



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115243718 A

(43) 申请公布日 2022. 10. 25

(21) 申请号 202180010566.0

(22) 申请日 2021.01.22

(30) 优先权数据

62/965,786 2020.01.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.07.22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/014524 2021.01.22

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/150829 EN 2021.07.29

(71) 申请人 瑞泽恩制药公司

地址 美国纽约州

(72) 发明人 Y·曹 D·刘 L·徐

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

专利代理师 吴瑜 张璐

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

C07K 16/10 (2006.01)

权利要求书11页 说明书119页

序列表22页 附图2页

(54) 发明名称

稳定的抗体制剂

(57) 摘要

本公开提供了包含特异性结合埃博拉病毒(EBOV)的人抗体的稳定药物制剂。在某些实施方案中,除了抗EBOV抗体之外,所述制剂还包含缓冲剂、氨基酸、非离子表面活性剂和稳定剂。本公开的药物制剂在应激下,例如运输过程中的搅拌,和在储存时,例如在高于40℃的温度下储存时,表现出相当程度的抗体稳定性。

1. 一种稳定的液体药物制剂,其包含:

(a) 稳定剂;

(b) 包含组氨酸的缓冲液;

(c) 包含聚山梨醇酯的有机助溶剂;和

(d) 至少一种抗体,所述抗体特异性结合伊波拉病毒 (EBOV) 并且包含选自由 (i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和 (iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区 (HCVR/LCVR) 氨基酸序列中所包含的三个重链互补决定区 (CDR) (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3);

其中所述制剂包含以下各项: (i)、(ii)、(iii)、(i)+(ii)、(i)+(iii)、(ii)+(iii) 或 (i)+(ii)+(iii); 并且

其中所述制剂的pH为 6.0 ± 0.3 。

2. 根据权利要求1所述的药物制剂,其中总抗体浓度为 $5\text{mg/mL} \pm 0.75\text{mg/mL}$ 至 $250\text{mg/mL} \pm 37.5\text{mg/mL}$ 。

3. 根据权利要求2所述的药物制剂,其中所述总抗体浓度为 $25\text{mg/mL} \pm 3.75\text{mg/mL}$ 。

4. 根据权利要求2所述的药物制剂,其中所述总抗体浓度为 $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 。

5. 根据权利要求2所述的药物制剂,其中所述总抗体浓度为 $100\text{mg/mL} \pm 15.0\text{mg/mL}$ 。

6. 根据权利要求2所述的药物制剂,其中所述总抗体浓度为 $150\text{mg/mL} \pm 22.5\text{mg/mL}$ 。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的药物制剂,其中组氨酸缓冲液浓度为 $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 。

8. 根据权利要求7所述的药物制剂,其中所述组氨酸缓冲液浓度为 $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的药物制剂,其中聚山梨醇酯浓度为 $0.01\% \pm 0.005\%$ 至 $0.5\% \pm 0.25\% \text{w/v}$ 。

10. 根据权利要求9所述的药物制剂,其中所述聚山梨醇酯浓度为 $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 。

11. 根据权利要求9所述的药物制剂,其中所述聚山梨醇酯浓度为 $0.2\% \pm 0.1\% \text{w/v}$ 。

12. 根据权利要求9-11中任一项所述的药物制剂,其中所述聚山梨醇酯为聚山梨醇酯80。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的药物制剂,其中所述稳定剂为蔗糖,并且蔗糖浓度为 0% 至 $20\% \pm 4\% \text{w/v}$ 。

14. 根据权利要求13所述的药物制剂,其中所述蔗糖浓度为 $5\% \pm 1\%$ 至 $15\% \pm 3\% \text{w/v}$ 。

15. 根据权利要求14所述的药物制剂,其中所述蔗糖浓度为 $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 。

16. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含 (i)+(ii)。

17. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含 (i)+(iii)。

18. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含 (ii)+(iii)。

19. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含 (i)+(ii)+(iii)。

20. 根据权利要求16-19中任一项所述的药物制剂,其包含:

(a) $5\% \pm 1\%$ 至 $15\% \pm 3\% \text{w/v}$ 的蔗糖,

(b) $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,

(c) $0.01\% \pm 0.005\%$ 至 $0.5\% \pm 0.25\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯,和

(d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 。

21. 根据权利要求16-19中任一项所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 。

22. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中所述抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

23. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中所述抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

24. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中所述抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

25. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含

(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

26. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
 - (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
 - (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
 - (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,
- pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

27. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
 - (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
 - (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
 - (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,
- pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

28. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
 - (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
 - (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
 - (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体,
- pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 第二抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第三抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

29. 根据权利要求16-19中任一项所述的药物制剂,其包含:

- (a) $5\% \pm 1\%$ 至 $15\% \pm 3\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.01\% \pm 0.005\%$ 至 $0.5\% \pm 0.25\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 。

30. 根据权利要求16-19中任一项所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 。

31. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中所述抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

32. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中所述抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

33. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中所述抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

34. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
- (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
- (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
- (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,

pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含

(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

35. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
 - (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
 - (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
 - (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,
- pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

36. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
 - (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
 - (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
 - (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,
- pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

37. 根据权利要求1所述的药物制剂,其包含:

- (a) $10\% \pm 2\%$ w/v的蔗糖,
 - (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,
 - (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v的聚山梨醇酯,和
 - (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体,
- pH为 6.0 ± 0.3 ;

其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 第二抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第三抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

38. 根据权利要求1-37中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂具有小于10cP的粘度。

39. 根据权利要求29-37中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂具有小于5cP的粘度。

40. 根据权利要求20-28中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂具有小于约2.5的粘度。

41. 根据权利要求1-40中任一项所述的药物制剂,其中在45℃下28天后,至少90%的所

述抗体是天然种类。

42. 根据权利要求1-41中任一项所述的药物制剂, 其中在45℃下28天后, 至少18%的所述抗体是所述抗体的主要电荷变体。

43. 根据权利要求1-42中任一项所述的药物制剂, 其中在25℃下三个月后, 至少96%的所述抗体是天然种类。

44. 根据权利要求1-43中任一项所述的药物制剂, 其中在25℃下三个月后, 至少30%的所述抗体是所述抗体的主要电荷变体。

45. 根据权利要求1-44中任一项所述的药物制剂, 其中在5℃下12个月后, 至少96%的所述抗体是天然种类。

46. 根据权利要求1-45中任一项所述的药物制剂, 其中在5℃下12个月后, 至少34%的所述抗体是所述抗体的主要电荷变体。

47. 根据权利要求1-46中任一项所述的药物制剂, 其中在搅拌120分钟后, 至少97%的所述抗体是天然种类。

48. 根据权利要求1至47中任一项所述的药物制剂, 其中在搅拌120分钟后, 至少35%的所述抗体是所述抗体的主要电荷变体。

49. 根据权利要求1-48中任一项所述的药物制剂, 其中在8次冷冻解冻循环后, 至少97%的所述抗体是天然种类。

50. 根据权利要求1-49中任一项所述的药物制剂, 其中在8次冷冻解冻循环后, 至少35%的所述抗体是所述抗体的主要电荷变体。

51. 根据权利要求1、5和29-37中任一项所述的药物制剂, 其中所述制剂在5℃下储存6个月后, 相对于在5℃下储存6个月之前的同一制剂, 在ADCC生物测定中保持至少约90%或至少约95%的ADCC效价。

52. 根据权利要求1、5、29-37和51中任一项所述的药物制剂, 其中所述制剂在5℃下储存6个月后, 相对于在5℃下储存6个月之前的同一制剂, 保持至少约95%的假病毒中和活性。

53. 根据权利要求1、5、29-37和52中任一项所述的药物制剂, 其中所述制剂在25℃/60%RH下储存6个月后, 相对于在25℃/60%RH下储存6个月之前的同一制剂, 在ADCC生物测定中保持至少约80%或至少约85%的ADCC效价。

54. 根据权利要求1、5、29-37和53中任一项所述的药物制剂, 其中所述制剂在25℃/60%RH下储存6个月后, 相对于在25℃/60%RH下储存6个月之前的同一制剂, 保持至少约95%的假病毒中和活性。

55. 根据权利要求1、5、29-37和54中任一项所述的药物制剂, 其中所述制剂在40℃/75%RH下储存6个月后, 相对于在40℃/75%RH下储存6个月之前的同一制剂, 保持至少约95%的假病毒中和活性。

56. 根据权利要求1、5、29至37和55中任一项所述的药物组合物, 其中所述制剂在搅拌120分钟后, 相对于搅拌120分钟之前的同一制剂, 在ADCC生物测定中保持至少约95%的ADCC效价。

57. 根据权利要求1、5、29-37和56中任一项所述的药物组合物, 其中所述制剂在8次冷冻/解冻循环后, 相对于8次冷冻/解冻循环之前的同一制剂, 在ADCC生物测定中保持至少约

85%的ADCC效价。

58. 根据权利要求1、5、29至37和57中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂在搅拌120分钟后,相对于搅拌120分钟之前的同一制剂,保持至少约95%的假病毒中和活性。

59. 根据权利要求1、5、29-37和58中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂在8次冷冻/解冻循环后,相对于8次冷冻/解冻循环前的同一制剂,保持至少约95%的假病毒中和活性。

60. 根据权利要求1-59中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂中的抗体具有选自以下组成的组的属性:

(i) 所述抗体在-80℃下储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%的ADCC活性;

(ii) 所述抗体在-30℃下储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%或至少约90%的ADCC活性;

(iii) 所述抗体在-20℃储存3个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;

(iv) 所述抗体在5℃储存56天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;

(v) 所述抗体在25℃/60%相对湿度(RH)下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;

(vi) 所述抗体在40℃/75%RH下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;和

(vii) 所述抗体在搅拌120分钟或8次冷冻/解冻循环后,相对于同一抗体在搅拌或冷冻/解冻之前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性。

61. 根据权利要求1-60中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂中的抗体具有选自以下组成的组的属性:

(i) 所述抗体在-80℃下储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;

(ii) 所述抗体在-30℃下储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;

(iii) 所述抗体在-20℃储存3个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;

(iv) 所述抗体在5℃下储存56天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%、或至少约85%、或至少约90%、或至少约95%的假病毒中和活性;

(v) 所述抗体在25℃/60%相对湿度(RH)下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%、或至少约85%、或至少约90%、或至少约95%的假病毒中和活性;

(vi) 所述抗体在40℃/75%RH下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%、或至少约85%、或至少约90%、或至少约95%的假病毒中和活性;和

(vii) 所述抗体在搅拌120分钟或8次冷冻/解冻循环后,相对于同一抗体在搅拌或冷冻/解冻之前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性。

62. 一种稳定的液体药物制剂,其包含:

(a) 至少一种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少一种抗体包含选自(i) SEQ ID

NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NOs:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中所述总抗体包含50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL,

(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,pH 6.0 $\pm$ 0.3,

(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和

(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖;其中:

(i) 在5°C下12个月后,至少96%的所述抗体是天然种类;

(ii) 搅拌120分钟后,至少97%的所述抗体是天然种类;或者

(iii) 在8次冷冻解冻循环后,至少97%的所述抗体是天然种类。

63. 根据权利要求62所述的药物制剂,其由以下组成:(a) 50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗体,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中,pH为6.0 $\pm$ 0.3。

64. 一种稳定的液体药物制剂,其包含:

(a) 至少两种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少两种抗体包含选自由(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中所述总抗体包含50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL

(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,pH 6.0 $\pm$ 0.3,

(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和

(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖;其中:

(i) 在5°C下12个月后,至少96%的所述抗体是天然种类;

(ii) 搅拌120分钟后,至少97%的所述抗体是天然种类;和

(iii) 在8次冷冻解冻循环后,至少97%的所述抗体是天然种类。

65. 根据权利要求64所述的药物制剂,其由以下组成:(a) 50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗体,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中,pH为6.0 $\pm$ 0.3。

66. 一种稳定的液体药物制剂,其包含:

(a) 特异性结合EBOV的三种抗体的组合,其中所述三种抗体分别包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中所述总抗体包含50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL,

(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,pH 6.0 $\pm$ 0.3,

(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和

(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖;其中:

(i) 在5°C下12个月后,至少96%的所述抗体是天然种类;

(ii) 搅拌120分钟后,至少97%的所述抗体是天然种类;和

(iii) 在8次冷冻解冻循环后,至少97%的所述抗体是天然种类。

67. 根据权利要求66所述的药物制剂,其由以下组成:(a) 50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗体,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中,pH为6.0 $\pm$ 0.3。

68. 一种稳定的液体药物制剂,其包含:

(a) 至少一种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少一种抗体包含选自由(i) SEQ ID

NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NOs:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中所述总抗体包含100mg/mL $\pm$ 15mg/mL,

(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,pH 6.0 $\pm$ 0.3,

(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和

(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖;其中:

(i) 在5°C下12个月后,至少96%的所述抗体是天然种类;

(ii) 搅拌120分钟后,至少97%的所述抗体是天然种类;和

(iii) 在8次冷冻解冻循环后,至少97%的所述抗体是天然种类。

69. 根据权利要求68所述的药物制剂,其由以下组成:(a) 100mg/mL $\pm$ 15mg/mL的总抗体,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中,pH为6.0 $\pm$ 0.3。

70. 一种稳定的液体药物制剂,其包含:

(a) 至少两种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少两种抗体包含选自由(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中所述总抗体包含100mg/mL $\pm$ 15mg/mL

(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,pH 6.0 $\pm$ 0.3,

(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和

(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖;其中:

(i) 在5°C下12个月后,至少96%的所述抗体是天然种类;

(ii) 搅拌120分钟后,至少97%的所述抗体是天然种类;和

(iii) 在8次冷冻解冻循环后,至少97%的所述抗体是天然种类。

71. 根据权利要求70所述的药物制剂,其由以下组成:(a) 100mg/mL $\pm$ 15mg/mL的总抗体,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中,pH为6.0 $\pm$ 0.3。

72. 一种稳定的液体药物制剂,其包含:

(a) 特异性结合EBOV的三种抗体的组合,其中所述三种抗体分别包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中所述总抗体包含100mg/mL $\pm$ 15mg/mL,

(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,pH 6.0 $\pm$ 0.3,

(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和

(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖;其中:

(i) 在5°C下12个月后,至少96%的所述抗体是天然种类;

(ii) 搅拌120分钟后,至少97%的所述抗体是天然种类;和

(iii) 在8次冷冻解冻循环后,至少97%的所述抗体是天然种类。

73. 根据权利要求72所述的药物制剂,其由以下组成:(a) 100mg/mL $\pm$ 15mg/mL的总抗体,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中,pH为6.0 $\pm$ 0.3。

74. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14

的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3。

75. 根据权利要求74所述的药物制剂,其中所述抗体包含SEQ ID NO:2的HCVR和SEQ ID NO:10的LCVR。

76. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:2具有90%序列同一性的HCVR。

77. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:10具有90%序列同一性的LCVR。

78. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:2具有90%序列同一性的HCVR和与SEQ ID NO:10具有90%序列同一性的LCVR。

79. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:17。

80. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:18。

81. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:17/18的重链/轻链。

82. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含SEQ ID NO:22的HCDR1、SEQ ID NO:24的HCDR2、SEQ ID NO:26的HCDR3、SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3。

83. 根据权利要求82所述的药物制剂,其中所述抗体包含SEQ ID NO:20的HCVR和SEQ ID NO:28的LCVR。

84. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:20具有90%序列同一性的HCVR。

85. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:28具有90%序列同一性的LCVR。

86. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:20具有90%序列同一性的HCVR和与SEQ ID NO:28具有90%序列同一性的LCVR。

87. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:35。

88. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:36。

89. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:35/36的重链/轻链。

90. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

91. 根据权利要求90所述的药物制剂,其中所述抗体包含SEQ ID NO:38的HCVR和SEQ ID NO:46的LCVR。

92. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:38具有90%序列同一性的HCVR。

93. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:46具有90%序列同一性的LCVR。

94. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含与SEQ ID NO:38具有90%序列同一性的HCVR和与SEQ ID NO:46具有90%序列同一性的LCVR。

95. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:53。

96. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含重链和轻链,其中所述轻链包含氨基酸序列SEQ ID NO:54。

97. 根据权利要求1-15中任一项所述的药物制剂,其中所述抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:53/54的重链/轻链。

98. 根据权利要求1-86中任一项所述的药物制剂,其中所述制剂包含在容器中。

99. 根据权利要求98所述的药物制剂,其中所述容器为小瓶。

100. 根据权利要求99所述的药物制剂,其中所述小瓶是10mL 1型透明玻璃小瓶。

101. 根据权利要求98所述的药物制剂,其中所述容器是注射器。

102. 根据权利要求101所述的药物制剂,其中所述注射器是低钨玻璃。

103. 根据权利要求98所述的药物制剂,其中所述容器是预填充注射器。

104. 根据权利要求103所述的药物制剂,其包含在自动注射器中。

105. 一种试剂盒,其包含根据权利要求1-97中任一项所述的药物制剂、容器和说明书。

106. 根据权利要求105所述的试剂盒,其中所述容器是玻璃小瓶。

107. 根据权利要求105所述的试剂盒,其中所述容器是预填充注射器。

108. 根据权利要求105所述的试剂盒,其中所述容器是自动注射器。

109. 根据权利要求19所述的药物制剂,其比率为1:1:1。

110. 根据权利要求1到97中任一项所述的药物制剂,其被配制用于静脉内施用、肌肉施用、皮下施用、腹膜内施用、经皮施用、粘膜施用、经鼻施用、肺部施用或口服施用。

稳定的抗体制剂

[0001] 政府许可权

[0002] 本发明是在美国卫生与公众服务部 (U.S. Department of Health and Human Services) 授予的协议HHS0100201500013C和HHS0100201700016C下在政府支持下进行的。政府拥有本发明的某些权利。

[0003] 序列表

[0004] 序列表的正式副本以ASCII格式的序列表与说明书同时通过EFS-Web以电子方式提交, 文件名为“10668W001_Sequence_Listing_ST25.txt”, 创建日期为2021年1月22日, 大小为约36KB。这个ASCII格式化文件中所含的序列表是说明书的一部分并且以全文引用的方式并入本文中。

技术领域

[0005] 本公开涉及治疗性抗体制剂领域。更具体地, 本公开涉及包含一种或多种特异性结合埃博拉病毒 (EBOV) 的人抗体的药物制剂领域。

背景技术

[0006] 治疗用大分子 (例如抗体) 必须以这样的方式配制, 即不仅使分子适于向患者施用, 而且在储存和随后的使用中保持其稳定性。例如, 除非溶液被适当配制, 否则液体溶液中的治疗性抗体易于降解、聚集或发生不期望的化学修饰。抗体在液体制剂中的稳定性不仅取决于制剂中所用赋形剂的种类, 而且还取决于赋形剂相对于彼此的量和比例。此外, 当制备液体抗体制剂时, 除了稳定性之外, 还必须考虑其他因素。此类额外考虑因素的实例包括溶液的粘度和给定制剂可容纳的抗体浓度, 以及制剂的视觉质量或吸引力。因此, 当配制治疗性抗体时, 必须非常小心以获得保持稳定、含有足够浓度的抗体并具有合适的粘度以及其它性质的制剂, 使得所述制剂能够方便地向患者施用。埃博拉病毒 (EBOV) 的抗体是需要适当配制的治疗相关大分子的一个实例。抗EBOV抗体在临床上可用于预防和/或治疗埃博拉病毒感染。示例性抗EBOV抗体尤其描述于美国专利/公布号10,501,526、10,081,670、9,771,414、6,630,144、6,875,433、7,335,356和8,513,391以及WO 2016/123019、EP1539238、EP2350270和EP8513391中。

[0007] 尽管抗EBOV抗体是已知的, 但本领域仍然需要包含足够稳定并适于向患者施用的抗EBOV抗体的新型药物制剂, 所述患者包括位于偏远环境或缺乏治疗剂冷藏的环境中的患者。

发明内容

[0008] 本公开通过提供包含特异性结合埃博拉病毒 (EBOV) 的人抗体的稳定药物制剂来满足前述需求。

[0009] 一方面, 提供了一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) 含糖的稳定剂; (b) 包含组氨酸的缓冲液; (c) 包含聚山梨醇酯的有机助溶剂; 和 (d) 至少一种特异性结合埃博拉病

毒 (EBOV) 的抗体。

[0010] 在各种实施方案中,至少一种特异性结合EBOV的抗体以约 5 ± 0.75 mg/mL至约 250 ± 37.5 mg/mL的浓度提供。在一些实施方案中,250mg/mL是制剂中的最大蛋白质浓度。在一些方面,250mg/mL蛋白质包含多达三种抗体。在一些方面,包含三种抗体的制剂中的最大蛋白质浓度范围将为 5 ± 0.75 mg/mL至约250mg/mL ± 37.5 mg/mL。

[0011] 制剂中存在的两种或三种抗体的比率可以根据结果测量值进行调整。在一些方面,两种抗体以1:1的比率存在。在一些方面,抗体以1:2的比率存在。在一些方面,两种抗体以约1至10:1的比率存在。在一些方面,三种抗体以1:1:1的比率存在。在一些方面,三种抗体以1:2:1的比率存在。在一些方面,三种抗体以2:1:1的比率存在。在一些方面,三种抗体以1:1:2的比率存在。在一些方面,抗体以约1至10:1到10:1至10的比率存在。

[0012] 在一些实施方案中,剂量为约3000mg、约2000mg、约1500mg、1000mg、约800mg、约750mg、约500mg、约250mg、约200mg、约150mg、约100mg、约75mg、约50mg或约25mg。在一些方面,一个剂量包含一种抗EBOV抗体。在一些方面,一个剂量包含两种抗EBOV抗体。在一些方面,一个剂量包含三种抗EBOV抗体。在一个实施方案中,共同配制的抗体在约2小时的时间段内静脉内递送。

[0013] 在一个实施方案中,所述至少一种抗体以 12.5 mg/mL ± 1.85 mg/mL或约12.5mg/mL的浓度提供。在一个实施方案中,所述至少一种抗体以 25 mg/mL ± 3.75 mg/mL或约25mg/mL的浓度提供。在另一个实施方案中,所述至少一种抗体以 50 mg/mL ± 7.5 mg/mL或约50mg/mL的浓度提供。在另一个实施方案中,所述至少一种抗体以 100 mg/mL ± 15 mg/mL或约100mg/mL的浓度提供。在另一个实施方案中,所述至少一种抗体以 125 mg/mL ± 18.75 mg/mL或约125mg/mL的浓度提供。在一个实施方案中,所述至少一种抗体以 150 mg/mL ± 22.5 mg/mL或约150mg/mL的浓度提供。在另一个实施方案中,所述至少一种抗体以 175 mg/mL ± 26.25 mg/mL或约175mg/mL的浓度提供。在另一个实施方案中,所述至少一种抗体以 200 mg/mL ± 30 mg/mL或约200mg/mL的浓度提供。在另一个实施方案中,所述至少一种抗体以 250 mg/mL ± 37.5 mg/mL或约250mg/mL的浓度提供。

[0014] 在一些实施方案中,每种抗体以50mg/kg体重的剂量施用。在一个实施方案中,三种抗体被共同配制,使得最终制剂规定每种抗体以50mg/kg体重施用。因此,向患者施用的最终剂量为150mg/kg体重,制剂中三种抗体的比率为1:1:1。在一个实施方案中,共同配制的抗体在约2小时的时间段内静脉内递送。

[0015] 在某些实施方案中,所述制剂包含美国专利申请公布号2016/0215040中公开的任何一种或多种抗EBOV抗体,所述专利整体并入本文。在某些实施方案中,抗EBOV抗体包含(a)重链可变区(HCVR),其包含重链互补决定区1、2和3(HCDR1-HCDR2-HCDR3),所述重链互补决定区各自分别包含序列SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:8;和(b)轻链可变区(LCVR),其包含轻链互补决定区1、2和3(LCDR1-LCDR2-LCDR3),所述轻链互补决定区各自分别包含序列SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16。在一个实施方案中,抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR。在一个实施方案中,抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:17的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:18的轻链。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:2具有至少90%序列同一性的HCVR。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:10具有至少90%序列同一性的LCVR。在一个实施

方案中,抗体包含与SEQ ID NO:2具有至少95%序列同一性的HCVR和与SEQ ID NO:10具有至少95%序列同一性的LCVR。

[0016] 在某些实施方案中,抗EBOV抗体包含(a)重链可变区(HCVR),其包含重链互补决定区1、2和3(HCDR1-HCDR2-HCDR3),所述重链互补决定区各自分别包含序列SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:26;和(b)轻链可变区(LCVR),其包含轻链互补决定区1、2和3(LCDR1-LCDR2-LCDR3),所述轻链互补决定区各自分别包含序列SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32和SEQ ID NO:34。在一个实施方案中,抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR。在一个实施方案中,抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:35的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:36的轻链。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:20具有90%序列同一性的HCVR。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:28具有90%序列同一性的LCVR。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:20具有95%序列同一性的HCVR和与SEQ ID NO:28具有95%序列同一性的LCVR。

[0017] 在某些实施方案中,抗EBOV抗体包含(a)重链可变区(HCVR),其包含重链互补决定区1、2和3(HCDR1-HCDR2-HCDR3),所述重链互补决定区各自分别包含序列SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:42和SEQ ID NO:44;和(b)轻链可变区(LCVR),其包含轻链互补决定区1、2和3(LCDR1-LCDR2-LCDR3),所述轻链互补决定区各自分别包含序列SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:50和SEQ ID NO:52。在一个实施方案中,抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。在一个实施方案中,抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:54的轻链。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:38具有90%序列同一性的HCVR。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:46具有90%序列同一性的LCVR。在一个实施方案中,抗体包含与SEQ ID NO:38具有95%序列同一性的HCVR和与SEQ ID NO:46具有95%序列同一性的LCVR。

[0018] 在一个实施方案中,液体制剂的pH为 $\text{H } 6.0 \pm 0.5$ 、 $\text{pH } 6.0 \pm 0.4$ 、 $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$ 、 $\text{pH } 6.0 \pm 0.2$ 、 $\text{pH } 6.0 \pm 0.1$ 、 $\text{pH } 6.0 \pm 0.05$ 、 $\text{pH } 6.0 \pm 0.01$ 或 $\text{pH } 6.0$ 。在一个实施方案中,液体制剂的pH为约 $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$ 。

[0019] 在一个实施方案中,缓冲液包含组氨酸。在某些实施方案中,组氨酸缓冲液的浓度为 $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $50\text{mM} \pm 10\text{mM}$ 或 $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $25\text{mM} \pm 5\text{mM}$ 。在一个实施方案中,组氨酸缓冲液的浓度为 $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 或约 10mM 。在一个实施方案中,组氨酸缓冲液的浓度为 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 或约 20mM 。在一个实施方案中,组氨酸缓冲液的浓度为 $40\text{nM} \pm 8\text{mM}$ 或约 40nM 。在某些实施方案中,组氨酸缓冲液包含L-组氨酸和L-组氨酸一盐酸盐一水合物。在一个实施方案中,L-组氨酸的浓度为 $2\text{mM} \pm 0.4\text{mM}$ 至 $25\text{mM} \pm 5\text{mM}$,优选地 $4\text{mM} \pm 0.8\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 。在一个实施方案中,L-组氨酸一盐酸盐一水合物的浓度为 $2\text{mM} \pm 0.4\text{mM}$ 至 $25\text{mM} \pm 5\text{mM}$,优选地为 $4\text{mM} \pm 0.8\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 。在一个实施方案中,缓冲液包含浓度为 $4.8\text{mM} \pm 0.96\text{mM}$ 的L-组氨酸和浓度为 $5.2\text{mM} \pm 1.04\text{mM}$ 的L-组氨酸一盐酸盐一水合物。在一个实施方案中,缓冲液包含浓度为 $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸,其中组氨酸包含浓度为 $4.8\text{mM} \pm 0.96\text{mM}$ 的L-组氨酸和浓度为 $5.2\text{mM} \pm 1.04\text{mM}$ 的L-组氨酸一盐酸盐一水合物。

[0020] 在某些实施方案中,有机助溶剂是含有聚氧乙烯部分的非离子聚合物。在一个实施方案中,有机助溶剂是表面活性剂。在一些实施方案中,有机助溶剂是聚山梨醇酯、泊洛沙姆188和聚乙二醇3350中的任一种或多种。在一个实施方案中,有机助溶剂是聚山梨醇酯

80。在一个实施方案中,有机助溶剂是聚山梨醇酯20。

[0021] 在一个实施方案中,有机助溶剂的浓度为约0.01%±0.005%至约1%±0.5%“重量体积比”或“w/v”,其中例如0.1g/ml=10%并且0.01g/ml=1%。在某些实施方案中,有机助溶剂是浓度为0.05%±0.025%至0.5%±0.25% (w/v) 的聚山梨醇酯。在一个实施方案中,有机助溶剂是浓度为0.2%±0.1%w/v或约0.2%的聚山梨醇酯80。在另一个实施方案中,有机助溶剂是浓度为0.1%±0.05%w/v或约0.1%w/v的聚山梨醇酯80。在一个实施方案中,有机助溶剂是浓度为0.2%±0.1%w/v或约0.2%的聚山梨醇酯20。在另一个实施方案中,有机助溶剂是浓度为0.1%±0.05%w/v或约0.1%w/v的聚山梨醇酯20。

[0022] 在某些实施方案中,稳定剂是糖。在一个实施方案中,糖是蔗糖。在各种实施方案中,稳定剂的浓度为1%±0.2%w/v至20%±4%w/v、5%±1%w/v至15%±3%w/v或1%±0.2%至10%±2%w/v。在一个实施方案中,稳定剂是浓度为5%±1%w/v或约5%w/v的蔗糖。在另一个实施方案中,稳定剂是浓度为9%±1.8%w/v或约9%w/v的蔗糖。在另一个实施方案中,稳定剂是浓度为10%±2%w/v或约10%w/v的蔗糖。

[0023] 在某些实施方案中,制剂不需要粘度调节剂,即制剂缺少粘度调节剂。在某些实施方案中,制剂包含粘度调节剂。在一个实施方案中,制剂包含粘度调节剂,并且粘度调节剂是氨基酸或盐。在一个实施方案中,粘度调节剂是L-脯氨酸。在某些实施方案中,粘度调节剂的浓度为1%±0.2%至5%±1%w/v。在一个实施方案中,粘度调节剂是浓度为1.5%±0.3%或约1.5%的脯氨酸。在一个实施方案中,粘度调节剂是浓度为3%±0.6%或约3%的脯氨酸。

[0024] 在某些实施方案中,液体药物制剂在25℃下的粘度小于或等于约15cP±10%。在某些实施方案中,25℃下的粘度为1.0cP±10%与20cP±10%之间。在某些实施方案中,液体药物制剂的粘度≤20cP。在某些实施方案中,液体药物制剂的粘度≤15cP。在某些实施方案中,液体药物制剂的粘度≤10cP。在某些实施方案中,液体药物制剂的粘度≤5cP。在某些实施方案中,液体药物制剂的粘度≤2.5cP。在某些实施方案中,25℃下的粘度为约2cP±10%、5cP±10%、6.0cP±10%、7.0cP±10%、7.1cP±10%、7.2cP±10%、7.9cP±10%、8.3cP±10%、9.0cP±10%、9.6cP±10%、10.0cP±10%、10.6cP±10%、11.4cP±10%、11.6cP±10%、11.8cP±10%、12.0cP±10%、13.0cP±10%、14.0cP±10%、15.0cP±10%或16cP±10%。在某些实施方案中,25℃下的粘度为约2.2cP。

[0025] 一方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 5%±1%至15%±3%w/v的蔗糖,(b) 5mM±1mM至20mM±4mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.01%±0.005%至0.5%±0.25%w/v的聚山梨醇酯,例如约0.05%±0.025%至约0.2%±0.1%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 50mg/mL±7.5mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0±0.3。在另一个方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 50mg/mL±7.5mg/mL的总抗体,pH为6.0±0.3。在另一个方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 50mg/mL±5g/mL的总抗体,pH为6.0±0.3。

[0026] 在一个方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 5%±1%至15%±3%w/v的蔗糖,(b) 5mM±1mM至20mM±4mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.01%±0.005%至0.5%±0.25%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±15mg/mL的总抗体,pH为6.0±0.3。在另一个方面,提供

了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±15mg/mL的总抗体,pH为6.0±0.3。在另一个方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±10mg/mL的总抗体,pH为6.0±0.3。

[0027] 所述抗EBOV抗体包含至少一种抗体,所述抗体包含选自由(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对中所包含的三个重链互补决定区(CDR)(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一些方面,所述制剂包含以下成分:(i)、(ii)、(iii)、(i)+(ii)、(i)+(iii)或(i)+(ii)+(iii),并且制剂中存在的总抗EBOV抗体为50mg/mL±7.5mg/mL。在一些方面,所述制剂包含以下成分:(i)、(ii)、(iii)、(i)+(ii)、(i)+(iii)或(i)+(ii)+(iii),并且制剂中存在的总抗EBOV抗体为100mg/mL±15mg/mL。

[0028] 在一些实施方案中,至少一种抗EBOV抗体包含重链可变区(HCVR)和轻链可变区(LCVR),使得HCVR/LCVR组合包含重链互补决定区和轻链互补决定区(HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3),其包含选自由以下组成的组的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:4-6-8/12-14-16;分别为SEQ ID NO:22-24-26/30-32-34;和分别为SEQ ID NO:40-42-44/48-50-52。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含选自由SEQ ID NO:2/10、20/28和38/46组成的组的重链可变区(HCVR)/轻链可变区(LCVR)氨基酸序列对。在某些实施方案中,抗EBOV抗体包含选自由人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4同种型组成的组的Fc区。在一个实施方案中,抗体包含人IgG1同种型。在一个实施方案中,抗体包含重链,所述重链包含选自由SEQ ID NO:17、35和53组成的组的氨基酸序列;和轻链,所述轻链包含选自由SEQ ID NO:18、36和54组成的氨基酸序列。在一个实施方案中,抗体的分子量为145kDa±15kDa,例如144,804Da、145,905Da或143,689Da。

[0029] 在某些实施方案中,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 50mg/mL±7.5mg/mL的特异性结合EBOV的总抗体,pH为6.0±0.3;其中所述抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:17的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:18的轻链。

[0030] 在某些实施方案中,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 50mg/mL±7.5mg/mL的特异性结合EBOV的总抗体,pH为6.0±0.3;其中所述抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:35的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:36的轻链。

[0031] 在某些实施方案中,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 50mg/mL±

7.5mg/mL的特异性结合EBOV的总抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中所述抗体包含(iii)SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:54的轻链。

[0032] 在某些实施方案中,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $10\% \pm 2\%w/v$ 的蔗糖,(b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯,和(d) $50mg/mL \pm 7.5mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),并且第二抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR并且第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR。

[0033] 在某些实施方案中,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $10\% \pm 2\%w/v$ 的蔗糖,(b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯,和(d) $50mg/mL \pm 7.5mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),并且第二抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR并且第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。

[0034] 在某些实施方案中,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $10\% \pm 2\%w/v$ 的蔗糖,(b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯,和(d) $50mg/mL \pm 7.5mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),并且第二抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR并且第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。

[0035] 在某些实施方案中,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $10\% \pm 2\%w/v$ 的蔗糖,(b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯,和(d) $50mg/mL \pm 7.5mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中第一抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),第二抗体包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),并且第三抗体包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链

CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR; 第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR; 并且第三抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。

[0036] 在某些实施方案中, 提供了稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体, pH为 6.0 ± 0.3 ; 其中所述抗体包含 (i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR。在一个实施方案中, 抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:17的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:18的轻链。

[0037] 在某些实施方案中, 提供了稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体, pH为 6.0 ± 0.3 ; 其中所述抗体包含 (ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR。在一个实施方案中, 抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:35的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:36的轻链。

[0038] 在某些实施方案中, 提供了稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体, pH为 6.0 ± 0.3 ; 其中所述抗体包含 (iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。在一个实施方案中, 抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:53的重链和包含氨基酸序列SEQ ID NO:54的轻链。

[0039] 在某些实施方案中, 提供了稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体, pH为 6.0 ± 0.3 ; 其中第一抗体包含 (i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含 (ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR并且第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR。

[0040] 在某些实施方案中, 提供了稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体, pH为 6.0 ± 0.3 ; 其中第一抗体包含 (i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链

CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含 (iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR并且第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。

[0041] 在某些实施方案中, 提供了稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体, pH为 6.0 ± 0.3 ; 其中第一抗体包含 (i) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第二抗体包含 (iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR并且第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。

[0042] 在某些实施方案中, 提供了稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的特异性结合EBOV的总抗体, pH为 6.0 ± 0.3 ; 其中第一抗体包含 (i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 第二抗体包含 (ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3), 并且第三抗体包含 (iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中, 第一抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR; 第二抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR; 并且第三抗EBOV抗体包含有包含氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR和包含氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。

[0043] 在某些实施方案中, 如任何前述方面所述的制剂具有选自由以下组成的组的属性: (i) 如本文所述, 所述制剂在 $60^{\circ}C$ 、 $55^{\circ}C$ 、 $50^{\circ}C$ 、 $45^{\circ}C$ 、 $40^{\circ}C$ 、 $35^{\circ}C$ 、 $30^{\circ}C$ 、 $25^{\circ}C$ 、 $5^{\circ}C$ 、 $-20^{\circ}C$ 、 $-30^{\circ}C$ 和 $-80^{\circ}C$ 下长期储存是稳定的; (ii) 如本文所述的, 所述制剂对搅拌应激是稳定的; (iii) 如本文所述, 所述制剂对热应激是稳定的; (iv) 所述制剂是低粘度的 (粘度小于 $20cP$, 优选小于 $15cP$); (v) 如本文所述, 即使制剂赋形剂浓度有高达 $\pm 50\%$ 的变化, 所述制剂也是稳定的; (vi) 所述制剂与生理条件等渗; (vii) 所述制剂对静脉内施用装置和程序稳定并与之相容; 并且 (viii) 所述制剂在玻璃小瓶或预填充注射器中长期储存是稳定的。

[0044] 在某些实施方案中, 如任何前述方面所述的制剂具有选自由以下组成的组的属性: (i) 制剂的粘度小于 $10cP$; (ii) 制剂的粘度小于 $5cP$; (iii) 制剂的粘度小于约 2.5 ; (iv) 在 $45^{\circ}C$ 下28天后, 至少 90% 的抗体是天然种类; (v) 在 $45^{\circ}C$ 下28天后, 至少 18% 的抗体是抗体的主要电荷变体; (vi) 在 $25^{\circ}C$ 下三个月后, 至少 96% 的抗体是天然种类; (vii) 在 $25^{\circ}C$ 下三个月后, 至少 30% 的抗体是抗体的主要电荷变体; (viii) 在 $5^{\circ}C$ 下36个月后, 至少 96% 的抗体是天然种类; (ix) 在 $5^{\circ}C$ 下36个月后, 至少 34% 的抗体是抗体的主要电荷变体; (x) 搅拌

120分钟后,至少97%的抗体是天然种类;(xi) 搅拌120分钟后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体;(xii) 在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类;和/或(xiii) 在8次冷冻解冻循环后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体。

[0045] 在某些实施方案中,前述方面中任一者的制剂内的抗体具有选自由以下组成的组的属性:(i) 所述抗体在-80℃下储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%的ADCC活性;(ii) 所述抗体在-30℃下储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%或至少约90%的ADCC活性;(iii) 所述抗体在-20℃下储存3个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;(iv) 所述抗体在5℃下储存56天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;(v) 所述抗体在25℃/60%相对湿度(RH)下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;(vi) 所述抗体在40℃/75%RH下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性;(vii) 所述抗体在搅拌120分钟或8次冷冻/解冻循环后,相对于同一抗体在搅拌或冷冻/解冻前的活性,保留至少约90%或至少约95%的ADCC活性。

[0046] 在某些实施方案中,前述方面中任一者的制剂中的抗体具有选自由以下组成的组的属性:(i) 所述抗体在-80℃储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;(ii) 所述抗体在-30℃下储存12个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;(iii) 所述抗体在-20℃储存3个月后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;(iv) 所述抗体在5℃下储存56天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%、或至少约85%、或至少约90%、或至少约95%的假病毒中和活性;(v) 所述抗体在25℃/60%相对湿度(RH)下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%或至少约85%或至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;(vi) 所述抗体在40℃/75%RH下储存28天后,相对于同一抗体在储存前的活性,保留至少约80%或至少约85%或至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性;(vii) 所述抗体在搅拌120分钟或8次冷冻/解冻循环后,相对于同一抗体在搅拌或冷冻/解冻前的活性,保留至少约90%或至少约95%的假病毒中和活性。

[0047] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含:(a) 至少一种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少一种抗体包含选自由(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,pH 6.0 $\pm$ 0.3,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,以及(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖。在根据该方面的一个实施方案中,在5℃下36个月后,至少96%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一些方面,药物制剂由以下组成:(a) 50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗体,(b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中,pH为6.0 $\pm$ 0.3。

[0048] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含:(a) 至少两种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少两种抗体包含选自由(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ

ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含 $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,以及(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖。在根据该方面的一个实施方案中,在 5°C 下12个月后,至少96%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一些方面,药物制剂由以下组成: (a) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,和(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖,以上物质在水中, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0049] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含: (a) 特异性结合EBOV的三种抗体的组合,其中所述至三种抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含 $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 组氨酸缓冲液, $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,以及(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖。在根据该方面的一个实施方案中,在 5°C 下12个月后,至少96%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一些方面,药物制剂由以下组成: (a) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,和(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖,以上物质在水中, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0050] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含: (a) 至少一种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少一种抗体包含选自由(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含 $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,以及(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖。在根据该方面的一个实施方案中,在 5°C 下12个月后,至少96%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一些方面,药物制剂由以下组成: (a) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,和(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖,以上物质在水中, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0051] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含: (a) 至少两种特异性结合EBOV的抗体,其中所述至少两种抗体包含选自由(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46组成的组的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含 $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,以及(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖。在根据该方面的一个实施方案中,在 5°C 下12个月后,至少96%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一些方面,药物制剂由以下组成: (a) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,和(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖,以上物质在水中, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0052] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含: (a) 特异性结

合EBOV的三种抗体的组合,其中所述至三种抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含100mg/mL $\pm$ 15mg/mL, (b) 10mM $\pm$ 2mM组氨酸缓冲液, pH 6.0 $\pm$ 0.3, (c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,以及(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖。在根据该方面的一个实施方案中,在5℃下12个月后,至少96%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类。在根据该方面的一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一些方面,药物制剂由以下组成:(a) 100mg/mL $\pm$ 15mg/mL的总抗体, (b) 10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液, (c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,和(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,以上物质在水中, pH为6.0 $\pm$ 0.3。

[0053] 在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗体,所述抗体特异性结合EBOV并且在25℃下具有小于3cP的粘度。在一个实施方案中, $\geq$ 90%的抗体的分子量为146kDa $\pm$ 5kDa,例如144,804Da、145,905Da或143,689Da。在一个实施方案中,药物制剂在25℃下具有小于5cP、小于4cP或小于3cP的粘度。在一个实施方案中,在45℃下28天后,至少90%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在45℃下28天后,至少18%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在25℃下三个月后,至少96%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在25℃下三个月后,至少30%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在5℃下12个月后,至少96%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在5℃下12个月后,至少34%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在120分钟搅拌后,至少97%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,搅拌120分钟后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体。

[0054] 在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含100mg/mL $\pm$ 15mg/mL的总抗体,并且在20℃下具有小于5cP的粘度。在一个实施方案中, $\geq$ 90%的抗体的分子量为145kDa $\pm$ 2kDa,例如144,804Da、145,905Da或143,689Da。在一个实施方案中,药物制剂在20℃下具有小于6cP或小于5cP的粘度。在一个实施方案中,在45℃下28天后,至少90%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在45℃下28天后,至少18%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在25℃下三个月后,至少96%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在25℃下三个月后,至少30%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在5℃下12个月后,至少96%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在5℃下12个月后,至少34%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在120分钟搅拌后,至少97%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,搅拌120分钟后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体。在一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类。在一个实施方案中,在8次冷冻解冻循环后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体。

[0055] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含:(a) 特异性结合EBOV的三种抗体的组合,其中所述至三种抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL, (b) 10mM $\pm$ 2mM组氨酸缓冲液, pH 6.0 $\pm$ 0.3, (c) 0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯80,以及(d) 10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖。在该特定制剂的一个实施方案中,粘度小于3cP。

[0056] 在该方面的某些实施方案中,提供了一种稳定的液体制剂,其包含:(a) 特异性结合EBOV的三种抗体的组合,其中所述至三种抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对,并且其中总抗体包含 $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 组氨酸缓冲液, $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯80,以及(d) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖。在该特定制剂的一个实施方案中,粘度小于 5cP 。

[0057] 在一个方面,本公开提供了一种稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $5\% \pm 1\%$ 至 $15\% \pm 3\% \text{w/v}$ 的蔗糖, (b) $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.01\% \pm 0.005\%$ 至 $0.5\% \pm 0.25\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯,和(d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗EBOV抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。在另一个方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯,和(d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗EBOV抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。根据这个方面,抗EBOV抗体包含特异性结合EBOV的三种抗体的组合,其中三种抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对。

[0058] 在一个方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $5\% \pm 1\%$ 至 $15\% \pm 3\% \text{w/v}$ 的蔗糖, (b) $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.01\% \pm 0.005\%$ 至 $0.5\% \pm 0.25\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯,和(d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗EBOV抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。在另一个方面,提供了稳定的液体药物制剂,其包含:(a) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯,和(d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。根据这个方面,抗EBOV抗体包含特异性结合EBOV的三种抗体的组合,其中三种抗体包含(i) SEQ ID NO:2/10、(ii) SEQ ID NO:20/28和(iii) SEQ ID NO:38/46的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对。

[0059] 在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 150mg/mL 总抗EBOV抗体。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 100mg/mL 总抗EBOV抗体。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 50mg/mL 总抗EBOV抗体。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 组氨酸缓冲液。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 10% 蔗糖。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 9% 蔗糖。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 8% 蔗糖。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 5% 蔗糖。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 0.1% 聚山梨醇酯。在一个实施方案中,稳定的液体制剂包含 0.2% 聚山梨醇酯。在一个实施方案中,聚山梨醇酯是聚山梨醇酯80或聚山梨醇酯20。

[0060] 在一个实施方案中,稳定的液体制剂在 $\text{pH } 6.0$ 的含有 10mM L-组氨酸、 $10\% \text{ (w/v)}$ 蔗糖和 $0.1\% \text{ (w/v)}$ 聚山梨醇酯80的水性缓冲溶液中包含 33.3mg/mL 包含SEQ ID NO:2/10的重链可变区/轻链可变区(HCVR/LCVR)氨基酸序列对的抗体、 33.3mg/mL 包含SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对的抗体和 33.3mg/mL 包含SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对的抗体。在一个实施方案中,相对于在 5°C 下储存6个月之前的相同液体制剂,稳定的液体制剂在 5°C 下储存6个月之后在ADCC生物测定中保持至少约 90% 或至少约 95% 的ADCC效价。在一个实施方案中,相对于在 5°C 储存6个月之前的相同液体制剂,稳定液体制剂在 5°C 下储存6个月之后保持至少约 95% 的假病毒中和活性。在一个实施方案中,相对于在 $25^\circ\text{C}/60\% \text{RH}$ 下储存6个月之前的相同液体制剂,稳定的液体制剂在 $25^\circ\text{C}/60\% \text{RH}$ 下储存6个

月之后,在ADCC生物测定中保持至少约80%或至少约85%的ADCC效价。在一个实施方案中,相对于在25℃/60%RH下储存6个月之前的相同液体制剂,稳定的液体制剂在25℃/60%RH下储存6个月之后保持至少约95%的假病毒中和活性。在一个实施方案中,相对于在40℃/75%RH下储存6个月之前的相同液体制剂,稳定的液体制剂在40℃/75%RH下储存6个月之后保持至少约95%的假病毒中和活性。在一个实施方案中,相对于搅拌120分钟之前的相同液体制剂,稳定的液体制剂在搅拌120分钟之后在ADCC生物测定中保持至少约95%的ADCC效价。在一个实施方案中,相对于8次冷冻/解冻循环之前的相同液体制剂,稳定的液体制剂在8次冷冻/解冻循环之后在ADCC生物测定中保持至少约85%的ADCC效价。在一个实施方案中,相对于搅拌120分钟之前的相同液体制剂,稳定液体制剂在搅拌120分钟之后保持至少约95%的假病毒中和活性。在一个实施方案中,相对于8次冷冻/解冻循环之前的相同液体制剂,稳定的液体制剂在8次冷冻/解冻循环之后保持至少约95%的假病毒中和活性。

[0061] 在一方面,在容器中提供前述方面中任一者的稳定的液体药物制剂。在一个实施方案中,容器是小瓶。在一个实施方案中,容器是聚碳酸酯小瓶。在一个实施方案中,容器是玻璃小瓶。在一个实施方案中,玻璃小瓶是1型透明玻璃小瓶。在一个实施方案中,玻璃小瓶是1型硼硅酸盐玻璃小瓶,带有碳氟化合物涂覆的丁基橡胶塞。在一个实施方案中,容器是微型注入器。在一个实施方案中,容器是注射器。在一个实施方案中,容器是预填充注射器。在一个实施方案中,注射器包括低钨玻璃。在一个实施方案中,注射器包括自动注射器。在一个实施方案中,注射器包括涂覆有碳氟化合物的柱塞。在某些实施方案中,注射器是1mL或2.25mL长的玻璃注射器,含有少于约十亿分之500的钨,配有27-G针头、碳氟化合物涂覆的丁基橡胶塞和无胶乳无细胞毒性的橡胶顶端盖帽。在一个实施方案中,注射器是1mL长的玻璃注射器,配有27-G薄壁针头、FLURORTEC涂覆的4023/50橡胶塞和FM 27橡胶端帽。在一个实施方案中,注射器是装有针头的1mL、2mL、3mL、5mL或10mL塑料注射器。

[0062] 在一方面,提供了一种试剂盒,其包含前述方面中任一者的稳定的药物组合物、容器和说明书。在一个实施方案中,容器是玻璃小瓶。在一个实施方案中,容器是预填充注射器。在一个实施方案中,容器是自动注射器。在一个实施方案中,注射器是1mL或2.25mL长的玻璃注射器,配有27-G薄壁针头、FLURORTEC涂覆的4023/50橡胶塞和FM 27橡胶端帽。在一个实施方案中,注射器是装有针头的1mL、2mL、3mL、5mL或10mL塑料注射器。

[0063] 在某些实施方案中,本公开提供了一种包含稳定的液体药物制剂的预填充注射器,所述制剂包含:(i) $5 \pm 0.75 \text{ mg/ml}$ 至 $250 \pm 37.5 \text{ mg/ml}$ 的至少一种特异性结合EBOV的人抗体;(ii) 5 mM 至 20 mM 组氨酸缓冲液;(iii) $0.05\% \pm 0.025\%$ 至 $0.3\% \pm 0.15\%$ (w/v) 的聚山梨醇酯80;和 $1\% \pm 0.2\%$ 至 $10\% \pm 2\%$ (w/v) 的蔗糖,在 $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$ 下,其中所述至少一种人抗EBOV抗体选自由以下组成的组:包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的第一抗体、包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的第二抗体和包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的第三抗体。在一些方面,所述制剂具有选自由以下组成的组的属性:在45℃下28天后,至少90%的抗体是天然种类;在45℃下28天后,至少18%的抗体是抗体的主要电荷变体;在25℃下三个月后,至少96%的抗体是天然

的;在25℃下三个月后,至少30%的抗体是抗体的主要电荷变体;在5℃下12个月后,至少96%的抗体是天然种类;在5℃下12个月后,至少34%的抗体是抗体的主要电荷变体;在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类;在搅拌120分钟后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体;在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类;在8次冷冻解冻循环后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体;超过90%的抗体的分子量为 $145\text{kDa} \pm 2\text{kDa}$,例如144,804Da、145,905Da或143,689Da;并且所述药物制剂的粘度小于20cP、小于15cP、小于10cP、小于5cP或小于3cP。

[0064] 在某些实施方案中,本公开提供了一种包含稳定的液体药物制剂的玻璃小瓶,所述制剂包含:(a) $10\% \pm 2\% \text{w/v}$ 的蔗糖,(b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\% \text{w/v}$ 的聚山梨醇酯,和(d) $5\text{mg/mL} \pm 0.75\text{mg/mL}$ 至 $250\text{mg/mL} \pm 37.5$ 的总抗EBOV抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中所述至少一种抗EBOV抗体选自由以下组成的组:包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的第一抗体、包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的第二抗体和包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的第三抗体。在一些方面,所述制剂具有选自由以下组成的组的属性:所述制剂对在玻璃小瓶中的储存和应激是稳定的;所述制剂对于静脉递送装置是稳定的,并且适合用于IV递送装置;所述制剂对于用本领域已知的标准稀释剂(例如,0.9%氯化钠或5%葡萄糖或乳酸林格氏液)稀释是化学和物理稳定的;所述制剂对于由玻璃或聚合物塑料(例如,聚氯乙烯、邻苯二甲酸酯、聚烯烃或聚丙烯)制成的IV袋是稳定的;所述制剂与标准输液泵(例如蠕动泵、流体位移泵)相容;在45℃下28天后,至少90%的抗体是天然种类;在45℃下28天后,至少18%的抗体是抗体的主要电荷变体;在25℃下三个月后,至少96%的抗体是天然种类;在25℃下三个月后,至少30%的抗体是抗体的主要电荷变体;在5℃下12个月后,至少96%的抗体是天然种类;在5℃下12个月后,至少34%的抗体是抗体的主要电荷变体;在搅拌120分钟后,至少97%的抗体是天然种类;在搅拌120分钟后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体;在8次冷冻解冻循环后,至少97%的抗体是天然种类;在8次冷冻解冻循环后,至少35%的抗体是抗体的主要电荷变体;超过90%的抗体的分子量为 $145\text{kDa} \pm 2\text{kDa}$,例如144,804Da、145,905Da或143,689Da;并且所述药物制剂的粘度小于20cP、小于15cP、小于10cP、小于5cP或小于3cP。在一些方面,所述制剂在约2℃至约8℃的温度下运输是稳定的。在一些方面,所述制剂在约2℃至约8℃下储存时是稳定的。应已进行稳定性研究已支持来自储存条件的潜在偏差。在一些方面,所述制剂在室温下稳定至少约6个月。在一些方面,所述制剂对搅拌和冷冻/解冻循环是物理和化学稳定的。在一些方面,制剂中的抗体在暴露于高达25℃或高达30℃的温度后,或者在搅拌或冷冻/解冻循环后,保持生物活性,例如ADCC活性或假病毒中和活性。

[0065] 通过阅读随后的详细描述,其他实施方案将变得显而易见。

附图说明

[0066] 图1示出了H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的RP-UPLC色谱图的叠加图。

[0067] 图2示出了H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P SE-UPLC色谱图的叠加图。

具体实施方式

[0068] 治疗药物诸如生物制剂通常被配制成制剂中的单个药物,为在低温下长期储存提供治疗稳定性。包装好的生物制品应小心处理,通常在使用前保持冻干状态,以最小化大分子的聚集和破坏。冻干制剂通常比液体制剂更稳定。此外,在运输和储存过程中,包装好的生物制品如果不冷冻,也要冷藏。

[0069] 本文提供了包含用于治疗埃博拉病毒 (EBOV) 感染或用于预防性治疗EBOV暴露的抗体的稳定药物制剂。这些制剂是稳定的液体抗体制剂,其被制备成能经受严格的运输和储存,同时保持稳定性。所述治疗剂的制备方式使得便于在诸如刚果和苏丹的埃博拉疫情爆发的偏远地区使用。因此,制剂为液体形式,以避免在使用冻干形式的药物之前所需的重构步骤,从而避免药物产品的可能污染。液体药物制剂甚至在长途运输和经受应激(例如温度循环、极端温度、运输过程中的搅拌等条件)时也是稳定的,治疗剂在从制造工厂运送到发生埃博拉暴露和/或存在埃博拉患者的偏远野战诊所的过程中可能暴露的条件。

[0070] 在一些方面,稳定的液体制剂包含多于一种抗体,例如是包含例如两种或三种抗EBOV抗体的混合物。稳定的抗体混合物制剂是困难的。IV袋中的蛋白质治疗剂暴露于环境温度和可见光是短期的,因此这些温和的条件通常不会诱导产品降解。然而,在长期储存期间,单个蛋白质通常会经历一些降解过程,包括增强的有吸引力的分子间蛋白质-蛋白质相互作用、增加的粘度和受损的结构完整性。在共制剂制造、运输、储存、处理和患者施用期间出现的压力条件会影响产品的关键问题:聚集、脱酰胺、氧化等。此外,共制剂条件可导致异质聚集体的形成。参见Svitel等人,BioProcess International,2019;Patel等人,Journal of Pharmaceutical Sciences,107:3032-3046,2018;以及Mueller等人,Journal of Pharmacy and Pharmacology,70:666-674,2018。

[0071] 在描述本发明的方法前,应当理解,本发明不限于所述的特定方法和实验条件,因为这类方法和条件可以变化。还应当理解,本文所用的术语仅用于描述具体实施方案的目的,而不旨在进行限制,因为本公开的范围将仅由所附权利要求限定。

[0072] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解相同的含义。本文中使用的术语“约”,当用于提及特定列举的数值或数值范围时,意指所述值可以与列举的值相差不超过1%。举例来说,如本文所用,表述“约100”包括99和101以及它们之间的全部值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4等)。尽管与本文中描述的那些方法和材料类似或等效的任何方法和材料均可用于本公开的实践或检验,但现在描述优选的方法和材料。本文提及的所有出版物通过引用整体并入本文。

[0073] 如本文所用,表述“药物制剂”意指至少一种活性成分(例如,小分子、大分子、化合物等,其能够在人或非人动物中发挥生物效应)和至少一种非活性成分的组合,所述非活性成分当与活性成分或一种或多种另外的非活性成分组合时,适用于对人或非人动物进行治疗性施用。除非另有明确说明,否则如本文所用,术语“制剂”是指“药物制剂”。本公开提供了包含至少一种治疗性多肽的药物制剂。根据本公开的某些实施方案,治疗性多肽是特异性结合埃博拉病毒 (EBOV) 的抗体或其抗原结合片段。更具体地,本公开包括稳定的药物制剂,其包含:(i) 一种或多种特异性结合EBOV的人抗体;(ii) 组氨酸缓冲液;(iii) 为非离子表面活性剂的有机助溶剂;和(iv) 为碳水化合物的稳定剂。在一个具体实施方案中,稳定的药物制剂包含:(i) 特异性结合EBOV的三种人抗体;(ii) 组氨酸缓冲液;(iii) 为非离子表面

活性剂的有机助溶剂;和(iv)为碳水化合物的稳定剂。下文详细描述了包含在本公开中的具体示例性组分和制剂。

[0074] 特异性结合EBOV的抗体

[0075] 本公开的药物制剂可包含特异性结合EBOV的人抗体或其抗原结合片段。如本文所用,术语“EBOV”是指埃博拉病毒。针对EBOV的抗体描述于例如美国专利/公布号10,501,526、10,081,670、9,771,414、6,630,144、6,875,433、7,335,356和8,513,391以及W0 2016/123019、EP1539238、EP2350270和EP8513391中。

[0076] 如本文所用,术语“抗体”通常意图指包含四条多肽链即通过二硫键相互连接的两条重链(H链)和两条轻链(L链)的免疫球蛋白分子,以及其多聚体(例如IgM);然而,仅由重链(即没有轻链)组成的免疫球蛋白分子也包括在术语“抗体”的定义中。每个重链包含重链可变区(在本文中缩写为HCVR或 V_H)和重链恒定区。重链恒定区包含三个结构域:CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(在本文中缩写为LCVR或 V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包含一个结构域(CL1)。 V_H 区和 V_L 区可以进一步再划分为高变区,称为互补性决定区(CDR),其间插有更保守的区域,称为框架区(FR)。每个 V_H 和 V_L 由从氨基末端到羧基末端按照以下次序排列的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0077] 除非特别指出,否则如本文所用的术语“抗体”应理解为包括完整的抗体分子及其抗原结合片段。如本文所用,术语抗体的“抗原结合部分”或“抗原结合片段”(或简称“抗体部分”或“抗体片段”)是指保留特异性结合EBOV或其表位的能力的抗体的一个或多个片段。

[0078] 如本文所用,“分离抗体”意图指基本上不含具有不同抗原特异性的其他抗体的抗体(例如,特异性结合EBOV的分离抗体基本上不含特异性结合除EBOV以外的抗原的抗体)。

[0079] 术语“特异性结合”等意指抗体或其抗原结合片段与抗原形成在生理条件下相对较稳定的复合物。特异性结合的特征在于至少约 1×10^{-8} 或更大的解离常数。用于确定两个分子是否特异性结合的方法是本领域众所周知的,并且包括例如平衡透析、表面等离子共振等。在本公开的上下文中,结合EBOV以及一种或多种额外抗原的多特异性(例如,双特异性)抗体被认为“特异性结合”EBOV。此外,分离的抗体可以基本上不含其他细胞物质或化学物质。

[0080] 可包含在本公开的药物制剂中的示例性抗EBOV抗体在专利申请公布US2016/0215040和W0 2016/123019中阐述,所述专利的公开内容以引用方式整体并入。特别感兴趣的是其中公开的三种抗体H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P,并且它们独立配制或以任何组合形式配制在稳定的药物制剂中。

[0081] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:4的重链互补决定区(HCDR)1、SEQ ID NO:6的HCDR2和SEQ ID NO:8的HCDR3。在某些实施方案中,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:2的HCVR。

[0082] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:12的轻链互补决定区(LCDR)1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3。在某些实施方案中,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:10的LCVR。

[0083] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:2具有90%、95%、98%或99%序列同一性的HCVR。

[0084] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:10具有90%、95%、98%或99%序列同一性的LCVR。

[0085] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含有包含具有不超过5个氨基酸取代的氨基酸序列SEQ ID NO:2的HCVR。

[0086] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含有包含具有不超过2个氨基酸取代的氨基酸序列SEQ ID NO:10的LCVR。

[0087] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:22的重链互补决定区(HCDR)1、SEQ ID NO:24的HCDR2和SEQ ID NO:26的HCDR3。在某些实施方案中,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:20的HCVR。

[0088] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:30的轻链互补决定区(LCDR)1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3。在某些实施方案中,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:28的LCVR。

[0089] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:20具有90%、95%、98%或99%序列同一性的HCVR。

[0090] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:28具有90%、95%、98%或99%序列同一性的LCVR。

[0091] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含有包含具有不超过5个氨基酸取代的氨基酸序列SEQ ID NO:20的HCVR。

[0092] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含有包含具有不超过2个氨基酸取代的氨基酸序列SEQ ID NO:28的LCVR。

[0093] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:40的重链互补决定区(HCDR)1、SEQ ID NO:42的HCDR2和SEQ ID NO:44的HCDR3。在某些实施方案中,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:38的LCVR。

[0094] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:48的轻链互补决定区(LCDR)1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。在某些实施方案中,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:46的LCVR。

[0095] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:38具有90%、95%、98%或99%序列同一性的HCVR。

[0096] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:46具有90%、95%、98%或99%序列同一性的LCVR。

[0097] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含有包含具有不超过5个氨基酸取代的氨基酸序列SEQ ID NO:38的HCVR。

[0098] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV抗体或其抗原结合片段包含有包含具有不超过2个氨基酸取代的氨基酸序列SEQ ID NO:46的LCVR。

[0099] 根据本公开的某些实施方案,稳定的液体药物制剂包含一种或多种如上所述的抗EBOV抗体或其抗原结合片段。

[0100] 序列同一性可以通过本领域已知的任何方法(例如GAP、BESTFIT和BLAST)来测量。

[0101] 本公开还包括包含抗EBOV抗体的稳定液体制剂,其中所述抗EBOV抗体包含本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的变体,其具有一个或多个氨基酸取代,例如保守

氨基酸取代。说明性地,本公开包括包含具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗EBOV抗体的制剂,所述氨基酸序列相对于本文公开的任何HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少等氨基酸取代,例如保守氨基酸取代。

[0102] 在某些实施方案中,抗EBOV抗体包含选自由人IgG1、IgG2、IgG3和IgG4同种型组成的组的Fc区。

[0103] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:17的重链和SEQ ID NO:18的轻链。

[0104] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:35的重链和SEQ ID NO:36的轻链。

[0105] 根据本公开的某些实施方案,抗EBOV或其抗原结合片段包含SEQ ID NO:53的重链和SEQ ID NO:54的轻链。

[0106] 本领域所熟知,氨基酸的末端切割可发生在抗体的生产期间(参见例如Wang等人2007, J. Pharma. Sci. 96:1-26)。因此,在某些实施方案中,抗EBOV抗体包含重链和轻链,其中重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:17,其中重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:35,或者其中重链包含氨基酸序列SEQ ID NO:53。在一些方面,重链从氨基酸序列SEQ ID NO:17中失去C端赖氨酸。在一些方面,重链从氨基酸序列SEQ ID NO:35中失去C端赖氨酸。在一些方面,重链氨基从氨基酸序列SEQ ID NO:53中失去C端赖氨酸。在某些实施方案中,本公开的制剂包含约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约95%、约98%或更多的抗EBOV抗体,其中不存在C端赖氨酸。

[0107] 包含在本公开的稳定液体药物制剂中的抗体、抗体组合或其抗原结合片段的量可以根据制剂所需的特定性质以及制剂预期使用的特定环境和目的而变化。例如,可能有必要将包含一种或多种抗EBOV抗体的制剂从生产地运输到世界的偏远地区,例如刚果或非洲的其他地区,在那里制剂可能在运输期间暴露于搅拌和/或在运输期间或在护理点暴露于高温。

[0108] 在某些实施方案中,药物制剂是稳定的液体制剂,其可含有 5 ± 0.75 mg/mL至 250 ± 37.5 mg/mL的总抗体; 10 ± 1.5 mg/mL至 240 ± 36 mg/mL的总抗体; 20 ± 3.0 mg/mL至 230 ± 34.5 mg/mL的总抗体; 25 ± 3.75 mg/mL至 240 ± 36 mg/mL的总抗体; 50 ± 7.5 mg/mL至 230 ± 34.5 mg/mL的总抗体; 60 ± 9 mg/mL至 240 ± 36 mg/mL的总抗体; 70 ± 10.5 mg/mL至 230 ± 34.5 mg/mL的总抗体; 80 ± 12 mg/mL至 220 ± 33 mg/mL的总抗体; 90 ± 13.5 mg/mL至 210 ± 31.5 mg/mL的总抗体; 100 ± 15 mg/mL至 200 ± 30 mg/mL的总抗体; 110 ± 16.5 mg/mL至 190 ± 28.5 mg/mL的总抗体; 120 ± 18 mg/mL至 180 ± 27 mg/mL的总抗体; 130 ± 19.5 mg/mL至 170 ± 25.5 mg/mL的总抗体; 140 ± 21 mg/mL至 160 ± 24 mg/mL的总抗体; 150 ± 22.5 mg/mL的总抗体;或 175 ± 26.25 mg/mL。例如,本公开的制剂可以包含约5mg/mL;约10mg/mL;约15mg/mL;约20mg/mL;约25mg/mL;约30mg/mL;约35mg/mL;约40mg/mL;约45mg/mL;约50mg/mL;约55mg/mL;约60mg/mL;约65mg/mL;约70mg/mL;约75mg/mL;约80mg/mL;约85mg/mL;约90mg/mL;约95mg/mL;约100mg/mL;约105mg/mL;约110mg/mL;约115mg/mL;约120mg/mL;约125mg/mL;约130mg/mL;约135mg/mL;约140mg/mL;约145mg/mL;约150mg/mL;约155mg/mL;约160mg/mL;约165mg/mL;约170mg/mL;约175mg/mL;约180mg/mL;约185mg/mL;约190mg/mL;约195mg/mL;约200mg/mL;约205mg/mL;约210mg/mL;约215mg/mL;约220mg/mL;约225mg/mL;约230mg/mL;约

235mg/mL;约240mg/mL;约245mg/mL;或约250mg/mL的特异性结合EBOV的总抗体或其抗原结合片段。

[0109] 赋形剂和pH

[0110] 本公开的药物制剂包含一种或多种赋形剂。如本文所用,术语“赋形剂”是指添加到制剂中以提供所需稠度、粘度或稳定效果的任何非治疗剂。

[0111] 在某些实施方案中,本文公开的药物制剂包含至少一种有机共溶剂,其类型和量能够在粗暴处理或搅拌条件(例如涡旋、回转振荡和震荡)下稳定EBOV抗体。在一些实施方案中,“稳定”意指防止聚集抗体的形成,例如,防止在粗略处理过程中形成超过抗体总量(基于摩尔)的0%的聚集抗体、或超过1%的聚集抗体、或超过3%的聚集抗体。在一些实施方案中,助溶剂稳定制剂以防止形成0%至3%的聚集抗体。在一些实施方案中,共溶剂稳定制剂以防止形成超过0%的聚集抗体。

[0112] 在一些实施方案中,粗略处理是将含有抗体和有机共溶剂的溶液涡旋约60分钟或约120分钟。

[0113] 在某些实施方案中,有机助溶剂是非离子表面活性剂,例如烷基聚(环氧乙烷)。可包含在本公开制剂中的特定非离子表面活性剂包括例如聚山梨醇酯,诸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯28、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯65、聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯81和聚山梨醇酯85;泊洛沙姆,诸如泊洛沙姆181、泊洛沙姆188、泊洛沙姆407;或聚乙二醇(PEG)。聚山梨醇酯20也称为TWEEN20、脱水山梨醇单月桂酸酯和聚氧乙烯脱水山梨醇单月桂酸酯。泊洛沙姆188也称为普朗尼克F68。

[0114] 本公开的药物制剂中包含的非离子表面活性剂的量可以根据制剂所需的具体性质以及制剂预期使用的具体情况和目的而变化。在某些实施方案中,制剂可以包含0.01%±0.005%至0.5%±0.25%的表面活性剂。例如,本公开的制剂可以包含约0.005%;约0.01%;约0.02%;约0.03%;约0.04%;约0.05%;约0.06%;约0.07%;约0.08%;约0.09%;约0.1%;约0.11%;约0.12%;约0.13%;约0.14%;约0.15%;约0.16%;约0.17%;约0.18%;约0.19%;约0.20%;约0.21%;约0.22%;约0.23%;约0.24%;约0.25%;约0.26%;约0.27%;约0.28%;约0.29%;约0.30%;约0.35%;约0.40%;约0.45%;约0.46%;约0.47%;约0.48%;约0.49%;约0.50%;约0.55%;或0.575%的聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80。

[0115] 本公开的药物制剂还可以包含一种或多种稳定剂,其类型和量在热应激条件下稳定EBOV抗体。在一些实施方案中,“稳定”意指当含有抗体和热稳定剂的溶液在约45℃下保持至少约28天时,保持大于约91%的天然构象的抗体。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和热稳定剂的溶液在约45℃保持至少约28天时,少于约6%的抗体聚集。如本文所用,“天然”意指通过尺寸排阻的抗体的主要形式,其通常是抗体的完整单体。术语“天然”也是指抗体的非聚集和非降解形式。

[0116] 在一些实施方案中,热稳定剂是多元醇。在一些实施方案中,热稳定剂是氨基酸。在一些方面,热稳定剂是糖,例如蔗糖。制剂中所包含的稳定剂的量可以根据具体情况和制剂使用的预期目的而变化。在某些实施方案中,制剂可以含有约1%至约15%的糖;约2%至约14%的糖;约3%至约13%的糖;约4%至约12%的糖;约5%至约12%的糖;约6%至约11%的糖;约7%至约10%的糖;约8%至约11%的糖;或约9%至约11%的糖。例如,本公开

的药物制剂可以包含 $4\% \pm 0.8\%$; $5\% \pm 1\%$; $6\% \pm 1.2\%$; $7\% \pm 1.4\%$; $8\% \pm 1.6\%$; $9\% \pm 1.8\%$; $10\% \pm 2\%$; $11\% \pm 2.2\%$; $12\% \pm 2.4\%$; $13\% \pm 2.6\%$;或约 $14\% \pm 2.8\%$ 的糖(例如蔗糖)。

[0117] 本公开的药物制剂还可以包含缓冲剂或缓冲系统,其用于保持稳定的pH并帮助稳定EBOV抗体。如本文所用,术语“缓冲剂”表示药学上可接受的缓冲剂,其保持稳定的pH或抵抗溶液pH的变化。在优选的实施方案中,缓冲液包含组氨酸。在本公开的上下文中,“组氨酸缓冲液”或“包含组氨酸的缓冲液”是包含氨基酸组氨酸的缓冲液。组氨酸缓冲液的实例包括组氨酸氯化物、组氨酸乙酸盐、组氨酸磷酸盐和组氨酸硫酸盐。在一个实施方案中,组氨酸缓冲液通过以确定的量和比率溶解L-组氨酸和L-组氨酸盐酸盐(例如一水合物)来制备。在一个实施方案中,通过用稀盐酸滴定L-组氨酸(游离碱,固体)来制备组氨酸缓冲液。贯穿本公开,术语“组氨酸”可与“组氨酸缓冲液”互换使用。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 45°C 保持至少约28天时,少于约 $10\% \pm 0.5\%$ 的抗体聚集。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 25°C 下保持长达约三个月时,少于 $5\% \pm 0.5\%$ 或少于 $4\% \pm 0.5\%$ 的抗体聚集。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 5°C 下保持长达约36个月时,少于 $5\% \pm 0.5\%$ 或少于 $4\% \pm 0.5\%$ 的抗体聚集。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 45°C 下保持至少约28天时,如通过尺寸排阻色谱法测定,至少 $90\% \pm 0.5\%$ 或至少 $94\% \pm 0.5\%$ 的抗体处于其天然构象。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 25°C 下保存长达约3个月时,如通过尺寸排阻色谱法测定,至少 $95\% \pm 0.5\%$ 或至少 $96\% \pm 0.5\%$ 的抗体处于其天然构象。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 5°C 下保存长达约12个月时,如通过尺寸排阻色谱法测定,至少 $95\% \pm 0.5\%$ 或至少 $96\% \pm 0.5\%$ 的抗体处于其天然构象。“天然”或“天然构象”是指没有聚集或降解的抗体部分。这通常通过测量抗体实体的相对大小的测定来确定,所述测定例如尺寸排阻色谱测定。未聚集和未降解的抗体以等同于天然抗体的级分洗脱,并且通常是主要的洗脱级分。聚集的抗体以比天然抗体大的级分洗脱。降解的抗体以指示尺寸小于天然抗体的级分洗脱。

[0118] 在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 45°C 下保持至少约28天或至少约一个月时,如通过阳离子交换色谱法测定,至少 $18\% \pm 0.5\%$ 的抗体处于其主要电荷形式。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 25°C 下保存长达约3个月时,如通过阳离子交换色谱法测定,至少 $30\% \pm 0.5\%$ 或至少 $35\% \pm 0.5\%$ 的抗体处于其主要电荷形式。在一些实施方案中,“稳定”意指其中当含有抗体和缓冲剂的溶液在约 5°C 下保存长达约12个月时,如通过阳离子交换色谱法测定,至少 $30\% \pm 0.5\%$ 或至少 $34\% \pm 0.5\%$ 的抗体处于其主要电荷形式。“主要电荷”或“主要电荷形式”意指主峰中从离子交换树脂上洗脱下来的抗体级分,通常在主峰的一侧有更多的“碱性”峰,在另一侧有更多的“酸性”峰。

[0119] 本公开的药物制剂可以具有约5.2至约6.4的pH。例如,本公开的制剂可以具有约5.5;约5.6;约5.7;约5.8;约5.9;约6.0;约6.1;约6.2;约6.3;约6.4;或约6.5的pH。在一些实施方案中,pH为 6.0 ± 0.4 ; 6.0 ± 0.3 ; 6.0 ± 0.2 ; 6.0 ± 0.1 ;约6.0;或6.0。

[0120] 在一些实施方案中,缓冲剂或缓冲系统包含至少一种缓冲范围与pH 5.5-7.4的范

围完全或部分重叠的缓冲剂。在某些实施方案中,缓冲剂包括组氨酸缓冲液。在某些实施方案中,组氨酸缓冲液以 $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $15\text{mM} \pm 3\text{mM}$; $6\text{mM} \pm 1.2\text{mM}$ 至 $14\text{mM} \pm 2.8\text{mM}$; $7\text{mM} \pm 1.4\text{mM}$ 至 $13\text{mM} \pm 2.6\text{mM}$; $8\text{mM} \pm 1.6\text{mM}$ 至 $12\text{mM} \pm 2.4\text{mM}$; $9\text{mM} \pm 1.8\text{mM}$ 至 $11\text{mM} \pm 2.2\text{mM}$; $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$; 或约 10mM 的浓度存在。在某些实施方案中,缓冲系统包含 $10\text{m} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸, pH 为 6.0 ± 0.3 。在某些实施方案中,组氨酸缓冲液包含L-组氨酸和L-组氨酸一盐酸盐一水合物。在一个实施方案中,组氨酸缓冲液包含浓度为 $4.8\text{mM} \pm 0.96\text{mM}$ 的L-组氨酸在一个实施方案中,组氨酸缓冲液包含浓度为 $5.2\text{mM} \pm 1.04\text{mM}$ 的L-组氨酸一盐酸盐一水合物。在一个实施方案中,组氨酸缓冲液包含浓度为 $4.8\text{mM} \pm 0.96\text{mM}$ 的L-组氨酸和浓度为 $5.2\text{mM} \pm 1.04\text{mM}$ 的L-组氨酸一盐酸盐一水合物

[0121] 本公开的制剂还可以包含一种或多种赋形剂,其用于保持降低的粘度或降低含有高浓度抗EBOV抗体药物物质(例如,通常 $\geq 150\text{mg/ml}$ 抗体)的制剂的粘度。在某些实施方案中,粘度调节剂是氨基酸,例如脯氨酸或组氨酸。

[0122] 在抗体纯化过程期间,可能需要或有必要将一种缓冲液更换成另一种,以获得合适的赋形剂浓度、抗体浓度、 pH 等。缓冲液交换可以例如通过使用例如半渗透切向流过滤膜进行超滤/渗滤(UF/DF)来完成。然而,使用这种技术有可能导致Gibbs-Donnan效应[Bolton et al., 2011, Biotechnol. Prog. 27 (1): 140-152]。在蛋白质浓缩期间,正电荷在膜产品侧的积累被阳离子向膜相反侧的优先移动所抵消。这种现象的潜在后果是某些组分(诸如组氨酸等)的最终浓度可能低于这些组分的预期目标浓度,这是由于在UF/DF步骤期间带正电荷的渗滤缓冲液赋形剂对带正电荷的抗体蛋白质的静电排斥。因此,本公开包括如下制剂,其中由于Gibbs-Donnan效应,例如组氨酸的浓度不同于本文所述的量或范围。

[0123] 体积排阻描述了高度浓缩样品的行为,其中溶液总体积的很大部分被溶质占据,尤其是诸如蛋白质的大分子,不包括该空间中的助溶剂。这就减少了可用于溶解其它溶质的共溶剂的总体积,从而可能导致超滤膜上分配不均。因此,本公开包括如下制剂,其中由于体积排阻效应,例如组氨酸的浓度可以不同于本文所述的量或范围。

[0124] 在本公开的制剂的制造过程中,制剂的组成可能会发生变化。这些变化可以包括活性成分的浓度、赋形剂的浓度和/或制剂的 pH 。因为任何这些参数的变化都可能影响药品的稳定性或效力,所以进行了制剂稳健性研究,以评估在限定范围内的组成变化是否会影响抗体的稳定性或效力。因此,本公开包括包含抗EBOV抗体的制剂,所述抗EBOV抗体是稳定的,并且在赋形剂浓度变化高达50%的情况下保持效力。例如,本文包括抗EBOV抗体制剂,其中所述制剂的稳定性和效力不受抗体、蔗糖、组氨酸缓冲液和/或聚山梨醇酯浓度的10%、20%、30%、40%或50%变化的影响。

[0125] 药物制剂的稳定性和粘度

[0126] 如下述实施例所示,本发明人惊奇地发现,通过用约0.1%聚山梨醇酯80、约10%蔗糖和约 10mM 组氨酸缓冲液配制抗体,可以获得包含高浓度的一种或多种抗EBOV抗体(例如,约 50mg/mL 或约 100mg/mL)的稳定液体制剂。在一些方面,稳定的液体制剂包含总抗体浓度为 50mg/mL 或 100mg/mL 的三种抗EBOV抗体、0.1%聚山梨醇酯80、10%蔗糖和 pH 为约6的约 10mM 组氨酸缓冲液。此类制剂,甚至是含有三种不同抗体的那些制剂,在粗糙处理过程中对刺激是稳定的,并且在 -80°C 至 45°C 的温度范围内,例如 -30°C 、 -20°C 、 5°C 、 25°C (如本文所示)下储存也是稳定的,并且具有低粘度(粘度低于 5cP)。

[0127] 本公开的药物制剂通常表现出高水平的稳定性。如本文中参考药物制剂所用的，术语“稳定”意指药物制剂中的抗体在限定条件下储存后保持可接受程度的化学结构或生物功能。制剂可以是稳定的，即使其中含有的抗体在储存一定时间后不能100%保持其化学结构或生物功能。在某些情况下，储存限定时间量之后抗体结构或功能保持约90%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%可被视为“稳定”。

[0128] 稳定性尤其可以通过测定在限定温度下储存限定时间量后制剂中保留的天然抗体的百分比来测定。天然抗体的百分比尤其可以通过尺寸排阻色谱法(例如，尺寸排阻超高效液相色谱法[SE-UPLC])来确定，使得天然意指非聚集和非降解。如本文所用的短语“可接受的稳定性程度”意指在给定温度下储存给定时间量后，制剂中可检测到至少90%的天然形式的抗体。在某些实施方案中，在限定的温度下储存限定时间量后，制剂中可检测到至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的天然形式的抗体。测量稳定性后的限定时间量可以是至少14天、至少28天、至少1个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少7个月、至少8个月、至少9个月、至少10个月、至少11个月、至少12个月、至少18个月、至少24个月或更长时间。当评估稳定性时，药物制剂可以储存的限定温度可以是约-80℃到约-60℃的任何温度，例如储存在约-80℃、约-30℃、约-20℃、约0℃、约4℃-8℃、约5℃、约25℃、约35℃、约37℃、约40℃或约45℃。例如，如果在40℃/75%湿度(RH)下储存28天后通过SE-UPLC检测到大于约95%、96%、97%或98%的天然抗体，则药物制剂可以被认为是稳定的。如果药物制剂在5℃下储存12个月后通过SE-UPLC检测到大于约95%、96%、97%或98%的天然抗体，则药物制剂可以被认为是稳定的。如果在25℃下储存3个月后通过SE-UPLC检测到大于约95%、96%、97%或98%的天然抗体，则药物制剂也被认为是稳定的。如果在45℃下储存28天后通过SE-UPLC检测到大于约89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%或96%的天然抗体，则药物制剂也被认为是稳定的。如果在-20℃下储存12个月后通过SE-UPLC检测到大于约96%、97%或98%的天然抗体，则药物制剂也被认为是稳定的。如果在-30℃下储存12个月后通过SE-UPLC检测到大于约96%、97%或98%的天然抗体，则药物制剂也被认为是稳定的。如果在-80℃下储存12个月后通过SE-UPLC检测到大于约96%、97%或98%的天然抗体，则药物制剂也被认为是稳定的。

[0129] 稳定性尤其可以通过测定制剂在限定温度下储存限定时间量后形成聚集体的抗体百分比来测量，其中稳定性与形成的聚集体百分比成反比。聚集抗体的百分比尤其可以通过尺寸排阻色谱法(例如，尺寸排阻超高效液相色谱法[SE-UPLC])来确定。如本文所用的短语“可接受的稳定性程度”是指在给定温度下储存限定时间量后，在制剂中检测到至多5%的呈聚集形式(也称为高分子量-HMW形式)的抗体。在某些实施方案中，可接受的稳定性程度意指在给定温度下储存限定时间量后，在制剂中最多可检测到约5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%呈聚集体形式的抗体。测量稳定性后的限定时间量可以是至少2周、至少28天、至少1个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少7个月、至少8个月、至少9个月、至少10个月、至少11个月、至少12个月、至少18个月、至少24个月或更长时间。当评估稳定性时，药物制剂可以储存的温度可以是约-80℃到约-45℃的任何温度，例如储存在约-80℃、约-30℃、约-20℃、约0℃、约4℃-8℃、约5℃、约25℃、约35℃、约37℃、约40℃或约45℃。例如，如果在5℃下储存12个月后检测到少于约2%、1%、0.5%或0.1%呈聚集形式的抗体，则药物制剂被认为是稳定的。如果在25℃下储存三个月后检测到少于约

4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%呈聚集形式的抗体,则药物制剂也被认为是稳定的。如果在40℃/75%RH下储存28天后检测到少于约4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%呈聚集形式的抗体,则药物制剂也被认为是稳定的。如果在45℃下储存28天后检测到少于约10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或0.5%呈聚集形式的抗体,则药物制剂也被认为是稳定的。如果在-20℃、-30℃或-80℃下储存三个月后检测到少于约3%、2%、1%、0.5%或0.1%呈聚集形式的抗体,则药物制剂也被认为是稳定的。

[0130] 稳定性尤其可以通过测定在离子交换期间在酸性大于抗体主要级分(“主要电荷形式”)的级分(“酸性形式”)中迁移的抗体的百分比来测量,其中稳定性与酸性形式的抗体级分成反比。虽然不希望受到理论束缚,但是抗体的脱酰胺作用可能导致抗体带更多负电荷,并且因此相对于未脱酰胺的抗体而言更具酸性(参见例如Robinson, N., Protein Deamidation, PNAS, 2002年4月16日, 99(8):5283-5288)。“酸化”抗体的百分比尤其可以通过离子交换色谱(例如阳离子交换超高效液相色谱[CEX-UPLC])来确定。如本文所用的短语“可接受的稳定性程度”意指在限定温度下储存限定时间量后,在制剂中检测到至多45%呈更酸性形式的抗体。在某些实施方案中,可接受的稳定性程度意指在给定温度下储存限定时间量后,制剂中最多可检测到约40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%呈酸性形式的抗体。在一个实施方案中,可接受的稳定性程度是指在给定温度下储存限定时间量后,制剂中可检测到少于30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%呈酸性形式的抗体。测量稳定性后的限定时间量可以是至少2周、至少28天、至少1个月、至少2个月、至少3个月、至少4个月、至少5个月、至少6个月、至少7个月、至少8个月、至少9个月、至少10个月、至少11个月、至少12个月、至少18个月、至少24个月或更长时间。当评估稳定性时,药物制剂可以储存的温度可以是约-80℃到约-45℃的任何温度,例如储存在约-80℃、约-30℃、约-20℃、约0℃、约4℃-8℃、约5℃、约25℃或约45℃。例如,如果在-80℃、-30℃或-20℃下储存三个月后少于约30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的抗体为更酸性的形式,则药物制剂可以被认为是稳定的。如果在5℃下储存12个月后少于约32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的抗体为更酸性的形式,则药物制剂也被认为是稳定的。如果在25℃下储存3个月后少于约43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的抗体为更酸性的形式,则药物制剂也被认为是稳定的。如果在45℃下储存28天后少于约49%、48%、

[0131] 47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、

[0132] 35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、

[0133] 10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或0.1%的抗体为更酸性的形式,则药物制剂也被认为是稳定的。

[0134] 可以使用其他方法来评估本公开的制剂的稳定性,例如使用差示扫描量热法

(DSC) 来确定热稳定性,使用受控搅拌来确定机械稳定性,以及使用在约350nm或约405nm处的吸光度来确定溶液浊度。例如,如果在约5℃至约25℃下储存6个月或更长时间内制剂的 OD_{405} 的变化小于在时间零时制剂的 OD_{405} 的约0.05(例如0.04、0.03、0.02、0.01或更小),则本公开的制剂可以被认为是稳定的。

[0135] 测量抗体对其靶标的生物活性或结合亲和力也可用于评估稳定性。例如,如果在例如5℃、25℃、45℃等下储存限定时间量(例如1至36个月)后,制剂中所包含的抗EBOV抗体与EBOV的结合亲和力为在所述储存前抗体结合亲和力的至少90%、95%或更多。结合亲和力可以通过例如ELISA或表面等离子体共振来确定。生物活性可以通过EBOV活性测定,例如将感染EBOV的细胞与包含抗EBOV抗体的制剂接触来确定。抗体与这种细胞的结合可以直接测量,例如通过FACS分析。或者,可通过体外或体内病毒载量的降低,或通过感染EBOV的哺乳动物存活率的增加来确定抗体的活性。

[0136] 此外,在抗体依赖性细胞毒性测定(ADCC测定)中测量抗体的相对效力可用于评估稳定性。例如,如果在例如-80℃、-30℃、-20℃、5℃、25℃、40℃、45℃等下储存限定时间量(例如1至36个月)后,制剂中所包含的抗EBOV抗体与在储存前的抗体相比保留90%、95%或更多的相对ADCC效力。

[0137] 类似地,在假病毒中和测定中测量抗体的相对效力可用于评估稳定性。例如,如果在例如-80℃、-30℃、-20℃、5℃、25℃、40℃、45℃等下储存限定时间量(例如1至36个月)后,制剂中所包含的抗EBOV抗体与在储存前的所述抗体相比保留90%、95%或更多的相对假病毒中和。

[0138] 用于评估制剂中的抗体稳定性的其他方法在以下实施例中进行了说明。

[0139] 在某些实施方案中,本公开的液体药物制剂可以表现出低至中等的粘度水平。如本文所用,“粘度”可以是“运动粘度”或“绝对粘度”。“运动粘度”是流体在重力影响下的阻力流动的量度。当将两种相同体积的流体放置在相同的毛细管粘度计中并使其在重力作用下流动时,粘性流体流过毛细管的时间要长于粘性较小的流体。例如,如果一种流体需要200秒来完成其流动,而另一种流体需要400秒,则第二种流体的粘度是第一种流体粘度的两倍。“绝对粘度”,有时称为动力粘度或简单粘度,是运动粘度和流体密度的乘积(绝对粘度=运动粘度 $\times$ 密度)。运动粘度的大小是 L^2/T ,其中L是长度并且T是时间。通常,运动粘度用厘沱(cSt)表示。运动粘度的SI单位是 mm^2/s ,也就是1cSt。绝对粘度以厘泊(cP)为单位表示。绝对粘度的SI单位是毫帕斯卡-秒(mPa·s),其中1cP=1mPa·s。

[0140] 如本文所用,参考本公开的流体制剂,低水平的粘度将表现出小于约20厘泊(cP)的绝对粘度。例如,如果当使用标准粘度测量技术测量时,制剂表现出约20cP、约19cP、约18cP、约15cP、约12cP、约10cP、约9cP、约8cP或更低的绝对粘度,则本文公开的流体制剂将被认为具有“低粘度”。如本文所用,参考本公开的流体制剂,中等粘度水平将表现出约35cP至约20cP的绝对粘度。例如,如果当使用标准粘度测量技术测量时,制剂表现出约34cP、约33cP、约32cP、约31cP、约30cP、约29cP、约28cP、约27cP、约26cP、约25cP、约24cP、约23cP、约22cP、约21cP、约20cP、约19cP、18cP、约17cP、约16cP或约15cP的绝对粘度,则本文公开的流体制剂将被认为具有“中等粘度”。本文提供的制剂可以具有低粘度,例如约2cP的粘度。

[0141] 示例性制剂

[0142] 根据本公开的一个方面,药物制剂是稳定的、低粘度的、通常生理等渗的液体制

剂,其包含:(i)浓度高达250mg/mL $\pm$ 45mg/mL的特异性结合EBOV的人抗体(例如,H1H17203P、H1H17139P和/或H1H17161P);(ii)在约pH 6.0 $\pm$ 0.3下提供足够缓冲的组氨酸缓冲系统;(iii)保护抗体结构完整性的有机共溶剂;和(iv)为糖的稳定剂。

[0143] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a)10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,(b)10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c)0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d)50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0 $\pm$ 0.3;其中所述抗体是人IgG1抗体,其包含(i)SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3。

[0144] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a)10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,(b)10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c)0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d)50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0 $\pm$ 0.3;其中所述抗体是人IgG1抗体,其包含(ii)SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:22的HCDR1、SEQ ID NO:24的HCDR2、SEQ ID NO:26的HCDR3、SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3。

[0145] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a)10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,(b)10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c)0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d)50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0 $\pm$ 0.3;其中所述抗体是人IgG1抗体,其包含(iii)SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0146] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a)10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,(b)10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c)0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d)50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0 $\pm$ 0.3;其中第一抗体是包含(i)SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体,并且第二抗体是包含(ii)SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3;并且第二抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:22的HCDR1、SEQ ID NO:24的HCDR2、SEQ ID NO:26的HCDR3、SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3。

[0147] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a)10% $\pm$ 2%w/v的蔗糖,(b)10mM $\pm$ 2mM的组氨酸缓冲液,(c)0.1% $\pm$ 0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d)50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0 $\pm$ 0.3;其中第一抗体是包含(i)SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和

LCDR3)的人IgG1抗体,并且第二抗体是包含(iii)SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3;并且第二抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0148] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) $10\% \pm 2\%w/v$ 的蔗糖,(b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\%w/v$ 的聚山梨醇酯,和(d) $50mg/mL \pm 7.5mg/mL$ 的总抗EBOV抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中第一抗体是包含(ii)SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体,并且第二抗体是包含(iii)SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:22的HCDR1、SEQ ID NO:24的HCDR2、SEQ ID NO:26的HCDR3、SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3;并且第二抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0149] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) $10\% \pm 2\%w/v$ 的蔗糖,(b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\%$ 的聚山梨醇酯,和 $50mg/mL \pm 7.5mg/mL$ 的总抗EBOV抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中第一抗体为包含(i)SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体,第二抗体为包含(ii)SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体,并且第三抗体为包含(iii)SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列对中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3;第二抗EBOV抗体包含SEQ ID号:22的HCDR1、SEQ ID号:24的HCDR2、SEQ ID号:26的HCDR3、SEQ ID号:30的LCDR1、SEQ ID号:32的LCDR2和SEQ ID号:34的LCDR3;并且第三抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0150] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) $10\% \pm 2\%w/v$ 的蔗糖,(b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液,(c) $0.1\% \pm 0.05\%w/v$ 的聚山梨醇酯,和(d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的总抗EBOV抗体,pH为 6.0 ± 0.3 ;其中所述抗体是人IgG1抗体,其包含(i)SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)和三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3。

[0151] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±15mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0±0.3;其中所述抗体是人IgG1抗体,其包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:22的HCDR1、SEQ ID NO:24的HCDR2、SEQ ID NO:26的HCDR3、SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3。

[0152] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±15mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0±0.3;其中所述抗体是人IgG1抗体,其包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。在一个实施方案中,抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0153] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±15mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0±0.3;其中第一抗体是包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体,并且第二抗体是包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3;并且第二抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:22的HCDR1、SEQ ID NO:24的HCDR2、SEQ ID NO:26的HCDR3、SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3。

[0154] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±15mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0±0.3;其中第一抗体是包含(i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体,并且第二抗体是包含(iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3;并且第二抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0155] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%w/v的聚山梨醇酯,和(d) 100mg/mL±15mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0±0.3;其中第一抗体是包含(ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨

基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体,并且第二抗体是包含 (iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:22的HCDR1、SEQ ID NO:24的HCDR2、SEQ ID NO:26的HCDR3、SEQ ID NO:30的LCDR1、SEQ ID NO:32的LCDR2和SEQ ID NO:34的LCDR3;并且第二抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0156] 根据一个实施方案,稳定的液体药物制剂包含:(a) 10%±2%w/v的蔗糖,(b) 10mM±2mM的组氨酸缓冲液,(c) 0.1%±0.05%的聚山梨醇酯,和100mg/mL±15mg/mL的总抗EBOV抗体,pH为6.0±0.3;其中第一抗体为包含 (i) SEQ ID NO:2/10的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体,第二抗体为包含 (ii) SEQ ID NO:20/28的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体,并且第三抗体为包含 (iii) SEQ ID NO:38/46的HCVR/LCVR氨基酸序列中所包含的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 和三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 的人IgG1抗体。在一个实施方案中,第一抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:4的HCDR1、SEQ ID NO:6的HCDR2、SEQ ID NO:8的HCDR3、SEQ ID NO:12的LCDR1、SEQ ID NO:14的LCDR2和SEQ ID NO:16的LCDR3;第二抗EBOV抗体包含SEQ ID号:22的HCDR1、SEQ ID号:24的HCDR2、SEQ ID号:26的HCDR3、SEQ ID号:30的LCDR1、SEQ ID号:32的LCDR2和SEQ ID号:34的LCDR3;并且第三抗EBOV抗体包含SEQ ID NO:40的HCDR1、SEQ ID NO:42的HCDR2、SEQ ID NO:44的HCDR3、SEQ ID NO:48的LCDR1、SEQ ID NO:50的LCDR2和SEQ ID NO:52的LCDR3。

[0157] 本公开所包括的药物制剂的其它非限制性实例在本文的其它地方给出,包括下面给出的工作实施例。

[0158] 容器和施用方法

[0159] 本公开的药物制剂可以包含在任何适于储存药物和其他治疗组合物的容器中。例如,药物制剂可以包含在具有限定体积的密封和灭菌的塑料或玻璃容器中,例如小瓶、安瓿、注射器、药筒或瓶子。不同类型的小瓶可用于容纳本公开的制剂,包括例如透明和不透明(例如琥珀色)的玻璃或塑料小瓶。同样,可以使用任何类型的注射器来容纳或施用本公开的药物制剂。

[0160] 本公开的药物制剂可以包含在“标准钨”注射器或“低钨”注射器中。如本领域普通技术人员将会理解的,制造玻璃注射器的方法通常包括使用用于刺穿玻璃的热钨棒,从而产生孔,液体可以从该孔中抽取并排出注射器。该方法导致痕量钨沉积在注射器的内表面上。随后的清洗和其它处理步骤可用于减少注射器中的钨量。如本文所用,术语“标准钨”是指注射器包含大于或等于十亿分之500 (ppb) 的钨。术语“低钨”是指注射器含有少于500ppb的钨。例如,根据本公开,低钨注射器可含有少于约490、480、470、460、450、440、430、420、410、390、350、300、250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10ppb或更少的钨。

[0161] 注射器中使用的橡胶柱塞和用于封闭药瓶开口的橡胶塞可以被涂覆,以防止注射器或小瓶的药物内容物被污染,或者保持它们的稳定性。因此,根据某些实施方案,本公开

的药物制剂可以包含在包括涂覆的柱塞的注射器内,或者包含在用涂覆的橡胶塞密封的小瓶内。例如,柱塞或塞子可以涂覆有碳氟化合物膜。适用于在包含本公开的药物制剂的小瓶和注射器中使用的涂覆塞子或柱塞的实例在例如美国专利4,997,423;5,908,686;6,286,699;6,645,635;和7,226,554中提及,所述专利的内容以引用的方式整体并入本文。可以在本公开的上下文中使用的特定示例性涂覆橡胶塞和柱塞可以商品名“**FluroTec®**”商购获得,可从West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA) 获得。**FluroTec®**是用于最小化或防止药物产品粘附到橡胶表面的氟碳涂层的实例。

[0162] 根据本公开的某些实施方案,药物制剂可以包含在包括碳氟化合物涂覆的柱塞的低钨注射器中。

[0163] 药物制剂可以通过肠胃外途径诸如注射(例如皮下、静脉内、肌内、腹膜内等)或经皮、粘膜、鼻、肺或口服施用来向患者施用。许多可重复使用的笔或自动注射器递送装置可用于皮下递送本公开的药物制剂。实例包括但不限于AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™笔(Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™笔、HUMALOG™笔、HUMALIN 70/30™笔(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™I、II和III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™笔(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™和OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)。可用于本公开的药物组合物的皮下递送的一次性笔或自动注射器递送装置的实例包括但不限于SOLOSTAR™笔(sanofi-aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk)、和KWIKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™自动注射器(Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.)、和HUMIRA™笔(Abbott Labs, Abbott Park IL)。

[0164] 本文还考虑了使用微输液器来递送本公开的药物制剂。如本文所用,术语“微输液器”是指一种皮下递送装置,其被设计成在延长的时间段内(例如,约10、15、20、25、30分钟或更长时间)缓慢施用大体积(例如,高达约2.5mL或更多)的治疗制剂。参见例如U.S. 6,629,949;US 6,659,982;和Meehan等人,J. Controlled Release 46:107-116 (1996)。微输液器特别适用于输送高浓度(例如,约100、125、150、175、200或更高mg/mL)或粘性溶液中所含的大剂量治疗性蛋白质。

[0165] 在某些实施方案中,前述方面中任一者的稳定液体药物制剂包含在无菌玻璃小瓶中,并作为IV输注施用。示例性的剂量包括30,000mg、25,000mg、20,000mg、15,000mg、13,500mg、12,500mg、10,000mg、7,500mg、5000mg、2500mg、1450mg、1000mg、725mg、600mg、500mg、250mg、200mg、150mg、100mg、75mg、50mg或25mg。

[0166] 在一个实施方案中,容器是20mL 1型透明硼硅酸盐玻璃小瓶。在某些实施方案中,容器是2mL、5mL或10mL 1型硼硅酸盐玻璃小瓶,带有氯丁基塞,带有**FluroTec®**涂层。

[0167] 在一个实施方案中,包含约25mg/mL、50mg/mL、100mg/mL或150mg/mL抗EBOV抗体的本公开的液体药物制剂经静脉内施用,并且可以包含在玻璃小瓶中。在一些实施方案中,本公开提供了包含稳定液体制剂的玻璃小瓶,所述稳定液体制剂包含50mg/mL、100mg/mL或150mg/mL的总抗EBOV抗体、10mM的组氨酸(pH为约6.0)、10%的蔗糖和0.1%的聚山梨醇酯80。

[0168] 在一些实施方案中,每种抗体以50mg/kg体重的剂量施用。在一个实施方案中,两种抗体被共同配制,使得最终制剂规定每种抗体以50mg/kg体重施用。因此,向患者施用的最终剂量为100mg/kg体重,制剂中两种抗体的比率为1:1。在一个实施方案中,共同配制的抗体在约2小时的时间段内静脉内递送。

[0169] 在一些实施方案中,三种抗体被共同配制,使得最终制剂规定每种抗体以50mg/kg体重施用。因此,向患者施用的最终剂量为150mg/kg体重,制剂中三种抗体的比率为1:1:1。在一个实施方案中,共同配制的抗体在约2小时的时间段内静脉内递送。

[0170] 在一些方面,体重约90kg的接受150mg/kg剂量的患者将得到约13,500mg的剂量。在一些方面,体重约45kg的接受150mg/kg剂量的患者将得到约6,750mg的剂量。在一些方面,患者可能接受多达30,000mg。

[0171] 在某些实施方案中,三种抗体在玻璃小瓶中制备。在某些实施方案中,每个小瓶可以包含725mg的总抗体,即在14.5mL体积中比率为1:1:1的三种抗体,得到50mg/mL的最终抗体浓度。这可以在两小时的时间段内向患者静脉内施用。

[0172] 在某些实施方案中,三种抗体在玻璃小瓶中制备。在某些实施方案中,每个小瓶可以包含1450mg的总抗体,即在14.5mL体积中比率为1:1:1的三种抗体,得到100mg/mL的最终抗体浓度。这可以在两小时的时间段内向患者静脉内施用。

[0173] 在某些实施方案中,本公开提供了一种自动注射器,其包括本文所述的任何液体制剂。在一些实施方案中,本公开提供了包含稳定液体制剂的自动注射器,所述稳定液体制剂包含约50mg/mL、约100mg/mL、约150mg/mL或约175mg/mL的总抗EBOV抗体、约10mM的组氨酸(pH为约6.0)、约10%的蔗糖和约0.1%的聚山梨醇酯80。

[0174] 在某些实施方案中,本公开提供了一种自动注射器,其包括本文所述的任何液体制剂。在一些实施方案中,本公开提供了包含稳定液体制剂的自动注射器,所述稳定液体制剂包含50mg/mL或100mg/mL的总抗EBOV抗体、10mM的组氨酸(pH约6.0)、10%的蔗糖和0.1%的聚山梨醇酯80。

[0175] 在某些实施方案中,本公开提供了一种预填充注射器,其包括本文所述的任何液体制剂。在一些实施方案中,本公开提供了包含稳定液体制剂的预填充注射器,所述稳定液体制剂包含约50mg/mL、约100mg/mL、约150mg/mL或约175mg/mL的抗EBOV抗体、约10mM的组氨酸(pH为约6.0)、约10%的蔗糖和约0.1%的聚山梨醇酯80。在某些实施方案中,注射器是1mL或2.25mL长的玻璃注射器,填充有27号薄壁针头、碳氟化合物涂覆的橡胶柱塞和橡胶针头护罩。

[0176] 在一个实施方案中,含有约100mg/mL $\pm$ 15mg/mL的总抗EBOV抗体的液体药物制剂在预填充注射器中以约高达2mL的体积施用。在某些实施方案中,注射器是1mL或2.25mL长的玻璃注射器,填充有27号薄壁针头、碳氟化合物涂覆的橡胶柱塞和橡胶针头护罩。在一个实施方案中,注射器是OMPI 1mL长的玻璃注射器,装有27号针头、FM27橡胶针头护罩和FLUROTEC涂覆的4023/50橡胶柱塞。

[0177] 在一个实施方案中,含有约50mg/mL $\pm$ 7.5mg/mL的抗EBOV抗体的液体药物制剂在预填充注射器中以约高达2mL的体积施用。在一个实施方案中,注射器是1mL或2.25mL长的玻璃注射器,填充有27号薄壁针头、碳氟化合物涂覆的橡胶柱塞和橡胶针头护罩。在一个实施方案中,注射器是OMPI 1mL长的玻璃注射器,装有27号针头、FM27橡胶针头护罩和

FLUROTEC涂覆的4023/50橡胶柱塞。

[0178] 相容性

[0179] 在一个实施方案中,稳定制剂是含有50mg/mL的总抗EBOV抗体(例如,H1H17203P、H1H17139P和/或H1H17161P,各自为16.7mg/mL;或H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P中的任何两种,各自为约25mg/mL)的液体溶液用于IV施用。在某些方面,IV混合溶液与给药系统(IV袋、装置和过滤器)中使用的稀释剂和材料具有相容性(包括使用中的稳定性),包括0.9%氯化钠、5%葡萄糖或乳酸林格氏溶液、PVC(聚氯乙烯)和聚乙烯。

[0180] 示例性剂量包括10mg/kg、30mg/kg、50mg/kg和150mg/kg。IV递送期间抗EBOV制剂的使用稳定性支持施用临床剂量。在一些实施方案中,含有稀释的抗体的0.9%氯化钠PVC IV袋最初可以在5℃下保持24小时,然后在25℃下孵育至少8小时。在这些孵育后,可将每个输液器连接到IV袋,用稀释的DP灌注并在环境室温下保持1小时。然后,稀释的DP溶液可通过相应输液器以25mL/h和500mL/h泵送。这些输液器含有基本材料(PVC与DEHP、PVC与TOTM和聚乙烯),这些材料构成了在临床应用中用于IV递送抗体组合的输液器。输液器可以含有0.2μm聚醚砜在线过滤器。

[0181] 在一些方面,当在这些条件下在建议的剂量范围和施用条件下测试时,在0.9%氯化钠注射液中稀释至2.2mg/mL或23.7mg/mL浓度的包含至少一种抗EBOV抗体的50mg/mL抗EBOV制剂是物理和化学稳定的。在某些方面,抗EBOV制剂在IV袋中稀释后,在IV袋中在2-8℃下储存24小时并在25℃下储存至少8小时、输液器保持一小时,或以25mL/小时至500mL/小时之间的泵速输送后,其质量属性没有表现出显著变化。

[0182] 在一些方面,提供了使用不同稀释剂进行共同配制的抗体制剂的剂量制备并支持可能在IV施用期间发生的温度偏移(高于25℃)的额外灵活性。当在40℃用0.9%氯化钠、5%葡萄糖或乳酸林格氏液稀释抗EBOV抗体时,所述制剂继续表现出稳定性。含有稀释抗体的IV袋最初可以在5℃下保持24小时;然后在40℃下孵育至少6小时。孵育后,可将每个输液器连接到IV袋上,用稀释的抗体灌注,并在室温下保持1小时。然后,稀释抗体溶液可以通过相应输液器来泵送。

[0183] 在一些方面,在0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖或乳酸化林格氏液中稀释至1.6mg/mL或27.9mg/mL的浓度的包含至少一种抗EBOV抗体的50mg/mL抗EBOV抗体制剂在建议的剂量范围和施用条件内的测试条件下,可以是物理和化学稳定的。在某些方面,抗EBOV制剂在IV袋中稀释后,在IV袋中在2-8℃下储存24小时并在40℃下储存至少6小时、输液器保持一小时后,其质量属性没有表现出显著变化。

[0184] 稳定液体药物制剂的IV相容性特征(包括使用中的稳定性)支持关于剂量制备和IV施用(50mg/mL)的以下结论:

[0185] • 由PVC制成的0.9%氯化钠注射液、5%葡萄糖注射液和乳酸林格氏静脉注射液袋与含有至少一种抗EBOV抗体的制剂的IV施用相容;

[0186] • 在用于IV施用的含有0.9%氯化钠、5%葡萄糖或乳酸林格氏液的IV稀释剂的PVC IV袋中,可将抗EBOV抗体制剂稀释到低至2.2mg/mL和高至23.7mg/mL的抗体浓度;

[0187] • 用0.9%氯化钠注射液制备的稀释的共同配制的抗体可在多至25℃的室温下储存至少约8小时的从制备到输注结束的时间,或在2℃至8℃下储存至少约24小时的从制备到输注结束的时间;

[0188] • 用5%葡萄糖或乳酸林格氏液制备的稀释的共同配制的抗体可在多至25℃的室温下储存至少约4小时从制备到输注结束的时间,或在2℃至8℃下储存至少约24小时从制备到输注结束的时间;

[0189] • 用0.9%氯化钠、5%葡萄糖或乳酸林格氏溶液制备的稀释的共同配制的抗体(2.2mg/mL至23.7mg/mL)在40℃下可稳定保存6小时;

[0190] • 稀释的共同配制的抗体可以用由含有DEHP的PVC、含TOTM的PVC或聚乙烯衬里的PVC组成的输液器施用;

[0191] • 稀释的共同配制的抗体可与在线0.2 μ m聚醚砜过滤器兼容使用。

[0192] 药物制剂的治疗用途

[0193] 本公开的药物制剂尤其可用于治疗、预防或改善EBOV或与其相关的任何症状。

[0194] 实施例

[0195] 提供以下实施例是为了向本领域的普通技术人员提供完整公开内容和描述如何制备和使用本文公开的方法和组合物,而非旨在限制发明人所认为的其发明的范围。已努力确保有关所用的数字(例如,量、温度等)的准确性,但应考虑某些实验误差和偏差。除非另外指明,否则份数是摩尔份,分子量是平均分子量,温度是按摄氏度计并且压力是大气压或接近大气压。

[0196] 实施例1:抗EBOV抗体制剂的开发

[0197] 制剂活动的目标是开发具有以下属性的制剂:

[0198] • 在经受应激(例如温度循环、极端温度、运输过程中的搅拌等条件)之后仍是稳定的液体制剂,治疗剂在从制造工厂运送到发生埃博拉暴露和/或存在埃博拉患者的偏远野战诊所的过程中可能暴露的条件;

[0199] • 抗EBOV抗体的浓度足以通过静脉内输注递送25mg至30,000mg的剂量的液体制剂,所述剂量例如约7500mg、约5000mg、约3000mg、约2000mg、约1500mg、1000mg、约800mg、约750mg、约500mg、约250mg、约200mg、约150mg、约100mg、约75mg、约50mg或约25mg;

[0200] • 在用常用稀释剂,例如0.9%氯化钠注射液或5%葡萄糖注射液或乳酸林格注射液稀释时稳定的接近等渗的制剂,用于静脉输注;

[0201] • 与作为包装的1型透明玻璃小瓶和标准血清塞相容并在其中稳定的制剂;和

[0202] • 支持长期稳定性的无菌药品(DP)溶液;

[0203] o当经受处理和热应激时,使抗体高分子量(HMW)物质最小化的制剂;

[0204] o在经受热应激时使带抗体的物质的相对分布的变化最小化的制剂;和

[0205] o在极端环境中经受恶劣运输和热应激时保持生物活性的制剂。

[0206] 在整个制剂开发过程中,采用了三种主要的蛋白质应激条件(代表抗体药物产品在处理、生产、运输、储存和贴标签过程中可能经历的极端处理条件)来开发和优化抗体制剂,并评估潜在的真实世界应激对在世界偏远地区使用的药物产品稳定性的影响。这些应激条件包括:

[0207] • 在室温下搅拌(涡旋)蛋白质溶液。玻璃小瓶中的涡旋超过了在蛋白质处理和制造过程中的搅拌。

[0208] • 在相对于建议的DP储存条件(2℃-8℃)的高温(37℃、40℃或45℃)下孵育蛋白质溶液。

[0209] • 使蛋白质经受多次冷冻解冻循环。由于在DP的制造过程中蛋白质将经历至少一次冷冻解冻循环,多次冷冻解冻循环模拟并超过了蛋白质预期经历的实际应激。

[0210] 最初的制剂开发工作有几个主要目标:

[0211] 1. 为三种抗EBOV抗体中的每一种选择缓冲液和pH:缓冲液和pH的选择对蛋白质的稳定性有很大的影响,因此决定最佳缓冲液种类和pH是一个重要的过程。这些章节中呈现的研究展示了为每种抗体选择最佳缓冲液和pH的基本原理。

[0212] 2. 为三种抗EBOV抗体中的每一种选择表面活性剂或有机助溶剂:通常需要表面活性剂或有机共溶剂,诸如聚山梨醇酯,以防止搅拌时蛋白质沉淀或聚集。可溶性蛋白质在处理、过滤、混合、制造、运输和施用可能会经历搅拌。过度搅拌时,简单缓冲溶液中的抗体原料药会变得明显浑浊。因此,确定稳定每种蛋白质以处理和搅拌是重要的。

[0213] 3. 稳定/张力赋形剂的鉴别/选择:检查了糖、盐和氨基酸的添加改善三种抗体中的每一种对热应激的稳定性并增加药品的保质期(DP)的能力。本文呈现了包含这些热稳定剂的基本原理,以及确定最终制剂中最佳浓度的研究。

[0214] 4. 抗体浓度的选择:检查了抗体浓度对含有所选赋形剂的药品稳定性的影响。

[0215] 5. 共同配制三种抗EBOV抗体:将三种抗EBOV抗体共同配制成两种浓度的液体制剂,并选择组合的缓冲液和pH,选择表面活性剂或有机助溶剂,测试其他赋形剂,并鉴定和选择稳定剂。

[0216] 使用100mg/mL单独配制的每种抗EBOV抗体进行初始制剂开发活动,并包括筛选在每种抗EBOV抗体的液体制剂中的有机助溶剂、热稳定剂和缓冲剂,以鉴定与蛋白质相容并增强其稳定性的赋形剂,同时保持接近生理渗透压和低粘度以用于静脉内和皮下注射。还检查了缓冲液条件以确定最大蛋白质稳定性的最佳pH(如本文实施例6中所述)。

[0217] 使用该初始制剂开发工作的结果来开发适用于临床研究的初始制剂。

[0218] 根据从初始制剂开发中获得的知识,后期制剂开发活动包括共同配制两种浓度的三种抗体,确定pH、表面活性剂浓度和稳定剂以确定在低和高蛋白质浓度下以及在暴露于应激诸如高温和搅拌时增强蛋白质稳定性的赋形剂(如实施例4-9中所述)。

[0219] 在整个制剂开发过程中,对制剂的应激和储存稳定性进行了评估。本文实施例3中描述了在制剂开发研究中用于评估稳定性的方法。实施例4至9描述了制剂的储存和应激稳定性。

[0220] 由这些研究产生的结果用于开发适用于临床使用的用于静脉内(IV)施用的稳定液体制剂。当暴露于热应激或搅拌应激时,此类制剂表现出稳定性。

[0221] 从本文的描述中,制剂的其他属性将是清楚的。

[0222] 抗EBOV抗体:

[0223] US 2016/0215040中描述了抗EBOV抗体,所述专利整体并入本文。以下实施例中使用的示例性抗体是包含上文详细描述序列的完全人抗EBOV抗体H1H17203P(REGN3470;具有HCVR氨基酸序列SEQ ID NO:2和LCVR氨基酸序列SEQ ID NO:10)、H1H17139P(REGN3471;具有HCVR氨基酸序列SEQ ID NO:20和LCVR氨基酸序列SEQ ID NO:28)和H1H17161P(REGN3479;具有HCVR氨基酸序列SEQ ID NO:38和LCVR氨基酸序列SEQ ID NO:46)。

[0224] 实施例2:示例性制剂

[0225] 在某些实施方案中,抗EBOV抗体被单独配制或共同配制成水性缓冲制剂,其包含:

(a) $5\% \pm 1\%$ 至 $15\% \pm 3\%$ w/v 的蔗糖, (b) $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.01\% \pm 0.005\%$ 至 $0.5\% \pm 0.25\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。在某些实施方案中, 抗 EBOV 抗体被单独配制或共同配制成水性缓冲制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。当共同配制时, 抗 EBOV 抗体以 1:1:1 的比率存在。

[0226] 在某些实施方案中, 抗 EBOV 抗体被单独配制或共同配制成水性缓冲制剂, 其包含:

(a) $5\% \pm 1\%$ 至 $15\% \pm 3\%$ w/v 的蔗糖, (b) $5\text{mM} \pm 1\text{mM}$ 至 $20\text{mM} \pm 4\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.01\% \pm 0.005\%$ 至 $0.5\% \pm 0.25\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。在某些实施方案中, 抗 EBOV 抗体被单独配制或共同配制成水性缓冲制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100\text{mg/mL} \pm 15\text{mg/mL}$ 的总抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。当共同配制时, 抗 EBOV 抗体以 1:1:1 的比率存在。

[0227] 示例性制剂包括:

[0228] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的 H1H17203P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0229] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的 H1H17139P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0230] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0231] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总 H1H17203P 和 H1H17139P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0232] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总 H1H17203P 和 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0233] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总 H1H17139P 和 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0234] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $50\text{mg/mL} \pm 7.5\text{mg/mL}$ 的总 H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0235] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\%$ w/v 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100\text{mg/mL} \pm 10\text{mg/mL}$ 的 H1H17203P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0236] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\%$ w/v 的蔗糖, (b) $10\text{mM} \pm 2\text{mM}$ 的

组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的 H1H17139P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0237] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0238] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的总 H1H17203P 和 H1H17139P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0239] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的总 H1H17203P 和 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0240] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的总 H1H17139P 和 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0241] • 一种稳定的液体药物制剂, 其包含: (a) $10\% \pm 2\% w/v$ 的蔗糖, (b) $10mM \pm 2mM$ 的组氨酸缓冲液, (c) $0.1\% \pm 0.05\% w/v$ 的聚山梨醇酯, 和 (d) $100mg/mL \pm 15mg/mL$ 的总 H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P 抗 EBOV 抗体, pH 为 6.0 ± 0.3 。

[0242] 实施例3: 用于评估制剂稳定性的方法

[0243] 应用以下测定来评估制剂稳定性:

[0244] • 目测检查颜色和外观

[0245] • pH

[0246] • 通过405nm处的OD的增加或通过浊度法测量浊度

[0247] • 通过微流成像 (MFI) (报告为按原样获得的颗粒计数) 和光透法 (HIAC) 进行微粒物质分析

[0248] • 通过反相超高效液相色谱 (RP-UPLC) 测量蛋白质浓度

[0249] • 通过尺寸排阻-超高效液相色谱 (SE-UPLC) 或通过还原型和非还原型微芯片毛细管电泳十二烷基硫酸钠 (MCE-SDS) PAGE 测量纯度

[0250] • 通过阳离子交换色谱-超高效液相色谱 (CEX-UPLC) 或成像毛细管等电聚焦 (iCIEF) 进行电荷变异分析

[0251] • 生物测定的效力: 每个样品的相对效力通过生物测定法确定, 并且定义如下: $(IC_{50} \text{ 参考样品} / IC_{50} \text{ 样品}) * 100\%$ 。储存稳定性样品的测量的效价必须在参考标准品的测量的效价的50%至150%范围内。

[0252] 制剂的物理稳定性是指诸如颜色、外观、pH、浊度和蛋白质浓度的性质。溶液中可见微粒的存在可以通过目测检查来检测。如果溶液清澈至略带乳白色, 基本上不含可见颗粒, 并且无色至淡黄色, 则溶液通过目测检查。此外, 通过在405nm处的OD测量的浊度也可用于检测溶液中的颗粒。405nm处的OD的增加可能表明微粒的存在、乳光的增加或测试物品的颜色变化。MFI用于测量尺寸 $\geq 2\mu m$ 的亚可见微粒。通过RP-UPLC测定法测量抗EBOV抗体蛋白质浓度, 并报告为相对于起始材料的蛋白质回收百分比。在RP-UPLC测定法中, 抗EBOV抗体作为单峰从RP柱上洗脱。通过将蛋白质浓度与使用抗体标准品生成的校准曲线进行比较,

由抗体总峰面积确定蛋白质浓度。基于测量的蛋白质浓度相对于起始蛋白质浓度来计算回收百分比。

[0253] 化学稳定性是指蛋白质的共价修饰形式(例如共价聚集体、切割产物或电荷变体形式)和非共价修饰形式(例如非共价聚集体)的形成。通过SE-UPLC和MCE-SDS方法可以从天然抗体中分离出较高和较低分子量的降解产物。SE-UPLC和MCE-SDS方法中降解的抗EBOV抗体的百分比由所有非天然峰的面积与所有抗EBOV抗体峰的总面积之比来计算。使用CEX-UPLC和iCIEF解析抗EBOV抗体的电荷变体形式。在CEX-UPLC方法中,保留时间早于主峰的峰被标记为“酸性”峰;保留时间晚于主峰的峰被标记为“碱性”峰。在iCIEF方法中,pI低于主峰的峰被标记为“酸性”峰,而pI高于主峰的峰被标记为“碱性”峰。

[0254] 实施例4:抗EBOV抗体水性制剂的稳定性研究

[0255] 本实施例的本章节中概述的所有研究均指对H1H17203P药品(DP)、H1H17139P DP和H1H17161P DP进行的研究稳定性研究。每个DP都单独配制和灌装,以提供实时、加速和应激稳定条件下的稳定性数据。这些研究中使用的原料药(DS)批次代表为了临床使用而生产的DS。

[0256] 制剂开发

[0257] H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体被配制成为用于通过静脉内(IV)注射来递送而进行首次人体研究。在临床制剂中评估了单独配制和灌装的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P药品的稳定性;分析表征结果表明,所述制剂在所有检查条件下为H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体提供了足够的稳定性。H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体制剂含有10mM的组氨酸(pH 6.0)、0.1% (w/v)的聚山梨醇酯80和10%的蔗糖。

[0258] 研究稳定性

[0259] 本章节中概述的所有FDS(配制的原料药)和DP(药品)研究是指对为开发用途而制造的单独配制和灌装的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体进行的研究稳定性研究。下文讨论了检查为了临床用途而制造的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体的正式稳定性研究。

[0260] 已启动稳定性研究,以确定50mg/mL H1H17203P DP、50mg/mL H1H17139P DP和50mg/mL H1H17161P DP的单独配制和灌装的研究批次的储存、加速和应激稳定性。用于这些研究的DS批次代表为了临床用途而制造的DS。相对于储存温度条件,DP在若干高温条件下孵育。选择这些加速条件是为了模拟DP在制造和处理过程中可能无法承受的条件,并阐明H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP的降解途径。H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP的储存、加速和应激稳定性条件概述呈现于表1中,并且分析计划呈现于表2中。

[0261] 表1:H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP的研究稳定性研究

[0262]

储存稳定性		容器/封盖 带有 FluroTec 涂覆的 4432/50 丁基橡胶塞的 1 型硼硅酸盐玻 璃
储存温度	储存时间(月)	
5°C	0、1、3、6、9、12	
加速稳定性		
孵育条件	孵育时间	
25°C	0、0.5、1 和 3 个月	
45°C	0、7、14 和 28 天	
应激稳定性		
应激	应激持续时间	
搅拌(涡旋)	0、60 和 120 分钟	
冷冻/解冻 ^a	0、4 和 8 个循环	

[0263] ^a在 -80°C 下冷冻并在室温下解冻。

[0264] 表2:H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP的研究稳定性研究分析计划

[0265]	测定编号:	待分析的样品
	颜色和外观	所有样品
	pH	所有样品
	浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)	所有样品
	通过 RP-UPLC 回收的蛋白质%	所有样品
	通过非还原型和还原型 MCE-SDS 得到的纯度%	在 5°C 下 t=0、6、12、24 和 36 个月; 在 25°C 下 3 个月; 在 45°C 下 28 天 120 分钟搅拌, 8 次冷冻/解冻
	通过 SE-UPLC 得到的纯度%	所有样品
	通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析	所有样品
	电荷变体分析(iCIEF 法)	在 5°C 下 t=0、6、12; 在 25°C 下 3 个月; 在 45°C 下 28 天 120 分钟搅拌, 8 次冷冻/解冻
[0266]	通过 MFI 进行微粒物质分析	在 5°C 下 t=0、6、12、24 和 36 个月; 在 25°C 下 3 个月; 在 45°C 下 28 天 120 分钟搅拌, 8 次冷冻/解冻

[0266] 50mg/mL H1H17203P DP的研究稳定性

[0267] 50mg/mL H1H17203P DP的研究储存稳定性

[0268] 示出了50mg/mL H1H17203P DP三个月的研究稳定性数据。50mg/mL H1H17203P DP在5°C下储存3个月是物理和化学稳定的(表3)。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。

[0269] 50mg/mL H1H17203P DP的研究加速稳定性

[0270] 表6提供了在加速条件下孵育后50mg/mL H1H17203P DP的分析结果。在将H1H17203P DP在45°C下孵育28天后,观察到HMW和LMW种类(SE-UPLC)的相对量分别增加了2.1%和1.6%并且通过CEX-UPLC和iCIEF测定的酸性电荷变体种类的百分比分别增加了15.1%和13.5%。在将H1H17203P DP在25°C下孵育3个月后,观察到HMW和LMW种类(SE-UPLC)的量分别增加了0.3%并且通过CEX-UPLC和iCIEF测定的酸性电荷变体种类的百分比分别增加了2.9%和3.0%。加速稳定性测试的结果表明,HMW和LMW种类相对量的增加以及酸性电荷变体的形成是50mg/mL H1H17203P DP的主要降解途径。

[0271] 50mg/mL H1H17203P DP的研究应激稳定性

[0272] 应激稳定性研究的结果呈现于表9中。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟时,H1H17203P DP是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。H1H17203P DP在经受8次冷冻/解冻循环(在-80°C下冷冻并在室温下解冻)时

是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。

[0273] 50mg/mL H1H17139P DP的研究稳定性

[0274] 50mg/mL H1H17139P DP的研究储存稳定性

[0275] 示出了50mg/mL H1H17139P DP三个月的研究稳定性数据。50mg/mL H1H17139P DP在5℃下储存3个月是物理和化学稳定的(表4)。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。如通过生物测定分析确定的,50mg/mL H1H17139P DP在三个月的评估间隔期内保持效力。

[0276] 50mg/mL H1H17139P DP的研究加速稳定性

[0277] 表7提供了在加速条件下孵育后50mg/mL H1H17139P DP的分析结果。在将H1H17139P DP在45℃下孵育28天后,观察到HMW和LMW种类(SE-UPLC)的相对量分别增加了0.8%和1.8%并且通过CEX-UPLC和iCIEF测定的酸性电荷变体种类的百分比分别增加了13.8%和12.9%。在将H1H17139P DP在25℃下孵育3个月后,观察到HMW和LMW种类(SE-UPLC)的数量分别增加了0.4%和0.5%并且通过CEX-UPLC和iCIEF测定的酸性电荷变体种类的百分比分别增加了2.6%和3.1%。在每种加速条件下孵育后,如通过生物测定分析确定的,H1H17139P保持了效力。加速稳定性测试的结果表明,HMW和LMW种类相对量的增加以及酸性电荷变体的形成是50mg/mL H1H17139P DP的主要降解途径。

[0278] 50mg/mL H1H17139P DP的研究应激稳定性

[0279] 应激稳定性研究的结果呈现于表10中。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟时,H1H17139P DP是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。H1H17139P DP在经受8次冷冻/解冻循环(在-80℃下冷冻并在室温下解冻)时是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。

[0280] 50mg/mL H1H17161P DP的研究稳定性

[0281] 50mg/mL H1H17161P DP的研究储存稳定性

[0282] 示出了50mg/mL H1H17161P DP三个月的研究稳定性数据。50mg/mL H1H17161P DP在5℃下储存3个月是物理和化学稳定的(表5)。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。如通过生物测定分析确定的,50mg/mL H1H17161P DP在三个月的评估间隔期内保持效力。

[0283] 50mg/mL H1H17161P DP的研究加速稳定性

[0284] 表8提供了在加速条件下孵育后50mg/mL H1H17161P DP的分析结果。在将H1H17161P DP在45℃下孵育28天后,观察到HMW和LMW种类(SE-UPLC)的相对量分别增加了1.0%和1.8%并且通过CEX-UPLC和iCIEF测定的酸性电荷变体种类的百分比分别增加了15.6%和13.2%。在将H1H17161P DP在25℃下孵育3个月后,观察到HMW和LMW种类(SE-UPLC)的数量分别增加了0.7%和0.5%并且通过CEX-UPLC和iCIEF测定的酸性电荷变体种类的百分比分别增加了4.2%和3.4%。在每种加速条件下孵育后,如通过生物测定分析确定的,H1H17161P保持了效力。加速稳定性测试的结果表明,HMW和LMW种类相对量的增加以及酸性电荷变体的形成是50mg/mL H1H17161P DP的主要降解途径。

[0285] 50mg/mL H1H17161P DP的研究应激稳定性

[0286] 应激稳定性研究的结果呈现于表11中。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟时,H1H17161P DP是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性

的明显变化。H1H17161P DP在经受8次冷冻/解冻循环(在-80℃下冷冻并在室温下解冻)时是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。

[0287] H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP的研究稳定性结论

[0288] DP储存、加速和应激稳定性研究的结果表明,H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP制剂可以承受有限的室温暴露,而不会损害物理或化学稳定性。此外,H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P制剂研究的结果表明,H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP在5℃下储存至少3个月时是稳定的。H1H17203P DP、H1H17139P DP和H1H17161P DP应储存在2℃至8℃的温度下,并且应限制暴露于高于8℃的温度下。

[0289] 表3:储存在5℃下的50mg/mL H1H17203P药品的研究稳定性

[0290]		稳定性研究编号	H1H17203-SS004					
		来源 DS 批号	9018800002					
		制剂批号	L15-0397					
		配制	50 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
		灌装体积	0.4 mL					
		容器/封盖	带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶					
		测定编号:	储存时间(月)					
			0	1	3	6	9	12
		颜色和外观	通过	通过	通过	通过	通过	通过
		浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		pH	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
		通过 RP-UPLC 回收的 % 总 H1H17203P	100	101	102	109	100	99
[0291]	纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	NR	NA	NR	NA
		还原型; %重链+轻链	99.6	NR	NR	NA	NR	NA
	纯度, 通过 SE-UPLC	% HMW	0.6	0.6	0.7	0.8	0.8	0.9
		%天然	98.3	98.5	98.4	98.2	97.9	97.7
		% LMW	1.2	0.9	0.9	1.0	1.3	1.5
		电荷变体分析, 通过 CEX-UPLC	%酸性	42.2	42.2	41.2	41.5	41.8
			%主峰	46.5	46.9	47.9	48.3	48.1
			%碱性	11.3	10.9	10.9	10.2	10.2
		电荷变体分析, 通过 iCIEF	%酸性	57.1	NR	NR	NA	NR
			%主峰	40.5	NR	NR	NA	NR
			%碱性	2.4	NR	NR	NA	NR
		通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	25573	NR	NR	9370	NR
			≥ 10 μm	1267	NR	NR	436	NR
			≥ 25 μm	150	NR	NR	28	NR

[0292] 表4:储存在5℃下的50mg/mL H1H17139P药品的研究稳定性

[0293]

稳定性研究编号	H1H17139-SS004
来源 DS 批号	9019300002
制剂批号	L15-0396
配制	50 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0
灌装体积	0.4 mL

[0294]

容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶					
测定编号:		储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH		6.0	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的 % 总 H1H17139P		100	100	103	94	101	100
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	NR	NA	NR	NA
	还原型; %重链+轻链	98.7	NR	NR	NA	NR	NA
纯度, 通过 SE-UPLC	% HMW	0.6	0.6	0.7	0.8	0.9	0.9
	%天然	98.4	98.4	98.3	98.2	97.8	97.5
	% LMW	1.1	1.0	1.0	1.1	1.4	1.6
电荷变体分析, 通过 CEX-UPLC	%酸性	42.9	42.8	42.8	43.6	42.9	43.5
	%主峰	53.2	53.2	52.9	52.1	52.8	51.6
	%碱性	4.0	4.0	4.3	4.3	4.4	4.9
电荷变体分析, 通过 iCIEF	%酸性	49.4	NR	NR	NA	NR	NA
	%主峰	46.8	NR	NR	NA	NR	NA
	%碱性	3.2	NR	NR	NA	NR	NA
通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	7332	NR	NR	654	NR	1153
	≥ 10 μm	37	NR	NR	15	NR	24
	≥ 25 μm	3	NR	NR	3	NR	3

[0295]

表5: 储存在5°C下的50mg/mL H1H17161P药品的研究稳定性

[0296]

稳定性研究编号	H1H17161-SS004					
来源 DS 批号	9019800002					
制剂批号	L15-0400					
配制	50 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
灌装体积	0.4 mL					
容器/封盖	带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶					
测定编号:	储存时间(月)					
	0	1	3	6	9	12

[0297]

稳定性研究编号		H1H17161-SS004					
来源 DS 批号		9019800002					
制剂批号		L15-0400					
配制		50 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
灌装体积		0.4 mL					
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶					
测定编号:		储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH		6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的%总 H1H17161P		100	99	106	106	104	106
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	NR	NA	NR	NA
	还原型; %重链+轻链	98.4	NR	NR	NA	NR	NA
纯度, 通过 SE-UPLC	% HMW	1.1	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7
	%天然	97.4	97.3	97.2	97.1	96.6	96.2
	% LMW	1.5	1.5	1.4	1.4	1.8	2.0
电荷变体分析, 通过 CEX-UPLC	%酸性	60.5	60.3	59.8	59.2	61.0	59.8
	%主峰	35.7	35.7	35.1	36.4	35.6	34.8
	%碱性	3.9	4.0	5.1	4.4	3.5	5.4
电荷变体分析, 通过 iCIEF	%酸性	54.1	NR	NR	NA	NR	NA
	%主峰	42.7	NR	NR	NA	NR	NA
	%碱性	3.2	NR	NR	NA	NR	NA
通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	7526	NR	NR	1274	NR	3066
	$\geq 10 \mu\text{m}$	39	NR	NR	99	NR	148
	$\geq 25 \mu\text{m}$	7	NR	NR	8	NR	22

[0298] 表6:50mg/mL H1H17203P药品的研究稳定性-加速条件的影响

[0299]

稳定性研究编号		H1H17203-SS004					
来源 DS 批号		9018800002					
制剂批号		L15-0397					
配制		50 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
灌装体积		0.4 mL					

[0300]

容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶						
测定编号:		储存条件/储存时间						
		无存储	25°C(月)			45°C(天)		
		0	0.5	1	3	7	14	28
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
pH		6.1	6.0	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的 % 总		100	100	101	102	99	99	101
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	NR	100	NR	NR	98.2
	还原型; %重链+轻链	99.6	NR	NR	99.1	NR	NR	98.4
纯度, 通过 SE-UPLC	% HMW	0.6	0.7	0.8	0.9	1.4	1.8	2.7
	%天然	98.3	98.3	98.1	97.6	97.1	96.2	94.4
	% LMW	1.2	1.0	1.1	1.5	1.5	2.0	2.8
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析	%酸性	42.2	42.3	43.0	45.1	46.2	50.3	57.3
	%主峰	46.5	47.2	47.0	45.9	43.7	40.3	33.4
	%碱性	11.3	10.5	10.0	9.0	10.1	9.4	9.3
电荷变体分析, 通过 iCIEF	%酸性	57.1	NR	NR	60.1	NR	NR	70.6
	%主峰	40.5	NR	NR	37.0	NR	NR	26.3
	%碱性	2.4	NR	NR	3.0	NR	NR	3.1
通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	25573	NR	NR	10568	NR	NR	2677
	$\geq 10 \mu\text{m}$	1267	NR	NR	989	NR	NR	149
	$\geq 25 \mu\text{m}$	150	NR	NR	187	NR	NR	25

[0301] 表7:50mg/mL H1H17139P药品的研究稳定性-加速条件的影响

[0302]

稳定性研究编号	H1H17139-SS004
来源 DS 批号	9019300002
制剂批号	L15-0396

[0303]

配制		50 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0						
灌装体积		0.4 mL						
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶						
测定编号:		储存条件/储存时间						
		无 存 储	25°C(月)			45°C(天)		
		0	0.5	1	3	7	14	28
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
pH		6.0	6.0	6.1	6.1	6.1	6.1	6.0
通过 RP-UPLC 回收的%总 H1H17139P		100	100	100	104	100	100	99
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	NR	99.5	NR	NR	98.8
	还原型; %重链+轻链	98.7	NR	NR	99.1	NR	NR	98.4
纯度, 通过 SE-UPLC	% HMW	0.6	0.7	0.8	1.0	0.9	1.1	1.4
	%天然	98.4	98.1	98.0	97.4	97.6	96.8	95.7
	% LMW	1.1	1.2	1.2	1.6	1.5	2.1	2.9
通 过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析	%酸性	42.9	43.0	43.2	45.5	45.4	49.5	56.7
	%主峰	53.2	52.8	52.4	49.6	49.9	45.6	38.5
	%碱性	4.0	4.3	4.4	4.9	4.8	5.0	4.8
电 荷 变 体 分 析, 通过 iCIEF	%酸性	49.4	NR	NR	52.5	NR	NR	62.3
	%主峰	46.8	NR	NR	43.0	NR	NR	32.2
	%碱性	3.2	NR	NR	3.9	NR	NR	4.8
通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	7332	NR	NR	1279	NR	NR	4628
	$\geq 10 \mu\text{m}$	37	NR	NR	65	NR	NR	170
	$\geq 25 \mu\text{m}$	3	NR	NR	6	NR	NR	23

[0304] 表8:50mg/mL H1H17161P药品的研究稳定性-加速条件的影响

[0305]

稳定性研究编号	H1H17161-SS004
来源 DS 批号	9019800002
制剂批号	L15-0400
配制	50 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0
灌装体积	0.4 mL

[0306]

容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶						
测定编号:		储存条件/储存时间						
		无 存 储	25°C(月)			45°C(天)		
		0	0.5	1	3	7	14	28
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH		6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的%总 H1H17161P		100	105	98	107	99	96	99
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	NR	98.4	NR	NR	96.1
	还原型; %重链+轻链	98.4	NR	NR	97.6	NR	NR	97.8
纯度, 通过 SE-UPLC	% HMW	1.1	1.4	1.6	1.8	1.5	1.7	2.1
	%天然	97.4	97.0	96.8	96.2	96.5	95.6	94.6
	% LMW	1.5	1.7	1.7	2.0	2.0	2.6	3.3
通 过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析	%酸性	60.5	61.0	61.7	64.7	64.7	69.1	76.1
	%主峰	35.7	34.6	34.2	30.0	30.8	26.6	19.4
	%碱性	3.9	4.4	4.2	5.4	4.4	4.2	4.5
电 荷 变 体 分 析, 通过 iCIEF	%酸性	54.1	NR	NR	57.5	NR	NR	67.3
	%主峰	42.7	NR	NR	38.0	NR	NR	26.9
	%碱性	3.2	NR	NR	4.4	NR	NR	5.8
通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	7526	NR	NR	468	NR	NR	2204
	$\geq 10 \mu\text{m}$	39	NR	NR	33	NR	NR	98
	$\geq 25 \mu\text{m}$	7	NR	NR	5	NR	NR	7

[0307] 表9:50mg/mL H1H17203P药品的研究稳定性-应激条件的影响

[0308]

稳定性研究编号	RG3470-SS004
来源 DS 批号	9018800002
制剂批号	L15-0397
配制	50 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0

[0309]

灌装体积		0.4 mL				
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶				
测定编号:		应激条件/应激时间				
		无应激	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
		0	60	120	4	8
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH		6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的%总 H1H17203P		100	100	100	99	100
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	100	NR	100
	还原型; %重链+轻链	99.6	NR	99.6	NR	99.2
纯度, 通过 SE-UPLC	%总 HMW	0.6	0.5	0.5	0.6	0.6
	%总天然	98.3	98.3	98.3	98.3	98.3
	%总 LMW	1.2	1.2	1.2	1.1	1.1
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析	%酸性	42.2	42.3	42.3	42.3	42.4
	%主峰	46.5	46.8	46.8	46.7	46.6
	%碱性	11.3	11.0	11.0	11.0	11.0
电荷变体分析, 通过 iCIEF	%酸性	57.1	NR	57.5	NR	57.1
	%主峰	40.5	NR	39.8	NR	40.5
	%碱性	2.4	NR	2.6	NR	2.3

[0310] 表10: 50mg/mL H1H17139P药品的研究稳定性-应激条件的影响

[0311]

稳定性研究编号		H1H17139-SS004				
来源 DS 批号		9019300002				
制剂批号		L15-0396				
配制		50 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0				
灌装体积		0.4 mL				
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶				
测定编号:		应激条件/应激时间				
		无应激	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
		0	60	120	4	8
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH		6.0	6.1	6.0	6.0	6.1
通过 RP-UPLC 回收的%总 H1H17139P		100	100	100	100	100
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	100	NR	100

[0312]

稳定性研究编号		H1H17139-SS004					
来源 DS 批号		9019300002					
制剂批号		L15-0396					
配制		50 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
灌装体积		0.4 mL					
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶					
测定编号:		应激条件/应激时间					
		无应激		搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
		0	60	120	4	8	
		还原型; %重链+轻链	98.7	NR	99.1	NR	99.3
纯度, 通过 SE-UPLC	%总 HMW	0.6	0.5	0.5	0.6	0.6	
	%总天然	98.4	98.4	98.4	98.4	98.4	
	%总 LMW	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析	%酸性	42.9	42.9	42.9	43.1	42.9	
	%主峰	53.2	53.2	53.2	53.0	53.2	
	%碱性	4.0	3.9	3.9	4.0	3.9	
电荷变体分析, 通过 iCIEF	%酸性	49.4	NR	49.8	NR	49.5	
	%主峰	46.8	NR	46.0	NR	46.5	
	%碱性	3.2	NR	3.7	NR	3.5	

[0313] 表11:50mg/mL H1H17161P药品的研究稳定性-应激条件的影响

[0314]

稳定性研究编号		H1H17161-SS004				
来源 H1H17161P DS 批号		9019800002				
制剂批号		L15-0400				
配制		50 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0				
灌装体积		0.4 mL				
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶				
		应激条件/应激时间				
测定编号:		无应激	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
		0	60	120	4	8
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH		6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的%总 H1H17161P		100	100	101	99	98
纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; 主峰%	100	NR	100	NR	100
	还原型; %重链+轻链	98.4	NR	98.7	NR	97.9
纯度, 通过	%总 HMW	1.1	1.0	1.1	1.1	1.1

[0315]

稳定性研究编号		H1H17161-SS004					
来源 H1H17161P DS 批号		9019800002					
制剂批号		L15-0400					
配制		50 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80，pH 6.0					
灌装体积		0.4 mL					
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶					
测定编号： SE-UPLC		应激条件/应激时间					
		无应激		搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
		0	60	120	4	8	
		%总天然	97.4	97.4	97.5	97.4	97.3
		%总 LMW	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析	%酸性	60.5	60.3	60.3	60.5	60.9	
	%主峰	35.7	35.9	35.8	35.6	35.2	
	%碱性	3.9	3.8	3.9	4.0	4.0	
电荷变体分析，通过 iCIEF	%酸性	54.1	NR	53.2	NR	54.4	
	%主峰	42.7	NR	42.6	NR	42.3	
	%碱性	3.2	NR	4.3	NR	3.3	

[0316] 结论

[0317] H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体被制成用于IV注射的液体DP。H1H17203P DP含有以含有10mM的组氨酸 (pH 6.0)、0.1% (w/v) 的聚山梨醇酯80和10% (w/v) 的蔗糖的溶液配制的50mg/mL H1H17203P抗体。H1H17139P DP含有以含有10mM的组氨酸 (pH 6.0)、0.1% (w/v) 的聚山梨醇酯80和10% (w/v) 的蔗糖的溶液配制的50mg/mL H1H17139P抗体。H1H17161P DP含有以含有10mM的组氨酸 (pH 6.0)、0.1% (w/v) 的聚山梨醇酯80和10% (w/v) 的蔗糖的溶液配制的50mg/mL H1H17161P抗体。

[0318] 基于本实施例中的研究结果，50mg/mL H1H17203P DP、50mg/mL H1H17139P DP和50mg/mL H1H17161P DP在2-8℃下储存至少12个月时是稳定的。此外，在加速条件下确定的主要降解途径是形成HMW和LMW种类以及酸性电荷变体。

[0319] 实施例5：含有50mg/mL抗EBOV抗体组合的水性制剂的稳定性研究

[0320] 使用50mg/mL总蛋白 (16.7mg/mL H1H17203P、16.7mg/mL H1H17139P和16.7mg/mL H1H17161P)、10mM的组氨酸 (pH 6.0)、0.1% (w/v) 的聚山梨醇酯80和10% (w/v) 的蔗糖配制三种抗EBOV单克隆抗体H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P。配制三种抗EBOV单克隆抗体，并将其组合到玻璃小瓶中。开发了用于评估稳定性的方法，以在可能的情况下提供关于每种组分抗体的信息。然而，许多分析方法不能提供每种抗体的信息。当无法单独提供每种抗体的结果时，该分析方法可提供整个药品的稳定性数据。

[0321] 制剂的物理稳定性是指诸如颜色、外观、pH、浊度和蛋白质浓度的性质。溶液中可见微粒的存在可以通过目测检查来检测。如果溶液清澈至略带乳白色，基本上不含可见颗粒，并且无色至淡黄色，则溶液通过目测检查。通过在405nm处的OD的增加测量的浊度也可用于检测溶液中的微粒。405nm处的OD的增加可能表明微粒的存在、乳光的增加或测试物品的颜色变化。MFI用于测量大小≥2μm的亚可见微粒。通过RP-UPLC测定法测量总蛋白质浓度，并报告为相对于起始材料的蛋白质回收百分比。

[0322] 在RP-UPLC测定中，在从反相柱洗脱后，H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P峰无法彼此拆分(图1)。总蛋白浓度(H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P)通过将峰面积与使用H1H17203P标准品生成的校准曲线进行比较来确定。因为H1H17203P、H1H17139P和

H1H17161P的消光系数分别为1.50、1.57和1.36,所以共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P (1:1:1)的消光系数大约为1.48(三个消光系数的平均值)。因此,选择H1H17203P标准品(消光系数,1.50)来生成标准曲线,以确定共同配制的制剂中的总蛋白质浓度。基于测量的总蛋白质浓度相对于起始浓度计算回收百分比。

[0323] 化学稳定性是指蛋白质的共价修饰形式(例如共价聚集体、裂解产物或电荷变体形式)和非共价修饰形式(例如非共价聚集体)的形成。使用SE-UPLC和MCE-SDS方法可以将较高分子量和较低分子量的降解产物与天然分子量的产物分离。通过SE-UPLC对三元抗体制剂的总纯度(天然H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P)进行表征(即,未单独确定H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的分子量纯度),因为H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P天然种类无法彼此拆分(图2)。类似地,将对三元抗体制剂的总高分子量(HMW)种类(H1H17203P HMW、H1H17139P HMW和H1H17161P HMW)和总低分子量(LMW)种类(H1H17203P LMW、H1H17139P LMW和H1H17161P LMW)进行表征,因为H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的HMW或LMW种类无法彼此拆分(图2)。使用SE-UPLC法测定的3元制剂中总HMW种类或总LMW种类的百分比,是由总HMW种类或总LMW种类的面积分别与所有H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P峰的总面积之比来计算的。通过非还原型MCE-SDS测定的总纯度由H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P主带强度与所有带的总强度之比来计算得出。通过还原型MCE-SDS测定的总纯度由H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P重链和轻链带强度之和相对于所有带总强度之比来计算。

[0324] iCIEF方法没有足够的分辨率来分离所有三种抗体的所有电荷变体形式。因此,该分析方法不用于评估三元制剂样品的电荷变化曲线的变化。共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的电荷变体形式能够使用CEX-UPLC方法进行拆分。对于H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P,保留时间早于主峰的峰被标记为“酸性”峰;保留时间晚于主峰的峰被标记为“碱性”峰。通过比较每种抗体的单个峰面积与总峰面积来计算酸性峰、主峰和碱性峰的百分比。

[0325] 用于储存、加速试验和应激稳定性研究的药品(DP)是通过将0.4mL FDS装入2mL 1型玻璃小瓶中来制成的。相对于储存温度条件,DP在若干高温条件下孵育。选择这些加速条件是为了模拟DP在制造和处理期间可能遇到的条件,以阐明共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP的降解途径。表12呈现了共同配制的DP的储存、加速和应激稳定性条件的概述,并且表13呈现了分析计划。

[0326] 表12:H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合DP的研究稳定性研究

[0327]

储存稳定性		容器/封盖
储存温度	储存时间(月)	帶有 FluroTec 塗覆的 4432/50 丁基橡膠塞的 1 型硼矽酸鹽玻璃
5°C	0、1、3、6、9、12、18、24 和 36	
加速穩定性		
孵育條件	孵育時間	
25°C	0、0.5、1 和 3 個月	
45°C	0、7、14 和 28 天	
應激穩定性		
應激	應激持續時間	
攪拌(渦旋)	0、60 和 120 分鐘	
冷凍/解凍	0、4 和 8 個循環	

[0328] ^a在-30°C下冷冻并在室温下解冻。

[0329] 表13:H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合DP的研究稳定性研究和分析计划

[0330]	测定编号:	待分析的样品
	颜色和外观	所有样品
	pH	所有样品
	浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)	所有样品
	通过 RP-UPLC 回收的%总 H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P	所有样品
	通过非还原型和还原型 MCE-SDS 的总纯度 (H1H17203P、H1H17139P、H1H17161P)	在 5°C 下 t=0、6、12、24 和 36 个月; 在 25°C 下 6 个月; 在 45°C 下 28 天 120 分钟搅拌, 8 次冷冻/解冻
	通过 SE-UPLC 测定的总 (H1H17203P、H1H17139P、H1H17161P) 纯度	所有样品
	通过 CEX-UPLC 的电荷变体分析	所有样品
	通过 MFI 进行微粒物质分析	在 5°C 下 t=0、6、12、24 和 36 个月; 在 25°C 下 6 个月; 在 45°C 下 28 天 120 分钟搅拌, 8 次冷冻/解冻
	% H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P 通过生物测定得到的相对效力	在 5°C 下 t=0、6、12、24 和 36 个月; 在 25°C 下 6 个月; 在 45°C 下 28 天 120 分钟搅拌, 8 次冷冻/解冻

[0331] 共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP (1:1:1, 50mg/mL总蛋白) 的研究储存稳定性

[0332] 示出了共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP三个月的研究储存稳定性数据。当在5°C下储存3个月时,共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP是物理稳定的。当共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP (1:1:1, 50mg/mL总蛋白) 在5°C下储存3个月时,通过SE-UPLC观察到总HMW种类增加0.2%,而在5°C下储存18个月后,通过SE-UPLC观察到总HMW增加0.6%。在任何其他监测的属性中,未检测到共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP (1:1:1, 50mg/mL总蛋白) 的物理或化学稳定性发生明显变化。通过生物测定分析确定,H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P在3个月的评估间隔期内保持效力。参见表14。

[0333] 共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP (1:1:1, 50mg/mL总蛋白) 的研究加速稳定性

[0334] 在4中提供了在加速条件下孵育后对共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP的分析结果。在45°C下孵育28天后,观察到总HMW种类的相对量(SE-UPLC)增加了1.3%。在45°C下孵育28天后,观察到H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P酸性电荷变体种类(CEX-UPLC)分别增加了14.7%、14.4%和22.9%。在25°C下孵育3个月后,观察到H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P酸性电荷变体种类(CEX-UPLC)分别增加了2.6%、2.5%和5.6%。在加速条件下孵育后,如通过生物测定分析确定,H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P保持了效力。加速稳定性测试的结果表明,H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的总HMW种类、总LMW种类相对量的增加以及酸性电荷变体的形成是共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP (1:1:1, 50mg/mL总蛋白) 的主要降解途径。参见表15。

[0335] 共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP (1:1:1, 50mg/mL总蛋白) 的研究应激稳定性

[0336] 表16提供了共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP应激稳定性研究的结果。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟或经受8次冷冻/解冻循环(在-30°C下冷冻并在室温下解冻)时,共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP是物理和化学稳定的。

在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。当DP被搅拌120分钟或经受8次冷冻/解冻循环时,H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P保持效力。参见表16。

[0337] 共同配制的H1H17203-3471-3479药品的研究稳定性结论

[0338] 储存、加速和应激稳定性研究的结果表明,共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP在制造过程中(灌装/完成和贴标签操作)是稳定的。H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合DP制剂可承受短时间暴露于室温,而不会损害物理或化学稳定性。H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合DP将储存在2℃至8℃的温度下,并且将限制暴露于高于8℃的温度下。

[0339] 确定了共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP在2-8℃下在36个月内的长期储存(表14)。在5℃下储存36个月后,观察到总HMW种类和总LMW种类各自增加了0.7%。对于H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P分别观察到酸性种类的1.1%、1.2%和7.3%变化。在36个月研究持续时间内,没有观察到效力的显著变化,表明抗EBOV制剂在冷藏条件下提供了可接受的长期储存稳定性。

[0340] 表14:储存在5℃下的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合DP(1:1:1,50mg/mL总蛋白)的研究稳定性

稳定性研究编号		H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P-SS002								
批号		9018800002、9019300002、9019800002								
制剂批号		L15-401								
配制		16.7 mg/mL H1H17203P、16.7 mg/mL H1H17139P、16.7 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸(pH 6.0)、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80、10%(w/v)的蔗糖								
灌装体积		0.4 mL								
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶								
测定编号:		储存时间(月)								
		0	1	3	6	9	12	18	24	36
颜色和外观		通过	通过	通过	通过	通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
pH		6.1	6.1	6.1	6.1	6.0	6.1	6.0	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的%总蛋白质	H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P	100	101	104	104	103	103	101	103	102
总纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; % (H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P) 主峰	100	NR	NR	99.6	NR	99.7	NR	99.7	100.0
	还原型; % (H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P) 重链 + % (H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P) 轻链	99.3	NR	NR	99.2	NR	99.2	NR	99.1	98.9
总纯度, 通过 SE-UPLC	%总 HMW	0.7	0.8	0.9	1.1	1.1	1.2	1.3	1.3	1.4
	%总天然	98.2	98.0	98.0	97.8	97.6	97.2	97.3	96.9	96.8
	%总 LMW	1.1	1.1	1.1	1.1	1.3	1.7	1.5	1.8	1.8
通过 CEX-UPLC 的电荷变体	H1H17203P	%酸性	37.3	37.2	36.6	36.0	36.9	37.1	37.9	38.4
		%主峰	41.3	41.3	41.8	42.8	42.1	42.1	41.3	42.6
		%碱性	21.5	21.6	21.6	21.2	21.1	20.7	20.8	19.0
	H1H17139P	%酸性	43.2	43.1	42.9	40.7	41.9	42.5	44.2	42.0
		%主峰	53.5	53.7	53.8	56.0	54.7	53.9	52.4	54.4
		%碱性	3.2	3.2	3.3	3.4	3.4	3.6	3.5	3.6
	H1H17161P	%酸性	50.3	50.5	48.3	50.5	52.4	50.9	54.3	57.6
		%主峰								

[0341]

[0342]

稳定性研究编号			H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P-SS002								
批号			9018800002、9019300002、9019800002								
制剂批号			L15-401								
配制			16.7 mg/mL H1H17203P、16.7 mg/mL H1H17139P、16.7 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸(pH 6.0)、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80、10%(w/v)的蔗糖								
灌装体积			0.4 mL								
容器/封盖			带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶								
测定编号:			储存时间(月)								
			0	1	3	6	9	12	18	24	36
			%主峰	44.6	44.4	45.0	46.0	43.8	43.7	41.9	40.2
		%碱性	5.2	5.1	6.7	3.5	3.8	5.4	3.8	4.7	4.3
通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	16393	NR	NR	7081	NR	1472	4337	4506	8719	
	≥ 10 μm	55	NR	NR	626	NR	35	359	951	1212	
	≥ 25 μm	3	NR	NR	120	NR	5	26	129	210	
%相对效力(生物测定)	病毒中和测定	107	NR	80	80	NR	69	NR	72	86	
	ADCC 测定	112	NR	105	126	NR	125	NR	111	116	

[0343] NR,不需要。

[0344] 下表15提供了加速研究的结果。在25℃下孵育3个月后,观察到总HMW种类和总LMW种类的相对量增加了0.6%。观察到H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的酸性电荷变体分别增加了2.6%、2.5%和5.6%。在加速条件下孵育后,共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP保持了效力。在45℃下孵育28天后,观察到总HMW种类的相对量增加了1.3%,而总LMW种类的相对量增加了1.9%。

[0345] 对共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP进行的应激和加速稳定性研究表明,共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP的总HMW种类、总LMW种类和酸性电荷变体的相对量增加有限,与单个制剂类似。

[0346] 表15:H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合DP (1:1:1, 50mg/mL总蛋白) 的研究稳定性-加速条件的影响

[0347]

稳定性研究编号	H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P-SS002						
批号	9018800002、9019300002、9019800002						
制剂批号	L15-401						
配制	16.7 mg/mL H1H17203P、16.7 mg/mL H1H17139P、16.7 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸 (pH 6.0)、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80、10%(w/v)的蔗糖						
灌装体积	0.4 mL						
容器/封盖	带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶						
测定编号:	储存条件/储存时间						
	无存储	25°C(月)			45°C(天)		
	0	0.5	1	3	7	14	28
颜色和外观	通过	通过	通过	通过	通过	通过	通过

[0348]

稳定性研究编号		H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P-SS002						
批号		9018800002、9019300002、9019800002						
制剂批号		L15-401						
配制		16.7 mg/mL H1H17203P、16.7 mg/mL H1H17139P、16.7 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸 (pH 6.0)、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80、10%(w/v)的蔗糖						
灌装体积		0.4 mL						
容器/封盖		带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶						
测定编号:		储存条件/储存时间						
		无存储	25°C(月)			45°C(天)		
		0	0.5	1	3	7	14	28
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)		0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01
pH		6.1	6.0	6.1	6.1	6.0	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的 % 总蛋白质	H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P	100	100	101	104	99	98	101
总纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; %(H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P)主峰	100	NR	NR	100	NR	NR	98.5
	还原型; %(H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P 重链)+%(H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P)轻链	99.3	NR	NR	98.8	NR	NR	98.0
总纯度, 通过 SE-UPLC	%总 HMW	0.7	1.0	1.1	1.3	1.1	1.4	2.0
	%总天然	98.2	97.7	97.6	97.0	97.2	96.5	95.0
	%总 LMW	1.1	1.3	1.3	1.7	1.7	2.2	3.0
通过 CEX-UPLC 的电荷变体	H1H17203P	%酸性	37.3	37.5	38.0	39.9	40.2	43.7
		%主峰	41.3	41.6	41.5	40.4	39.2	36.4
		%碱性	21.5	20.9	20.5	19.6	20.6	19.9
	H1H17139P	%酸性	43.2	43.1	43.5	45.7	46.0	49.8
		%主峰	53.5	53.4	53.0	50.3	49.9	45.6
		%碱性	3.2	3.5	3.5	4.0	4.0	4.6
	H1H17161P	%酸性	50.3	51.7	53.2	55.9	56.2	61.5
		%主峰	44.6	43.1	42.3	37.0	38.9	33.2
		%碱性	5.2	5.3	4.5	7.1	4.9	5.3
通过 MFI 进行微粒分析 (颗粒/mL)	2-10 μm	16393	NR	NR	1785	NR	NR	1882
	$\geq 10 \mu\text{m}$	55	NR	NR	200	NR	NR	144
	$\geq 25 \mu\text{m}$	3	NR	NR	41	NR	NR	33
通过生物测定得到的 % 相对效力	病毒中和测定	107	NR	NR	86	NR	NR	75
	ADCC 测定	112	NR	NR	116	NR	NR	123

[0349] NR, 不需要。

[0350] 应激稳定性研究的结果表明, 当搅拌 (在室温下涡旋) 120 分钟或经历八次冷冻/解冻循环时, 共同配制的 H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P DP 是物理和化学稳定的 (表 16)。在任何监测的属性中, 没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。当共同配制的 H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P DP 被搅拌或经受冷冻/解冻循环时, 效力得以保持。

[0351] 表 16: H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P 组合 DP (1:1:1, 50mg/mL 总蛋白) 的研究稳定性-应激条件的影响

稳定性研究编号			H1H17203P、H1H17139P 和 H1H17161P -SS002				
批号			9018800002、9019300002、9019800002				
制剂批号			L15-401				
配制			16.7 mg/mL H1H17203P、16.7 mg/mL H1H17139P、16.7 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸(pH 6.0)、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80、10%(w/v)的蔗糖				
灌装体积			0.4 mL				
容器/封盖			带有 West S2-F451 4432/50 GRY B2-40 塞的 2 ml I 型硼硅酸盐玻璃小瓶				
测定编号:			应激条件/应激时间				
			无应激	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
			0	60	120	4	8
颜色和外观			通过	通过	通过	通过	通过
浊度(在 405 nm 处的 OD 增加)			0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH			6.1	6.0	6.0	6.1	6.1
通过 RP-UPLC 回收的 % 总蛋白质	H1H17203P 、 H1H17139P 和 H1H17161P		100	100	100	101	101
总纯度, 通过 MCE-SDS	非还原型; % 天然 (H1H17203P 、 H1H17139P 和 H1H17161P)		100	NR	99.7	NR	100
	还原型; %(H1H17203P 、 H1H17139P 和 H1H17161P 重链)+ %(H1H17203P 、 H1H17139P 和 H1H17161P)轻链		99.3	NR	99.1	NR	98.8
总纯度, 通过 SE-UPLC	%总 HMW		0.7	0.7	0.7	0.7	0.8
	%总天然		98.2	98.1	98.1	98.2	98.1
	%总 LMW		1.1	1.2	1.2	1.1	1.1
通 过 CEX-UPLC 的 电 荷 变 体	H1H17203P	%酸性	37.3	37.1	37.3	37.2	37.4
		%主峰	41.3	41.3	41.2	41.2	41.0
		%碱性	21.5	21.6	21.5	21.6	21.6
	H1H17139P	%酸性	43.2	43.1	43.4	43.3	43.5
		%主峰	53.5	53.6	53.5	53.4	53.3
		%碱性	3.2	3.3	3.2	3.3	3.2
	H1H17161P	%酸性	50.3	50.4	50.5	50.3	50.6
		%主峰	44.6	44.6	44.3	44.5	44.2
		%碱性	5.2	5.0	5.2	5.2	5.2
%相对效力(生物测定)	病毒中和测定		107	NR	116	NR	94
	ADCC 测定		112	NR	87	NR	127

[0353] NR,不需要

[0354] 结论

[0355] 共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP被制成用于静脉施用的液体DP。H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP可以含有以含有10mM的组氨酸、pH 6.0、0.1% (w/v)的聚山梨醇酯80和10% (w/v)的蔗糖的溶液配制的16.7mg/mL H1H17203P、16.7mg/mL H1H17139P和16.7mg/mL H1H17161P。基于本文的研究结果:

[0356] 当在2-8℃下储存至少3个月时,共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P DP是稳定的。

[0357] 在加速条件下确定的主要降解途径是形成HMW和LMW种类以及酸性电荷变体。

[0358] 实施例6:不同缓冲液和pH的影响

[0359] 通过在一系列不同pH范围的缓冲系统中在45℃下将100mg/mL总抗体孵育28天,在液体制剂中检查缓冲液和pH对三种抗EB0V抗体热稳定性的影响。研究了以下pH和缓冲系统:柠檬酸盐 (pH 5.2、6.0、6.8) 和组氨酸 (pH 5.2、6.0、6.8)。基于SE-UPLC分析的结果,当

抗体在组氨酸缓冲液中配制为pH 6.0时,观察到最大的蛋白质稳定性(表17-20和22-25)。使用微流体成像(MFI)确定三元抗体制剂中亚可见颗粒的存在(表21)。

[0360] 表17:缓冲液和pH对在45℃下孵育28天的100mg/mL H1H17203P的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC和RP-UPLC结果

缓冲液 /pH	天	目测	在 405 nm 下 的 OD	Δ OD	pH	% HMW	%天然	% LMW	蛋白质浓 度 (mg/mL)	回收率%
10mM 组 氨酸 pH 5.2	t=0	通过	0.085	0.00	5.4	1.0	97.8	1.2	31.8	100.0
	7	通过	0.084	0.00	5.4	2.2	96.0	1.8	32.3	101.7
	14	通过	0.089	0.00	5.4	3.2	94.2	2.6	31.9	100.4
	21	通过	0.089	0.00	5.4	4.9	92.2	2.9	32.3	101.7
	28	通过	0.091	0.01	5.5	6.0	90.6	3.4	32.5	102.1
10mM 组 氨酸 pH 6.0	t=0	通过	0.088	0.00	6.1	1.3	97.6	1.1	33.3	100.0
	7	通过	0.087	0.00	6.1	1.3	97.0	1.7	33.9	101.9
	14	通过	0.090	0.00	6.1	1.6	96.0	2.3	33.3	100.2
	21	通过	0.093	0.01	6.1	2.2	95.3	2.5	33.9	101.8
	28	通过	0.094	0.01	6.1	2.7	94.4	3.0	34.0	102.1
10mM 组 氨酸 pH 6.8	t=0	通过	0.087	0.00	7.0	1.7	97.1	1.2	33.0	100.0
	7	通过	0.088	0.00	7.0	1.7	96.6	1.7	33.7	102.0
	14	通过	0.089	0.00	7.0	2.2	95.5	2.4	33.0	100.0
	21	通过	0.092	0.01	7.0	2.8	94.6	2.6	33.3	100.9
	28	通过	0.095	0.01	7.1	3.4	93.4	3.1	33.6	101.8
10mM 柠 檬 酸 盐	t=0	通过	0.101	0.00	5.3	1.6	97.2	1.2	32.8	100.0
	7	通过	0.154	0.05	5.3	16.2	82.1	1.8	33.4	101.6

pH 5.2	14	通过	0.347	0.25	5.3	30.1	67.7	2.3	32.5	99.1
	21	通过	1.320	1.22	5.3	32.2	64.7	3.1	23.3	71.0
	28	通过	2.332	2.23	5.3	NP	NP	NP	NP	NP
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 6.0	t=0	通过	0.102	0.00	6.1	1.9	97.0	1.2	31.1	100.0
	7	通过	0.103	0.00	6.1	3.0	95.3	1.7	31.2	100.4
	14	通过	0.106	0.00	6.1	4.4	93.4	2.2	30.8	99.1
	21	通过	0.118	0.02	6.1	6.3	91.3	2.4	31.6	101.6
	28	通过	0.131	0.03	6.1	7.7	89.4	2.9	31.7	101.9
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 6.8	t=0	通过	0.103	0.00	6.8	2.6	96.3	1.2	32.1	100.0
	7	通过	0.105	0.00	6.9	3.3	95.0	1.7	32.1	100.0
	14	通过	0.109	0.01	6.8	4.4	93.3	2.3	31.9	99.5
	21	通过	0.117	0.01	6.9	5.8	91.7	2.5	32.5	101.4
	28	通过	0.123	0.02	6.9	7.1	90.0	3.0	32.7	102.1

[0363] 由于目测失败,10mM柠檬酸盐(pH 5.2) 28d样品未在UPLC仪器上运行

[0364] 表18:缓冲液和pH对在45℃下孵育28天的100mg/mL H1H17139P的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC和RP-UPLC结果

[0365]

缓冲液 /pH	天	目测	在 405 nm 下 的 OD	Δ OD	pH	% HMW	%天然	% LMW	蛋白质浓 度 (mg/mL)	回收率%
10mM 组 氨酸 pH 5.2	t=0	通过	0.085	0.00	5.4	0.8	97.8	1.4	33.4	100.0
	7	通过	0.083	0.00	5.4	0.6	97.3	2.1	33.7	100.9
	14	通过	0.085	0.00	5.4	0.7	96.5	2.8	33.8	101.0
	21	通过	0.085	0.00	5.4	0.8	96.1	3.1	33.8	101.1
	28	通过	0.088	0.00	5.4	0.9	95.4	3.7	33.9	101.4
10mM 组 氨酸 pH 6.0	t=0	通过	0.087	0.00	6.1	1.1	97.5	1.4	33.9	100.0
	7	通过	0.085	0.00	6.1	0.8	97.3	1.9	34.1	100.6
	14	通过	0.088	0.00	6.1	0.9	96.7	2.5	34.3	101.0
	21	通过	0.091	0.00	6.1	1.0	96.3	2.7	34.5	101.6
	28	通过	0.091	0.00	6.2	1.1	95.8	3.2	34.5	101.6
10mM 组 氨酸 pH 6.8	t=0	通过	0.085	0.00	6.9	1.4	97.3	1.4	32.6	100.0
	7	通过	0.085	0.00	6.9	1.1	96.9	2.0	32.9	100.8
	14	通过	0.088	0.00	6.9	1.3	96.2	2.5	32.8	100.7
	21	通过	0.090	0.01	7.0	1.4	95.8	2.8	32.9	101.0
	28	通过	0.091	0.01	7.0	1.6	95.0	3.4	32.8	100.8
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 5.2	t=0	通过	0.093	0.00	5.3	1.1	97.5	1.4	32.1	100.0
	7	通过	0.093	0.00	5.3	1.2	96.7	2.2	32.5	101.2
	14	通过	0.095	0.00	5.3	1.4	95.5	3.0	32.5	101.0
	21	通过	0.097	0.00	5.2	1.8	94.8	3.4	32.4	100.7
	28	通过	0.097	0.00	5.3	2.1	93.9	4.1	32.5	101.1
10mM 柠 檬 酸 盐	t=0	通过	0.096	0.00	6.1	1.6	97.1	1.4	31.2	100.0
	7	通过	0.094	0.00	6.1	1.5	96.5	1.9	31.4	100.7

[0366]

pH 6.0	14	通过	0.096	0.00	6.0	1.8	95.7	2.5	31.1	99.9
	21	通过	0.097	0.00	6.1	2.0	95.3	2.7	31.3	100.4
	28	通过	0.098	0.00	6.1	2.2	94.6	3.2	31.6	101.3
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 6.8	t=0	通过	0.099	0.00	6.8	2.2	96.4	1.3	31.9	100.0
	7	通过	0.097	0.00	6.8	2.1	95.9	2.0	32.2	100.7
	14	通过	0.099	0.00	6.8	2.4	95.1	2.5	32.0	100.4
	21	通过	0.102	0.00	6.8	2.6	94.7	2.8	31.9	100.0
	28	通过	0.101	0.00	6.9	2.8	93.9	3.3	32.2	100.9

[0367] 表19:缓冲液和pH对在45℃下孵育28天的100mg/mL H1H17161P的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC和RP-UPLC结果

[0368]

缓冲液 /pH	天	目测	在 405 nm 下 的 OD	Δ OD	pH	% HMW	%天然	% LMW	蛋白质浓 度 (mg/mL)	回收率%
10mM 组 氨酸 pH 5.2	t=0	通过	0.104	0.00	5.3	1.9	96.6	1.5	31.1	100%
	7	通过	0.100	0.00	5.4	1.4	96.4	2.3	31.3	101%
	14	通过	0.102	0.00	5.4	1.4	95.7	2.9	31.1	100%
	21	通过	0.103	0.00	5.4	1.5	95.3	3.2	31.2	100%
	28	通过	0.108	0.00	5.5	1.5	94.7	3.8	31.3	101%
10mM 组 氨酸 pH 6.0	t=0	通过	0.107	0.00	6.1	2.3	96.3	1.5	32.1	100%
	7	通过	0.106	0.00	6.1	1.7	96.3	2.1	32.6	102%
	14	通过	0.112	0.01	6.1	1.7	95.6	2.7	32.1	100%
	21	通过	0.106	0.00	6.2	1.8	95.4	2.8	32.4	101%
	28	通过	0.108	0.00	6.2	1.9	94.9	3.3	32.6	101%
10mM 组 氨酸 pH 6.8	t=0	通过	0.106	0.00	7.0	2.8	95.8	1.5	31.1	100%
	7	通过	0.108	0.00	7.0	2.2	95.7	2.1	31.4	101%
	14	通过	0.109	0.00	7.0	2.4	94.8	2.7	31.0	100%
	21	通过	0.109	0.00	7.0	2.6	94.5	2.9	31.4	101%
	28	通过	0.108	0.00	7.1	2.8	93.7	3.5	31.4	101%
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 5.2	t=0	通过	0.112	0.00	5.2	2.2	96.3	1.5	30.0	100%
	7	通过	0.117	0.01	5.2	1.9	95.7	2.4	30.3	101%
	14	通过	0.111	0.00	5.2	2.2	94.6	3.3	30.2	101%
	21	通过	0.110	0.00	5.3	2.4	94.0	3.6	30.2	101%
	28	通过	0.110	0.00	5.2	2.6	93.1	4.3	30.3	101%
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 6.0	t=0	通过	0.120	0.00	6.0	3.1	95.5	1.5	31.6	100%
	7	通过	0.122	0.00	6.0	2.8	95.1	2.1	31.9	101%
	14	通过	0.119	0.00	6.0	3.1	94.3	2.6	31.9	101%
	21	通过	0.118	0.00	6.0	3.3	93.9	2.8	32.0	101%
	28	通过	0.116	0.00	6.0	3.6	93.2	3.3	31.9	101%
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 6.8	t=0	通过	0.123	0.00	6.8	4.0	94.6	1.5	31.9	100%
	7	通过	0.123	0.00	6.9	3.8	94.1	2.1	32.3	102%
	14	通过	0.125	0.00	6.8	4.3	93.1	2.7	31.9	100%
[0369]	21	通过	0.123	0.00	6.9	4.6	92.5	2.9	32.2	101%
	28	通过	0.121	0.00	6.9	4.9	91.6	3.4	32.1	101%

[0370] 表20:缓冲液和pH对在45℃下孵育28天的100mg/mL总H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC和RP-UPLC结果

[0371]

缓冲液 /pH	天	目测	在 405 nm 下 的 OD	Δ OD	pH	% HMW	%天然	% LMW	蛋白质浓 度 (mg/mL)	回收率%
10mM 组 氨酸 pH 5.2	t=0	通过	0.168	0.00	5.5	1.3	97.3	1.4	95.2	100%
	7	通过	0.168	0.00	5.5	2.3	95.7	2	94.1	99%
	14	通过	0.175	0.01	5.5	3.2	94.0	2.8	93.2	98%
	21	通过	0.176	0.01	5.5	4.2	92.9	2.9	94.7	99%
	28	通过	0.181	0.01	5.6	4.8	91.9	3.4	94.9	100%
10mM 组 氨酸 pH 6.0	t=0	通过	0.177	0.00	6.2	1.7	97.0	1.4	98.2	100%
	7	通过	0.177	0.00	6.3	2.3	95.8	1.9	96.9	99%
	14	通过	0.183	0.01	6.2	2.9	94.6	2.5	94.4	96%
	21	通过	0.190	0.01	6.3	3.4	94.	2.6	95.6	97%
	28	通过	0.193	0.02	6.3	3.8	93.2	3	97.8	100%
10mM 组 氨酸 pH 6.8	t=0	通过	0.180	0.00	7.1	2.1	96.4	1.6	95.9	100%
	7	通过	0.186	0.01	7.2	3.3	94.8	1.9	95.2	99%
	14	通过	0.194	0.01	7.1	4.1	93.3	2.6	92.6	97%
	21	通过	0.196	0.02	7.1	4.8	92.4	2.7	92.9	97%
	28	通过	0.199	0.02	7.1	5.4	91.3	3.3	95.7	100%
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 5.2	t=0	通过	0.189	0.00	5.4	1.7	96.9	1.3	94.7	100%
	7	通过	0.219	0.03	5.4	7.6	90.4	2	94.2	99%
	14	通过	0.362	0.17	5.4	14	83.3	2.7	91.1	96%
	21	失败	0.737	0.55	5.4	17.7	79.3	2.9	92.9	98%
	28	通过	1.267	1.08	5.4	NA	NA	NA	NA	NA
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 6.0	t=0	通过	0.201	0.00	6.2	2.3	96.4	1.3	93.3	100%
	7	通过	0.201	0.00	6.2	3.6	94.6	1.9	93.0	100%
	14	通过	0.208	0.01	6.2	4.7	92.9	2.5	92.8	99%
	21	通过	0.220	0.02	6.2	5.7	91.8	2.5	92.6	99%
	28	通过	0.226	0.03	6.2	6.6	90.4	3	94.5	101%
10mM 柠 檬 酸 盐 pH 6.8	t=0	通过	0.212	0.00	6.9	3	95.7	1.3	96.1	100%
	7	通过	0.213	0.00	6.9	4.4	93.7	1.9	95.7	100%
	14	通过	0.225	0.01	6.9	5.6	91.8	2.6	95.5	99%
	21	通过	0.224	0.01	6.9	6.5	90.9	2.6	95.7	100%
	28	通过	0.234	0.02	6.9	7.4	89.5	3.2	96.4	100%

[0372] 表21:总H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合制剂的MFI结果

[0373]

	2-10 μm	$\geq 2\mu\text{m}$	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$
样品	浓度(＃/ml)	浓度(＃/ml)	浓度(＃/ml)	浓度(＃/ml)
10 mM 组氨酸 pH 5.2 t=0	468	507	40	2
10 mM 组氨酸 pH 6.0 t=0	557	570	13	0
10 mM 组氨酸 pH 6.8 t=0	607	641	33	6
10 mM 柠檬酸盐 pH 5.2 t=0	973	1017	44	6
10 mM 柠檬酸盐 pH 6.0 t=0	741	770	29	10
10 mM 柠檬酸盐 pH 6.8 t=0	710	802	92	21
10 mM 组氨酸 pH 5.2 在 45C 下 t=28d	1380	1439	58	2
10 mM 组氨酸 pH 6.0 在 45C 下 t=28d	1396	1463	67	8
10 mM 组氨酸 pH 6.8 在 45C 下 t=28d	1959	2024	65	6
10 mM 柠檬酸盐 pH 5.2 在 45C 下 t=28d	50767	57378	6611	582
10 mM 柠檬酸盐 pH 6.0 在 45C 下 t=28d	1326	1359	33	0
10 mM 柠檬酸盐 pH 6.8 在 45C 下 t=28d	1508	1600	92	10

[0374] 基于CEX-UPLC分析的结果,当抗体在组氨酸缓冲液中配制为pH 5.2和6.8之间或者在乙酸盐缓冲液中配制为pH 5.2和6.8之间时,观察到最大蛋白质稳定性。这些分析还揭示了聚集(即HMW种类的形成)、分裂(即LMW种类的形成)和电荷变体的形成是主要的降解途径。选择组氨酸缓冲液作为制剂缓冲液,因为就HMW和LMW种类的形成以及电荷变体的形成而言,它提供了最佳的总体蛋白质稳定水平。选择pH为6.0的制剂,因为在此pH下使作为主要降解途径的HMW种类和电荷变体的形成最小化。基于这些结果,选择pH 6.0的10mM组氨酸缓冲液用于抗EBOV个别和组合制剂。参见表22-25。

[0375] 表22:缓冲液和pH对在45℃下孵育28天的100mg/mL H1H17203P的稳定性的影响-CEX-UPLC结果

[0376]

配制	应激	天	H1H17203P		
10mM 组氨酸 pH 5.2	45°C		%酸性	%主峰	%碱性
		0	34.7	52.2	13.1
		7	37.1	45.8	17.1
		14	41.9	39.9	18.2
		21	45.4	35.1	19.5
		28	48.9	32.4	18.7
10mM 组氨酸 pH 6.0	45°C	0	35.2	51.9	12.9
		7	39.2	49.3	11.6
		14	45.0	44.4	10.6
		21	49.9	39.9	10.1
		28	54.0	36.3	9.8
10mM 组氨酸 pH 6.8	45°C	0	35.6	51.5	13.0
		7	44.2	47.1	8.8
		14	53.3	40.1	6.7
		21	60.2	33.9	6.0
		28	65.6	29.0	5.5
10mM 柠檬酸盐 pH 5.2	45°C	0	34.5	52.4	13.2
		7	37.3	40.7	22.0
		14	33.4	25.6	41.1
		21	47.7	27.3	25.1
		28	NP	NP	NP
10mM 柠檬酸盐 pH 6.0	45°C	0	34.8	52.0	13.2
		7	41.7	49.9	8.5
		14	48.5	43.0	8.5
		21	53.7	37.5	8.8
		28	58.1	33.2	8.7
10mM 柠檬酸盐 pH 6.8	45°C	0	34.8	51.6	13.6
		7	44.0	48.5	7.5
		14	52.3	41.0	6.7
		21	58.6	34.6	6.7
		28	63.6	29.9	6.6

[0377] 由于目测失败,柠檬酸盐 (pH 5.2) 28d样品未在UPLC仪器上运行

[0378] 表23:缓冲液和pH对在45°C下孵育28天的100mg/mL H1H17139P的稳定性的影响-CEX-UPLC结果

[0379]

配制	应激	天	H1H17139P		
10mM 组氨酸	45°C		%酸性	%主峰	%碱性
		0	36.9	58.8	4.3

[0380]

pH 5.2		7	40.8	53.3	5.9
		14	51.6	44.0	4.5
		21	51.6	41.4	7.1
		28	55.6	37.3	7.1
		0	37.3	58.5	4.3
10mM 组氨酸 pH 6.0	45°C	7	40.9	54.2	4.8
		14	48.6	46.3	5.1
		21	50.9	44.5	4.7
		28	55.2	40.4	4.4
		0	37.5	58.2	4.3
10mM 组氨酸 pH 6.8	45°C	7	44.8	51.3	4.0
		14	51.2	41.8	7.0
		21	58.9	38.0	3.1
		28	64.4	32.9	2.8
		0	36.8	58.7	4.5
10mM 柠檬酸盐 pH 5.2	45°C	7	44.0	49.3	6.7
		14	52.5	44.0	3.5
		21	57.7	35.3	7.0
		28	62.6	30.7	6.8
		0	36.7	58.6	4.6
10mM 柠檬酸盐 pH 6.0	45°C	7	41.8	52.8	5.4
		14	46.2	49.0	4.8
		21	53.9	41.2	4.9
		28	58.7	36.8	4.5
		0	36.8	58.2	5.1
10mM 柠檬酸盐 pH 6.8	45°C	7	43.9	51.2	4.9
		14	46.4	47.0	6.6
		21	57.7	38.1	4.1
		28	63.0	33.3	3.7
		0	36.8	58.2	5.1

[0381] 表24:缓冲液和pH对在45°C下孵育28天的100mg/mL H1H17161P的稳定性的影响-CEX-UPLC结果

[0382]

配制	应激	天	H1H17161P		
10mM 组氨酸 pH 5.2	45°C		%酸性	%主峰	%碱性
		0	52.0	42.0	6.0
		7	59.4	35.4	5.2
		14	72.8	22.4	4.9
		21	73.0	21.7	5.3
		28	73.1	21.3	5.7
10mM 组氨酸 pH 6.0	45°C	0	52.0	42.2	5.9
		7	59.4	36.1	4.5
		14	72.1	23.7	4.2

[0383]

10mM 组氨酸 pH 6.8	45°C	21	75.7	20.1	4.2
		28	74.8	20.9	4.3
		0	52.1	41.9	6.0
		7	65.2	30.2	4.5
		14	78.5	17.5	4.0
	45°C	21	83.2	13.1	3.7
		28	84.6	11.8	3.7
		0	51.7	42.4	5.9
		7	69.2	25.5	5.3
		14	71.2	23.0	5.9
		21	81.4	13.4	5.2
		28	78.7	15.5	5.8
	45°C	0	51.5	42.3	6.1
		7	58.8	35.9	5.3
		14	69.8	24.9	5.3
		21	78.6	16.4	5.0
		28	74.6	19.9	5.5
10mM 柠檬酸盐 pH 6.8	45°C	0	52.2	41.3	6.4
		7	63.2	31.8	5.0
		14	74.5	19.8	5.7
		21	85.3	9.7	5.0
		28	80.2	13.8	6.0

[0384] 表25:缓冲液和pH对在45°C下孵育28天的100mg/mL总H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P组合的稳定性的影响-CEX-UPLC结果

[0385]

配制	天	H1H17139P			H1H17203P			H1H17161P		
		% 酸性	% 主峰	% 碱性	% 酸性	% 主峰	% 碱性	% 酸性	% 主峰	% 碱性
10mM 组氨酸 pH 5.2	0	36.2	61.1	2.6	31.5	47.1	21.4	41.7	54.3	4.0
	7	41.5	54.2	4.4	38.3	45.6	16.1	55.2	39.1	5.7
	14	47.1	47.8	5.2	42.0	39.5	18.5	65.1	28.8	6.1
	21	51.9	42.5	5.6	45.2	34.9	19.9	70.4	23.4	6.2
	28	55.8	38.5	5.7	47.6	32.0	20.4	67.6	25.0	7.3
10mM 组氨酸 pH 6.0	0	36.6	60.8	2.6	31.9	46.8	21.2	44.0	51.4	4.5
	7	41.5	54.7	3.7	38.8	47.2	14.0	56.5	38.7	4.8
	14	46.7	49.2	4.1	43.0	41.7	15.3	69.3	25.8	4.9
	21	51.7	44.2	4.1	46.8	37.1	16.1	73.3	21.9	4.8
	28	55.1	40.5	4.3	49.5	34.0	16.5	70.7	24.5	4.8
10mM 组氨酸 pH 6.8	0	37.1	60.4	2.5	32.4	46.2	21.4	42.7	52.8	4.5
	7	46.5	50.9	2.6	43.3	43.2	13.6	63.0	31.8	5.2
	14	54.9	42.6	2.5	50.0	34.8	15.2	76.7	18.5	4.8
	21	61.7	36.0	2.3	57.8	30.0	12.2	89.1	7.3	3.6

[0386]		28	65.9	31.9	2.2	57.2	25.3	17.4	83.2	12.5	4.4
	10mM 柠檬酸 盐 pH 5.2	0	36.2	61.0	2.8	31.9	47.4	20.7	42.9	52.6	4.6
		7	43.8	51.7	4.5	40.1	43.8	16.1	55.9	37.9	6.2
		14	50.9	43.8	5.2	44.7	35.9	19.4	77.0	15.8	7.2
		21	57.1	37.5	5.5	54.0	34.0	12.0	82.8	11.8	5.4
		28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	10mM 柠檬酸 盐 pH 6.0	0	36.4	60.9	2.6	37.1	54.6	8.3	53.0	43.3	3.7
		7	42.0	54.2	3.8	39.4	46.9	13.8	54.3	40.0	5.7
		14	47.9	48.0	4.1	44.0	40.8	15.2	60.3	34.0	5.6
		21	53.2	42.3	4.5	52.1	38.6	9.3	81.5	14.0	4.5
		28	57.7	38.6	3.7	50.8	31.3	17.9	69.1	24.9	6.0
	10mM 柠檬酸 盐 pH 6.8	0	37.2	60.0	2.8	37.4	53.3	9.3	52.8	42.0	5.3
		7	44.3	52.9	2.8	41.8	45.4	12.8	57.8	36.2	6.0
		14	51.8	45.5	2.7	47.5	38.2	14.3	66.0	27.5	6.5
		21	58.0	39.5	2.5	54.5	33.8	11.7	78.7	16.6	4.7
		28	62.6	35.0	2.4	55.4	28.4	16.3	76.1	17.6	6.2

[0387] 实施例7:在应激条件下稳定剂的选择

[0388] 从实施例6中,pH 6.0和10mM L-组氨酸被确定为用于单独配制的抗体和100mg/mL三元共制剂的最佳缓冲系统。在本实施例中评估了附加赋形剂诸如热稳定剂、表面活性剂和抗氧化剂对强制降解和稳定性的影响。稳定剂诸如蔗糖、表面活性剂、脯氨酸或甲硫氨酸通常被添加到抗体制剂中,以增加液体制剂中蛋白质的热稳定性。当用5%w/v蔗糖和0.1%w/v聚山梨醇酯80或0.1%聚山梨醇酯20配制时,单独配制或组合配制在液体制剂中的抗EBOV抗体在加速条件下表现出改善的稳定性,并且在涡旋应激下表现出相当的稳定性结果。(表27-32)。表26提供了表16-21的赋形剂变量和各自的制剂。基础制剂含有33.3mg/mL抗EBOV抗体、5%w/v蔗糖和10mM组氨酸。

[0389] 表26:测试的赋形剂和制剂组分

[0390]	配制	缓冲液 pH	额 外 蔗 糖%W/V	表面活性剂 PS20 %W/V	表面活性剂 PS80 %W/V	精 氨 酸, mM	脯 氨 酸 , mM	甲 硫 氨 酸, mM
	F1	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	0.0%	0.00%	0.00%	0	0	0
	F2	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	5.0%	0.10%	0.00%	0	0	20
	F3	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	5.0%	0.00%	0.00%	0	0	0
	F4	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	0.0%	0.00%	0.10%	0	0	20
	F5	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	5.0%	0.10%	0.00%	100	0	0
	F6	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	0.0%	0.10%	0.00%	100	0	20
	F7	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	0.0%	0.00%	0.10%	100	0	0
	F8	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	5.0%	0.00%	0.00%	100	0	20
	F9	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	5.0%	0.00%	0.10%	0	200	0
	F10	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	0.0%	0.10%	0.00%	0	200	0
	F11	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	0.0%	0.00%	0.00%	0	200	20

[0391]	配制	缓冲液 pH	额 外 蔗 糖%W/V	表面活性剂 PS20 %W/V	表面活性剂 PS80 %W/V	精 氨 酸, mM	脯 氨 酸 , mM	甲 硫 氨 酸, mM
	F12	10 mM L-组氨酸 pH 6.0	5.0%	0.00%	0.10%	0	200	20

[0392] 表27:赋形剂对在40℃下孵育长达两个月的33mg/mL H1H17203P抗体的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC、RP-UPLC浓度、CEX-UPLC

[0393]

配制	样品	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL	%酸性	%主峰	%碱性
F1	t=0	0	0.087	6.1	1.0	98.1	0.9	34.9	33.57	54.25	12.19
	VTX 120 分钟	0	0.086	6.1	1.0	98.1	0.9	34.7	33.44	54.28	12.26
	F/T 8 次循环	0	0.090	6.1	1.0	98.2	0.9	33.4	33.47	54.5	12.03
	40°C 8 天	0	0.087	6.2	0.9	97.9	1.3	33.4	35.36	53.43	11.22
	40°C 14 天	0	0.088	6.0	0.9	97.6	1.5	33.3	37.3	51.88	10.81
	40°C 28 天	0	0.092	6.1	1.0	97.1	1.9	33.8	43.52	46.39	10.09
	40°C 2 个月	0	0.093	6.1	1.3	95.6	3.1	34.5	53.22	37.88	8.9
F2	t=0	0	0.089	6.1	0.9	98.2	0.9	34.6	33.56	54.22	12.21
	VTX 120 分钟	0	0.091	6.1	0.9	98.2	0.9	34.3	33.46	54.33	12.21
	F/T 8 次循环	0	0.089	6.0	0.9	98.2	0.9	33.6	33.49	54.43	12.08
	40°C 8 天	0	0.089	6.1	0.8	98.0	1.2	33.7	35.19	53.66	11.16
	40°C 14 天	0	0.090	6.0	0.8	97.7	1.5	33.7	37.14	52.06	10.8
	40°C 28 天	0	0.091	6.1	0.9	97.1	1.9	33.7	43.38	46.39	10.23
	40°C 2 个月	0	0.094	6.0	1.2	95.7	3.1	34.6	52.95	38.02	9.03
F3	t=0	0	0.087	6.1	0.9	98.2	0.9	33.9	33.46	54.56	11.97
	VTX 120 分钟	0	0.086	6.1	1.0	98.1	0.9	33.8	33.38	54.63	12
	F/T 8 次循环	0	0.091	6.0	0.9	98.2	0.9	33.0	33.41	54.5	12.08
	40°C 8 天	0	0.087	6.1	0.8	98.0	1.2	32.9	35.15	53.59	11.27
	40°C 14 天	0	0.087	6.0	0.8	97.8	1.4	32.7	37.07	52.09	10.84
	40°C 28 天	0	0.089	6.1	0.9	97.2	1.9	33.1	43.25	46.52	10.22
	40°C 2 个月	0	0.092	6.1	1.2	95.8	3.1	34.0	52.67	38.19	9.14
F4	t=0	0	0.088	6.	0.9	98.2	0.9	33.6	33.57	54.61	11.82

[0394]

				1							
	VTX 120 分钟	0	0.089	6.1	0.9	98.2	1.0	33.4	33.45	54.55	12.01
	F/T 8 次循环	0	0.089	6.0	0.9	98.2	0.9	32.9	33.43	54.4	12.18
	40°C 8 天	0	0.089	6.1	0.8	98.0	1.2	32.6	35.29	53.64	11.06
	40°C 14 天	0	0.088	6.1	0.8	97.7	1.5	32.6	37.35	52.02	10.63
	40°C 28 天	0	0.090	6.1	0.9	97.1	1.9	33.1	43.71	46.4	9.88
	40°C 2 个月	0	0.094	6.1	1.2	95.7	3.1	34.4	53.4	37.85	8.76
F5	t=0	0	0.098	6.1	0.9	98.2	0.9	33.3	33.23	54.61	12.16
	VTX 120 分钟	0	0.098	6.1	0.9	98.2	0.9	33.4	33.01	54.87	12.13
	F/T 8 次循环	0	0.099	6.1	0.9	98.2	0.9	33.0	33.12	54.53	12.36
	40°C 8 天	0	0.098	6.1	0.8	98.0	1.2	32.9	33.5	54.31	12.21
	40°C 14 天	0	0.098	6.1	0.9	97.6	1.5	33.0	34.66	53.21	12.13
	40°C 28 天	0	0.100	6.1	1.2	96.9	2.0	33.1	40.01	48.03	11.95
	40°C 2 个月	0	0.101	6.1	1.8	95.1	3.1	34.2	48.34	41.07	10.59
F6	t=0	0	0.098	6.1	0.9	98.2	0.9	32.6	33.21	54.7	12.08
	VTX 120 分钟	0	0.098	6.1	0.8	98.2	0.9	32.5	33.15	54.67	12.18
	F/T 8 次循环	0	0.100	6.1	0.9	98.2	0.9	32.0	33.23	54.5	12.27
	40°C 8 天	0	0.099	6.1	0.9	97.9	1.2	31.8	33.61	54.42	11.97
	40°C 14 天	0	0.097	6.1	1.0	97.6	1.5	32.0	34.91	53.31	11.77
	40°C 28 天	0	0.099	6.1	1.3	96.8	2.0	32.1	40.39	48.17	11.45
	40°C 2 个月	0	0.100	6.1	2.0	95.0	3.1	33.1	48.96	41.05	9.99
F7	t=0	0	0.099	6.1	0.9	98.1	1.0	33.1	33.3	54.63	12.07
	VTX 120 分钟	0	0.102	6.1	0.9	98.2	1.0	33.3	33.13	54.53	12.33
	F/T 8 次循环	0	0.100	6.1	0.9	98.2	1.0	33.0	33.27	54.49	12.23
	40°C 8 天	0	0.099	6.1	0.9	97.9	1.3	33.1	33.64	54.23	12.13
	40°C 14 天	0	0.098	6.1	0.9	97.6	1.5	32.7	35.05	52.89	12.06
	40°C 28 天	0	0.100	6.	1.2	96.9	1.9	32.9	40.34	48.1	11.57

[0395]

				1							
	40°C 2 个月	0	0.103	6.1	1.8	95.1	3.1	33.9	48.94	40.76	10.29
F8	t=0	0	0.097	6.1	0.9	98.2	0.9	34.4	33.36	54.61	12.03
	VTX 120 分钟	0	0.101	6.1	1.0	98.1	0.9	34.0	33.09	54.58	12.34
	F/T 8 次循环	0	0.098	6.1	0.9	98.2	0.9	33.5	33.21	54.47	12.33
	40°C 8 天	0	0.097	6.1	0.8	98.0	1.3	33.5	33.52	54.38	12.1
	40°C 14 天	0	0.098	6.1	0.8	97.8	1.5	33.3	34.92	53.05	12.05
	40°C 28 天	0	0.100	6.1	0.9	97.2	2.0	33.4	40.11	48.22	11.67
	40°C 2 个月	0	0.102	6.1	1.2	95.8	3.1	34.5	48.51	41.2	10.29
F9	t=0	0	0.089	6.1	0.9	98.2	0.9	34.6	33.6	54.38	12.01
	VTX 120 分钟	0	0.091	6.1	0.9	98.2	1.0	34.8	33.61	54.3	12.1
	F/T 8 次循环	0	0.090	6.0	0.9	98.2	0.9	34.1	33.64	54.07	12.29
	40°C 8 天	0	0.090	6.1	0.7	98.1	1.2	34.0	35.24	53.74	11.02
	40°C 14 天	0	0.091	6.1	0.7	97.8	1.4	33.6	37.17	52.17	10.67
	40°C 28 天	0	0.091	6.1	0.8	97.3	1.9	34.0	43.32	46.82	9.85
	40°C 2 个月	0	0.096	6.1	1.0	95.9	3.1	35.2	52.79	38.64	8.57
F10	t=0	0	0.088	6.1	0.9	98.2	0.9	33.1	33.47	54.48	12.05
	VTX 120 分钟	0	0.092	6.1	0.9	98.2	0.9	33.3	33.47	54.22	12.31
	F/T 8 次循环	0	0.090	6.1	0.9	98.2	0.9	32.9	33.64	54.22	12.14
	40°C 8 天	0	0.090	6.1	0.8	98.0	1.2	33.1	35.4	53.71	10.89
	40°C 14 天	0	0.090	6.1	0.8	97.8	1.4	32.4	37.37	52.15	10.47
	40°C 28 天	0	0.090	6.1	0.9	97.1	2.0	32.9	43.57	46.76	9.65
	40°C 2 个月	0	0.093	6.1	1.2	95.7	3.1	34.2	53.03	38.64	8.33
F11	t=0	0	0.087	6.1	0.9	98.2	0.9	33.3	33.51	54.53	11.98
	VTX 120 分钟	0	0.088	6.1	0.9	98.2	0.9	33.6	33.48	54.66	11.87
	F/T 8 次循环	0	0.088	6.1	0.9	98.2	0.9	32.7	33.75	54.16	12.08
	40°C 8 天	0	0.088	6.	0.7	98.1	1.2	32.4	35.31	53.79	10.9

[0396]

				1							
	40°C 14 天	0	0.090	6.1	0.7	97.9	1.4	32.6	37.4	52.26	10.34
	40°C 28 天	0	0.090	6.1	0.8	97.3	2.0	32.6	43.56	46.89	9.56
	40°C 2 个月	0	0.094	6.1	0.9	96.0	3.1	34.0	53.08	38.74	8.16
F12	t=0	1	0.087	6.1	0.9	98.2	1.0	33.5	33.48	54.38	12.14
	VTX 120 分钟	1	0.088	6.1	0.9	98.2	0.9	33.6	33.49	54.56	11.95
	F/T 8 次循环	0	0.089	6.0	0.9	98.2	0.9	32.8	33.72	54.22	12.06
	40°C 8 天	0	0.089	6.1	0.7	98.1	1.2	32.5	35.29	53.69	11.02
	40°C 14 天	0	0.090	6.1	0.7	97.9	1.4	32.7	37.14	52.24	10.62
	40°C 28 天	0	0.091	6.1	0.8	97.3	1.9	32.9	43.38	46.9	9.73
	40°C 2 个月	0	0.095	6.1	0.9	96.0	3.1	34.1	52.74	38.78	8.47

[0397] 表28: 赋形剂对在40°C下孵育长达两个月的33mg/mL H1H17139P抗体的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC、RP-UPLC浓度、CEX-UPLC

[0398]

配制	样品	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL	%酸性	%主峰	%碱性
F1	t=0	0	0.084	6.1	0.7	98.2	1.1	31.1	36.5	60.0	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.082	6.1	0.7	98.2	1.1	31.5	36.4	59.9	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.083	6.0	0.7	98.1	1.1	31.1	36.7	59.6	3.7
	40°C 8 天	0	0.083	6.1	0.6	97.9	1.4	31.3	38.4	57.2	4.3
	40°C 14 天	0	0.083	6.1	0.7	97.7	1.6	31.6	39.6	56.2	4.2
	40°C 28 天	0	0.083	6.2	0.7	97.2	2.1	31.9	43.9	51.8	4.3
	40°C 2 个月	0	0.089	6.1	0.9	95.8	3.3	31.8	52.4	43.9	3.8
F2	t=0	0	0.086	6.1	0.7	98.2	1.2	32.5	36.5	60.0	3.5
	VTX 120 分钟	0	0.085	6.1	0.7	98.2	1.1	32.5	36.5	59.8	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.085	6.0	0.7	98.2	1.1	32.4	36.8	59.5	3.7
	40°C 8 天	0	0.086	6.1	0.6	98.0	1.4	32.3	38.5	57.2	4.3
	40°C 14 天	0	0.086	6.0	0.6	97.8	1.6	32.4	39.5	56.3	4.2
	40°C 28 天	0	0.086	6.	0.6	97.2	2.2	32.7	43.8	51.9	4.3

[0399]

				1							
	40°C 2 个月	0	0.092	6.0	0.7	96.0	3.3	32.9	52.3	44.0	3.7
F3	t=0	0	0.085	6.1	0.7	98.1	1.1	32.4	36.4	60.0	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.086	6.1	0.7	98.2	1.1	32.7	36.4	59.9	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.084	6.0	0.7	98.1	1.1	32.3	36.8	59.5	3.8
	40°C 8 天	0	0.083	6.1	0.6	98.0	1.4	32.3	38.4	57.3	4.3
	40°C 14 天	0	0.084	6.0	0.6	97.7	1.6	32.2	39.3	56.4	4.2
	40°C 28 天	0	0.084	6.1	0.7	97.2	2.1	32.9	43.6	52.1	4.3
	40°C 2 个月	0	0.090	6.0	0.8	95.9	3.3	32.8	52.4	43.7	4.0
F4	t=0	0	0.086	6.1	0.7	98.2	1.1	32.7	36.5	60.0	3.6
	VTX 120 分钟	1	0.087	6.1	0.7	98.2	1.1	32.9	36.5	59.9	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.088	6.0	0.7	98.2	1.1	32.8	36.8	59.4	3.8
	40°C 8 天	0	0.088	6.1	0.6	98.0	1.4	32.4	38.5	57.3	4.2
	40°C 14 天	0	0.087	6.1	0.6	97.8	1.6	32.9	39.6	56.3	4.2
	40°C 28 天	0	0.087	6.1	0.7	97.2	2.1	33.2	43.9	52.0	4.2
	40°C 2 个月	0	0.092	6.1	0.8	96.0	3.3	33.4	52.8	43.4	3.8
F5	t=0	0	0.094	6.1	0.7	98.2	1.2	32.2	36.1	60.2	3.7
	VTX 120 分钟	0	0.094	6.1	0.7	98.2	1.2	32.3	36.1	60.1	3.8
	F/T 8 次循环	0	0.094	6.1	0.7	98.2	1.1	32.0	36.4	59.7	3.9
	40°C 8 天	0	0.094	6.1	0.6	98.0	1.5	31.9	37.2	58.1	4.8
	40°C 14 天	0	0.092	6.1	0.6	97.8	1.7	32.2	37.8	57.5	4.7
	40°C 28 天	0	0.093	6.1	0.7	97.2	2.2	32.5	41.4	53.5	5.1
	40°C 2 个月	0	0.095	6.1	0.8	95.9	3.3	33.0	48.6	46.3	5.1
F6	t=0	0	0.095	6.1	0.7	98.2	1.2	31.6	36.1	60.3	3.7
	VTX 120 分钟	0	0.094	6.1	0.7	98.2	1.2	31.9	36.2	60.0	3.8
	F/T 8 次循环	0	0.096	6.1	0.7	98.2	1.2	31.5	36.3	59.8	3.9
	40°C 8 天	0	0.096	6.	0.6	98.0	1.5	31.6	37.3	58.1	4.6

[0400]

				1							
	40°C 14 天	0	0.095	6.1	0.6	97.8	1.7	31.8	38.2	57.3	4.5
	40°C 28 天	0	0.093	6.1	0.6	97.2	2.2	32.0	41.7	53.4	4.9
	40°C 2 个月	0	0.097	6.1	0.7	96.0	3.3	32.6	49.4	46.0	4.7
F7	t=0	0	0.095	6.1	0.7	98.1	1.2	32.1	36.1	60.3	3.7
	VTX 120 分钟	0	0.096	6.1	0.7	98.1	1.2	32.5	36.1	60.1	3.8
	F/T 8 次循环	0	0.097	6.1	0.7	98.1	1.2	32.0	36.4	59.7	3.9
	40°C 8 天	0	0.098	6.1	0.6	98.0	1.5	32.5	37.3	58.0	4.7
	40°C 14 天	0	0.095	6.1	0.6	97.7	1.6	32.3	37.9	57.4	4.7
	40°C 28 天	0	0.096	6.1	0.7	97.2	2.1	32.6	41.6	53.4	5.0
	40°C 2 个月	0	0.096	6.1	0.8	95.8	3.4	33.1	49.1	46.1	4.9
F8	t=0	0	0.093	6.1	0.7	98.2	1.1	32.7	36.1	60.2	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.100	6.1	0.7	98.2	1.2	32.6	36.1	60.2	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.097	6.1	0.7	98.2	1.2	32.6	36.4	59.7	3.9
	40°C 8 天	0	0.098	6.1	0.6	98.0	1.5	32.6	37.2	58.2	4.7
	40°C 14 天	0	0.095	6.1	0.6	97.8	1.7	32.9	38.1	57.3	4.6
	40°C 28 天	0	0.101	6.1	0.6	97.3	2.1	33.0	41.4	53.6	5.0
	40°C 2 个月	0	0.096	6.1	0.6	96.1	3.3	33.4	48.9	46.2	4.9
F9	t=0	0	0.086	6.1	0.7	98.1	1.2	32.9	36.5	59.9	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.087	6.1	0.7	98.2	1.2	32.8	36.6	59.7	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.087	6.1	0.7	98.2	1.1	32.7	36.8	59.4	3.8
	40°C 8 天	0	0.090	6.1	0.5	98.0	1.5	32.6	38.4	57.2	4.3
	40°C 14 天	0	0.088	6.1	0.6	97.9	1.6	33.1	39.6	56.3	4.2
	40°C 28 天	0	0.090	6.1	0.6	97.3	2.1	33.2	43.9	51.8	4.4
	40°C 2 个月	0	0.092	6.1	0.7	96.1	3.2	33.6	52.1	43.9	3.9
F10	t=0	1	0.087	6.1	0.7	98.2	1.1	33.0	36.5	59.9	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.089	6.1	0.7	98.2	1.1	33.5	36.6	59.7	3.7

[0401]

F11	F/T 8 次循环	0	0.088	6.1	0.7	98.2	1.1	33.1	36.8	59.4	3.8
	40°C 8 天	0	0.090	6.1	0.6	98.0	1.4	33.0	38.1	58.0	4.0
	40°C 14 天	0	0.088	6.1	0.6	97.8	1.6	33.1	39.7	56.1	4.2
	40°C 28 天	0	0.090	6.1	0.6	97.3	2.1	33.6	44.1	51.7	4.2
	40°C 2 个月	0	0.093	6.1	0.7	96.0	3.3	34.2	52.6	43.7	3.8
	t=0	0	0.084	6.1	0.7	98.2	1.1	31.8	36.6	59.8	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.085	6.1	0.7	98.2	1.1	32.2	36.6	59.7	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.085	6.1	0.7	98.2	1.1	31.9	36.9	59.3	3.8
	40°C 8 天	0	0.088	6.1	0.5	98.1	1.4	31.6	38.2	57.8	4.0
	40°C 14 天	0	0.085	6.1	0.5	97.9	1.6	32.0	39.6	56.3	4.1
	40°C 28 天	0	0.088	6.1	0.6	97.3	2.1	32.3	44.1	51.8	4.1
	40°C 2 个月	0	0.093	6.1	0.6	96.1	3.3	32.7	52.5	43.8	3.7
	t=0	0	0.086	6.1	0.7	98.2	1.2	33.1	36.6	59.7	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.086	6.1	0.7	98.2	1.1	33.4	36.7	59.6	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.089	6.1	0.7	98.2	1.2	33.0	37.0	59.2	3.8
	40°C 8 天	0	0.089	6.1	0.5	98.1	1.4	32.8	38.1	57.9	4.1
	40°C 14 天	0	0.086	6.1	0.5	97.9	1.6	33.0	39.7	56.2	4.2
	40°C 28 天	0	0.900	6.1	0.6	97.3	2.1	33.3	43.9	51.9	4.2
	40°C 2 个月	0	0.095	6.1	0.6	96.1	3.3	33.8	52.3	44.0	3.7

[0402] 表29:赋形剂对在40°C下孵育长达两个月的33mg/mL H1H17161P抗体的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC、RP-UPLC浓度、CEX-UPLC

[0403]

配制	样品	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HM W	% 天然	%LM W	浓度 , mg/mL	% 酸性	% 主峰	% 碱性
F1	t=0	0	0.109	6.1	1.6	97.2	1.2	34	53.5	42.6	4.0
	VTX 120 分钟	0	0.109	6.1	1.6	97.2	1.2	34	54.1	42.2	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.108	6.0	1.7	97.2	1.2	34	54.3	42.2	3.5
	40°C 8 天	0	0.105	6.0	1.4	97.1	1.5	34	57.4	38.8	3.9
	40°C 14 天	0	0.107	6.0	1.4	96.9	1.7	34	59.6	36.4	3.9
	40°C 28 天	0	0.109	6.1	1.6	96.1	2.3	34	63.5	31.2	5.3

[0404]

	40°C 2 个月	0	0.112	6.2	1.7	95.0	3.3	33	74.3	22.4	3.3
F2	t=0	0	0.111	6.1	1.6	97.2	1.2	33	53.1	43.0	4.0
	VTX 120 分钟	0	0.100	6.1	1.6	97.2	1.3	33	53.7	42.8	3.5
	F/T 8 次循环	0	0.112	6.0	1.6	97.2	1.2	34	53.5	42.9	3.6
	40°C 8 天	0	0.106	6.0	1.3	97.2	1.5	34	55.5	40.5	4.0
	40°C 14 天	0	0.110	6.0	1.3	97.0	1.7	34	57.5	38.4	4.1
	40°C 28 天	0	0.110	6.1	1.4	96.3	2.3	34	59.9	34.7	5.5
	40°C 2 个月	0	0.114	6.1	1.5	95.2	3.3	33	69.7	26.5	3.8
F3	t=0	0	0.110	6.1	1.6	97.2	1.2	34	53.5	42.7	3.9
	VTX 120 分钟	0	0.109	6.1	1.8	96.9	1.3	33	54.0	42.3	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.109	6.0	1.6	97.1	1.2	34	54.3	42.3	3.4
	40°C 8 天	0	0.105	6.0	1.3	97.1	1.5	34	57.2	39.0	3.8
	40°C 14 天	0	0.107	6.0	1.4	96.9	1.7	34	59.8	36.2	4.1
	40°C 28 天	0	0.109	6.1	1.5	96.2	2.3	34	63.2	31.7	5.2
	40°C 2 个月	0	0.111	6.1	1.6	95.1	3.3	33	74.0	22.9	3.1
F4	t=0	0	0.110	6.1	1.6	97.2	1.3	34	53.3	43.3	3.4
	VTX 120 分钟	0	0.109	6.1	1.6	97.1	1.3	34	53.5	42.9	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.113	6.1	1.6	97.2	1.2	34	53.9	42.5	3.6
	40°C 8 天	0	0.106	6.0	1.3	97.2	1.5	34	55.5	40.6	3.9
	40°C 14 天	0	0.113	6.0	1.4	96.9	1.7	34	57.8	38.2	4.0
	40°C 28 天	0	0.110	6.1	1.4	96.3	2.3	34	60.0	34.8	5.3
	40°C 2 个月	0	0.114	6.1	1.6	95.1	3.4	33	70.2	26.4	3.4
F5	t=0	0	0.121	6.1	1.6	97.2	1.2	33	53.6	43.0	3.5
	VTX 120 分钟	0	0.122	6.1	1.6	97.1	1.3	34	53.9	42.4	3.7
	F/T 8 次循环	0	0.124	6.1	1.6	97.2	1.2	34	54.3	41.9	3.8
	40°C 8 天	0	0.114	6.1	1.4	97.1	1.6	34	56.0	39.8	4.2
	40°C 14 天	0	0.118	6.1	1.5	96.8	1.8	34	59.0	36.6	4.5
	40°C 28 天	0	0.116	6.2	1.5	96.1	2.4	34	61.9	32.5	5.6
	40°C 2 个月	0	0.117	6.1	1.7	95.0	3.4	33	72.6	23.9	3.5
F6	t=0	0	0.121	6.1	1.6	97.2	1.2	33	53.0	43.1	3.8
	VTX 120 分钟	0	0.121	6.1	1.6	97.1	1.3	33	53.1	43.1	3.8
	F/T 8 次循环	0	0.123	6.1	1.6	97.2	1.2	33	53.3	42.8	3.9

[0405]

	40°C 8 天	0	0.117	6.1	1.4	97.1	1.6	34	53.8	41.9	4.3
	40°C 14 天	0	0.121	6.1	1.4	96.8	1.8	33	56.2	39.2	4.6
	40°C 28 天	0	0.118	6.2	1.5	96.1	2.4	33	57.1	36.8	6.1
	40°C 2 个月	0	0.119	6.1	1.6	95.0	3.4	33	66.1	30.0	3.9
F7	t=0	0	0.121	6.1	1.6	97.1	1.3	34	53.7	42.6	3.7
	VTX 120 分钟	0	0.122	6.1	1.6	97.0	1.4	34	53.9	42.3	3.9
	F/T 8 次循环	0	0.123	6.1	1.6	97.2	1.2	34	54.1	42.2	3.7
	40°C 8 天	0	0.115	6.1	1.5	97.0	1.6	34	56.3	39.5	4.2
	40°C 14 天	0	0.120	6.1	1.5	96.7	1.8	34	59.1	36.4	4.6
	40°C 28 天	0	0.117	6.2	1.6	96.0	2.4	34	63.2	31.1	5.7
	40°C 2 个月	0	0.119	6.1	1.7	94.9	3.4	33	73.7	22.5	3.9
F8	t=0	0	0.120	6.1	1.6	97.2	1.2	33	53.3	43.2	3.5
	VTX 120 分钟	0	0.120	6.1	2.5	96.1	1.3	33	53.1	43.1	3.8
	F/T 8 次循环	0	0.121	6.1	1.6	97.2	1.2	34	52.9	43.1	4.0
	40°C 8 天	0	0.117	6.1	1.4	97.1	1.5	34	53.8	41.9	4.3
	40°C 14 天	0	0.119	6.1	1.4	96.8	1.8	34	55.8	39.5	4.7
	40°C 28 天	0	0.115	6.2	1.5	96.2	2.3	34	56.6	37.5	6.0
	40°C 2 个月	0	0.117	6.1	1.5	95.1	3.4	33	65.4	30.4	4.3
F9	t=0	0	0.112	6.1	1.6	97.2	1.3	33	53.9	42.5	3.6
	VTX 120 分钟	0	0.112	6.1	1.6	97.2	1.3	33	54.2	42.2	3.6
	F/T 8 次循环	0	0.114	6.1	1.6	97.2	1.2	34	54.4	42.0	3.6
	40°C 8 天	0	0.107	6.1	1.2	97.3	1.5	34	57.1	39.1	3.8
	40°C 14 天	0	0.114	6.0	1.3	97.0	1.8	34	59.9	36.0	4.1
	40°C 28 天	0	0.110	6.2	1.3	96.4	2.3	34	63.0	31.5	5.6
	40°C 2 个月	0	0.114	6.1	1.4	95.2	3.4	33	73.5	23.1	3.4
F10	t=0	0	0.113	6.1	1.6	97.2	1.2	33	54.2	42.8	3.1
	VTX 120 分钟	0.112	0.000	FD G	1.6	97.2	1.2	33	54.3	42.3	3.5
	F/T 8 次循环	0.114	0.001	FD G	1.6	97.2	1.2	33	54.5	42.0	3.6
	40°C 8 天	0	0.112	6.1	1.3	97.2	1.6	34	57.1	39.1	3.7
	40°C 14 天	0	0.111	6.1	1.3	97.0	1.7	33	59.9	36.0	4.1
	40°C 28 天	0	0.111	6.2	1.4	96.3	2.4	34	62.9	31.7	5.4
	40°C 2 个月	0	0.115	6.1	1.5	95.2	3.4	33	73.0	23.7	3.3
F11	t=0	0	0.110	6.1	1.6	97.2	1.3	33	53.6	43.1	3.4

[0406]

F12	VTX 120 分钟	0	0.112	6.1	1.7	97.1	1.2	33	53.6	42.8	3.6
	F/T 8 次循环	0	0.111	6.1	1.6	97.3	1.2	34	53.6	42.8	3.6
	40°C 8 天	0	0.107	6.1	1.2	97.2	1.5	34	55.6	40.6	3.8
	40°C 14 天	0	0.112	6.1	1.3	97.0	1.7	34	57.9	38.0	4.1
	40°C 28 天	0	0.114	6.1	1.3	96.4	2.3	34	59.7	34.9	5.4
	40°C 2 个月	0	0.118	6.1	1.4	95.3	3.3	33	69.5	27.1	3.5
	t=0	0	0.114	6.1	1.6	97.1	1.3	34	53.8	42.8	3.4
	VTX 120 分钟	0	0.114	6.1	1.5	97.2	1.3	34	53.8	42.6	3.6
	F/T 8 次循环	0	0.113	6.1	1.6	97.2	1.2	34	53.8	42.7	3.6
	40°C 8 天	0	0.109	6.1	1.2	97.3	1.5	34	55.5	40.7	3.8
	40°C 14 天	0	0.113	6.0	1.2	97.0	1.7	34	57.9	37.9	4.2
	40°C 28 天	0	0.113	6.1	1.3	96.4	2.4	34	60.0	34.4	5.7
	40°C 2 个月	0	0.120	6.1	1.4	95.3	3.3	33	69.4	26.8	3.8

[0407] 表30:赋形剂对在40°C下孵育长达两个月的100mg/mL H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体(比率为1:1:1)的稳定性的影响-目测、OD、pH、SE-UPLC、RP-UPLC浓度

[0408]

配制	样品	目测	在405 nm 下的 OD	OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL
F1	t=0	0	0.178	0.00	6.1	1.24	97.70	1.06	99
	120 分钟	0	0.175	0.00	6.1	1.76	96.83	1.41	100
	8 次循环	0	0.176	0.00	6.1	1.95	96.41	1.64	99
	40°C 8 天	0	0.176	0.00	6.1	2.29	95.56	2.16	98
	40°C 14 天	0	0.179	0.00	6.1	2.91	93.82	3.27	99
	40°C 28 天	0	0.189	0.01	6.1	4.01	91.58	4.41	103
	40°C 2 个月	0	0.191	0.01	6.1	1.32	97.63	1.04	98
	40°C 3 个月	0	0.203	0.02	6.3	1.25	97.68	1.07	99
	轻度应激对照	0	0.177	0.00	6.1	1.43	97.19	1.39	98
	轻度应激	0	0.178	0.00	6.1	5.56	93.21	1.24	99
	轻度应激极限	0	0.286	0.11	6.1	21.67	76.26	2.07	98
F2	t=0	0	0.177	0.00	6.1	1.15	97.79	1.06	97

[0409]

	120 分钟	0	0.179	0.00	6.1	1.52	97.08	1.41	98
	8 次循环	0	0.177	0.00	6.1	1.68	96.67	1.65	97
	40°C 8 天	0	0.175	0.00	6.1	1.96	95.88	2.16	97
	40°C 14 天	0	0.180	0.00	6.1	2.47	94.24	3.30	97
	40°C 28 天	0	0.185	0.01	6.1	3.33	92.34	4.33	102
	40°C 2 个月	0	0.193	0.02	6.1	1.14	97.81	1.04	97
	40°C 3 个月	0	0.203	0.03	6.2	1.17	97.76	1.08	97
F3	t=0	0	0.173	0.00	6.1	1.21	97.71	1.08	97
	120 分钟	0	0.174	0.00	6.1	1.64	96.97	1.40	101
	8 次循环	0	0.181	0.01	6.1	1.81	96.57	1.63	98
	40°C 8 天	0	0.171	0.00	6.1	2.11	95.74	2.15	97
	40°C 14 天	0	0.178	0.00	6.1	2.65	94.13	3.23	97
	40°C 28 天	0	0.185	0.01	6.1	3.37	92.40	4.23	102
	40°C 2 个月	0	0.188	0.02	6.1	1.30	97.62	1.08	97
	40°C 3 个月	0	0.203	0.03	6.3	1.22	97.70	1.08	100
F4	t=0	0	0.180	0.00	6.1	1.18	97.75	1.08	97
	120 分钟	0	0.182	0.00	6.1	1.57	97.04	1.38	97
	8 次循环	0	0.178	0.00	6.1	1.76	96.62	1.62	97
	40°C 8 天	0	0.172	0.00	6.1	2.09	95.76	2.15	98
	40°C 14 天	0	0.179	0.00	6.1	2.68	94.07	3.24	99
	40°C 28 天	0	0.187	0.01	6.1	3.48	92.26	4.26	104
	40°C 2 个月	0	0.194	0.01	6.1	1.17	97.77	1.07	99
	40°C 3 个月	0	0.205	0.02	6.3	1.19	97.73	1.08	98
	轻度应激对照	0	0.178	0.00	6.1	1.27	97.47	1.26	98
	轻度应激	0	0.178	0.00	6.1	4.60	94.18	1.22	98
	轻度应激极限	0	0.233	0.05	6.1	17.01	81.07	1.92	97
F5	t=0	0	0.194	0.00	6.1	1.12	97.78	1.10	96
	120 分钟	0	0.196	0.00	6.1	1.30	97.26	1.44	96
	8 次循环	0	0.198	0.00	6.1	1.43	96.89	1.68	96
	40°C 8 天	0	0.187	0.00	6.1	1.65	96.14	2.22	98

[0410]

	40°C 14天	0	0.190	0.00	6.1	2.07	94.59	3.34	97
	40°C 28天	0	0.195	0.00	6.1	2.88	92.77	4.35	102
	40°C 2个月	0	0.198	0.00	6.1	1.11	97.79	1.10	96
	40°C 3个月	0	0.204	0.01	6.3	1.13	97.78	1.10	97
F6	t=0	0	0.197	0.00	6.1	1.10	97.82	1.07	96
	120分钟	0	0.197	0.00	6.2	1.31	97.25	1.44	96
	8次循环	0	0.200	0.00	6.1	1.44	96.86	1.70	96
	40°C 8天	0	0.191	0.00	6.1	1.69	96.09	2.22	96
	40°C 14天	0	0.195	0.00	6.1	2.28	94.37	3.35	96
	40°C 28天	0	0.200	0.00	6.2	3.02	92.66	4.32	102
	40°C 2个月	0	0.199	0.00	6.1	1.10	97.78	1.13	96
	40°C 3个月	0	0.208	0.01	6.3	1.12	97.77	1.11	96
F7	t=0	0	0.198	0	6.13	1.13	97.82	1.05	95
	120分钟	0	0.196	0	6.14	1.38	97.19	1.43	97
	8次循环	0	0.209	0.011	6.13	1.53	96.79	1.69	96
	40°C 8天	0	0.189	0	6.09	1.75	96.04	2.22	98
	40°C 14天	0	0.1917	0	6.08	2.26	94.41	3.34	97
	40°C 28天	0	0.1973	0	6.15	3.38	92.08	4.54	104
	40°C 2个月	0	0.1994	0.0014	6.15	1.14	97.79	1.08	97
	40°C 3个月	0	0.2086	0.0106	6.28	1.14	97.76	1.09	97
	轻度应激对照	0	0.1977	0	6.12	1.15	97.56	1.28	98
	轻度应激	0	0.2001	0.0021	6.11	4.87	93.85	1.28	98
	轻度应激极限	0	0.287	0.089	6.11	17.14	80.69	2.17	97
	t=0	0	0.191	0.00	6.1	1.10	97.84	1.06	97
F8	120分钟	0	0.192	0.00	6.1	1.24	97.33	1.44	96
	8次循环	0	0.195	0.00	6.1	1.32	97.00	1.67	96
	40°C 8天	0	0.184	0.00	6.1	1.49	96.29	2.22	97
	40°C 14天	0	0.189	0.00	6.1	1.85	94.82	3.32	97
	40°C 28天	0	0.198	0.01	6.2	2.35	93.33	4.32	102

[0411]

	40°C 2 个月	0	0.194	0.00	6.2	1.26	97.69	1.06	97
	40°C 3 个月	0	0.204	0.01	6.3	1.11	97.79	1.10	101
F9	t=0	0	0.177	0	6.11	1.15	97.77	1.09	97
	120 分钟	0	0.18	0.003	6.11	1.38	97.25	1.38	97
	8 次循环	0	0.181	0.004	6.1	1.51	96.87	1.63	96
	40°C 8 天	0	0.177	0	6.08	1.71	96.12	2.17	97
	40°C 14 天	0	0.1813	0.0043	6.08	2.09	94.63	3.28	97
	40°C 28 天	0	0.187	0.01	6.13	2.63	93.08	4.29	103
	40°C 2 个月	0	0.1914	0.0144	6.11	1.12	97.84	1.03	97
	40°C 3 个月	0	0.1987	0.0217	6.23	1.15	97.78	1.08	98
	轻度应激对照	0	0.1776	0.0006	6.12	1.19	97.56	1.26	99
	轻度应激	0	0.1777	0.0007	6.12	4.15	94.59	1.26	98
	轻度应激极限	0	0.2888	0.1118	6.11	15.33	82.28	2.39	99
F10	t=0	0	0.18	0	6.11	1.17	97.77	1.07	96
	120 分钟	0	0.179	0	6.12	1.45	97.13	1.41	96
	8 次循环	0	0.184	0.004	6.1	1.59	96.76	1.65	96
	40°C 8 天	0	0.177	0	6.08	1.83	95.99	2.19	97
	40°C 14 天	0	0.1812	0.0012	6.09	2.28	94.43	3.30	96
	40°C 28 天	0	0.1892	0.0092	6.143	2.95	92.76	4.28	102
	40°C 2 个月	0	0.1873	0.0073	6.11	1.15	97.81	1.04	96
	40°C 3 个月	0	0.1982	0.0182	6.23	1.17	97.76	1.07	97
F11	t=0	0	0.177	0	6.12	1.13	97.79	1.08	100
	120 分钟	0	0.178	0.001	6.12	1.34	97.25	1.40	97
	8 次循环	0	0.18	0.003	6.1	1.46	96.90	1.65	97
	40°C 8 天	0	0.177	0	6.09	1.67	96.16	2.18	96
	40°C 14 天	0	0.1807	0.0037	6.08	2.02	94.66	3.31	97
	40°C 28 天	0	0.1897	0.0127	6.14	2.48	93.26	4.26	102
	40°C 2 个月	0	0.1886	0.0116	6.13	1.20	97.75	1.04	97
	40°C 3 个月	0	0.1934	0.0164	6.24	1.15	97.80	1.06	101

[0412]

F12	t=0	0	0.178	0	6.1	1.13	97.78	1.10	99
	120 分钟	0	0.178	0	6.11	1.30	97.30	1.40	96
	8 次循环	0	0.181	0.003	6.09	1.40	96.96	1.64	97
	40°C 8 天	0	0.176	0	6.07	1.59	96.25	2.16	98
	40°C 14 天	0	0.1815	0.0035	6.07	1.92	94.82	3.26	97
	40°C 28 天	0	0.1895	0.0115	6.1	2.35	93.42	4.24	102
	40°C 2 个月	0	0.1955	0.0175	6.11	1.10	97.86	1.04	97
	40°C 3 个月	0	0.2008	0.0228	6.22	1.12	97.78	1.10	98
	轻度应激对照	0	0.1786	0.0006	6.12	1.13	97.60	1.26	99
	轻度应激	0	0.179	0.001	6.11	3.37	95.38	1.26	98
	轻度应激极限	0	0.241	0.063	6.12	11.99	85.85	2.16	99

[0413] 表31:赋形剂对在40°C下孵育长达两个月的100mg/mL H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体(比率为1:1:1)的稳定性的影响-CEX-UPLC

[0414]

配制	样品	H1H17139P			H1H17203P			H1H17161P		
		%酸性	%主峰	%碱性	%酸性	%主峰	%碱性	%酸性	%主峰	%碱性
F1	t=0	36.1	61.2	2.7	31.9	47.6	20.6	41.2	49.9	8.9
	120 分钟	36.0	61.3	2.7	31.8	47.8	20.4	40.9	49.5	9.7
	8 次循环	36.2	61.1	2.7	31.8	47.7	20.5	40.3	49.8	9.8
	40°C 8 天	38.2	58.6	3.3	33.9	46.8	19.3	46.1	44.1	9.9
	40°C 14 天	39.9	56.6	3.5	35.9	45.3	18.8	48.4	42.2	9.4
	40°C 28 天	44.8	51.3	3.9	39.6	41.1	19.3	56.8	37.0	6.2
	40°C 2 个月	54.5	42.0	3.5	46.7	32.6	20.7	68.5	27.6	3.8
	40°C 3 个月	62.2	32.8	5.0	54.2	27.0	18.8	78.3	16.9	4.8
F2	t=0	36.2	61.1	2.7	31.7	47.8	20.5	40.6	50.2	9.1
	120 分钟	36.0	61.4	2.6	31.6	48.1	20.3	41.2	51.2	7.6
	8 次循环	36.3	61.1	2.7	31.8	47.8	20.4	39.6	49.6	10.7
	40°C 8 天	38.1	58.6	3.3	33.6	46.9	19.4	42.2	46.7	11.1
	40°C 14 天	39.8	56.7	3.5	35.4	45.6	19.0	44.9	45.1	10.0
	40°C 28 天	44.9	51.1	4.0	39.3	41.2	19.5	56.7	36.8	6.4
	40°C 2 个月	54.2	42.3	3.5	46.1	32.6	21.3	62.9	32.7	4.4
	40°C 3 个月	61.5	33.9	4.7	54.5	28.3	17.2	71.3	23.5	5.2
F3	t=0	36.1	61.2	2.7	31.7	47.8	20.5	41.4	50.2	8.4
	120 分钟	36.0	61.4	2.6	31.6	48.1	20.3	41.2	50.4	8.4
	8 次循环	36.2	61.2	2.6	31.8	47.8	20.4	40.3	49.6	10.0
	40°C 8 天	38.1	58.7	3.3	33.6	46.9	19.4	44.8	45.5	9.6
	40°C 14 天	39.6	56.8	3.6	35.4	45.6	19.0	47.4	42.5	10.1

[0415]

[0415]		40°C 28 天	44.5	51.5	4.0	39.3	41.2	19.5	56.6	37.3	6.1
		40°C 2 个月	53.9	42.5	3.6	46.1	32.6	21.3	67.8	27.8	4.5
		40°C 3 个月	61.6	34.9	3.5	54.5	28.3	17.2	77.8	17.7	4.4
	F4	t=0	36.2	61.1	2.7	31.9	47.8	20.3	40.5	50.7	8.8
		120 分钟	35.9	61.5	2.6	31.7	48.2	20.1	40.2	51.5	8.3
		8 次循环	36.2	61.1	2.7	31.8	47.9	20.3	39.2	50.8	10.0
		40°C 8 天	38.1	58.6	3.4	33.8	47.1	19.1	42.6	47.8	9.6
		40°C 14 天	40.0	56.6	3.5	35.7	45.9	18.4	44.9	45.6	9.6
		40°C 28 天	45.1	51.1	3.8	40.0	41.1	18.9	53.0	40.4	6.6
		40°C 2 个月	54.6	42.1	3.4	47.3	32.7	20.0	63.9	32.2	3.9
		40°C 3 个月	61.5	34.0	4.6	54.7	28.4	16.9	72.6	23.0	4.4
	F5	t=0	35.9	61.4	2.7	31.5	48.0	20.5	41.5	50.7	7.9
		120 分钟	35.7	61.8	2.5	31.2	48.5	20.2	41.6	50.1	8.3
		8 次循环	35.9	61.5	2.7	31.4	48.1	20.5	40.3	50.1	9.6
		40°C 8 天	36.8	59.8	3.3	32.4	48.0	19.6	45.2	46.5	8.3
		40°C 14 天	38.4	57.7	3.8	34.0	46.4	19.6	46.6	42.1	11.3
		40°C 28 天	42.4	53.3	4.3	37.1	43.0	19.9	55.9	37.5	6.5
		40°C 2 个月	50.5	45.7	3.8	43.7	36.0	20.3	68.8	27.3	3.9
		40°C 3 个月	56.9	38.2	4.9	51.0	32.3	16.7	76.8	17.9	5.4
	F6	t=0	36.0	61.2	2.8	31.7	47.8	20.5	40.3	50.2	9.6
		120 分钟	36.2	60.9	2.9	31.6	47.8	20.6	39.1	50.5	10.4
		8 次循环	35.8	61.4	2.8	31.5	48.0	20.4	39.2	50.5	10.3
		40°C 8 天	37.0	59.6	3.4	32.7	47.9	19.4	41.7	48.4	9.9
		40°C 14 天	38.8	57.5	3.8	34.3	46.7	19.0	43.0	45.7	11.3
		40°C 28 天	42.7	53.2	4.1	37.6	43.2	19.1	50.3	42.8	6.9
		40°C 2 个月	51.2	45.1	3.7	44.7	36.1	19.2	60.1	35.4	4.5
		40°C 3 个月	57.5	37.8	4.7	52.1	32.5	15.5	68.3	26.4	5.4
	F7	t=0	36.0	61.2	2.8	31.6	47.8	20.5	41.0	49.4	9.6
		120 分钟	36.1	61.2	2.8	31.6	47.8	20.7	40.0	50.2	9.9
		8 次循环	35.9	61.3	2.7	31.5	48.1	20.4	40.1	49.6	10.3
		40°C 8 天	37.1	59.4	3.5	32.8	47.6	19.5	44.9	44.8	10.3
		40°C 14 天	38.8	57.4	3.8	34.3	46.5	19.2	47.2	42.8	10.1
		40°C 28 天	42.8	53.0	4.1	37.5	43.0	19.5	56.3	37.3	6.4
		40°C 2 个月	51.2	45.1	3.7	44.8	36.2	19.0	69.5	27.1	3.4
		40°C 3 个月									
	F8	t=0	35.8	61.5	2.7	31.5	48.0	20.5	40.5	51.5	8.0
		120 分钟	36.0	61.2	2.7	31.6	47.9	20.6	39.5	50.9	9.7
		8 次循环	35.7	61.8	2.5	31.3	48.7	19.9	40.2	49.9	10.0
		40°C 8 天	36.9	59.6	3.5	32.7	47.6	19.7	41.5	48.0	10.5
		40°C 14 天	38.7	57.5	3.9	34.3	46.5	19.2	43.2	45.7	11.1
		40°C 28 天	42.6	53.3	4.2	37.4	43.1	19.5	50.4	42.9	6.7
		40°C 2 个月	50.8	45.5	3.7	44.3	36.0	19.7	60.1	35.7	4.2
		40°C 3 个月	57.8	37.3	4.9	52.1	32.1	15.9	68.8	25.8	5.4

[0416]

F9	t=0	36.2	61.1	2.7	31.9	47.8	20.2	41.3	49.7	9.0
	120 分钟	36.4	60.9	2.7	31.9	47.7	20.5	40.0	50.2	9.9
	8 次循环	36.1	61.3	2.7	31.8	47.9	20.3	39.2	51.0	9.9
	40°C 8 天	37.9	58.8	3.3	33.6	47.3	19.1	44.9	45.8	9.3
	40°C 14 天	40.0	56.3	3.7	35.7	45.5	18.8	46.8	42.2	11.0
	40°C 28 天	44.7	51.3	4.0	39.5	41.5	19.0	56.3	37.9	5.8
	40°C 2 个月	53.8	42.6	3.6	46.2	33.3	20.5	67.7	28.9	3.3
	40°C 3 个月	60.8	34.4	4.9	54.3	29.2	16.5	76.9	18.2	4.9
F10	t=0	36.0	61.5	2.5	31.9	47.7	20.4	41.1	50.5	8.4
	120 分钟	36.4	60.9	2.7	31.9	47.8	20.3	40.1	50.8	9.1
	8 次循环	36.2	61.2	2.6	31.8	48.0	20.2	39.1	51.1	9.8
	40°C 8 天	37.9	58.8	3.3	33.8	47.2	18.9	44.8	46.0	9.2
	40°C 14 天	40.2	56.4	3.5	35.8	45.6	18.7	46.3	42.0	11.6
	40°C 28 天	44.9	51.1	3.9	39.7	41.7	18.6	56.9	37.5	5.6
	40°C 2 个月	54.2	42.4	3.4	46.6	33.2	20.2	67.5	29.2	3.3
	40°C 3 个月	60.9	34.6	4.5	53.9	29.0	17.1	75.8	19.5	4.7
F11	t=0	36.0	61.5	2.5	31.7	48.4	20.0	41.0	51.8	7.2
	120 分钟	36.4	60.9	2.7	31.8	47.8	20.4	39.9	50.5	9.6
	8 次循环	36.2	61.2	2.6	31.7	48.1	20.2	38.9	50.8	10.3
	40°C 8 天	37.9	58.8	3.3	33.8	47.3	18.9	42.4	47.5	10.1
	40°C 14 天	40.2	56.4	3.5	35.7	45.8	18.5	44.2	44.8	10.9
	40°C 28 天	44.9	51.1	3.9	39.8	41.7	18.5	52.5	41.6	5.9
	40°C 2 个月	54.2	42.4	3.4	45.0	32.1	22.9	59.7	36.2	4.1
	40°C 3 个月	60.9	34.6	4.5	54.5	29.4	16.1	72.0	24.3	3.7
F12	t=0	36.1	61.3	2.6	31.9	48.1	20.0	40.8	51.5	7.7
	120 分钟	36.1	61.2	2.7	31.8	47.8	20.4	39.5	49.5	11.0
	8 次循环	36.1	61.2	2.7	31.8	47.9	20.3	38.4	50.8	10.8
	40°C 8 天	38.2	58.4	3.4	33.8	47.3	19.0	42.6	47.0	10.3
	40°C 14 天	40.0	56.4	3.6	35.6	45.9	18.5	44.1	45.4	10.4
	40°C 28 天	44.7	51.3	4.0	39.6	41.7	18.7	52.4	41.7	5.9
	40°C 2 个月	53.9	42.6	3.5	44.2	32.0	23.8	58.9	36.6	4.6
	40°C 3 个月	60.2	35.1	4.7	53.2	29.4	17.4	71.3	25.1	3.5

[0417] 表32:赋形剂对在40°C下孵育长达两个月的100mg/mL H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗体(比率为1:1:1)的稳定性的影响-MFI结果

[0418]

		2-10 μm	$\geq 2\mu\text{m}$	$\geq 10\mu\text{m}$	$\geq 25 \mu\text{m}$
样品	应激条件	浓度(#/ml)	浓度(#/ml)	浓度(#/ml)	浓度(#/ml)
F1	t=0	1127	1150	23	0
F2		4778	1044	79	13
F3		4112	4201	90	6
F4		1459	1509	50	10
F5		649	695	46	8

[0419]	F6		831	929	98	27
	F7		1136	1249	113	13
	F8		2311	2414	102	13
	F9		632	655	23	0
	F10		990	1028	38	4
	F11		1845	1931	86	4
	F12		678	722	44	4
	F1	VTX	4778	4995	217	31
	F2		2461	2544	83	8
	F3		3003	3064	61	0
	F4		2497	2553	56	6
	F5		1744	1771	27	0
	F6		4427	4540	113	8
	F7		2734	2797	63	13
	F8		3874	4066	192	21
	F9		1697	1730	33	4
	F10		1876	1926	50	4
	F11		2464	2530	67	6
	F12		1104	1154	50	8
	F1	F/T	6406	6657	250	42
	F2		2011	2074	63	6
	F3		2572	2616	44	17
	F4		2864	2960	96	25
	F5		1354	1396	42	2
	F6		4141	4379	238	23
	F7		3905	3982	77	4
	F8		3377	3471	94	4
	F9		1965	1996	31	2
	F10		1746	1792	46	2
	F11		5040	5134	94	6
	F12		1304	1323	19	2

[0420] 实施例8: 针对搅拌应激选择有机助溶剂

[0421] 稳定剂诸如表面活性剂和有机助溶剂经常被添加到抗体制剂中, 以保护蛋白质免受搅拌诱导的聚集。在液体制剂中检查有机助溶剂和表面活性剂对33.3mg/mL单个抗EBOV抗体和100mg/mL三种抗体共同配制的混合物(比率为1:1:1)的搅拌应激稳定性和热稳定性的影响。前述实施例将聚山梨醇酯80确定为关键的赋形剂组分。本实施例在250rpm下回转振荡48小时引起的搅拌应激下评估不同的按%w/v计的聚山梨醇酯80。参见表33-40。基础制剂含有33.3mg/mL单一抗体(或在共同制剂中100mg/mL总抗体)、10mM组氨酸(pH 6.0)、5%w/v蔗糖以及0.04%至0.2%聚山梨醇酯80, 如图所示。与具有 $\geq 0.04\%$ w/v PS80的制剂相比, 不含表面活性剂的制剂在搅拌应激下不太稳定。此外, 在含有 $\geq 0.04\%$ w/v聚山梨醇酯80的制剂中, MFI和SE-UPLC结果没有显著差异。

[0422] 表33: 聚山梨醇酯80对含有H1H17203P抗EBOV的制剂中的搅拌应激的影响-目测、OD、

pH、%HMW、%天然、%LMW和PS80%w/v浓度

[0423]

基础制剂 +	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL
0.04% w/v PS80	t=0	0	0.087	6.1	1.3	97.7	1.0	33.9
	OB 250 rpm 48hr	0	0.088	6.0	1.2	97.8	1.0	34.5
0.08% w/v PS80	t=0	0	0.087	6.0	1.3	97.7	1.0	33.8
	OB 250 rpm 48hr	0	0.087	6.0	1.2	97.8	1.0	34.8
0.12% w/v PS80	t=0	0	0.086	6.0	1.9	97.0	1.1	33.4
	OB 250 rpm 48hr	0	0.086	6.0	1.8	97.2	1.1	33.8
0.20% w/v PS80	t=0	0	0.087	6.0	1.3	97.6	1.1	33.3
	OB 250 rpm 48hr	0	0.087	6.0	1.2	97.8	1.1	34.2
0.00% w/v PS80	t=0	0	0.086	6.0	2.4	96.7	1.0	32.5
	OB 250 rpm 48hr	2	0.365	6.0	55.2	44.1	0.7	32.6

[0424] 表34:聚山梨酯80对含有H1H17139P抗EBOV的制剂中的搅拌应激的影响-目测、OD、pH、%HMW、%天然、%LMW和PS80%w/v浓度

[0425]

基础制剂 +	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL
0.04% w/v PS80	t=0	0	0.084	6.0	0.9	97.8	1.2	32.4
	OB 250 rpm 48hr	0	0.083	6.0	0.8	97.9	1.2	32.6
0.08% w/v PS80	t=0	0	0.083	6.0	0.9	97.8	1.2	32.4
	OB 250 rpm 48hr	0	0.082	6.0	0.8	97.9	1.2	32.5
0.12% w/v PS80	t=0	0	0.084	6.0	0.9	97.8	1.2	32.5
	OB 250 rpm 48hr	0	0.083	6.0	0.8	97.9	1.2	32.8
0.20% w/v PS80	t=0	0	0.084	6.0	0.9	97.8	1.3	32.7
	OB 250 rpm 48hr	0	0.082	6.0	0.8	97.9	1.3	32.9
0.00% w/v PS80	t=0	0	0.090	6.0	1.6	97.3	1.1	32.3
	OB 250 rpm 48hr	0	0.086	6.0	3.3	95.6	1.1	32.0

[0426] 表35:聚山梨酯80对含有H1H17161P抗EBOV的制剂中的搅拌应激的影响-目测、OD、pH、%HMW、%天然、%LMW和PS80%w/v浓度

[0427]

基础制剂+	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL
0.04% w/v PS80	t=0	0	0.114	6.0	1.9	96.8	1.3	33
	OB 250 rpm 48hr	0	0.111	6.1	1.8	96.9	1.3	33
0.08% w/v PS80	t=0	0	0.112	6.0	1.9	96.8	1.3	33
	OB 250 rpm 48hr	0	0.111	6.1	1.8	97.0	1.3	33
0.12% w/v PS80	t=0	0	0.110	6.0	1.9	96.8	1.3	33
	OB 250 rpm 48hr	0	0.110	6.0	1.8	97.0	1.3	34
0.20% w/v PS80	t=0	0	0.106	6.0	1.9	96.8	1.3	33
	OB 250 rpm 48hr	0	0.111	6.1	1.8	96.9	1.3	33
0.00% w/v PS80	t=0	0	0.111	6.0	1.9	96.9	1.2	33
	OB 250 rpm 48hr	0	0.112	6.0	10.7	88.2	1.1	33

[0428] 表36:聚山梨酯80对含有H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗EBOV的制剂中的搅拌应激的影响-目测、OD、pH、%HMW、%天然、%LMW和PS80%w/v浓度

[0429]

配制	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL	PS 80 %w/v
F1	t=0	0	0.182	6.1	1.6	97.3	1.2	98	0.058
	OB 250 rpm 48hr	0	0.188	6.1	1.6	97.3	1.1	98	0.059
F2	t=0	0	0.180	6.1	1.6	97.3	1.1	97	0.095
	OB 250 rpm 48hr	0	0.180	6.1	1.6	97.3	1.1	98	0.095
F3	t=0	0	0.175	6.1	1.8	97.1	1.1	93	0.13
	OB 250 rpm 48hr	0	0.176	6.1	1.7	97.2	1.1	93	0.129
F4	t=0	0	0.179	6.1	1.6	97.3	1.1	97	0.207
	OB 250 rpm 48hr	0	0.182	6.1	1.6	97.3	1.1	97	0.207
F5	t=0	0	0.191	6.1	2.1	96.9	1.1	99	
	OB 250 rpm 48hr	0	0.178	6.0	8.8	90.2	1.0	98	

[0430] 表37:聚山梨醇酯80对含有H1H17203P抗EBOV的制剂中的搅拌应激的影响-MFI结果

[0431]

基础制剂+	应激	10-300 $\mu\text{m}(\#/\text{mL})$	25-300 $\mu\text{m}(\#/\text{mL})$
0.04% w/v PS80	t=0	405.12	10.44
	OB 250 rpm	513.71	20.88

[0432]

		48hr		
0.08% PS80	w/v	t=0	279.82	4.18
		OB 250 rpm 48hr	743.41	31.32
0.12% PS80	w/v	t=0	281.91	12.53
		OB 250 rpm 48hr	1150.62	18.79
0.20% PS80	w/v	t=0	524.15	12.53
		OB 250 rpm 48hr	657.45	8.35
0.00% PS80	w/v	t=0	389.9	22.94
		OB 250 rpm 48hr	1524.14	129.27

[0433] 表38: 聚山梨醇酯80对含有H1H17139P抗EB0V的制剂中的搅拌应激的影响-MFI结果

[0434]

基础制剂+	应激	10-300 $\mu\text{m}(\#/\text{mL})$	25-300 $\mu\text{m}(\#/\text{mL})$
0.04% PS80	w/v	t=0	1675.63
		OB 250 rpm 48hr	421.82
0.08% PS80	w/v	t=0	208.82
		OB 250 rpm 48hr	355
0.12% PS80	w/v	t=0	402.82
		OB 250 rpm 48hr	1002.87
0.20% PS80	w/v	t=0	421.82
		OB 250 rpm 48hr	1423.56
0.00% PS80	w/v	t=0	98
		OB 250 rpm 48hr	369.24

[0435] 表39: 聚山梨醇酯80对含有H1H17161P抗EB0V的制剂中的搅拌应激的影响-MFI结果

[0436]

基础制剂+	应激	10-300 $\mu\text{m}(\#/\text{mL})$	25-300 $\mu\text{m}(\#/\text{mL})$
0.04% PS80	w/v	t=0	17
		OB 250 rpm 48hr	2
0.08% PS80	w/v	t=0	6
		OB 250 rpm 48hr	25
0.12% PS80	w/v	t=0	8
		OB 250 rpm 48hr	17
0.20% PS80	w/v	t=0	33
		OB 250 rpm	10

[0437]	0.00% w/v PS80	48hr		
		t=0	15	2
		OB 250 rpm 48hr	8	4

[0438] 表40:聚山梨醇酯80对含有H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗EBOV的制剂中的搅拌应激的影响-MFI结果

[0439]	基础制剂+	应激	10-300 μm(#/mL)	25-300 μm(#/mL)
	0.04% w/v PS80	t=0	21	6
		OB 250 rpm 48hr	15	0
	0.08% w/v PS80	t=0	8	0
		OB 250 rpm 48hr	2	0
	0.12% w/v PS80	t=0	25	2
		OB 250 rpm 48hr	15	0
	0.20% w/v PS80	t=0	8	0
		OB 250 rpm 48hr	19	2
	0.00% w/v PS80	t=0	2	0
		OB 250 rpm 48hr	25	6

[0440] 当在不存在有机助溶剂或表面活性剂的情况下,通过在250rpm下回转振荡来搅拌时,抗EBOV抗体不稳定。在不存在共溶剂或表面活性剂的情况下,通过在250rpm下回转振荡进行搅拌后,溶液变得浑浊,显示出浊度的显著增加,并且具有通过SE-UPLC测定的聚集体增加以及通过RP-UPLC回收蛋白质的损失。相反,0.1%聚山梨醇酯80保护抗体免受搅拌诱导的不稳定性影响。

[0441] 实施例9. 稳定剂浓度的选择

[0442] 本实施例的目标是确定可用于开发支持33.3mg/mL个体抗EBOV抗体和100mg/mL三种抗体共同配制的混合物(比率为1:1:1)的药品制剂的稳定组分的水平。在初始制剂中选择10%的蔗糖,并以不同的量进行测试以评估抗体稳定性的任何变化:5%、10%、15%和20%。基础制剂含有100mg/mL抗体、10mM组氨酸(pH 6.0)和0.1%聚山梨醇酯80。

[0443] 在低浓度制剂开发期间,选择蔗糖作为抗EBOV抗体的热稳定剂。对于高浓度制剂的开发,评估了不同浓度的蔗糖对100mg/mL浓度的抗体在25℃下0至6个月和在40℃下0至3个月的稳定性的影响。当制剂在40℃下孵育28天时,HMW种类的形成随着蔗糖浓度的增加而减少。

[0444] 该研究表明,与含有15%或20%蔗糖的制剂相比,含有10%w/v蔗糖的制剂的蛋白质稳定性相当,因此,不需要超过10%w/v的额外蔗糖。参见表41-48。

[0445] 表41:具有热稳定剂的高浓度(100mg/mL)H1H17203P抗EBOV抗体的加速稳定性-目测、OD和pH

[0446]

基础制剂 +	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH
5%蔗糖	t=0	0	0.085	6.0
	25°C 0.5m	0	0.084	6.0
	25°C 1m	0	0.085	6.1
	25°C 3m	0	0.082	6.1
	25°C 6m	0	0.091	6.1
	40°C 7d	0	0.085	6.0
	40°C 14d	0	0.086	6.0
	40°C 21d	0	0.086	6.1
	40°C 28d	0	0.087	6.1
10%蔗糖	t=0	0	0.085	6.0
	25°C 0.5m	0	0.084	6.0
	25°C 1m	0	0.085	6.1
	25°C 3m	0	0.084	6.0
	25°C 6m	0	0.093	6.0
	40°C 7d	0	0.086	6.0
	40°C 14d	0	0.085	6.0
	40°C 21d	0	0.086	6.0
	40°C 28d	0	0.088	6.1
15%蔗糖	t=0	0	0.086	6.0
	25°C 0.5m	0	0.084	6.0
	25°C 1m	0	0.084	6.0
	25°C 3m	0	0.083	6.0
	25°C 6m	0	0.090	6.0
	40°C 7d	0	0.086	6.0
	40°C 14d	0	0.086	6.0
	40°C 21d	0	0.087	6.0
	40°C 28d	0	0.086	6.0

[0447]

20%蔗糖	t=0	0	0.086	5.9
	25°C 0.5m	0	0.087	5.9
	25°C 1m	0	0.084	6.0
	25°C 3m	0	0.095	6.0
	25°C 6m	0	0.089	6.0
	40°C 7d	0	0.086	6.0
	40°C 14d	0	0.085	6.0
	40°C 21d	0	0.085	6.0
	40°C 28d	0	0.086	6.0

[0448] 表42:具有热稳定剂的高浓度(100mg/mL) H1H17203P抗EB0V抗体的加速稳定性-SE-UPLC、RP-UPLC和CEX-UPLC结果

[0449]

基础制剂 +	应激	SE- UPLC %HMW	SE- UPLC % 单体	SE- UPLC %LMW	RP- UPLC , mg/mL	CEX % 酸性	CEX % 主峰	CEX % 碱性
5%蔗糖	t=0	2.4	96.6	1.0	32.9	33.7	53.4	12.9
	25°C 0.5m	2.1	96.9	1.1	32.4	33.9	53.7	12.4
	25°C 1m	2.1	96.8	1.2	32.7	35.0	52.8	12.2
	25°C 3m	2.1	96.3	1.6	32.6	38.6	50.9	10.5
	25°C 6m	2.2	95.7	2.1	32.8	42.9	47.1	9.9
	40°C 7d	2.0	96.7	1.3	32.3	35.3	52.3	12.5
	40°C 14d	2.0	96.5	1.5	32.4	37.5	50.7	11.8
	40°C 21d	2.1	96.1	1.8	32.5	40.0	48.7	11.3
	40°C 28d	2.2	95.8	2.0	32.8	42.9	46.2	10.9
10%蔗糖	t=0	2.4	96.6	1.0	33.1	33.7	53.3	13.0
	25°C 0.5m	2.0	96.9	1.1	32.7	33.9	53.6	12.5
	25°C 1m	2.0	96.8	1.2	33.0	35.0	52.7	12.3
	25°C 3m	2.1	96.3	1.6	32.8	38.4	50.8	10.8
	25°C 6m	2.2	95.7	2.2	33.1	42.7	47.3	10.1
	40°C 7d	2.0	96.8	1.2	32.5	35.1	52.3	12.6
	40°C 14d	2.0	96.5	1.5	32.7	37.6	50.6	11.9

[0450]

15%蔗糖	40°C 21d	2.1	96.2	1.8	32.8	39.8	48.7	11.5
	40°C 28d	2.1	95.9	2.0	32.9	42.6	46.3	11.2
	t=0	2.4	96.7	1.0	33.1	33.7	53.3	13.0
	25°C 0.5m	2.0	96.9	1.1	33.0	33.9	53.5	12.6
	25°C 1m	2.0	96.8	1.2	32.6	34.8	52.7	12.5
	25°C 3m	2.1	96.4	1.6	32.8	38.2	50.9	10.9
	25°C 6m	2.1	95.8	2.2	32.8	42.4	47.1	10.4
	40°C 7d	2.0	96.8	1.2	32.9	35.1	52.4	12.6
	40°C 14d	2.0	96.5	1.5	32.4	37.3	50.6	12.2
	40°C 21d	2.0	96.2	1.8	32.6	39.5	48.8	11.7
	40°C 28d	2.1	96.0	1.9	32.8	42.3	46.3	11.4
20%蔗糖	t=0	2.4	96.6	1.0	33.0	33.7	53.4	12.9
	25°C 0.5m	2.0	96.9	1.1	32.5	33.9	53.6	12.5
	25°C 1m	2.0	96.8	1.2	32.8	34.8	52.7	12.5
	25°C 3m	2.0	96.4	1.6	32.7	37.9	50.8	11.3
	25°C 6m	2.1	95.8	2.1	33.1	41.9	47.5	10.7
	40°C 7d	2.0	96.8	1.2	32.4	34.9	52.5	12.6
	40°C 14d	1.9	96.6	1.5	32.5	37.3	50.6	12.2
	40°C 21d	2.0	96.3	1.7	32.7	39.1	49.0	11.9
	40°C 28d	2.0	96.0	1.9	32.8	41.9	46.4	11.7

[0451] 表43:具有热稳定剂的高浓度(100mg/mL) H1H17139P抗EBOV抗体的加速稳定性-目测、OD和pH

[0452]

基础制剂 +	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH
5%蔗糖	t=0	0	0.083	6.0
	25°C 0.5m	0	0.083	6.0
	25°C 1m	0	0.083	6.0
	25°C 3m	0	0.086	6.0
	25°C	0	0.085	6.0

[0453]

		6m			
		40°C 7d	0	0.084	6.0
		40°C 14d	0	0.084	6.0
		40°C 21d	0	0.084	6.0
		40°C 28d	0	0.082	6.1
	10%蔗糖	t=0	0	0.083	6.0
		25°C 0.5m	0	0.082	6.0
		25°C 1m	0	0.081	6.1
		25°C 3m	0	0.087	6.0
		25°C 6m	0	0.084	6.0
		40°C 7d	0	0.083	6.0
		40°C 14d	0	0.084	6.0
		40°C 21d	0	0.084	6.0
		40°C 28d	0	0.083	6.0
	15%蔗糖	t=0	0	0.083	6.0
		25°C 0.5m	0	0.082	6.0
		25°C 1m	0	0.080	6.0
		25°C 3m	0	0.085	6.0
		25°C 6m	0	0.084	6.0
		40°C 7d	0	0.084	6.0
		40°C 14d	0	0.082	6.0
		40°C 21d	0	0.083	6.0
		40°C 28d	0	0.082	6.0
	20%蔗糖	t=0	0	0.083	5.9
		25°C 0.5m	0	0.083	5.9
		25°C 1m	0	0.082	6.0
		25°C 3m	0	0.085	6.0
		25°C 6m	0	0.084	6.0
		40°C 7d	0	0.085	6.0
		40°C 14d	0	0.083	5.9

[0454]

40°C 21d	0	0.085	6.0
40°C 28d	0	0.082	6.0

[0455] 表44:具有热稳定剂的高浓度(100mg/mL) H1H17139P抗EB0V抗体的加速稳定性-SE-UPLC、RP-UPLC和CEX-UPLC结果

[0456]

基础制剂 +	应激	SE- UPLC %HMW	SE- UPLC % 单体	SE- UPLC %LMW	RP- UPLC , mg/mL	CEX % 酸性	CEX % 主峰	CEX % 碱性
5%蔗糖	t=0	1.6	97.2	1.1	32.1	35.9	59.6	4.5
	25°C 0.5m	1.4	97.4	1.3	32.3	35.8	59.7	4.6
	25°C 1m	1.3	97.3	1.3	32.5	37.1	58.2	4.7
	25°C 3m	1.4	96.9	1.7	32.4	39.9	55.2	4.9
	25°C 6m	1.4	96.3	2.3	32.4	43.0	51.8	5.1
	40°C 7d	1.3	97.4	1.4	32.2	37.0	58.1	4.9
	40°C 14d	1.3	97.1	1.6	32.3	39.0	56.0	5.0
	40°C 21d	1.3	96.9	1.9	32.5	40.8	54.1	5.1
	40°C 28d	1.3	96.7	2.1	32.4	43.9	51.0	5.2
10%蔗糖	t=0	1.6	97.2	1.2	32.3	35.7	59.8	4.5
	25°C 0.5m	1.3	97.4	1.2	32.5	35.7	59.7	4.6
	25°C 1m	1.3	97.4	1.3	32.6	37.1	58.1	4.8
	25°C 3m	1.4	96.9	1.8	32.8	39.5	55.6	4.9
	25°C 6m	1.4	96.4	2.3	32.8	42.7	52.2	5.2
	40°C 7d	1.3	97.4	1.4	32.4	36.8	58.4	4.9
	40°C 14d	1.3	97.1	1.6	32.6	38.8	56.1	5.1
	40°C 21d	1.2	96.9	1.9	32.8	40.6	54.2	5.2
	40°C 28d	1.3	96.7	2.1	32.6	43.8	51.0	5.3
15%蔗糖	t=0	1.6	97.2	1.1	32.3	35.7	59.8	4.5
	25°C 0.5m	1.3	97.5	1.2	32.4	35.7	59.7	4.6
	25°C 1m	1.3	97.4	1.3	32.6	37.0	58.2	4.8
	25°C 3m	1.3	96.9	1.8	32.8	39.6	55.3	5.1
	25°C	1.4	96.4	2.3	32.6	42.5	52.3	5.3

[0457]

	6m							
	40°C 7d	1.3	97.4	1.4	32.4	36.6	58.5	4.9
	40°C 14d	1.3	97.1	1.6	32.5	38.7	56.2	5.1
	40°C 21d	1.2	96.9	1.9	32.8	40.5	54.2	5.3
	40°C 28d	1.3	96.7	2.1	32.7	43.3	51.2	5.5
20%蔗糖	t=0	1.6	97.2	1.2	32.6	35.8	59.7	4.5
	25°C 0.5m	1.3	97.5	1.2	32.7	35.6	59.7	4.7
	25°C 1m	1.3	97.4	1.3	32.9	36.7	58.5	4.8
	25°C 3m	1.3	96.9	1.8	33.1	39.4	55.6	5.1
	25°C 6m	1.3	96.4	2.3	33.1	42.4	52.3	5.4
	40°C 7d	1.3	97.4	1.4	32.7	36.6	58.4	5.0
	40°C 14d	1.3	97.1	1.6	32.9	38.4	56.4	5.3
	40°C 21d	1.3	96.9	1.9	33.0	40.2	54.3	5.5
	40°C 28d	1.3	96.7	2.0	33.0	42.9	51.5	5.6

[0458] 表45:具有热稳定剂的高浓度(100mg/mL) H1H17161P抗EBOV抗体的加速稳定性-目测、OD和pH

[0459]

基础制剂 +	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH
5%蔗糖	t=0	0	0.114	6.0
	25°C 0.5m	0	0.113	6.0
	25°C 1m	0	0.112	6.1
	25°C 3m	0	0.109	6.0
	25°C 6m	0	0.110	6.1
	40°C 7d	0	0.110	6.1
	40°C 14d	0	0.112	6.0
	40°C 21d	0	0.115	6.0
	40°C 28d	0	0.111	6.1
10%蔗糖	t=0	0	0.116	6.0
	25°C 0.5m	0	0.113	6.0

[0460]

	25°C 1m	0	0.114	6.0
	25°C 3m	0	0.111	6.0
	25°C 6m	0	0.110	6.1
	40°C 7d	0	0.113	6.1
	40°C 14d	0	0.114	6.0
	40°C 21d	0	0.112	6.0
	40°C 28d	0	0.114	6.0
15%蔗糖	t=0	0	0.114	6.0
	25°C 0.5m	0	0.113	6.0
	25°C 1m	0	0.113	6.0
	25°C 3m	0	0.111	6.0
	25°C 6m	0	0.113	6.1
	40°C 7d	0	0.110	6.1
	40°C 14d	0	0.110	6.0
	40°C 21d	0	0.112	6.0
	40°C 28d	0	0.113	6.0
20%蔗糖	t=0	0	0.113	6.0
	25°C 0.5m	0	0.113	6.0
	25°C 1m	0	0.113	6.0
	25°C 3m	0	0.109	6.0
	25°C 6m	0	0.113	6.0
	40°C 7d	0	0.109	6.0
	40°C 14d	0	0.114	6.0
	40°C 21d	0	0.112	6.0
	40°C 28d	0	0.112	6.0

[0461] 表46:具有热稳定剂的高浓度(100mg/mL) H1H17161P抗EB0V抗体的加速稳定性-SE-UPLC、RP-UPLC和CEX-UPLC结果

[0462]

基础制剂 +	应激	SE- UPLC %HMW	SE- UPLC % 单体	SE- UPLC %LMW	RP- UPLC , mg/mL	CEX % 酸性	CEX % 主峰	CEX % 碱性
5%蔗糖	t=0	1.9	96.9	1.3	33	53.9	41.3	4.8

[0463]

	40°C 7d	1.4	97.2	1.5	33	56.5	39.0	4.5
	40°C 14d	1.4	96.9	1.7	33	59.1	36.4	4.5
	40°C 21d	1.5	96.5	2.0	34	61.5	33.9	4.7
	40°C 28d	1.5	96.2	2.3	34	64.3	30.1	5.6
	25°C 0.5m	1.5	97.2	1.3	33	55.7	40.5	3.8
	25°C 1m	1.5	97.1	1.5	34	55.8	38.6	5.7
	25°C 3m	1.6	96.6	1.9	33	62.1	35.3	2.6
	25°C 6m	1.7	95.9	2.4	33	69.6	26.9	3.5
10%蔗糖	t=0	1.9	96.9	1.3	33	53.9	41.6	4.6
	40°C 7d	1.3	97.2	1.5	34	56.3	39.0	4.7
	40°C 14d	1.4	96.9	1.7	34	58.9	36.4	4.7
	40°C 21d	1.5	96.6	2.0	34	61.5	33.8	4.7
	40°C 28d	1.5	96.3	2.2	34	64.3	30.9	4.8
	25°C 0.5m	1.4	97.3	1.3	34	54.0	41.6	4.4
	25°C 1m	1.5	97.1	1.5	34	56.0	38.3	5.7
	25°C 3m	1.5	96.6	1.9	34	62.3	35.0	2.7
	25°C 6m	1.6	96.0	2.4	34	69.4	27.4	3.2
15%蔗糖	t=0	1.9	96.9	1.2	33	54.6	41.7	3.8
	40°C 7d	1.3	97.2	1.5	33	56.5	39.6	3.9
	40°C 14d	1.4	97.0	1.7	33	59.1	36.6	4.3
	40°C 21d	1.4	96.6	2.0	34	61.4	33.5	5.1
	40°C 28d	1.4	96.3	2.3	34	64.2	30.5	5.3
	25°C 0.5m	1.4	97.3	1.3	33	54.6	40.5	4.9
	25°C 1m	1.4	97.1	1.5	34	55.7	38.7	5.6
	25°C 3m	1.5	96.7	1.9	34	61.9	35.3	2.8
	25°C 6m	1.5	96.0	2.4	34	69.0	27.6	3.4
20%蔗糖	t=0	1.9	96.9	1.3	33	54.4	42.0	3.6
	40°C 7d	1.3	97.2	1.5	33	56.3	38.8	4.9

[0464]

40°C 14d	1.3	97.0	1.7	33	59.0	36.3	4.7
40°C 21d	1.4	96.7	2.0	34	61.4	33.8	4.8
40°C 28d	1.4	96.4	2.2	34	64.1	30.6	5.3
25°C 0.5m	1.4	97.3	1.3	33	54.2	41.5	4.3
25°C 1m	1.4	97.1	1.5	34	55.7	38.4	5.9
25°C 3m	1.5	96.7	1.9	34	61.6	36.1	2.3
25°C 6m	1.5	96.1	2.5	34	68.9	27.6	3.6

[0465] 表47:具有热稳定剂的高浓度H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗EBOV抗体的加速稳定性-目测、OD、pH、SE-UPLC和RP-UPLC

[0466]

基础制剂+	应激	目测	在 405 nm 下的 OD	pH	%HMW	%天然	%LMW	浓度, mg/mL
5%蔗糖	t=0	0	0.182	6.0	2.08	96.9	1.03	96
	25°C 0.5m	0	0.183	6.1	2.2	96.66	1.14	98
	25°C 1m	0	0.187	6.1	2.34	96.39	1.26	96
	25°C 3m	0	0.177	6.1	2.65	95.6	1.75	95
	25°C 6m	0	0.184	6.1	2.95	94.84	2.2	94
	40°C 7d	0	0.179	6.1	2.29	96.39	1.31	98
	40°C 14d	0	0.182	6.1	2.51	95.96	1.54	98
	40°C 21d	0	0.191	6.1	2.68	95.45	1.87	95
	40°C 28d	0	0.191	6.1	2.83	95.11	2.06	96
	40°C 2m	0	0.193	6.1	3.56	93.35	3.09	96
	40°C 3m	0	0.205	6.1	4.22	91.61	4.17	93
10% 蔗糖	t=0	0	0.175	6.0	2.06	96.89	1.04	97
	25°C 0.5m	0	0.180	6.0	2.14	96.71	1.15	99
	25°C 1m	0	0.195	6.1	2.26	96.44	1.29	96
	25°C 3m	0	0.177	6.1	2.56	95.68	1.76	95
	25°C 6m	0	0.182	6.1	2.84	94.93	2.22	95
	40°C 7d	0	0.180	6.1	2.23	96.44	1.33	97
	40°C 14d	0	0.184	6.0	2.42	96.04	1.55	98
	40°C 21d	0	0.187	6.1	2.57	95.57	1.85	96
	40°C 28d	0	0.187	6.1	2.69	95.26	2.05	96
	40°C 2m	0	0.194	6.1	3.29	93.66	3.05	97
	40°C 3m	0	0.208	6.1	3.93	91.89	4.18	95
15% 蔗糖	t=0	0	0.175	6.0	2.06	96.9	1.04	96
	25°C 0.5m	0	0.177	6.0	2.11	96.73	1.16	98

[0467]

20% 蔗糖	25°C 1m	0	0.178	6.1	2.22	96.52	1.26	96
	25°C 3m	0	0.179	6.1	2.49	95.78	1.73	96
	25°C 6m	0	0.179	6.1	2.72	95.09	2.19	95
	40°C 7d	0	0.181	6.1	2.17	96.5	1.32	98
	40°C 14d	0	0.179	6.0	2.34	96.13	1.54	99
	40°C 21d	0	0.183	6.1	2.48	95.72	1.81	95
	40°C 28d	0	0.189	6.1	2.61	95.33	2.06	96
	40°C 2m	0	0.194	6.1	3.12	93.85	3.03	96
	40°C 3m	0	0.201	6.1	3.71	92.13	4.15	95
	t=0	0	0.178	6.0	2.05	96.91	1.03	96
	25°C 0.5m	0	0.174	6.0	2.07	96.78	1.14	99
	25°C 1m	0	0.178	6.1	2.2	96.51	1.31	96
	25°C 3m	0	0.181	6.0	2.42	95.81	1.77	95
	25°C 6m	0	0.175	6.1	2.64	95.13	2.22	95
	40°C 7d	0	0.184	6.1	2.15	96.53	1.33	98
	40°C 14d	0	0.178	6.0	2.28	96.18	1.54	99
	40°C 21d	0	0.185	6.1	2.42	95.71	1.87	96
	40°C 28d	0	0.192	6.1	2.53	95.41	2.06	96
	40°C 2m	0	0.192	6.0	3.02	93.93	3.05	96
	40°C 2m	0	0.199	6.1	3.51	92.37	4.13	95

[0468] 表48:具有热稳定剂的高浓度(100mg/mL) H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P抗 EBOV抗体的加速稳定性-CEX-UPLC结果

[0469]

配制	应激	H1H17139P			H1H17203P			H1H17161P		
		%酸性	%主峰	%碱性	%酸性	%主峰	%碱性	%酸性	%主峰	%碱性
5%蔗糖	t=0	35.7	61.4	2.9	31.1	46.4	22.5	46.1	48.8	5.1
	40°C	37.0	59.5	3.5	32.5	45.6	21.9	50.4	44.3	5.3
	40°C	39.1	57.1	3.8	34.7	44.1	21.3	53.8	41.1	5.1
	40°C	41.2	55.0	3.8	36.7	43.0	20.4	54.8	39.0	6.2
	40°C	43.7	52.2	4.1	38.7	41.1	20.2	56.7	36.2	7.1
	40°C	53.2	42.5	4.3	46.1	31.7	22.2	71.2	24.4	4.4
	40°C	60.6	35.0	4.4	53.6	28.3	18.1	79.8	16.2	4.0
	25°C	35.7	61.2	3.2	31.3	46.4	22.3	48.0	46.5	5.5
	25°C	36.3	60.4	3.3	31.8	46.8	21.3	46.7	46.7	6.5
	25°C	39.3	57.6	3.1	35.3	45.3	19.4	56.9	40.4	2.6
	25°C	43.8	52.5	3.8	39.3	42.1	18.5	63.3	32.3	4.4
	40°C	43.4	52.4	4.2	38.6	41.3	20.1	56.8	35.7	7.5
10%蔗糖	t=0	35.9	61.2	2.9	31.1	46.4	22.5	46.1	48.8	5.1
	40°C	36.9	59.5	3.6	32.5	45.5	22.0	50.2	44.0	5.8
	40°C	38.9	57.2	3.9	34.5	44.1	21.5	53.6	41.3	5.1
	40°C	41.1	54.9	4.0	36.6	43.0	20.4	54.1	38.6	7.3
	40°C	43.4	52.4	4.2	38.6	41.3	20.1	56.8	35.7	7.5

[0470]		40°C	52.7	42.9	4.4	45.8	32.4	21.8	71.0	24.6	4.5
		40°C	59.5	36.5	4.1	52.9	28.4	18.6	81.0	15.3	3.8
		25°C	35.6	61.2	3.2	31.3	46.3	22.4	48.0	46.6	5.4
		25°C	36.2	60.3	3.5	31.7	46.9	21.3	46.5	46.5	7.0
		25°C	39.1	57.7	3.2	35.1	45.1	19.8	56.7	40.2	3.1
		25°C	44.0	52.3	3.7	39.2	41.8	19.1	62.6	32.7	4.7
	15%蔗糖	t=0	35.9	61.2	2.9	31.1	46.5	22.4	46.0	48.7	5.4
		40°C	36.7	59.5	3.8	32.5	45.6	21.9	50.5	43.9	5.6
		40°C	38.7	57.4	3.9	34.5	44.1	21.4	53.1	41.2	5.6
		40°C	40.9	54.9	4.1	36.4	42.9	20.7	53.4	38.9	7.7
		40°C	43.1	52.7	4.2	38.4	41.5	20.1	57.1	36.0	6.9
		40°C	52.4	43.0	4.6	45.5	32.8	21.8	70.1	24.9	4.9
		40°C	59.4	36.3	4.4	54.2	29.4	16.4	81.2	15.5	3.2
		25°C	35.6	61.2	3.2	31.3	46.5	22.2	47.9	46.7	5.4
		25°C	36.2	60.5	3.3	31.7	47.0	21.3	46.7	46.6	6.7
		25°C	39.0	57.7	3.3	35.0	44.9	20.1	56.1	39.6	4.3
		25°C	43.5	52.7	3.8	38.6	41.8	19.6	62.2	33.4	4.4
	20%蔗糖	t=0	35.9	61.2	2.9	31.1	46.2	22.7	46.1	48.9	5.0
		40°C	36.7	59.6	3.6	32.4	45.1	22.5	50.1	44.5	5.4
		40°C	38.6	57.4	4.0	34.2	43.9	21.9	53.5	41.1	5.4
		40°C	40.6	55.2	4.2	36.2	43.0	20.8	53.5	38.9	7.6
		40°C	42.9	52.7	4.4	37.8	41.3	20.9	57.0	36.7	6.3
		40°C	51.7	43.6	4.7	44.8	32.5	22.7	66.4	27.4	6.2
		40°C	58.8	36.8	4.5	55.3	30.7	14.0	79.7	14.4	5.8
		25°C	35.6	61.2	3.2	31.3	46.4	22.3	47.9	46.7	5.5
		25°C	35.7	60.9	3.4	31.6	46.8	21.6	46.6	45.8	7.7
		25°C	38.6	58.1	3.3	34.7	45.4	20.0	56.9	40.6	2.5
		25°C	43.1	53.0	3.9	38.4	42.0	19.7	61.7	33.3	5.1

[0471] 实施例10:单独配制的H1H17203P C2P1 FDS、H1H17139P C2P1 FDS和H1H17161P C2P1 FDS的配制的原料药(FDS)研究稳定性(12个月)

[0472] 研究用和临床用FDS使用相当的工艺制造,并且用于评估研究材料稳定性的方法与用于评估预期用于临床研究的材料稳定性的方法相似。因此,从研究稳定性研究中获得的结果可用于评估预期用于临床研究的材料的稳定性。

[0473] 本发明长期储存稳定性研究通过在-80°C和-30°C下储存12个月来评估了H1H17203P C2P1 FDS、H1H17139P C2P1 FDS和H1H17161P C2P1 FDS稳定性。H1H17203P C2P1 FDS、H1H17139P C2P1 FDS和H1H17161P C2P1 FDS在-80°C和-30°C下储存时持续至少12个月是稳定的。

[0474] 如表49所示,长期、持续的稳定性研究将在稳定性方案的持续时间内持续进行。按照表50中列出的分析计划对样品进行分析。表50提供了分析计划、初步验收标准和取样计划。

[0475] 表49:H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的配制的原料药稳定性研究的汇总

[0476]

研究编号	研究类型	容器封盖	储存条件	研究持续时间	可用数据
H1H17203P-SS018	研究	5 mL 经 γ 射线照射的带硅酮内衬封盖的聚碳酸酯小瓶	-80°C	84 个月	12 个月
			-30°C	84 个月	12 个月
			-20°C	3 个月	3 个月
			5°C	56 天	56 天
			25°C/60% RH	28 天	28 天
			40°C/75% RH	28 天	28 天
			搅拌	120 分钟	120 分钟
			冷冻/解冻	8 次循环	8 次循环
H1H17139P-SS018	研究	5 mL 经 γ 射线照射的带硅酮内衬封盖的聚碳酸酯小瓶	-80°C	84 个月	12 个月
			-30°C	84 个月	12 个月
			-20°C	3 个月	3 个月
			5°C	56 天	56 天
			25°C/60% RH	28 天	28 天
			40°C/75% RH	28 天	28 天
			搅拌	120 分钟	120 分钟
			冷冻/解冻	8 次循环	8 次循环
H1H17161P-SS018	研究	5 mL 经 γ 射线照射的带硅酮内衬封盖的聚碳酸酯小瓶	-80°C	84 个月	12 个月
			-30°C	84 个月	12 个月
			-20°C	3 个月	3 个月
			5°C	56 天	56 天
			25°C/60% RH	28 天	28 天
			40°C/75% RH	28 天	28 天
			搅拌	120 分钟	120 分钟
			冷冻/解冻	8 次循环	8 次循环

[0477] RH,相对湿度

[0478] 表50:H1H17203P、H1H17139P、H1H17161P配制的原料药研究稳定性研究的分析计划和初步验收标准

[0479]

测定编号:	初步验收标准	待分析的研究样品
物理形式/条件	液体基本无可见微粒	所有样品
透明度	浊度不大于参考悬浮液 IV	所有样品
颜色	颜色强度不大于参考溶液 2 倍	所有样品
pH	5.8 至 6.2	所有样品
总蛋白含量(A280)	90 至 110 mg/mL	N/A
总蛋白质含量 (RP-UPLC)	90 至 110 mg/mL	所有样品
效力: 假病毒中和测定	参考标准品的 50%至 150%	在-80°C和-30°C下, t=0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月 3 个月(-20°C)、56 天(5°C)、28 天(25°C/60% RH)和 28 天(40°C/75% RH)
效力: ADCC 测定	参考标准品的 50%至 150%	在-80°C和-30°C下, t=0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月 3 个月(-20°C)、56 天(5°C)、28 天(25°C/60% RH)和 28 天(40°C/75% RH)
通过还原型 MCE 的纯度 a. %纯度 b. % NGHC c. % LMW	a. HC 峰+ LC 峰≥ 80%总峰面积 b. ≤ 15% NGHC c. ≤ 10% 低分子量成分	在-80°C和-30°C下, t=0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月 3 个月(-20°C)、56 天(5°C)、28 天(25°C/60% RH)和 28 天(40°C/75% RH)
通过非还原型 MCE 的纯度 a. %纯度 b. % LMW c. % HMW	a. MP + PGMP ≥ 80%总峰面积 b. ≤ 15% 低分子量成分 c. N/A	在-80°C和-30°C下, t=0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月 3 个月(-20°C)、56 天(5°C)、28 天(25°C/60% RH)和 28 天(40°C/75% RH)
通过 SE-UPLC 得到的纯度 a. %主峰纯度 b. % LMW c. % HMW	a. ≥ 90%总峰面积 b. ≤ 5% 低分子量成分 c. ≤ 7% 高分子量成分	所有样品
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析 a. %区域 1 b. %区域 2 c. %区域 3	a. ≤ 65%区域 1 b. ≥ 35%区域 2 c. ≤ 20%区域 3	所有样品

[0480] A_{280} , 在280nm下的吸光度; CEX, 阳离子交换色谱法; SE-UPLC, 尺寸排阻超高效液相色谱; HMW, 高分子量; HC, 重链; LC, 轻链; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链

[0481] 配制的原料药稳定性研究结果

[0482] H1H17203P FDS长期储存研究稳定性研究结果

[0483] 在研究稳定性研究中, 发现C2P1 FDS在-80°C和-30°C下储存时是物理和化学稳定的(分别见表51和表52)。在任何监测的属性中, 没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。检查在长期储存条件下的C2P1 FDS的研究稳定性研究将持续84个月。

[0484] H1H17203P FDS的加速稳定性研究结果

[0485] 研究稳定性表明, C2P1 FDS在-20°C下储存3个月和在5°C下储存56天时是物理和化学稳定的(表53和表54)。在任何监测的属性中, 没有检测到物理或化学稳定性的明显变

化。在25℃/60%RH(表54)下储存28天后,通过SE-UPLC观察到H1H17203P的HMW种类略微增加0.3%。在25℃/60%RH下孵育28天后,未观察到其他监测的属性发生有意义的变化。检查在-20℃、5℃和25℃/60%RH的加速储存条件下的C2P1 FDS的研究已完成。

[0486] H1H17203P FDS的应激稳定性研究结果

[0487] 表55提供了在40℃/75%RH应激条件下C2P1 FDS分析的研究稳定性研究结果。通过SE-UPLC观测到HMW种类增加1.2%且LMW种类增加0.4%;并且通过CEX-UPLC观察到在区域1中增加11.1%。没有观察到其他监测的属性发生有意义的变化。在40℃/75%RH下孵育28天后,C2P1 FDS保持效力。检查在40℃/75%RH的应激储存条件下的C2P1 FDS的研究已完成。

[0488] 表56提供了在搅拌和冷冻/解冻条件下C2P1 FDS分析的研究稳定性结果。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟或经受8次冷冻/解冻循环(在-30℃下冷冻并在室温下解冻)时,C2P1 FDS是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有观察到H1H17203P的物理或化学稳定性的明显变化。检查在搅拌和冷冻/解冻条件下的C2P1 FDS的研究性研究已完成。

[0489] H1H17139P FDS长期储存研究稳定性研究结果

[0490] 在研究稳定性中,发现C2P1 FDS在-80℃和-30℃下储存时是物理和化学稳定的(表57和表58)。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。检查在长期储存条件下的C2P1 FDS的研究稳定性研究将持续84个月。

[0491] H1H17139P FDS的加速稳定性研究结果

[0492] 研究稳定性表明,C2P1 FDS在-20℃下储存3个月和在5℃下储存56天时是物理和化学稳定的(表59和表60)。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。在25℃/60%RH(表60)下储存28天后,通过SE-UPLC观察到HMW种类略微增加0.3%。在25℃/60%RH下孵育28天后,未观察到其他监测的属性发生有意义的变化。检查在-20℃、5℃和25℃/60%RH的加速储存条件下的C2P1 FDS的研究已完成。

[0493] H1H17139P FDS的应激稳定性研究结果

[0494] 表61提供了在40℃/75%RH应激条件下C2P1 FDS分析的研究稳定性研究结果。通过SE-UPLC观测到HMW种类增加0.9%且LMW种类增加0.4%;并且通过CEX-UPLC观察到区域1增加11.1%且区域2减少12.9%。没有观察到其他监测的属性发生有意义的变化。在40℃/75%RH下孵育28天后,C2P1 FDS保持效力。检查在40℃/75%RH的应激储存条件下的C2P1 FDS的研究已完成。

[0495] 表62提供了在搅拌和冷冻/解冻条件下C2P1 FDS分析的研究稳定性结果。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟或经受8次冷冻/解冻循环(在-30℃下冷冻并在室温下解冻)时,C2P1 FDS是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有观察到H1H17139P的物理或化学稳定性的明显变化。检查在搅拌和冷冻/解冻条件下的C2P1 FDS的研究性研究已完成。

[0496] H1H17161P FDS长期储存研究稳定性研究结果

[0497] 在研究稳定性中,发现C2P1 FDS在-80℃和-30℃下储存时是物理和化学稳定的(表63和表64)。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。检查在长期储存条件下的C2P1 FDS的研究稳定性研究将持续84个月。

[0498] H1H17161P FDS的加速稳定性研究结果

[0499] 研究稳定性表明,C2P1 FDS在-20℃下储存3个月和在5℃下储存56天时是物理和

化学稳定的(表65和表66)。在任何监测的属性中,没有检测到物理或化学稳定性的明显变化。在25℃/60%RH(表66)下储存28天后,通过SE-UPLC观察到HMW种类略微增加0.4%。在25℃/60%RH下孵育28天后,未观察到其他监测的属性发生有意义的变化。检查在-20℃、5℃和25℃/60%RH的加速储存条件下的C2P1 FDS的研究已完成。

[0500] H1H17161P FDS的应激稳定性研究结果

[0501] 表67提供了在40℃/75%RH应激条件下C2P1 FDS分析的研究稳定性研究结果。通过SE-UPLC观测到HMW种类增加1.0%且LMW种类增加0.4%;并且通过CEX-UPLC观察到在区域1中增加14.4%。没有观察到其他监测的属性发生有意义的变化。在40℃/75%RH下孵育28天后,C2P1 FDS保持效力。检查在40℃/75%RH的应激储存条件下的C2P1 FDS的研究已完成。

[0502] 表68提供了在搅拌和冷冻/解冻条件下C2P1 FDS分析的研究稳定性结果。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟或经受8次冷冻/解冻循环(在-30℃下冷冻并在室温下解冻)时,C2P1 FDS是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有观察到H1H17161P的物理或化学稳定性的明显变化。检查在搅拌和冷冻/解冻条件下的C2P1 FDS的研究性研究已完成。

[0503] 稳定性结论

[0504] H1H17203P C2P1 FDS、H1H17139P C2P1 FDS和H1H17161P C2P1 FDS都可以承受短期暴露于冷藏、室温和搅拌应激,并且可以冷冻和解冻,而不会损害蛋白质的物理或化学稳定性。这些结果表明,H1H17203P C2P1 FDS、H1H17139P C2P1 FDS和H1H17161P C2P1 FDS在三元组合药品(DP)的制造过程中是稳定的。应避免将H1H17203P C2P1 FDS、H1H17139P C2P1 FDS和H1H17161P C2P1 FDS暴露在高于室温的温度下。

[0505] 建议的储存条件

[0506] H1H17203P C2P1 FDS、H1H17139P C2P1 FDS和H1H17161P C2P1 FDS的建议的长期储存温度为-30℃。

[0507] 表51:储存在-80℃下的100mg/mL H1H17203P C2P1配制的原料药的研究稳定性

[0508]

配制		100 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:		在-80°C下的储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.1	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		98.7	99.7	98.7	98.1	99.0	99.2
非 还 原 型 MCE(%)	纯度	95.9	NR	NR	95.9	NR	95.7
	LMW	3.6	NR	NR	3.5	NR	4.0
还原型 MCE(%)	纯度	91.1	NR	NR	92.0	NR	92.1
	NGHC	7.2	NR	NR	7.0	NR	7.2
	LMW	0.4	NR	NR	0.2	NR	0.2
通 过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.1	99.1	99.1	99.1	99.1	99.1
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
通 过 CEX- UPLC 进行的电 荷变体分析(%)	区域 1	34.7	34.7	34.5	34.5	34.7	34.7
	区域 2	53.5	53.5	53.7	53.6	54.0	54.0
	区域 3	11.8	11.8	11.8	11.9	11.3	11.3
相对效力(%)	假病毒中和测定	90	NR	NR	96	NR	104
	ADCC 测定	80	NR	NR	118	NR	91

[0509] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性;

[0510] 表52: 储存在-30°C下的100mg/mL H1H17203P C2P1配制的原料药的研究稳定性

[0511]

配制		100 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:		在-30°C下的储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.1	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		98.7	99.2	98.0	98.3	99.0	99.6
非 还 原 型 MCE(%)	纯度	95.9	NR	NR	96.0	NR	95.6
	LMW	3.6	NR	NR	3.5	NR	4.1
还原型 MCE(%)	纯度	91.1	NR	NR	91.1	NR	92.2
	NGHC	7.2	NR	NR	7.3	NR	7.0
	LMW	0.4	NR	NR	0.4	NR	0.2
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.1	99.1	99.1	99.1	99.1	99.1
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
通 过 CEX- UPLC 进行的电 荷变体分析(%)	区域 1	34.7	34.8	34.5	34.5	34.7	34.7
	区域 2	53.5	53.5	53.7	53.5	53.9	54.0
	区域 3	11.8	11.8	11.8	12.0	11.4	11.3
相对效力(%)	假病毒中和 测定	90	NR	NR	90	NR	106
	ADCC 测定	80	NR	NR	101	NR	84

[0512] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0513] 表53: 100mg/mL H1H17203P C2P1配制的原料药的研究稳定性—在-20°C下加速条件的影响

[0514]

配制		100 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:		在-20°C下的储存时间(月)			
		0	1	2	3
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		98.7	99.8	98.2	99.0
非还原型 MCE(%)	纯度	95.9	NR	NR	95.9
	LMW	3.6	NR	NR	3.4
还原型 MCE(%)	纯度	91.1	NR	NR	91.9
	NGHC	7.2	NR	NR	6.9
	LMW	0.4	NR	NR	0.4
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.1	99.1	99.1	99.1
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.8	0.8	0.8	0.8
CEX-UPLC(%)	区域 1	34.7	34.7	34.5	34.5
	区域 2	53.5	53.5	53.8	53.6
	区域 3	11.8	11.8	11.7	11.9
相对效力(%)	假病毒中和测定	90	NR	NR	92
	ADCC 测定	80	NR	NR	102

[0515] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性;

[0516] 表54: 100mg/mL H1H17203P C2P1配制的原料药的研究稳定性—加速条件的影响

[0517]

配制		100 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0						
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶						
测定编号:		t=0	5°C 储存(天)			25°C/60%RH 储存(天)		
			14	28	56	7	14	28
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		98.7	98.2	100.0	99.0	99.6	98.0	100.9
非还原型 MCE(%)	纯度	95.9	NR	NR	95.5	NR	NR	95.5
	LMW	3.6	NR	NR	3.5	NR	NR	3.8
还原型 MCE(%)	纯度	91.1	NR	NR	92.2	NR	NR	91.6
	NGHC	7.2	NR	NR	7.0	NR	NR	7.1
	LMW	0.4	NR	NR	0.1	NR	NR	0.5
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.1	99.1	99.0	99.0	99.0	98.9	98.8
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2
	HMW	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	1.1
CEX-UPLC(%)	区域 1	34.7	34.7	34.7	34.4	34.6	34.9	35.5
	区域 2	53.5	53.6	53.6	53.9	53.8	53.8	53.7
	区域 3	11.8	11.7	11.7	11.7	11.6	11.3	10.9
相对效力(%)	假病毒中和测定	90	NR	NR	87	NR	NR	86
	ADCC 测定	80	NR	NR	142	NR	NR	98

[0518] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0519] 表55: 100mg/mL H1H17203P C2P1配制的原料药的研究稳定性-应激条件的影响

[0520]

配制		100 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:		t=0	40°C/75%RH 储存(天)		
			7	14	28
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU

[0521]

配制		100 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:		t=0	40°C/75%RH 储存(天)		
			7	14	28
颜色		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量 (mg/mL)		98.7	100.8	99.2	102.3
非还原型 MCE(%)	纯度	95.9	NR	NR	93.6
	LMW	3.6	NR	NR	5.6
还原型 MCE(%)	纯度	91.1	NR	NR	91.5
	NGHC	7.2	NR	NR	6.9
	LMW	0.4	NR	NR	0.4
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.1	98.8	98.4	97.5
	LMW	0.1	0.2	0.3	0.5
	HMW	0.8	1.0	1.4	2.0
CEX-UPLC(%)	区域 1	34.7	36.0	39.5	45.8
	区域 2	53.5	52.7	49.8	43.8
	区域 3	11.8	11.3	10.7	10.4
相对效力 (%)	假病毒中和测定	90	NR	NR	85
	ADCC 测定	80	NR	NR	103

[0522] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0523] 表56: 100mg/mL H1H17203P C2P1配制的原料药的研究稳定性—搅拌和冷冻解冻的影响

[0524]

配制		100 mg/mL H1H17203P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0				
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶				
测定编号:		t=0	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
			60	120	4	8
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量 (mg/mL)		98.7	100.2	100.3	99.7	100.2
非还原型 MCE(%)	纯度	95.9	NR	96.2	NR	95.9
	LMW	3.6	NR	3.4	NR	3.5
还原型 MCE(%)	纯度	91.1	NR	91.5	NR	91.4
	NGHC	7.2	NR	7.3	NR	7.0
	LMW	0.4	NR	0.2	NR	0.3
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.1	99.1	99.1	99.1	99.1
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
CEX-UPLC(%)	区域 1	34.7	34.8	34.7	34.8	34.8
	区域 2	53.5	53.5	53.6	53.5	53.5
	区域 3	11.8	11.8	11.7	11.8	11.7
相对效力(%)	假病毒中和测定	90	NR	89	NR	86
	ADCC 测定	80	NR	109	NR	96

[0525] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0526] 表57: 储存在-80℃下的100mg/mL H1H17139P C2P1配制的原料药的研究稳定性

[0527]

配制	100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:	在-80°C下的储存时间(月)					
	0	1	3	6	9	12
物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH	6.0	6.0	6.1	6.0	6.0	6.0

[0528]

配制		100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:		在-80℃下的储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		94.4	93.8	96.8	95.3	97.0	96.8
非 还 原 型 MCE(%)	纯度	95.0	NR	NR	95.2	NR	94.9
	LMW	4.8	NR	NR	4.7	NR	4.8
还 原 型 MCE(%)	纯度	95.6	NR	NR	95.7	NR	95.7
	NGHC	3.4	NR	NR	3.4	NR	3.5
	LMW	0.2	NR	NR	0.2	NR	0.1
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.3	99.4	99.3	99.3	99.4	99.3
	LMW	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
通 过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析(%)	区域 1	34.3	34.2	34.2	32.9	32.8	34.1
	区域 2	62.1	62.2	62.2	64.0	64.0	62.2
	区域 3	3.6	3.6	3.6	3.1	3.1	3.6
相对效力(%)	ADCC 测定	92	NR	NR	99	NR	91

[0529] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0530] 表58: 储存在-30°C下的100mg/mL H1H17139P C2P1配制的原料药的研究稳定性

[0531]

配制		100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:		在-30℃下的储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6.0	6.0	6.1	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		94.4	94.2	96.4	95.9	96.2	97.4
非 还 原 型 MCE(%)	纯度	95.0	NR	NR	94.7	NR	94.9
	LMW	4.8	NR	NR	5.0	NR	4.9
还原型 MCE(%)	纯度	95.6	NR	NR	95.8	NR	96.0
	NGHC	3.4	NR	NR	3.3	NR	3.3
	LMW	0.2	NR	NR	0.2	NR	0.1
通 过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3	99.3
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
通 过 CEX- UPLC 进行的电 荷变体分析(%)	区域 1	34.3	34.2	34.2	33.1	32.8	34.2
	区域 2	62.1	62.2	62.2	63.9	64.1	62.1
	区域 3	3.6	3.6	3.6	3.0	3.1	3.8
相对效力(%)	ADCC测定	92	NR	NR	79	NR	94

[0532] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW,

高分子量;LEFVP,基本上不含可见微粒的液体;LMW,低分子量;MCE,微芯片毛细管电泳;NGHC,非糖基化重链;NR,根据方案不需要;OD,光密度;RP,反相;SE,尺寸排阻;UPLC,超高效液相色谱;ADCC,抗体依赖性细胞毒性

[0533] 表59:100mg/mL H1H17139P C2P1配制的原料药的研究稳定性—在-20℃下加速条件的影响

[0534]	配制	100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
	容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
	测定编号:	在-20℃下的储存时间(月)			
		0	1	2	3
	物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
	透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
	颜色	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
	pH	6.0	6.0	6.0	6.1

[0535]	配制	100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
	容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
	测定编号:	在-20℃下的储存时间(月)			
		0	1	2	3
	通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)	94.4	94.7	94.4	96.8
	非还原型 MCE(%)	纯度	95.0	NR	NR
		LMW	4.8	NR	NR
		HMW	0.2	NR	NR
	还原型 MCE(%)	纯度	95.6	NR	NR
		NGHC	3.4	NR	NR
		LMW	0.2	NR	NR
	通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.3	99.3	99.3
		LMW	0.1	0.1	0.1
		HMW	0.6	0.6	0.6
	CEX-UPLC(%)	区域 1	34.3	34.2	34.3
		区域 2	62.1	62.2	62.1
		区域 3	3.6	3.6	3.6
	相对效力(%)	ADCC 测定	92	NR	NR

[0536] CEX,阳离子交换;FDS,配制的原料药;FDG,制剂开发组;HDPE,高密度聚乙烯;HMW,高分子量;LEFVP,基本上不含可见微粒的液体;LMW,低分子量;MCE,微芯片毛细管电泳;NGHC,非糖基化重链;NR,根据方案不需要;OD,光密度;RP,反相;SE,尺寸排阻;UPLC,超高效液相色谱;ADCC,抗体依赖性细胞毒性

[0537] 表60:100mg/mL H1H17139P C2P1配制的原料药的研究稳定性—加速条件的影响

[0538]

配制	100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0						
容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶						
测定编号:	t=0	5°C 储存(天)			25°C/60%RH 储存(天)		
		14	28	56	7	14	28
物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH	6.0	5.9	6.1	6.0	6.1	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)	94.4	94.2	94.7	99.5	93.7	94.7	94.9
非还原型 MCE(%)	纯度	95.0	NR	NR	94.9	NR	NR
	LMW	4.8	NR	NR	4.8	NR	NR
还原型 MCE(%)	纯度	95.6	NR	NR	95.9	NR	NR
	NGHC	3.4	NR	NR	3.2	NR	NR
	LMW	0.2	NR	NR	0.1	NR	NR
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.3	99.3	99.3	99.2	99.2	99.1
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.8
CEX-UPLC(%)	区域 1	34.3	34.1	34.1	34.1	33.9	34.2
	区域 2	62.1	62.2	62.2	62.2	62.2	61.7
	区域 3	3.6	3.7	3.7	3.8	3.9	4.1
相对效力(%)	ADCC 测定	92	NR	NR	113	NR	NR

[0539] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0540] 表61: 100mg/mL H1H17139P C2P1配制的原料药的研究稳定性-应激条件的影响

[0541]

配制	100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:	T = 0	40°C/75%RH 下的储存时间(天)		
		7	14	28
物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4	$\leq$ BY4
pH	6.0	6.0	6.0	6.0

[0542]

配制		100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:		T = 0	40°C/75%RH 下的储存时间(天)		
			7	14	28
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		94.4	95.3	95.4	96.7
非还原型 MCE(%)	纯度	95.0	NR	NR	92.3
	LMW	4.8	NR	NR	6.8
还原型 MCE(%)	纯度	95.6	NR	NR	94.7
	NGHC	3.4	NR	NR	3.4
	LMW	0.2	NR	NR	0.7
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.3	98.8	98.5	98.0
	LMW	0.1	0.2	0.3	0.5
	HMW	0.6	1.0	1.2	1.5
CEX-UPLC(%)	区域 1	34.3	36.3	39.3	45.4
	区域 2	62.1	59.0	55.6	49.2
	区域 3	3.6	4.7	5.1	5.5
相对效力(%)	ADCC 测定	92	NR	NR	97

[0543] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0544] 表62: 100mg/mL H1H17139P C2P1配制的原料药的研究稳定性—搅拌和冷冻解冻的影响

[0545]

配制		100 mg/mL H1H17139P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:		t=0	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)
			60	120	4 8
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		94.4	94.0	94.4	94.9
非还原型 MCE(%)	纯度	95.0	NR	95.0	NR
	LMW	4.8	NR	4.9	NR
还原型 MCE(%)	纯度	95.6	NR	95.9	NR
	NGHC	3.4	NR	3.3	NR
	LMW	0.2	NR	0.1	NR
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.3	99.3	99.3	99.4
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.6	0.6	0.6	0.6
CEX-UPLC(%)	区域 1	34.3	34.3	34.2	34.1
	区域 2	62.1	62.1	62.2	62.2
	区域 3	3.6	3.6	3.7	3.6
相对效力(%)	ADCC 测定	92	NR	120	NR

[0546] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性

[0547] 表63: 储存在-80℃下的100mg/mL H1H17161P C2P1配制的原料药的研究稳定性

[0548]

配制	100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:	在-80℃下的储存时间(月)					
	0	1	3	6	9	12
物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH	6.0	6.0	6.1	6.0	6.0	6.0

[0549]

配制		100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:		在-80℃下的储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		95.8	95.8	95.8	97.0	99.1	97.3
非 还 原 型 MCE(%)	纯度	95.7	NR	NR	95.7	NR	95.6
	LMW	3.9	NR	NR	3.9	NR	3.9
还 原 型 MCE(%)	纯度	96.0	NR	NR	96.2	NR	96.2
	NGHC	3.5	NR	NR	3.3	NR	3.5
	LMW	0.0	NR	NR	0.0	NR	0.0
通 过 SE- UPLC 得到 的纯度(%)	主峰	98.8	98.8	98.8	98.7	98.5	98.8
	LMW	0.1	0.2	0.1	0.2	0.3	0.1
	HMW	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	1.1
通过 CEX- UPLC 进行 的电荷变 体分析(%)	区域 1	48.2	47.9	47.7	47.7	48.2	48.7
	区域 2	45.2	45.5	46.1	46.9	45.3	45.3
	区域 3	6.7	6.6	6.2	5.4	6.6	6.1
相 对 效 力 (%)	假病毒中和测定	110	NR	NR	137	NR	112

[0550] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱

[0551] 表64: 储存在-30℃下的100mg/mL H1H17161P C2P1配制的原料药的研究稳定性

[0552]

配制		100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0					
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶					
测定编号:		在-30°C下的储存时间(月)					
		0	1	3	6	9	12
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3
pH		6.0	6.0	6.1	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		95.8	95.8	95.8	96.8	99.4	97.5
非还原型 MCE(%)	纯度	95.7	NR	NR	95.7	NR	95.7
	LMW	3.9	NR	NR	3.9	NR	3.9
还原型 MCE(%)	纯度	96.0	NR	NR	96.1	NR	96.2
	NGHC	3.5	NR	NR	3.4	NR	3.3
	LMW	0.0	NR	NR	0.0	NR	0.0
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	98.8	98.8	98.8	98.7	98.5	98.8
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
	HMW	1.1	1.1	1.1	1.1	1.2	1.1
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析(%)	区域 1	48.2	48.0	47.7	47.6	48.3	48.9
	区域 2	45.2	45.4	46.2	47.1	45.1	45.1
	区域 3	6.7	6.6	6.2	5.3	6.6	6.0
相对效力(%)	假病毒中和测定	110	NR	NR	132	NR	106

[0553] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱

[0554] 表 65: 100mg/mL H1H17161P C2P1 配制的原料药的研究稳定性—在 -20°C 下加速条件的影响

[0555]

配制		100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:		在-20°C下的储存时间(月)			
		0	1	2	3
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3
pH		6.0	6.0	6.0	6.1

[0556]

配制		100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:		在-20°C下的储存时间(月)			
		0	1	2	3
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		95.8	96.3	95.9	95.6
非还原型 MCE(%)	纯度	95.7	NR	NR	95.6
	LMW	3.9	NR	NR	3.9
还原型 MCE(%)	纯度	96.0	NR	NR	95.9
	NGHC	3.5	NR	NR	3.7
	LMW	0.0	NR	NR	0.0
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	98.8	98.8	98.7	98.8
	LMW	0.1	0.1	0.2	0.1
	HMW	1.1	1.1	1.1	1.1
CEX-UPLC(%)	区域 1	48.2	47.8	47.7	47.8
	区域 2	45.2	45.5	46.1	46.0
	区域 3	6.6	6.7	6.2	6.2
相对效力(%)	假病毒中和测定	110	NR	NR	126

[0557] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱

[0558] 表66: 100mg/mL H1H17161P C2P1配制的原料药的研究稳定性—加速条件的影响

[0559]

配制		100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0						
容器/封盖		5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶						
测定编号:		t=0	5°C储存(天)			25°C/60%RH 储存(天)		
			14	28	56	7	14	28
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH		6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		95.8	97.2	97.1	96.9	95.1	97.2	96.7
非 还 原 型 MCE(%)	纯度	95.7	NR	NR	95.5	NR	NR	95.1
	LMW	3.9	NR	NR	3.9	NR	NR	4.0
还 原 型 MCE(%)	纯度	96.0	NR	NR	96.1	NR	NR	95.7
	NGHC	3.5	NR	NR	3.4	NR	NR	3.5
	LMW	0.0	NR	NR	0.0	NR	NR	0.1
通 过 SE- UPLC 得到 的纯度(%)	主峰	98.8	98.8	98.7	98.5	98.6	98.5	98.3
	LMW	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
	HMW	1.1	1.1	1.2	1.3	1.2	1.4	1.5
CEX- UPLC(%)	区域 1	48.2	48.1	48.4	48.0	49.0	49.3	50.1
	区域 2	45.2	45.3	44.9	45.6	44.3	43.6	42.8
	区域 3	6.6	6.7	6.8	6.4	6.6	7.0	7.1
相对效力(%)	假病毒中和测定	110	NR	NR	108	NR	NR	111

[0560] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱

[0561] 表67: 100mg/mL H1H17161P C2P1配制的原料药的研究稳定性-应激条件的影响

[0562]

配制	100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v) 的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:	T = 0	40°C/75%RH 下的储存时间(天)		
		7	14	28
物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3	≤ BY3
pH	6.0	6.0	6.0	6.0

[0563]

配制	100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v) 的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0			
容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶			
测定编号:	T = 0	40°C/75%RH 下的储存时间(天)		
		7	14	28
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)	95.8	97.0	96.4	97.4
非还原型 MCE(%)	纯度	95.7	NR	NR
	LMW	3.9	NR	NR
还原型 MCE(%)	纯度	96.0	NR	NR
	NGHC	3.5	NR	NR
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	LMW	0.0	NR	NR
	主峰	98.8	98.2	97.9
CEX-UPLC(%)	区域 1	98.2	97.9	97.4
	区域 2	0.1	0.2	0.3
	区域 3	0.1	0.3	0.5
相对效力(%)	假病毒中和测定	1.1	1.5	1.8
		48.2	52.1	56.2
		45.2	40.5	36.4
相对效力(%)	假病毒中和测定	6.6	7.4	7.4
		110	NR	NR
相对效力(%)				
				114

[0564] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; OD, 光密度; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱

[0565] 表68: 100mg/mL H1H17161P C2P1配制的原料药的研究稳定性—搅拌和冷冻解冻的影响

[0566]

配制	100 mg/mL H1H17161P、10 mM 的组氨酸、10%(w/v)的蔗糖、0.1%(w/v)的聚山梨醇酯 80, pH 6.0				
容器/封盖	5 mL 经 γ 射线照射的带 HDPE 封盖的聚碳酸酯小瓶				
测定编号:	t=0	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
		60	120	4	8
物理形式/条件	0	0	0	0	0
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3	$\leq$ BY3
pH	6.0	6.0	6.0	6.0	5.9
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)	95.8	96.5	94.0	96.2	96.2
非还原型 MCE(%)	纯度	95.7	NR	95.8	NR
	LMW	3.9	NR	3.8	NR
还原型 MCE(%)	纯度	96.0	NR	96.2	NR
	NGHC	3.5	NR	3.4	NR
	LMW	0.0	NR	0.0	NR
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	98.8	98.8	98.8	98.8
	LMW	0.1	0.2	0.1	0.1
	HMW	1.1	1.1	1.1	1.1
CEX-UPLC(%)	区域 1	48.2	48.7	48.6	48.6
	区域 2	45.2	44.9	44.9	44.8
	区域 3	6.6	6.5	6.5	6.6
相对效力(%)	假病毒中和测定	110	NR	114	NR

[0567] CEX, 阳离子交换; FDS, 配制的原料药; FDG, 制剂开发组; HDPE, 高密度聚乙烯; HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见微粒的液体; LMW, 低分子量; MCE, 微芯片毛细管电泳; NGHC, 非糖基化重链; NR, 根据方案不需要; RP, 反相; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高效液相色谱

[0568] 实施例11: 共同配制的H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P C2P1 DP的配制的原料药研究稳定性研究

[0569] 进行了研究稳定性研究, 以评估为研究和开发用途而制造的组合C2P1 DP的长期储存、加速和应激条件。在5°C长期储存条件下可获得六个月的研究稳定性数据, 在25°C/60%RH的加速条件下可获得6个月的研究稳定性数据。检查在40°C/75%RH、搅拌、冷冻和解冻条件下3个月的应激条件的研究已完成。

[0570] 表69描述了检查C2P1 DP组合的所有稳定性研究。表70提供了稳定性样品的分析计划、初步验收标准和取样计划。

[0571] 如表69所示, 稳定性研究将在稳定性方案的整个持续时间内持续进行。按照表70中列出的分析计划对样品进行分析。

[0572] 表69: 共同配制的稳定性研究汇总

[0573]

研究类型	浓度(mg/mL)	容器封盖	储存条件	研究持续时间	可用数据
研究	100	20 mL 带有氟涂层丁基塞和翻转密封件的 USP/EP 玻璃小瓶	5°C	84 个月	6 个月
			25°C/60% RH	12 个月	6 个月
			40°C/75% RH	3 个月	3 个月
			搅拌	120 分钟	120 分钟
			冷冻和解冻	8 次循环	8 次循环

[0574] DP, 药品; USP, 美国药典; EP, 欧洲药典; RH, 相对湿度

[0575] 表70:药品研究稳定性研究的分析计划

测定编号:	待分析的研究样品
物理形式/条件	所有样品
透明度	所有样品
颜色	所有样品
pH	所有样品
总蛋白质含量(RP-UPLC)	所有样品
通过还原型 MCE 的纯度 a. %纯度 b. % NGHC c. % LMW	在 5°C下 T = 0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月; 在 25°C/60% RH 下 3 个月和 6 个月; 在 40°C/75% RH 下 1 个月和 3 个月 搅拌和冷冻/解冻样品
通过非还原型 MCE 的纯度 a. %纯度 b. % LMW c. % HMW	在 5°C下 T = 0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月; 在 25°C/60% RH 下 3 个月和 6 个月; 在 40°C/75% RH 下 1 个月和 3 个月 搅拌和冷冻/解冻样品
纯度(SE-UPLC) a. %主峰纯度 b. % LMW c. % HMW	所有样品
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析 a. %区域 1c b. %区域 2c c. %区域 3c d. %主峰 H1H17203P e. %主峰 H1H17139P f. %主峰 H1H17161P	所有样品
效力: ADCC 测定	在 5°C下 T = 0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月; 在 25°C/60% RH 下 3 个月和 6 个月; 在 40°C/75% RH 下 1 个月和 3 个月 搅拌和冷冻/解冻样品
效力: 假病毒中和测定	在 5°C下 T = 0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月; 在 25°C/60% RH 下 3 个月和 6 个月; 在 40°C/75% RH 下 1 个月和 3 个月 搅拌和冷冻/解冻样品
微粒物质(光线模糊)	在 5°C下 T = 0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月; 在 25°C/60% RH 下 3 个月和 6 个月; 在 40°C/75% RH 下 1 个月和 3 个月 搅拌和冷冻/解冻样品
测定编号:	待分析的研究样品
微粒物质(MFI) $2\ \mu\text{m} \leq x < 10\ \mu\text{m}$	在 5°C下 T = 0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月; 在 25°C/60% RH 下 3 个月和 6 个月; 在 40°C/75% RH 下 1 个月和 3 个月 搅拌和冷冻/解冻样品
聚山梨酯 80	在 5°C下 T = 0、6、12、24、36、48、60、72 和 84 个月; 在 25°C/60% RH 下 3 个月和 6 个月; 在 40°C/75% RH 下 1 个月和 3 个月 搅拌和冷冻/解冻样品

[0578] A_{280} , 在280nm下的吸光度; CEX, 阳离子交换色谱法; EU, 内毒素单位; HC, 重链; HMW, 高分子量; LC, 轻链; LMW, 低分子量; 微芯片毛细管电泳; MFI, 微流成像TM; N/A, 不适用; NGHC, 非糖基化重链; Ph. Eur., 欧洲药典; RH, 相对湿度; SE-UPLC, 尺寸排阻超高效液相色谱; USP, 美国药典

[0579] 长期稳定性研究结果

[0580] 在长期稳定性研究中, 在整个评估期间, 组合DP当储存在5°C时是物理和化学稳定的(表71)。在5°C下6个月后, 在任何监测属性中未检测到任何明显的物理或化学稳定性变

化。检查长期储存条件下DP的研究稳定性研究将持续84个月。

[0581] 加速稳定性研究结果

[0582] 表72提供了在25℃/60%RH加速条件下DP分析的研究稳定性研究结果。贯穿6个月评估期内,通过SE-UPLC观察到HMW种类增加了0.9%并且LMW种类增加了0.3%。通过CEX-UPLC观察到对应于H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的主峰分别减少了2.0%、3.1%和5.1%。在25℃/60%RH下孵育6个月后,DP保持效力。如通过HIAC测定的亚可见颗粒水平是在验收标准范围内。没有观察到其他监测的属性发生有意义的变化。检查在25℃/60%RH的加速储存条件下的DP的研究已完成。

[0583] 应激稳定性研究结果

[0584] 表72提供了在40℃/75%RH应激条件下DP分析的研究稳定性研究结果。在整个3个月的评估期内,通过SE-UPLC观察到HMW增加了3.0%,LMW增加了1.3%;通过还原型或非还原型MCE分别观察到纯度减少了3.8%或7.8%并且LMW种类增加了1.8%或6.4%;并且通过CEX-UPLC观察到对应于H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P的主峰分别减少了9.3%、11.5%和11.4%。如通过假病毒中和测定确定的,DP保持效力。在40℃/75%RH下孵育28天后,DP保持效力,但是在孵育3个月后,显示效力降低,如通过ADCC测定所确定的。如通过HIAC测定的亚可见颗粒水平是在验收标准范围内。没有观察到其他监测的属性发生有意义的变化。检查在40℃/75%RH的应激储存条件下的DP的研究已完成。

[0585] 表73提供了在搅拌和冷冻/解冻条件下DP分析的研究稳定性结果。当搅拌(在环境温度下涡旋)120分钟或经受4次冷冻/解冻循环(在-30℃下冷冻并在室温下解冻)时,DP是物理和化学稳定的。在任何监测的属性中,没有观察到DP的物理或化学稳定性发生有意义的变化。检查在搅拌和冷冻/解冻条件下的DP的研究已完成。

[0586] 稳定性结论

[0587] DP组合的建议储存为2℃至8℃。DP稳定性研究的数据表明,该产品在2℃至8℃的温度下储存时会保持稳定。

[0588] 表71:储存在5℃下的H1H17203P-H1H17139P-H1H17161P共同配制的原料药100mg/mL的研究稳定性

[0589]

配制	33.3 mg/mL H1H17203P、33.3 mg/mL H1H17139P 和 33.3 mg/mL H1H17161P 重组蛋白，在含有 10 mM L-组氨酸、10%(w/v)蔗糖和 0.1%(w/v)聚山梨醇酯 80 的 pH 6.0 含水缓冲溶液中			
容器封盖	20 mL USP/Ph. Eur. 1 型硼硅酸盐玻璃小瓶；20 mm FluroTec®涂覆的丁基单孔塞；20mm Flip-Off®密封件			
储存条件	5°C			
测定编号：	储存时间(月)			
	T=0	1	3	6
物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH	6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)	98.5	98.4	97.3	96.6
聚山梨醇酯 80(%w/v)	0.09	NR	NR	0.09
通过生物测定得到的%相对效力	ADCC	89	NR	95
	假病毒中和	105	NR	120
还原型 MCE(%)	纯度	94.4	NR	94.7
	NGHC	4.7	NR	4.5
	LMW	0.1	NR	0.2
非还原型 MCE(%)	纯度	95.4	NR	95.6
	LMW	4.1	NR	4.0
SE-UPLC(%)	主峰	99.1	99.0	98.8
	LMW	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.9	0.9	1.2
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析(%)	区域 1C	10.9	10.8	11.0
	区域 2C	13.3	13.2	13.3
	区域 3C	18.4	18.4	18.0
	H1H17203P 主峰	19.3	19.4	19.2
	H1H17139P 主峰	21.1	21.2	20.9
	H1H17161P 主峰	17.0	16.9	16.4
微粒物质(光遮蔽)(颗粒/容器)	≥ 10µm	39	NR	5
	≥ 25µm	15	NR	0
微粒物质(MFI)(颗粒/mL)	2 至 10 µm	195	NR	90

[0590] HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见颗粒的液体; LMW, 低分子量; 微芯片毛细管电泳; MFI, 微流成像; NGHC, 非糖基化重链; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高压液相色谱; CEX, 阳离子交换色谱法; RP, 反相; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性; NR, 不需要。

[0591] 表72: 储存在25°C/60%RH和40°C/75%RH下的H1H17203P-H1H17139P-H1H17161P共同配制的原料药100mg/mL的研究稳定性

[0592]

配制	33.3 mg/mL H1H17203P、33.3 mg/mL H1H17139P 和 33.3 mg/mL H1H17161P 重组蛋白, 在含有 10 mM L-组氨酸、10%(w/v)蔗糖和 0.1%(w/v)聚山梨醇酯 80 的 pH 6.0 含水缓冲溶液中								
容器封盖	20 mL USP/Ph. Eur. 1 型硼硅酸盐玻璃小瓶; 20 mm FluroTec®涂覆的丁基单孔塞; 20mm Flip-Off®密封件								
测定编号:	T=0	25°C/60% RH 储存(月)				40°C/75% RH 储存(月)			
		0.5	1	3	6	0.25	0.5	1	3
物理形式/条件	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)	98.5	98.7	98.2	96.9	96.1	98.2	98.3	98.8	96.8
聚山梨醇酯 80(w/v)	0.09	NR	NR	0.09	0.09	NR	NR	0.09	0.09
通过生物测定得到的%相对效力	ADCC	89	NR	NR	93	82	NR	NR	45
	假病毒中和	105	NR	NR	112	124	NR	NR	101
还原型 MCE(%)	纯度	94.4	NR	NR	93.2	93.7	NR	NR	93.7
	NGHC	4.7	NR	NR	4.4	4.6	NR	NR	4.6
	LMW	0.1	NR	NR	0.3	0.7	NR	NR	0.5
非还原型 MCE(%)	纯度	95.4	NR	NR	94.2	93.4	NR	NR	93.1
	LMW	4.1	NR	NR	4.9	5.5	NR	NR	6.0
SE-UPLC(%)	主峰	99.1	98.9	98.7	98.2	97.8	98.6	98.3	97.7
	LMW	0.1	0.1	0.2	0.3	0.4	0.2	0.3	0.5
	HMW	0.9	1.1	1.2	1.6	1.8	1.3	1.4	1.8
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析(%)	区域 1C	10.9	10.8	11.0	12.2	14.1	11.7	12.6	14.7
	区域 2C	13.3	13.3	13.7	15.1	16.8	14.5	15.7	18.1
	区域 3C	18.4	18.6	19.0	19.8	22.0	19.6	20.7	23.1
	H1H17203P 主峰	19.3	19.5	19.4	18.7	17.3	18.8	18.0	15.9
	H1H17139P 主峰	21.1	21.2	20.9	19.6	18.0	20.0	19.0	16.5
微粒物质(光遮蔽)(颗粒/容器)	≥ 10µm	39	NR	NR	10	10	NR	NR	131
	≥ 25µm	15	NR	NR	0	0	NR	NR	0
微粒物质(MFI)(颗粒/mL)	2 至 10 µm	195	NR	NR	450	275	NR	NR	637

[0593] HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见颗粒的液体; LMW, 低分子量; 微芯片毛细管电泳; MFI, 微流成像; NGHC, 非糖基化重链; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高压液相色谱; CEX, 阳离子交换色谱法; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性; NR, 不需要

[0594] 表73: H1H17203P-H1H17139P-H1H17161P共同配制的药品的研究稳定性—搅拌和冷冻解冻的影响

[0595]

配制		33.3 mg/mL H1H17203P、33.3 mg/mL H1H17139P 和 33.3 mg/mL H1H17161P 重组蛋白, 在含有 10 mM L-组氨酸、10%(w/v)蔗糖和 0.1%(w/v)聚山梨醇酯 80 的 pH 6.0 含水电缓冲溶液中				
容器/封盖		20 mL USP/Ph. Eur. 1 型硼硅酸盐玻璃小瓶; 20 mm FluroTec®涂覆的丁基单孔塞; 20mm Flip-Off® 密封件				
测定编号:		T = 0	搅拌(分钟)		冷冻/解冻(循环)	
			60	120	4	8
物理形式/条件		LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP	LEFVP
透明度		≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU	≤ 6 NTU
颜色		≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4	≤ BY4
pH		6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
通过 RP-UPLC 测定的总蛋白质含量(mg/mL)		98.5	98.4	98.6	98.8	97.6
聚山梨醇酯 80(%w/v)		0.09	NR	0.09	0.09	0.09
通过生物测定得到的%相对效力	ADCC	89	NR	102	85	87
	假病毒中和	105	NR	119	123	119
还原型 MCE(%)	纯度	94.4	NR	94.9	95.0	94.5
	NGHC	4.7	NR	4.3	4.2	4.7
	LMW	0.1	NR	0.2	0.2	0.1
非还原型 MCE(%)	纯度	95.4	NR	95.4	95.4	95.4
	LMW	4.1	NR	4.2	4.2	4.2
通过 SE-UPLC 得到的纯度(%)	主峰	99.1	99.1	99.1	99.1	99.0
	LMW	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
	HMW	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
通过 CEX-UPLC 进行的电荷变体分析(%)	区域 1C	10.9	10.8	10.9	10.9	10.4
	区域 2C	13.3	13.2	13.2	13.3	13.3
	区域 3C	18.4	18.4	18.4	18.5	18.4
	H1H17203P 主峰	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4
	H1H17139P 主峰	21.1	21.2	21.2	21.2	21.3
	H1H17161P 主峰	17.0	16.9	17.0	16.7	17.2
微粒物质(光遮蔽)(颗粒/容器)	≥ 10µm	39	NR	102	39	53
	≥ 25µm	15	NR	5	0	0
微粒物质(MFI)(颗粒/mL)	2 至 10 µm	195	NR	372	534	494

[0596] HMW, 高分子量; LEFVP, 基本上不含可见颗粒的液体; LMW, 低分子量; 微芯片毛细管电泳; MFI, 微流成像; NGHC, 非糖基化重链; SE, 尺寸排阻; UPLC, 超高压液相色谱; CEX, 阳离子交换色谱法; ADCC, 抗体依赖性细胞毒性; NR, 不需要

[0597] 抗体序列

[0598] 表74列出了所选的抗埃博拉病毒抗体的重链和轻链可变区和CDR的氨基酸序列标识符。表75提供了全长重链和轻链氨基酸序列的序列标识符。

[0599] 表74: 氨基酸序列标识符

[0600]

抗体名称	SEQ ID NO:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H17203P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H17139P	20	22	24	26	28	30	32	34
H1H17161P	38	40	42	44	46	48	50	52

[0601] 表75: 全长重链和轻链序列的序列标识符

[0602]

抗体名称	SEQ ID NO:	
	全长重链	全长轻链
	氨基酸	氨基酸
H1H17203P	17	18
H1H17139P	35	36
H1H17161P	53	54

[0603] 本公开内容在范围上不受本文描述的具体实施方案限制。实际上,除了本文描述的那些内容以外,本领域技术人员从前述描述和附图会明白本发明的不同改变。此类修改旨在落在所附权利要求书的范围内。

序列表

<110> 瑞泽恩制药公司

Y • 曹

D • 刘

L • 徐

<120> 稳定的抗体制剂

<130> 10668W001

<140> TBD

<141> 2021-01-22

<150> 62965786

<151> 2020-01-24

<160> 54

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 348

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 1

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cgtctggctt caccttcaat aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcatgg ggctggagtg ggtggcagtt atatggcacg atggaagtga taaatactat 180
 gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgttat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaaattgg 300
 aacctctttg actactgggg ccagggaacc ctggtcactg tctcctca 348

<210> 2

<211> 116

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Met Gly Leu Glu Trp Val

35	40	45
Ala Val Ile Trp His Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Asn Trp Asn Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
100	105	110
Thr Val Ser Ser		
115		

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 3

ggcttcacct tcaataacta tggc 24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 4

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly

1 5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 5

atatggcacg atggaagtga taaa 24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 6

Ile Trp His Asp Gly Ser Asp Lys

1 5

<210> 7

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 7

gcgagaaatt ggaacctctt tgactac 27

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 8

Ala Arg Asn Trp Asn Leu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 9

<211> 324

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 9

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagaatcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcatcagc acctatttac attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccactt tgcagagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtttcagta cccctccgat aaacttcggc 300
caagggacca agctggagat caaa 324

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr

20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Phe Ser Thr Pro Pro

85 90 95

Ile Asn Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 11

cagagcatca gcacctat 18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Thr Tyr

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 合成
<400> 13
gctgcatcc 9
<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 14
Ala Ala Ser
1
<210> 15
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 15
caacagagtt tcagtacccc tccgataaac 30
<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 16
Gln Gln Ser Phe Ser Thr Pro Pro Ile Asn
1 5 10
<210> 17
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 17
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asn	Asn	Tyr
20				25				30							
Gly	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Met	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35				40				45							
Ala	Val	Ile	Trp	His	Asp	Gly	Ser	Asp	Lys	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
50				55				60							
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65				70				75				80			
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Asn	Trp	Asn	Leu	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
100				105				110							
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
115				120				125							
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
130				135				140							
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145				150				155				160			
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
165				170				175							
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
180				185				190							
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
195				200				205							
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
210				215				220							
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
225				230				235				240			
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
245				250				255							
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
260				265				270							
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
275				280				285							
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
290				295				300							
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
305				310				315				320			
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser

				325						330					335		
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro		
				340						345					350		
Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val		
				355						360					365		
Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly		
				370						375					380		
Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp		
385																	
Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp		
				405						410					415		
Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His		
				420						425					430		
Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
				435						440					445		
<210> 18																	
<211> 215																	
<212> PRT																	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)																	
<220>																	
<223> 合成																	
<400> 18																	
Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly		
1				5					10					15			
Asp	Arg	Ile	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Thr	Tyr		
				20					25					30			
Leu	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile		
				35					40					45			
Tyr	Ala	Ala	Ser	Thr	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly		
				50					55					60			
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro		
65					70					75					80		
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Phe	Ser	Thr	Pro	Pro		
				85						90					95		
Ile	Asn	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala		
				100						105					110		
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser		
				115						120					125		
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu		

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
Arg Thr Trp Phe Gly Glu Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 21

ggattcacct tcagtagcta cgac 24

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 22

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp

1 5

<210> 23

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 23

attggtactg ctggtgacac a 21

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 24

Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr

1

5

<210> 25

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 25

gcaagaacat ggttcgggga gctttacttt gactac 36

<210> 26

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 26

Ala Arg Thr Trp Phe Gly Glu Leu Tyr Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 27

<211> 339

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 27

gacatcgtga tgaccagtc tccagactcc ctggtgtgt ctctgggcga gagggccacc 60
atcaactgca agtccagcca gagtgtttta tacagctcca acaataagaa ctacttagct 120
tggtaccagc agaaaccagg acagctcct aagctgctca tttactgggc atctaccgg 180
gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagaatt cactctcacc 240
atcaccagcc tgcaggtga agatgtggca gtttattact gtcagcaata ttatagtagt 300
ccgctcactt tcggcggagg gaccaagtg gagatcaaa 339

<210> 28

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 28

Asp	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
1				5				10					15		
Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Tyr	Ser
			20					25					30		
Ser	Asn	Asn	Lys	Asn	Tyr	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln
			35					40					45		
Pro	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser	Gly	Val
			50					55					60		
Pro	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr
65					70					75					80
Ile	Thr	Ser	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln
				85						90				95	
Tyr	Tyr	Ser	Ser	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile
			100					105					110		

Lys

<210> 29

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 29

cagagtgttt tatacagctc caacaataag aactac 36

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 30

Gln	Ser	Val	Leu	Tyr	Ser	Ser	Asn	Asn	Lys	Asn	Tyr
1				5					10		

<210> 31

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 31
tgggcatct 9
<210> 32
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 32
Trp Ala Ser
1
<210> 33
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 33
cagcaatatt atagtagtcc gtcact 27
<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 34
Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Leu Thr
1 5
<210> 35
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 35
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly Ser Val Lys		
50	55	60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu		
65	70	75
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
85	90	95
Arg Thr Trp Phe Gly Glu Leu Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		

340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
405	410	415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445
<210> 36		
<211> 220		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成		
<400> 36		
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly		
1	5	10
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser		
20	25	30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln		
35	40	45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val		
50	55	60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr		
65	70	75
Ile Thr Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln		
85	90	95
Tyr Tyr Ser Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile		
100	105	110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp		
115	120	125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn		
130	135	140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu		

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Arg Gly Tyr Pro His Ser Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 39

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 39

ggattcacct ctagcagcta tgcc 24

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 40

Gly Phe Thr Ser Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 41

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 41

attagtggta tgggtggtag caca 24

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 42

Ile Ser Gly Met Gly Gly Ser Thr

1 5
<210> 43
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 43
gcgaaaaggg gatatcccca ttcttttgat atc 33
<210> 44
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 44
Ala Lys Arg Gly Tyr Pro His Ser Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 45
<211> 318
<212> DNA
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 45
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctttttta attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccctcacctt cggccaaggg 300
acacgactgg agattaaa 318
<210> 46
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 46
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	Ala Ser Gln Ser	Ile Ser Ser Phe
20	25	30	
Leu Asn Trp Tyr	Gln Gln Lys Pro	Gly Lys Ala Pro	Lys Leu Leu Ile
35	40	45	
Tyr Ala Ala Ser	Ser Leu Gln Ser	Gly Val Pro Ser	Arg Phe Ser Gly
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly	Thr Asp Phe Thr	Leu Thr Ile Ser	Ser Leu Gln Pro
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala	Thr Tyr Tyr Cys	Gln Gln Ser Tyr	Ser Thr Leu Thr
85	90	95	
Phe Gly Gln Gly	Thr Arg Leu Glu	Ile Lys	
100	105		

<210> 47

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 47

cagagcatta gcagcttt 18

<210> 48

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 48

Gln Ser Ile Ser Ser Phe

1 5

<210> 49

<211> 9

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成

<400> 49

gctgcatcc 9

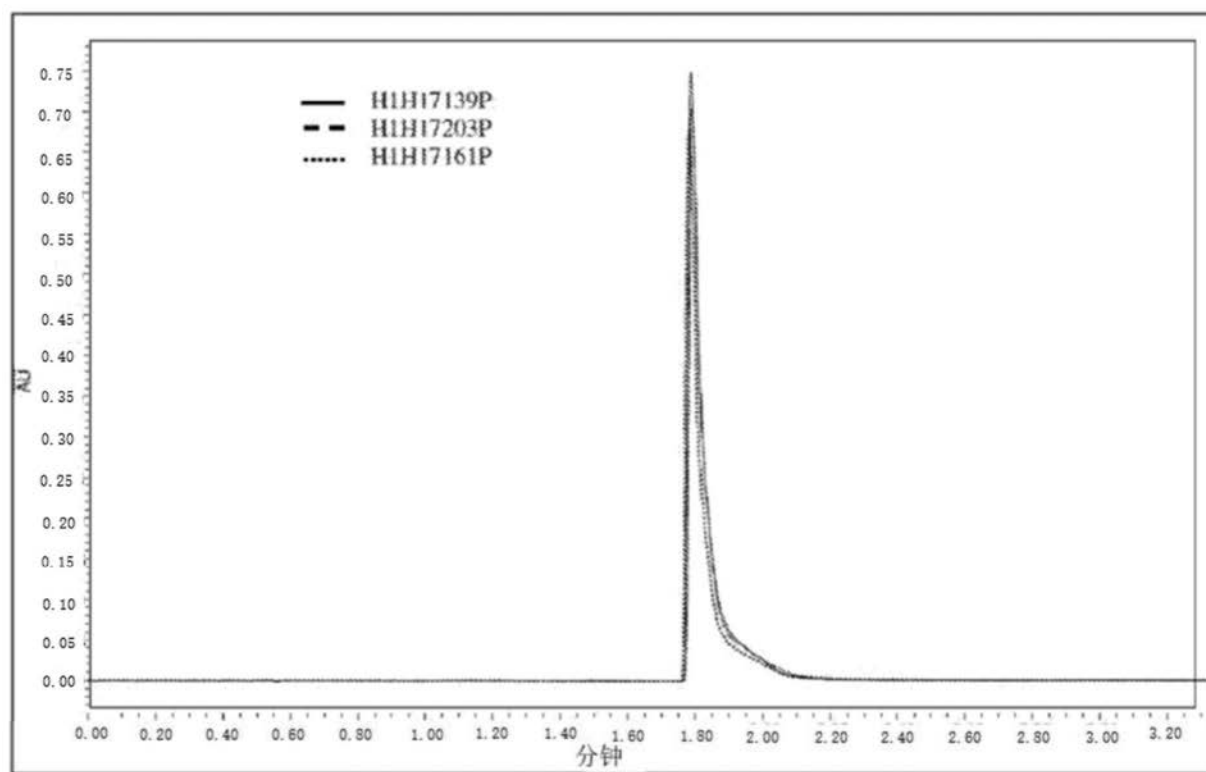
<210> 50

<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 50
Ala Ala Ser
1
<210> 51
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 51
caacagagtt acagtaccct cacc 24
<210> 52
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 52
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Leu Thr
1 5
<210> 53
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成
<400> 53
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Ser Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Thr Ile Ser Gly Met Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Lys Arg Gly Tyr Pro His Ser Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
130	135	140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
145	150	155
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
165	170	175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
180	185	190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
195	200	205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr		
210	215	220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
355	360	365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
370	375	380	
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
	405	410	415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
	420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
	435	440	445
<210> 54			
<211> 213			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成			
<400> 54			
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 Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Phe			
	20	25	30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
	35	40	45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Leu Thr			
	85	90	95
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro			
	100	105	110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr			
	115	120	125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys			
	130	135	140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu			
145	150	155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser			
	165	170	175

Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala
			180					185					190		
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe
			195				200						205		
Asn	Arg	Gly	Glu	Cys											
			210												



RP-UPLC色谱图: 50 mg/mL H1H17203P (虚线 ---), 50 mg/mL H1H17139P (实线 —), 和 50 mg/mL H1H17161P (圆点).

图1:H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P RP-UPLC色谱图的叠加图

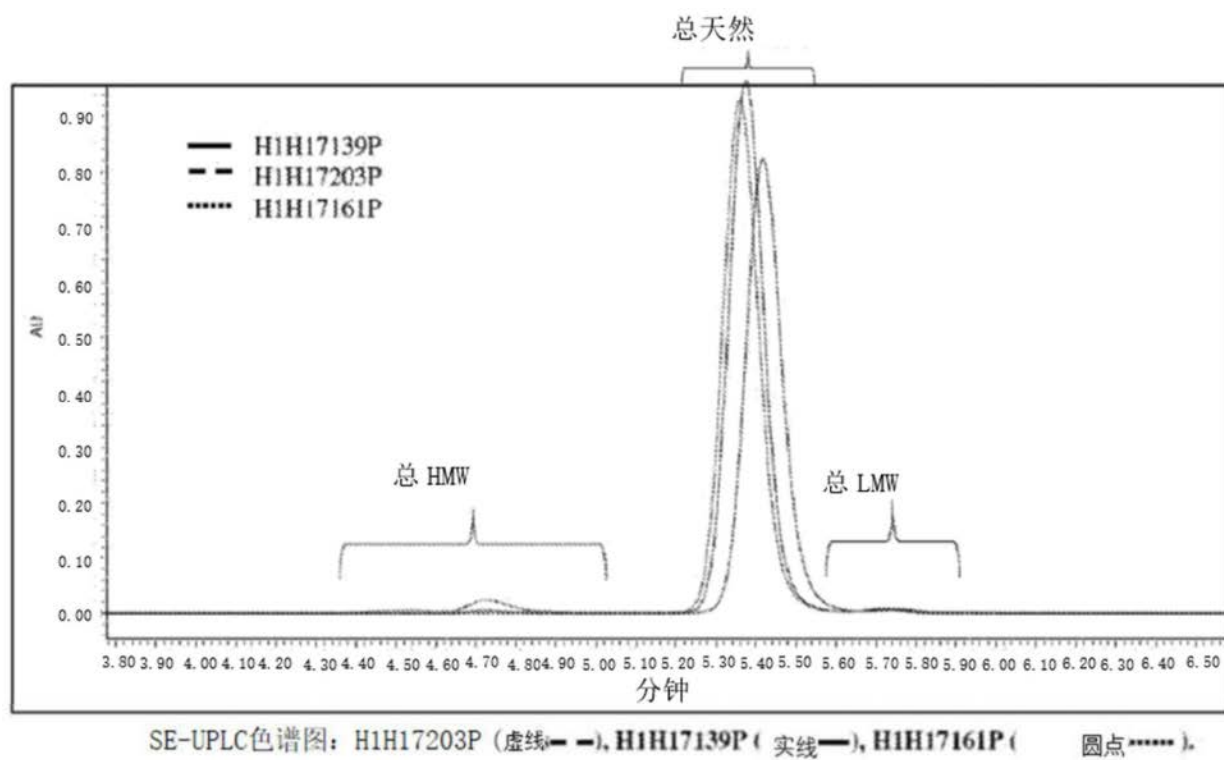


图2:H1H17203P、H1H17139P和H1H17161P SE-UPLC色谱图的叠加图