

抗体制剂

相关申请的交叉引用

本申请是以 CN 申请号为 2023116187657，申请日为 2023 年 11 月 29 日的申请以及
5 CN 申请号为 2024116719780，申请日为 2024 年 11 月 21 日的申请为基础，并主张其优先
权，该 CN 申请的内容在此作为整体引入本申请中。

技术领域

本发明涉及治疗性抗体领域，更具体地，本发明涉及一种抗 EGFR 抗体药物组合物及
10 其医药用途。

背景技术

蛋白质类药物制剂，特别是抗体类药物制剂具有静脉、肌肉、皮下注射等多种给药方
式。但是，由于蛋白质分子本身的特性，其液体制剂常常会出现稳定性方面的问题，并且
15 对存储条件要求苛刻。另外，蛋白制剂在存储过程中容易形成聚体或颗粒，也会影响制剂
的生物稳定性、化学稳定性或物理稳定性。

重组抗表皮生长因子受体（EGFR）人鼠嵌合单克隆抗体具有复杂的高级结构，自身
稳定性较差。该抗体的现有制剂产品易形成聚体和蛋白颗粒，注射前需采用0.22μm的滤器
进行在线过滤。

20 因此，针对抗EGFR抗体，本领域需要稳定性好、使用方便的抗体制剂。

发明内容

本申请的发明人经过大量实验和反复摸索，出人意料地发现，具有特定组成的抗体药
物组合物具有优良的稳定性，含有高浓度蛋白有效成分和/或使用前不需要稀释或过滤，因
此本申请涉及特别有利于药品长期储存和临床用药的药物组合物及其制备方法和用途。

25 在第一方面，本申请涉及一种药物组合物，其包含抗体 0.5~10g/L，稳定剂 6~12 g/L，
表面活性剂 0.01~0.5g/L，以及缓冲体系；所述液体制剂的 pH 为 6.0~8.0；

所述稳定剂选自氯化钠、甘氨酸、蔗糖、山梨醇、脯氨酸中的一种或多种；

所述表面活性剂选自聚山梨酯 20 或聚山梨酯 80；

所述缓冲体系选自磷酸盐缓冲体系、柠檬酸盐缓冲体系或组氨酸盐缓冲体系。

30 在部分实施方案中，所述药物组合物包含抗体 1~8 g/L，优选包含抗体 1~3 g/L 或者
4~6g/L。

在部分实施方案中，所述药物组合物，其包含抗体 0.5~5g/L，稳定剂 6~12 g/L，表面活性剂 0.01~0.5g/L，以及缓冲体系；所述液体制剂的 pH 为 6.0~8.0；

所述稳定剂选自氯化钠、甘氨酸、蔗糖、山梨醇、脯氨酸中的一种或多种；

所述表面活性剂选自聚山梨酯 20 或聚山梨酯 80；

5 所述缓冲体系选自磷酸盐缓冲体系、柠檬酸盐缓冲体系或组氨酸盐缓冲体系。

在某些实施方案中，所述药物组合物包含抗体 1.8~2.2 g/L，稳定剂 7.632~9.328 g/L，表面活性剂 0.05~0.15 g/L，以及缓冲体系；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0。

在某些实施方案中，所述药物组合物包含抗体 4~6 g/L，稳定剂 7~10 g/L，表面活性剂 0.05~0.15 g/L，以及缓冲体系；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0。

10 在某些实施方案中，以 1000 ml 计，所述药物组合物包含抗体 1.8~2.2 g/L（例如 1.9 g/L、2.0 g/L 或 2.1 g/L），NaCl 7.632~9.328 g/L（0.13mol/L~0.16mol/L，例如 0.14mol/L 或 0.15mol/L），聚山梨酯 80 0.05~0.15 g/L（例如 0.06 g/L、0.07 g/L、0.08 g/L、0.09 g/L、0.10 g/L、0.11 g/L、0.12 g/L、0.13 g/L 或 0.14 g/L），磷酸二氢钠 0.369~0.451 g/L（2.7 mmol/L~3.3mmol/L，例如 2.8 mmol/L、2.9mmol/L、3.0mmol/L、3.1mmol/L 或 3.2mmol/L），磷
15 酸氢二钠 0.9~1.1 g/L（6.4 mmol/L~7.7mmol/L，例如 6.5 mmol/L、6.6 mmol/L、6.7 mmol/L、6.8 mmol/L、6.9 mmol/L、7.0mmol/L、7.1mmol/L、7.2mmol/L、7.3mmol/L、7.4mmol/L、7.5mmol/L 或 7.6mmol/L）；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0（例如 6.5、6.6、6.7、6.8 或 6.9）。

在某些实施方案中，以 1000 ml 计，所述药物组合物包含抗体 4~6 g/L（例如 4.0 g/L、
20 4.5 g/L、5.0 g/L、5.5 g/L 或 6.0 g/L），NaCl 7.632~9.328 g/L（0.13mol/L~0.16mol/L，例如 0.14mol/L 或 0.15mol/L），聚山梨酯 80 0.05~0.15 g/L（例如 0.06 g/L、0.07 g/L、0.08 g/L、0.09 g/L、0.10 g/L、0.11 g/L、0.12 g/L、0.13 g/L 或 0.14 g/L），磷酸二氢钠 0.369~0.451 g/L（2.7 mmol/L~3.3mmol/L，例如 2.8 mmol/L、2.9mmol/L、3.0mmol/L、3.1mmol/L 或 3.2mmol/L），磷酸氢二钠 0.9~1.1 g/L（6.4 mmol/L~7.7mmol/L，例如 6.5 mmol/L、6.6
25 mmol/L、6.7 mmol/L、6.8 mmol/L、6.9 mmol/L、7.0mmol/L、7.1mmol/L、7.2mmol/L、7.3mmol/L、7.4mmol/L、7.5mmol/L 或 7.6mmol/L）；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0（例如 6.5、6.6、6.7、6.8 或 6.9）。

在某些实施方案中，所述磷酸二氢钠为一水合物。

在某些实施方案中，所述磷酸氢二钠为无水物。

30 在某些实施方案中，所述抗体为抗 EGFR 抗体。

在某些实施方案中，所述抗 EGFR 抗体包含分别如 SEQ ID NO:1-3 所示的重链 CDRs，

以及分别如 SEQ ID NO:4-6 所示的轻链 CDRs。在某些实施方案中,所述抗 EGFR 抗体具有如 SEQ ID NO:7 所示的重链可变区以及如 SEQ ID NO:8 所示的轻链可变区。在某些实施方案中,所述抗 EGFR 抗体具有如 SEQ ID NO:9 所示的重链以及如 SEQ ID NO:10 所示的轻链。

5 在某些实施方案中,以 1000mL 计,所述药物组合物包含抗 EGFR 抗体 2.0 g,氯化钠 8.48 g,磷酸二氢钠(一水) 0.41g,无水磷酸氢二钠 1.0g,聚山梨酯 80 0.1g;所述液体制剂的 pH 为 6.7。

在某些实施方案中,以 1000mL 计,所述药物组合物包含抗 EGFR 抗体 5.0 g,氯化钠 8.48 g,磷酸二氢钠(一水) 0.41g,无水磷酸氢二钠 1.0g,聚山梨酯 80 0.1g;所述液体
10 制剂的 pH 为 6.7。

在第二方面,本申请涉及另一种药物组合物,其包含抗体 10~100g/L,稳定剂 50~100 g/L,表面活性剂 0.05~1.0 g/L,以及缓冲体系;所述液体制剂的 pH 为 5.0~7.5;

所述稳定剂选自氯化钠、甘氨酸、蔗糖、山梨醇、脯氨酸中的一种或多种;

15 所述表面活性剂选自聚山梨酯 20 或聚山梨酯 80;

所述缓冲体系选自磷酸盐缓冲体系、柠檬酸盐缓冲体系或组氨酸盐缓冲体系。

在某些实施方案中,所述药物组合物包含抗体 20~60 g/L,表面活性剂 0.1~0.3 g/L,稳定剂 80~90 g/L,所述药物组合物的 pH 为 5.2~6.2。

在某些实施方案中,以 1000 ml 计,所述药物组合物包含抗体 20~60 g/L(例如 40 g/L),
20 组氨酸和盐酸组氨酸共 10 mmol/L~20 mmol/L(例如 11 mmol/L、12 mmol/L、13 mmol/L、14 mmol/L、15 mmol/L、16 mmol/L、17 mmol/L、18 mmol/L 或 19 mmol/L),聚山梨酯 80 为 0.1~0.3 g/L(例如 0.15 g/L、0.2 g/L 或 0.25g/L),蔗糖 80 g/L~90 g/L(例如 81 g/L、82 g/L、83g/L、84 g/L、85 g/L、86 g/L、87 g/L、88 g/L 或 89 g/L),所述药物组合物的 pH 为 5.2~6.2(例如 5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0 或 6.1)。

25 在某些实施方案中,所述抗体为抗 EGFR 抗体。

在某些实施方案中,所述抗 EGFR 抗体包含分别如 SEQ ID NO:1-3 所示的重链 CDRs,以及分别如 SEQ ID NO:4-6 所示的轻链 CDRs。在某些实施方案中,所述抗 EGFR 抗体具有如 SEQ ID NO:7 所示的重链可变区以及如 SEQ ID NO:8 所示的轻链可变区。在某些实施方案中,所述抗 EGFR 抗体具有如 SEQ ID NO:9 所示的重链以及如 SEQ ID NO:10
30 所示的轻链。

在某些实施方案中,所述药物组合物以 1000 ml 计,包含抗 EGFR 抗体 20 g/L,组氨

酸-盐酸组氨酸 10-20mM, 聚山梨酯 80 为 0.2 g/L, 蔗糖 80 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.5±0.3。

在某些实施方案中, 所述药物组合物以 1000 ml 计, 包含抗 EGFR 抗体 20 g/L, 组氨酸-盐酸组氨酸 20mM, 聚山梨酯 80 为 0.2 g/L, 蔗糖 80 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.5±0.3。

在某些实施方案中, 所述药物组合物以 1000 ml 计, 包含抗 EGFR 抗体 20 g/L, 组氨酸 0.67 g/L, 盐酸组氨酸 3.29 g/L, 聚山梨酯 80 为 0.2 g/L, 蔗糖 80 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.5±0.3。

在某些实施方案中, 所述药物组合物以 1000 ml 计, 包含抗 EGFR 抗体 20 ~60g/L, 蔗糖 90g/L, 聚山梨酯 80 0.1~0.2 g/L 以及组氨酸-盐酸组氨酸 20mM, 所述药物组合物的 pH 为 5.5±0.3。

在某些实施方案中, 所述药物组合物以 1000 ml 计, 包含抗 EGFR 抗体 20g/L, 蔗糖 90g/L, 聚山梨酯 80 0.1 g/L 以及组氨酸-盐酸组氨酸 20mM, 所述药物组合物的 pH 为 5.5±0.3。

在某些实施方案中, 所述药物组合物以 1000 ml 计, 包含抗 EGFR 抗体 20 ~60 g/L, 组氨酸-盐酸组氨酸 10 mM, 聚山梨酯 80 为 0.2 g/L, 蔗糖 80 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.5±0.3。

在某些实施方案中, 所述药物组合物以 1000 ml 计, 包含抗 EGFR 抗体 60 g/L, 组氨酸-盐酸组氨酸 10 mM, 聚山梨酯 80 为 0.2 g/L, 蔗糖 80 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.2-5.8。

在某些优选的实施方案中, 本发明的药物组合物可以在 5°C±3°C 下稳定并可以储存至少约 2 周, 至少约 1 个月, 至少约 2 个月, 至少约 3 个月, 至少约 6 个月, 至少约 9 个月, 至少约 1 年或至少约 2 年。在某些优选的实施方案中, 本发明的药物组合物在约 40°C 下稳定并可以储存至少约 2 周, 至少约 1 个月, 至少约 2 个月, 至少约 3 个月, 至少约 6 个月, 至少约 9 个月, 至少约 1 年或至少约 2 年。在某些优选的实施方案中, 本发明的药物组合物在室温(例如约 25°C)稳定并可以储存至少约 2 周, 至少约 1 个月, 至少约 2 个月, 至少约 3 个月, 至少约 6 个月, 至少约 9 个月, 至少约 1 年或至少约 2 年。

在某些实施方案中, 所述药物组合物的规格为 150mg(10ml)/瓶至 2000mg(10ml)/瓶。

在某些实施方案中, 所述药物组合物的规格选自下组: 200mg(10ml)/瓶、600mg(10ml)/瓶、900mg(10ml)/瓶、1200mg(10ml)/瓶或 1500mg(10ml)/瓶。

本发明的药物组合物可采用本领域公知的方法将各种组分按预定浓度进行组合制备。

例如，可以将抗体透析至包含该液体制剂中其他组分的溶液中，并调整至所需浓度。采用 0.22 μ m 孔径的过滤器将制剂过滤除菌。对所制备的药物组合物进行包装以方便使用。包材可以是玻璃瓶(例如西林瓶)、金属合金容器、预填充注射器或笔式注射器。

在某些实施方案中，本发明提供一种用于稳定抗体的方法，其特征在于，所述方法通过 5 将抗体 0.5~5g/L，稳定剂 6~12 g/L，表面活性剂 0.01~0.5g/L，以及缓冲体系进行组合，并控制该组合的 pH 为 6.0~8.0 来进行。

在某些实施方案中，本发明提供一种用于稳定抗体的方法，其特征在于，所述方法通过将其包含抗体 10~100g/L，稳定剂 50~100 g/L，表面活性剂 0.05~1.0 g/L，以及缓冲体系进行组合，并控制该组合的 pH 为 5.0~7.5 来进行。

10 在某些实施方案中，所述抗体、表面活性剂、稳定剂、表面活性剂和/或缓冲体系如上文任意一项所述。

本发明的药物组合物可包含在任何适于储存药物以及其他药物组合物的容器中。例如，本发明的药物组合物可包含在具有一定体积的密封及灭菌的塑料容器、金属合金容器或玻璃容器中，诸如安瓿、西林瓶或注射器。因此，在某些优选的实施方案中，本发明的药物 15 组合物包含在玻璃小瓶(例如安瓿或西林瓶)、注射器或微量输液器中。在某些示例性实施方案中，本发明的药物组合物包含在玻璃小瓶(例如安瓿或西林瓶)中。

在某些实施方案中，所述药物组合物为液体。

在第三方面，本发明还提供一种固体制剂，其通过将上文所述的药物组合物冻干制备而成。在某些实施方案中，所述固体制剂为注射用冻干粉剂。

20 在第四方面，本发明还提供一种制品，其包含装有本发明药物组合物的容器。在某些实施方案中，所述容器为玻璃瓶，金属合金容器或预充注射器。在某些实施方案中，所述制品为注射用液体制剂或固体制剂。

在第五方面，本申请涉及一种药物制剂，所述药物制剂由本发明第二方面的药物组合物用盐酸-组氨酸缓冲液稀释得到。在某些实施方案中，稀释的倍数为 5-50 倍。在某些实 25 施方案中，稀释的倍数为 10-30 倍。在某些实施方案中，稀释的倍数为 10 倍。在某些实施方案中，所述盐酸-组氨酸缓冲液的 pH 为 5.2~6.2 (例如 5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0 或 6.1)。在某些实施方案中，所述药物制剂为注射用液体制剂。

在第六方面，本申请涉及上述任一项的药物组合物、药物制剂或制品在制备药物中的用途，所述药物用于：

- 30 (a).预防和/或治疗肿瘤；
(b).辅助治疗肿瘤；

(c).诊断肿瘤;

(d). (a)-(c)的任意组合。

在某些实施方案中,所述药物与另外的药学活性剂分开、联合、同时、或相继施用;任选地,所述另外的药学活性剂是化疗药物。

5 在某些实施方案中,本申请提供上述任一项的药物组合物、药物制剂或制品,其用于:

(a).预防和/或治疗肿瘤;

(b).辅助治疗肿瘤;

(c).诊断肿瘤;

(d). (a)-(c)的任意组合。

10 在某些实施方案中,本申请提供一种预防、治疗、辅助治疗和/或诊断肿瘤的方法,所述方法包括给予有需要的个体治疗有效量的上述任一项的药物组合物、药物制剂或制品。

在某些实施方案中,所述肿瘤选自乳腺癌、肺癌例如非小细胞性肺癌或肺鳞癌、肝癌、胃癌、肠癌例如结肠癌或者直肠癌、食管癌、卵巢癌、宫颈癌、肾癌、前列腺癌、膀胱癌、胰腺癌、Merkel 细胞癌、胆管癌、鼻咽癌、头颈鳞癌、神经胶质瘤、黑素瘤、白血病和淋巴瘤。

15 在某些实施方案中,所述肿瘤选自结直肠癌;优选地,所述肿瘤选自 RAS 野生型转移性结直肠癌。

在某些实施方案中,上述任一项的药物组合物、药物制剂或制品在受试者体内的药时曲线下面积(AUC)为 5000 h* μ g/mL 以上、6000 h* μ g/mL 以上、7000 h* μ g/mL 以上、
20 8000 h* μ g/mL 以上、9000 h* μ g/mL 以上、10000 h* μ g/mL 以上、或者 11000 h* μ g/mL 以上,在某些实施方案中,不高于 14000 h* μ g/mL。

在某些实施方案中,所述 AUC 为 AUC_{0-t}。

在某些实施方案中,上述任一项的药物组合物、药物制剂或制品在受试者体内的达峰浓度(C_{max})为 50~500 μ g/mL、60~450 μ g/mL、70~400 μ g/mL、80~300 μ g/mL、90~250 μ g/mL、
25 或 100~200 μ g/mL。

在某些实施方案中,上述任一项的药物组合物、药物制剂或制品在受试者体内的末端消除半衰期(t_{1/2})为 10 小时以上、20 小时以上、30 小时以上、40 小时以上、或 45 小时以上,在某些实施方案中,不高于 60 小时。

在某些实施方案中,上述任一项的药物组合物、药物制剂或制品在受试者体内的清除率(CL)为 0.1 L/h 以下、0.09 L/h 以下、0.08 L/h 以下、0.07 L/h 以下、0.06 L/h 以下、
30 0.05 L/h 以下,在某些实施方案中,不低于 0.03 L/h。

在某些实施方案中，对所述受试者的给药剂量根据体表面积 (BSA) 计算为 50~500 mg/m²、优选为 100~400 mg/m²、进一步优选为 250mg/m²。

在某些实施方案中，一个给药周期内，对所述受试者的给药次数为 1~5 次（例如 1、2、3、4 或 5 次），优选为给药 1 次。

5 在某些实施方案中，对所述受试者的给药方式为口服或静脉给药，优选为静脉给药。

在第七方面，本申请涉及上述任一项药物组合物、药物制剂或制品在制备注射用液体制剂中的用途。

定义

在本发明中，除非另有说明，否则本文中使用的科学和技术名词具有本领域技术人员
10 所通常理解的含义。并且，本文中所用的细胞培养、生物化学、核酸化学、免疫学实验室等操作步骤均为相应领域内广泛使用的常规步骤。同时，为了更好地理解本发明，下面提供相关术语的定义和解释。

如本文中所使用的，术语“抗体”是在最广泛的意义上使用的，包括各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体（例如，双特异性抗体）和抗体片段，
15 只要它们表现出所需的抗原结合活性。例如，可由两对多肽链（每对具有一条轻链(LC)和一条重链(HC)）组成的免疫球蛋白分子。抗体轻链可分类为 κ (kappa) 和 λ (lambda) 轻链。重链可分类为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，并且分别将抗体的同种型定义为 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE。在轻链和重链内，可变区和恒定区通过大约 12 或更多个氨基酸的“J”区连接，重链还包含大约 3 个或更多个氨基酸的“D”区。各重链由重链可变区(VH)和重链恒定区
20 (CH)组成。重链恒定区由 3 个结构域(CH1、CH2 和 CH3)组成。各轻链由轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)组成。轻链恒定区由一个结构域 CL 组成。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合，但展现出多种效应子功能，如可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子，包括免疫系统的各种细胞(例如，效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)的结合。VH 和 VL 区还可被细分为具有高变性的区域(称为互补决定区(CDR))，其间散布有较保守的称为构
25 架区(FR)的区域。各 VH 和 VL 由按下列顺序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 从氨基末端至羧基末端排列的 3 个 CDR 和 4 个 FR 组成。各重链/轻链对的可变区 (VH 和 VL)分别形成抗原结合部位。氨基酸在各区域或结构域的分配可遵循 Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), 或 Chothia & Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia 等人
30 (1989) Nature 342:878-883 的定义。

在本文中，除非上下文明确指出，否则当提及术语“抗体”时，其不仅包括完整抗体，

而且包括抗体的抗原结合片段。

如本文中所使用的,术语“互补决定区”或“CDR”是指抗体可变区中负责抗原结合的氨基酸残基。这些氨基酸残基的精确边界可根据本领域已知的各种编号系统进行定义,例如可按照 AbM 编号系统 (Martin ACR, Cheetham JC, Rees AR (1989) *Modelling antibody*
5 *hypervariable loops: A combined algorithm. Proc Natl Acad Sci USA* 86:9268–9272) 或 IMGT 编号系统 (Lefranc et al., *Dev. Comparat. Immunol.* 27:55-77, 2003) 中的定义。对于给定的抗体,本领域技术人员将容易地鉴别各编号系统所定义的 CDR。并且,不同编号系统之间的对应关系是本领域技术人员熟知的(例如,可参见 Lefranc et al., *Dev. Comparat. Immunol.* 27:55-77, 2003)。

10 在本发明中,本发明的抗体或其抗原结合片段含有的 CDR 可根据本领域已知的各种编号系统确定。在某些实施方案中,本发明的抗体或其抗原结合片段含有的 CDR 优选地通过 IMGT、Kabat、Chothia 或 AbM 编号系统确定。

术语“抗 EGFR 抗体”是指能够特异性结合 EGFR 的抗体。术语“特异性结合”是指抗体与抗原形成在生理条件下相对稳定的复合物。特异性结合可通过约 $1 \times 10^{-9} \text{M}$ 或更小的平衡解离常数(KD)来表征。用于确定两个分子是否特异性结合的方法是本领域公知的,例如
15 生物发光干涉测量法或表面等离子共振技术(例如 Biacore)。

如本文中所使用的,术语“液体制剂”表示至少一种活性成分(例如抗体,其能够在受试者中发挥生物活性)以及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组合时,适合于施用给受试者。通常,液体制剂不含有对会施用该制剂的受试者有不可接受的
20 毒性的成分。在本文中,受试者可以包括哺乳动物,优选为人。

如本文中所使用的,表述抗体的“稳定性”是指一种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。贮藏期一般基于制剂的预定货架期来选择。用于测量抗体稳定性的分析技术是本领域所公知的,可以在选定温度下用选定时间测定稳定性(例如,在 40°C 下储存至少 28 天并检测期间的抗体稳定性,或者在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下储存至少 12
25 个月并检测期间的抗体稳定性)。

对于物理稳定性而言,如果在通过对颜色和/或透明度进行肉眼检查,或通过 UV 光散射或通过大小排阻层析测定时基本没有表现出明显的聚集,沉淀和/或变性的迹象,则认为制剂中的抗体保持它的物理稳定性。

对于化学稳定性而言,可以通过检测和定量所述抗体的化学改变形式来进行评估。化学改变可能涉及大小改变(例如,剪切),例如,可以通过采用大小排阻层析, SDS-PAGE 和/或矩阵辅助的激光解析离子化/飞行时间质谱分析(MALDI/TOF MS)进行评估。其他类型
30

的化学改变包括电荷改变(例如, 因为脱酰胺导致的改变), 例如, 可以通过离子交换层析对它进行评估。

对于生物学活性而言, 如果一种制剂中的抗体具有它预期用途的生物学活性, 则所述抗体在制剂中保持它的生物学活性。例如, 如果所述制剂中的抗体的生物学活性为在制备所述制剂时所表现出的生物学活性的大约 70%~130%(例如 80%~130%)内, 就认为保持了它的生物学活性(例如, 通过抗原结合测定确定)。

如本文中所使用的, 术语“缓冲液”是指通过其酸-碱共轭成分的作用来抵抗 pH 的改变的缓冲溶液。此类缓冲液的例子包括乙酸盐、琥珀酸盐、葡糖酸盐、组氨酸、柠檬酸盐、甘氨酸、甘氨酸及其他有机酸缓冲液。

术语“组氨酸缓冲液”是指包含组氨酸的缓冲液, 该缓冲液中的组氨酸可以以单独存在, 或以以下形式存在: 例如, 组氨酸盐酸盐、组氨酸乙酸盐、组氨酸磷酸盐或组氨酸硫酸盐。当组氨酸不是以单独存在时, 组氨酸缓冲液(例如组氨酸盐酸盐缓冲液)可以通过用相应的酸(例如盐酸)滴定 L-组氨酸(游离碱, 固体)进行制备。当组氨酸以单独形式存在时, 后续制备步骤可根据实际情况加入 pH 调节剂以获得适宜 pH 值范围的液体制剂。在某些优选的实施方案中, 适用于本文公开的液体制剂中的组氨酸缓冲液中的组氨酸单独存在或以组氨酸盐酸盐形式存在。

有益效果

本发明提供满足多种需求的抗体(例如重组抗表皮生长因子受体(EGFR)人鼠嵌合单克隆抗体)药物组合物, 具有以下优点中的一种或多种: 有效改善抗体在长期保存条件下的稳定性, 无蛋白颗粒形成; 可直接输注, 方便临床使用; 和/或含有高浓度抗体成分, 方便存储及运输, 降低成本。

具体实施方式

现参照下列意在举例说明本发明(而非限定本发明)的实施例来描述本发明。除非特别指明, 否则基本上按照本领域内熟知的以及在各种参考文献中描述的常规方法进行实施例中描述的实验和方法。实施例中未注明具体条件者, 按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者, 均为可以通过市购获得的常规产品。本领域技术人员知晓, 实施例以举例方式描述本发明, 且不意欲限制本发明所要求保护的范围。本文中提及的全部公开专利和其他参考资料以其全文通过引用合并入本文。

1. 序列信息

实施例涉及的抗体(以下简称为“抗体 A”)具有如下表 1 所描述的序列信息。

表 1: 抗体 A 序列的描述

SEQ ID NO.	描述	序列信息
1	抗体 A 重链 CDR-H1	NYGVH
2	抗体 A 重链 CDR-H2	VIWSGGNTDYNTPPTS
3	抗体 A 重链 CDR-H3	ALTYDYEFAY
4	抗体 A 轻链 CDR-L1	RASQSIGTNIH
5	抗体 A 轻链 CDR-L2	YASESIS
6	抗体 A 轻链 CDR-L3	QQNNNWPTT
7	抗体 A 重链 可变区	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQ SPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPPTSRLSINKDNSKSQVF FKMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVS A
8	抗体 A 轻链 可变区	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRN GSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVEEDIA DYQCQQNNNWPTTFGAGTKLELK
9	抗体 A 重链	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQS PGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPPTSRLSINKDNSKSQVFF KMNSLQSNDAIYYCARALTYDYEFAYWGQGTLVTVSA ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVQLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPGK
10	抗体 A 轻链	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRN GSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVEEDIA DYQCQQNNNWPTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

2.试剂来源

抗体 实施例所使用的抗体 A 是重组抗表皮生长因子受体(Epidermal growth factor
5 receptor, EGFR)人鼠嵌合单克隆抗体,其氨基酸序列如上表 1 所示。抗体 A 由中国仓鼠
卵巢细胞(CHO)细胞表达,经无血清细胞培养、分离和高度纯化而得。

其他成分: 实施例所使用的其他成分均为市售产品。

3.测试方法

实施例所涉及的实验分别采用如下测试方法：

(1) DSF 检测

用样品缓冲液将样品稀释，以 SYPRO™ Orange Protein Gel Stain 为染料，使用 Applied Biosystems 7500 qPCR 仪采集样品熔解曲线。

5 (2) 聚山梨酯 80 浓度检测

依据《中国药典》2020 版通则 3203“聚山梨酯 80 残留量测定法”检测。

(3) 不溶性微粒

依照《中国药典》现 2020 版通则 0903“不溶性微粒检查法(光阻法)”测定。

(4) 外观

10 在暗室中进行检查，光照度为 1000 lx-1500lx，直接目测。

(5) pH 值

采用 pH 计检测。

(6) SEC-HPLC

选取 G3000SWxl 色谱柱，1%异丙醇-磷酸盐缓冲液作为流动相进行等度洗脱。

15 (7) IEC-HPLC

选取 WCX-10 色谱柱，采用 10mM 磷酸盐-100mM 氯化钠 (pH6.8) 作为流动相，对待测样品进行梯度洗脱。

(8) 蛋白质含量

20 取 100μl 样品于比色皿，测定 A279-A320 吸光值，测定 3 次取均值，根据消光系数计算蛋白含量。

实施例 I-1 具有不同缓冲体系的制剂的稳定性

在 40°C±2°C/75%RH±5%RH 的高温条件下，以及白光 4500lx±500lx 的光照条件下，分别测试制剂 I-1-1 和制剂 I-1-2 的稳定性。

25 (1) 制剂 I-1-1 的成分为：抗体 A 为 2mg/ml，氯化钠 8.48g/L，磷酸氢二钠 1.88g/L，磷酸二氢钠 0.41g/L，pH 7.0；

(2) 制剂 I-1-2 的成分为：抗体 A 为 2mg/ml，甘氨酸 7.51g/L，聚山梨酯 80 0.1g/L，柠檬酸 2.10g/L。稳定性测试结果如表 2 所示：

表 2 不同缓冲液制剂的稳定性测试结果

检测条件	SEC-HPLC 主峰 (%)	
	制剂 I-1-1	制剂 I-1-2
0 天	99.4	99.5

高温条件 10 天	98.5	96.2
光照条件 10 天	99.0	96.5

结果显示，采用磷酸盐缓冲体系的制剂 I-1-1 在高温条件及光照条件下的稳定性均优于采用柠檬酸盐缓冲体系的制剂 I-1-2。

实施例 I-2 具有不同表面活性剂浓度的制剂的稳定性实验

按照以下成分配制抗体 A 制剂 I-2-A~I-2-C：

5 制剂 I-2-A：以 1000 ml 计，含有 2g 抗体 A、8.48g 氯化钠、1.88g 七水合磷酸氢二钠、0.41g 一水磷酸二氢钠，0.05g 聚山梨酯 80；

 制剂 I-2-B：以 1000 ml 计，含有 2g 抗体 A、8.48g 氯化钠、1.88g 七水合磷酸氢二钠、0.41g 一水磷酸二氢钠，0.1g 聚山梨酯 80；

 制剂 I-2-C：以 1000 ml 计，含有 2g 抗体 A、8.48g 氯化钠、1.88g 七水合磷酸氢二钠、10 0.41g 一水磷酸二氢钠，0.2g 聚山梨酯 80；

检测上述制剂的不溶性微粒情况。结果如表 3 所示：

表 3 制剂的不溶性微粒的检测结果

制剂编号	≥25μm 的不溶性微粒（个/ml）	
	0 天	40℃，220rpm 振荡 3 天
I-2-A	1.0	0.4
I-2-B	0.8	0.5
I-2-C	0.5	0.2

另外，在 40℃，220rpm 振荡 3 天的条件下，上述制剂的≥10μm 的不溶性微粒数量与 0 天相比也无明显变化，且符合不溶性微粒数量的质量标准。

15 以上结果表明，具有不同聚山梨酯 80 浓度的本发明制剂均能有效地抑制抗体 A 聚集产生不溶性微粒，有效防止蛋白聚体形成。

实施例 I-3 pH 筛选试验

按照以下成分配制抗体 A 制剂 I-3-A~I-3-C：

20 I-3-A：包含抗体 A 2mg/ml，氯化钠 8.48g/L，0.1g 聚山梨酯 80，并加入磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲体系使制剂的 pH 为 6.1；

 I-3-B：包含抗体 A 2mg/ml，氯化钠 8.48g/L，0.1g 聚山梨酯 80，并加入磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲体系使制剂的 pH 为 6.7；

 I-3-C：包含抗体 A 2mg/ml，氯化钠 8.48g/L，0.1g 聚山梨酯 80，并加入磷酸氢二钠25 -磷酸二氢钠缓冲体系使制剂的 pH 为 7.3；

通过 DSF 法测试不同 pH 的抗体制剂的蛋白疏水结构域暴露温度（T_h），结果见表 4。

表 4 不同 pH 抗体制剂的 T_h 值结果

制剂编号	T_h
I-3-A	71.80
I-3-B	71.66
I-3-C	70.17

结果显示，在 pH 为 6.1~7.3 的范围内，蛋白疏水结构域暴露温度（ T_h ）值无明显差异，说明该 pH 范围内的制剂中抗体均具有良好的稳定性。

5 实施例 I-4. 制剂稳定性试验

按照以下成分配制抗体 A 制剂 I：以 1000 ml 计，抗体 A 2.0 g，氯化钠 8.48 g，磷酸二氢钠（一水）0.41g，无水磷酸氢二钠 1.0g，聚山梨酯 80 为 0.1g，pH6.7。在 $40\pm2^{\circ}\text{C}$ 和 $5\pm3^{\circ}\text{C}$ 及各种影响因素试验条件下检测抗体 A 制剂 I 的稳定性，其结果如表 5-表 7 所示：

表 5. 抗体 A 制剂 I 在 $5\pm3^{\circ}\text{C}$ 长期条件下的稳定性数据

检测项		0 天	48 个月
外观		无色澄明液体	无色澄明液体
SEC-HPLC	主峰（%）	98.8	98.3
蛋白质含量		2.0	2.0

10 另外，在 $5\pm3^{\circ}\text{C}$ 长期条件下储存 48 个月后，抗体 A 制剂 I 的生物学活性数据、不溶性微粒个数以及 IEC-HPLC 检测数据与 0 天相比均未出现明显差异，并且均符合质量标准。

由以上结果可以看出，本发明的抗体 A 制剂 I 在长期条件下具有良好的稳定性，储存 48 个月时各项指标均无明显变化。

15 表 6 抗体 A 制剂 I 在高温（ $40^{\circ}\text{C}\pm2^{\circ}\text{C}$ ）试验下的稳定性数据

检测项		0 天	10 天
外观		无色澄明液体	无色澄明液体
SEC-HPLC	主峰（%）	99.1	98.7
蛋白质含量		2.1	2.1

另外，在高温（ $40^{\circ}\text{C}\pm2^{\circ}\text{C}$ ）条件下储存 10 天后，抗体 A 制剂 I 的生物学活性数据、不溶性微粒个数以及 IEC-HPLC 检测数据与 0 天时的数据相比未出现明显差异，并且均符合质量标准。

由以上结果可以看出，高温下存储 10 天后各项指标均无明显变化，且符合质量标准，
20 说明本发明的抗体 A 制剂 I 在高温条件下具有良好的稳定性。

表 7 抗体 A 制剂 I 在反复冻融（ -20°C /室温）条件下的稳定性数据

检测项		0 天	冻融 3 次
外观		无色澄明液体	无色澄明液体
SEC-HPLC	主峰 (%)	99.1	99.0
IEC-HPLC	酸峰 (%)	14.1	13.8
蛋白质含量		2.1	2.1

由表 7 数据可以看出，本发明的抗体 A 制剂 I 经过 3 次-20℃/室温的冻融过程，制剂各项指标均未产生明显变化，说明该制剂对于反复冻融具有良好的稳定性。

另外，抗体 A 制剂 I 在光照条件下存储 10 天后与避光对照组相比，SEC-HPLC 以及 IEC-HPLC 检测数据的差异均不明显，说明本发明的抗体 A 制剂 I 在光照条件下具有良好的稳定性。

并且，抗体 A 制剂 I 在 25±2℃加速条件下储存 6 个月后，抗体 A 制剂 I 的生物学活性数据、不溶性微粒个数、SEC-HPLC 以及 IEC-HPLC 检测数据与 0 天相比未出现明显差异，并且均符合质量标准。

由上述结果可以看出，本发明的抗体 A 制剂 I 在加速条件、长期条件、高温条件、光照条件以及反复冻融等各种影响因素下具有良好的稳定性。

实施例 I-5. 制剂稳定性实验

按照以下成分配制抗体 A 制剂 I-5-A 及 I-5-B 并检测它们的存储稳定性。

抗体 A 制剂 I-5-A：以 1000 ml 计，抗体 A 2.00g，氯化钠 8.48 g，磷酸二氢钠（一水）0.41g，无水磷酸氢二钠 1.00g，聚山梨酯 80 为 0.10g，pH6.7。

抗体 A 制剂 I-5-B：以 1000 ml 计，抗体 A 5.00 g，氯化钠 8.48 g，磷酸二氢钠（一水）0.41g，无水磷酸氢二钠 1.00g，聚山梨酯 80 为 0.10g，pH6.7。

稳定性测试结果详见表 8：

表 8. 制剂在 25℃±2℃条件下的稳定性数据

检测项		制剂 I-5-A		制剂 I-5-B	
		0 天	3 个月	0 天	3 个月
SEC-HPLC	主峰 (%)	97.9	97.6	97.8	97.7
	聚合体 (%)	2.1	2.0	2.2	2.0

由以上结果可以看出，两种制剂在存储 3 个月后 SEC-HPLC 色谱上的主峰及聚合体含量均无明显变化。SEC-HPLC 色谱检测的低分子量以及采用 IEC-HPLC、非还原及还原 CE-SDS 色谱检测的各项指标数据均无明显变化。这些结果说明本发明制剂（例如制

剂 I-5-A 及 I-5-B) 都具有良好的稳定性。

实施例 I-6. 光照稳定性实验

按照以下成分配制抗体 A 制剂 I-6-A 及对照制剂 I 和对照制剂 II 并检测它们在光照
5 条件 (4500±500lx、5±3℃) 下的稳定性。

抗体 A 制剂 I-6-A: 以 1000 ml 计, 抗体 A 2.00g, 氯化钠 8.48 g, 磷酸二氢钠 (一水)
0.41g, 无水磷酸氢二钠 1.00g, 聚山梨酯 80 为 0.10g, pH6.7。

对照制剂 I: 以 1000 ml 计, 抗体 A 为 5 g、5.84 g 氯化钠、7.51 g 甘氨酸、0.1 g 聚山
梨酯 80、2.10 g 一水合柠檬酸, pH5.3-5.7。

10 对照制剂 II: 以 1000 ml 计, 抗体 A 为 2 g、8.48 g 氯化钠、1.88 g 七水合磷酸氢二
钠、0.41 g 一水磷酸二氢钠, pH7.0-7.4。

表 9. 光照稳定性测试结果

制剂编号	测试时间	SEC-HPLC (%)	
		聚合物	单体
制剂 I-5-A	0 天	2.4	97.5
	光照 7 天	2.4	97.5
对照制剂 I	0 天	0.3	99.5
	光照 7 天	3.5	96.2
对照制剂 II	0 天	0.5	99.3
	光照 7 天	2.6	97.2

由表 9 结果可见, 在光照条件下放置 7 天后, 本发明制剂 (如制剂 I-5-A) 的聚合物、
单体均无明显变化。然而, 两种对照制剂的聚合物含量均明显上升; 单体含量均有明显下
15 降趋势。表明本发明制剂在光照条件下的稳定性明显优于对照制剂。

临床试验例

以下临床试验例中采用的制剂为 (以下称为“抗体 A 制剂 I”): 规格 100 mg (50ml)
/瓶, 每瓶含 100 mg 的抗体 A、424 mg 的 NaCl、5 mg 的聚山梨酯 80、20.5 mg 的磷酸二
氢钠 (一水)、50 mg 的无水磷酸氢二钠, pH 值为 6.7。

20 (1) 本发明制剂治疗转移性结直肠癌的疗效和安全性

本研究共入组 18 例转移性结直肠癌患者 (低剂量组: 9 例、高剂量组: 9 例), 给药
途径为静脉注射抗体 A 制剂 I, 首次给药后观察 4 周, 之后每周一次给药。低剂量组给药
剂量为首次/100mg/m², 4 周后 250mg/m², 高剂量组给药剂量为首次 400mg/m², 4 周后 400

mg/m² 或 250mg/m²。研究结果显示，结直肠癌患者在上述剂量下，具有可以接受的安全性。其中 13 例受试者在治疗后接受了疗效评估，有 8 例高剂量组受试者获得 PR（部分缓解），显示了本发明的抗体 A 制剂 I 在转移性结直肠癌治疗中具有疗效。

（2）本发明制剂的药代动力学和安全性

在 80 名健康受试者中进行了体内药代动力学、安全性研究，对试验组受试者（40 例）施予抗体 A 制剂 I，给药剂量为 250mg/m²，所述给药剂量根据体表面积（BSA）计算。BSA (m²)=[(体重 (kg)× 身高 (cm))/3600]。单次静脉给药。通过对主要药代动力学参数 AUC_{0-t}，以及其他药代动力学参数进行统计分析，结果如下表所示：

药代参数	平均值±SD
AUC _{0-t} (h*μg/mL)	11401.12±2108.45
C _{max} (μg/mL)	161.21±22.55
T _{max} (h)	4.00
t _{1/2} (h)	47.84±11.95
CL (L/h)	0.04±0.01
V _d (L)	2.69±0.84

注：AUC_{0-t} 表示从时间零点到最后一个可量化浓度的浓度-时间曲线下的面积。

上述结果显示本发明制剂（例如抗体 A 制剂 I）的药代动力学性质良好。在安全性方面，未发生严重不良事件，未发生死亡。大多数治疗期间的不良反应（TEAE）发生在给药后几天，严重程度较轻，并且大多数无需任何医疗干预即可缓解。出现 3 级以上 TEAE 的受试者比例低于 25%。受试者身体和生命体征并未显示出与治疗随时间推移相关的任何变化，说明本发明制剂（例如抗体 A 制剂 I）具有较好的安全性。

（3）本发明制剂对 RAS 野生型结直肠癌患者的疗效

52 例 RAS 野生型结直肠癌患者入组研究，试验组和对照组患者分别接受抗体 A 制剂 I +mFOLFOX6、安慰剂+mFOLFOX6 作为一线治疗方案。

试验组和对照组中所有结直肠癌患者的中位无进展生存期（PFS）分别为 23.89 个月和 14.78 个月。试验组与对照组中所有结直肠癌患者组间 PFS 率的 P 值为 0.0389（P<0.05），表明两组间患者的 PFS 的差异有统计学意义。研究结果表明 RAS 野生型转移性结直肠癌患者接受治疗后，试验组（抗体 A 制剂 I 联合 mFOLFOX6）相较于对照组（安慰剂联合 mFOLFOX6）整体表现出较好的疗效趋势。并且安全性结果显示，抗体 A 制剂 I 具有较好的安全性。

实施例 II-1 不同成分制剂的稳定性考察

配制 II-1-1~II-1-8 共 8 组抗体 A 的制剂，各组制剂的 pH 均为 5.5，其中，II-1-1 组制剂的成分为：抗体 A 20g/L，蔗糖 90g/L，聚山梨酯 80 0.1 g/L 以及 10mM 的柠檬酸盐缓冲液；II-1-2~II-1-8 组制剂均采用 10mM 组氨酸盐缓冲液，该组氨酸盐缓冲液由组氨酸及盐
5 酸组氨酸混合配制而成。其中 II-1-3 组制剂成分为：抗体 A 20g/L，蔗糖 90g/L，聚山梨酯 80 0.1 g/L 以及 10mM 的组氨酸盐缓冲液；II-1-2 组制剂在 II-1-3 组制剂成分的基础上抗体 A 浓度调整为 10 g/L；II-1-4~II-1-6 组制剂在 II-1-3 组制剂成分的基础上将 90g/L 的蔗糖分别替换为 8.48g/L 氯化钠、28.75g/L 的脯氨酸、或者 50g/L 的山梨醇；II-1-7 组制剂在 II-1-3 组制剂成分的基础上聚山梨酯 80 浓度调整为 0.3g/L；II-1-8 组制剂在 II-1-3 组制剂
10 成分的基础上将 0.1g/L 的聚山梨酯 80 替换为 0.1g/L 的聚山梨酯 20。

在 40°C 高温条件下存放 28 天后测定各组制剂的稳定性，根据测试结果，采用柠檬酸缓冲液的 II-1-1 组制剂外观出现明显不溶性异物，采用组氨酸缓冲液的 II-1-2~II-1-3、II-1-6~II-1-8 组制剂外观仍为无色澄明液体。说明与柠檬酸缓冲体系相比，组氨酸缓冲体系的制剂具有更好的稳定性。

15 另外，抗体 A 浓度为 10g/L 的 II-1-2 组制剂与抗体 A 浓度为 20g/L 的 II-1-3 组制剂在 40°C 高温条件下存放 28 天后外观均维持无色澄明液体状态，蛋白含量、SEC-HPLC、IEC-HPLC 各项指标与 0 天时相比均无明显差异，符合质量标准。说明不同抗体 A 浓度的制剂均具有良好的稳定性。

其余稳定性检测结果如表 10-11 所示：

20 表 10. 辅料不同的制剂的稳定性考察结果

组别	取样时间	外观	蛋白含量 (mg/ml)	SEC-HPLC	IEC
				主峰(%)	酸性峰 (%)
II-1-3	0 天	无色澄明液体	19.7	98.8	12.3
	40°C 28 天	无色澄明液体	19.4	96.7	15.7
II-1-4	0 天	无色澄明液体	19.6	98.8	12.3
	40°C 28 天	大量烟雾状颗粒	19.4	95.2	14.8
II-1-5	0 天	无色澄明液体	20.1	98.9	12.3
	40°C 28 天	大量烟雾状颗粒	19.7	96.5	16.4
II-1-6	0 天	无色澄明液体	19.8	98.9	12.3
	40°C 28 天	无色澄明液体	19.4	96.7	16.4

由上表 10 数据可以看出，氯化钠组(II-1-4)和脯氨酸组(II-1-5)在 40°C 下存放 28 天后外观出现大量烟雾状颗粒； II-1-3 组及 II-1-6 组制剂稳定性更好，其外观保持无色澄明，且 IEC 纯度方面，含蔗糖的 II-1-3 组制剂进一步优于含山梨醇的 II-1-6 组制剂，说明辅料

采用蔗糖更有利于制剂的稳定性。

表 11. 聚山梨酯浓度和种类不同的制剂的稳定性考察结果

组别	取样时间	外观	蛋白含量 (mg/ml)	SEC-HPLC	IEC
				主峰(%)	酸性峰 (%)
II-1-3	0 天	无色澄明液体	19.7	98.8	12.3
	40°C 28 天	无色澄明液体	19.4	96.7	15.7
II-1-7	0 天	无色澄明液体	19.9	98.9	12.3
	40°C 28 天	无色澄明液体	19.9	96.7	15.9
II-1-8	0 天	无色澄明液体	20.1	98.9	12.3
	40°C 28 天	无色澄明液体	20.3	96.6	15.8

由上表数据可以看出，不同聚山梨酯 80 浓度以及聚山梨酯 20 的 II-1-3、II-1-7 及 II-1-8 组制剂均具有较好的稳定性。

实施例 II-2 长期及加速条件下制剂稳定性试验

测试实施例 II-1 中的 II-1-3 组制剂在加速条件（25°C，60%RH±5%RH）和长期条件（5°C）下的稳定性，测试结果如表 12 所示。

表 12. II-1-3 组制剂的稳定性考察结果

取样时间	蛋白含量 (mg/ml)	SEC-HPLC 主峰(%)	IEC 酸性峰 (%)
0 天	19.7	98.8	12.3
25°C 3 个月	19.6	98.2	12.7
5°C 6 个月	20.7	98.9	11.1

由表 12 数据可见，II-1-3 组注射剂的蛋白含量、SEC-HPLC、IEC 各项指标与 0 天时相比均未产生明显变化。并且，经过 5°C 条件下存储 6 个月，制剂外观仍保存无色澄明液体状。上述结果说明，本发明制剂在加速条件和长期条件下均具有良好的稳定性

实施例 II-3 不同抗体浓度制剂的稳定性考察

根据下表 13 所示成分配制 II-3-1~ II-3-3 共 3 组制剂，并测试各组制剂在不同存储条件下的稳定性，测试结果如表 14-15 所示。

表 13. 抗体 A 注射剂各组处方成分

制剂编号	缓冲体系	蛋白浓度	pH	蔗糖	聚山梨酯 80
II-3-1	10mM 组氨酸/盐酸组氨酸缓冲液	20mg/ml	5.5	80g/L	0.2g/L
II-3-2		40 mg/ml			
II-3-3		60 mg/ml			

表 14. 25℃条件下保存 6 个月的稳定性情况

制剂编号	蛋白含量（mg/ml）		SEC-HPLC 主峰（%）	
	0 天	6 个月	0 天	6 个月
II-3-1	18.2	19.5	97.7	96.5
II-3-2	37.2	39.0	97.7	96.5
II-3-3	58.7	60.5	97.6	96.1

表 15. 5℃条件下保存 12 个月的稳定性情况

制剂编号	蛋白含量（mg/ml）		SEC-HPLC 主峰（%）	
	0 天	12 个月	0 天	12 个月
II-3-1	18.2	19.4	97.7	98.3
II-3-2	37.2	39.2	97.7	98.1
II-3-3	58.7	59.4	97.6	97.8

稳定性实验证明，上述三组制剂经过长期保存条件(5℃)下 12 个月、高温条件(40℃)保持 30 天或加速条件 (25℃) 保存 6 个月后，其样品外观均维持无色澄明液体状态，pH、不溶性微粒、SEC-HPLC、IEC-HPLC 各项指标与 0 天时相比无明显差异，符合质量标准。说明抗体浓度 20~60mg/ml 的制剂均具有良好的稳定性。

实施例 II-4 不同 pH 的制剂稳定性考察

配制 II-4-1~II-4-3 三组制剂，各组制剂成分均为：抗体 A 60 mg/ml，蔗糖 80g/L，聚山梨酯 80 0.2g/L 以及 10mM 的组氨酸/盐酸组氨酸缓冲液，三组制剂的 pH 分别为 II-4-1 组：5.5， II-4-2 组：5.2、II-4-3 组：5.8。测试各组制剂在不同存储条件下的稳定性，测试结果如表 16 所示。

表 16. 不同 pH 的制剂的高温稳定性考察结果

组别	取样时间	外观	蛋白含量（mg/ml）	SEC-HPLC 主峰(%)
II-4-1	0 天	无色澄明液体	58.6	97.6
	40℃30 天	无色澄明液体	58.7	95.0
II-4-2	0 天	无色澄明液体	60.7	97.7
	40℃30 天	无色澄明液体	59.5	95.0
II-4-3	0 天	无色澄明液体	60.7	97.5
	40℃30 天	无色澄明液体	59.2	94.9

另外，三组制剂的 IEC-HPLC 纯度与 0 天时相比也没有明显差异，符合质量标准。上述实验结果表明，pH5.2-5.8 的各组制剂均具有良好的稳定性。

实施例 II-5 不同条件下的制剂稳定性考察

按照以下成分配制抗体 A 制剂 II：抗体 A 20 g/L、组氨酸缓冲液 20 mmol/L、聚山梨酯 80 为 0.2 g/L、蔗糖 80 g/L，pH 值为 5.5±0.3。并且在各种条件下测试制剂的稳定性：

表 17. 抗体 A 制剂 II 的稳定性

组别	SEC-HPLC	IEC-HPLC	蛋白含量 (mg/ml)
	单体峰 (%)	酸峰 (%)	
0 天	99.2	9.6	19.7
AG4h	99.2	9.7	19.8
-70°CFT4X	99.2	9.7	20.5
5°C1M	99.1	8.6	21.4

备注：AG4h：室温振荡处理 4 小时；-70°CFT4X：-70°C/室温冻融 4 个循环；5°C1M：5°C放置 1 个月。

另外，抗体 A 制剂 II 在 40°C下放置 28 天后，或者白光 4500lx±500lx 照射 2 周后，各项检测指标与 0 天相比均保持稳定，未产生明显差异。

根据以上数据可以看出：本发明的抗体 A 制剂 II 在高温、振荡、反复冻融等各种条件下各项检测指标与 0 天时相比未产生明显差异，且均符合质量标准，说明本发明制剂对各种影响因素均表现出良好的稳定性。

以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

权 利 要 求

1、一种药物组合物，其特征在于，其包含抗体 0.5~10g/L，稳定剂 6~12 g/L，表面活性剂 0.01~0.5g/L，以及缓冲体系；所述液体制剂的 pH 为 6.0~8.0；

所述稳定剂选自氯化钠、甘氨酸、蔗糖、山梨醇、脯氨酸中的一种或多种；

所述表面活性剂选自聚山梨酯 20 或聚山梨酯 80；

所述缓冲体系选自磷酸盐缓冲体系、柠檬酸盐缓冲体系或组氨酸盐缓冲体系。

2、根据权利要求 1 所述的药物组合物，其包含抗体 1~8 g/L，优选包含抗体 1~3 g/L 或者 4~6g/L。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的药物组合物，其包含抗体 0.5~5g/L，稳定剂 6~12 g/L，表面活性剂 0.01~0.5g/L，以及缓冲体系；所述药物组合物的 pH 为 6.0~8.0。

4、根据权利要求 1-3 任一项所述的药物组合物，其包含抗体 1.8~2.2 g/L，稳定剂 7.632~9.328 g/L，表面活性剂 0.05~0.15 g/L，以及缓冲体系；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0；或者，所述药物组合物包含抗体 4~6 g/L，稳定剂 7~10 g/L，表面活性剂 0.05~0.15 g/L，以及缓冲体系；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0。

5、根据权利要求 1-4 任一项所述的药物组合物，包含抗体 1.8~2.2 g/L，NaCl 7.632~9.328 g/L，聚山梨酯 80 0.05~0.15 g/L，磷酸二氢钠 0.369~0.451 g/L，磷酸氢二钠 0.9~1.1 g/L；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0；或者，所述药物组合物包含抗体 4~6 g/L，NaCl 7.632~9.328 g/L，聚山梨酯 80 0.05~0.15 g/L，磷酸二氢钠 0.369~0.451 g/L，磷酸氢二钠 0.9~1.1 g/L；所述药物组合物的 pH 为 6.4~7.0。

6、根据权利要求 1-5 任意一项所述的药物组合物，包含抗 EGFR 抗体 2.0 g，氯化钠 8.48 g，磷酸二氢钠（一水）0.41g，磷酸氢二钠 1.0g，聚山梨酯 80 0.1g；所述药物组合物的 pH 为 6.7；或者，所述药物组合物包含抗 EGFR 抗体 5.0 g，氯化钠 8.48 g，磷酸二氢钠（一水）0.41g，无水磷酸氢二钠 1.0g，聚山梨酯 80 0.1g；所述液体制剂的 pH 为 6.7。

7、一种药物组合物，其特征在于，其包含抗体 10~100g/L，稳定剂 50~100 g/L，表面

活性剂 0.05~1.0 g/L, 以及缓冲体系; 所述药物组合物的 pH 为 5.0~7.5;

所述稳定剂选自氯化钠、甘氨酸、蔗糖、山梨醇、脯氨酸中的一种或多种;

所述表面活性剂选自聚山梨酯 20 或聚山梨酯 80;

所述缓冲体系选自磷酸盐缓冲体系、柠檬酸盐缓冲体系或组氨酸盐缓冲体系。

8、根据权利要求 7 所述的药物组合物, 其包含抗体 20~60 g/L, 表面活性剂 0.1~0.3 g/L, 稳定剂 80~90 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.2~6.2。

9、根据权利要求 7 或 8 所述的药物组合物, 以 1000 ml 计, 包含抗体 20~60 g/L, 组氨酸和盐酸组氨酸共 10~20 mmol/L, 聚山梨酯 80 为 0.1~0.3 g/L, 蔗糖 80~90 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.2~6.2。

10、权利要求 9 的药物组合物, 以 1000 ml 计, 包含抗 EGFR 抗体 20 g/L, 组氨酸 0.67 g/L, 盐酸组氨酸 3.29 g/L, 聚山梨酯 80 为 0.2 g/L, 蔗糖 80 g/L, 所述药物组合物的 pH 为 5.5±0.3。

11、根据权利要求 1-10 任意一项所述的药物组合物, 其中, 所述抗体为抗 EGFR 抗体。

12、根据权利要求 11 所述的药物组合物, 其中, 所述抗 EGFR 抗体包含分别如 SEQ ID NO:1-3 所示的重链 CDRs, 以及分别如 SEQ ID NO:4-6 所示的轻链 CDRs。

13、根据权利要求 12 所述的药物组合物, 其中, 所述抗 EGFR 抗体具有如 SEQ ID NO:7 所示的重链可变区以及如 SEQ ID NO:8 所示的轻链可变区。

14、根据权利要求 13 所述的药物组合物, 其中, 所述抗 EGFR 抗体具有如 SEQ ID NO:9 所示的重链以及如 SEQ ID NO:10 所示的轻链。

15、一种固体制剂, 其通过将权利要求 1-14 任意一项所述的药物组合物冻干制备而成。

16、一种制品，其包含装有权利要求 1-14 任一项的药物组合物或权利要求 15 所述的固体制剂的容器。

17、权利要求 16 所述的制品，其特征在于，所述容器为玻璃瓶，金属合金容器或预充注射器。

18、一种药物制剂，所述制剂由权利要求 7-14 任意一项的药物组合物用缓冲液稀释得到。

19、根据权利要求 18 所述的药物制剂，所述制剂由权利要求 7-14 任意一项的药物组合物用盐酸组氨酸-组氨酸缓冲液稀释得到。

20、根据权利要求 19 所述的药物制剂，所述液体制剂由权利要求 7-14 任意一项的药物组合物用盐酸组氨酸-组氨酸缓冲液稀释 5-50 倍得到。

21、根据权利要求 20 所述的药物制剂，所述液体制剂由权利要求 7-14 任意一项的药物组合物用盐酸组氨酸-组氨酸缓冲液稀释 10 倍得到。

22、根据权利要求 19-21 任一项所述的药物制剂，所述盐酸组氨酸-组氨酸缓冲液的 pH 为 5.2-6.2。

23、一种用于稳定抗体的方法，其特征在于，所述方法通过将权利要求 1-14 任意一项所述的抗体、稳定剂、表面活性剂和/或缓冲体系进行组合，并将该组合的 pH 控制在权利要求 1-10 任意一项所述的范围内来进行。

24、权利要求 1-14 任一项所述的药物组合物、权利要求 15 所述的固体制剂、权利要求 16 或 17 的制品或权利要求 18-22 任一项的药物制剂在制备药物中的用途，所述药物用于：

- (a)预防和/或治疗肿瘤；
- (b)辅助治疗肿瘤；
- (c)诊断肿瘤；

(d) (a)-(c)的任意组合。

25、权利要求 24 的用途，其特征在于，所述药物与另外的药学活性剂分开、联合、同时、或相继施用；任选地，所述另外的药学活性剂是化疗药物。

26、权利要求 24 或 25 的用途，其特征在于，所述肿瘤选自乳腺癌、肺癌例如非小细胞性肺癌或肺鳞癌、肝癌、胃癌、肠癌例如结肠癌或者直肠癌、食管癌、卵巢癌、宫颈癌、肾癌、前列腺癌、膀胱癌、胰腺癌、Merkel 细胞癌、胆管癌、鼻咽癌、头颈鳞癌、神经胶质瘤、黑素瘤、白血病和淋巴瘤。

27、权利要求 1-14 任一项的药物组合物、权利要求 15 所述的固体制剂或 18-22 任一项的药物制剂在制备注射用液体制剂中的用途。