活性可变并且无法预测的药物产品,尤其是考虑到不同批次的药物产品在制造、运输和储存中可能接触到的多变的应力(搅动、热、光)。

[0024] 在阿达木单抗的物理和化学稳定性方面,前述市售制剂的组分的复合物阵列似乎表现低于预期,尤其是考虑到大量组分。虽然赋形剂的这种具体组合毫无疑问代表了“良好平衡”(考虑各种技术因素之间的相互作用)并且是广泛研究和开发的结果,考虑到表现不佳的明显风险,使用如此大量的不同赋形剂是否合理是值得商榷的,特别是考虑到这必然增加了加工和成本负担、毒性风险和组分之间可能影响制剂的有害相互作用的风险。即使市售制剂的总体表现不能被超过,但至少基于前述原因,具有相当表现但含有的组分更少

的替代制剂是市售制剂的非常理想的替代。

[0025] 为了确保基于蛋白质的药物产品的可重复临床表现,此类产品必须为长期稳定且一致的形式。已知在制造过程中的每个阶段均可发生分子变化,包括最终制剂的生产期间和储存期间。分子变化会改变生物药物产品的质量属性,导致产品的特征、强度或纯度发生不想要的变化。一些此类问题如上所述。

[0026] 制剂开发的首要目的是提供能在生产、储存、运输和使用的所有阶段支持生物药物蛋白质稳定性的药物组合物。创新的生物药物蛋白质或生物上相似的单克隆抗体(mAb)的制剂开发对其安全性、临床功效和市场成功来说非常关键。

[0027] 因此需要提供替代或改良的阿达木单抗液体制剂。理想地,任何新型制剂可解决至少一个前述问题和/或至少一个本领域固有的问题,并且可合适地解决一个或多个所述问题。理想地,可解决本领域的问题同时降低制剂复杂性。

发明内容

[0028] 本发明第一方面提供一种液体药物组合物,其包含阿达木单抗(适当地包括其任意生物仿制药);组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);和糖稳定剂;其中所述组合物任选包含(或不包含)本文所述与液体药物组合物有关的任意一种或多种其他组分(例如,包含等张剂,不包含精氨酸,等等),任选以本文规定的任意含量、浓度或形式;并且其中所述组合物任选表现本文所述与液体药物组合物有关的任何一种或多种参数或特性(例如pH、渗透压、聚集性、片段化、蛋白质解折叠、浊度等)。

[0029] 本发明第二方面提供一种液体药物组合物,其包含阿达木单抗;组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);和糖稳定剂;其中所述组合物的pH大于或等于pH 6.30。

[0030] 本发明第二方面提供一种液体药物组合物,其包含阿达木单抗;组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);和糖稳定剂;其中所述组合物(基本或完全)不含精氨酸(适当的不含L-精氨酸)或含有浓度至多0.1mM的精氨酸。

[0031] 本发明第四方面提供一种液体药物组合物,其包含阿达木单抗;组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);和糖稳定剂;其中所述组合物(基本或完全)不含组氨酸以外的氨基酸或含有(总)浓度至多0.1mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸。

[0032] 本发明第五方面提供含本文所述液体组合物的包装(例如预填充注射器、笔、静脉袋、或含任何前述的包装/容器)。

[0033] 本发明第六方面提供含本文所述液体组合物的药物递送装置(例如预填充注射器或笔、或静脉袋)。

[0034] 本发明第七方面提供一种多部分试剂盒,其包括药物递送装置、本文所述液体药物组合物(任选包含在包装或容器中)以及任选的说明组,其具有关于液体组合物给药(例如皮下)的指导。

[0035] 本发明第八方面提供制备液体药物组合物的方法,所述方法包括混合阿达木单抗;组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);糖稳定剂;和任选的本文所述与液体药物组合物有关的任何一种或多种其他组分,任选以本文规定的任何含量、浓度或形式;以及任选调节本文所述与液体药物组合物有关的任何一种或多种参数(例如pH、渗透压)。

[0036] 本发明第九方面提供可获自、获自或直接获自本文所述制造液体药物组合物的方

法的液体药物组合物。

[0037] 本发明第十方面提供制造包装或药物递送装置的方法,其中所述方法包括将本文所述液体药物组合物纳入所述包装或药物递送装置。

[0038] 本发明第十一方面提供可获自、获自或直接获自本文所述制造包装或药物递送装置的方法的包装或药物递送装置。

[0039] 本发明第十二方面提供治疗有此类治疗需要的患者中的疾病或医学紊乱的方法,所述方法包括给予所述患者治疗有效量的本文所述液体药物组合物。

[0040] 本发明第十三方面提供本文所述液体药物组合物,其用于治疗。

[0041] 本发明第十四方面提供本文所述液体药物组合物在制造用于治疗疾病或紊乱的药物中的应用。

[0042] 本发明第十五方面提供治疗有此类治疗需要的患者中的肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 相关自身免疫疾病的方法,所述方法包括给予所述患者治疗有效量的本文所述液体药物组合物。

[0043] 本发明第十六方面提供本文所述液体药物组合物,其用于治疗肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 相关自身免疫疾病。

[0044] 本发明第十七方面提供本文所述液体药物组合物在制造用于治疗肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 相关自身免疫疾病的药物中的应用。

[0045] 本发明第十八方面提供治疗有此类治疗需要的患者中的类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎的方法,所述方法包括给予所述患者治疗有效量的本文所述液体药物组合物。

[0046] 本发明第十九方面提供本文所述液体药物组合物,其用于治疗类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎。

[0047] 本发明第二十方面提供本文所述液体药物组合物在制造用于治疗类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎的药物中的应用。

[0048] 在其他方面,本发明提供液体药物组合物、包装、药物递送装置、多部分试剂盒、制造液体药物组合物的方法、制造包装或药物递送装置的方法、治疗方法、用于使用的液体药物组合物、液体药物组合物在制造药物中的用途,尤其如本文所述(包括前述二十方面中的任一),但并非具体限定“阿达木单抗”(和其生物仿制药),本发明可替代应用(因此限定为相关)任何TNF- α -抑制抗体(抗TNF- α 抗体)(或其任何生物仿制药),尽管合适地为抑制人TNF- α 活性的抗体,并且最合适地抑制人TNF- α 活性的人单克隆抗体。合适地,抗TNF- α 抗体是治疗有效药物(至少在以合适量给予需要其的患者时)(或其生物仿制药-参见下述对与阿达木单抗有关的生物仿制药的定义,其与所有抗TNF- α 抗体等同使用),合适地其已得到FDA批准。因此,本文有关“阿达木单抗”的任何引用可(除非与之不一致)解释为涉及任何抗TNF- α 抗体用于本发明这些其他方面的目的(无论这涉及绝对或相对含量、浓度、参数或特性,或无论其涉及某些定义,例如哪些构成生物仿制药)。

[0049] 本发明的其他方面之一提供含抗TNF- α 抗体(合适地包括其任何生物仿制药);组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲系统);和糖稳定剂的液体药物组合物;其中所述组合物任选包

含(或不包含)本文所述与液体药物组合物有关的任何一种或多种其他组分(例如包含表面活性剂,不包含精氨酸,等等),任选以本文规定的任何含量、浓度或形式;并且其中所述组合物任选表现本文所述与液体药物组合物有关的任何一种或多种参数或特性(例如pH、渗透压、聚集性、片段化、蛋白质解折叠、浊度等)。

[0050] 在具体实施方式中,抗TNF- α 抗体选自阿达木单抗、英利昔单抗、赛妥珠单抗、戈利木单抗。

[0051] 与本发明任何具体方面相关描述的任何特征,包括任选、合适、和优选特征也可为本发明任何其他方面相关描述的特征,包括任选、合适、和优选特征。

[0052] 附图的简要说明

[0053] 为了更好地理解本发明,并且显示其实施方式如何有效,现以示例方式参考下述附图,其中:

[0054] 图1显示OD所确定的DoE1制剂(实施例1)的蛋白质含量(mg/mL)的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(蓝色柱,时间=0)和4周后(红色柱),制剂经40℃加热。

[0055] 图2显示SE-HPLC所确定的DoE1制剂(实施例1)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(绿色柱)和4周(橙色柱)后,制剂经40℃加热。

[0056] 图3显示SE-HPLC所确定的DoE1制剂(实施例1)的片段%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(深色柱,时间=0)以及2周(粉色柱)和4周(浅绿柱)后,制剂经40℃加热。

[0057] 图4显示DSF所确定的DoE1制剂(实施例1)的解折叠温度(℃)的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂)。

[0058] 图5显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(红色柱,时间=0)以及2周(绿色柱)和4周后(紫色柱),制剂经40℃加热。

[0059] 图6显示Bioanalyzer所确定的DoE2制剂(实施例2)的片段%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0060] 图7显示iCE280分析所确定的DoE2制剂(实施例2)的主峰异构体谱的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0061] 图8显示iCE280分析所确定的DoE2制剂(实施例2)的酸性簇异构体谱的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0062] 图9显示比浊法所确定的DoE2制剂(实施例2)的浊度的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0063] 图10显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及24小时(红色柱)和48小时后(绿色柱),制剂经机械搅动(振荡)。

[0064] 图11显示Bioanalyzer所确定的DoE2制剂(实施例2)的片段化%的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及24小时(红色柱)和48小时后(绿色柱),制剂经机械搅动(振荡)。

[0065] 图12显示比浊法所确定的DoE2制剂(实施例2)的浊度的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及24小时(红色柱)和48小时后(绿色柱),制剂经机械搅动(振荡)。

[0066] 图13显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0067] 图14显示Bioanalyzer所确定的DoE2制剂(实施例2)的片段%的柱状图,在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0068] 图15显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的主峰异构体谱的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0069] 图16显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的酸性簇异构体谱的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0070] 图17显示比浊法所确定的DoE2制剂(实施例2)的浊度的柱状图,在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0071] 图18显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的主峰异构体谱的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0072] 图19显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的酸性簇异构体谱的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0073] 图20显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0074] 图21显示亚可见颗粒计数分析所确定的DoE2制剂(实施例2)中粒径小于等于10微米的亚可见颗粒的数量浓度(#/mg)的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0075] 图22显示亚可见颗粒计数分析所确定的DoE2制剂(实施例2)中粒径小于等于25微米的亚可见颗粒的数量浓度(#/mg)的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0076] 发明详述

[0077] 定义

[0078] 除非另有说明,说明书和权利要求所用下述术语具有下述含义。

[0079] 本文所述“阿达木单抗”包括原始药物(如市售),W097/29131(BASF)所述阿达木单抗(特别是其中D2E7)和本领域他处定义的阿达木单抗,及其生物仿制药。W097/29131的D2E7“具有含氨基酸序列SEQ ID NO:3的轻链CDR3结构域和含氨基酸序列SEQ ID NO:4的重链CDR3结构域”。优选地,D2E7抗体具有含氨基酸序列SEQ ID NO:1的轻链可变区(LCVR)和含氨基酸序列SEQ ID NO:2的重链可变区(HCVR)。W097/29131给予这些序列各自的详细信息。本文所述“阿达木单抗”可包括生物仿制药,其可例如与W097/29131(具体关于D2E7)或他处有关“阿达木单抗”中公开的任一蛋白质序列具有至少75%、合适地至少80%、合适地至少85%、合适地至少90%、合适地至少95%、合适地至少96%、合适地至少97%、合适地至

少98%或最合适地至少99%的蛋白质序列相同性。或者或此外,本文所述“阿达木单抗”可包括生物仿制药,其表现出与W097/29131(具体关于D2E7)或他处有关“阿达木单抗”中公开的任一蛋白质序列具有至少75%、合适地至少80%、合适地至少85%、合适地至少90%、合适地至少95%、合适地至少96%、合适地至少97%、合适地至少98%或最合适地至少99%的蛋白质序列同源性。或者或此外,生物仿制药可具有(稍稍)不同的糖基化概况,即使蛋白质序列基本相同或具有上述程度的不同。

[0080] 术语“生物仿制药”(还称为后续生物品)本领域熟知,并且当药物应被认为是阿达木单抗的生物仿制药时,本领域技术人员容易理解。此外,“生物仿制药”在所述“生物仿制药”市售之前需要官方批准作为市场化的“生物仿制药”。术语“生物仿制药”通常用于描述先前已正式授予销售授权的“创新生物制药产品”(“生物制剂”,其药物物质是由活生物体制成或源自活生物体或通过重组DNA或受控基因表达的方法制成)的后续版本(通常从不同的来源)。因为生物制剂具有高度的分子复杂性,并且对在制造过程中的变化(例如,如果在生产中使用不同的细胞系)通常敏感,并且因为后续制造商一般没有获得原始的分子克隆、细胞库、不知晓发酵和纯化过程中的诀窍,也没有获得活性药物物质本身(仅创新者的商业化药物产品),任何“生物仿制药”不太可能与创新药物产品完全一样。

[0081] 对于各种摩尔计算的目的(如对阿达木单抗和本发明的液体药物组合物的其他组分之间的摩尔比),阿达木单抗的分子量可基于CAS数据库中CAS#331731-18-1,阿达木单抗,所公开的细节而取为144190.3克/摩尔(参考分子量),其中分子式取为 $C_{6428}H_{9912}N_{1694}O_{1987}S_{46}$ 。因此,含有50mg/mL阿达木单抗的液体药物组合物可以认为是0.347mM(或347 μ M)的阿达木单抗溶液。这并非意在以任何方式限制由本发明的范围所涵盖的阿达木单抗的任何生物仿制药的性质或是糖基化水平,其中任一均可影响实际分子量。然而,在生物仿制药确实有不同的分子量时,上述参考分子量应当适当用于评估这样的生物仿制药是否落在本说明书内所规定的任何摩尔定义的范围。所以,只是为了本发明的目的,应使用上述基准的分子量计算所述的已知重量生物仿制药的摩尔数。

[0082] 本文所用的术语“缓冲剂”或“缓冲溶液”是指包含酸(通常是弱酸,例如组氨酸,柠檬酸,组氨酸的咪唑鎓形式)及其共轭碱(如组氨酸或柠檬酸盐,例如,组氨酸,柠檬酸钠,或组氨酸)的混合物,或者是指碱(通常是弱碱,例如组氨酸)和其共轭酸的(如质子化组氨酸盐)的混合物的通常水溶液。在加入少量强酸或碱之后,“缓冲液”的pH值会由于由“缓冲剂”赋予了“缓冲作用”而只是稍微变化。

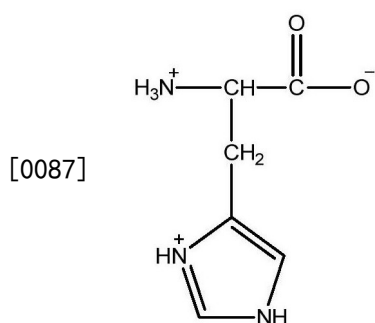
[0083] 这里,“缓冲系统”包括一个或多个缓冲剂和/或酸/碱共轭物,更合适地包括它们的一个或多个缓冲剂和酸/碱共轭物,并且最合适地仅包括一种缓冲剂及其酸/碱共轭物。除非另有说明,本文规定的有关“缓冲系统”的任何浓度(即缓冲液浓度)适当地指的是缓冲剂和/或其酸/碱共轭物的组合浓度。换言之,此处规定的有关“缓冲系统”的浓度适当地指的是所有的相关缓冲物质的组合浓度(即所述物质与另一物质处于动态平衡,例如柠檬酸盐/柠檬酸)。因此,组氨酸缓冲液系统的给定浓度通常涉及组氨酸和组氨酸的咪唑形式的组合浓度。但是,在组氨酸的情况下,这种浓度通常可参照加入的组氨酸或其盐的量来直接计算。包括相关缓冲系统的组合物的总体pH通常反映每个相关缓冲物质的平衡浓度(即,缓冲剂与其酸/碱共轭物平衡)。

[0084] 本文中,术语“缓冲剂”是指缓冲或缓冲溶液的酸或碱成分(通常是弱酸或弱碱)。

缓冲剂帮助保持给定溶液的pH值处于或接近预定值,并且缓冲剂通常选择为补充该预定值。缓冲剂合适地是单一化合物,它产生需要的缓冲作用,尤其是当所述缓冲剂与适当量(取决于所需的预定pH值)的其相应的“酸/碱共轭物”混合(和适当地能够与其质子交换),或者如果所需量的相应“酸/碱共轭物”原位形成-这可通过,加入强酸或碱直达到达到所需的pH值来实现。示例如下:

[0085] ●组氨酸“缓冲剂”是自由氨基酸组氨酸。由于诸如组氨酸的氨基酸是两性的,并因此能够表现得既像酸又像碱,因此,所述“缓冲剂”就是该两性化合物本身(适当地以两性离子的形式)。但是,除了组氨酸,组氨酸缓冲系统或缓冲溶液中还可具有可选地添加到其中的一定量的酸(适当地为强酸,例如盐酸)或碱(适当地为强碱,例如氢氧化钠),直达到达到所需的pH。因此,其中的某些组氨酸可能呈现与两性离子氨基酸不同的质子化状态。在此,除非有相反说明,有关组氨酸缓冲系统的任何浓度适当地指的是缓冲剂(例如组氨酸)和/或其酸/碱共轭物(例如组氨酸的咪唑形式)的组合浓度。本领域技术人员能够容易地计算这样的浓度,这种浓度可以通过简单地参照加入的组氨酸或其酸/碱共轭物(例如组氨酸盐酸盐)的量来计算。这种浓度可以通过参照缓冲剂和酸/碱共轭物的组合浓度来计算,其中缓冲系统通过简单地混合缓冲剂和酸/碱共轭物而形成。或者,在缓冲系统通过混合缓冲剂或酸/碱共轭物与pH调节剂(例如,强酸或强碱)以产生各自的混合物来形成时,适当地该浓度可以通过分别参考缓冲剂或酸/碱共轭物的起始量/浓度来计算。例如,当使用已知量/浓度的组氨酸并将其与pH调节剂(例如氢氧化钠)混合直达到达到所需pH来形成缓冲系统时,所述缓冲系统的浓度可以通过参考组氨酸的初始量来计算。同样的原则适用于当使用已知量/浓度的组氨酸咪唑盐(例如组氨酸盐酸盐)并将其与pH调节剂(例如氢氧化钠)混合直达到达到所需pH来形成缓冲系统时,在这种情况下,所述缓冲系统的浓度可以通过参考组氨酸咪唑盐的初始量来计算。

[0086] 本文中,“酸/碱共轭物”指的是特定“缓冲剂”的共轭酸或共轭碱(无论哪个与特定的pH相关-本发明中通常是共轭酸)。组氨酸缓冲剂(例如组氨酸)的酸/碱共轭物适当地是组氨酸的咪唑形式,适当地是组氨酸的咪唑盐。在本文中可将组氨酸的咪唑形式称为“咪唑组氨酸”,其具有以下结构:



[0088] 组氨酸的咪唑盐可被称为组氨酸-咪唑盐,其具有与如上所示基本上相同的结构,除了相关的抗衡阳离子(countercation)。

[0089] 本文中,术语“缓冲物质”是指给定缓冲系统的特定物种(不包括任何相关的抗衡阴离子(counteranion)或抗衡阳离子(countercation)-即忽略组氨酸/咪唑-组氨酸系统的氯化物或氢氧化物抗衡离子),它们互相动态平衡(并发生质子交换)。例如,组氨酸和咪唑-组氨酸可一起构成“组氨酸缓冲系统”的“组氨酸缓冲物质”。

[0090] 因为通常难以参考重量界定缓冲系统的(无论绝对或相对)数量(由于总重量将取决于所需pH值,这将影响存在的抗衡离子(counterion)的量),在此基于重量的数量可替代地通过参考相关的“缓冲物质”的理论重量来确定。一般来说,至少两种物质存在于任何给定的“缓冲物质”组中(其相对量仅能通过参考pH值来确定),每个具有不同的分子量(通常仅存在1的差异)。因此,为了可进行重量计算和参考,出于本发明目的,对于任何给定的“缓冲物质”组的重量定为基于仅一种所述缓冲物质,即缓冲物质的最碱性物(即在任何给定的pH下最低质子化的形式)的理论重量。给定的“缓冲物质”组的重量以碱性物质当量的重量引用。示例地,在组氨酸缓冲系统中的组氨酸缓冲物质可由组氨酸和咪唑-组氨酸阳离子组成。因此,“缓冲物质”的重量计算为好像组氨酸是缓冲系统中存在的唯一物质(即使咪唑-组氨酸伴随组氨酸存在)。因此,涉及“组氨酸缓冲物质”的重量或重量比的任何参考适当地指的是缓冲系统内的组氨酸当量的理论重量。因此,当组合物是通过添加pH调节剂(例如氢氧化钠)至固定量的咪唑组氨酸或添加至固定量的组氨酸(其可在溶解于溶剂中时适当地形成部分咪唑-组氨酸)而形成时,组氨酸的原重量可被认为是“缓冲物质”的重量而不管最终pH值。或者,如果缓冲系统的浓度(即摩尔浓度)已知,则这可以通过参照相关缓冲物质的最碱性形式(如组氨酸)的分子量而转换成“缓冲物质”的重量,并忽略咪唑-组氨酸阳离子也存在的事实。

[0091] 除非另外指出,在本文中引用的“氨基酸”,无论特定的(如精氨酸,组氨酸)或一般(例如任何氨基酸),在其存在或在组合物中(特别是本发明的药物液体组合物)时,涉及相应的游离氨基酸(无论其质子化状态和/或盐形式,虽然为了一致性,含量适当地通过参考游离氨基酸本身而计算)。其可以适当地包括天然和/或人造的氨基酸。除非相反说明,这样的引用不旨在涉及共价结合作为更大化合物(而不是包括多个化合物的组合物)的部分的氨基酸残基,如肽或蛋白(其中所述氨基酸残基通过肽键连接)。因此,虽然阿达木单抗(作为蛋白质)含有氨基酸残基,其不被认为包括任何“游离氨基酸”。示例地,定义为“不含精氨酸”的组合物不含有任何游离精氨酸,但它仍可能包括本身包含精氨酸残基的一个或多个蛋白质(例如阿达木单抗)。

[0092] 除非另有说明,本文中的任何一个或多个“氨基酸”,无论特定或一般,合适地涉及的L-立体异构体或其外消旋体,最适宜地为L-氨基酸。

[0093] 在应用于组合物的给定组分时,术语“基本不含”(例如,“液体药物组合物基本不含精氨酸”)是指基本不添加所述组分的组合物。如上所述,这种参考与氨基酸残基在蛋白质结构中存在无关。当组合物“基本不含”给定组分,所述组合物适当地包括不超过0.001重量%所述组分、合适地不超过0.0001重量%的所述组分、合适地不超过0.00001重量%,合适地比不更0.000001重量%时,合适地不超过0.0000001重量%,最合适地每十亿不超过0.0001份(以重量计)。

[0094] 在应用于组合物的给定组分时,术语“完全不含”(例如“液体药物组合物完全不含精氨酸”)是指不含所述组分的组合物。如上所述,这种参考与氨基酸残基在蛋白质结构中存在无关。

[0095] 在本说明书中,“强酸”合适地是 pK_a 为-1.0或更低的酸,而“弱酸”合适地是 pK_a 为2.0或更高的酸。在本说明书中,“强碱”合适地是其共轭酸的 pK_a 为12或更高(合适地14或更高)的碱,而“弱碱”合适地是其共轭酸的 pK_a 为10或更低的碱。

[0096] 本文中,“稳定剂”是指促进维持生物药品的结构完整性的组分,特别是在冷冻和/或冷冻干燥和/或存储时(尤其是当暴露于应力时)。此稳定化效果可能由各种原因引起,虽然通常这种稳定剂可以作为缓解蛋白质变性的渗透物质而起作用。典型的稳定剂包括氨基酸(即不是肽或蛋白的部分的游离氨基酸-例如甘氨酸、精氨酸、组氨酸、天冬氨酸、赖氨酸)和糖稳定剂,如糖醇(如甘露醇,山梨醇),和/或二糖(例如海藻糖、多量蔗糖(sucros)、麦芽糖、乳糖),尽管本发明的液体药物组合物包含稳定剂,其中至少一种是糖稳定剂(即糖醇或二糖)。最适宜的至少一种糖稳定剂是非还原性糖(糖醇或二糖)。

[0097] 本文中,“非还原性糖”通常是没有任何醛部分或不具备形成醛部分的能力(例如通过异构)的糖。

[0098] 本文中,“张力调节剂”或“等张剂”是指包括在组合物内的适宜地有助于(或增加)的组合物的总渗透压和克分子渗透压浓度的试剂。合适地,本文所用等张剂包括使溶液的渗透特征与生理液体相似的试剂。

[0099] 本文中,对特定量的组合物的给定成分(特别是缓冲剂、稳定剂、氨基酸,表面活性剂、或等张剂)的参考适当地涉及相关组分的纯无水形式(或通过使用纯无水形式的量形成的组合物)的量,即使这样的组分在形成组合物时可以为非无水形式。任何相应的非无水形式(例如一水合物,二水合物等)的量可容易地通过简单使用合适乘数来计算。例如,除非另有说明(根据实施例,当数量涉及海藻糖二水合物时),关于海藻糖的规定的量指海藻糖的无水形式(或通过使用规定量/浓度的无水海藻糖形成的组合物),其具有342.296克/摩尔的分子量,因此,为了计算形成相同组合物所需的海藻糖二水合物的相应量(必须加入较少的水),必须用规定的量乘以378.33/342.296,因为378.33是海藻糖二水合物的分子量。

[0100] 本领域技术人员将容易理解如何根据所使用的组分的形式审慎调整稀释剂/水的量,以便得出目标浓度。

[0101] 本文所用的术语“药物组合物”指的是药物活性物制剂,药物活性物使得活性成分的生物活性治疗上有效,但其不包括对旨在给予该制剂的对象具有明显毒性的其他成分。

[0102] 本文所用的术语“稳定”通常是指组分(通常是其活性物或组合物)在保存/储存期间的物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物稳定性。

[0103] 应理解,提及“处理”或“治疗”包括预防以及病症的确定症状的减轻。状态、紊乱或病症的“处理”或“治疗”包括:(1)预防或者延迟的在人体中发展的状态、紊乱或病症的临床症状的出现,所述人体可能患有或易患有该状态、紊乱或病症但尚未经历或显示该状态、紊乱或病症的临床或亚临床症状,(2)抑制状态、紊乱或病症,即阻止、减少或延迟疾病的发展或(在维持治疗情况下)复发或其至少一种临床或亚临床症状,或者(3)减轻或减缓疾病,即引起所述状态、紊乱或病症或其至少一种临床或亚临床症状发生消退。

[0104] 在本发明中,抗体的“治疗有效量”或“有效量”是指,当施用给哺乳动物用于治疗疾病或紊乱时,在预防和治疗方面有效的量,并且该抗体在治疗相关疾病中有效。

[0105] “治疗有效量”将根据化合物、疾病及其严重性以及需要治疗的哺乳动物的年龄、体重等因素而变化。

[0106] 术语“人TNF- α ”是指以17kD分泌形式存在的和以26kD膜相关形式存在生物活性形式的人细胞因子,TNF- α 可以作为共价结合的17kD分子的三聚体而被观察到。其结构参见 Pennica,D.等(1984)Nature 312:724-729;Davis,J.M.等(1987)Biochemistry 26:1322-

1326;和Jones,E.Y.等(1989)Nature 338:225-228。

[0107] 术语“重组人抗体”意在包括使用重组方法制备、表达、产生或分离的人抗体。

[0108] 本文中,除非另有说明,组分和成分的规定量旨在按重量计,无论以术语“份”、ppm(每百万中的份)、百分数(% ,例如重量%)、或比率表述。

[0109] 当给定组合物的特定组分的量或浓度指定为重量百分比(%重量或%重量/重量)时,所述重量百分比是指所述组分的重量相对整个组合物的总重量的百分比。本领域技术人员理解,组合物(不论是否指定)的所有组分的重量百分比的总和将总计100重量%。然而,在并非所有组分都列出(例如,其中组合物被称为“包括”一个或多个特定成分)的情况下,重量百分比平衡可任选由未指定的成分(例如稀释剂,例如水,或其它非基本但合适的添加剂)补足到100重量%。

[0110] 本文中,除非另外指出,在涉及到多种成分/组分时,术语“份”(例如重量份,pbw)指的是所述多种成分/组分之间的相对比例。表示两个、三个或更多组分的摩尔或重量比产生同样的效果(如x,y和z的摩尔比分别是 $x_1:y_1:z_1$,或 $x_1-x_2:y_1-y_2:z_1-z_2$ 的范围)。虽然在许多实施方式中,组合物中各组分的量可以作为“重量%”值,在替代实施方式中,任何或所有这样的重量%值可以转化成重量份(或相对比率)以定义多组分组合物。这是因为在本发明的液体药物组合物中,组分之间的相对比例通常比其绝对浓度更重要。在包括多个成分的组合物以单独重量份术语描述时(即,仅指示成分的相对比率),没有必要规定所述成分的绝对量或浓度(不论总体或单独),因为本发明的优点可基于各成分的相对比例而不是其绝对量或浓度。然而,在某些实施方式中,这些组合物基本由或由规定的成分和稀释剂(例如水)组成。

[0111] 当组合物(任选地以浓度的规定量)包括多个规定的成分时,所述组合物可任选包括除那些规定之外的其他成分。然而,在某些实施方式中,组合物包括多个规定成分可能实际上基本由或由所有规定的成分组成。

[0112] 本文中,当组合物“基本由”具体组分“组成”时,所述组合物适当地包括至少70重量%的所述组分,合适地至少90重量%,合适地至少95重量%,最合适的至少99重量%。合适地,“基本由”具体组分“组成”的组合物由所述组分组成,除了一种或多种痕量杂质。

[0113] 本文所用的术语“颗粒尺寸”或“孔尺寸”分别是指给定颗粒或孔的最长尺寸的长度。两种尺寸都可以用激光粒度分析仪和/或电子显微镜(例如,隧道电子显微镜TEM或扫描电子显微镜SEM)来测定。可以使用实施例中概述的方案和设备获得颗粒数(对于任何给定尺寸),这涉及亚可见粒子的颗粒数。

[0114] 液体药物组合物

[0115] 本发明提供适当地如上所述的液体药物组合物。该组合物适当地包含人单克隆抗体,适当地为抑制人TNF- α 活性的抗体,适当地以防止其激活TNF受体。最适当地,液体药物组合物包含阿达木单抗,其本身适当地包括其任何生物仿制药。组合物适当地包括组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲液系统)。组合物适当地包含糖稳定剂。所述组合物的pH适当地大于或等于pH 6.30。组合物适当地(基本或完全)不含精氨酸或以浓度至多0.1mM含有精氨酸,以精氨酸与组氨酸缓冲剂(或组氨酸缓冲液系统)的摩尔比最多1:150来含有精氨酸,或以精氨酸与阿达木单抗的重量比最多1:3000来含有精氨酸(即对每3000重量份的组氨酸缓冲剂而言小于或等于1重量份的精氨酸)。或者或此外,组合物可适当地包括本文所述与液体

药物组合物有关的任何一种或多种其他组分(例如包括等张剂,不包括精氨酸等),任选以本文规定的任何含量、浓度或形式;并且其中所述组合物任选表现本文所述与液体药物组合物有关的任何一种或多种参数或特性(例如pH、渗透压)。

[0116] 优选地,本发明提供替代的和改进的液体药物组合物,其通常表现出比现有技术的更好的稳定性和活力。如本文所示(参见实施例),与阿达木单抗的常规制剂(例如商购制剂Humira®)相比,本发明的液体药物制剂在经受不同应力条件(热,机械和光)时具有相当的或改进的特性。其性能也通常与经受相同应力测试的许多其它比较制剂相当或更好。由于这些应力条件是此类制剂在制造、运输和贮存过程中经受的极具代表性的应力种类,它们提供对本发明的优点的优良指示。参考现有技术的一般教导,可以用具有较少赋形剂的不太复杂的配方实现这样的良好稳定性能是令人惊讶的。

[0117] 阿达木单抗

[0118] 阿达木单抗(市售可得HUMIRA®制剂)及其制备方法参见W097/29131(BASF)的D2E7以及本领域他处。其具有含氨基酸序列SEQ ID NO:3的轻链CDR3结构域和含氨基酸序列SEQ ID NO:4的重链CDR3结构域(W097/29131)。此外,D2E7抗体具有含氨基酸序列SEQ ID NO:1的轻链可变区(LCVR)和含氨基酸序列SEQ ID NO:2的重链可变区(HCVR)。

[0119] 阿达木单抗的医学适应症和功能,如上文阐明。

[0120] 在本发明中“阿达木单抗”包括生物仿制药,如本文之前定义,并且本领域技术人员将容易地理解本发明中术语“阿达木单抗”的范围。

[0121] 在一个实施方式中,液体药物组合物包含的阿达木单抗为约5至约150mg/mL的浓度,适当地为约25至约75mg/mL。例如,阿达木单抗可以约25、约30、约35、约40、约45、约50、约55、约60、约65、约70或约75mg/mL的浓度存在于所述制剂中。在一个实施方式中,阿达木单抗以约45至约55mg/mL的浓度存在。在一个实施方式中,阿达木单抗以约50mg/mL的浓度存在。

[0122] 缓冲液、缓冲剂和pH

[0123] 适当地,液体药物组合物是缓冲溶液,其pH值由适当地与缓冲剂的酸/碱共轭物组合的缓冲剂(或缓冲液系统)来稳定。因此,该液体药物组合物适当地包含如本文所定义的缓冲剂。优选地,该液体药物组合物还包含酸/碱共轭物,其中所述酸/碱共轭对应于所述缓冲剂的共轭酸或共轭碱,这取决于缓冲剂本身分别是碱还是酸。缓冲剂和其酸/碱共轭物可以统称“缓冲系统”。因此,该液体药物组合物适当地包括“缓冲系统”(适当地含有缓冲剂和酸/碱共轭物),并且相对于缓冲系统规定的任何浓度一般涉及缓冲剂和其任何的酸/碱共轭物的组合浓度。任何“缓冲系统”适当地包括弱酸和弱碱(参见上文定义)。

[0124] 适当地,所述缓冲剂是组氨酸缓冲剂。适当地,所述组氨酸缓冲剂是组氨酸(或其盐),最适当地为自由组氨酸(例如两性离子组氨酸)。

[0125] 适当地,该液体药物组合物包含缓冲剂的酸/碱共轭物。组氨酸缓冲剂的情况比许多其他常见羧酸/羧酸盐缓冲系统复杂,因为组氨酸的咪唑部分意味着组氨酸通常在pH 6-7之间的pH下以质子化(咪唑imidazolium)和去质子化(自由咪唑imidazole)形式的均衡混合物存在于水溶液中。组氨酸的质子化(咪唑imidazolium)形式可与一种或多种药学上可接受的阴离子关联-包括例如氢氧化物或氯化物的阴离子-但咪唑形式也可额外地或替代性地以溶剂化的阳离子存在于溶剂(例如水)中。因此,组氨酸的质子化(咪唑)形式可视为

组氨酸的酸/碱共轭物,因为它代表了组氨酸的共轭酸。适当地,组氨酸的这种共轭酸的氨基和咪唑基团均质子化,而羧酸基团去质子化-这导致+1的净正电荷。缓冲剂和其酸/碱共轭物的组合构成了缓冲系统。适当地,该液体药物组合物包含缓冲剂和其对应的酸/碱共轭物,适当地使得所述缓冲剂和其酸/碱共轭物一起以足以提供组合物所需的pH的水平(即绝对量或浓度)和相对量(或浓度)存在。缓冲系统可通过简单地混合所述缓冲剂(例如组氨酸)与酸/碱共轭物(例如组氨酸的咪唑盐形式,例如组氨酸单盐酸盐)来形成,适当地以合适的量混合以获得具有所需pH的组合物。或者,可通过酸或碱与缓冲剂或其酸/碱共轭混合来形成所述缓冲系统,从而原位形成的缓冲剂和酸/碱共轭物的所需混合物。例如,缓冲系统可通过向缓冲剂(例如组氨酸,其可在溶解于水中时立即自平衡以产生组氨酸及其共轭酸)中加入碱(如氢氧化钠)来形成,加入的量适当地适合提供所需pH以及缓冲剂(例如组氨酸)与对应的酸/碱共轭物(即组氨酸的咪唑盐形式)的混合物。或者,可以采用形成所述缓冲系统的任一方法,并且pH值可以通过添加其他酸(适当地为强酸,如HCl)或其他碱(适当地为强碱,如氢氧化钠)来审慎调整,知道达到所需的pH。

[0126] 如上所述,“pH调节剂”可与组氨酸(或组氨酸咪唑盐,例如组氨酸盐酸盐)结合使用,以获得所需的pH。pH调节剂可为强酸或强碱,优选为强碱,例如氢氧化钠。

[0127] 最适当地,该缓冲系统是组氨酸缓冲液系统,适当地包括处于平衡状态的组氨酸及其咪唑形式。

[0128] 适当地,该液体药物组合物包含至多一种缓冲剂。适当地,该液体药物组合物包含至多一种缓冲系统。

[0129] 适当地,该液体药物组合物的pH大于或等于5.0。适当地,该液体药物组合物的pH大于或等于6.3。适当地,该液体药物组合物的pH小于或等于6.7。

[0130] 在一个具体的实施方式中,特别是在缓冲剂是组氨酸缓冲剂时,该液体药物组合物具有6.0-6.6的pH。在一个具体的实施方式中,液体药物组合物具有6.3-6.5的pH。在一个具体的实施方式中,液体药物组合物的pH为约6.4。

[0131] 适当地,该液体药物组合物包含浓度约2至约50mM的缓冲系统(适当地是组氨酸缓冲系统,包括组氨酸缓冲剂)。在一个实施方式中,缓冲系统以5-14mM的浓度存在,最适当地约10mM。在一个实施方式中,缓冲系统/缓冲剂以10mM的浓度存在。在一个实施方式中,液体药物组合物包含浓度为10mM的组氨酸(和/或其盐)。这适当地包括“缓冲剂”(例如,组氨酸)通过在缓冲剂的共轭酸(例如组氨酸的咪唑形式)中加入强碱(例如氢氧化钠)来形成的情况。

[0132] 适当地,该液体药物组合物包含浓度约0.31mg/mL至约7.8mg/mL的缓冲物质(适当地为组氨酸缓冲物质-例如组氨酸本身)。在一个实施方式中,缓冲物质以0.77mg/mL-2.2mg/mL的浓度存在,最适当地约1.55mg/mL。在一个实施方式中,缓冲系统/缓冲剂以1.55mg/mL的浓度存在。这地包括“缓冲剂”(例如,组氨酸)通过在缓冲剂的共轭酸(例如组氨酸的咪唑形式)中加入强碱(例如氢氧化钠)来形成的情况。

[0133] 适当地,该液体药物组合物以缓冲系统与阿达木单抗的摩尔比为5:1至约145:1包含缓冲系统(适当地为组氨酸缓冲系统)。在一个实施方式中,该缓冲系统以缓冲系统与阿达木单抗的摩尔比为约14:1至约40:1而存在,最适当地为约29:1。在一个实施方式中,缓冲系统/缓冲剂以29:1的浓度存在。这包括“缓冲剂”(例如,组氨酸)通过在缓冲剂的共轭酸

(例如组氨酸的咪唑形式-例如组氨酸盐酸盐)中加入强碱(例如氢氧化钠)来形成的情况。

[0134] 如在实施例部分所示,本发明的包括组氨酸缓冲剂/缓冲系统的液体药物组合物在应力测试中表现特别好,特别是关系到片段化和蛋白质解折叠时,这是稳定性和药物产品活力的重要指标。此外,组氨酸缓冲系统维持稳定的pH 6.4的液体药物组合物表现特别好。

[0135] 糖稳定剂

[0136] 适当地,该液体药物组合物包含稳定剂,最适当地为糖稳定剂。适当地,该稳定剂是指促进维持生物药品的结构完整性的组分,特别是在冷冻和/或冷冻干燥和/或存储时(尤其是当暴露于应力时)。

[0137] 该液体药物组合物可包含一种或多种糖稳定剂,虽然在优选实施方式中只有单一糖稳定剂的存在。

[0138] 适当地,所述糖稳定剂是糖多元醇(sugar polyol)(包括糖醇(sugar alcohols))和/或二糖。

[0139] 糖稳定剂适当地选自海藻糖、甘露醇、蔗糖、山梨醇、麦芽糖、乳糖、木糖醇、阿拉伯糖醇、赤藓糖醇、乳糖醇、麦芽糖醇和肌醇。

[0140] 在具体实施方式中,糖稳定剂选自海藻糖、甘露醇、蔗糖、麦芽糖、乳糖、木糖醇、阿拉伯糖醇、赤藓糖醇、乳糖醇、麦芽糖醇和肌醇。

[0141] 在一个具体的实施方式中,糖稳定剂是非还原性糖,任选本文任何地方列出的非还原性糖。

[0142] 在一个具体的实施方式中,糖稳定剂选自海藻糖和甘露醇。

[0143] 在一个具体的实施方式中,糖稳定剂是海藻糖。海藻糖是一种特别有益的糖稳定剂,与液体阿达木单抗制剂中的组氨酸缓冲剂/缓冲系统一起使用。

[0144] 适当地,该液体药物组合物包含至多一种糖稳定剂,适当地至多一种糖多元醇和/或二糖。适当地,该液体药物组合物包含海藻糖作为唯一的糖稳定剂。

[0145] 适当地,用于形成液体药物组合物的海藻糖是海藻糖二水合物,尽管适当地关于海藻糖的任何规定量(除非另有说明-如实施例中所示)涉及纯的无水海藻糖。这样的量可以通过运用适当地乘数而转化成海藻糖二水合物的量。此外,为了评估给定配方是否落在任何本文给出的海藻糖量的定义的范围之内,海藻糖二水合物的量可以容易地通过运用该乘数反向转换成纯的无水海藻糖的相应量(用等摩尔数)。这个原则适用于任何糖稳定剂组分。当给定为摩尔浓度时,浓度当然是相同的,无论糖稳定剂的水合状态。

[0146] 适当地,该液体药物组合物以约50至约400mM的浓度包含糖稳定剂(最适宜地为海藻糖),更适当地为约100至约300mM,更适当地为约150至约250mM。在一个实施方式中,糖稳定剂以190-210mM的浓度存在,最适当地约200mM。在一个实施方式中,海藻糖以200mM的浓度存在。

[0147] 适当地,该液体药物组合物以约15mg/mL至约140mg/mL的浓度包含糖稳定剂(最适宜地为海藻糖),更适当地为约35mg/mL至约100mg/mL,更适当地为约45mg/mL至约80mg/mL。在一个实施方式中,糖稳定剂以65mg/mL-72mg/mL的浓度存在,最适当地约68mg/mL。在一个具体的实施方式中,海藻糖以约68mg/mL(相当于约75.7mg/mL的海藻糖二水合物)的浓度存在。

[0148] 适当地,该液体药物组合物以糖稳定剂与阿达木单抗的摩尔比为约145:1至约1150:1包含糖稳定剂(最适宜地为海藻糖),更适当地为约290:1至约860:1,更适当地为约430:1至约720:1。在一个实施方式中,糖稳定剂以糖稳定剂与阿达木单抗的摩尔比为约550:1至约605:1存在,最适当地为约576:1。在一个实施方式中,海藻糖以海藻糖与阿达木单抗的摩尔比为约576:1存在。

[0149] 如在实施例部分所示,本发明的包括上述糖稳定剂的液体药物组合物在应力测试中表现特别好,特别是关系到片段化和蛋白质解折叠时,这是稳定性和药物产品活力的重要指标。此外,包括海藻糖作为糖稳定剂的液体药物组合物表现特别好。

[0150] 稀释剂

[0151] 本发明的液体药物组合物可以包含任何一种或多种药学上可接受的稀释剂或其混合物。然而,最适当地液体药物组合物是水性药物组合物。最适当地稀释剂是水,适当地仅用水。水是适当地注射用水(WFI)。

[0152] 适当地,稀释剂可以构成任何液体药物组合物中成分的平衡,例如从而重量百分比总计为100%。适当地关于液体药物组合物的任何组分的本文给定的任何浓度表示所述组分在(和适当地溶解于)稀释剂中与任何其他组分混合的浓度。

[0153] 本发明的液体药物组合物适当地是溶液,并适当地(基本或完全)不含微粒或沉淀。

[0154] 不含或低水平的组分

[0155] 低/无精氨酸

[0156] 适当地,该液体药物组合物可以(基本或完全)不含精氨酸(适当地为L-精氨酸)或以至多0.1mM的浓度包括精氨酸,更适当地至多0.01mM,最适当地至多0.001mM。

[0157] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含精氨酸或以精氨酸与缓冲剂(或缓冲系统)的摩尔比最多1:150(即对每150摩尔缓冲剂(或缓冲系统)而言小于或等于1摩尔精氨酸)来含有精氨酸,更适当地至多1:1500,最适当地至多1:15000。

[0158] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含精氨酸或以精氨酸与阿达木单抗的摩尔比最多1:3000(即对每3000重量份的阿达木单抗而言小于或等于1重量份的精氨酸)来含有精氨酸,更适当地至多1:30000,最适当地至多1:300000。

[0159] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含精氨酸或以精氨酸与阿达木单抗的摩尔比最多1:3.75(即对每3.75摩尔的阿达木单抗而言小于或等于1摩尔的精氨酸)来含有精氨酸,更适当地至多1:37.5,最适当地至多1:375。

[0160] 如本文所述,在其存在的环境中或存在于液体药物组合物中的“精氨酸”的引用涉及相应的游离氨基酸而不是作为较大化合物(例如肽或蛋白质)的部分而共价纳入的氨基酸残基。

[0161] 如实施例部分所示,本发明的(基本或完全)不含精氨酸的液体药物组合物在应力测试中表现特别好,尤其是涉及聚集、片段化和蛋白质解折叠时。

[0162] 低/无氨基酸

[0163] 适当地,液体药物组合物可以(基本或完全)不含组氨酸(其适当地是缓冲剂)以外的氨基酸或以至多0.1mM的(总体)浓度包括组氨酸以外的一种或多种氨基酸,更适当地至多0.01mM,最适当地至多0.001mM。

[0164] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含组氨酸以外的氨基酸或以氨基酸与缓冲剂(或缓冲系统)的(总体)摩尔比最多1:150(即对每150摩尔缓冲剂或缓冲系统而言小于或等于1摩尔组氨酸以外的氨基酸)来含有组氨酸以外的一种或多种氨基酸,更适当地至多1:1500,最适当地至多1:15000。

[0165] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含组氨酸以外的氨基酸或以氨基酸与阿达木单抗的(总体)重量比最多1:3000(即对每3000重量份阿达木单抗而言小于或等于1重量份组氨酸以外的氨基酸)来含有组氨酸以外的一种或多种氨基酸,更适当地至多1:30000,最适当地至多1:300000。

[0166] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含组氨酸以外的氨基酸或以氨基酸与阿达木单抗的(总体)摩尔比最多1:3.75(即对每3.75摩尔阿达木单抗而言小于或等于1摩尔组氨酸以外的氨基酸)来含有组氨酸以外的一种或多种氨基酸,更适当地至多1:37.5,最适当地至多1:375。

[0167] 如本文所述,在其存在的环境中或存在于液体药物组合物中的“氨基酸”的引用涉及相应的游离氨基酸而不是作为较大化合物(例如肽或蛋白质)的部分而共价纳入的氨基酸残基。

[0168] 适当地,本节提到的氨基酸(并认为不含或以低量存在)可能是天然的和/或人造氨基酸,虽然他们优选天然氨基酸。具体地,液体药物组合物(基本或完全)不含选自下组的任何氨基酸:精氨酸、赖氨酸、和天冬氨酸;或以前述有关“组氨酸以外的氨基酸”所述的量、浓度、摩尔比或重量包括一个或多个上述氨基酸。

[0169] 如实施例部分所示,本发明如上所述(基本或完全)不含组氨酸以外的氨基酸或某些氨基酸的液体药物组合物在应力测试中表现特别好,尤其是涉及聚集、片段化和蛋白质解折叠时。

[0170] 低/无表面活性剂

[0171] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含表面活性剂(无论是阳离子、阴离子、两性或非离子型),但任选例外聚山梨酯80(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单油酸酯),或以(总体)浓度至多1mM包括一种或多种所述表面活性剂(任选不计算聚山梨酯80),更适当地至多0.1mM,更适当地至多0.01mM,更适当地为至多0.001mM,最适当地为至多0.0001mM。在这种情况下,该液体药物组合物可任选包含如本文定义的聚山梨酯80。但是,在优选实施方式中,所述液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯80,或适当地仅以上述与任何其他表面活性剂合计的有限的量/浓度含有聚山梨酯80。

[0172] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含表面活性剂(无论是阳离子、阴离子、两性或非离子型),但任选例外聚山梨酯80(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单油酸酯),或以表面活性剂与缓冲剂(或缓冲系统)的(总体)摩尔比至多1:10包括一种或多种所述表面活性剂(任选不计算聚山梨酯80),更适当地至多1:100,更适当地至多1:1000,更适当地为至多1:10000,最适当地为至多1:100000。在这种情况下,该液体药物组合物可任选包含如本文定义的聚山梨酯80。但是,在优选实施方式中,所述液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯80,或适当地仅以上述与任何其他表面活性剂合计的有限的量/浓度含有聚山梨酯80。

[0173] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含表面活性剂(无论是阳离子、阴离子、两性或非离子型),但任选例外聚山梨酯80(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单油酸酯),或以表面

活性剂与阿达木单抗的(总体)重量比至多1:50(即对每50重量份阿达木单抗而言小于或等于1重量份表面活性剂)包括一种或多种所述表面活性剂(任选不计算聚山梨酯80),更适当地至多1:500,更适当地至多1:5000,更适当地至多1:50000,最适当地至多1:500000。在这种情况下,该液体药物组合物可任选包含如本文定义的聚山梨酯80。但是,在优选实施方式中,所述液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯80,或适当地仅以上述与任何其他表面活性剂合计的有限的量/浓度含有聚山梨酯80。

[0174] 适当地,液体药物组合物可以(基本或完全)不含表面活性剂(无论是阳离子、阴离子、两性或非离子型),但任选例外聚山梨酯80(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单油酸酯)或以表面活性剂与阿达木单抗的(总体)摩尔比至多3:1包括一种或多种所述表面活性剂(任选不计算聚山梨酯80),更适当地至多0.3:1,更适当地至多0.003:1,更适当地至多0.0003:1,最适当地至多0.00003:1。在这种情况下,该液体药物组合物可任选包含如本文定义的聚山梨酯80。但是,在优选实施方式中,所述液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯80,或适当地仅以上述与任何其他表面活性剂合计的有限的量/浓度含有聚山梨酯80。

[0175] 适当地,本部分所述表面活性剂(并认为不含或以低量存在)可以是阳离子、阴离子、两性或非离子表面活性剂。适当地,本部分所述表面活性剂(并认为不含或以低量存在)可以是阳离子、阴离子和两性表面活性剂,但可任选地排除非离子表面活性剂(如聚山梨酯或司盘),或至少可任选排除聚山梨酯80。因此,该液体药物组合物(基本或完全)不含阳离子、阴离子或两性表面活性剂或以本小节前述段落所述的更一般的“表面活性剂”所规定的至多的量、浓度、摩尔比或重量比包括一种或多种所述表面活性剂。

[0176] 因此,该液体药物组合物(基本或完全)不含非离子表面活性剂,但任选例外聚山梨酯80,或以本小节前述段落所述的更一般的“表面活性剂”所规定的至多的量、浓度、摩尔比或重量比包括一种或多种所述表面活性剂。

[0177] 因此,该液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯表面活性剂,但任选例外聚山梨酯80,或以本小节前述段落所述的更一般的“表面活性剂”所规定的至多的量、浓度、摩尔比或重量比包括一种或多种所述表面活性剂。在这种情况下,该液体药物组合物可任选包含如本文定义的聚山梨酯80。但是,在优选实施方式中,所述液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯80,或适当地仅以上述与任何其他表面活性剂合计的有限的量/浓度含有聚山梨酯80。

[0178] 因此,该液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯20(还称为吐温20-聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单月桂酸酯)表面活性剂,或以本小节前述段落所述的更一般的“表面活性剂”所规定的至多的量、浓度、摩尔比或重量比包括一种或多种所述表面活性剂。

[0179] 该液体药物组合物可适当地(基本或完全)不含聚山梨酯80表面活性剂,或以前述“表面活性剂”所述的量、浓度、摩尔比或重量比包括一种或多种所述表面活性剂。因此,该液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯80表面活性剂,或以本小节前述段落所述的更一般的“表面活性剂”所规定的至多的量、浓度、摩尔比或重量比包括一种或多种所述表面活性剂。

[0180] 如实施例部分所示,本发明如上所述(基本或完全)不含表面活性剂或某些表面活性剂的液体药物组合物在应力测试中表现特别好,尤其是涉及聚集、片段化和蛋白质解折叠时。

[0181] 低/无磷酸盐

[0182] 适当地,该液体药物组合物(基本或完全)不含磷酸盐缓冲剂(例如磷酸二氢钠,磷酸氢二钠),或以至多0.1mM的浓度包含磷酸盐缓冲系统,更适当地至多0.01mM,最适当最多0.001mM。

[0183] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含磷酸盐缓冲剂(例如磷酸二氢钠,磷酸氢二钠)或以磷酸盐缓冲系统与任何非磷酸盐缓冲系统的摩尔比最多1:150(即对每150摩尔非磷酸盐缓冲系统而言小于或等于1摩尔磷酸盐缓冲系统)来含有磷酸盐缓冲系统,更适当地至多1:1500,最适当地至多1:15000。

[0184] 适当地,液体药物组合物(基本或完全)不含磷酸盐缓冲剂或以磷酸盐缓冲剂与阿达木单抗的摩尔比最多1:3.75(即对每3.75摩尔的阿达木单抗而言小于或等于1摩尔的磷酸盐缓冲剂)来含有磷酸盐缓冲剂,更适当地至多1:37.5,最适当地至多1:375。

[0185] 如本文所述,在其存在的环境中或存在于液体药物组合物中的“磷酸盐缓冲剂”的引用涉及任何形式或质子化状态的任何磷酸盐,包括磷酸盐,一氢磷酸盐和二氢磷酸盐。然而,适当地排除作为较大化合物(如磷酸化的或糖基化的肽或蛋白质)的部分共价纳入的任何任何磷酸盐部分或残基。

[0186] 如实施例部分所示,本发明的(基本或完全)不含磷酸盐缓冲剂的液体药物组合物在应力测试中表现特别好,尤其是涉及聚集、片段化和蛋白质解折叠时。

[0187] 任选的其他组分

[0188] 等张剂

[0189] 本发明的液体药物组合物适当地包括“张力调节剂”(或“等张剂”)或一种或多种等张剂,适当地如本文定义。

[0190] 包含等张剂适当地有助于(或增加)的组合物的总渗透压和克分子渗透压浓度。适当地,等张剂以足以使组合物(基本)与体液等渗的量或浓度在组合物中存在。适当地,等张剂以足以使组合物具有本文所述范围内的渗透压和克分子渗透压浓度的量或浓度在组合物中存在。

[0191] 可以使用任意合适的等张剂。然而适当地,等张剂选自:水溶性金属盐(例如氯化钠、氯化钾、氯化镁、氯化钙)、水溶性等张糖/糖醇(例如葡萄糖、蔗糖、甘露醇),和/或其它水溶性多元醇。适当地等张剂是非缓冲的(即,产生很少或没有缓冲作用)。因此,任何金属盐等张剂适当地不是缓冲剂。

[0192] 该液体药物组合物可包含一种或多种等张剂,尽管优选仅存在单一“等张剂”(即使旨在行使本文所述另一功能的组分赋予所述组合物任何等张效果)。

[0193] 最优选地,等张剂是或包括金属盐(优选非缓冲水溶性金属盐)。适当地,所述金属盐是或包括金属卤化物,适当地为碱或碱土金属卤化物,适当地碱金属氯化物。

[0194] 在一个具体的实施方式中,等张剂是或包括氯化钠。在一个具体的实施方式中,等张剂是氯化钠。氯化钠是一种特别有益的稳定剂,与液体阿达木单抗制剂中的组氨酸缓冲剂/缓冲系统一起使用。

[0195] 适当地,该液体药物组合物以约10至约200mM的浓度包含等张剂(最适宜地为氯化钠),更适当地为约20至约100mM,更适当地为约25至约75mM。在一个实施方式中,等张剂以40-60mM的浓度存在,最适当地约50mM。在一个实施方式中,氯化钠以50mM的浓度存在。

[0196] 适当地,该液体药物组合物以约0.5mg/mL至约12mg/mL的浓度包含等张剂(最适宜地为氯化钠),更适当地为约1.2mg/mL至约5mg/mL,更适当地为约1.5mg/mL至约4.4mg/mL。在一个实施方式中,等张剂以2.7mg/mL-3.1mg/mL的浓度存在,最适当地约2.9mg/mL。在一个实施方式中,氯化钠以约2.9mg/mL的浓度存在。

[0197] 适当地,该液体药物组合物以等张剂与阿达木单抗的摩尔比为约30:1至约580:1包含等张剂(最适宜地为氯化钠),更适当地为约60:1至约290:1,更适当地为约70:1至约220:1。在一个实施方式中,等张剂以等张剂与阿达木单抗的摩尔比为约115:1至约175:1存在,最适当地为约145:1。在一个实施方式中,氯化钠以氯化钠与阿达木单抗的摩尔比为约145:1存在。

[0198] 如在实施例部分所示,本发明的包括上述等张剂的液体药物组合物在应力测试中表现特别好,特别是关系到片段化和蛋白质解折叠时,这是稳定性和药物产品活力的重要指标。此外,含氯化钠(尤其是以规定范围的量)的液体药物组合物表现特别好。

[0199] 表面活性剂

[0200] 本发明的液体药物组合物可包含表面活性剂或一种或多种表面活性剂,适当地如本文定义。

[0201] 可以使用任意合适的表面活性剂。然而适当地,表面活性剂是非离子表面活性剂,最适当地是聚山梨酯(聚氧乙烯乙二醇脱水山梨醇烷基酯)或司盘(脱水山梨醇烷基酯)表面活性剂。

[0202] 虽然一种或多种表面活性剂可以包含在本发明的液体药物组合物内,最适当地只存在单一表面活性剂,最适当地是单一非离子表面活性剂(适当地如本文所定义)。

[0203] 表面活性剂适当地选自:聚山梨酯20(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单月桂酸酯)、聚山梨酯40(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单棕榈酸酯)、聚山梨酯60(聚氧乙烯(20)脱水山梨醇单硬脂酸酯)、聚山梨酯80(聚氧乙烯(20)山梨醇单油酸酯)、脱水山梨醇单月桂酸酯、脱水山梨醇单棕榈酸酯、脱水山梨醇单硬脂酸酯、脱水山梨醇三硬脂酸酯、和/或脱水山梨醇单油酸酯。

[0204] 在一个具体的实施方式中,表面活性剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯40、聚山梨酯60、和/或聚山梨酯80。

[0205] 在一个具体的实施方式中,液体药物组合物包括选自聚山梨酯20、聚山梨酯40、聚山梨酯60和聚山梨酯80的单一表面活性剂。

[0206] 在一个具体的实施方式中,表面活性剂是聚山梨酯80或聚山梨酯20。在一个具体的实施方式中,表面活性剂是聚山梨酯80。

[0207] 适当地,该液体药物组合物以约0.0001至约5mM(即0.1 μ M-5mM)的浓度包含表面活性剂(最适宜地为聚山梨酯80),更适当地为约0.001至约2mM,更适当地为约0.01至约1.0mM。在一个实施方式中,表面活性剂以0.72-0.80mM的浓度存在,最适当地约0.76mM。在一个实施方式中,聚山梨酯80以0.76mM的浓度存在。

[0208] 适当地,该液体药物组合物以约0.001mg/mL至约5mg/mL的浓度包含表面活性剂(最适宜地为0.76),更适当地为约0.01mg/mL至约2mg/mL,更适当地为约0.05mg/mL至约1.5mg/mL。在一个实施方式中,表面活性剂以0.9mg/mL-1.1mg/mL的浓度存在,最适当地约1.0mg/mL。在一个实施方式中,聚山梨酯80以约1.0mg/mL的浓度存在。

[0209] 适当地,该液体药物组合物以表面活性剂与阿达木单抗的摩尔比为约1:3500至约15:1包含表面活性剂(最适宜地为聚山梨酯80),更适当地为约1:350至约6:1,更适当地为约1:35至约3:1。在一个实施方式中,表面活性剂以表面活性剂与阿达木单抗的摩尔比为约2.1:1至约2.3:1存在,最适当地为约2.2:1。在一个实施方式中,聚山梨酯80以聚山梨酯80与阿达木单抗的摩尔比为约2.2:1存在。

[0210] 但是,在优选实施方式中,所述液体药物组合物(基本或完全)不含聚山梨酯80,更适合地(基本或完全)不含任何表面活性剂。

[0211] 本发明相关其他参数

[0212] 渗透压

[0213] 适当地,该液体药物组合物的渗透压为200-400mOsm/kg,更适当地220-390mOsm/kg,更适当地230-350mOsm/kg,更适当地240-340mOsm/kg,更适当地260-320mOsm/kg,最适当地280-310mOsm/kg。适当地,组合物的各种组分的相对量和浓度可经谨慎调节以实现所需渗透压,并且组分的特定新颖组合允许很大程度上实现而不破坏其它重要参数。然而适当地,也可以选择组合物的各种组分的相对量和浓度,以便优化其他参数-本公开内容,包括其中提出的实施例和方案,使本领域技术人员能够实现这一目的,并实现一些或所有的本发明的益处。

[0214] 蛋白质解折叠温度

[0215] 适当地是,本发明的液体药物组合物中阿达木单抗的蛋白质解折叠温度(适当地由本文所述DSF方案测定)大于或等于65℃,更适当地大于或等于70℃。本发明的组合物中存在的组分的新颖结合使本领域技术人员能够实现高解折叠的温度,从热稳定性的角度来看其被认为是理想的。

[0216] 受到热应力时的参数

[0217] 适当地,当组合物处在40℃热应力(即该组合物保持在40℃的温度下)持续28天时,液体药物组合物内存在的聚集体(适当地源自阿达木单抗,并适当地由本文所述SE-HPLC方案确定)的量(或浓度)增加不超过因子4(即相对于任意的开始时间的4倍量),适当地不超过因子3,适当地不超过因子2.5,适当地不超过因子2.2。

[0218] 适当地,当组合物处在40℃热应力(即该组合物保持在40℃的温度下)持续28天时,液体药物组合物内存在的片段(适当地源自阿达木单抗,并适当地由本文所述生物分析方案测量)的量(或浓度)增加不超过因子4(即相对于任意的开始时间的4倍量),适当地不超过因子3,适当地不超过因子2.5,适当地不超过因子2.2。

[0219] 适当地,当组合物处在40℃热应力(即该组合物保持在40℃的温度下)持续28天时,液体药物组合物的浊度(适当地根据本文所述方案通过比浊法测量)增加不超过因子2(即相对于任意的开始时间的2倍量),适当地不超过因子1.5,适当地不超过因子1.2,并且适当地浊度不增加。

[0220] 适当地,当组合物处在40℃热应力(即该组合物保持在40℃的温度下)持续28天时,液体药物组合物的pH变化(无论提高还是降低,虽然通常pH降低)不超过0.5pH单位,适当地不超过0.2pH单位,适当地不超过0.1pH单位,并且适当地pH不增加(精确至小数点后第一位)。

[0221] 受到机械应力时的参数

[0222] 适当地,当组合物受机械应力(即根据本文所述方案振荡)持续48小时时,液体药物组合物内存在的聚集体(适当地源自阿达木单抗,并适当地由本文所述SE-HPLC方案确定)的量(或浓度)增加不超过因子2(即相对于任意的开始时间的2倍量),适当地不超过因子1.5,适当地不超过因子1.2,适当地不超过因子1.1。

[0223] 适当地,当组合物受机械应力(即根据本文所述方案振荡)持续48小时时,液体药物组合物内存在的片段(适当地源自阿达木单抗,并适当地由本文所述生物分析方案测量)的量(或浓度)增加不超过因子2(即相对于任意的开始时间的2倍量),适当地不超过因子1.5,适当地不超过因子1.2,适当地不超过因子1.1。

[0224] 适当地,当组合物受机械应力(即根据本文所述方案振荡)持续48小时时,液体药物组合物的浊度(适当地根据本文所述方案通过比浊法测量)增加不超过因子2(即相对于任意的开始时间的2倍量),适当地不超过因子1.5,适当地不超过因子1.2,适当地不超过因子1.1,并且适当地浊度不增加。

[0225] 适当地,当组合物受机械应力(即根据本文所述方案振荡)持续48小时时,液体药物组合物的pH变化(无论提高还是降低,虽然通常pH降低)不超过0.5pH单位,适当地不超过0.2pH单位,适当地不超过0.1pH单位,并且适当地pH不增加(精确至小数点后第一位)。

[0226] 受到光应力时的参数

[0227] 适当地,当组合物受到光应力时(即该组合物根据本文所述方案暴露在光下,即765W/m²下7小时),液体药物组合物内存在的聚集体(适当地源自阿达木单抗,并适当地由本文所述SE-HPLC方案确定)的量(或浓度)增加不超过因子50(即相对于任意的开始时间的50倍量),适当地不超过因子45,适当地不超过因子35,适当地不超过因子30。

[0228] 适当地,当组合物受到光应力时(即该组合物根据本文所述方案暴露在光下,即765W/m²下7小时),液体药物组合物内存在的片段(适当地源自阿达木单抗,并适当地由本文所述生物分析方案测量)的量(或浓度)增加不超过因子4(即相对于任意的开始时间的4倍量),适当地不超过因子3,适当地不超过因子2.5,适当地不超过因子2。

[0229] 适当地,当组合物受到光应力时(即该组合物根据本文所述方案暴露在光下,即765W/m²下7小时),液体药物组合物的浊度(适当地根据本文所述方案通过比浊法测量)增加不超过因子2(即相对于任意的开始时间的2倍量),适当地不超过因子1.5,适当地不超过因子1.2,并且适当地浊度不增加。

[0230] 适当地,当组合物受到光应力时(即该组合物根据本文所述方案暴露在光下,即765W/m²下7小时),液体药物组合物的pH变化(无论提高还是降低,虽然通常pH降低)不超过0.5pH单位,适当地不超过0.2pH单位,适当地不超过0.1pH单位,并且适当地pH不增加(精确至小数点后第一位)。

[0231] 经过冻/融循环的参数

[0232] 适当地,当组合物经过5次冻/融循环(5X FT)时(即该组合物根据本文所述方案冷冻并融化5次,即-80℃至20℃5次),液体药物组合物内存在的聚集体(适当地源自阿达木单抗,并适当地由本文所述SE-HPLC方案确定)的量(或浓度)增加不超过因子1.5(即相对于任意的开始时间的1.5倍量),适当地不超过因子1.2,适当地不超过因子1.1,适当地聚集体的量(或浓度)(基本)没有增加。

[0233] 适当地,当组合物经过5次冻/融循环时(即该组合物根据本文所述方案冷冻并融

化5次,即-80℃至20℃5次),液体药物组合物内存在的粒径小于或等于25微米的亚可见颗粒或微粒的量(或浓度)增加不超过因子4(即相对于任意的开始时间的4倍量),适当地不超过因子3,适当地不超过因子2.5,适当地不超过因子2.2。适当地,当组合物经过5次冻/融循环时(即该组合物根据本文所述方案冷冻并融化5次,即-80℃至20℃5次),液体药物组合物内存在的粒径小于或等于10微米的亚可见颗粒或微粒的量(或浓度)增加不超过因子4(即相对于任意的开始时间的4倍量),适当地不超过因子3,适当地不超过因子2.5,适当地不超过因子2.2。

[0234] 适当地,当组合物经过5次冻/融循环时,液体药物组合物内存在的粒径小于或等于25微米的亚可见颗粒或微粒的量(或浓度)增加不超过因子4(即相对于任意的开始时间的4倍量),适当地不超过因子3,适当地不超过因子2.5,适当地不超过因子2.2。适当地,当组合物经过5次冻/融循环时,液体药物组合物内存在的粒径小于或等于10微米的亚可见颗粒或微粒的量(或浓度)增加不超过因子4(即相对于任意的开始时间的4倍量),适当地不超过因子3,适当地不超过因子2.5,适当地不超过因子2.2。

[0235] 稳定抗体的方法

[0236] 考虑本小节的上述各点,以及实施例提供的数据,本发明还提供稳定液体阿达木单抗组合物的方法(化学上和/或物理上,任选关联上述参数/性质中的任何一种或多种),包括用形成如本文定义的液体药物组合物所需要的任何相关的组分混合阿达木单抗。不同的实施方式将适当地需要的不同组成的组分来进行混合,可能以不同的量,并且本领域技术人员可以通过参考该液体药物组合物中的上述公开容易地推断出此类组合和量。此类不同组成的组分可以在不同的方面稳定液体阿达木单抗的组合物。例如,用前述组分混合阿达木单抗形成如本文定义的液体药物组合物可以通过下述方面稳定阿达木单抗:

[0237] i) 提高阿达木单抗的蛋白质解折叠温度;

[0238] ii) 抑制聚集物的形成;

[0239] iii) 抑制片段的形成;

[0240] iv) 抑制亚可见颗粒的形成(≤ 25 微米或 ≤ 10 微米);

[0241] v) 抑制浊化(turbidification);

[0242] vi) 抑制pH值的变化;

[0243] vii) 抑制光氧化;和/或

[0244] viii) 减少在冷冻/解冻循环的不稳定性。

[0245] 因此,本发明提供了实现一个、一些或所有以下优势的方法:

[0246] i) 提高阿达木单抗的蛋白质解折叠温度;

[0247] ii) 抑制聚集物的形成;

[0248] iii) 抑制片段的形成;

[0249] iv) 抑制亚可见颗粒的形成(≤ 25 微米或 ≤ 10 微米);

[0250] v) 抑制浊化;

[0251] vi) 抑制pH值的变化;

[0252] vii) 抑制光氧化;和/或

[0253] viii) 减少在冷冻/解冻循环的不稳定性;

[0254] 该方法包括制造本文所定义的阿达木单抗的液体药物组合物。

[0255] 适当地,本发明的液体药物组合物具有至少6个月的保质期,适当地至少12个月,适当地至少18个月,更适当地至少24个月。适当地,本发明的液体药物组合物在2-8℃温度下具有至少6个月的保质期,适当地至少12个月,适当地至少18个月,更适当地至少24个月。

[0256] 使技术人员优化关键稳定性性能

[0257] 公开用于本发明的液体药物组合物中的新颖结合使本领域技术人员能生产(和审慎调整)相对于现有技术的组合物表现出相当的或增强的性能的组合物。具体地,本发明现在提供给本领域技术人员所有必要的工具来优化制剂稳定性,特别是优化下述的一个或多个:抑制聚集、片段化、蛋白解折叠、沉淀、pH值滑移和氧化(特别是光氧化)。此外,给予本领域技术人员关于如何实现这样的优化(通过审慎地改变组合物),以及在过程中如何尽量减少任何有害副作用的指导。本公开内容使得本领域技术人员在本发明的整个范围工作,以生产出表现相对于现有技术的组合物相当的或改进的性能的各种特定组合物,并且这可以用更少的组分来实现。

具体实施方式

[0258] 在一个实施方式中,液体药物组合物包含:

[0259] -阿达木单抗;

[0260] -组氨酸缓冲剂(例如组氨酸)(或组氨酸缓冲系统);

[0261] -糖稳定剂(例如海藻糖);和

[0262] -表面活性剂(例如聚山梨酯80)。

[0263] 在一个实施方式中,液体药物组合物包含:

[0264] -阿达木单抗;

[0265] -组氨酸缓冲剂(例如组氨酸)(或组氨酸缓冲系统);

[0266] -糖稳定剂(例如海藻糖);

[0267] -等张剂(例如氯化钠);和

[0268] -任选的表面活性剂(例如聚山梨酯80)。

[0269] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:14-40:288-865的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸缓冲剂(或缓冲系统)和糖稳定剂。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:14-40:288-865:28-576的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸缓冲剂(或缓冲系统)、糖稳定剂和等张剂。

[0270] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:14-40:548-605的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸缓冲剂(或缓冲系统)和糖稳定剂。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:14-40:548-605:115-173的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸缓冲剂(或缓冲系统)、糖稳定剂和等张剂。

[0271] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:5.7-145:288-865的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲系统)和海藻糖。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:5.7-145:288-865:28-576的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲系统)、海藻糖和氯化钠。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:14-40:548-605的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲系统)和海藻糖。

[0272] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:14-40:548-605:115-173的摩尔比

包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲系统)、海藻糖和氯化钠。

[0273] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:28.8:576的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲系统)和海藻糖。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别1:28.8:576:144的摩尔比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲系统)、海藻糖和氯化钠。

[0274] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别25-75:0.31-7.8:15-140的重量比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)和海藻糖。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别25-75:0.31-7.8:15-140:0.5-12的重量比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)、海藻糖和氯化钠。

[0275] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别45-55:0.77-2.2:65-72的重量比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)和海藻糖。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别45-55:0.77-2.2:65-72:2.7-3.1的重量比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)、海藻糖和氯化钠。

[0276] 在一个实施方式中,液体药物组合物以分别50:1.55:68的重量比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)和海藻糖。在一个实施方式中,液体药物组合物以分别50:1.55:68:2.9的重量比包含阿达木单抗、组氨酸(或组氨酸缓冲物质)、海藻糖和氯化钠。

[0277] 涉及各组分的摩尔和/或重量比的任何前述实施方式还可以通过参考下述内容来定义:(基本或全部)不存在或以低水平存在的组分例如精氨酸、组氨酸以外的氨基酸、表面活性剂(任选例外聚山梨酯80)和/或磷酸盐缓冲剂/系统,如本文任何地方所定义。

[0278] 应理解,任何前述实施方式的所述缓冲剂(例如组氨酸)或缓冲系统(如组氨酸/咪唑-组氨酸)可以直接纳入到组合物中,或者可以在原位产生,例如,通过酸碱反应,适当地通过缓冲剂的共轭酸(例如组氨酸的咪唑形式,无论是预制的盐例如组氨酸盐酸盐,还是自由组氨酸溶解时产生的咪唑形式)与碱(如氢氧化钠)反应。无论用何种提供或产生缓冲剂或缓冲系统的方法,适当地所得组合物最终含有缓冲剂和任何酸/碱共轭物的适当平衡以得到所需pH。本领域技术人员将能够容易地计算或实验确定(无需过多的努力)缓冲剂和酸/碱共轭物的适当平衡,和/或加入共轭酸以产生量适量缓冲剂并提供所需pH所需的碱的量。

[0279] 在一个实施方式中,液体药物组合物包含:

[0280] -阿达木单抗;

[0281] -组氨酸缓冲剂(例如组氨酸)(或组氨酸缓冲系统);

[0282] -糖稳定剂(例如海藻糖);和

[0283] -等张剂(例如氯化钠);

[0284] -任选的表面活性剂(例如聚山梨酯80);和

[0285] -水(用于注射的水);

[0286] -其中所述组合物:

[0287] o(基本或完全)不含精氨酸;含有浓度至多0.1mM的精氨酸;

[0288] o(基本或完全)不含组氨酸以外的氨基酸或含有(总体)浓度至多0.1mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸;

[0289] o(基本或完全)不含任选除聚山梨酯80之外的表面活性剂,或含有(总体)浓度至多1mM的一种或多种表面活性剂(任选聚山梨酯80不计算在内);和/或

- [0290] o (基本或完全) 不含磷酸盐缓冲剂 (例如磷酸二氢钠、磷酸氢二钠) 或含有浓度至多0.1mM的磷酸盐缓冲系统。
- [0291] 在一个实施方式中, 液体药物组合物包含:
- [0292] -阿达木单抗 (适当地以本文所述浓度);
- [0293] -5-14mM组氨酸缓冲剂 (例如组氨酸) (或组氨酸缓冲系统);
- [0294] -100-约300mM的糖稳定剂 (例如海藻糖);
- [0295] -10-约200mM等张剂 (例如氯化钠); 和
- [0296] -水 (用于注射的水);
- [0297] -其中所述组合物:
- [0298] o pH为6.3-6.7 (例如pH 6.4)
- [0299] o (基本或完全) 不含精氨酸; 含有浓度至多0.1mM的精氨酸;
- [0300] o (基本或完全) 不含组氨酸以外的氨基酸或含有 (总体) 浓度至多0.1mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸;
- [0301] o (基本或完全) 不含任选除聚山梨酯80之外的表面活性剂, 或含有 (总体) 浓度至多1mM的一种或多种表面活性剂 (任选聚山梨酯80不计算在内); 和/或
- [0302] o (基本或完全) 不含磷酸盐缓冲剂 (例如磷酸二氢钠、磷酸氢二钠) 或含有浓度至多0.1mM的磷酸盐缓冲系统。
- [0303] 在一个实施方式中, 液体药物组合物包含:
- [0304] -25-约75mg/mL阿达木单抗;
- [0305] -2-约50mM组氨酸 (或组氨酸缓冲系统);
- [0306] -100-约300mM海藻糖;
- [0307] -10-约200mM氯化钠; 和
- [0308] -水 (用于注射的水);
- [0309] -其中所述组合物:
- [0310] o pH为约6.3-6.5;
- [0311] o (基本或完全) 不含精氨酸 (适当地不含L-精氨酸) 或含有浓度至多0.1mM的精氨酸;
- [0312] o (基本或完全) 不含组氨酸以外的氨基酸或含有 (总体) 浓度至多0.1mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸;
- [0313] o (基本或完全) 不含表面活性剂, 或含有 (总体) 浓度至多1mM的一种或多种表面活性剂; 和/或
- [0314] o (基本或完全) 不含磷酸盐缓冲剂 (例如磷酸二氢钠、磷酸氢二钠) 或含有浓度至多0.1mM的磷酸盐缓冲系统。
- [0315] 在一个实施方式中, 液体药物组合物包含:
- [0316] -45至约55mg/mL阿达木单抗;
- [0317] -5至14mM组氨酸 (或组氨酸缓冲系统);
- [0318] -190至210mM海藻糖;
- [0319] -40至60mM氯化钠; 和
- [0320] -水 (用于注射的水);

- [0321] -其中所述组合物:
- [0322] o pH为6.3-6.5;
- [0323] o (基本或完全) 不含精氨酸 (适当的不含L-精氨酸) 或含有浓度至多0.001mM的精氨酸;
- [0324] o (基本或完全) 不含组氨酸以外的氨基酸或含有 (总体) 浓度至多0.001mM的组氨酸以外的一种或多种氨基酸;
- [0325] o (基本或完全) 不含表面活性剂, 或含有 (总体) 浓度至多0.0001mM的一种或多种表面活性剂; 和/或
- [0326] o (基本或完全) 不含磷酸盐缓冲剂 (例如磷酸二氢钠、磷酸氢二钠) 或含有浓度至多0.001mM的磷酸盐缓冲系统。
- [0327] 在一个实施方式中, 液体药物组合物包含:
- [0328] -50mg/ml阿达木单抗;
- [0329] -10mM组氨酸 (组氨酸缓冲系统);
- [0330] -200mM海藻糖;
- [0331] -50mM氯化钠;
- [0332] -1.0mg/mL聚山梨酯80; 和
- [0333] -水 (用于注射的水);
- [0334] -其中所述组合物:
- [0335] o pH为6.4;
- [0336] o 不含精氨酸;
- [0337] o 不含组氨酸以外的氨基酸;
- [0338] o 不含表面活性剂; 和
- [0339] o 不含磷酸缓冲剂/缓冲系统。
- [0340] 优选地, 液体药物组合物基本由下述组成:
- [0341] -25-约75mg/mL阿达木单抗;
- [0342] -2-约50mM组氨酸 (或组氨酸缓冲系统);
- [0343] -100-约300mM海藻糖;
- [0344] -10-约200mM氯化钠; 和
- [0345] -水 (用于注射的水);
- [0346] -其中所述组合物的pH为6.3-6.5。
- [0347] 更优选地, 液体药物组合物基本由下述组成:
- [0348] -40-约60mg/mL阿达木单抗;
- [0349] -5-约15mM组氨酸 (或组氨酸缓冲系统);
- [0350] -175-约225mM海藻糖;
- [0351] -25-约75mM氯化钠; 和
- [0352] -水 (用于注射的水);
- [0353] -其中所述组合物的pH为6.3-6.5。
- [0354] 优选地, 液体药物组合物基本由下述组成:
- [0355] -50mg/mL阿达木单抗;

[0356] -10mM组氨酸(或组氨酸缓冲系统)；

[0357] -200mM海藻糖；

[0358] -50mM氯化钠；和

[0359] -水(用于注射的水)；

[0360] 其中所述组合物的pH为6.4。

[0361] 适当地，该液体药物组合物可以如任一前述实施方式所示，不同之处在于不含或含低水平的组分例如精氨酸、氨基酸、表面活性剂(任选例外聚山梨酯80)，和磷酸盐缓冲剂/系统，不是通过参考浓度(即摩尔浓度)来定义而是可以参考组分相对缓冲剂/缓冲系统的相应摩尔比；组分相对阿达木单抗的相应重量比；或组分相对阿达木单抗的相应摩尔比来定义。根据本文相关部分所述有关具体组分的内容，本领域技术人员将容易推断对每个组分而言，摩尔和重量比所对应的浓度，因为本文相关摩尔和重量比分别对应给定的浓度。例如，在精氨酸的情况中，“至多为0.1mM，更适当地至多0.01mM，最适当地为至多0.001mM”的任选浓度分别对应精氨酸与缓冲剂的摩尔比“至多1:150...更适当地至多1:1500，最适当地至多1:15,000”；对应于“精氨酸与阿达木单抗的重量比至多1:3000...更适当地至多1:30000，最适当地为至多1:300,000”；和对应于精氨酸与阿达木单抗的摩尔比至多1:3.75...更适当地至多1:37.5，最适当地在1:375”。相同的对应用于氨基酸、表面活性剂和磷酸盐缓冲剂/系统。

[0362] 制造液体药物组合物的方法

[0363] 本发明提供适当地如上所述的制备液体药物组合物的方法。所述方法适当地包括以任何特定的适当顺序将形成如本文定义的液体药物组合物所需的任何相关的组分混合在一起。本领域技术人员可参照用于形成液体药物组合物(尤其是用于通过注射器注射的那些)的本领域公知的实施例或技术。不同的实施方式将适当地需要的不同组成的组分(可能以不同的量)来进行混合。本领域技术人员可以通过参考有关该液体药物组合物的上述公开内容容易地推断出这种组合和用量。

[0364] 适当地，所述方法涉及将相关组分适当地混合在一起，在稀释剂(例如水)中，适当地使所有的组分(基本或完全)溶解在稀释剂中。

[0365] 该方法可以涉及，首先制备不含阿达木单抗的一些或所有组分(任选用部分或全部的稀释剂)的预混合物(或预溶液)，然后阿达木单抗可以本身(任选用稀释剂或预先溶解在一些稀释剂中)与预混合物(或预溶液)混合以得到液体药物组合物，或者向得到的组合中加入最终组分以提供最终的液体药物组合物。最适当地，预混合物含有除了阿达木单抗以外的所有组分以及任选还含有一些稀释剂(其可被用于预溶解阿达木单抗)，适当地将阿达木单抗添加至混合物以提供阿达木单抗的最佳稳定性。适当地将上述预混合物制备为最终的液体药物制剂所需的pH。

[0366] 适当地，该方法涉及形成缓冲系统，适当地缓冲系统包括如本文定义的缓冲剂。缓冲系统被适当地在加入阿达木单抗之前在预混合物中形成，但缓冲系统可任选在阿达木单抗存在下形成。缓冲系统可通过简单地将缓冲剂(提供现成的)与它的酸/碱的共轭物混合来形成(适当地以合适的相对量，从而提供所需的pH-这可以由本领域技术人员通过理论上或通过实验来确定)。在组氨酸缓冲系统的情况下，这意味着混合组氨酸与组氨酸的咪唑形式(例如组氨酸盐酸盐)。或者，缓冲系统可通过向缓冲剂(如组氨酸)中加入强酸(例如HCl)

来形成,从而原位形成缓冲剂的酸/碱共轭物(例如组氨酸的咪唑形式)(同样适当地以合适的相对量,以提供所需的pH)。或者,缓冲系统可通过向酸/碱共轭物中(或者,在缓冲剂例如在溶解时形成动态平衡的酸/碱共轭物的情况下,向缓冲剂本身)加入缓冲剂的强碱(如氢氧化钠)来形成,从而原位形成缓冲剂(同样适当地以合适的相对量,以提供所需的pH)。最终液体药物组合物的预混合物的pH可通过加入所需量的强碱或强酸(或甚至一定量的缓冲剂或酸/碱共轭物)来审慎调节。

[0367] 在某些实施方式中,所述缓冲剂和/或缓冲系统预形成成为单独的混合物,而缓冲系统通过缓冲液交换(例如,使用渗滤,直到达到相关浓度或渗透压)而转移至液体药物组合物的前体(其包含除了该缓冲剂和/或缓冲系统之外的一些或所有组分,适当地包含阿达木单抗,并可能只有阿达木单抗)。若需要,之后可加入其他赋形剂从而产生最终液体药物组合物。所有组分都存在时或之后可以调节pH。

[0368] 任何、一些或所有的组分可以在与其它成分混合之前用稀释剂预先溶解或预混合。

[0369] 最终的液体药物组合物可经过滤,适当地除去微粒物质。适当地,过滤通过尺寸等于或低于1 μ m,适当地0.22 μ m的过滤器。适当地,过滤通过PES滤器或PVDF滤器,适当地用0.22 μ m PES滤器。

[0370] 本发明还提供可获自、获自或直接获自本文所述制造方法的液体药物组合物。

[0371] 药物递送装置

[0372] 本发明提供了一种药物输送装置,其包括如本文定义的液体药物组合物。适当地,该药物输送装置包括在其内驻留药物组合物的腔室。适当地,药物递送装置是无菌的。

[0373] 药物输送装置可为小瓶、安瓿、注射器、注射笔(例如实质上涵盖注射器)、或静脉袋。最适当地,药物递送装置是注射器,适当地是注射笔。适当地,注射器是玻璃注射器。适当地,该注射器包括针头,适当地为29G1/2"针头。

[0374] 本发明提供一种制造药物递送装置的方法,适当地如本文所定义,该方法包括将本文所述的液体药物组合物纳入药物递送装置内。这种制造通常包括将本文所述液体药物组合物加入注射器,适当地通过固定在其上的针头。然后可移除、替换或保留所述针头。

[0375] 本发明第十一方面提供可获自、获自或直接获自本文所述制造方法药物递送装置。

[0376] 包装

[0377] 本发明提供了一种包装,其包括如本文定义的液体药物组合物。适当地,该包装包括如本文所述的药物递送装置,适当地包含多个药物递送装置。所述包装可以包括用于容纳一个或多个药物递送装置的任何适当的容器。

[0378] 本发明提供一种制造包装的方法,该方法包括将本文所述的液体药物组合物纳入包装中。适当地,这是通过在一种或多种药物递送装置内纳入所述液体药物组合物,然后将一个或多个预填充的药物递送装置纳入包装内的容器来实现的。

[0379] 本发明提供可获自、获自或直接获自本文所述制造方法的包装。

[0380] 多部分试剂盒

[0381] 本发明提供了多部分试剂盒,包括药物递送装置(没有纳入其中的液体药物组合物),如本文所定义的液体药物组合物(任选包含在单独的包装或容器中),和任选的说明

组,其具有关于液体组合物给药(例如皮下)的指导。然后,用户可以在给药之前用液体药物组合物(其可在小瓶或安瓿等中提供)填充药物递送装置。

[0382] 药物液体组合物的使用 and 治疗方法

[0383] 本发明第十二方面提供治疗疾病或医学紊乱的方法;用于治疗的液体药物组合物;液体药物组合物在制造用于治疗疾病或紊乱的药物中的应用;治疗肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 相关自身免疫疾病的方法;用于治疗肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 相关自身免疫疾病的液体药物组合物;液体药物组合物在制造用于治疗肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 相关自身免疫疾病的药物中的应用;治疗类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎的方法;用于治疗类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎的液体药物组合物;液体药物组合物在制造用于治疗类风湿性关节炎、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、克罗恩病、溃疡性结肠炎、中度至重度慢性银屑病和/或幼年特发性关节炎的药物中的应用;如本文所述。

[0384] 本文定义的液体药物组合物可用于治疗上述疾病或医学紊乱中的任何一种或多种。在一个具体的实施方式中,液体药物组合物用于治疗类风湿关节炎、适当地用于治疗克罗恩病和银屑病。

[0385] 液体药物组合物适当地经胃肠外给药,适当地通过皮下注射。

[0386] 实施例

[0387] 材料和设备

[0388] 以下材料在下述实施例中所述的制剂制备中使用:

| | |
|--------|------------|
| [0389] | 成分 |
| | 阿达木单抗 DS |
| | 单盐酸精氨酸 |
| | 天冬氨酸 |
| | 一水合柠檬酸 |
| | 二水合磷酸氢二钠 |
| | 组氨酸 |
| | 盐酸赖氨酸 |
| | 甘露醇 |
| | 二水合磷酸二氢钠 |
| | 泊洛沙姆 188 |
| | 聚山梨酯 80 |
| | 氯化钠 |
| | 柠檬酸钠 |
| | 氢氧化钠溶液 30% |
| | 海藻糖二水合物 |
| [0390] | WFI |

[0391] 下述一次性设备和材料在下述实施例和筛选实验中使用。

[0392]

| 项目 | 编码 | 供应商 |
|--------------------------------------|---|--------------------------|
| Eppendorf 管 (0.5 mL, 1.5 mL, 2.0 mL) | NA | Eppendorf 公司 |
| Falcon | 352096 (15 mL), 352070 (50 mL) 聚丙烯管 | BD 公司 (Becton Dickinson) |
| PES 膜 (0.22 μm) 滤器单元 | MillexGP Express PES 膜 REF SLGP033RS | Millipore 公司 |
| PETG 瓶 | 3420-1000, 3420-0500, 2019-0250, 3420-0125, 3420-0060, 2019-0030 | Nalgene 公司 |

[0393] 下述包装在随后的实施例和筛选实验中使用。

[0394]

| 项目 | 编码 | 供应商 |
|------------------|--------------------------------|-----------------|
| DIN2R I 型玻璃瓶 | 0212060.6112 11200000A | Nuova Ompi 公司 |
| 1 mL 塞 (stopper) | S2-F451 RSV; D 21-7S RB2-40 | Daikyo Seiko 公司 |
| 13mm 翻开式盖 | 12000350 | MS-A 公司 |

[0395] 下述设备在随后的实施例和筛选实验中使用。

[0396]

| 项目 | 型号 | 制造商 |
|--------|---------------------------|-------------------|
| 分析天平 | AX205, PG2002-S | Mettler Toledo 公司 |
| 台式氙灯仪器 | Suntest CPS+ | Atlas 公司 |
| 刻度移液器 | P20, P100, P200, P1000 | Gilson 公司 |
| HPLC | Alliance | Waters 公司 |
| iCE280 | 快速 IEF 分析仪 | Convergent 生命科学公司 |
| 渗透压计 | Osmomat 030/D | Gonotec 公司 |
| PCR | 7500 快速实时 | AB 应用生物系统公司 |
| pH 计 | Seven Multi | Mettler Toledo 公司 |
| 冰箱 | +2-8°C | Angelantoni 公司 |
| 软件设计专家 | 7.1.5 版本 | Stat-Ease 公司 |

[0397]

| | | |
|----------|--------------|-----------------|
| 温箱 | +25°C, +40°C | Angelantoni 公司 |
| 浊度计 | 2100AN IS | Hach Lange 公司 |
| UV 分光光度计 | Lambda 35 | Perkin Elmer 公司 |

[0398] 分析技术和方案

[0399] 出于下表所述原因在后续实施例和筛选实验中使用方案的以下分析方法：

[0400]

| 方法编号 | 分析方法 | 测试范围 |
|------|--------|-------|
| 1 | 生物分析仪 | 纯度 |
| 2 | DSF | 解折叠温度 |
| 3 | iCE280 | 异构体谱 |
| 4 | OD | 蛋白质含量 |

| | | |
|---|---------|-------|
| 5 | SE-HPLC | 聚集体测定 |
| 6 | 比浊法 | 浊度 |
| 7 | 渗透压 | 溶液渗透压 |
| 8 | pH | pH测定 |
| 9 | 亚可见颗粒 | 颗粒计数 |

[0401] 对于上述各分析方法的各个方案如下依次描述,而在实施例和筛选实验对任何分析方法的参考使用这些方案。

[0402] 1.纯度-生物分析仪

[0403] 使用2100生物分析仪。方案可以在相关的说明书中找到。然而,这些方案已被如下进一步改进。

[0404] 溶液:

[0405] 凝胶-染料混合物(染色溶液):

[0406] 25 μ L的230plus染料浓缩物加入到蛋白质230plus凝胶基质管中。良好涡旋,然后管降速15秒。转移到旋转滤器并2500rpm离心至少20分钟。溶液可投入使用。溶液储存在+5 \pm 3 $^{\circ}$ C不超过4周。

[0407] 脱色液:

[0408] 吸取650 μ L凝胶基质加入成旋转滤器中。2500rpm离心至少25分钟。溶液储存在+5 \pm 3 $^{\circ}$ C不超过4周。

[0409] 样品缓冲液:

[0410] 建议将200 μ L样品缓冲器分成25 μ L的等分试样并解冻等分试样用于各芯片。-20 $^{\circ}$ C存储样品缓冲液储液和等分试样,不超过由供应商提供的到期日期。

[0411] 马来酰亚胺储液:

[0412] 在1mL MilliQ水中溶解23.4毫克的马来酰亚胺(0.24M)。良好涡旋溶液。接着用MilliQ水1:4稀释该溶液。(例如50 μ L储液+150 μ L MilliQ)。稀释的马来酰亚胺溶液的最终浓度为60mM。(由于该溶液的稳定性没有可用数据,必须在每个分析阶段之前新鲜制备)。

[0413] OTf-溶液:

[0414] 为了分析阿达木单抗样品,必须用1M DTT制备还原溶液,因此在1ml MilliQ水中溶解154.0毫克DTT。

[0415] 非还原溶液:

[0416] 样品缓冲等分试样(25 μ L)中加入1 μ L的MilliQ水并涡旋5秒。制备当天之内的使用该非还原溶液。

[0417] 还原溶液:

[0418] 样品缓冲等分试样(25 μ L)中加入相应DTf-溶液并涡旋5秒。制备当天之内的使用该还原溶液。

[0419] 样品制备:

[0420] ●以2.4-3mg/ml的浓度分析样品。

[0421] ●如果有必要可用Milli Q水将样品稀释到目标浓度。

[0422] 按试剂盒指南使用还原和非还原样品缓冲液根据试剂盒指南中的说明书和上述内容制备样品。强烈建议使用不同于指南的更大的体积以实现可重复的准确结果。如下报

道如何制备梯度和样品的示例：

[0423] 样品制备溶液还原和非还原条件

[0424]

| 试剂 | 体积 μl | 总体积 μL |
|--------------------------------------|------------------|-------------------|
| 3mg/ml 稀释的样品 | 3 μL | 6 μL |
| 样品缓冲液（还原或非还原） | 2 μL | |
| 马来酰亚胺溶液 | 1 μL | |
| 样品已（通过涡旋）良好混合并降速。所有样品和梯度与 70℃加热 5 分钟 | | |
| MilliQ 水 | 84 μL | 90 μL |
| 良好涡旋并降速，加载 6 μL 所有样品和梯度 | | |

[0425] 注1：对于浓度为2.4mg/mL-3.0mg/mL的IPC，样品制备如上表所示，但样品加热后加入的MilliQ水的体积经计算以达到0.1mg/ml的最终蛋白质浓度。

[0426] 2.4-3.0mg/mL的浓度样品的样品制备的示例如下所示：

[0427] 样品制备溶液还原和非还原条件

[0428]

| 试剂 | 体积 μL | 总体积 μL |
|--------------------------------------|------------------|-------------------|
| 样品（2.6 mg/ml） | 3 μL | 6 μL |
| 样品缓冲液（还原或非还原） | 2 μL | |
| 马来酰亚胺溶液 | 1 μL | |
| 样品已（通过涡旋）良好混合并降速。所有样品和梯度与 70℃加热 5 分钟 | | |
| MilliQ 水 | 72 μL | 78 μL |
| 良好涡旋并降速，加载 6 μL 所有样品和梯度 | | |

[0429] 注2：所有的孔都经加载。如果样品数目小于可用孔，空孔可用于其他重复或空白样品。

[0430] 制备系统和芯片：

[0431] -为了在分析前后清理系统，用60011L MilliQ水填充“电极清洗器”，并将其放入Agilent 2100生物分析仪，盖上盖子并让系统停止。无需进一步操作。

[0432] -调节芯片初始位置的底板到位置“A”和注射器夹到其中间位置。

[0433] 制品芯片

[0434]

| |
|---|
| 系统准备 |
| 在初始位置插入新蛋白质芯片 |
| 在 G 标记的孔中移液 12 μL 凝胶-染料混合物（右上） |

[0435]

| |
|--|
| 在 1mL 处设置活塞并靠近芯片初始位置 |
| 压活塞直到其被芯片保持住 |
| 等待 60 秒然后释放芯片 |
| 等待 5 秒并缓慢拉回活塞至 1mL 标记处 |
| 打开芯片初始位置 |
| 从此孔中移出溶液 |
| 在 G 标记的孔中（右上）和 G 标记的所有剩余孔中移液 12 μ L 凝胶-染料混合物 |
| 在 DS 标记的孔中移液 12 μ L 脱色液 |

[0436] 加载梯度和样品：

[0437] -将6 μ L每个样品转移到样品孔中并将6 μ L梯度加入专用孔，其用梯度符号明确标注。

[0438] 芯片放入Agilent 2100生物分析仪，5分钟内开始分析。

[0439] 样品组示例

[0440]

| 孔 | 样品 | 量 μ L |
|----|-----------|-----------|
| 1 | 空白 | 6 |
| 2 | 空白 | 6 |
| 3 | 未知样品1重复1 | 6 |
| 4 | 未知样品1重复2 | 6 |
| 5 | 未知样品2重复1 | 6 |
| 6 | 未知样品2重复2 | 6 |
| 7 | 未知样品3重复1 | 6 |
| 8 | 未知样品3重复2 | 6 |
| 9 | 当前参考材料重复1 | 6 |
| 10 | 当前参考材料重复2 | 6 |
| 梯度 | 梯度 | 6 |

[0441] 数据分析和结果评价：

[0442] 为了获得结果，必须执行以下最少操作

[0443] ●在特定的位置放置芯片，并盖上盖子。

[0444] ●在仪器菜单中选择分析-电泳-蛋白-蛋白230Plus。

[0445] ●点击START开始分析，在30分钟内完成。

[0446] ●通过点击“数据分析”显示原始数据，列出该天进行的所有实验。点击感兴趣的实验并选择。

[0447] ●从所选择的实验中产生的凝胶会被自动打开。

[0448] ●数据可以显示为一个电泳图谱或凝胶状图像。

[0449] 关于在电泳图谱(以获得纯度数据)中峰的积分的详细信息包括在软件手册中。样品的纯度由系统通过自动积分而自动给出,但如果需要,可以应用手动积分。

[0450] 结果:

[0451] 在非还原条件下,结果显示为纯度%和LMW%(单体前峰的总和)。

[0452] 在还原条件下,结果表示为纯度%,作为重链和轻链的总和。

[0453] 指示分子量值列于下表:

[0454] 阿达木单抗的指示分子量

[0455]

| 条件 | 结果 | KDa |
|-----|----|-----|
| 非还原 | 单体 | 151 |
| 还原 | LC | 27 |
| | HC | 58 |

[0456] 2.解折叠温度-DSF

[0457] DSF(差示扫描荧光)如下进行:

[0458] 2微升Sypro橙(橙色蛋白质凝胶染色,编号S6650,生命科学公司)于注射用水中预先稀释500倍,然后加入到20微升药物产品溶液中。加入Sypro橙后,用DP溶液(一式三份制备)填充96孔板(MicroAmp快速96-W反应板0.1mL,编号4346907)。然后将板用保护性透明盖密封(MicroAmp光学粘附膜,编码4311971),然后进行离心以除去气泡。然后将板插入7500快速实时AB应用生物系统并在从室温到90-100℃的温度扫描发射概况。荧光发射的强度对温度的依赖性通常是通常在变性温度处(用于比较不同组合物的参数)显示反转点/不连续的曲线。

[0459] 3.异构体谱-iCE280

[0460] 通过iCE280的cIEF(异构体谱):纯化并在Amicon Ultra-4离心设备中离心除去盐后(截止值为10kDa),用纯化水将样品预稀释至5.0mg/mL的浓度。然后用包含下述的溶液进行第二稀释至1.0mg/mL:甲基纤维素,Pharmalyte 5-8(GE健康公司)上、Pharmalyte 8-10.5(GE健康公司)、低pI标志物7.05(蛋白样品公司),高PI标志物9.50(蛋白样品公司)和纯化水。稀释后,将样品以10000rpm离心3分钟。然后在转移至玻璃插件中的150微升各样品上进行另一离心步骤(以7000rpm 2分钟)。用蛋白样品公司的iCE280系统进行cIEF(毛细管等电聚焦),使用有100微米ID涂层和总长50nm的毛细管筒Fc(蛋白样品公司,产品编号101700/101701)。各种同种型的分离使用100mM氢氧化钠(0.1%甲基纤维素中)作为阴极溶液和使用80mM邻-磷酸(0.1%甲基纤维素中)作为阳极溶液来实现。以预聚焦和聚焦时间分别为1和6分钟用1500V(预聚焦)和3000V(聚焦)的电压在280nm处获得电泳。

[0461] 4.蛋白质含量-OD

[0462] OD(蛋白质含量)测量是在最初按比重(gravimetrically)稀释的样品上进行(制备一式三份独立的稀释液),相关的缓冲器或安慰剂从起始浓度至约10mg/mL。在0.1径长的石英比色皿中测试稀释溶液在280和320nm的吸光度,室温,用双光束分光光度计(Perkin Elmer公司的Lambda35)。值1.35用作阿达木单抗的摩尔消光系数。

[0463] 5. 聚集体测定-SE-HPLC

[0464] 将样品用DPBS 1×稀释到0.5mL的浓度并注入 (20微升注射体积) Tosoh的柱TSK凝胶超级SW30004.6mm ID X30.0cm编号18675中维持等度条件 (流动相:50mM的磷酸钠+0.4M高氯酸钠,pH 6.3±0.1)。UV检测在214nm处以0.35mL的流速进行。每个分析运行时间为15分钟。在分析之前在Waters Alliance HPLC系统的自动进样器中将样品保持在2-8℃用于本测试。

[0465] 6. 浊度-比浊法

[0466] 在室温下用Hach的2100AN IS浊度计通过比浊法 (基于由尺寸典型地<1微米的颗粒引起的光扩散效果) 测量来评估浊度。最小量的3mL溶液置于减小体积的玻璃试管总并在用一系列标准溶液 (0.1-7500NTU) 校准仪器后测试扩散效果。

[0467] 7. 渗透压测定-渗透压

[0468] 渗透压基于溶液的冰点降低特性进行测量。该试验通过用Gonotech的Osmomat 030-D使50微升样品冻结来进行。冷冻温度取决于该溶液的渗透压 (即, 取决于存在的溶解试剂, 如盐、糖、其它离子和非离子物质等)。

[0469] 8. pH的测定-pH

[0470] 通过室温下用Mettler Toledo Seven Multi pH计进行的电势测量来测定pH值。

[0471] 9. 颗粒计数-亚可见颗粒

[0472] 用纯水将样品5倍稀释至25mL的最终体积。颗粒数目通过Aminstruments的PAMAS SVSS室温下测定, 收集四个独立运行并针对各感兴趣的尺寸分数对结果进行平均。

[0473] 实施例1-用于第一制剂筛选的制剂

[0474] 下面的第一组制剂 (在本文中经常引用为DoE1制剂) 示于下表1中。

[0475] 表1: 用于后续筛选试验1的DoE1制剂列表

[0476]

| 制剂编号 | 盐 (NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲液类型 (10 mM) | pH | 稳定剂 |
|------|------------------|---------------|-----|------------------------------|
| 18 | 25 | 组氨酸 | 6.0 | 海藻糖二水合物(200 mM) |
| 19 | 50 | 组氨酸 | 6.0 | 盐酸赖氨酸(100 mM) |
| 20 | 100 | 组氨酸 | 6.0 | 甘露醇 (200 mM) |
| 21 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 盐酸赖氨酸(100 mM) |
| 22 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 单盐酸精氨酸 + 天冬氨酸(80 mM + 20 mM) |
| 23 | 75 | 组氨酸 | 6.2 | 海藻糖二水合物(200 mM) |
| 24 | 25 | 组氨酸 | 6.4 | 甘露醇 (200 mM) |
| 25 | 100 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) |

[0477] 表1的制剂的制备从预配制、不含表面活性剂的DS材料开始。

[0478] DS的等分试样用pH 6.0的10mM组氨酸缓冲液渗滤, 直到实现与缓冲器的三倍体积

交换。然后将所需的赋形剂添加到缓冲交换DS材料,并通过加入氢氧化钠的稀溶液调节到目标pH。各制剂通过0.22 μ m PES滤器过滤。

[0479] 在表2中,报道了三缓冲液交换DS材料在材料回收率和渗透压方面的结果。

[0480] 表2:缓冲液交换后DS材料的回收率和渗透压

[0481]

| 缓冲液 | 起始 DS 体积 (mL) | 起始 DS 浓度 (mg/mL) | 处理的蛋白质 (mg) | 交换后 | | | 回收率 (%) | 渗透压 (mOsm/kg) |
|-----|---------------|------------------|-------------|----------|-------------|-------------|---------|---------------|
| | | | | 终体积 (mL) | 终浓度 (mg/mL) | 回收的蛋白质 (mg) | | |
| 组氨酸 | 200 | 63.3 | 12660 | 180 | 65.2 | 11736 | 93 | 30 |

[0482] 组氨酸缓冲系统具有优良的回收率($\leq 90\%$)。该渗透压值表示缓冲交换达到满意的程度,而来自原始DS的物质残留最少。

[0483] 实施例2-用于第二制剂筛选的制剂

[0484] 下面的第二组制剂(在本文中经常引用为DoE2制剂)示于下表3中(源自下表4)。

[0485] 表3:用于后续筛选试验2的DoE2制剂列表(制剂源自表4中具有额外指示表面活性剂的那些)

[0486]

| 制剂 | 聚山梨酯 80 浓度 (mg/mL) | | |
|-------------------|--------------------|-----|---|
| | 0 | 0.5 | 1 |
| 制剂 7 (源自表 4 制剂 C) | X | - | - |
| 制剂 8 (源自表 4 制剂 C) | - | x | - |
| 制剂 9 (源自表 4 制剂 C) | - | - | x |

[0487] 表4:源自从DoE1筛选的制剂原型

[0488]

| 制剂 | 盐 (NaCl) mM | 缓冲液类型 (10mM) | pH | 稳定剂 |
|----|-------------|--------------|-----|-----------------|
| C | 100 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物 (200mM) |

[0489] DoE2制剂(表3)的制备从预配制、不含表面活性剂的DS材料开始。

[0490] 三个DS的等分经渗滤,直到实现三倍体积交换。然后将所需的赋形剂添加到缓冲交换DS材料,并通过加入氢氧化钠的稀溶液调节到目标pH。各制剂通过0.22 μ m PES滤器过滤。

[0491] 在表5中,报道了缓冲液交换DS材料在渗透压和浊度方面的结果。

[0492] 该渗透压值(≤ 40 mOsm/kg)表示缓冲交换达到满意的程度,而来自原始DS的物质残留最少。

[0493] 表5:缓冲液交换后DS材料的渗透压和浊度

[0494]

| 缓冲液 | 浊度 (NTU) | 渗透压 (mOsm/kg) |
|-----|-------------|------------------|
| 组氨酸 | 50 | 26 |

[0495] 实施例3-用于第一和第二筛选的比较制剂

[0496] 为了比较和对照目的,制备或获得三种参考制剂,包括Ref-1(由申请人制造的Humira®组合物);Ref-2(来自美国的RMP US - Humira®商购药品);以及Ref-3(来自EU的RMP EU - Humira®商购药品)。所有这些参考制剂的具有表6中所示的组合物。

[0497] 表6:Humira DP的组成

[0498]

| 成分 | 每容器含量(mg) (填充体积= 0.8 mL) | 含量(mg/mL) |
|-----------|--------------------------|-------------------|
| 阿达木单抗 | 40 | 50 |
| 一水合柠檬酸 | 1.04 | 1.3 |
| 二水合磷酸氢二钠 | 1.22 | 1.53 |
| 甘露醇 | 9.6 | 12 |
| 二水合磷酸二氢钠 | 0.69 | 0.86 |
| 聚山梨酯 80 | 0.8 | 1 |
| 氯化钠 | 4.93 | 6.16 |
| 柠檬酸钠 | 0.24 | 0.3 |
| WFI 和氢氧化钠 | q.b. 以调节 pH 至 5.2 | q.b. 以调节 pH 至 5.2 |

[0499] 筛选

[0500] 第一制剂筛选 (DoE1) 实现对负责蛋白质的稳定性的各种因素(如pH、存在氯化钠、赋形剂类型)的鉴定,并最终实现对进行第二筛选 (DoE2) 的制剂的选择,试图精细调节制剂并评估表面活性剂(如聚山梨酯80)如何影响蛋白质的稳定性。

[0501] 两个筛选各涉及在暴露于长时间(例如,1个月)的各种水平的热、机械和光应力的不同制剂范围上进行多种分析测试,如前所述并在后文参考。这些制剂筛选收集到大量数据,提供了令人惊讶的和有价值的内容,允许开发新的有利制剂。

[0502] 两种制剂筛选的结果如下所述。

[0503] 筛选实验1-针对实施例3的比较制剂分析和筛选实施例1制剂

[0504] 初步DoE筛选(步骤1)评估离子强度(由氯化钠提供)、pH值和不同的稳定剂在短期稳定性研究的过程中对蛋白质的影响。

[0505] 已应用响应面D-最优统计设计。考虑三个参数:

[0506] -离子强度(由氯化钠浓度驱动,其在25mM-100mM的范围中变化并设定为数字因子);

[0507] -调查pH值(范围4.6-6.4,由组氨酸缓冲);

[0508] -稳定剂/赋形剂(包括下述数个水平的明确因素:盐酸赖氨酸、精氨酸+天冬氨酸、甘露醇、海藻糖二水合物)。

[0509] 如实施例1中所述制造这些制剂,从DS开始而没有聚山梨酯80并因此无表面活性剂。

[0510] 下面表7概括本筛选中测试的制剂。除了提出的8种制剂之外,两个对照也经分析作为比较:

[0511] ●Humira的商购药物产品“DP”(按照上述实施例3配制)

[0512] ●MS药物物质“DS”配制成Humira的商购DP(按照上述实施例3配制)

[0513] 表7:通过热应力条件(在40℃的稳定性)和蛋白质解折叠温度(DSF)的高通量测定而筛选的DoE1制剂(步骤1)的列表。

[0514]

| 制剂编号 | 盐(NaCl)浓度(mM) | 缓冲剂类型(10 mM) | pH | 稳定剂 |
|-------|-------------------------------------|--------------|-----|------------------------------|
| 18 | 25 | 组氨酸 | 6.0 | 海藻糖二水合物(200 mM) |
| 19 | 50 | 组氨酸 | 6.0 | 盐酸赖氨酸(100 mM) |
| 20 | 100 | 组氨酸 | 6.0 | 甘露醇 (200 mM) |
| 21 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 盐酸赖氨酸(100 mM) |
| 22 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 单盐酸精氨酸 + 天冬氨酸(80 mM + 20 mM) |
| 23 | 75 | 组氨酸 | 6.2 | 海藻糖二水合物(200 mM) |
| 24 | 25 | 组氨酸 | 6.4 | 甘露醇 (200 mM) |
| 25 | 100 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) |
| Ref-1 | Humira 组合物 (用 MS 药物物质制备的制剂) - 实施例 3 | | | |

[0515]

| | |
|----------------|----------------------------|
| (MS) | |
| Ref-2 (RMP US) | Humira 商购 DP (USA) - 实施例 3 |
| Ref-3 (RMP EU) | Humira 商购 DP (EU) - 实施例 3 |

[0516] 制剂按照表8所报告的方案进行测试。考虑40℃热应力高达1个月。在T0进行用DSF技术(旨在依据蛋白质解折叠温度测定而快速筛选)的高通量评估。

[0517] 表8:对初步DoE制剂上进行的分析试验组(步骤1):1个月的40℃热应力条件。

[0518]

| 加速试验(40°C) | | 稳定时间(周) | | |
|------------|-------|---------|----|----|
| 方法 | 测试 | 0 | 2w | 4w |
| OD | 含量 | x | - | x |
| SE-HPLC | 聚集体 | x | x | x |
| 生物分析仪 | 纯度 | x | x | x |
| pH | pH | x | x | x |
| 渗透压 | 渗透压 | x | - | - |
| DSF | 解折叠温度 | x | - | - |

[0519] 1.1渗透压筛选

[0520] 从缓冲交换DS材料开始(5.1.1部分)的复合DoE1制剂的渗透压列于表9。

[0521] 发现多数制剂的渗透压的范围内为250-400mOsm/kg,而在最高氯化钠浓度中观察到略高的值。

[0522] 表9:在时间0记录的DoE1筛选制剂的渗透压(毫渗量/KQ)

[0523]

| 制剂编号 | 盐 (NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲剂类型 (10 mM) | pH | 稳定剂 | 时间 0 |
|-----------------------------------|------------------|---------------|-----|------------------------------|-------|
| 18 | 25 | 组氨酸 | 6.0 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0.324 |
| 19 | 50 | 组氨酸 | 6.0 | 盐酸赖氨酸(100 mM) | 0.317 |
| 20 | 100 | 组氨酸 | 6.0 | 甘露醇 (200 mM) | 0.458 |
| 21 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 盐酸赖氨酸(100 mM) | 0.317 |
| 22 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 单盐酸精氨酸 + 天冬氨酸(80 mM + 20 mM) | 0.307 |
| 23 | 75 | 组氨酸 | 6.2 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0.434 |
| 24 | 25 | 组氨酸 | 6.4 | 甘露醇 (200 mM) | 0.307 |
| 25 | 100 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0.496 |
| 内部参照(Humira 组合物, Merck Serono DS) | | | | | 0.374 |
| RMP (USA) Humira | | | | | NA |
| RMP (EU) Humira | | | | | 0.310 |

[0524] 1.2蛋白质含量 (OD)

[0525] DoE1制剂的蛋白质含量在40℃下于时间0和1个月后测定。

[0526] 图1显示DoE1制剂(实施例1)的蛋白质含量 (mg/mL) 的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(蓝色柱,时间=0)和4周后(红色柱),制剂经40℃加热。

[0527] 结果在图1所示,表明随时间无显著变化。所有品系的浓度为目标50mg/mL。

[0528] 1.3聚集性 (SE-HPLC)

[0529] 图2显示SE-HPLC所确定的DoE1制剂(实施例1)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(绿色柱)和4周(橙色柱)后,制剂经40℃加热。40℃下随着稳定性通过SE-HPLC观察到的总聚集体以图形表示在图2中。在所有的制剂中观察到最小的聚集增加。然而,即使是1个月后,所有聚集水平低于1%。

[0530] 1.4片段化(生物分析仪)

[0531] 图3显示SE-HPLC所确定的DoE1制剂(实施例1)的片段%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(深色柱,时间=0)以及2周(粉色柱)和4周(浅绿柱)后,制剂经40℃加热。

[0532] 在图3中,报道生物分析仪确定的随时间的片段变化。在更酸性pH的制剂趋向于经历更快的片段化速率。此外,在该pH范围内氨基酸的存在可显著恶化稳定性概况。

[0533] 在pH>6.0和存在糖/多元醇时,所有的制剂(包括参考)均相当(40℃1个月后碎片低于1%)。

[0534] 未发现范围25-100mM的氯化钠是稳定性的关键因素。

[0535] 1.5pH筛选

[0536] 表10示出了DoE1制剂(实施例1)与参考标准(代表比较物HUMIRA®制剂)在任意开始点的pH(时间=0)和制剂在40℃加热2周与4周之后的pH。

[0537] 从表10可以看出,没有观察到从目标pH的偏差。

[0538] 表10:40℃时随着稳定性测定的DoE1筛选制剂的pH

[0539]

| 制剂 编号 | 盐 (NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲剂 类型(10 mM) | pH | 稳定剂 | 稳定性时间 | | |
|----------|---------------------------|---------------------|-----|------------------------------|-------|-----------------|-----------------|
| | | | | | 时间 0 | 2 周 40° C | 4 周 40° C |
| 18 | 25 | 组氨酸 | 6.0 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 6.0 | 5.9 | 6.0 |
| 19 | 50 | 组氨酸 | 6.0 | 盐酸赖氨酸(100 mM) | 6.0 | 6.0 | 6.0 |
| 20 | 100 | 组氨酸 | 6.0 | 甘露醇 (200 mM) | 6.0 | 6.0 | 6.0 |
| 21 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 盐酸赖氨酸(100 mM) | 6.2 | 6.2 | 6.2 |
| 22 | 50 | 组氨酸 | 6.2 | 单盐酸精氨酸 + 天冬氨酸(80 mM + 20 mM) | 6.2 | 6.2 | 6.2 |
| 23 | 75 | 组氨酸 | 6.2 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 6.3 | 6.2 | 6.2 |

[0540]

| | | | | | | | |
|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----------------|-----|-----|-----|
| 24 | 25 | 组氨酸 | 6.4 | 甘露醇 (200 mM) | 6.4 | 6.4 | 6.4 |
| 25 | 100 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 6.4 | 6.4 | 6.4 |
| 内部参照(Humira 组合物, Merck Serono DS) | | | | | 5.2 | 5.2 | 5.2 |
| RMP (USA) Humira | | | | | 5.3 | 5.3 | 5.3 |
| RMP (EU) Humira | | | | | 5.3 | 5.3 | 5.3 |

[0541] 1.6解折叠温度 (DSF)

[0542] DSF是高通量方法,其通过随着施加到样品上的温度梯度而增加与荧光探针的相互作用来测定蛋白质的解折叠温度。当蛋白质开始解折叠,它会逐步暴露的疏水点至溶剂中,吸引荧光探针,后者将从溶液中的游离状态(非荧光)变为与蛋白质的结合状态(通过疏水相互作用),因此增加荧光信号程度。

[0543] 从荧光信号的评价可能确定S形曲线的中点,它表示各制剂的转变点。预计转变点越高,制剂对热应力的抗性越高。

[0544] 在DoE1筛选制剂上进行的评估的结果列于图4。图4显示DSF所确定的DoE1制剂(实施例1)的解折叠温度(℃)的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂)。

[0545] 三个参考制剂的解折叠温度是71-72℃。除了参考,很少的制剂有超过70℃的解折叠温度,但确实包括:

[0546] ●制剂23、24和25 (不同氯化钠浓度下的pH 6.2-6.4组氨酸缓冲液+海藻糖二水合物或D-甘露醇的制剂)

[0547] 因此,该试验证实先前通过生物分析仪对片段化获得的结果:多元醇/糖可正向影响蛋白质的热稳定性,特别是在pH≥6.2时,而氯化钠似乎并不显著影响其行为。

[0548] 1.7异构体谱变化与RMP

[0549] DoE筛选制剂25的异构体谱已在40℃下10-11周后测试,并与参考样品比较。

[0550] 主峰和酸性簇变化的数据如表11所示。

[0551] 所测的4种样品获得相当的变化,制剂25 (组氨酸中) 的表现稍好。

[0552] 表11:iCE280测定的DoE筛选1中最有前景的制剂和参考的异构体谱

[0553] 主峰

[0554]

| ID | 时间0 | 10周 (40℃) | 11周 (40℃) |
|---------------|------|-----------|-----------|
| DoE1-25 | 56.5 | - | 42.2 |
| Ref-1 (MS) | 55.8 | 38.5 | - |
| Ref-3RMP (EU) | 56.5 | 40.7 | - |
| Ref-2RMP (US) | 56.8 | 40.6 | - |

[0555] 酸性簇

[0556]

| ID | 时间0 | 10周 (40℃) | 11周 (40℃) |
|---------------|------|-----------|-----------|
| DoE1-25 | 19.5 | - | 36.9 |
| Ref-1 (MS) | 19.8 | 40.5 | - |
| Ref-3RMP (EU) | 19.5 | 38.9 | - |
| Ref-2RMP (US) | 20.2 | 39.8 | - |

[0557] 筛选实验1的结论

[0558] 从生物分析仪和DSF测试中得到的结果通过ANOVA模型就响应面进行组合评估,以确定可能保证最高热稳定性的蛋白质的最佳组合物。

[0559] 推荐的组合物的列于表12,其还比较所得的原型制剂与Humira RMP在40℃1个月以上的解折叠温度和片段化改变方面的性能。

[0560] 制剂C对应于DoE1制剂25并报道实时数据。

[0561] 比较这些制剂和RMP可以得出结论,这些原型制剂响应热应力的行为与RMP观察的相当。

[0562] 表12:DoE1实验的结果:用于二次筛选的推荐组合物

[0563]

| 制剂 | 盐(NaCl) mM | 缓冲剂类 型(10 mM) | pH | 稳定剂 |
|----|---------------|---------------------|-----|-----------------|
| C | 100 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) |

[0564] 多少有些出人意料的是,含有海藻糖二水合物作为唯一稳定剂的制剂表现极为出色,尤其是在片段抑制、解折叠抑制和pH维持方面。这种基于海藻糖的制剂也表现出在聚集和沉淀方面良好的性能。海藻糖是稳定剂的强有力的候选,特别其自身的抗氧化性能赋予阿达木单抗制剂进一步长期的化学稳定性(特别对于氧化和/或光氧化),将非常有前景。此外,海藻糖可以单独使用,但仍然表现出优异的性能,被认为是特别令人鼓舞的,并且为使用更少的组分制备不太复杂的制剂铺平了道路-这将继而减少与生产相关的阿达木单抗药物产品相关的加工和成本。因此,这些基于海藻糖的制剂用于第二轮筛选实验以精细调节制剂。

[0565] 筛选实验2-针对实施例3的比较制剂分析和筛选实施例2制剂

[0566] 上一筛选确定制剂原型(表12)。由于上一步骤中没有加入表面活性剂,第二步骤目的是筛选一系列水平的混配聚山梨酯80表面活性剂(范围:0-1mg/mL),从而评估是否需要添加表面活性剂来有利于蛋白质的稳定性。

[0567] 表3(实施例2)概括了研究的第二个步骤的设计,并列出在第二次筛选运行中测试的制剂(DoE2制剂)。

[0568] 典型地,已观察到表面活性剂对比机械应力引起的聚集,并且已经因此执行了振荡应力测试从而评估聚山梨酯80如何影响蛋白质的稳定性和响应振荡。

[0569] 作为第1步骤,还评估在实施例3中记载的参考组合物,从而提供新制剂的开发基准。

[0570] 在该区域制剂上进行的分析的完整列表示于表13。在该第二筛选中,相应制剂暴露于三种不同类型的应力、热、机械和光。

[0571] 表13:分析测试组在DoE2制剂上进行(步骤2):1个月的40℃热应力条件(A),200rpm振荡应力(B)和按照ICH Q1B的光暴露应力(C)。

[0572] A.40℃热应力

[0573]

| 加速(Accelerated)(40°C) | | 稳定时间(周) | | |
|-----------------------|-----|---------|----|----|
| 方法 | 测试 | 0 | 2w | 4w |
| OD | 含量 | x | - | x |
| iCE280 | 同种型 | x | x | x |
| SE-HPLC | 聚集物 | x | x | x |
| 生物分析仪 | 纯度 | x | x | x |
| pH | pH | x | x | x |
| 渗透压 | 渗透压 | x | - | - |

| | | | | | |
|--------|-----|-------|---|---|---|
| [0574] | 比浊法 | 浊度 | x | x | x |
| | DSF | 解折叠温度 | x | - | - |

[0575] B. 振荡应力条件

| 振荡应力(200 rpm) | | 稳定时间 (小时) | | |
|---------------|-----|-----------|------|------|
| 方法 | 测试 | 0 | 24 h | 48 h |
| [0576] OD | 含量 | x | - | - |
| SE-HPLC | 聚集物 | x | x | x |
| 生物分析仪 | 纯度 | x | x | x |
| pH | pH | x | x | x |
| 比浊法 | 浊度 | x | x | x |

[0577] C. 765W/m²光暴露7小时 (ICH Q1B)。

| 光暴露 | | 样品 | |
|-----------|-----|------|----|
| 方法 | 测试 | 时间 0 | 暴露 |
| [0578] OD | 含量 | x | - |
| iCE280 | 同种型 | x | x |
| SE-HPLC | 聚集物 | x | x |
| 生物分析仪 | 纯度 | x | x |
| pH | pH | x | x |
| 比浊法 | 浊度 | x | x |

[0579] 热应力测试通过简单地在规定的温度下加热相关制剂的样品持续规定的时间 (通常为2周或4周/1个月) 来进行。

[0580] 机械应力试验通过简单地在室温下机械地以200rpm振荡相关制剂的样品持续规定的期间 (通常为24小时或48小时) 来进行。

[0581] 光应力试验通过简单地将相关制剂的样品暴露于765W/m²光 (按照欧洲药品管理局有关新活性物质和医药产品光稳定性测试的ICH Q1B的指南) 持续7小时来进行。

[0582] 2.1渗透压

[0583] 所述DoE2筛选制剂的渗透压示于表14。包括在范围378-401mOsm/kg内的值可能高估,这是由于海藻糖二水合物的存在可导致粘度的一些增加,影响溶液的近冰点和渗透压。这通过相对于其他测试制剂进行测量来确认,其在渗透压测试之前用WFI 3倍稀释,从而降低粘度:所有这些试剂的实际渗透压<350mOsm/kg。

[0584] 表14:DoE2筛选制剂的渗透压 (测试的未稀释)

[0585]

| 制剂编号 | 盐 (NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲 剂类 型(10 mM) | pH | 稳定剂 | 表面活性剂 (聚山梨酯 80) 浓度 (mg/mL) | 时间 0 |
|--------|---------------------------|-------------------------|-----|-----------------|-------------------------------------|------|
| DoE2-7 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0 | 381 |
| DoE2-8 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0.5 | 381 |
| DoE2-9 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 1 | 378 |

[0586] 2.2蛋白质含量 (OD)

[0587] 时间0处的所有DoE2制剂的蛋白含量与50mg/mL的蛋白质浓度目标一致(表15)。

[0588] 表15:DoE2筛选制剂的蛋白质含量 (OD) (测试的未稀释)

[0589]

| 制剂编号 | 盐 (NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲 剂类 型(10 mM) | pH | 稳定剂 | 表面活性剂 (聚山梨酯 80) 浓度 (mg/mL) | 时间 0 |
|--------|---------------------------|-------------------------|-----|-----------------|-------------------------------------|------|
| DoE2-7 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0 | 49.9 |
| DoE2-8 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0.5 | 50.2 |
| DoE2-9 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 1 | 50.4 |

[0590] 2.3热应力的聚集体 (SE-HPLC)

[0591] SE-HPLC所测的总聚集体变化示于图5。图5显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(红色柱,时间=0)以及2周(绿色柱)和4周后(紫色柱),制剂经40℃加热。

[0592] 观察到所有制剂发生最小的变化,40℃1个月后总聚集体低于1%。

[0593] DoE2筛选制剂的性能与RMP材料的性能相当/稍好。

[0594] 2.4热应力的片段化(生物分析仪)

[0595] 生物分析仪所测的片段的变化示于图6。图6显示Bioanalyzer所确定的DoE2制剂(实施例2)的片段%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0596] 制剂DoE2-7(无聚山梨酯80)的片段持续增加,而其他两个含有表面活性剂的制剂与RMP材料相当。考虑到制剂#25(与DoE2的制剂7相当)的DoE1实验的数据,可得出结论:DoE2-7的降解的增加可能是由样本的污染引起的。

[0597] 2.5热应力的异构体谱(iCE280)

[0598] 三种试剂40℃持续1个月的主峰和酸性簇变化分别示于图7和图8。

[0599] 图7显示iCE280分析所确定的DoE2制剂(实施例2)的主峰异构体谱的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0600] 图8显示iCE280分析所确定的DoE2制剂(实施例2)的酸性簇异构体谱的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0601] DoE2-7中观察到了最大的变化(主峰-15%),但如上所述,这种变化可能是由样本

的污染引起的。

[0602] 这些结果证实了已经由iCE280在原型制剂上突出显示了的实验证据(第一筛选结果):组氨酸中的制剂在异构体谱方面具有与RMP相当的降解速率。

[0603] 酸性簇方面的结果与针对主峰的观察一致。

[0604] 2.6热应力的pH筛选

[0605] 制剂在40℃加热一段期间的DoE2制剂(实施例2)的pH变化示于表16。

[0606] 如表16所示,DoE2-7中观察到了pH的降低。这可能是由样本中的污染/细菌增殖引起的。

[0607] 表16:DoE2筛选:pH值(40℃热应力)

[0608]

| 制剂编号 | 盐 (NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲 剂类型(10 mM) | pH | 稳定剂 | 表面活性剂(聚 山梨酯 80) 浓度 (mg/mL) | 时间 0 | 2 周 (40℃) | 4 周 (40℃) |
|--------|---------------------------|---------------------|-----|------------------------|-------------------------------------|------|--------------|------------------|
| DoE2-7 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水 合物(200 mM) | 0 | 6.4 | 4.3 | 4.3 |
| DoE2-8 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水 合物(200 mM) | 0.5 | 6.4 | 6.4 | 6.4 |
| DoE2-9 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水 合物(200 mM) | 1 | 6.4 | 6.4 | 6.4 |

[0609] 2.7热应力的浊度(比浊法)

[0610] 图9显示比浊法所确定的DoE2制剂(实施例2)的浊度的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及2周(红色柱)和4周后(绿色柱),制剂经40℃加热。

[0611] 时间0处三种制剂的浊在通常乳白色溶液的范围(6-18NTU)。关于典型浊度19-52NTU的原始DS材料,无菌过滤后的DP溶液相当澄清。

[0612] 重要的是,Humira RMP的浊度值通常约为10NTU,与我们的制剂一致。

[0613] 2.8机械应力的聚集体(SE-HPLC)

[0614] 图10显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及24小时(红色柱)和48小时后(绿色柱),制剂经机械搅动(振荡)。

[0615] SE-HPLC所测的总聚集体的变化示于图10。

[0616] 组氨酸缓冲液中的所有制剂均观察到了微小的变化(+0.1%)。

[0617] 2.9机械应力的片段化(生物分析仪)

[0618] 图11显示Bioanalyzer所确定的DoE2制剂(实施例2)的片段化%的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及24小时(红色柱)和48小时后(绿色柱),制剂经机械搅动(振荡)。

[0619] 生物分析仪所测的片段的变化示于图11。观察到最小的变化,所有记录值等于或

低于0.5%。

[0620] 室温振荡48小时后,所有样品显示出范围0.2-0.4%的片段化。机械振荡后没有突出显示趋向片段化的趋势。

[0621] 2.10机械应力的pH筛选

[0622] 制剂经机械搅动(振荡)一段期间的DoE2制剂(实施例2)的pH变化示于表17。没有观察到变化。

[0623] 表17:DoE2筛选:pH(机械振荡)

[0624]

| 制剂 编号 | 盐(NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲剂 类型 (10 mM) | pH | 稳定剂 | 表面活性 剂(聚山 梨酯 80) 浓度 (mg/mL) | 时间 0 | 24 小时 | 48 小时 |
|------------|-----------------------|-------------------------|-----|---------------------|---|---------|----------|----------|
| DoE 2-7 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物 (200 mM) | 0 | 6.4 | 6.5 | 6.5 |
| DoE 2-8 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物 (200 mM) | 0.5 | 6.4 | 6.4 | 6.4 |
| DoE 2-9 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物 (200 mM) | 1 | 6.4 | 6.4 | 6.4 |

[0625] 2.11机械应力的浊度(比浊法)

[0626] 图12显示比浊法所确定的DoE2制剂(实施例2)的浊度的柱状图,在任意起始点(蓝色柱,时间=0)以及24小时(红色柱)和48小时后(绿色柱),制剂经机械搅动(振荡)。没有观察到变化。

[0627] 2.12光应力的聚集体(SE-HPLC)

[0628] 图13显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0629] 还用在相同的条件下处理的Humira样品(来自US和EU)来进行比较。在RMP中,光暴露后聚集增加多达9-15%(在时间0聚集体低于1%)。所有DoE2制剂表现出较低的或相当的增加,从而更好地/类似地耐受热应力。更具体地:

[0630] ●组氨酸缓冲液中的制剂:5.8→9.2%光暴露后的总聚集

[0631] 2.13光应力的片段化(生物分析仪)

[0632] 图14显示生物分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的片段化%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0633] 突出显示了最小增加(暴露后最多+0.3%)。7小时暴露后所有片段量远低于1%(图14)。

[0634] 2.14光应力的异构体谱(iCE280)

[0635] 图15显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的主峰异构体谱的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/

m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0636] 图16显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的酸性簇异构体谱的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。

[0637] 在Humira RMP中,光暴露决定显著的效果:最相关地,观察到与光氧化现象相关的主峰丰度降低(约-9%)并且同时酸性簇出现增加(高达+15%)。

[0638] 组氨酸中的制剂比RMP更易因光照而降解:主峰丰度减少了-11.4%(DoE2-7)或更多(其他约-18%),酸性簇增加达+27%。

[0639] 组氨酸易因强烈光照和应力条件下聚山梨酯释放的降解产品(通常是过氧化物)而氧化。因此,聚山梨酯80+组氨酸的组合可提高光应力下的稳定性。

[0640] 为了更好地阐释表面活性剂的影响以及确定是否需要表面活性剂来防止冻融循环中的蛋白质降解/颗粒形成,专门进行了实验,结果显示,聚山梨酯80未提供任何附加价值。该结果可最终导致不含表面活性剂的组氨酸中的备用制剂。

[0641] 2.15光应力的浊度(比浊法)

[0642] 图17显示比浊法所确定的DoE2制剂(实施例2)的浊度的柱状图,在接触光之前(蓝色柱,时间=0)和以765W/m²接触光7小时之后(红色柱)。基本没有观察到变化。

[0643] 2.16光应力的pH筛选

[0644] 制剂于765W/m²光暴露7小时的DoE2制剂(实施例2)的pH变化示于表18。没有观察到变化。

[0645] 表18:DoE2筛选:pH(光暴露)

[0646]

| 制剂编号 | 盐 (NaCl) 浓度 (mM) | 缓冲 剂类 型(10 mM) | pH | 稳定剂 | 表面活性 剂(聚 山梨酯 80)浓度 (mg/mL) | 时间 0 | 暴露 后 |
|--------|---------------------------|-------------------------|-----|-----------------|--|------|---------|
| DoE2-7 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0 | 6.4 | 6.5 |
| DoE2-8 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 0.5 | 6.4 | 6.5 |
| DoE2-9 | 50 | 组氨酸 | 6.4 | 海藻糖二水合物(200 mM) | 1 | 6.4 | 6.5 |

[0647] 2.17表面活性剂对冻融循环的影响

[0648] 测定五个冷冻-解冻循环(-80℃→室温)之前和之后三种DOE2制剂的异构体谱、聚集体和亚可见粒子,从而评估表面活性剂是否产生任何影响。

[0649] 图18显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的主峰异构体谱的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0650] 图19显示iCE280分析仪所确定的DoE2制剂(实施例2)的酸性簇异构体谱的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0651] 图20显示SE-HPLC所确定的DoE2制剂(实施例2)的聚集%的柱状图,伴有参考标记(代表比较物HUMIRA®制剂),在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0652] 图21显示亚可见颗粒计数分析所确定的DoE2制剂(实施例2)中粒径小于等于10微米的亚可见颗粒的数量浓度(#/mg)的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0653] 图22显示亚可见颗粒计数分析所确定的DoE2制剂(实施例2)中粒径小于等于25微米的亚可见颗粒的数量浓度(#/mg)的柱状图,在冻融循环之前(蓝色柱,时间=0)和m² 5次冻融循环(-80℃→室温)之后(红色柱)。

[0654] 冻融后在同种型和在聚集体中没有观察到变化(图18-20),同时突出显示亚可见颗粒的最小的、非关键的变化(图21-22),并发现其与表面活性剂的存在是不相关的。DoE2-8中较高的颗粒数很可能与样本的制备有关。

[0655] 因此,加入表面活性剂对防止冻融循环过程中的颗粒和聚集物形成/蛋白质降解的目标没有附加价值。这说明新型制剂的有效性与是否含有表面活性剂无关。

[0656] 筛选实验2的结论

[0657] 基于关于热、机械和光应力所收集的数据可得到如下结论:

[0658] pH 6.4的10mM组氨酸/组氨酸缓冲液的制剂(DoE2-7, DoE2-8, DoE2-9):

[0659] -受热应力后,突出显示与Humira的性能相当。

[0660] -机械振荡后聚集有微小的增加。

[0661] -由于组氨酸易受光照和聚山梨酯80的降解产物的影响,相对于Humira降解及异构体变化增加。该组(DoE2-7)中不含聚山梨酯80的制剂仍稍逊于RMP,

[0662] 但显著优于组氨酸+聚山梨酯80(0.5或1.0mg/mL)中的其他制剂。

[0663] 评估了聚山梨酯80作为蛋白质的保护剂(以免受冻融的影响)的有效性和功能。在5X冻融循环(-80℃→室温)后发现表面活性剂未提供任何附加价值,建议进一步研究不含表面活性剂的DoE2-7(pH 6.4的10mM组氨酸中的50mg/mL阿达木单抗,200mM海藻糖二水合物,50mM氯化钠)。

[0664] 基于在缓冲剂/pH、稳定剂、等张剂(氯化钠)量和表面活性剂(聚山梨酯80)水平方面变化的不同制剂中的筛选工作,鉴定到的在不同应力条件(热、机械、光)时显示与Humira有相当或甚至改善的特性的最佳组合物为:

| [0665] | 成分 | 含量(mg/mL) |
|--------|-----------|-------------------|
| | 阿达木单抗 | 50 |
| | 组氨酸(无水) | 1.55 * |
| | 海藻糖二水合物 | 75.67 ** |
| | 氯化钠 | 2.92 *** |
| | WFI 和氢氧化钠 | q.b. 以调节 pH 至 6.4 |

[0666] *对应于10mM组氨酸;**对应于200mM;***对应于50mM

[0667] 该制剂可容易地用29G1/2”针头纳入预填充玻璃注射器中。

[0668] 缩写

[0669] DoE 实验设计

[0670] DP 药品

[0671] DS 药物

| | | |
|--------|---------|-------------|
| [0672] | DSF | 差示扫描荧光 |
| [0673] | OD | 光密度 |
| [0674] | PES | 聚醚砜 |
| [0675] | rpm | 每分钟转数 |
| [0676] | RT | 室温 |
| [0677] | SE-HPLC | 尺寸排阻高效液相色谱法 |
| [0678] | SMI | 概括制造说明 |
| [0679] | SOP | 标准操作程序 |
| [0680] | WI | 工作说明 |

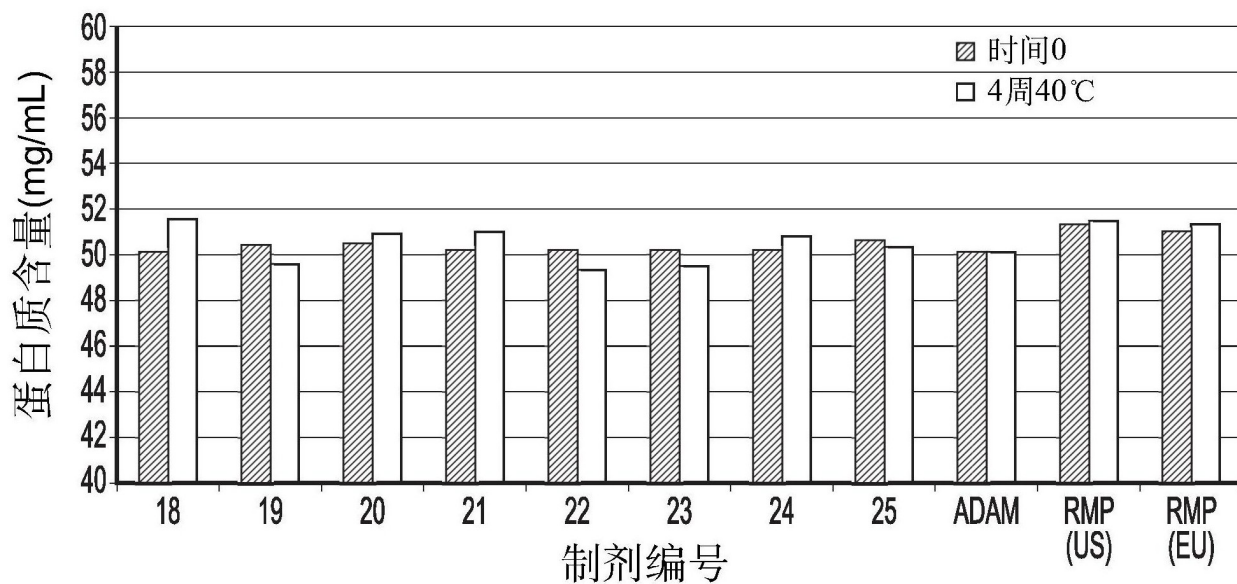


图1

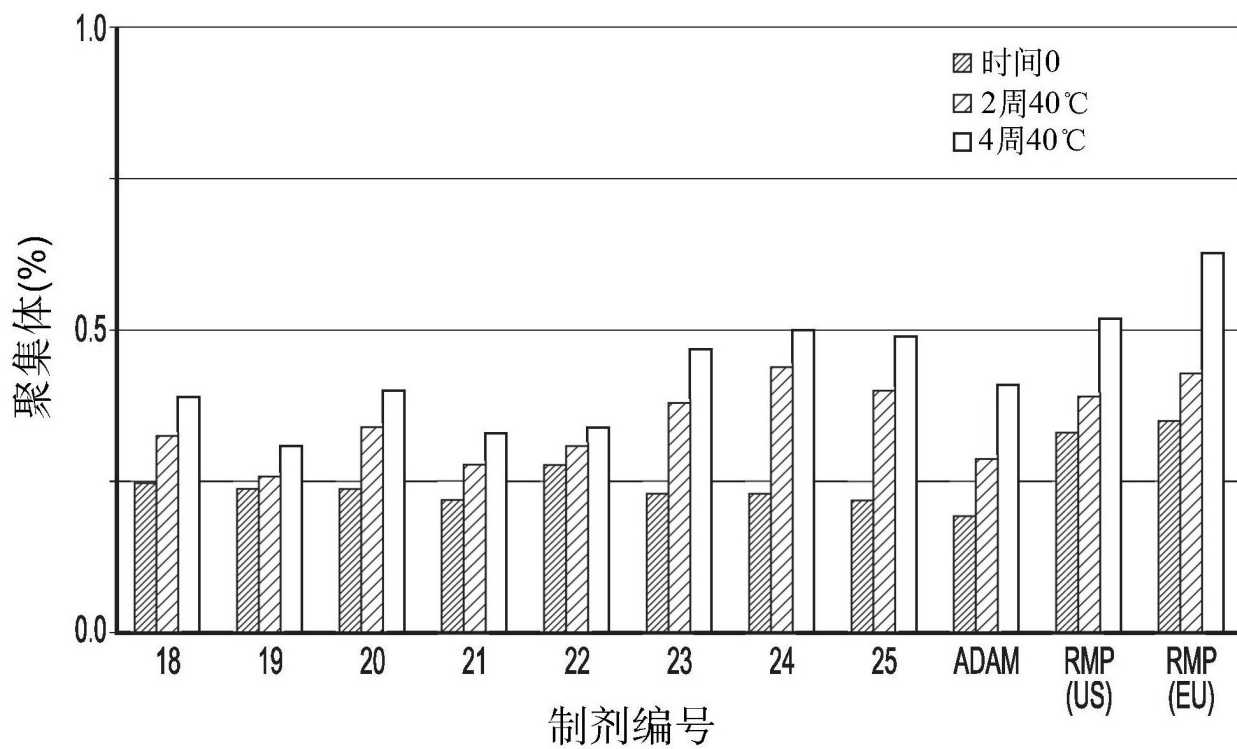


图2

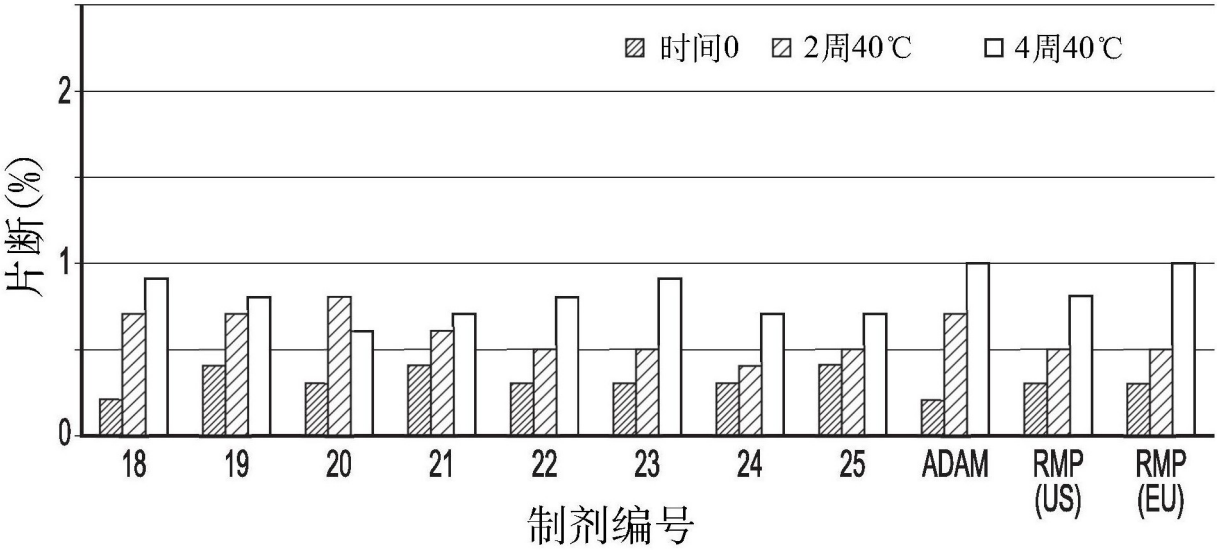


图3

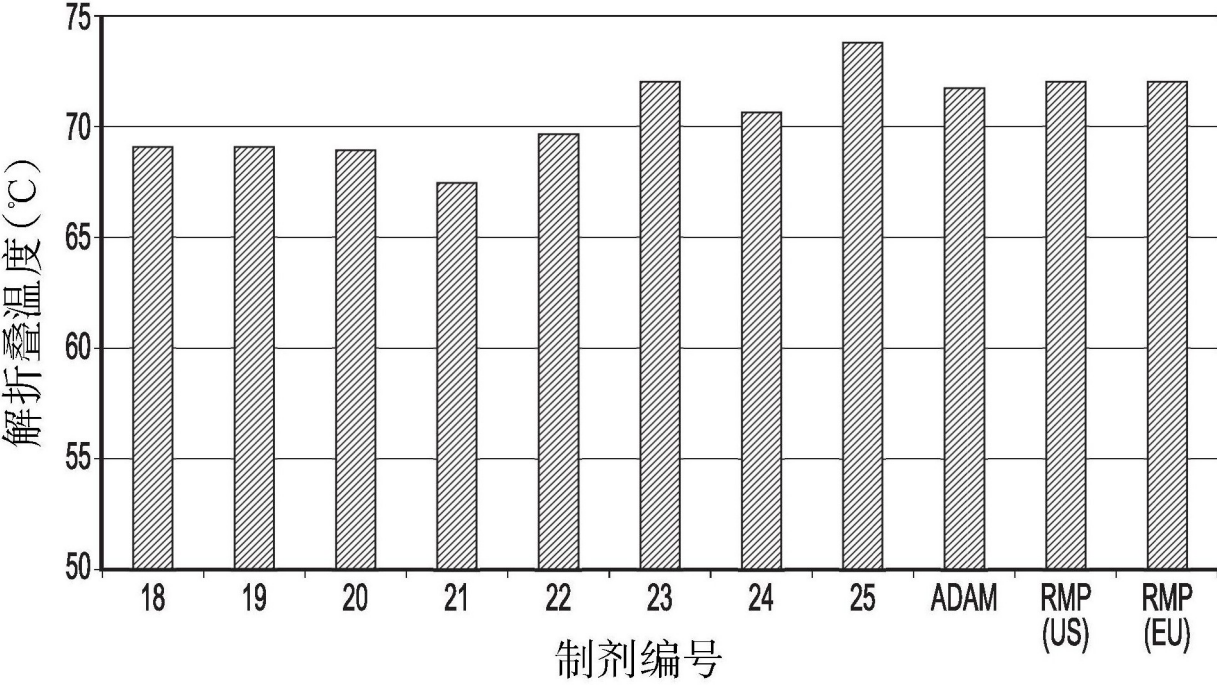


图4

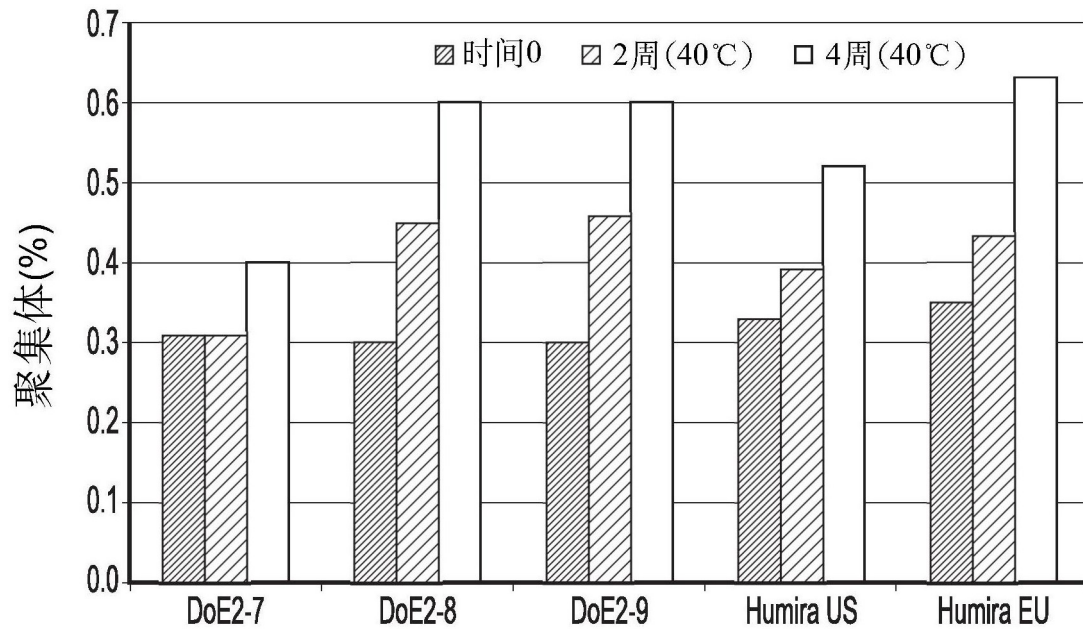


图5

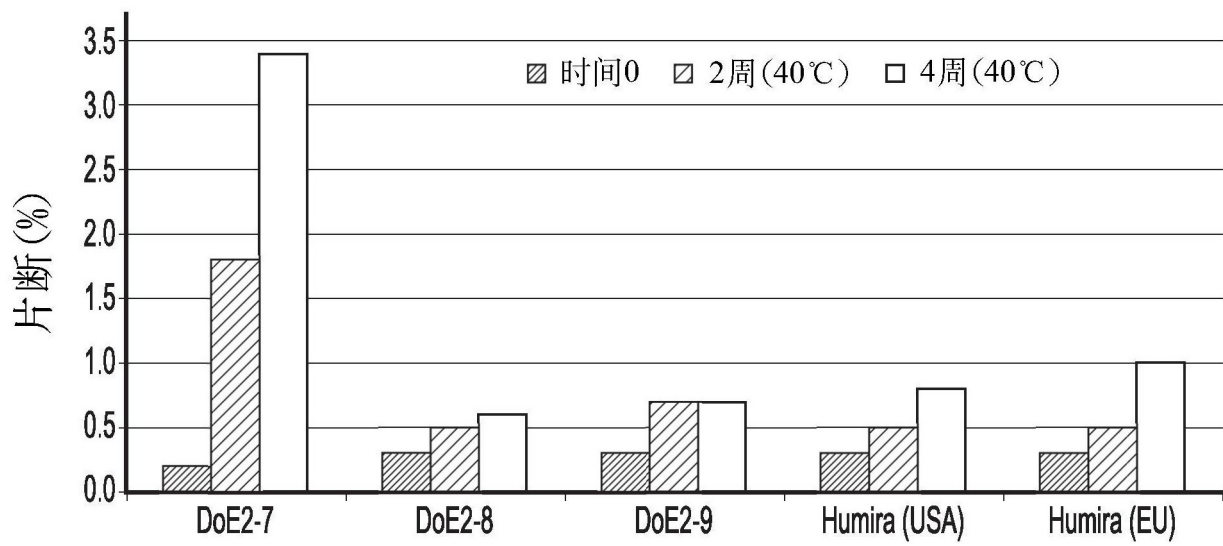


图6

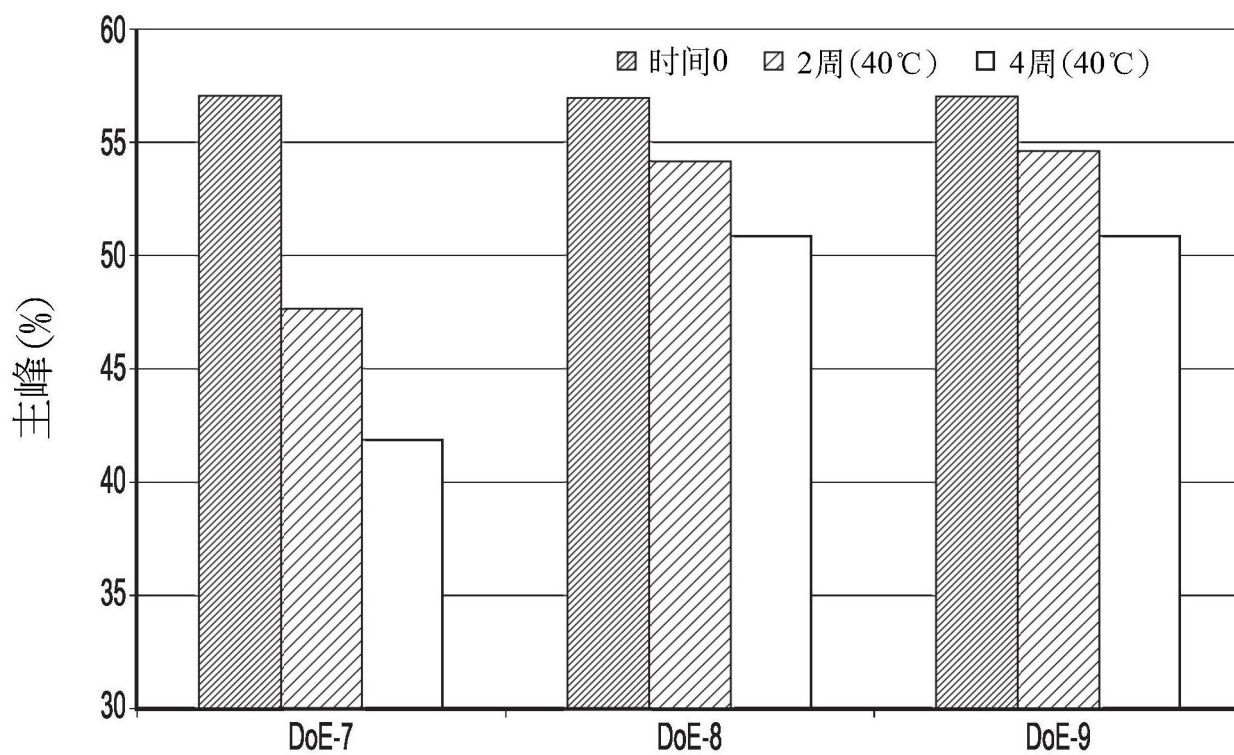


图7

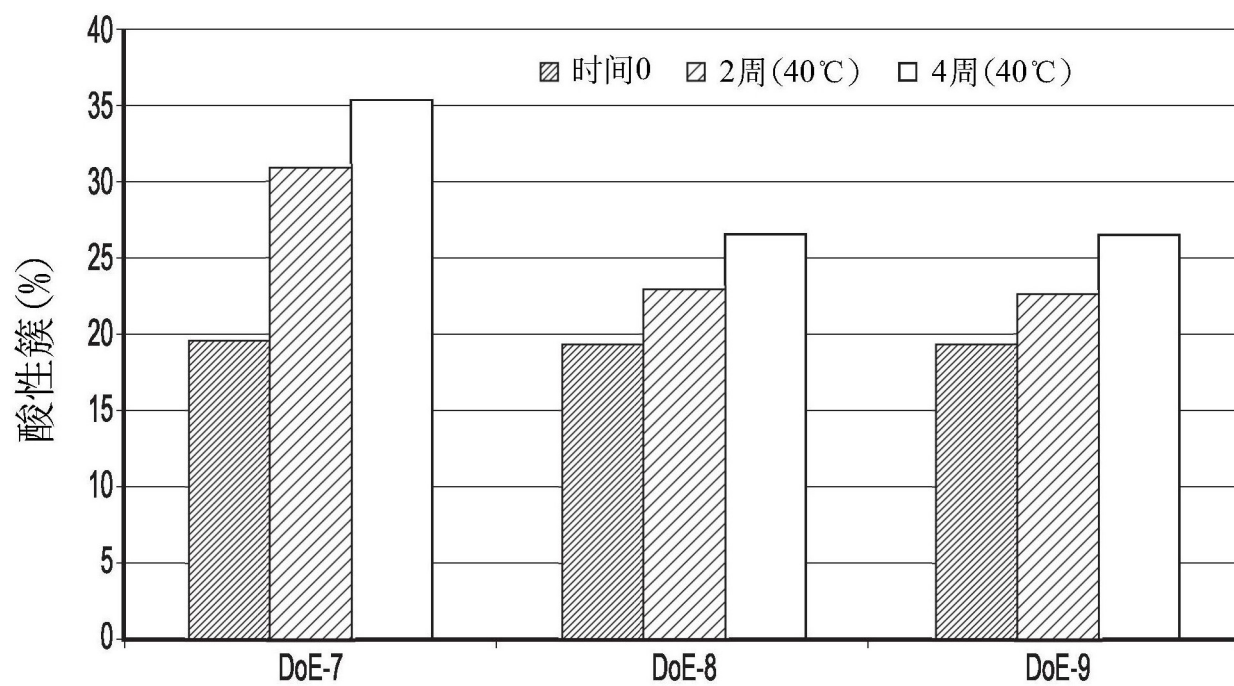


图8

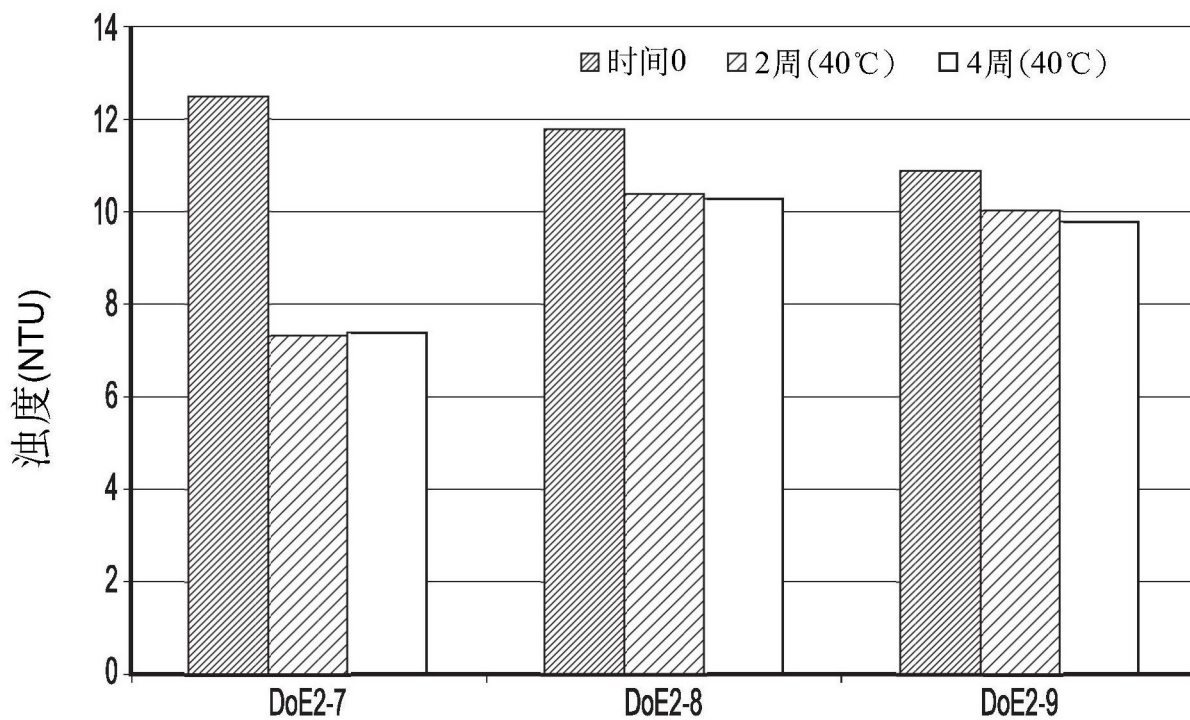


图9

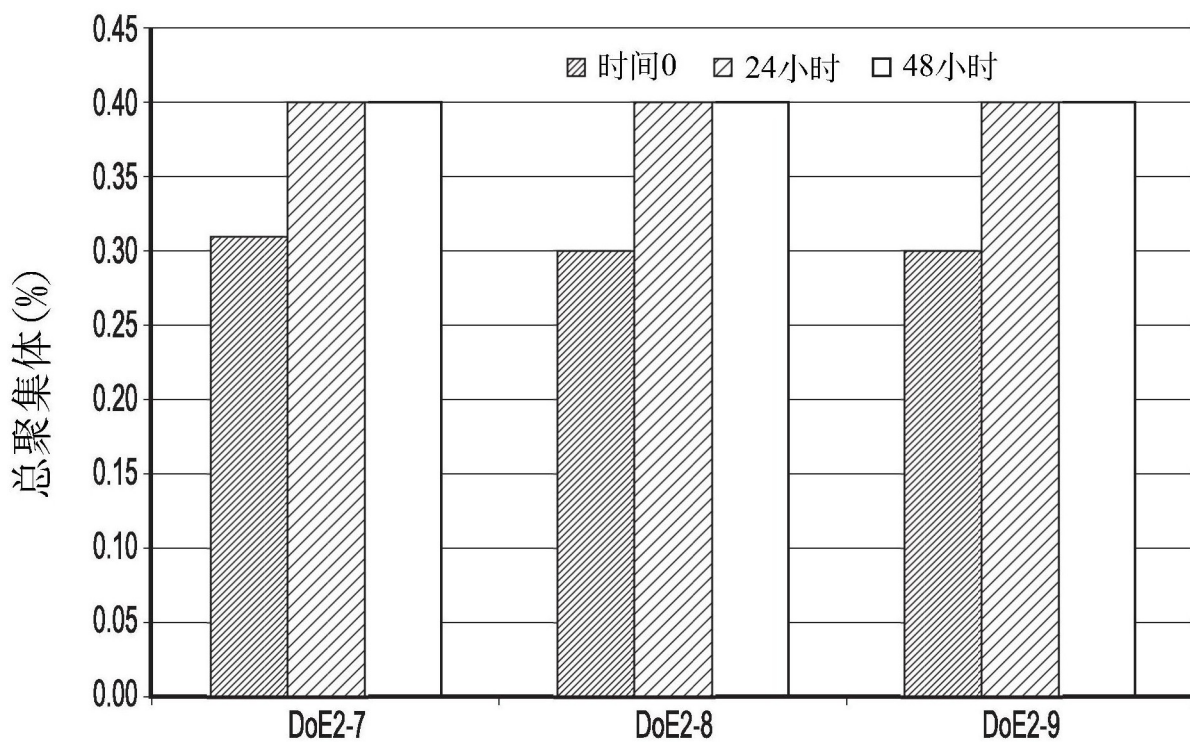


图10

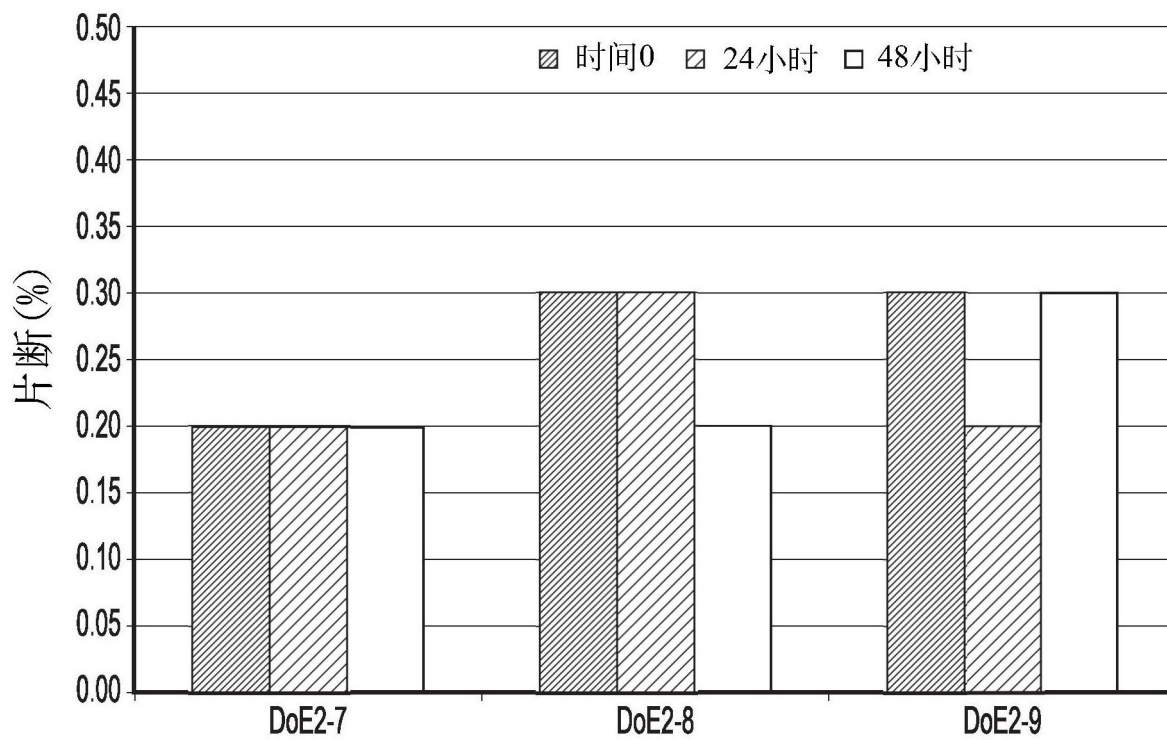


图11

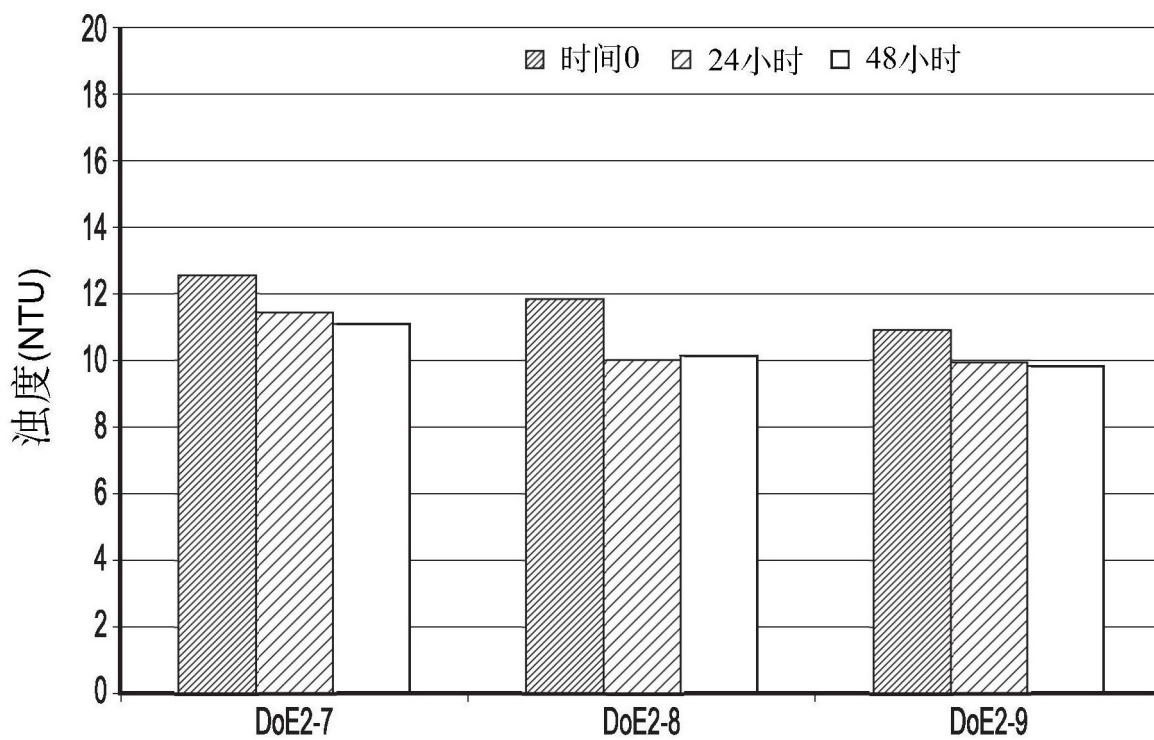


图12

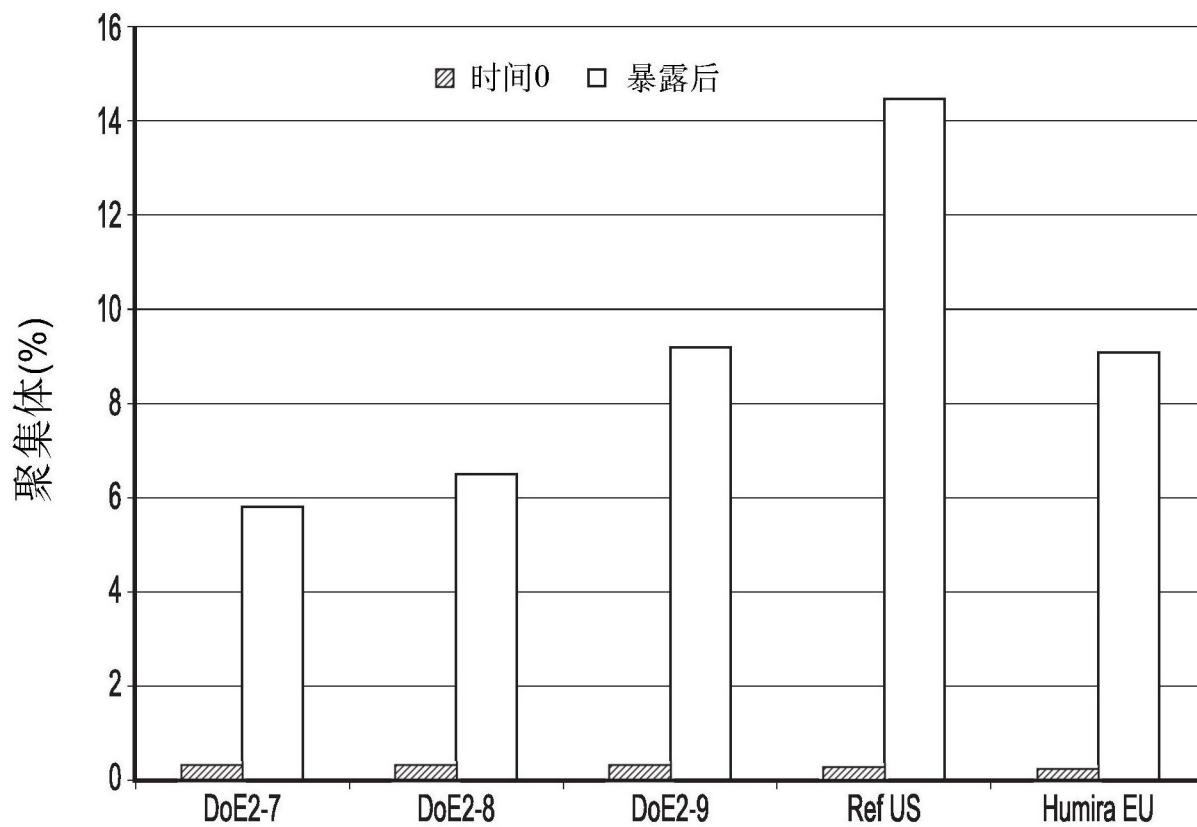


图13

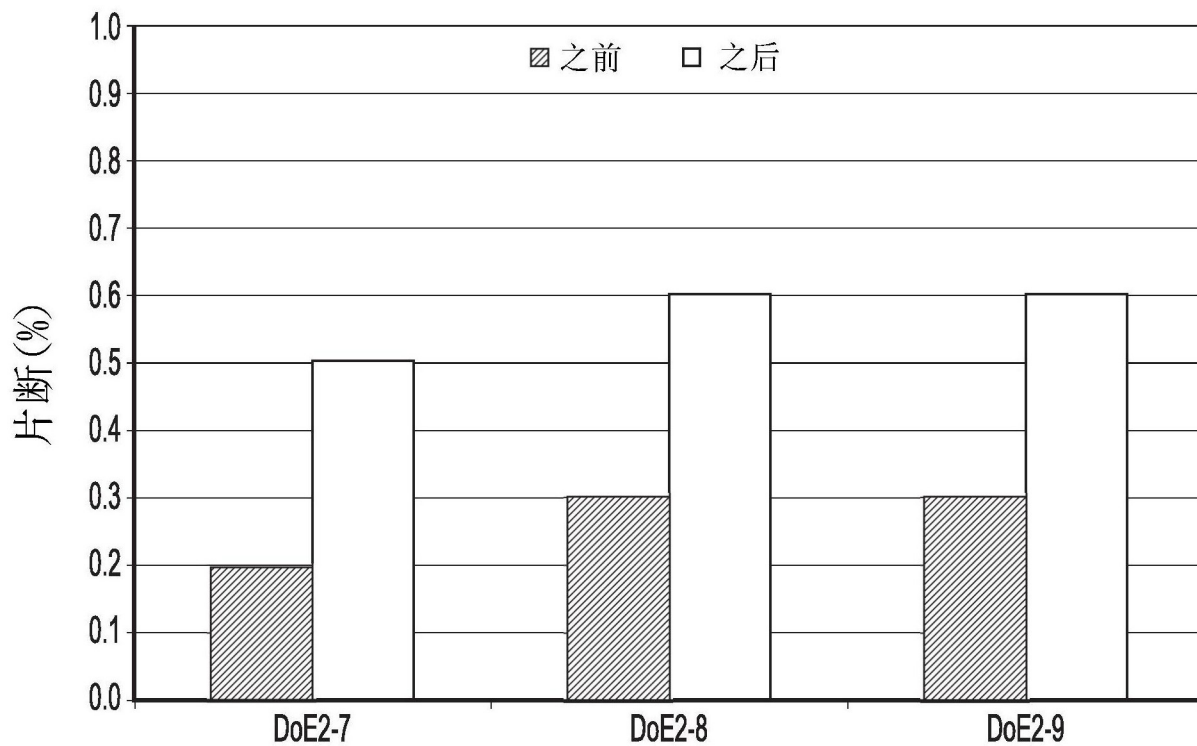


图14

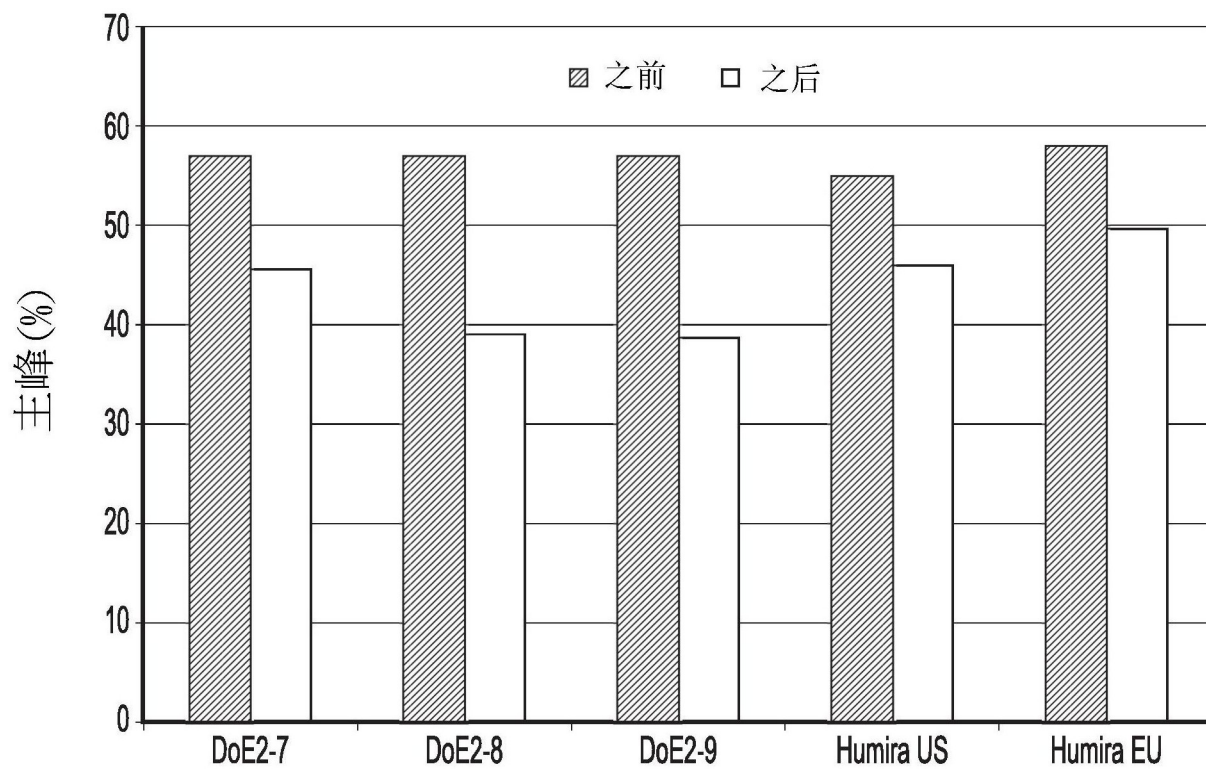


图15

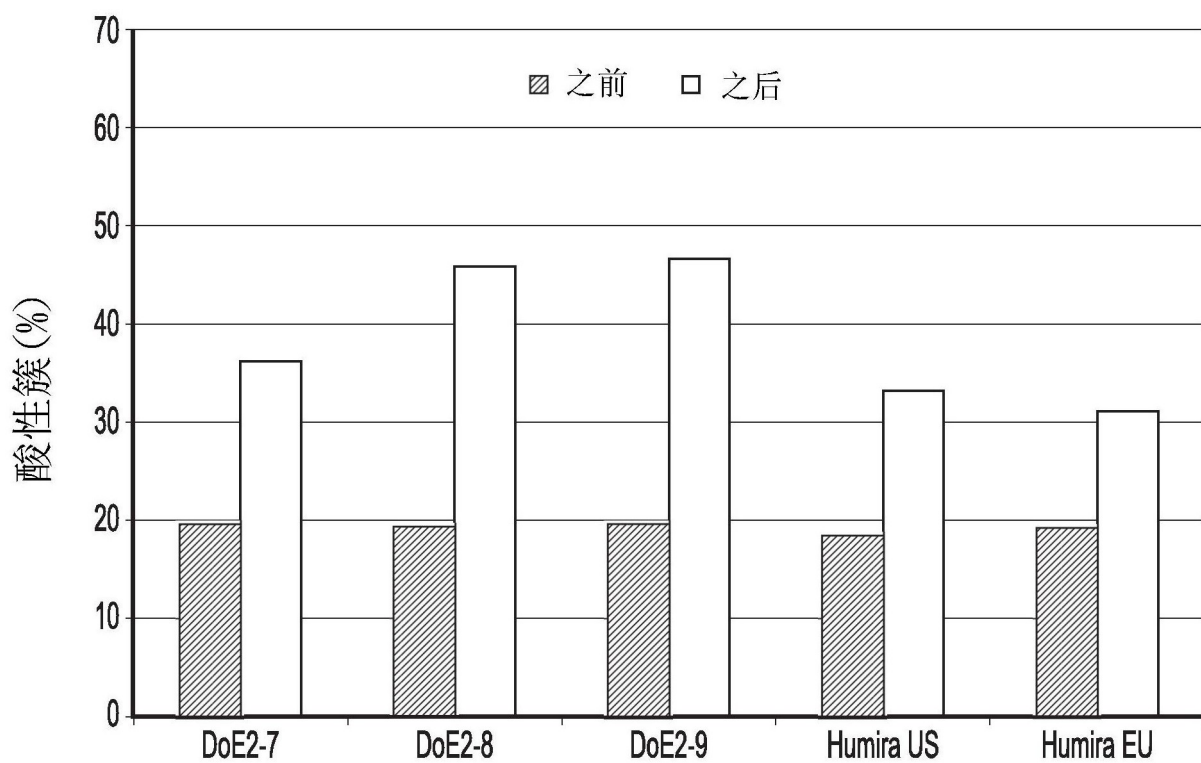


图16

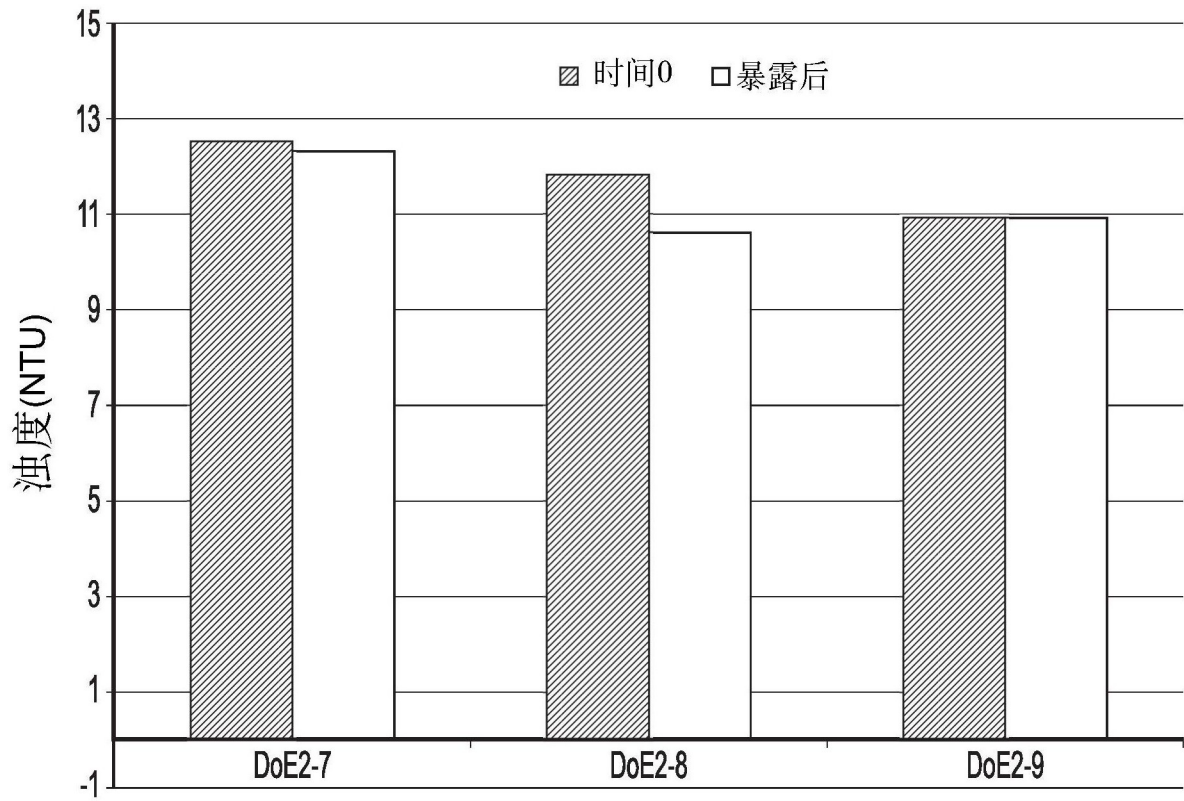


图17

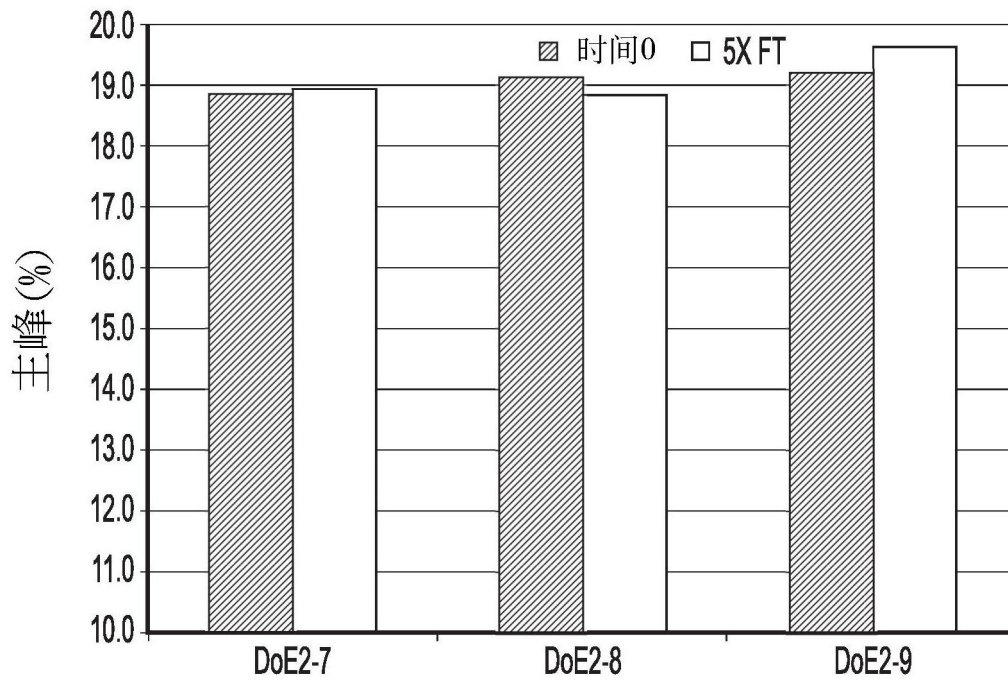


图18

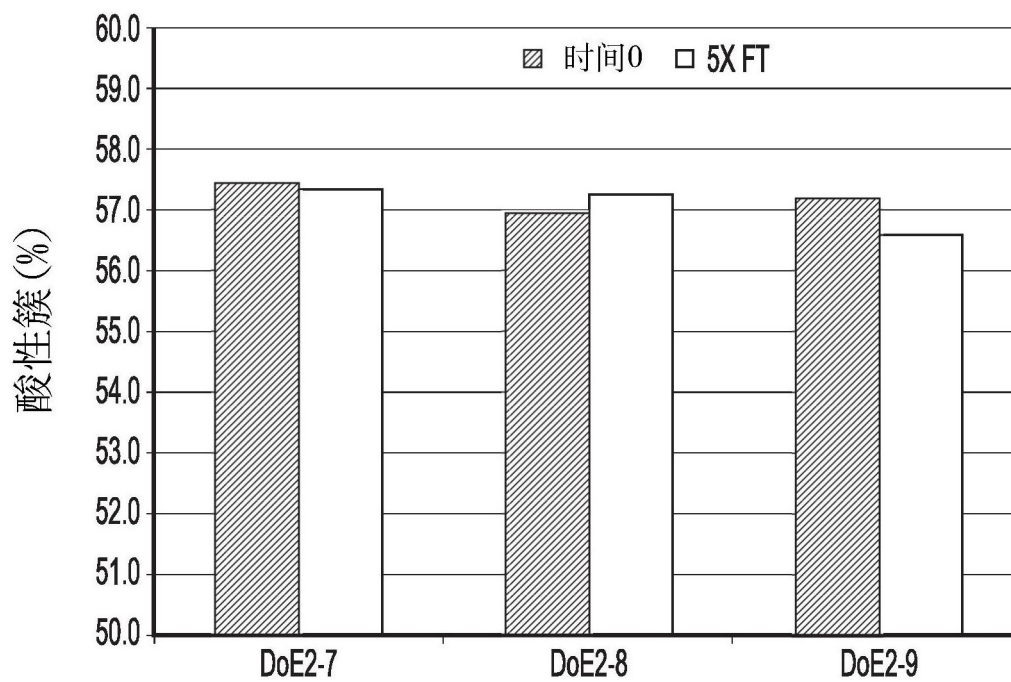


图19

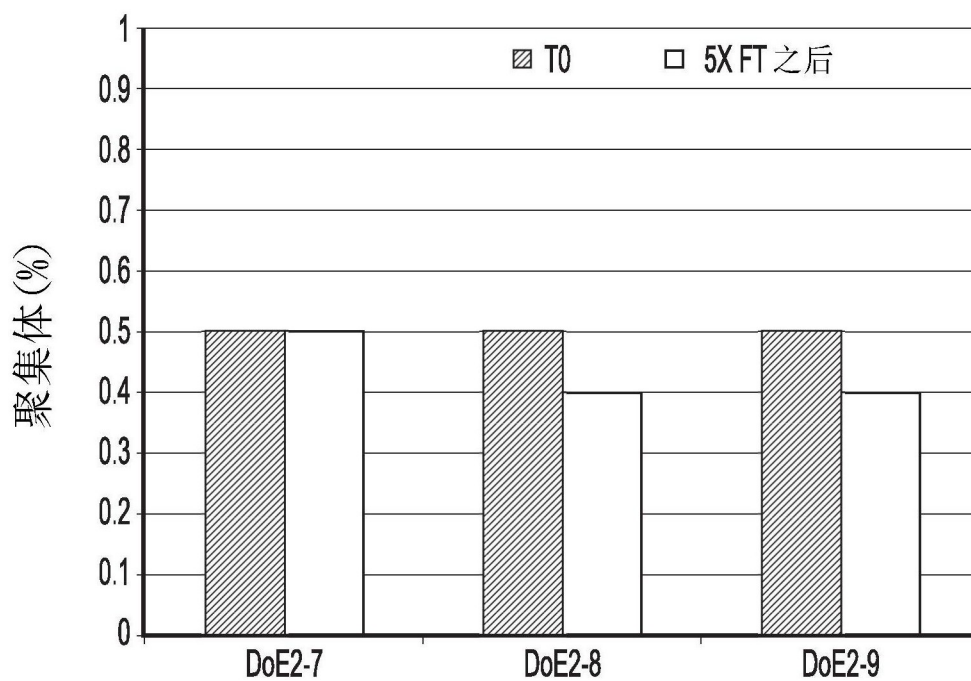


图20

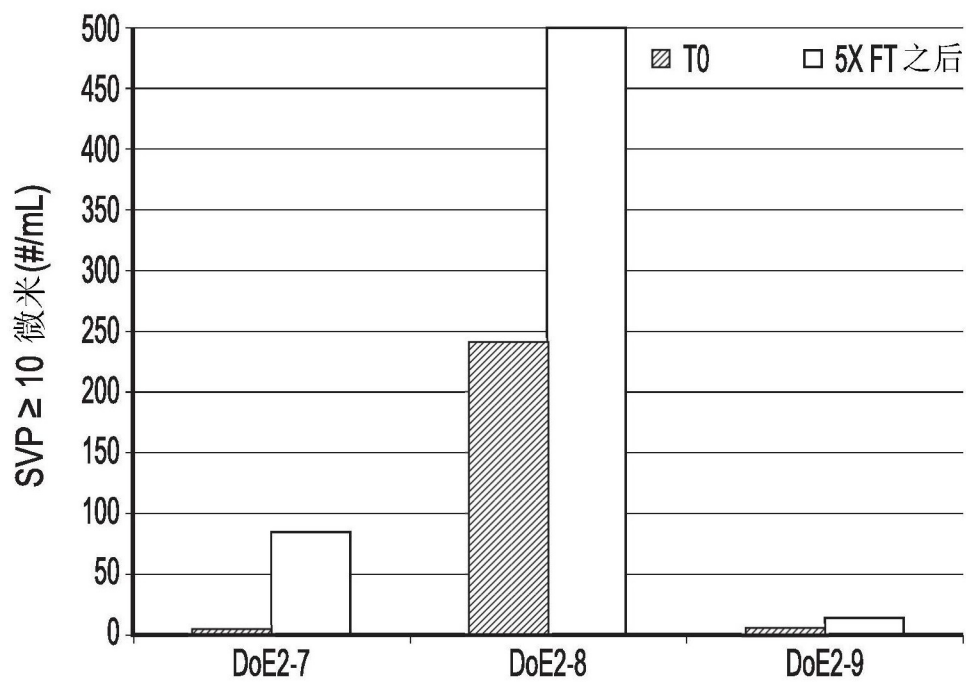


图21

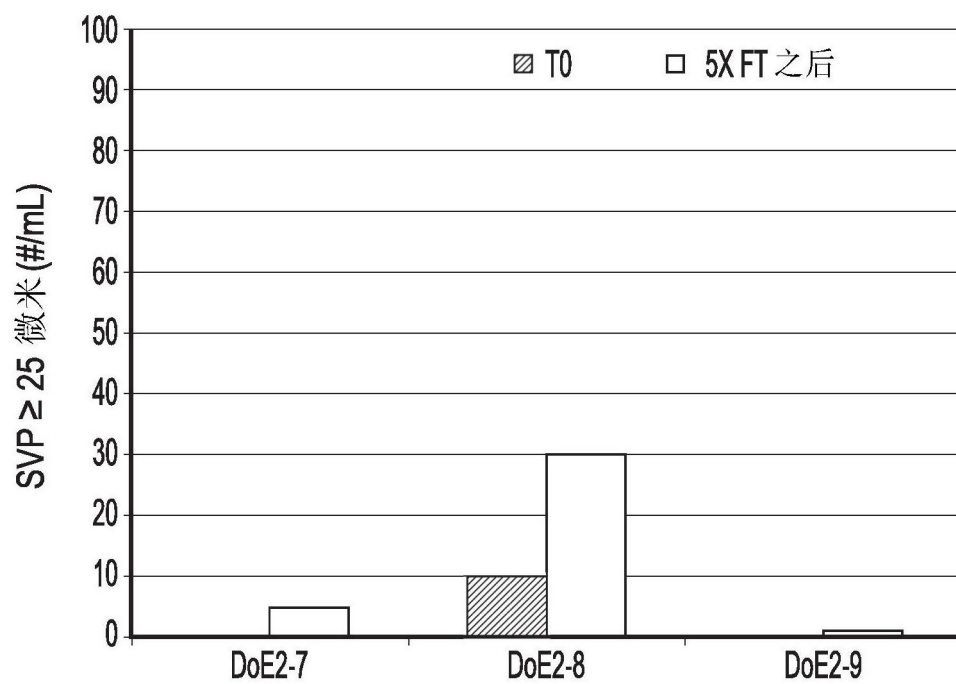


图22

Abstract

The present invention relates to novel liquid pharmaceutical compositions of adalimumab, which include adalimumab or a biosimilar thereof, an histidine buffering agent such as histidine (or histidine buffer system such as histidine/imidiazolium-histidine), and a sugar stabiliser such as trehalose. Such a combination of the components furnishes formulations having a stability (e.g. on storage and when exposed to stress) which is comparable to or an improvement upon those known in the art, and consists of fewer ingredients. Such advantages will help adalimumab treatments to become more widely available at lower cost, and prolong the viability of pre-loaded delivery devices (e.g. pre-filled syringes) to reduce unnecessary waste of the drug.