



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117838854 A

(43) 申请公布日 2024. 04. 09

(21) 申请号 202311817823.9

A61K 9/19 (2006.01)

(22) 申请日 2023.12.27

A61K 47/12 (2006.01)

(66) 本国优先权数据

A61K 47/18 (2017.01)

202211726084.8 2022.12.30 CN

A61K 47/22 (2006.01)

(71) 申请人 海正生物制药有限公司

A61P 19/02 (2006.01)

地址 311404 浙江省杭州市富阳区胥口镇
海正路8号

A61P 29/00 (2006.01)

申请人 浙江博锐生物制药有限公司

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

(72) 发明人 钱慈 张贝贝 郑旂楠 李璐遥
汪梦雯 高栋 王海彬

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

(74) 专利代理机构 上海市汇业律师事务所
31325

专利代理师 余艳

(51) Int. Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

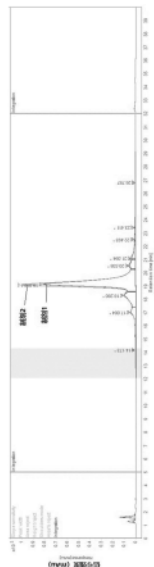
权利要求书2页 说明书18页
序列表(电子公布) 附图3页

(54) 发明名称

一种抗体类药物的稳定剂组合物以及药物组合物

(57) 摘要

本发明公开了一种抗体类药物的稳定剂组合物以及药物组合物。该抗体类药物的稳定剂组合物,含有带负电荷的缓冲剂与带正电荷的蛋白保护剂。该药物组合物包含:抗体类药物和该稳定剂组合物。本发明的稳定剂组合物有利于液体制剂中的抗体类药物具有更好的稳定性,并且使得该液体制剂在抗体类药物浓度较高的条件下具有较低的黏度。



1. 一种抗体药物组合物,其包含带负电荷的缓冲剂、带正电荷的蛋白保护剂和抗体,其中:

所述带负电荷的缓冲剂为基本不含其盐形式的酸,所述酸选自枸橼酸、醋酸、磷酸、琥珀酸、天冬氨酸、谷氨酸和乳酸中的一种或多种;

所述带正电荷的蛋白保护剂选自精氨酸、赖氨酸和组氨酸中的一种或多种。

2. 如权利要求1所述的抗体药物组合物,其中:

所述酸的浓度为5mM-50mM,优选为5mM-35mM,更优选为10mM-20mM;

所述带正电荷的蛋白保护剂的浓度为100mM-220mM,优选为150mM-200mM,更优选为150mM-170mM;和/或

所述抗体选自抗人IL-17A单克隆抗体、抗人HER2单克隆抗体和抗人TNF- α 单克隆抗体中的一种或多种;优选地,所述抗体为抗人IL-17A单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:1所示的重链和如SEQ ID NO:2所示的轻链。

3. 如权利要求1或2所述的抗体药物组合物,其中,所述抗体的浓度为50mg/mL-200mg/mL,优选为90mg/mL-160mg/mL,更优选为100mg/mL-150mg/mL。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的抗体药物组合物,其还包含表面活性剂,所述表面活性剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯80和泊洛沙姆188;优选地,所述表面活性剂的浓度为0.1mg/mL-0.6mg/mL,优选为0.2mg/mL。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的抗体药物组合物,其还包含抗氧化剂,所述抗氧化剂选自甲硫氨酸、谷胱甘肽、半胱氨酸、胱氨酸和抗坏血酸;优选地,所述抗氧化剂的浓度为20mM-30mM,优选为25mM。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的抗体药物组合物,其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0,优选为5.8。

7. 如权利要求1至6中任一项所述的抗体药物组合物,其包含:

a) 90mg/mL-160mg/mL的抗体;

b) 5mM-35mM枸橼酸;

c) 150mM-200mM的精氨酸;

d) 0.1mg/mL-0.6mg/mL的聚山梨酯20;和

e) 20mM-30mM的甲硫氨酸;其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0;优选地,所述抗体药物组合物包含:

a) 150mg/mL的抗体;

b) 10mM枸橼酸;

c) 150mM-170mM的精氨酸;

d) 0.2mg/mL的聚山梨酯20;和

e) 25mM的甲硫氨酸;且所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的抗体药物组合物,其中,所述药物组合为的渗透压摩尔浓度范围为2850smol/kg-3100smol/kg,粘度小于7.2cP;优选地,黏度为1.65cP-6.1cP。

9. 一种冻干制剂,其由将权利要求1-8中任一项所述的抗体药物组合物经冷冻干燥后获得。

10. 如权利要求1-8中任一项所述的抗体药物组合物或权利要求9所述的冻干制剂在制

备用于治疗与IL-17A和/或IL-17F相关疾病的药物中的用途;优选地,所述疾病选自银屑病、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、类风湿性关节炎、多发性硬化、系统性红斑狼疮、骨关节炎和炎症性肠病。

一种抗体类药物的稳定剂组合物以及药物组合物

技术领域

[0001] 本发明属于抗体技术领域,尤其涉及一种抗体类药物的稳定剂组合物以及药物组合物。

背景技术

[0002] 对于抗体类药物,其即用型药物产品或液体药物组合物的稳定性会受到多方面的挑战。抗体类药物,其本质是免疫球蛋白,一种蛋白质。蛋白质在液体组合物中的边际稳定性经常妨碍室温或冷藏条件下的长期储存。蛋白质在溶液中可能发生各种物理和化学反应(聚集[共价和非共价]、脱酰胺化、氧化、剪切、异构化、变性),导致降解产物水平升高和/或生物活性损失。产生的副产物会对药物的安全性和有效性带来不利影响,开发稳定性优异的制剂处方对临床用药非常重要。

[0003] 商业即用型液体抗体组合物应在运输和操作过程中提供足够的抗体物理和化学稳定性,以确保在将该分子施用给患者时符合剂量和产品安全性的要求。可接受的液体抗体组合物必须加强稳定性并最大程度减少蛋白质降解尤其是蛋白质聚集,从而避免严重的免疫原反应。而且该组合物必须还具有皮下应用可接受的渗透压和pH值,并具有作为制备(配混、过滤、填充)先决条件的低粘性以及可注射性。平衡这么多要求很困难,使得生产商业可行的水性生物药物组合物成为一项技术挑战。

[0004] 苏金单抗是一种全人源化单克隆抗IL-17A炎性细胞因子IgG1抗体,通过与IL-17A结合,直接阻断了IL-17A与其受体的相互作用,从而改变免疫和炎症反应达到治疗目的。(活性成分:Secukinumab,苏金单抗)是诺华公司开发的全球首款靶向IL-17A的重磅生物药。其稳定剂优选海藻糖(CN201580076632.9)。专利CN201910412754.0优选木糖醇和山梨醇作为稳定剂。专利CN201910935046.5优选蔗糖作为稳定剂。专利CN201911239277.9采用枸橼酸盐缓冲剂、蔗糖、精氨酸、聚山梨醇酯80作为稳定剂组合物。

发明内容

[0005] 为了解决现有技术的上述问题,本发明提供一种抗体类药物的稳定剂组合物,含有带负电荷的缓冲剂与带正电荷的蛋白保护剂。

[0006] 在一些实施方案中,所述带负电荷的缓冲剂选自枸橼酸、醋酸、磷酸、琥珀酸、天冬氨酸、谷氨酸、乳酸中的一种或多种;所述带正电荷的蛋白保护剂选自精氨酸、赖氨酸、组氨酸中的一种或多种。

[0007] 在一些实施方案中,所述带负电荷的缓冲剂的浓度为5-100mM,较佳地5-50mM,更佳地5-35mM,最佳地5~25mM(比如10mM或20mM);所述带正电荷的蛋白保护剂的浓度为50-270mM,较佳地80-240mM,更佳地100-220mM,最佳地130-190mM(比如150mM或175mM);所述抗体类药物选自抗人IL-17A单克隆抗体、抗人HER2单克隆抗体、抗人TNF- α 单克隆抗体中的一种或多种。

[0008] 另一方面,本发明公开了一种抗体药物组合物,其包含带负电荷的缓冲剂、带正电

荷的蛋白保护剂和抗体,其中:

[0009] 所述带负电荷的缓冲剂为基本不含其盐形式的酸,所述酸选自枸橼酸、醋酸、磷酸、琥珀酸、天冬氨酸、谷氨酸和乳酸中的一种或多种;

[0010] 所述带正电荷的蛋白保护剂选自精氨酸、赖氨酸和组氨酸中的一种或多种。

[0011] 在一些实施方案中,所述酸是枸橼酸。

[0012] 在一些实施方案中,所述带正电荷的蛋白保护剂是精氨酸。

[0013] 在一些实施方案中,所述酸的浓度为5mM-50mM,优选为5mM-35mM,更优选为10mM-20mM;例如5mM-15mM、5mM-10mM、10mM-15mM、8mM-12mM;在一些具体实施方案中,所述酸的浓度为约5mM、约6mM、约7mM、约8mM、约9mM、约10mM、约11mM、约12mM、约13mM、约14mM、约15mM、约18mM、约20mM或任意两数值间任意值;更优选为5mM、10mM或20mM。

[0014] 在一些实施方案中,所述带正电荷的蛋白保护剂的浓度为100mM-220mM,优选为150mM-200mM,更优选为150mM-170mM;例如100mM-200mM、120mM-200mM、140mM-180mM、140mM-180mM、170mM-180mM;在一些具体实施方案中,所述带正电荷的蛋白保护剂的浓度为约150mM、约160mM、约170mM、约180mM、约190mM、约140mM、约145mM、约165mM、约175mM或任意两数值间任意值;更优选为150mM或170mM。

[0015] 在一些实施方案中,所述抗体类药物选自抗人IL-17A单克隆抗体、抗人HER2单克隆抗体、抗人TNF- α 单克隆抗体中的一种或多种。在一些具体的实施方案中,所述抗体为抗人IL-17A单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:1所示的重链和如SEQ ID NO:2所示的轻链。在一些具体的实施方案中,所述抗体为苏金单抗。在一些具体的实施方案中,所述抗体为抗人HER2单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:3所示的重链和如SEQ ID NO:4所示的轻链。

[0016] 在一些实施方案中,所述抗体类药物的浓度为10-300mg/mL,较佳地10-250mg/mL,更佳地30-250mg/mL,最佳地135-165mg/mL。

[0017] 在一些实施方案中,所述抗体的浓度为50mg/mL-200mg/mL,优选为50mg/mL-60mg/mL或90mg/mL-160mg/mL,更优选为100mg/mL-150mg/mL。例如90mg/mL至180mg/mL、90mg/mL至170mg/mL、90mg/mL至155mg/mL、95mg/mL至155mg/mL;在一些具体实施方案中,所述抗体的浓度为约90mg/mL、约95mg/mL、约100mg/mL、约140mg/mL、约1450mg/mL、约150mg/mL、约160mg/mL、约155mg/mL或任意两数值间任意值。优选为100mg/mL或150mg/mL。

[0018] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物还包含表面活性剂。

[0019] 在一些实施方案中,所述表面活性剂选自聚山梨酯20、聚山梨酯80和泊洛沙姆188。在一些实施方案中,所述表面活性剂的浓度为0.1mg/mL-0.6mg/mL,例如0.1mg/mL至0.6mg/mL、0.15mg/mL至0.55mg/mL、0.2mg/mL至0.5mg/mL。优选为0.2mg/mL。

[0020] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物还包含抗氧化剂。

[0021] 在一些实施方案中,所述抗氧化剂选自甲硫氨酸、谷胱甘肽、半胱氨酸、胱氨酸或抗坏血酸。在一些实施方案中,所述抗氧化剂的浓度为20mM-30mM,例如20mM-28mM、22mM-28mM、22mM-26mM;优选为25mM。

[0022] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物的pH为5.6~6.0,例如5.7-6.0、5.8-6.0、5.6-5.9;在一些具体的实施方案中,所述抗体药物组合物的pH为约5.6、约5.7、约5.8、约5.9、约6.0;优选为5.8。

[0023] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物,其包含:

- [0024] a) 50mg/mL-200mg/mL的抗体;
- [0025] b) 5mM-50mM醋酸;
- [0026] c) 100mM-220mM的精氨酸;和
- [0027] d) 0.1mg/mL-0.6mg/mL的聚山梨酯80;其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0。
- [0028] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物,其包含:
- [0029] a) 50mg/mL-200mg/mL的抗体;
- [0030] b) 5mM-50mM枸橼酸;
- [0031] c) 100mM-220mM的精氨酸;
- [0032] d) 0.1mg/mL-0.6mg/mL的聚山梨酯20;和
- [0033] e) 20mM-30mM的甲硫氨酸;其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0。
- [0034] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物,其包含:
- [0035] a) 90mg/mL-160mg/mL的抗体;
- [0036] b) 5mM-35mM枸橼酸;
- [0037] c) 150mM-200mM的精氨酸;
- [0038] d) 0.1mg/mL-0.6mg/mL的聚山梨酯20;和
- [0039] e) 20mM-30mM的甲硫氨酸;其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0。
- [0040] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物包含:
- [0041] a) 150mg/mL的抗体;
- [0042] b) 10mM枸橼酸;
- [0043] c) 150mM-170mM的精氨酸;
- [0044] d) 0.2mg/mL的聚山梨酯20;和
- [0045] e) 25mM的甲硫氨酸;且所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0。
- [0046] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物,其包含:
- [0047] a) 90mg/mL-160mg/mL的抗体;
- [0048] b) 5mM-35mM枸橼酸;
- [0049] c) 150mM-200mM的精氨酸;
- [0050] d) 0.1mg/mL-0.6mg/mL的聚山梨酯20;和
- [0051] e) 20mM-30mM的甲硫氨酸;其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0,所述抗体为抗人IL-17A单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:1所示的重链和如SEQ ID NO:2所示的轻链。
- [0052] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物包含:
- [0053] a) 150mg/mL的抗体,
- [0054] b) 10mM枸橼酸;
- [0055] c) 150mM-170mM的精氨酸;
- [0056] d) 0.2mg/mL的聚山梨酯20;和
- [0057] e) 25mM的甲硫氨酸;且所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0,其中,所述抗体为抗人IL-17A单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:1所示的重链和如SEQ ID NO:2所示的轻链。
- [0058] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物包含:
- [0059] a) 150mg/mL的抗体,
- [0060] b) 10mM枸橼酸;

- [0061] c) 150mM的精氨酸;
- [0062] d) 0.2mg/mL的聚山梨酯20;和
- [0063] e) 25mM的甲硫氨酸;且所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0,其中,所述抗体为抗人IL-17A单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:1所示的重链和如SEQ ID NO:2所示的轻链。
- [0064] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物包含:
- [0065] a) 150mg/mL的抗体,
- [0066] b) 10mM枸橼酸;
- [0067] c) 170mM的精氨酸;
- [0068] d) 0.2mg/mL的聚山梨酯20;和
- [0069] e) 25mM的甲硫氨酸;且所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0,其中,所述抗体为抗人IL-17A单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:1所示的重链和如SEQ ID NO:2所示的轻链。
- [0070] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物,其包含:
- [0071] a) 50mg/mL-60mg/mL的抗体;其中,所述抗体为抗人Her2单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:3所示的重链和如SEQ ID NO:4所示的轻链
- [0072] b) 10mM-20mM醋酸;
- [0073] c) 170mM-180mM的精氨酸;和
- [0074] d) 0.15mg/mL-0.55mg/mL的聚山梨酯80;其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0。
- [0075] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物,其包含:
- [0076] a) 50mg/mL的抗体;其中,所述抗体为抗人Her2单克隆抗体,其包含如SEQ ID NO:3所示的重链和如SEQ ID NO:4所示的轻链
- [0077] b) 20mM醋酸;
- [0078] c) 175M的精氨酸;和
- [0079] d) 0.2mg/mL的聚山梨酯80;其中,所述抗体药物组合物的pH为5.6-6.0。
- [0080] 在一些实施方案中,前述的抗体药物组合物的渗透压摩尔浓度范围为285~310mOsmol/kg,粘度小于7.2cp。优选的,黏度为2.5~6.9cP、2.9~6.7cP、或为1.65~6.1cP。在一些实施方案中,粘度为2.9cp、6.1cp或6.7cp。
- [0081] 正常人体血液的渗透压摩尔浓度范围为285~310mOsmol/kg,该液体制剂提供与人体等渗的药物组成,且有更优的稳定性及较低黏度,有利于该液体制剂经皮下注射途径给药。
- [0082] 在一些实施方案中,本发明所述的抗体药物组合物为液体制剂。
- [0083] 另一方面,本发明提供一种冻干制剂,其由将如前一项所述的抗体药物组合物经冷冻干燥后获得。
- [0084] 另一方面,本发明提供如前一项所述的抗体药物组合物或如前所述的冻干制剂在制备用于治疗与IL-17A和/或IL-17F相关疾病的药物中的用途。
- [0085] 在一些实施方案中,所述疾病选自银屑病、银屑病关节炎、强直性脊柱炎、类风湿性关节炎、多发性硬化、系统性红斑狼疮、骨关节炎和炎症性肠病。
- [0086] 在本发明的抗体药物组合物中,带负电荷的枸橼酸与带正电荷的精氨酸(属于碱性氨基酸,也称氨基酸碱)共同维持液体制剂的pH。

[0087] 另一方面,本发明提供一种制备前述任一项抗体药物组合物的方法,所述方法包括使用包含带负电荷的缓冲剂和带正电荷的蛋白保护剂的溶液置换抗体溶液的步骤,其中:

[0088] 所述带负电荷的缓冲剂为基本不含其盐形式的酸,所述酸选自枸橼酸、醋酸、磷酸、琥珀酸、天冬氨酸、谷氨酸和乳酸中的一种或多种;所述带正电荷的蛋白保护剂选自精氨酸、赖氨酸和组氨酸中的一种或多种。

[0089] 在一些实施方案中,本发明提供一种制备前述任一项抗体药物组合物的方法,所述方法包括使用包含枸橼酸和精氨酸的溶液,或醋酸和精氨酸的溶液置换抗体溶液的步骤。

[0090] 在一些实施方案中,所述方法使用包含5mM-50mM枸橼酸和5mM-40mM精氨酸的溶液置换抗体溶液。

[0091] 在一些实施方案中,所述方法使用包含5mM-15mM枸橼酸和9mM-30mM精氨酸的溶液置换抗体溶液。

[0092] 在一些实施方案中,所述方法使用包含5mM-15mM枸橼酸和12mM-30mM精氨酸的溶液置换抗体溶液。

[0093] 在一些实施方案中,所述方法使用包含5mM-10mM枸橼酸和12mM-24mM精氨酸的溶液置换抗体溶液。

[0094] 在一些实施方案中,所述方法使用包含10mM枸橼酸和24mM精氨酸的溶液置换抗体溶液。

[0095] 在一些实施方案中,所述方法使用包含10mM醋酸和9.2mM精氨酸的溶液置换抗体溶液。

[0096] 本发明提供一种制备前述任一项抗体药物组合物的方法中,超滤步骤,无需再额外调整抗体溶液的pH。在液体超滤换液过程中采用枸橼酸与精氨酸的组合作为置换液。该液体制剂在相同渗透压下有更优异稳定性,且有较低黏度。

[0097] 本发明在相同渗透压的条件下可提供更优异的抗体药物稳定性,且该液体制剂在抗体浓度较高的条件下的黏度较低。

[0098] 本发明在制剂处方研制过程中发现同等渗透压的制剂中,使用不含盐的酸与单正电荷的稳定剂的组合中,稳定剂的使用量较其它使用含有盐的缓冲剂(如枸橼酸-枸橼酸钠缓从剂),更多,而用量多的稳定剂有利于抗体稳定和降低黏度。机理上:带电荷稳定剂有较大的离子强度,结合到蛋白表面从而减小蛋白之间的静电力排斥力或减小蛋白之间的疏水作用力,达到稳定抗体及降低黏度。

[0099] 以下将结合附图对本发明的构思、具体结构及产生的技术效果作进一步说明,以充分地了解本发明的目的、特征和效果。

附图说明

[0100] 图1是制剂1和制剂2在高温14天情形下的SEC图谱中聚体峰的叠加。

[0101] 图2是制剂1和制剂2在高温7天情形下的IEC图谱的叠加。

[0102] 图3是制剂1和制剂2在高温14天情形下的RP图谱的叠加。

具体实施方式

[0103] 术语“包含”涵盖了“包括”以及“由……组成”的含义,例如“包含”X的组合物可仅由X组成,也可包括一些其他成分,例如X+Y。

[0104] “组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物,所述其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药,利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。本文中,“药物组合物”、“组合物”、“制剂”和“处方”可以互换使用。本文中所述药物组合物的溶液形式,若无特殊说明,其中的溶剂均为水。

[0105] “缓冲剂”通常指通过其酸-碱共轭组分的作用而耐受pH变化的物质,在本发明中,所述的缓冲剂为基本不含其盐形式的酸,其与带正电的蛋白保护剂相互作用,起到缓冲作用。在本发明中,带正电的蛋白保护剂(氨基酸碱,如精氨酸)和基本不含其盐形式的酸联合维持pH。

[0106] “基本不含其盐形式的酸”指在液体药物组合物中作为缓冲剂的酸在没有任何其盐形式的条件下存在。通常用于液体药物组合物的含有酸的缓冲剂用该酸的盐或酸与其盐形式的组合制备。因此例如用酸与其抗衡离子,如钠、钾、铵、钙或镁制备缓冲液。这样枸橼酸缓冲液通常含有枸橼酸的盐,例如枸橼酸-枸橼酸钠。适合用于配制本发明的稳定化的含多肽的液体药物组合物的酸包括但不限于枸橼酸、醋酸、磷酸、琥珀酸、天冬氨酸、谷氨酸和乳酸,更优选的是枸橼酸。

[0107] “带正电荷的蛋白保护剂”是指“氨基酸碱”,是一种氨基酸或多种氨基酸的组合,其中任何给定的氨基酸以其游离碱形式或其盐形式存在。用于制备本发明的组合物的优选氨基酸是带有带电侧链的氨基酸,例如精氨酸。

[0108] 适用于本文公开组合物的表面活性剂包括但不限于非离子型表面活性剂、离子型表面活性剂、两性离子表面活性剂及其组合。用于本发明的典型表面活性剂包括但不限于山梨聚糖脂肪酸酯(例如山梨聚糖单辛酸酯、山梨聚糖单月桂酸酯、山梨聚糖单棕榈酸酯),山梨聚糖三油酸酯,甘油脂肪酸酯(例如甘油单辛酸酯、甘油单肉豆蔻酸酯、甘油单硬脂酸酯),聚甘油脂肪酸酯(例如十甘油基单硬脂酸酯、十甘油基二硬脂酸酯、十甘油基单亚油酸酯),聚氧乙烯山梨聚糖脂肪酸酯(例如聚氧乙烯山梨聚糖单月桂酸酯、聚氧乙烯山梨聚糖单油酸酯、聚氧乙烯山梨聚糖单硬脂酸酯、聚氧乙烯山梨聚糖单棕榈酸酯、聚氧乙烯山梨聚糖三油酸酯、聚氧乙烯山梨聚糖三硬脂酸酯),聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯(例如聚氧乙烯山梨醇四硬脂酸酯、聚氧乙烯山梨醇四油酸酯),聚氧乙烯甘油脂肪酸酯(例如聚氧乙烯甘油基单硬脂酸酯),聚乙烯乙二醇脂肪酸酯(例如聚乙烯乙二醇二硬脂酸酯),聚氧乙烯烷基醚(例如聚氧乙烯月桂基醚),聚氧乙烯聚氧丙烯烷基醚(例如聚氧乙烯聚氧丙烯乙二醇、聚氧乙烯聚氧丙烯丙基醚、聚氧乙烯聚氧丙烯鲸蜡基醚),聚氧乙烯烷基苯基醚(例如聚氧乙烯壬基苯基醚),聚氧乙烯氢化蓖麻油(例如聚氧乙烯蓖麻油、聚氧乙烯氢化蓖麻油),聚氧乙烯蜂蜡衍生物(例如聚氧乙烯山梨醇蜂蜡),聚氧乙烯羊毛脂衍生物(例如聚氧乙烯羊毛脂),和聚氧乙烯脂肪酸酰胺(例如聚氧乙烯硬脂酸酰胺);C10-C18烷基硫酸盐(例如鲸蜡基硫酸钠、月桂基硫酸钠、油烯基硫酸钠),具有平均添加2至4摩尔环氧乙烷单元的聚氧乙烯C10-C18烷基醚硫酸盐(例如聚氧乙烯月桂基硫酸钠),和C1-C18烷基磺基琥珀酸酯盐(例如月桂基磺基琥珀酸酯钠盐);和天然表面活性剂例如卵磷脂、甘油磷脂、鞘磷脂(例如神经鞘

磷脂),和C12-C18脂肪酸的蔗糖酯。组合物可包含一或多种这些表面活性剂。优选的表面活性剂是聚氧乙烯山梨聚糖脂肪酸酯,例如聚山梨醇酯20、40、60或80。聚山梨醇酯20(例如浓度为约0.2mg/mL)是特别合适的。

[0109] “冻干制剂”表示液体或溶液形式的药物组合物或溶液制剂经过真空冷冻干燥步骤之后获得的制剂或药物组合物。

[0110] 本文所用术语“约”或“大约”是指数值在由本领域一般技术人员所测定的具体值的可接受误差范围内,所述数值部分取决于怎样测量或测定(即测量体系的限度)。例如,在本领域每一次实行中“约”可意味着在1内或超过1的标准差。或者,“约”或“基本上包含”可意味着至多±20%的范围,例如,约5.5的pH意指 $pH5.5 \pm 1.1$ 。此外,特别对于生物学系统或过程而言,该术语可意味着至多一个数量级或数值的至多5倍。除非另外说明,否则当具体值在本申请和权利要求中出现时,“约”或“基本上包含”的含义应该假定为在该具体值的可接受误差范围内。

[0111] 术语“Fc区”或“片段可结晶区”用于定义抗体重链的C末端区域。在一些实施方式中,人IgG重链的Fc区定义为从Cys226位置处的氨基酸残基或从Pro230延伸至其羧基末端。用于本文所述抗体的合适天然序列Fc区包括人IgG1、IgG2(IgG2A、IgG2B)、IgG3和IgG4。除非另有说明,Fc区的编号规则为EU索引。Fc区的C末端可以是以氨基酸残基PGK结束的完整C末端,也可以是截短的C末端,例如在所述截短的C末端中去除了一个或两个C末端氨基酸残基。因此,在一些实施方式中,完整抗体的组合物可以包括去除了所有K447残基和/或G446+K447残基的抗体群体。在一些实施方式中,完整抗体的组合物可以包括没有去除K447残基和/或G446+K447残基的抗体群体。在一些实施方式中,完整抗体的组合物具有带有和不带有K447残基和/或G446+K447残基的抗体混合物的抗体群体。本文所述的药物组合物能够达到一种稳定的效果:其中的抗体在贮藏后基本上保留其物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物学活性,例如药物组合物在贮藏后基本上保留其物理和化学稳定性以及其生物学活性。贮藏期一般基于药物组合物的预定保存期来选择。目前有多种测量蛋白质稳定性的分析技术,可测量在选定温度贮藏选定时间段后的稳定性。

[0112] 稳定的药物抗体制剂是在下述情况下没有观察到显著变化的制剂:在冷藏温度(2-8°C)保存至少3个月、至少6个月、至少1年、最长达2年。另外,稳定的液体制剂包括这样的液体制剂:其在包括25°C保存包括1个月、3个月、6个月或在40°C保存1个月在内的时段后表现出期望的特征。稳定性的典型的可接受的标准如下:通过SEC-HPLC测得,通常不超过约10%、例如不超过约5%的抗体单体发生降解。通过视觉分析,药物抗体制剂是无色的,或澄清至稍微乳白色。所述制剂的浓度、pH和重量克分子渗透压浓度具有不超过±10%变化。通常观察到不超过约10%、例如不超过约5%的截短,通常形成不超过约10%、例如不超过约5%的聚集。

[0113] 如果在目检颜色和/或澄清度后,或者通过UV光散射、尺寸排阻色谱法(SEC)和动态光散射(DLS)测得,抗体没有显示出显著的聚集增加、沉淀和/或变性,那么所述抗体在药物制剂中“保留它的物理稳定性”。蛋白构象的变化可以通过荧光光谱法(其确定蛋白三级结构)和通过FTIR光谱法(其确定蛋白二级结构)来评价。

[0114] 如果抗体没有显示出显著的化学改变,那么所述抗体在药物制剂中“保留它的化学稳定性”。通过检测和定量化学上改变的形式蛋白,可以评估化学稳定性。经常改变蛋

白化学结构的降解过程包括水解或截短(通过诸如尺寸排阻色谱法和SDS-PAGE等方法来评价)、氧化(通过诸如与质谱法或MALDI/TOF/MS结合的肽谱法等方法来评价)、脱酰胺作用(通过诸如离子交换色谱法、毛细管等电聚焦、肽谱法、异天冬氨酸测量等方法来评价)和异构化(通过测量异天冬氨酸含量、肽谱法等来评价)。

[0115] 如果抗体在给定时间的生物活性是在制备药物制剂时表现出的生物活性的预定范围内,那么所述抗体在药物制剂中“保留它的生物活性”。抗体的生物活性可以例如通过抗原结合测定来确定。

[0116] 在本文中,除非另外指明或者明显不适合,包括百分比在内的比例均按重量计。

[0117] 在本文中,“/”表示不含或者未检测到。

[0118] “给予”和“处理”当应用于动物、人、实验受试者、细胞、组织、器官或生物流体时,是指外源性药物、治疗剂、诊断剂或组合物与动物、人、受试者、细胞、组织、器官或生物流体的接触。“给予”和“处理”可以指例如治疗、药物代谢动力学、诊断、研究和实验方法。细胞的处理包括试剂与细胞的接触,以及试剂与流体的接触,其中所述流体与细胞接触。“给予”和“处理”还意指通过试剂、诊断、结合组合物或通过另一种细胞体外和离体处理例如细胞。“处理”当应用于人、兽医学或研究受试者时,是指治疗处理、预防或预防性措施,研究和诊断应用。

[0119] “治疗”意指给予受试者内用或外用治疗剂,例如包含本文公开的任一种结合化合物的组合物,所述受试者具有一种或多种疾病症状,而已知所述治疗剂对这些症状具有治疗作用。通常,在受治疗受试者或群体中以有效缓解一种或多种疾病症状的量给予治疗剂,以诱导这类症状退化或抑制这类症状发展到任何临床可测量的程度。有效缓解任何具体疾病症状的治疗剂的量(也称作“治疗有效量”)可根据多种因素变化,例如受试者的疾病状态、年龄和体重,以及药物在受试者产生需要疗效的能力。通过医生或其它专业卫生保健人士通常用于评价该症状的严重性或进展状况的任何临床检测方法,可评价疾病症状是否已被减轻。尽管本文公开的实施方案(例如治疗方法或制品)在缓解每个目标疾病症状方面可能无效,但是根据本领域已知的任何统计学检验方法如Student t检验、卡方检验、依据Mann和Whitney的U检验、Kruskal-Wallis检验(H检验)、Jonckheere-Terpstra检验和Wilcoxon检验确定,其在统计学显著数目的受试者中应当减轻目标疾病症状。

[0120] “有效量”包含足以改善或预防医学疾病的症状或病症的量。有效量还意指足以允许或促进诊断的量。用于特定受试者或兽医学受试者的有效量可依据以下因素而变化:例如,待治疗的病症、受试者的总体健康情况、给药的方法途径和剂量以及副作用严重性。有效量可以是避免显著副作用或毒性作用的最大剂量或给药方案。

[0121] 为了使发明实现的技术手段、创造特征、达成目的和功效易于明白了解,下结合具体图示,进一步阐述本发明。但本发明不仅限于以下实施的案例。

[0122] 本申请实施例中使用的检测方法:

[0123] SEC检测:

[0124] 仪器为Agilent 1260混合模块液相色谱系统;分析柱为TSKgel G3000SW_{XL}, 7.8×300mm;流动相为0.15mol/L磷酸盐,pH=6.5;流速为0.4ml/min;柱温30℃;检测波长为220nm;运行时间为等梯度运行40min。

[0125] IEC检测:

[0126] 仪器为Agilent 1260混合模块液相色谱系统;分析柱为Thermo ProPac™ WCX-104×250mm;流动相A为0.025mol/L磷酸二氢钠-氢氧化钠,pH=6.0,流动相B为0.025mol/L磷酸二氢钠-氢氧化钠,0.25mol/L氯化钠,pH=6.0;流速为1.0ml/min;检测波长为220nm;柱温25℃;运行时间为40min,运行梯度如表1所示。

[0127] 表1.流动相洗脱梯度

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	90	10
30.0	63	37
30.1	0	100
32.0	0	100
32.1	90	10
40.0	90	10

[0129] RP检测:

[0130] 仪器为Agilent 1260混合模块液相色谱系统;分析柱为Agilent 300SB-C8,4.6×250mm,5μm;流动相A为0.1%三氟乙酸水溶液,流动相B为0.1%三氟乙酸乙腈溶液;流速为1.0ml/min;检测波长为280nm;柱温80℃;运行时间为50min,运行梯度如表2所示。

[0131] 表2.流动相洗脱梯度

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0	75	25
4.0	75	25
35.0	58	42
37.0	75	25
40.0	5	95
42.0	75	25
50.0	75	25

[0133] CE检测:

[0134] 仪器为Agilent 7100毛细管电泳仪;毛细管有效长度220mm,总长度305mm;-10.0kv进样40s;运行电压-15.0kv;运行时间40min;检测波长214nm;柱温20℃。

[0135] 本发明中使用的抗人IL-17A单克隆抗体为苏金单抗,其序列如下:

[0136] 苏金单抗重链 (SEQ ID NO:1):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAAINQD
GSEKYYYVGSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRVEDTAVYYCVRDYDILTDYYIH
YFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSG
ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
RVEPKSCD
[0137] KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISK
AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPV
LDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0138] 苏金单抗轻链 (SEQ ID NO:2) :

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRAT
GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPCTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIF
[0139] PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL
STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0140] 实施例1. 制剂处方及制备

[0141] 1.1. 制剂1的制备

[0142] 制剂1为苏金单抗的原研制剂,其组成为150mg/ml的抗人IL-17A单克隆抗体、20mM组氨酸-盐酸组氨酸、200mM海藻糖、5mM甲硫氨酸、0.2mg/ml聚山梨酯80, pH5.8。溶剂为水,用盐酸调节pH。

[0143] 制备过程为:将经过纯化的抗人IL-17A单克隆抗体超滤浓缩至50~80mg/ml,使用20mM组氨酸-盐酸组氨酸缓冲体系超滤置换6~15倍体积,再超滤浓缩至175~215mg/ml得到浓缩液。向浓缩液中添加配制的稀释用第一缓冲液(需要经过计算确认),混匀过滤得到浓度为150mg/ml的抗人IL-17A单克隆抗体蛋白原液,再灌装得到制剂1。

[0144] 20mM组氨酸-盐酸组氨酸缓冲体系为20mM组氨酸,用盐酸调节pH为5.6的水溶液。

[0145] 稀释用第一缓冲液含有组氨酸、海藻糖、甲硫氨酸和聚山梨酯80。由于浓缩液的浓度存在差异,因此需要经过计算来配制和添加稀释用第一缓冲液,从而获得如上所述的制剂1。

[0146] 1.2. 制剂2的制备

[0147] 制剂2的组成为150mg/ml的抗人IL-17A单克隆抗体、10mM枸橼酸、150mM精氨酸、25mM甲硫氨酸、0.2mg/ml聚山梨酯20, pH5.8。溶剂为水,用枸橼酸调节pH。

[0148] 制备过程为:将经过纯化的抗人IL-17A单克隆抗体超滤浓缩至50~80mg/ml,使用10mM枸橼酸+24mM精氨酸缓冲体系超滤置换6~15倍体积,再超滤浓缩至175~215mg/ml得到浓缩液。向浓缩液中添加配制的稀释用第二缓冲液(包含枸橼酸、精氨酸、甲硫氨酸、聚山梨酯20,各成分的浓度需要经过计算确认)需要经过计算确认),混匀过滤得到浓度为150mg/ml的抗人IL-17A单克隆抗体蛋白原液,再灌装得到制剂2。

[0149] 10mM枸橼酸+24mM精氨酸缓冲体系为含有10mM枸橼酸和24mM精氨酸的水溶液,此时pH为5.6(无需额外调pH值)。

[0150] 稀释用第二缓冲液含有枸橼酸、精氨酸、甲硫氨酸和聚山梨酯20。由于浓缩液的浓度存在差异,因此需要经过计算来配制和添加稀释用第二缓冲液,从而获得如上所述的制剂2。

[0151] 实施例2:制剂1和制剂2的性能比较

[0152] 使用冰点下降法渗透压仪(2020版《中国药典通则》0632)和压力驱动法微量黏度计(《美国药典》<914>黏度-压力驱动法)检测。

[0153] 结果显示:制剂1的渗透压是306mOsmol/kg,黏度为7.2cP;制剂2的渗透压是302mOsmol/kg,黏度为6.1cP。

[0154] 对比制剂1、制剂2的渗透压可知,两者均在正常人体血液的渗透压摩尔浓度范围内(285~310mOsmol/kg)。低黏度的制剂在生产过程中更易于生产工艺的进行(在使用蠕动泵时有更低的剪切力、膜过滤时有更低反压不易堵塞),更利于患者自我注射(过高的黏度

可产生组织反压及注射疼痛)。因此,相比于制剂1,制剂2由于具有更低的黏度,而更易于生产,以及更有利于经皮下注射途径给药(降低注射疼痛)。

[0155] 通过尺寸排阻色谱 (SEC)、离子交换色谱 (IEC)、反相色谱 (RP) 和毛细管电泳色谱 (CE) 检测,发现在表3所示的多种处理情形下,制剂2的主峰(即抗人IL-17A单克隆抗体)纯度更高且聚体峰及片段峰更低,这说明制剂2具有更优异的稳定性(参见表4、图1-3)。从图1中可以看出,制剂2的聚体峰较制剂1的低,说明制剂2的聚体较制剂1少,制剂2更安全、更稳定。从图2和3中可以看出,制剂2的主峰明显高于制剂1的主峰,说明制剂2中抗人IL-17A单克隆抗体的纯度更高。

[0156] 表3多种处理情形

试验名称	条件
高温 7 天、14 天	40°C 恒温箱放置 7 天、14 天
光照 10 天	25°C 光稳定试验箱放置 10 天, 光照强度为 4500±500lx
振动 3 天	25°C 振荡箱避光放置 3 天, 振幅 300rpm
冻融 3 次	-30°C 冷冻箱放置 2 天以上, 25°C 恒温恒湿箱放置 2 天, 此为冻融 1 次, 重复 3 次则为冻融 3 次
加速 1 个月	25°C 恒温箱放置 1 个月

[0158] 表4制剂1和制剂2在多种处理情形下的稳定性比较

[0159]

SE C	0 时			振动 3 天			高温 7 天			光照 10 天		
	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后
制 剂 1	1.29	98.71	0.00	1.53	98.0 7	0.40	2.79	95.77	1.43	2.83	96.3 6	0.81
制 剂 2	1.30	98.70	0.00	1.35	98.5 4	0.11	1.90	97.13	0.97	2.13	97.2 1	0.66
SE C	高温 14 天			冻融 3 次			加速 1 个月			N/A		
	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后			
制 剂 1	4.22	93.96	1.81	2.19	97.1 2	0.69	2.63	93.99	3.38			
制 剂 2	2.82	95.77	1.40	1.70	98.1 9	0.12	2.08	95.05	2.87			
IEC	0 时			振动 3 天			高温 7 天			光照 10 天		
	酸性 峰	主峰	碱性 峰	酸性 峰	主峰	碱性 峰	酸性 峰	主峰	碱性 峰	酸性 峰	主峰	碱性 峰
制 剂 1	11.6	82.6	5.8	11.7 4	82.2 6	6.01	18.7 1	71.51	9.78	18.7 9	67.4 8	13.7 3
制 剂 2	11.3 6	82.59	6.04	11.6 7	81.9 3	6.41	15.7	74.17	10.1 3	14.3 9	71.2 2	14.3 8
IEC	高温 14 天			冻融 3 次			加速 1 个月			N/A		
	酸性 峰	主峰	碱性 峰	酸性 峰	主峰	碱性 峰	酸性 峰	主峰	碱性 峰			
制 剂 1	24.6 9	62.12	13.1 9	12.0 3	81.4 4	6.52	14.2 0	77.70	8.20			
制 剂 2	20.6 1	66.41	12.9 9	11.5 2	81.4 4	7.04	13.1 0	77.80	9.20			
RP	0 时			振动 3 天			高温 7 天			光照 10 天		
	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后

	制剂 1	12.8 0	73.70	13.4 0	8.10	75.5 0	16.3 0	23.0 8	67.75	9.17	20.9 0	65.1 0	13.9 0			
	制剂 2	13.2 0	73.40	13.5 0	12.9 0	73.4 0	13.6 0	18.3 6	68.76	12.8 8	21.5 0	65.0 0	13.3 0			
	RP	高温 14 天			冻融 3 次			加速 1 个月			N/A					
		主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后	主峰 前	主峰	主峰 后						
	制剂 1	25.6 0	57.30	17.0 0	13.8 0	71.9 0	14.3 0	14.2 0	77.70	8.20						
	制剂 2	21.9 0	64.90	13.1 0	13.7 0	72.6 0	13.6 0	13.1 0	77.80	9.20						
[0160]	CE	0 时			振动 3 天			高温 7 天			光照 10 天					
		主峰	片段 峰	聚体	主峰	片段 峰	聚体	主峰	片段 峰	聚体	主峰	片段 峰	聚体			
	制剂 1	96.5 9	1.94	1.47	97.1 4	1.50	1.36	93.0 0	6.44	0.56	91.7 1	7.92	0.37			
	制剂 2	97.0 7	1.83	1.10	96.9 2	1.66	1.42	94.5 9	4.92	0.50	91.6 6	7.99	0.36			
	CE	高温 14 天			冻融 3 次			加速 1 个月			N/A					
		主峰	片段 峰	聚体	主峰	片段 峰	聚体	主峰	片段 峰	聚体						
	制剂 1	90.5 9	7.63	1.77	94.1 5	5.39	0.46	95.8 5	2.59	1.54						
	制剂 2	92.8 3	6.69	0.48	93.7 5	5.73	0.52	97.3 2	2.28	0.41						

[0161] 注:N/A表示未进行检测,无数据。

[0162] 实施例3.不同缓冲液对苏金单抗的稳定性的影响

[0163] 如表5所示,制备如下制剂:

[0164] 表5.制剂5-7

[0165]	制剂 5	150 mg/ml 的抗人 IL-17A 单克隆抗体、10mM 枸橼酸、170mM 精氨酸、25mM 甲硫氨酸、0.2mg/ml 聚山梨酯 20, pH5.8
	制剂 6	100 mg/ml 的抗人 IL-17A 单克隆抗体、20mM 枸橼酸-枸橼酸钠、150mM 精氨酸、0.5mg/ml 聚山梨酯 80, pH6.0
[0166]	制剂 7	150 mg/ml 的抗人 IL-17A 单克隆抗体、20mM 枸橼酸-枸橼酸钠、150mM 精氨酸、0.5mg/ml 聚山梨酯 80, pH6.0

[0167] 注:枸橼酸-枸橼酸钠:称取枸橼酸配制制剂后,使用氢氧化钠调节pH,将该缓冲液

定义为枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液。

[0168] 制剂5制备过程为:将经过纯化的抗人IL-17A单克隆抗体超滤浓缩至

[0169] 50~80mg/ml,使用10mM枸橼酸+24mM精氨酸缓冲体系超滤置换6~15倍体积,再超滤浓将抗体浓度缩至175~215mg/ml得到浓缩液。向浓缩液中添加配制的稀释用第二缓冲液(包含枸橼酸、精氨酸、甲硫氨酸、聚山梨酯20,各成分的浓度需要经过计算确认),混匀过滤得到浓度为150mg/ml的抗人IL-17A单克隆抗体蛋白原液,再灌装得到制剂5。经检测,制剂5的粘度为6.7cp,且渗透压符合要求。制剂6和制剂7采用与制剂5类似的制备过程,这里不再赘述,只是最终所含的组分和配比如表5所示。

[0170] 将上述制剂进行振荡、高温和冻融处理(处理条件见表3),并检测不同制剂处方在不同条件下对苏金单抗的稳定性的影响,包括尺寸排阻色谱(SEC)、离子交换色谱(IEC)以及毛细管电泳色谱(CE),结果如下表6。

[0171] 表6. 制剂5-7的稳定性分析结果

[0172]

SEC	0 时			振动 3 天			高温 7 天		
	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后
制剂 5	1.05	98.90	0.05	1.10	98.84	0.05	1.65	98.17	0.18
制剂 6	1.26	98.68	0.06	1.22	98.72	0.07	1.62	98.21	0.18
制剂 7	1.40	98.55	0.05	1.33	98.61	0.06	1.90	97.93	0.18
SEC	光照 10 天			高温 14 天			冻融 3 次		
	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后
制剂 5	2.78	97.10	0.13	1.96	97.73	0.30	1.17	98.77	0.06
制剂 6	3.83	95.99	0.18	1.97	97.74	0.29	1.25	98.68	0.07
制剂 7	4.22	95.62	0.16	2.22	97.49	0.29	1.39	98.54	0.07
IEC	0 时			振动 3 天			高温 7 天		
	酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰
制剂 5	22.63	72.10	5.27	22.64	71.74	5.61	25.57	65.52	8.91
制剂 6	22.71	72.04	5.26	22.74	71.87	5.40	26.00	65.74	8.26
制剂 7	22.71	71.83	5.46	22.75	71.58	5.66	25.90	65.79	8.31
IEC	光照 10 天			高温 14 天			冻融 3 次		
	酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰
制剂 5	25.12	59.33	15.55	29.23	60.48	10.29	22.79	71.22	5.98
制剂 6	28.86	51.90	19.24	29.99	60.73	9.28	22.97	71.16	5.87

[0173]	制剂 7	27.90	54.16	17.94	29.69	60.92	9.38	22.90	71.29	5.81
	CE	0 时			振动 3 天			高温 7 天		
		片段峰	主峰	聚体	片段峰	主峰	聚体	片段峰	主峰	聚体
	制剂 5	1.97	97.59	0.45	1.65	97.89	0.46	2.30	96.97	0.74
	制剂 6	1.62	97.93	0.44	1.56	97.97	0.46	2.59	96.60	0.80
	制剂 7	1.68	97.85	0.47	1.51	98.00	0.50	2.39	96.71	0.91
	CE	光照 10 天			高温 14 天			冻融 3 次		
		片段峰	主峰	聚体	片段峰	主峰	聚体	片段峰	主峰	聚体
	制剂 5	3.66	95.37	0.97	2.89	96.33	0.78	2.53	96.96	0.51
	制剂 6	4.73	94.07	1.20	2.86	96.29	0.85	2.33	97.21	0.47
制剂 7	4.25	94.36	1.40	2.99	96.08	0.94	2.53	96.93	0.56	

[0174] 结果显示:

[0175] 制剂5在各检测项的主峰纯度较高,特别是在经过10天光照处理之后。制剂5在SEC测试中的聚体峰相较于制剂6和制剂7显著更低,而主峰更高;在IEC测试中,主峰高度更高,而酸性峰和碱性峰则更低;在CE测试中,片段峰和聚体的高度较低,而主峰则更为突出。这些结果表明,枸橼酸缓冲液比枸橼酸盐的缓冲液,能更好的维持苏金单抗的稳定性,制剂5在安全性和稳定性方面具有明显的优势。

[0176] 实施例4.缓冲液浓度对制剂稳定性的影响

[0177] 为了进一步检测枸橼酸缓冲液的浓度是否会影响苏金单抗的稳定性,制备了制剂8,其包含如下组分:100mg/ml的苏金单抗、20mM枸橼酸、200mM精氨酸、0.5mg/mL聚山梨酯80,pH6.0。

[0178] 制备过程为:将经过纯化的抗人IL-17A单克隆抗体超滤浓缩至50~80mg/ml,使用10mM枸橼酸+24mM精氨酸缓冲体系超滤置换6~15倍体积,再超滤浓缩至175~215mg/ml得到浓缩液。向浓缩液中添加配制的稀释用第二缓冲液(需要经过计算确认),混匀过滤得到浓度为100mg/ml的抗人IL-17A单克隆抗体蛋白原液,再灌装得到制剂8。

[0179] 经检测,制剂8的渗透压为298mOsm/kg,粘度为2.9cP。

[0180] 将制剂8进行振荡、高温和冻融处理(处理条件见表3),并检测不同制剂处方在不同条件下对苏金单抗的稳定性的影响,包括尺寸排阻色谱(SEC)、离子交换色谱(IEC)以及毛细管电泳色谱(CE),结果见表7。

[0181] 表7.制剂8在多种处理情形下的稳定性比较

[0182]	SEC	0 时			振动 3 天			高温 7 天		
		主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后
		1.17	98.79	0.04	1.15	98.80	0.06	1.45	98.38	0.17

[0183]		光照 10 天			高温 14 天			冻融 3 次		
		主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后
		3.71	96.13	0.16	1.73	97.99	0.28	1.17	98.77	0.07
	IEC	0 时			振动 3 天			高温 7 天		
		酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰
		22.67	71.88	5.44	22.74	71.73	5.53	25.83	66.54	7.63
		光照 10 天			高温 14 天			冻融 3 次		
		酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰	酸性峰	主峰	碱性峰
		29.95	51.37	18.68	29.56	61.67	8.77	23.06	71.30	5.65
	RP	0 时			振动 3 天			高温 7 天		
主峰前		主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	
7.84		81.26	10.90	8.40	79.49	12.11	11.91	76.00	12.08	
光照 10 天			高温 14 天			冻融 3 次				
主峰前		主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	主峰前	主峰	主峰后	
20.09		66.34	13.57	15.18	68.73	16.09	8.86	79.04	12.10	

[0184] 结果显示,制剂8在各种条件下,均表现出优异的稳定性,说明20mM的枸橼酸可以很好的维持苏金单抗的稳定。

[0185] 实施例5:抗人HER2单克隆抗体制剂3、制剂4的制备

[0186] 制剂3的组成为50mg/ml抗人HER2单克隆抗体(氨基酸序列见US5821337A,即本发明的SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4)、20mM醋酸、235mM蔗糖、0.2mg/ml聚山梨酯80,pH6.0。溶剂为水,用氢氧化钠调节pH。

[0187] 抗人HER2单克隆抗体为曲妥珠单抗,其序列如下:

[0188] 曲妥珠单抗的重链(SEQ ID NO:3):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWV
 ARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW
 GGDGFYAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
 DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC
 NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
 SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
 SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0190] 曲妥珠单抗的轻链(SEQ ID NO:4):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIY
 SASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTK
 VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
 SGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK
 SFNRGEC

[0192] 制备过程为:将经过纯化的抗人HER2单克隆抗体超滤浓缩至20~30mg/ml,使用10mM醋酸-氢氧化钠缓冲体系超滤置换8~12倍体积,再超滤浓缩至80~120mg/ml得到浓缩液。向浓缩液中添加配制的稀释用第三缓冲液(需要经过计算确认),混匀过滤得到浓度为50mg/ml的抗人HER2单克隆抗体蛋白原液,再灌装得到制剂3。

[0193] 10mM醋酸-氢氧化钠缓冲体系为含有10mM醋酸,用氢氧化钠调节pH为5.8的水溶液。

[0194] 稀释用第三缓冲液含有醋酸、蔗糖和聚山梨酯80。由于浓缩液的浓度存在差异,因此需要经过计算来配制和添加稀释用第三缓冲液,从而获得如上所述的制剂3。

[0195] 制剂4的组成为50mg/ml抗人HER2单克隆抗体(氨基酸序列见US5821337A,即本发明的SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4)、20mM醋酸、175mM精氨酸、0.2mg/ml聚山梨酯80,pH6.0。溶剂为水,用醋酸调节pH。

[0196] 制备过程为:将经过纯化的抗人HER2单克隆抗体超滤浓缩至20~30mg/ml,使用10mM醋酸+9.2mM精氨酸缓冲体系超滤置换8~12倍体积,再超滤浓缩至80~120mg/ml得到浓缩液。向浓缩液中添加配制的稀释用第四缓冲液(需要经过计算确认),混匀过滤得到浓度为50mg/ml的抗人HER2单克隆抗体蛋白原液,再灌装得到制剂4。

[0197] 10mM醋酸-精氨酸缓冲体系为含有10mM醋酸和9.2mM精氨酸的水溶液,此时pH为5.8(无需额外调pH值)。

[0198] 稀释用第四缓冲液含有醋酸、精氨酸和聚山梨酯80。由于浓缩液的浓度存在差异,因此需要经过计算来配制和添加稀释用第四缓冲液,从而获得如上所述的制剂4。

[0199] 实施例6:制剂3和制剂4的性能比较

[0200] 制剂3为现有技术的制剂,制剂4为本发明制剂。使用渗透压仪和微量黏度计检测,通过检测得到:制剂3的渗透压是326mOsmol/kg,黏度为1.91cP;制剂4的渗透压是312mOsmol/kg,黏度为1.65cP。

[0201] 对比制剂3、制剂4的渗透压可知,两者均在理想的渗透压摩尔浓度范围内(300±30mOsmol/kg)。低黏度的制剂在生产过程中更易于生产工艺的进行(在使用蠕动泵时有更低的剪切力、膜过滤时有更低反压不易堵塞),更利于患者自我注射(过高的黏度可产生组织反压及注射疼痛)。因此,相比于制剂3,制剂4由于具有更低的黏度,而更易于生产,以及更有利于经皮下注射途径给药(降低注射疼痛)。

[0202] 通过尺寸排阻色谱(SEC)检测,发现在表3所示的多种处理情形下,制剂4的主峰(即抗人HER2单克隆抗体)纯度更高且聚体峰更低(见表8),这说明制剂4具有更优异的稳定性。

[0203] 表8. 制剂3和制剂4在多种处理情形下的稳定性比较

SEC	0 时		高温 7 天		高温 14 天	
	聚体峰	主峰	聚体峰	主峰	聚体峰	主峰
制剂 3	1.88	97.46	2.08	97.65	1.97	95.63
制剂 4	1.79	97.77	1.85	97.85	1.73	95.01
SEC	光照 10 天		振动 3 天		冻融 3 次	
	聚体峰	主峰	聚体峰	主峰	聚体峰	主峰
制剂 3	5.32	93.95	2.03	97.80	2.01	97.78
制剂 4	4.20	95.41	1.92	97.91	1.91	97.93

[0205] 注:N/A表示未进行检测,无数据。

[0206] 以上详细描述了本发明的较佳具体实施例。应当理解,本领域的普通技术无需创造性劳动就可以根据本发明的构思作出诸多修改和变化。因此,凡本技术领域中技术人员依本发明的构思在现有技术的基础上通过逻辑分析、推理或者有限的实验可以得到的技术方案,皆应在由权利要求书所确定的保护范围内。

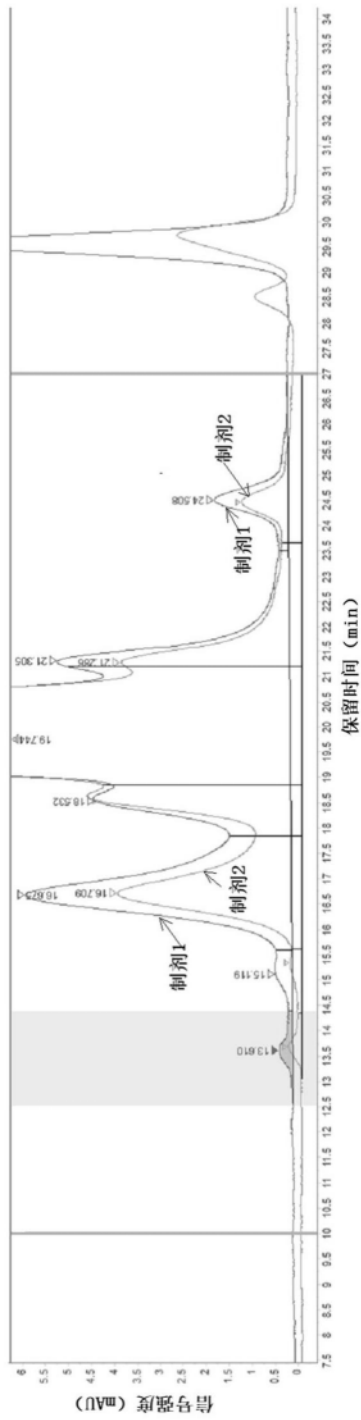


图1

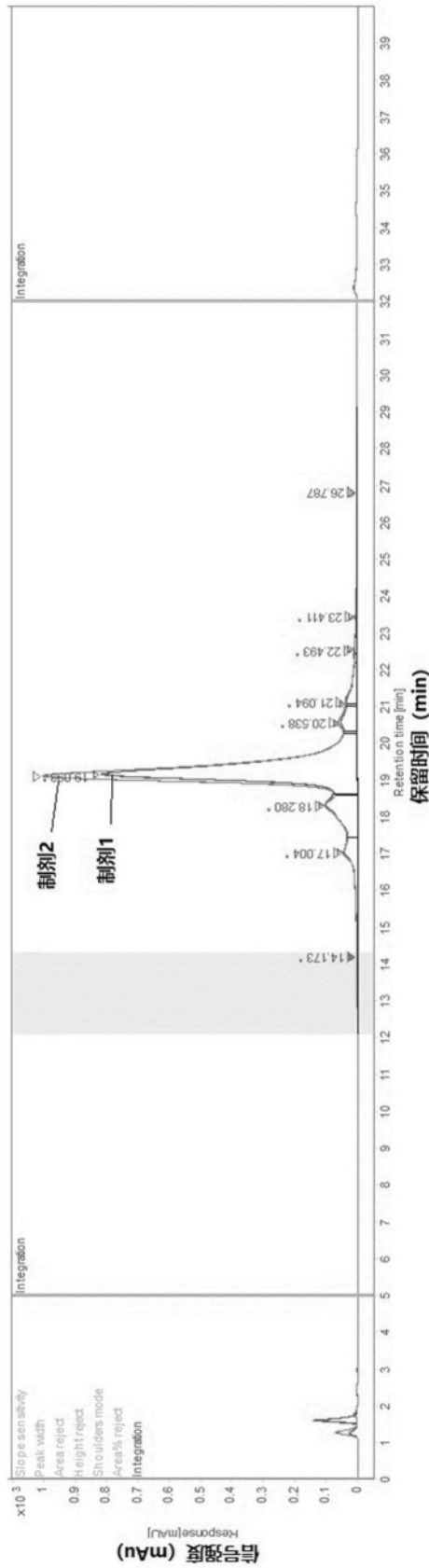


图2

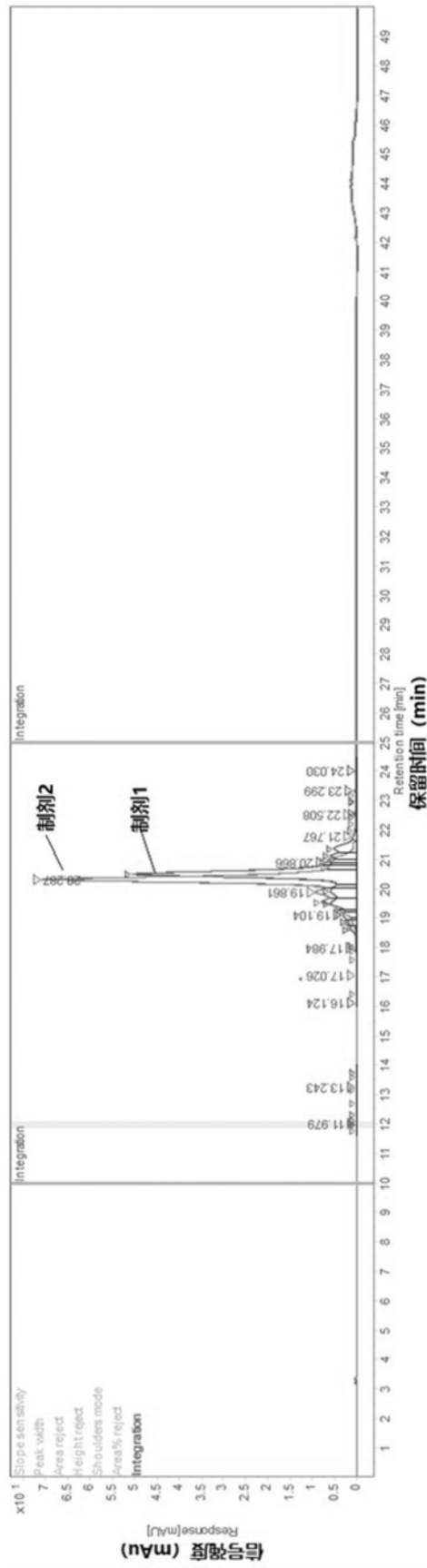


图3