(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0043054**

(51)[2020.01] **C07K 16/24**; A61K 47/18; A61K 9/19; A61P 35/00; A61K 47/12; A61K 47/36

(13) **B**

(21) 1-2021-02373
(22) 14/10/2019
(86) PCT/US2019/056027 14/10/2019
(87) WO2020/081408 23/04/2020
(30) 62/747,418 18/10/2018 US
(45) 25/02/2025 443
(43) 26/07/2021 400
(73) Merck Sharp & Dohme LLC (US)
126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065,United States of America
(72) HASHEMI, Venus (US); DE, Arnab (IN); NARASIMHAN, Chakravarthy Nachu (US).
(74) Công ty Luật TNHH ROUSE Việt Nam (ROUSE LEGAL VIETNAM LTD.)

(54) CHẾ PHẨM KHÁNG THỂ KHÁNG VIRUT HỢP BÀO HÔ HẤP

(21) 1-2021-02373

(57) Sáng chế đề cập đến các chế phẩm ổn định bao gồm các kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết với virut hợp bào hô hấp (RSV).

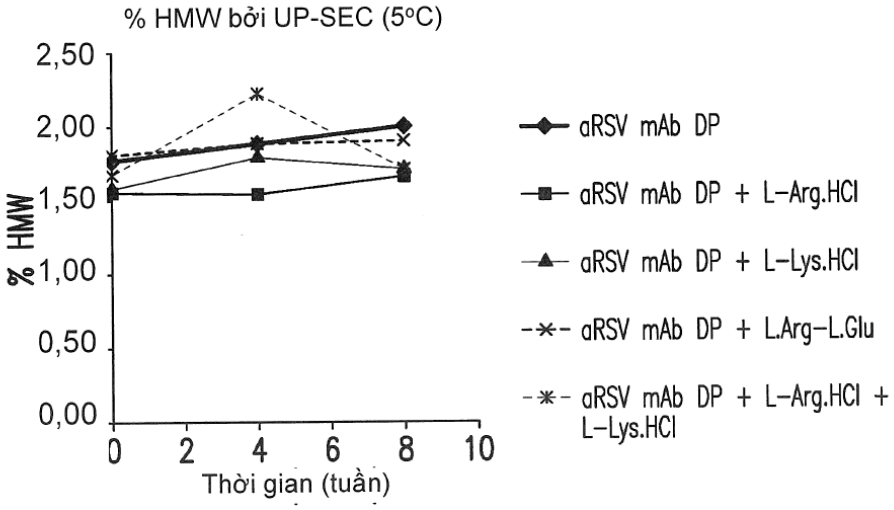

FIG.1A

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các chế phẩm ổn định chứa các kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết với virut hợp bào hô hấp (respiratory syncytial virus - RSV). Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp ngăn ngừa và/hoặc điều trị các bệnh liên quan đến RSV bằng các chế phẩm theo sáng chế.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các paramyxovirut là các virut ARN sợi âm được bao bọc là các mầm gây bệnh đáng kể cho con người và động vật. Virut hợp bào hô hấp ở người (Human Respiratory Syncytial Virus - hRSV, RSV) thuộc về họ *Paramyxoviridae*, phân họ *Pneumovirinae*. Hai phân loại, typ A và typ B, đã được nhận biết và là nguyên nhân nghiêm trọng chủ yếu và đôi khi ngay cả khi lây nhiễm đường hô hấp gây tử vong ở trẻ em dưới 6 tháng tuổi. Người trưởng thành trải qua các bệnh, như COPD, bệnh hen, và bệnh ung thư, và người trưởng thành và người trưởng thành có tình trạng bị suy giảm miễn dịch, bao gồm HIV hoặc sau cấy ghép, cũng có nguy cơ phát triển sự lây nhiễm RSV nghiêm trọng. Năm mươi phần trăm trường hợp người trưởng thành hơn 50 tuổi nằm viện hàng năm do sự lây nhiễm đường hô hấp cấp là gây ra do RSV. Ở Hoa Kỳ, RSV gây ra hơn 100.000 trường hợp nằm viện hàng năm, và ước tính gây ra khoảng 160.000 cái chết trên toàn cầu mỗi năm. Hiện nay, chưa có vacxin cho RSV, và thử nghiệm với virut bất hoạt do formalin liên quan đến việc tăng nghiêm trọng bệnh ở trẻ sơ sinh do lây nhiễm RSV. Các thành viên của họ khác bao gồm virut gây viêm phổi ở người (Human Metapneumo Virus - hMPV) và virut Parainfluenza ở người (Human Parainfluenza Virus - hPIV) cũng chịu trách nhiệm đối với việc ốm do đường hô hấp cấp tương tự với hRSV.

Bộ gen của hRSV là phân tử ARN mang mã sợi âm đơn có khoảng 15 kb mà mã hóa 11 protein. Hai trong số các protein này là các glycoprotein bề mặt

chính của virion. Đây là (i) protein (G) gắn, mà qua trung gian virut gắn kết vào các tế bào, và (ii) protein (F) dung hợp, mà thúc đẩy sự dung hợp của các màng virut và tế bào tại các giai đoạn ban đầu của chu kỳ lây nhiễm và dung hợp màng tế bào bị lây nhiễm với sự dung hợp của các tế bào lân cận để tạo thành hợp bào đặc trưng. Protein gắn G gắn kết các thụ thể bề mặt tế bào và tương tác với protein F. Sự tương tác này bắt đầu sự thay đổi về cấu trúc ở protein F để kích thích sự dung hợp màng, theo đó giải phóng phức hợp ribonucleoprotein của virut vào trong tế bào chất của tế bào chủ.

Các kháng thể đơn dòng chống lại protein F hoặc protein G đã được thể hiện là có tác dụng trung tính *in vitro* và các tác dụng phòng bệnh *in vivo*. Xem, ví dụ, Beeler and Coelingh 1989, J. Virol. 63:2941-50; Garcia-Barreno *et al.*, 1989, J. Virol. 63:925-32; Taylor *et al.*, 1984, Immunology 52: 137-142; Walsh *et al.*, 1984, Infection and Immunity 43:756-758; và Patent Mỹ số 5,842,307 và 6,818,216. Các kháng thể hRSV khác được mô tả trong công bố đơn sáng chế quốc tế số WO94/06448 và WO92/04381 và Patent Mỹ số 8,221,759 và 9,963,500.

Các kháng thể để sử dụng ở các đối tượng là người phải được bảo quản trước khi sử dụng và được vận chuyển đến điểm sử dụng. Việc đạt được mức độ mong muốn của thuốc kháng thể theo cách sản sinh được ở đối tượng yêu cầu dược chất được chứa trong chế phẩm mà duy trì được hoạt tính sinh học của dược chất này. Có nhu cầu cho các chế phẩm ổn định của các kháng thể kháng RSV dùng cho dược phẩm, ví dụ, để ngăn ngừa và/hoặc điều trị các bệnh liên quan đến RSV. Tốt hơn là, các chế phẩm này sẽ có tuổi thọ lâu dài, ổn định khi được bảo quản và vận chuyển, và sẽ tuân theo việc dùng ở các nồng độ cao, ví dụ, để sử dụng trong dưới da, cũng như các nồng độ thấp, ví dụ, dùng trong tĩnh mạch.

Các chế phẩm theo sáng chế cũng hữu ích để đưa đến bệnh nhân dưới da cần dùng chúng. Để tạo ra các lợi ích điều trị bệnh tối đa cho các bệnh nhân, mong muốn rằng các chế phẩm dùng dưới da (subcutaneous (SC)) chứa nồng độ kháng thể cao (75-200 mg/ml). Nồng độ API cao thường yêu cầu đối với các chế phẩm dùng dưới da do tính khả dụng sinh học về tiền sử là 50-60% với các lây nhiễm

dưới da và khoảng liều lượng mong đợi của sản phẩm kháng thể. Tuy nhiên, nồng độ kháng thể cao hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể góp phần vào các đặc tính khác của sản phẩm này mà sẽ không mong muốn, ví dụ, khả năng lây nhiễm thấp do tăng độ nhớt và cao hơn so với nồng độ osmol/kg dung dịch sinh lý học và tăng sự kết tụ. Do đó, tốt hơn là sản phẩm kháng thể nhằm dùng dưới da làm cân bằng các tác dụng cô đặc trong khi vẫn duy trì mức độ của dược chất mà sẽ tạo ra lợi ích điều trị bệnh cao nhất. Sản phẩm lý tưởng bao gồm nồng độ protein cao, độ nhớt thấp, và nồng độ osmol/kg dung dịch tương tự với các điều kiện sinh lý học, và mức độ kết tụ thấp dưới các điều kiện bảo quản thông thường. Việc tăng độ nhớt ở nồng độ protein cao có thể không chỉ làm cho nó khó tách sản phẩm này từ vật chứa của nó bằng kim tiêm, mà còn khó để tiêm liều lượng cần thiết vào bệnh nhân từ ống tiêm (khả năng tiêm được). Có lợi là, các phương án theo sáng chế đề xuất các chế phẩm chứa nồng độ kháng thể cao hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, và mức độ nhớt là chấp nhận được đối với việc dùng dưới da. Ngoài ra, các chế phẩm theo sáng chế không dẫn đến các mức kết tụ cao, như được thể hiện chi tiết hơn thông qua các ví dụ.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là khắc phục các nhược điểm trong tình trạng kỹ thuật. Mục đích này đạt được bằng các chế phẩm ổn định chứa các kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng mà gắn kết với virut hợp bào hô hấp (RSV) theo sáng chế.

Sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV, chế phẩm này chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL; b) chất đệm nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) chất ổn định được chọn từ nhóm bao gồm: (i) đường không khử nằm trong khoảng từ khoảng 6% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích (khối lượng/thể tích); (ii) mỗi trong số L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin, L-prolin hoặc muối dược dụng của L-prolin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; L-lysin hoặc muối dược dụng của

L-lysin; L-glutamat hoặc muối dược dụng L-glutamat hoặc hỗn hợp của các axit amin được mô tả ở đây, và (iii) chất chelat hóa nằm trong khoảng từ khoảng 25 µM đến khoảng 75 µM; d) chất hoạt động bề mặt phi ion nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10%; và e) chất chống oxy hóa nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV, chế phẩm này chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 150 mg/mL; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 6% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích (w/v); d) tá dược được chọn từ L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, hỗn hợp của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 đến khoảng 75 mM , và hỗn hợp của L-arginin(HCl) nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-lysin(HCl) nằm trong khoảng từ khoảng 25 đến khoảng 75 mM; e) DTPA nằm trong khoảng từ khoảng 25 µM đến khoảng 75 µM; f) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10%; và tùy ý là, g) L-methionin nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV, chế phẩm này chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là khoảng 100 mg/mL; b) histiđin là khoảng 10 mM; c) sucroza là khoảng 7% khối lượng/thể tích (w/v); d) tá dược được chọn từ L-arginin(HCl) là khoảng 50 mM, L-lysin(HCl) là khoảng 50 mM, hỗn hợp của khoảng 25 mM L-arginin và khoảng 25 mM L-glutamat, và hỗn hợp của khoảng 25 mM L-arginin(HCl) và khoảng 25 mM L-lysin(HCl); e) khoảng 50 µM DTPA; f) khoảng 0,02% polysorbat 80; và tùy ý là g) L-methionin nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến 20 mM.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV, chế phẩm này chứa: a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) tá dược được chọn từ 50 mM L-arginin(HCl), 50 mM L-lysin(HCl), hỗn hợp của 25 mM L-arginin và 25 mM L-glutamat, và hỗn hợp của 25 mM L-arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50 µM DTPA; f) 0,02% polysorbat 80; và tùy ý là g) từ 1 mM đến 20 mM L-methionin.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV, chế phẩm này chứa: a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) hỗn hợp của 25 mM L-arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50 µM DTPA; và f) 0,02% polysorbat 80.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) hỗn hợp của 25 mM L-arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50µM DTPA; và f) 0,02% polysorbat 80.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) tá dược được chọn từ nhóm chứa L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, và hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng

25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (w/v). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích); d) L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích) ; d) L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích); d) L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến

khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích).

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích) ; d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một số phương án, chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5.

Theo một số phương án, chế phẩm này có độ pH là 6,0.

Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp ngăn ngừa và/hoặc điều trị các bệnh liên quan đến RSV ở bệnh nhân là con người cần điều trị bao gồm: dùng lượng hữu hiệu của các chế phẩm kháng thể kháng RSV theo sáng chế cho bệnh nhân.

Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở bệnh nhân là con người cần điều trị chứa: dùng lượng hữu hiệu của các chế phẩm kháng thể kháng RSV theo sáng chế cho bệnh nhân.

Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở bệnh nhân là con người cần điều trị bao gồm: việc dùng lượng hữu hiệu của các chế phẩm kháng thể kháng RSV theo sáng chế cho bệnh nhân trong đó lượng hữu hiệu bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, trong đó liều lượng cố định nằm trong khoảng từ 10 đến 100 mg.

Sáng chế cũng đề cập đến các phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở bệnh nhân là con người cần điều trị: việc dùng lượng hữu hiệu của các chế phẩm kháng thể kháng RSV theo sáng chế cho bệnh nhân trong đó các chế phẩm kháng thể kháng RSV được dùng bằng cách dùng dưới da; hoặc trong đó các chế phẩm kháng thể kháng RSV được dùng bằng cách dùng dưới da; hoặc trong đó các chế phẩm kháng thể kháng RSV được dùng bằng cách dùng trong cơ.

Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng các chế phẩm kháng thể kháng RSV theo sáng chế để điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở bệnh nhân là con người.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1A-Fig.1C là các hình vẽ các kết quả %HMW, % mAb (monome) và % LMW so với dữ liệu thời gian về UPSEC của các chế phẩm kháng thể kháng RSV ở các điều kiện bảo quản 5°C.

Fig.2A- Fig.2C là các hình vẽ thể hiện các kết quả %HMW, % mAb (monome) và % LMW so với dữ liệu thời gian về UPSEC của các chế phẩm kháng thể kháng RSV ở các điều kiện bảo quản 25°C.

Fig.3A-Fig.3C là các hình vẽ thể hiện các kết quả của %HMW, % mAb (monome) và % LMW so với dữ liệu thời gian của UPSEC của các chế phẩm kháng thể kháng RSV ở các điều kiện bảo quản 40°C.

Fig.4A- Fig.4B là các hình vẽ thể hiện các kết quả % tổng các đỉnh axit và % đỉnh chính so với thời gian của HP-IEX của các chế phẩm kháng thể kháng RSV ở các điều kiện bảo quản 5°C.

Fig.5A-Fig.5B là các hình vẽ thể hiện các kết quả % tổng các đỉnh axit và % đỉnh chính so với thời gian của HP-IEX của các chế phẩm kháng thể kháng RSV ở các điều kiện bảo quản 25°C.

Fig 6A- Fig.6B là các hình vẽ thể hiện các kết quả % tổng các đỉnh axit và % đỉnh chính so với thời gian của HP-IEX của các chế phẩm kháng thể kháng RSV ở các điều kiện bảo quản 40°C.

Fig.7 là hình vẽ thể hiện các kết quả của tá dược giảm độ nhớt của 100 mg/mL kháng thể kháng RSV (tất cả các thí nghiệm được lặp lại n=5 để thu được độ lệch chuẩn).

Các Fig.8A- Fig.8C là các hình vẽ thể hiện các kết quả %HMW, % mAb (monome) và % LMW so với dữ liệu thời gian về UPSEC của các chế phẩm kháng thể kháng RSV của UPSEC ở các điều kiện bảo quản 5°C.

Các Fig.9A- Fig.9C là các hình vẽ thể hiện các kết quả %HMW, % mAb (monome) và % LMW so với dữ liệu thời gian của các chế phẩm kháng thể kháng RSV về UPSEC ở các điều kiện bảo quản 25°C.

Các Fig.10A-10C là các hình vẽ thể hiện các kết quả %HMW, % mAb (monome) và % LMW so với dữ liệu thời gian của các chế phẩm kháng thể kháng RSV về UPSEC ở các điều kiện bảo quản 40°C.

Fig 11A- Fig.11B là các hình vẽ thể hiện các kết quả % tổng các đỉnh axit và % đỉnh chính đối với thời gian của các chế phẩm kháng thể kháng RSV của HP-IEX ở các điều kiện bảo quản 5°C.

Các Fig.12A- Fig.12B là các hình vẽ thể hiện các kết quả % tổng các đỉnh axit và % đỉnh chính so với thời gian của chế phẩm kháng thể kháng RSV của HP-IEX ở các điều kiện bảo quản 25°C.

Các Fig.13A- Fig.13B là các hình vẽ thể hiện các kết quả của % tổng các đỉnh axit và % đỉnh chính so với thời gian của các chế phẩm kháng thể kháng RSV của HP-IEX ở các điều kiện bảo quản 40°C.

Fig.14 là hình vẽ thể hiện các kết quả phần trăm phân hủy của PS80 ở 40°C.

Fig.15 là hình vẽ thể hiện biểu đồ cột so sánh độ nhớt của các chế phẩm sử dụng các tá dược là 80mM histiđin, 70mM lysin hoặc 70mM arginin.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến các chế phẩm ổn định chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết với RSV. Sáng chế đề cập đến các chế phẩm ổn định chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó mà gắn kết với protein F ở người, mà hữu ích cho các phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở người.

Các kháng thể hữu ích trong các chế phẩm được bộc lộ ở đây được mô tả trong Patent Mỹ số 9,963,500. Kháng thể minh họa, hữu ích trong các chế phẩm được bộc lộ ở đây, được mô tả trong Patent Mỹ số 9,963,500. Kháng thể minh họa này chứa các vùng quyết định bổ thể (CDR) có các trình tự axit amin: SEQ ID NO: 1 (chuỗi nặng CDR 1), SEQ ID NO: 2 (chuỗi nặng CDR 2), SEQ ID NO: 3 (chuỗi nặng CDR 3), SEQ ID NO: 4 (chuỗi nhẹ CDR 1), SEQ ID NO: 5 (chuỗi nhẹ CDR 2), và SEQ ID NO: 6 (chuỗi nhẹ CDR 3). Hơn nữa, kháng thể minh họa này chứa các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có các trình tự axit amin SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO:8. Hơn nữa, kháng thể minh họa này chứa globulin miễn dịch chuỗi nặng và chuỗi nhẹ chứa các trình tự axit amin SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 10.

I. Định nghĩa và chữ viết tắt

Các định nghĩa được sử dụng xuyên suốt bản mô tả. Các chữ viết tắt được định nghĩa xuyên suốt bản mô tả và yêu cầu bảo hộ.

Để sáng chế có thể dễ hiểu hơn, một số thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được định nghĩa cụ thể dưới đây. Trừ khi có quy định khác trong tài liệu này, tất cả các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có ý nghĩa được hiểu thông dụng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực mà sáng chế thuộc về.

Như được sử dụng xuyên suốt bản mô tả và trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo, các dạng số ít bao gồm cả đề cập đến số nhiều trừ khi có quy định rõ ràng khác.

Đề cập đến "hoặc" chỉ ra một trong hai hoặc cả hai khả năng trừ khi có quy định rõ ràng rằng một trong các khả năng được chỉ ra này. Theo một số trường hợp, "và/hoặc" được sử dụng để nhấn mạnh một trong hai hoặc cả hai khả năng.

Khi khoảng giá trị được trích dẫn, như "lượng nằm trong khoảng từ 50 mg đến 100 mg", thì khoảng này nhằm chứa các giá trị được trích dẫn này.

"Dùng" và "điều trị," như nó áp dụng cho động vật, con người, đối tượng thí nghiệm, tế bào, mô, cơ quan hoặc dịch lỏng sinh học, đề cập đến sự tiếp xúc của thuốc hoặc chế phẩm chẩn đoán, chữa bệnh, dược phẩm nội sinh với động vật, con người, đối tượng, tế bào, mô, cơ quan hoặc dịch lỏng sinh học. Việc xử lý tế bào bao gồm việc tiếp xúc của chất phản ứng vào tế bào, cũng như sự tiếp xúc của chất phản ứng với dịch lỏng, trong đó dịch lỏng tiếp xúc với tế bào này. "Dùng" và "điều trị" cũng có nghĩa là điều trị *in vitro* (trong ống nghiệm) và *ex vivo* (ngoài cơ thể), ví dụ, của tế bào, bằng chất phản ứng, hợp chất gắn kết, chẩn đoán, hoặc bởi tế bào khác.

"Bệnh liên quan đến RSV" có nghĩa là bệnh bất kỳ gây ra, trực tiếp hoặc gián tiếp, bằng sự lây nhiễm với virut hợp bào hô hấp (RSV) cũng như các bệnh hoặc các tình trạng bệnh mà ảnh hưởng đến bệnh nhân bị lây nhiễm bởi RSV. Các ví dụ về các bệnh thuộc về loại thứ nhất bao gồm viêm phổi và viêm phế quản. Các bệnh và tình trạng bệnh ở loại thứ hai (tức là các bệnh và tình trạng bệnh mà đưa bệnh nhân vào nguy cơ lây nhiễm RSV nghiêm trọng) bao gồm xơ nang, bệnh tim bẩm sinh, bệnh ung thư, ức chế miễn dịch liên quan đến tuổi, người nhận cấy ghép và, nói chung là, tình trạng bệnh bất kỳ gây ra tình trạng ức chế miễn dịch

và giảm chức năng của hệ miễn dịch như các chế độ hậu phẫu cấy ghép cơ quan hoặc sinh non.

"Điều trị" hoặc "việc điều trị" có nghĩa là dùng thuốc chữa bệnh, như chế phẩm chứa bất kỳ trong số kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên theo sáng chế, bên trong hoặc bên ngoài đối tượng hoặc bệnh nhân có một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, hoặc đang bị nghi ngờ có bệnh, mà thuốc này có hoạt tính chữa bệnh. Thông thường là, thuốc được dùng với lượng hữu hiệu để cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng ở đối tượng hoặc quần thể được điều trị, liệu rằng bằng cách kích thích sự thoái hóa của hoặc ức chế sự tiến triển của (các) triệu chứng này với mức độ tính toán được về mặt lâm sàng. Lượng thuốc chữa bệnh hữu hiệu để làm thuyên giảm triệu chứng bệnh cụ thể bất kỳ có thể khác nhau theo các yếu tố như tình trạng bệnh, tuổi và cân nặng của bệnh nhân và khả năng của dược chất để tạo ra đáp ứng mong muốn ở đối tượng. Liệu rằng triệu chứng của bệnh được làm thuyên giảm có thể được đánh giá bằng phương pháp lâm sàng bất kỳ mà thường được sử dụng bởi các bác sỹ hoặc các nhà cung cấp chăm sóc sức khỏe có kỹ năng khác để đánh giá mức nghiêm trọng hoặc tình trạng tiến triển của triệu chứng đó. Việc điều trị bằng các kháng thể kháng RSV cũng có thể được kết hợp với các can thiệp khác (các kháng thể, axit nucleic, vacxin và các hợp chất phân tử nhỏ) để điều trị các mầm bệnh đường hô hấp khác.

"Phòng ngừa" hoặc "việc phòng ngừa" có nghĩa là dùng thuốc phòng bệnh, như chế phẩm chứa kháng thể bất kỳ trong số các kháng thể hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên theo sáng chế, bên trong hoặc bên ngoài cho đối tượng hoặc bệnh nhân có nguy cơ trở nên bị lây nhiễm bởi RSV, mà thuốc này có hoạt tính phòng bệnh. Việc ngăn ngừa bao gồm việc giảm khả năng hoặc tính nghiêm trọng của sự lây nhiễm RSV sau đó, làm thuyên giảm các triệu chứng liên quan đến sự lây nhiễm đường hô hấp dưới (lower respiratory tract infection - LRI) do sự lây nhiễm RSV và kích thích miễn dịch để chống lại sự lây nhiễm RSV. Thông thường là, thuốc được dùng với lượng hữu hiệu để trung hòa RSV trong phổi và/hoặc mũi để ngăn chặn sự lây nhiễm. Lượng thuốc phòng bệnh là hữu hiệu để làm thuyên giảm triệu chứng bệnh cụ thể bất kỳ có thể khác nhau theo các yếu tố như tuổi và

cân nặng của bệnh nhân, và khả năng của thuốc để tạo ra sự đáp ứng mong muốn của đối tượng. Liệu rằng triệu chứng của bệnh được cải thiện có thể được đánh giá bằng phương pháp lâm sàng bất kỳ mà thường được sử dụng bởi các bác sỹ hoặc các nhà cung cấp chăm sóc sức khỏe có kỹ năng khác để đánh giá mức nghiêm trọng hoặc tình trạng tiến triển của triệu chứng đó hoặc theo một số trường hợp sẽ cải thiện nhu cầu nằm viện.

Thuật ngữ "bệnh nhân" (được đề cập thay thế là "đối tượng" hoặc "cá thể" ở đây) đề cập đến động vật có vú (*ví dụ*, chuột cống, chuột nhắt, chó, mèo, thỏ) có khả năng được điều trị bằng các chế phẩm theo sáng chế, tốt nhất là con người. Theo một số phương án, bệnh nhân là bệnh nhân trưởng thành. Theo các phương án khác, bệnh nhân là bệnh nhân trẻ em. Các bệnh nhân "cần điều trị" bao gồm các bệnh nhân mà có thể có lợi từ việc điều trị bằng các chế phẩm theo sáng chế.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu về mặt dược học" hoặc "lượng hữu hiệu" có nghĩa là lượng mà theo đó chế phẩm điều trị bệnh vừa đủ được đưa vào bệnh nhân để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này nhận biết rằng mức độ này có thể khác nhau theo các đặc điểm của bệnh nhân như tuổi, cân nặng, v.v.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ "liều lượng cố định" đề cập đến lượng (ví dụ, theo milligram) hoạt chất được dùng cho bệnh nhân.

Thuật ngữ "khoảng", khi biến đổi về lượng (ví dụ, mM, hoặc M) chất hoặc chế phẩm, phần trăm (thể tích/thể tích hoặc khối lượng /thể tích) thành phần chế phẩm, độ pH của dung dịch/chế phẩm hoặc giá trị của thông số đặc trưng cho bước trong phương pháp hoặc tương tự đề cập đến sự biến thiên về lượng số học cộng hoặc trừ 5%. Sự biến thiên về lượng số học này có thể xảy ra, ví dụ, thông qua các thủ tục đo đạc, xử lý và lấy mẫu liên quan đến việc điều chế, đặc trưng và/hoặc sử dụng chất hoặc chế phẩm; thông qua sai sót không cố ý trong các thủ tục này; thông qua các khác biệt về việc bào chế, nguồn gốc hoặc độ tinh sạch của các thành phần được sử dụng để sản xuất hoặc sử dụng các chế phẩm hoặc tiến hành các thủ tục này; và tương tự.

Cụm từ "chứa chủ yếu," hoặc các biến thể như "chứa về cơ bản" hoặc "bao gồm chủ yếu," như được sử dụng xuyên suốt bản mô tả và yêu cầu bảo hộ, chỉ ra rằng sự bao gồm các thành phần được trích dẫn bất kỳ, và sự bao gồm tùy ý của các thành phần khác, có bản chất tương tự hoặc khác nhau so với các thành phần được trích dẫn, mà không thay đổi về bản chất các đặc tính cơ bản hoặc mới của chế độ liều, phương pháp hoặc chế phẩm được nêu. Là ví dụ không giới hạn, hợp chất gắn kết chứa chủ yếu trình tự axit amin được trích dẫn cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều axit amin, bao gồm các thay thế một hoặc nhiều gốc axit amin, mà không ảnh hưởng đáng kể đến các đặc tính của hợp chất gắn kết.

“Bao gồm” hoặc các biến thể như “chứa”, “gồm có” hoặc “gồm” được sử dụng xuyên suốt bản mô tả và yêu cầu bảo hộ theo nghĩa chứa đựng, tức là để nêu sự có mặt của các đặc diểm được đề cập nhưng không loại trừ sự có mặt hoặc bổ sung các đặc điểm khác mà có thể tăng cường về bản chất sự hoạt động hoặc tính hữu ích của phương án bất kỳ trong các phương án theo sáng chế, trừ khi ngữ cảnh có quy định khác do sự biểu hiện về ngôn ngữ hoặc ngụ ý cần thiết.

Cụm từ "dược phẩm " đề cập đến các chế phẩm mà ở dạng cho phép các hoạt chất có hiệu quả và không chứa các thành phần bổ sung mà độc với các đối tượng mà chế phẩm này sẽ được dùng. Thuật ngữ “chế phẩm” và “dược phẩm” được sử dụng thay thế cho nhau.

Cụm từ "dược dụng" đề cập đến các tá dược (tá dược lỏng, chất phụ gia) và các chế phẩm mà có thể được sử dụng hợp lý cho đối tượng để tạo ra liều lượng hữu hiệu của hoạt chất được dùng và "nói chung được coi là an toàn", ví dụ., dung nạp được về mặt sinh lý học và thường không có dị ứng hoặc phản ứng không may tương tự, như đau dạ dày và tương tự, khi được dùng với người. Theo phương án khác, thuật ngữ này đề cập đến các thực thể phân tử và các chế phẩm được phê chuẩn bởi cơ quan đăng ký thuốc của liên bang hoặc chính phủ hoặc được liệt kê trong Dược điển của Mỹ hoặc dược điển thường được biết đến khác ở động vật và cụ thể hơn ở người.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu” như được sử dụng ở đây có nghĩa là lượng hoạt chất hoặc dược chất mà tạo ra đáp ứng sinh học hoặc y học trong mô, hệ thống,

động vật hoặc con người mà đang được tiến hành bởi nhà nghiên cứu, bác sỹ thú y, bác sỹ y khoa hoặc bác sỹ lâm sàng khác. Theo một phương án, lượng hữu hiệu là "lượng hữu hiệu điều trị" để làm thuyên giảm các triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh được điều trị. Theo phương án khác, lượng hữu hiệu là "lượng hữu hiệu phòng bệnh" để phòng các triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh được ngăn ngừa.

Chế phẩm "ổn định" là chế phẩm trong đó protein ở đó về cơ bản giữ độ ổn định vật lý và/hoặc độ ổn định hóa học và/hoặc hoạt tính sinh học nhờ bảo quản. Các kỹ thuật phân tích khác nhau để đo độ ổn định protein là có sẵn trong lĩnh vực này và được tổng kết trong Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) and Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10:29-90 (1993). Độ ổn định có thể đo được ở nhiệt độ được chọn trong khoảng thời gian được chọn. Ví dụ, theo một phương án, chế phẩm ổn định là chế phẩm mà không có sự thay đổi đáng kể quan sát được ở nhiệt độ được làm lạnh (2-8°C) trong ít nhất 12 tháng. Theo phương án khác, chế phẩm ổn định là chế phẩm không có các thay đổi đáng kể được quan sát ở nhiệt độ được làm lạnh (2-8°C) trong ít nhất 18 tháng. Theo phương án khác, chế phẩm ổn định là chế phẩm không có các thay đổi đáng kể được quan sát ở nhiệt độ phòng (23-27°C) trong ít nhất 3 tháng. Theo phương án khác, chế phẩm ổn định là chế phẩm không có các thay đổi đáng kể được quan sát ở nhiệt độ phòng (23-27°C) trong ít nhất 6 tháng. Theo phương án khác, chế phẩm ổn định là chế phẩm không có các thay đổi đáng kể được quan sát ở nhiệt độ phòng (23-27°C) trong ít nhất 12 tháng. Theo phương án khác, chế phẩm ổn định là chế phẩm không có các thay đổi đáng kể được quan sát ở nhiệt độ phòng (23-27°C) trong ít nhất 18 tháng. Các điều kiện đối với độ ổn định của chế phẩm kháng thể là như sau. Thông thường là, không lớn hơn 10%, tốt hơn là 5%, monome của kháng thể bị phân hủy như được đo bằng SEC-HPLC. Thông thường là, chế phẩm này không màu, hoặc trong đến hơi trắng đục bằng phân tích bằng mắt thường. Thông thường là, nồng độ, độ pH và nồng độ osmol/kg dung dịch của chế phẩm không có sự thay đổi lớn hơn +/-10%. Tiềm năng thường nằm trong 60-140%, tốt hơn là 80-120%, đối chứng hoặc tham

chiếu. Thông thường là, quan sát không lớn hơn 10%, tốt hơn là 5%, việc cắt kháng thể, tức là, % các loại trọng lượng phân tử thấp như được xác định, ví dụ, bằng HP-SEC. Thông thường là, quan sát không lớn hơn 10%, tốt hơn là không lớn hơn 5%, kết tụ kháng thể, tức là % các loại trọng lượng phân tử cao như được xác định, ví dụ, bằng HP-SEC.

Cụm từ "kháng thể kháng RSV" đề cập đến kháng thể đơn dòng đề cập đến kháng thể đơn dòng nhằm chống lại protein F hoặc protein G của RSV. Các kháng thể kháng RSV được bộc lộ và mô tả trong Patent Mỹ số 9,963,500. Kháng thể kháng RSV cụ thể được bộc lộ và mô tả trong Patent Mỹ số 9,963,500 và bao gồm các vùng quyết định bổ thể (CDR) có các trình tự axit amin: SEQ ID NO: 1 (chuỗi nặng CDR 1), SEQ ID NO: 2 (chuỗi nặng CDR 2), SEQ ID NO: 3 (chuỗi nặng CDR 3), SEQ ID NO: 4 (chuỗi nhẹ CDR 1), SEQ ID NO: 5 (chuỗi nhẹ CDR 2), và SEQ ID NO: 6 (chuỗi nhẹ CDR 3). Hơn nữa, kháng thể kháng RSV được bộc lộ và mô tả trong Patent Mỹ số 9,963,500 và bao gồm các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có các trình tự axit amin SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 8, tương ứng. Hơn nữa, kháng thể kháng RSV cụ thể được bộc lộ và mô tả trong Patent Mỹ số 9,963,500 và bao gồm globulin miễn dịch chuỗi nặng và chuỗi nhẹ lần lượt chứa các trình tự SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 10.

Kháng thể "giữ được độ ổn định vật lý của nó" trong dược phẩm nếu nó không thể hiện việc tăng sự kết tụ, kết tủa và hoặc biến tính đáng kể nhờ việc kiểm tra bằng mắt thường về màu sắc và/hoặc sự rõ ràng hoặc như đo được bằng phân tán ánh sáng UV, sắc ký loại trừ kích thước (SEC) và phân tán ánh sáng động. Các thay đổi về cấu trúc protein có thể được đánh giá bằng phổ huỳnh quang, mà xác định cấu trúc bậc ba của protein, và bằng kính hiển vi FTIR, mà xác định cấu trúc bậc hai của protein.

Kháng thể "giữ độ ổn định hóa học của nó" trong dược phẩm, nếu kháng thể đó không thể hiện sự biến đổi hóa học đáng kể. Độ ổn định hóa học có thể được đánh giá bằng cách phát hiện và định lượng các dạng biến đổi hóa học của protein. Cac quá trình phân hủy mà thường làm biến đổi cấu trúc hóa học của protein bao gồm sự thủy phần hoặc phân cắt (được đánh giá bằng các phương

pháp như sắc ký loại trừ kích thước và SDS-PAGE), oxy hóa (được đánh giá bằng các phương pháp như bản đồ peptit kết hợp với khối phổ hoặc MALDI/TOF/MS), khử amit (được đánh giá bằng các phương pháp như sắc ký trao đổi ion, điện di mao quản điểm đẳng điện, bản đồ peptit, đo axit isoaspartic), và đồng phân hóa (được đánh giá bằng cách đo hàm lượng axit isoaspartic, bản đồ peptit, v.v.).

Kháng thể "giữ được hoạt tính sinh học của nó" trong dược phẩm, nếu hoạt tính sinh học của kháng thể tại thời điểm nhất định là nằm trong khoảng được xác định trước của hoạt tính sinh học có được tại thời điểm mà dược phẩm được bào chế. Hoạt tính sinh học của kháng thể có thể được xác định, ví dụ, bằng thử nghiệm gắn kết kháng nguyên. Các dược phẩm theo sáng chế bao gồm các kháng thể và các mảnh của chúng có hoạt tính sinh học khi được tái cấu trúc hoặc ở dạng lỏng.

II. Các chế phẩm theo sáng chế

Các chế phẩm theo sáng chế tối thiểu hóa sự hình thành các kết tụ kháng thể, làm tăng độ ổn định và làm giảm độ nhớt.

Sáng chế bao gồm các chế phẩm khác nhau của kháng thể kháng RSV, hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, như được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Ví dụ, sáng chế bao gồm các chế phẩm bao gồm (i) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, (ii) chất đệm (ví dụ, histiđin), (iii) chất ổn định (*ví dụ*, đường không khử như sucroza); (iv) chất hoạt tính bề mặt phi ion (ví dụ, polysorbat 80); và (v) chất chống oxy hóa (ví dụ, methionin). Theo các phương án khác, các chế phẩm theo sáng chế bao gồm chất giảm độ nhớt (ví dụ, arginin hoặc muối dược dụng của nó; lysin, hoặc muối dược dụng của nó; hỗn hợp của arginin và lysin hoặc các muối dược dụng chúng, hỗn hợp của arginin và glutamat hoặc các muối dược dụng của chúng, và/hoặc histiđin hoặc các muối dược dụng của chúng) và/hoặc chất chelat hóa kim loại (ví dụ, DTPA).

III. Các kháng thể kháng RSV và các mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng

Sáng chế đề xuất các chế phẩm sinh học ổn định chứa kháng thể kháng RSV mà chứa các vùng quyết định bổ thể (CDR) có các trình tự axit amin: SEQ ID NO: 1 (chuỗi nặng CDR 1), SEQ ID NO: 2 (chuỗi nặng CDR 2), SEQ ID NO: 3 (chuỗi nặng CDR 3), SEQ ID NO: 4 (chuỗi nhẹ CDR 1), SEQ ID NO: 5 (chuỗi

nhẹ CDR 2), và SEQ ID NO: 6 (chuỗi nhẹ CDR 3). Sáng chế cũng đề xuất các chế phẩm sinh học ổn định chứa kháng thể kháng RSV mà chứa các vùng biến đổi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ có các trình tự axit amin SEQ ID NO: 7 và SEQ ID NO: 8, tương ứng và/hoặc chứa globulin miễn dịch chuỗi nặng và chuỗi nhẹ chứa các trình tự axit amin SEQ ID NO: 9 và SEQ ID NO: 10 tương ứng. Các phương pháp sản xuất kháng thể kháng RSV được bộc lộ và mô tả trong Patent Nhật Bản số 9,963,500 và được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Các SEQ ID NO: 1-10 được nêu trong Bảng A dưới đây:

Bảng A: Thông tin trình tự

SEQ ID NO:	TRÌNH TỰ
1	DSAMS
2	FIKSKTYGGTKEYAASVKG
3	GAPYGGNSDYYYGLDV
4	RTSQDVRGALA
5	DASSLET
6	QQFLDFPFT
7	EVQLVESGGGLVRPGRSLRLSCTVSGFSFDDSAMSWVRQAPGKGLEWISFIKSKTYGGTK EYAASVKGRFTISRDDSKNIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRGAPYGGNSDYYYGLDVWGQG TTVT
8	MTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQDVRGALAWYQQKPGKAPKLLIFDASSLETGVPSRFS GSGSGTVFTLTISSLQPEDFAAYYCQQFLDFPFTFGQGTRLEIKRT
9	EVQLVESGGGLVRPGRSLRLSCTVSGFSFDDSAMSWVRQAPGKGLEWISFIKSKTYGGTK EYAASVKGRFTISRDDSKNIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRGAPYGGNSDYYYGLDVWGQG TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQDVRGALAWYQQKPGKAPKLLIFDASSLETGVPS RFSGSGSGTVFTLTISSLQPEDFAAYYCQQFLDFPFTFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Theo các phương án của các chế phẩm được mô tả ở đây, API ("thành phần dược có hoạt tính - active pharmaceutical ingredient", tức là kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL. Theo một số phương án của các chế phẩm, API (*tức là,* kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 75 mg/mL đến khoảng 200 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 90 mg/mL đến khoảng 110 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ khoảng 100 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là từ 90 mg/mL đến 110 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là 100 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là 75 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là 50 mg/mL.

Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 125 mg/mL đến khoảng 175 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 140 mg/mL đến khoảng 160 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ khoảng 150 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 125 mg/mL đến 175 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 140 mg/mL đến 160 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là 150 mg/mL.

Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 150 mg/mL đến khoảng 200 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 165 mg/mL đến khoảng 185 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ khoảng 175 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 150 mg/mL đến 200 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 165 mg/mL đến 185 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là 175 mg/mL.

Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 175 mg/mL đến khoảng 225 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 190 mg/mL đến khoảng 210 mg/mL.

Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ khoảng 200 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 175 mg/mL đến 225 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 190 mg/mL đến 210 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là 200 mg/mL.

Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 200 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 215 mg/mL đến khoảng 235 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ khoảng 225 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 200 mg/mL đến 250 mg/mL. Theo một số phương án, API có mặt với nồng độ là từ 215 mg/mL đến 235 mg/mL. Theo phương án khác, API có mặt với nồng độ là 225 mg/mL.

Theo một số phương án của các chế phẩm được bộc lộ ở đây, API (tức là kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) có mặt với liều lượng cố định (ví dụ, lượng theo milligram). Theo một số phương án của các chế phẩm được bộc lộ ở đây, API có mặt với liều lượng cố định là nằm trong khoảng từ khoảng 10 mg đến khoảng 150 mg. Theo một số phương án, API có mặt với liều lượng cố định là từ khoảng 10 mg đến khoảng 150 mg. Theo một số phương án, API có mặt với liều lượng cố định là nằm trong khoảng từ 25 mg đến 125 mg. Theo một số phương án, API có mặt với liều lượng cố định là từ khoảng 25 mg đến khoảng 125 mg. Theo một số phương án, API có mặt với liều lượng cố định là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg đến khoảng 100 mg. Theo các phương án, API có mặt với liều cố định là từ 50 mg đến 100 mg.

IV. Các tá dược của chế phẩm

Các chế phẩm theo sáng chế bao gồm ít nhất một tá dược mà làm ổn định chế phẩm này.

Theo một số phương án của các chế phẩm của sáng chế, chất ổn định là đường không khử. Theo các phương án của sáng chế, đường không khử là sucroza. Theo các phương án khác, đường không khử là glucoza. Theo các phương án khác, đường không khử là trehaloza. Vẫn theo các phương án khác, đường không khử là lactoza. Theo các phương án khác, đường không khử là raffinoza.

Theo một số phương án, các chế phẩm kháng thể kháng RSV theo sáng chế bao gồm chất ổn định được chọn từ nhóm chứa: nằm trong khoảng từ 4% đến 8% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza, glucoza, trehaloza, lactoza hoặc raffinoza.

Theo một số phương án, chất ổn định là nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích sucroza. Theo một số phương án, chất ổn định là từ 4% đến 8% khối lượng/thể tích sucroza.

Theo một số phương án, chất ổn định là nằm trong khoảng từ khoảng 6% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích sucroza.

Theo một số phương án, chất ổn định là từ 4% đến 8% khối lượng/thể tích sucroza.

Theo một số phương án, chất ổn định là nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích trehaloza. Theo một số phương án, chất ổn định là từ 4% đến 8% khối lượng/thể tích trehaloza.

Theo một số phương án, chất ổn định là nằm trong khoảng từ khoảng 6% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích trehaloza. Theo một số phương án, chất ổn định là từ 6% đến 8% khối lượng/thể tích trehaloza.

Theo một số phương án, chất ổn định là nằm trong khoảng từ khoảng 6,5% đến khoảng 7,5% khối lượng/thể tích sucroza. Theo một số phương án, chất ổn định là từ 6,5% đến 7,5% khối lượng/thể tích sucroza.

Theo một số phương án, chất ổn định là từ 6% đến 8% sucroza.

Theo một số phương án, chất ổn định là từ 6,5% đến 7,5% khối lượng/thể tích sucroza.

Theo một số phương án, chất ổn định là 7% sucroza.

Các chế phẩm theo sáng chế chứa arginin, ví dụ, L-arginin hoặc muối dược dụng của nó, ví dụ, HCl; lysin, ví dụ, L-lysin hoặc muối dược dụng của nó, ví dụ, HCl; hoặc sự tổ hợp của arginin (L-arginin) hoặc muối dược dụng (HCl) của nó và lysin (L-lysin) hoặc muối dược dụng (HCl) của nó; hoặc tổ hợp của arginin (L-arginin) hoặc muối dược dụng (HCl) của nó và glutamat (L-glutamat) hoặc muối dược dụng của nó; tất cả các chế phẩm này có thể tạo ra độ ổn định bổ sung, cũng như kiểm soát độ nhớt, mà cho phép chế phẩm ở nồng độ API cao.

Ngoài kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó và độ ổn định với các lượng/nồng độ nêu trên, các chế phẩm theo sáng chế cũng chứa chất đệm. Theo một số phương án, chất đệm có mặt với lượng nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM, mà tạo ra độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 5 đến khoảng 7. Theo một số phương án, chất đệm có mặt với lượng từ 5 mM đến 20 mM, mà tạo ra độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 7.

Theo một số phương án của sáng chế, chất đệm tạo ra cho chế phẩm độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 5,5 đến khoảng 6,5. Theo một số phương án của sáng chế, chất đệm tạo ra cho chế phẩm độ pH trong khoảng từ 5,5 đến 6,5. Theo một số phương án, chất đệm có độ pH khoảng 6,0. Vẫn theo các phương án nữa, độ pH là 6,0.

Theo các phương án cụ thể, chất đệm có độ pH là khoảng 5,7, khoảng 5,8, khoảng 5,9, khoảng 6,0, khoảng 6,1, khoảng 6,2, hoặc khoảng 6,3. Theo các phương án cụ thể, chất đệm có độ pH là 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2 hoặc 6,3. Các ví dụ về các chất đệm sẽ kiểm soát độ pH trong khoảng này bao gồm sucxinat (natri hoặc kali), histiđin, natri axetat, phosphat (natri hoặc kali), Tris (tris (hydroxymetyl) aminometan), đietanolamin, xitrat (natri) và các chất đệm axit hữu cơ khác.

Theo một số phương án của sáng chế, chất đệm là histiđin hoặc axetat ở độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 5,5 đến khoảng 6,5. Theo một số phương án của sáng chế, chất đệm là histiđin hoặc axetat ở độ pH là từ 5,5 đến 6,5. Theo một số phương án, chất đệm là chất đệm L-histiđin. Theo các phương án mà chế phẩm này được làm khô lạnh, tốt hơn là chất đệm này không phải là axetat do các hệ đệm axetat không tương hợp với quá trình làm khô lạnh.

Khi khoảng giá trị pH được trích dẫn, như "độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5," thì khoảng này nhằm bao gồm các giá trị được trích dẫn. Trừ khi có quy định khác, đối với công thức được làm khô lạnh mà độ pH đề cập đến độ pH sau khi tái cấu trúc các chế phẩm được làm khô lạnh theo sáng chế. Độ pH thường được đo ở 25°C mà sử dụng máy đo độ pH bầu thủy tinh chuẩn. Như được sử dụng ở đây, dung dịch chứa "chất đệm histiđin ở độ pH X" đề cập đến dung dịch

ở độ pH = X và chứa chất đệm histiđin, tức là pH nhằm đề cập đến độ pH của dung dịch này.

Ngoài kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chất ổn định và chất đệm với các lượng/nồng độ nêu trên, các chế phẩm theo sáng chế cũng chứa chất chống oxy hóa. Theo các phương án của sáng chế, chất chống oxy hóa là methionin. Theo các phương án của sáng chế, chất chống oxy hóa là L-methionin hoặc muối dược dụng của nó. Theo các phương án nữa, methionin là L-methionin. Theo các phương án khác, chất chống oxy hóa là L-methionin HCl. Theo các phương án khác, chất chống oxy hóa là histiđin.

Theo một số phương án, chất chống oxy hóa (ví dụ, L-methionin) có mặt trong các chế phẩm theo sáng chế với lượng nằm trong khoảng từ 1 mM đến 20 mM. Theo một số phương án, chất chống oxy hóa có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 5 mM đến 20 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 15 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 10 mM. Theo một số phương án, chất chống oxy hóa có mặt với lượng khoảng 1 mM, khoảng 2 mM, khoảng 3 mM, khoảng 4 mM, khoảng 5 mM, khoảng 6 mM, khoảng 7 mM, khoảng 8 mM, khoảng 9 mM, khoảng 10 mM, khoảng 11 mM, khoảng 12 mM, khoảng 13 mM, khoảng 14 mM, khoảng 15 mM, khoảng 16 mM, khoảng 17 mM, khoảng 18 mM, khoảng 19 mM hoặc khoảng 20 mM. Theo một số phương án, chất chống oxy hóa có mặt với lượng từ 5 mM đến 20 mM, từ 5 mM đến 15 mM, từ 5 mM đến 10 mM. Theo một số phương án, chất chống oxy hóa có mặt với lượng 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM, 11 mM, 12 mM, 13 mM, 14 mM, 15 mM, 16 mM, 17 mM, 18 mM, 19 mM hoặc 20 mM.

Theo các phương án trong đó chất chống oxy hóa là histiđin, histiđin có thể có mặt với các lượng lên đến 100 mM. Theo các phương án này, histiđin có thể nhằm làm chất đệm, chất chống oxy hóa, và/hoặc làm giảm độ nhớt trong các chế phẩm được mô tả ở đây. Theo một số phương án, histiđin có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 10 đến khoảng 20 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 20 đến khoảng 30 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 30 đến khoảng 40 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 40 đến khoảng 50 mM, nằm trong khoảng từ

khoảng 50 đến khoảng 60 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 60 đến khoảng 70 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 70 đến khoảng 80 mM, nằm trong khoảng từ khoảng 80 đến khoảng 90 mM hoặc nằm trong khoảng từ khoảng 90 đến khoảng 100 mM. Theo một số phương án, histiđin có thể có mặt ở nồng độ từ 10 đến 20 mM, từ 20 đến 30 mM, từ 30 đến 40 mM, từ 40 đến 50 mM, từ 50 đến 60 mM, từ 60 đến 70 mM, từ 70 đến 80 mM, từ 80 đến 90 mM hoặc từ 90 đến 100 mM. Theo một số phương án, histiđin có thể có mặt ở nồng độ khoảng 10 mM, khoảng 20 mM, khoảng 30 mM, khoảng 40 mM, khoảng 50 mM, khoảng 60 mM, khoảng 70 mM, khoảng 80 mM, khoảng 90 mM hoặc khoảng 100 mM. Theo một số phương án, histiđin có thể có mặt ở nồng độ 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM, 30 mM, 35 mM, 40 mM, 45 mM, 50 mM, 55 mM, 60 mM, 65 mM, 70 mM, 75 mM, 80 mM, 85 mM, 90 mM, 95 mM hoặc 100 mM.

Ngoài kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, chất ổn định, chất đệm và chất chống oxy hóa với các lượng/nồng độ nêu trên, các chế phẩm theo sáng chế cũng bao gồm chất hoạt động bề mặt. Các chất hoạt động bề mặt thường được bổ sung vào các chế phẩm để tạo ra độ ổn định, làm giảm và/hoặc ngăn ngừa sự kết tụ hoặc ngăn ngừa và/hoặc ức chế sự hư hỏng protein trong các điều kiện xử lý như tinh chế, lọc, đông khô, vận chuyển, bảo quản, và phân phối. Theo một số phương án của sáng chế, chất hoạt động bề mặt hữu ích để tạo ra độ ổn định bổ sung cho (các) hoạt chất, tức là kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Các chất hoạt động bề mặt mà có thể hữu ích trong các chế phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở: các chất hoạt động bề mặt phi ion như este của axit béo polyoxyetylen sorbitan (Polysorbat, được bán dưới tên thương mại TWEEN (Uniquema Americas LLC, Wilmington, DE)) bao gồm Polysorbat-20 (polyoxyetylen sorbitan monolaurat), Polysorbat-40 (polyoxyetylen sorbitan monopalmitat), Polysorbat-60 (polyoxyetylen sorbitan monostearat), và Polysorbat-80 (polyoxyetylen sorbitan monooleat); polyoxyetylen alkyl ete như BRIJ 58 (Uniquema Americas LLC, Wilmington, DE) và BRIJ 35; poloxame (ví dụ, poloxame 188); TRITON X-100 (Union Carbide Corp., Houston, TX) và

TRITON X-114; NP40; Span 20, Span 40, Span 60, Span 65, Span 80 và Span 85; copolyme của etylen và propylen glycol (ví dụ, một loạt PLURONIC của các chất hoạt tính bề mặt phi ion như PLURONIC F68, PLURONIC 10R5, PLURONIC F108, PLURONIC F127, PLURONIC F38, PLURONIC L44, PLURONIC L62 (BASF Corp., Ludwigshafen, Germany); và natri dodexyl sulfat (SDS).

Lượng chất hoạt động bề mặt chứa trong các chế phẩm theo sáng chế là lượng đủ để thực hiện chức năng mong muốn, tức là lượng tối thiểu cần để ổn định hoạt chất dược học (tức là kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) trong chế phẩm này. Thông thường là, chất hoạt động bề mặt có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,008% đến khoảng 0,1% khối lượng/thể tích. Theo một số phương án của khía cạnh này theo sáng chế, chất hoạt động bề mặt có mặt trong chế phẩm với lượng từ nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,04% khối lượng/thể tích; nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,03% khối lượng/thể tích, nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,02% khối lượng/thể tích, nằm trong khoảng từ khoảng 0,015% đến khoảng 0,04% khối lượng/thể tích; nằm trong khoảng từ khoảng 0,015% đến khoảng 0,03% khối lượng/thể tích, nằm trong khoảng từ khoảng 0,015% đến khoảng 0,02% khối lượng/thể tích, nằm trong khoảng từ khoảng 0,02% đến khoảng 0,04% khối lượng/thể tích, nằm trong khoảng từ khoảng 0,02% đến khoảng 0,035% khối lượng/thể tích, hoặc nằm trong khoảng từ khoảng 0,02% đến khoảng 0,03% khối lượng/thể. Theo các phương án cụ thể, chất hoạt động bề mặt có mặt với lượng khoảng 0,02% khối lượng/thể tích. Theo các phương án thay thế, chất hoạt động bề mặt có mặt với lượng khoảng 0,01%, khoảng 0,015%, khoảng 0,025%, khoảng 0,03%, khoảng 0,035%, hoặc khoảng 0,04% khối lượng/thể tích.

Theo các phương án minh họa của sáng chế, chất hoạt động bề mặt là chất hoạt động bề mặt phi ion được chọn từ nhóm bao gồm: Polysorbat 20, Polysorbat 80 và F127. Theo các phương án được ưu tiên, chất hoạt động bề mặt là Polysorbat 80.

Theo các phương án cụ thể, các chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa PS80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,04% khối lượng/thể tích. Theo các phương án nữa, các chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa PS80 với lượng khoảng 0,008%, khoảng 0,01%, khoảng 0,015%, khoảng 0,02%, khoảng 0,025%, khoảng 0,03%, khoảng 0,035%, khoảng 0,04% hoặc khoảng 0,045% khối lượng/thể tích. Theo các phương án cụ thể, các chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa khoảng 0,02% khối lượng/thể tích PS80. Theo một số phương án, các chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa PS80 từ 0,01% đến 0,04% khối lượng/thể tích. Theo một số phương án, các chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa PS80 với lượng 0,008%, 0,01%, 0,015%, 0,02%, 0,025%, 0,03%, 0,035%, 0,04% hoặc 0,045% khối lượng/thể tích. Theo các phương án cụ thể, các chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa 0,02% khối lượng/thể tích PS80.

Theo các phương án cụ thể, các chế phẩm kháng thể kháng RSV theo sáng chế chứa chất chelat hóa được chọn từ DTPA và EDTA. Theo một số phương án, chất chelat hóa là DTPA. Theo các phương án nữa, lượng DTPA là nằm trong khoảng từ khoảng 10 µM đến khoảng 90 µM, nằm trong khoảng từ khoảng 25 µM đến khoảng 75 µM hoặc khoảng 50 µM. Theo một số phương án, chất chelat hóa là DTPA. Theo một số phương án, lượng DTPA là từ 10 µM đến 90 µM, từ 25 µM đến 75 µM hoặc 50 µM.

Ngoài kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, các phương án của chế phẩm có thể chứa chất ổn định, chất đệm, chất chống oxy hóa, chất hoạt động bề mặt và chất chelat hóa, với các lượng/nồng độ được nêu trên.

Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó chế phẩm này được chứa trong lọ thủy tinh hoặc thiết bị tiêm (ví dụ, bơm tiêm).

Theo các phương án nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau khi bảo quản chế phẩm ở 2-8°C trong 12 tháng, phần trăm chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đo được bằng cách khử CE-SDS là > 96%.

Theo các phương án nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau khi bảo quản chế phẩm ở 2-8°C trong 12 tháng thì phần trăm IgG nguyên vẹn trong chế phẩm đo được bằng CE-SDS không khử là > 97%.

Theo các phương án nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau khi bảo quản chế phẩm ở 2-8°C trong 12 tháng, phần trăm monome như đo được bằng HP-SEC là > 98,5%.

Theo các phương án bổ sung, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau khi bảo quản chế phẩm ở 2-8°C trong 12 tháng, phần trăm của các loại trọng lượng phân tử cao như đo được bằng HP-SEC là < 1,5%.

Theo các phương án nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau đó bảo quản chế phẩm ở 25°C trong 12 tháng, phần trăm monome như đo được bằng HP-SEC là > 98,0%.

Theo các phương án bổ sung, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau khi bảo quản chế phẩm này ở 25°C trong 6 tháng, phần trăm của các loại trọng lượng phân tử cao như đo được bằng HP-SEC là < 2%.

Theo các phương án nữa, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau khi bảo quản chế phẩm ở 40°C trong 3 tháng, phần trăm monome như đo được bằng HP-SEC là > 94,0%, > 94,5% hoặc > 95,0%.

Theo các phương án bổ sung, sáng chế đề cập đến các chế phẩm kháng thể kháng RSV như được mô tả ở đây, trong đó sau khi bảo quản chế phẩm này ở 40°C trong 3 tháng, phần trăm của các loại trọng lượng phân tử cao như đo được bằng HP-SEC là < 5,5%, < 5,0%, hoặc < 4,4%.

V. Các khía cạnh cụ thể và các phương án theo sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL; b) chất đệm nằm trong

khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) chất ổn định được chọn từ nhóm bao gồm: (i) đường không khử nằm trong khoảng từ khoảng 6% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích (w/v) ; (ii) L-arginin hoặc muối dược dụng L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; L-prolin hoặc muối dược dụng của L-prolin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, hoặc hỗn hợp của các axit amin này, và (iii) chất chelat hóa nằm trong khoảng từ khoảng 25 µM đến khoảng 75 µM; d) chất hoạt động bề mặt phi ion nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% ; và tùy ý là e) chất chống oxy hóa nằm trong khoảng từ 1 mM đến 20 mM.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 150 mg/mL; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 6% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích (w/v); d) tá dược được chọn từ L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, hỗn hợp của L-arginin(HCl) và L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, và hỗn hợp của L-arginin(HCl) và L-lysin(HCl) nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; e) DTPA nằm trong khoảng từ khoảng 25 đến khoảng 75 µM; f) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10%; và tùy ý là g) L-methionin nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV, chế phẩm này bao gồm: a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) tá dược được chọn từ 50 mM L-arginin(HCl), 50 mM L-lysin(HCl), hỗn hợp của 25 mM L-arginin và 25 mM L-glutamat, và hỗn hợp của 25 mM L-

arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50 µM DTPA; f) 0,02% polysorbat 80; và tùy ý là g) từ 1 mM đến 20 mM L-methionin.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV, chế phẩm này chứa: a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) hỗn hợp của 25 mM L-arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50 µM DTPA; và f) 0,02% polysorbat 80.

Theo khía cạnh khác, nồng độ của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 150 mg/mL. Theo khía cạnh khác, nồng độ của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 75 mg/mL đến khoảng 125 mg/mL. Theo khía cạnh khác, nồng độ của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là từ 50 mg/mL đến 150 mg/mL. Theo khía cạnh khác, nồng độ của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là từ 75 mg/mL đến 125 mg/mL. Theo khía cạnh khác, nồng độ của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là 100 mg/mL. Theo khía cạnh khác, nồng độ của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là 75 mg/mL. Theo khía cạnh khác, nồng độ của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là 50 mg/mL.

Theo khía cạnh khác, chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ khoảng 5,5 đến khoảng 6,5. Theo khía cạnh khác, chế phẩm này có độ pH từ 5,5 đến 6,5. Theo khía cạnh khác, chế phẩm này có độ pH là 6,0.

Theo khía cạnh khác, chế phẩm này là histiđin. Theo khía cạnh khác, nồng độ của histiđin là nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM. Theo khía cạnh khác, nồng độ của histiđin là nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 15 mM. Theo khía cạnh khác, nồng độ của histiđin là từ 1 mM đến 20 mM. Theo khía cạnh khác, nồng độ của histiđin là từ 5 mM đến 15 mM. Theo khía cạnh khác, nồng độ của histiđin là 10 mM.

Theo khía cạnh khác, chế phẩm chứa chất ổn định được chọn từ đường không khử; L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin; L-prolin hoặc muối

dược dụng của L-prolin; L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat; L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin; hoặc hỗn hợp của các axit amin này. Theo khía cạnh khác, chế phẩm chứa tá dược được chọn từ khoảng 50 mM L-arginin(HCl), khoảng 50 mM L-lysin(HCl), hỗn hợp của khoảng 25 mM L-arginin và khoảng 25 mM L-glutamat, và hỗn hợp của khoảng 25 mM L-arginin(HCl) và khoảng 25 mM L-lysin(HCl).

Theo khía cạnh khác, chế phẩm chứa chất chelat hóa là DTPA ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 25 µM đến khoảng 75 µM. Theo khía cạnh khác, chế phẩm chứa chất chelat hóa là DTPA ở nồng độ khoảng 50 µM. Theo khía cạnh khác, chế phẩm chứa chất chelat hóa là DTPA ở nồng độ là 50 µM.

Theo khía cạnh khác, chế phẩm này bao gồm chất hoạt động bề mặt phi ion là PS80 ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% khối lượng/thể tích. Theo khía cạnh khác, chế phẩm này chứa chất hoạt động bề mặt phi ion là PS80 ở nồng độ khoảng 0,02% khối lượng/thể tích. Theo khía cạnh khác, chế phẩm này chứa chất hoạt động bề mặt phi ion là PS80 ở nồng độ là 0,02% khối lượng/thể tích.

Theo khía cạnh khác, chế phẩm này chứa chất chống oxy hóa là L-methionin ở nồng độ nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM. Theo khía cạnh khác, chế phẩm này chứa chất chống oxy hóa là L-methionin ở nồng độ khoảng 10 mM. Theo khía cạnh khác, chế phẩm này chứa chất chống oxy hóa là L-methionin ở nồng độ khoảng 10 mM.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) tá dược được chọn từ nhóm chứa L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến

khoảng 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, và hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM ; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích); d) L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích); d) L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích).

Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 20 mM; c) sucroza từ 4% to 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Vẫn theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 100 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); và d) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là từ 50 mg/mL đến 250 mg/mL; b) histiđin từ 5 mM đến 100 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích); và d) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích).

Theo một khía cạnh, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 100 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 100 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích); d) L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một khía cạnh, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 100 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc

mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 100 mM; c) sucroza từ 4% đến 8% (khối lượng/thể tích); d) L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích).

Theo một khía cạnh, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 100 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích) . Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 100 mM; c) sucroza từ 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích).

Theo một khía cạnh, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/ml đến khoảng 250 mg/ml; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 100 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích). Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg/ml đến 250 mg/ml; b) histiđin từ 5 mM đến 100 mM; c) sucroza từ

4% to 8% (khối lượng/thể tích); d) hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin từ 25 mM đến 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin từ 25 mM đến 75 mM; và e) polysorbat 80 từ 0,01% đến 0,10% (khối lượng/thể tích) .

Theo một số phương án theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh và phương án nêu trên, nồng độ histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 70 mM đến khoảng 90 mM. Theo một số phương án, nồng độ histiđin là từ 70 mM đến 90 mM. Theo một số phương án, nồng độ histiđin là khoảng 80 mM. Theo một số phương án, nồng độ histiđin là 80 mM.

Theo một số phương án trong các khía cạnh và phương án nêu trên, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 125 mg/mL đến khoảng 175 mg/mL. Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là từ 125 mg/mL đến 175 mg/mL. Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa khoảng 150 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Theo một phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa 150 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một số phương án trong các khía cạnh và phương án nêu trên, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 150 mg/mL đến khoảng 200 mg/mL. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là từ 150 mg/mL đến 200 mg/mL. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa khoảng 175 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa 175 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một số phương án trong các khía cạnh và phương án nêu trên, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 175 mg/mL đến khoảng 225

mg/mL. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là từ 175 mg/mL đến 225 mg/mL. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa khoảng 200 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV chứa 200 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

Theo một số phương án trong các khía cạnh và phương án nêu trên, chế phẩm kháng thể kháng RSV còn chứa đietylentriamin pentaaxetat (DTPA) nằm trong khoảng từ khoảng 25 đến khoảng 75 μM. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV còn chứa đietylentriamin pentaaxetat (DTPA) từ 25 đến 75 μM.

Theo một số phương án trong các khía cạnh và phương án nêu trên, chế phẩm kháng thể kháng RSV còn chứa L-methionin nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM. Theo một số phương án, chế phẩm kháng thể kháng RSV còn chứa L-methionin từ 1 mM đến 20 mM.

Theo một số phương án, độ pH của chế phẩm kháng thể kháng RSV là từ 5,5 đến 6,5. Theo một số phương án, độ pH của chế phẩm kháng thể kháng RSV là khoảng 6,0. Theo một số phương án, độ pH của chế phẩm kháng thể kháng RSV là 6,0.

Theo một số phương án, kháng thể kháng RSV bao gồm các CDR có các trình tự axit amin amin của các SEQ ID NO: 1-6. Theo một số phương án, kháng thể kháng RSV bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 7 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 8. Theo một số phương án, kháng thể kháng RSV bao gồm globulin miễn dịch chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9 và globulin miễn dịch chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở bệnh nhân là con người cần nó bao gồm: việc dùng lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh nêu trên và các phương án cho bệnh nhân.

Theo một số phương án của phương pháp nêu trên, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, nằm trong khoảng từ khoảng 10 mg đến khoảng 150 mg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là từ 10 mg đến 150 mg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 25 mg đến khoảng 125 mg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 25 mg đến 125 mg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg đến khoảng 100 mg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó từ 50 mg đến 100 mg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là khoảng 100 mg. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu của chế phẩm kháng thể kháng RSV bao gồm liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là khoảng 100 mg.

Theo một số phương án theo phương pháp nêu trên, chế phẩm kháng thể kháng RSV được dùng bằng cách dùng trong cơ.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh nêu trên hoặc các phương án để sử dụng trong phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở bệnh nhân là con người.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến việc sử dụng chế phẩm kháng thể kháng RSV theo khía cạnh bất kỳ trong số các khía cạnh hoặc phương án nêu

trên trong sản xuất thuốc để điều trị hoặc ngăn ngừa sự lây nhiễm RSV ở bệnh nhân là con người.

Theo một số phương án của sáng chế, chế phẩm bất kỳ trong số các chế phẩm được mô tả ở đây là trong dung dịch chứa nước. Theo các phương án thay thế, sáng chế đề cập đến các chế phẩm được làm khô lạnh được tạo ra bằng cách làm khô lạnh chế phẩm chứa nước để tạo ra chế phẩm được tái cấu trúc theo sáng chế, như được thảo luận đầy đủ hơn sau đây.

VI. Các dược phẩm được làm khô lạnh

Các chế phẩm được làm khô lạnh của các protein chữa bệnh (ví dụ, kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) tạo ra một vài ưu điểm. Các chế phẩm được làm khô lạnh thường tạo ra độ ổn định hóa học tốt hơn so với các chế phẩm dung dịch, và do đó làm tăng chu kỳ bán hủy. Chế phẩm được làm khô lạnh cũng có thể được tái cấu trúc ở các nồng độ khác nhau tùy thuộc vào các yếu tố lâm sàng, như cách dùng hoặc phân liều. Ví dụ, chế phẩm được làm khô lạnh có thể được tái cấu trúc ở nồng độ cao (*tức là* với thể tích nhỏ) nếu cần để dùng dưới da hoặc ở nồng độ thấp nếu được dùng trong tĩnh mạch. Các nồng độ cao cũng có thể cần thiết nếu yêu cầu phân liều cao cho đối tượng cụ thể, cụ thể là nếu được dùng dưới da, trong đó thể tích tiêm phải được tối thiểu hóa. Một chế phẩm kháng thể được làm khô lạnh này được bộc lộ ở Patent Mỹ số 6,267,958, mà được kết hợp toàn bộ ở đây bằng cách viện dẫn. Các chế phẩm được làm khô lạnh của protein chữa bệnh khác được bộc lộ ở Patent Mỹ số 7,247,707, mà được kết hợp toàn bộ ở đây bằng cách viện dẫn.

Thông thường là, chế phẩm được làm khô lạnh được điều chế nguyên vẹn với việc tái cấu trúc ở nồng độ sản phẩm dược chất có nồng độ cao (drug product - DP, kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó theo một phương án minh họa), tức là nguyên vẹn về sự tái cấu trúc ở thể tích nước thấp. Việc pha loãng sau đó bằng nước hoặc chất đệm đẳng trương sau đó có thể sẵn sàng được sử dụng để pha loãng sản phẩm dược chất đến nồng độ thấp hơn. Thông thường là, các tá dược chứa trong chế phẩm được làm khô lạnh theo sáng chế ở các mức độ sẽ tạo ra chế phẩm tương đối đẳng trương khi được tái cấu trúc ở nồng

độ sản phẩm dược chất cao, ví dụ, để dùng dưới da. Việc tái cấu trúc ở lượng nước lớn hơn để thu được nồng độ DP thấp hơn sẽ cần để làm giảm tính đẳng trương của dung dịch được tái cấu trúc, việc giảm này có thể ít có ý nghĩa trong việc dùng không qua dưới da, ví dụ dùng trong tĩnh mạch. Nếu tính đẳng trương được mong muốn ở nồng độ DP thấp hơn, bột được làm khô lạnh có thể được tái cấu trúc ở thể tích nước thấp chuẩn và sau đó còn được pha loãng bằng chất pha loãng đẳng trương, như 0,9% natri clorua.

Theo một phương án của sáng chế, kháng thể kháng RSV (hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) được phối chế làm bột được làm khô lạnh để tái cấu trúc và sử dụng cho việc dùng trong tĩnh mạch, dưới da hoặc trong cơ. Theo một số phương án, kháng thể (hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó) được tạo ra ở khoảng 50 mg/lọ, và được tái cấu trúc bằng nước khử trùng để tiêm trước khi sử dụng. Nếu muốn, kháng thể được tái cấu trúc có thể được pha loãng theo cách vô trùng với dung dịch tiêm USP natri clorua 0,9% trong vật chứa IV khử trùng. Theo một số phương án, độ pH đích của chế phẩm được tái cấu trúc là 5,5 ± 0,5. Theo các phương án khác nhau, chế phẩm được làm khô lạnh theo sáng chế cho phép việc tái cấu trúc của kháng thể kháng RSV đến các nồng độ cao, như khoảng 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75, 100, 125, 150, 175 mg/mL hoặc lớn hơn.

Các chế phẩm được làm khô lạnh về cơ bản là khô theo định nghĩa, và do đó khái niệm về nồng độ không hữu ích trong việc mô tả chúng. Việc mô tả chế phẩm được làm khô lạnh liên quan đến khối lượng của các thành phần trong lọ liều đơn vị, nhưng sẽ có vấn đề do nó khác nhau với các liều lượng hoặc kích cỡ lọ khác nhau. Trong việc mô tả các chế phẩm được làm khô lạnh theo sáng chế, hữu ích là biểu thị lượng thành phần là tỷ lệ của khối lượng của thành phần so với khối lượng của dược chất (drug substance - DS) trong cùng một mẫu (ví dụ, lọ). Tỷ lệ này có thể được biểu thị là tỷ lệ phần trăm. Các tỷ lệ này phản ánh các đặc tính bên trong của các chế phẩm được làm khô lạnh theo sáng chế, độc lập với kích cỡ lọ, phân liều và quy trình tái cấu trúc.

Theo các phương án khác, chế phẩm được làm khô lạnh theo kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên được xác định đối với dung dịch

làm khô lạnh sơ bộ được sử dụng để tạo ra chế phẩm được làm khô lạnh, như dung dịch làm khô lạnh sơ bộ. Theo một phương án, dung dịch làm khô lạnh sơ bộ bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó, ở nồng độ khoảng 10 mg/mL, khoảng 25 mg/mL hoặc khoảng 50 mg/mL. Các dung dịch làm khô lạnh này có thể ở độ pH từ 4,4 đến 5,2 (bao gồm khoảng 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1 và 5.2), ví dụ tốt hơn là độ pH khoảng 4,8, hoặc độ pH khoảng 5,5.

Theo các phương án khác nữa, chế phẩm được làm khô lạnh của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên được xác định đối với dung dịch được tái cấu trúc được tạo ra từ chế phẩm được làm khô lạnh.

Các dung dịch được tái cấu trúc có thể bao gồm kháng thể hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó ở các nồng độ khoảng 50, 60, 75, 80, 90 hoặc 100 mg/mL hoặc các nồng độ cao hơn như 150 mg/mL, 167 mg/mL, 200 mg/mL, hoặc lên đến khoảng 250 mg/mL. Các dung dịch được tái cấu trúc này có thể ở độ pH khoảng 5,5 hoặc độ pH nằm trong trong khoảng từ khoảng 5,0 đến khoảng 6,0.

Các chế phẩm được làm khô lạnh theo sáng chế được tạo thành bằng cách làm khô lạnh (đông khô) dung dịch làm khô lạnh sơ bộ. Việc làm đông khô được hoàn thành bằng cách làm đông chế phẩm và sau đó là làm thăng hoa nước ở nhiệt độ thích hợp cho việc sấy khô sơ cấp. Dưới điều kiện này, nhiệt độ sản phẩm là dưới điểm cùng tinh hoặc nhiệt độ sụp đổ của chế phẩm này. Thông thường là, nhiệt độ nền (shelf temperature) để sấy khô sơ cấp sẽ nằm trong khoảng từ khoảng -30 đến 25°C (miễn là sản phẩm giữ đông trong quá trình sấy khô sơ cấp) ở áp suất thích hợp, thường nằm trong khoảng từ khoảng 50 đến khoảng 250 mTorr. Chế phẩm, kích cỡ và loại vật chứa giữ mẫu (ví dụ, lọ thủy tinh) và thể tích chất lỏng sẽ yêu cầu thời gian cần để sấy khô, mà có thể nằm trong khoảng từ vài giờ đến vài ngày (ví dụ, 40-60 giờ). Giai đoạn sấy khô thứ cấp có thể được tiến hành ở khoảng 0-40°C, tùy thuộc chủ yếu vào loại và kích cỡ của vật chứa và loại protein được sử dụng. Thời gian sấy khô thứ cấp được yêu cầu bởi mức độ ẩm còn lại mong muốn trong sản phẩm và thông thường mất ít nhất khoảng 5 giờ. Thông thường là, hàm lượng độ ẩm của chế phẩm được làm khô lạnh là nhỏ hơn khoảng 5%, và tốt hơn là nhỏ hơn khoảng 3%. Áp suất có thể là giống với áp suất

được sử dụng trong bước sấy khô sơ cấp. Các điều kiện đông khô có thể khác nhau tùy thuộc vào chế phẩm và kích cỡ lọ.

Trong một số trường hợp, có thể mong muốn làm khô lạnh chế phẩm protein trong vật chứa mà trong đó việc tái cấu trúc protein sẽ được thực hiện để tránh bước vận chuyển. Vật chứa trong trường hợp này có thể là, ví dụ, lọ 3, 5, 10, 20, 50 hoặc 100 cc.

Các chế phẩm được làm khô lạnh theo sáng chế được tái cấu trúc trước khi dùng. Protein có thể được tái cấu trúc ở nồng độ khoảng 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 75, 80, 90 hoặc 100 mg/mL hoặc các nồng độ cao hơn như 150 mg/mL, 200 mg/mL, 250 mg/mL, hoặc 300 mg/mL lên đến khoảng 500 mg/mL. Các nồng độ protein cao hữu dụng đặc biệt trong đó việc phân phối dưới da chế phẩm được tái cấu trúc là được mong đợi. Tuy nhiên, đối với các cách dùng khác, như dùng trong tĩnh mạch, các nồng độ protein thấp hợp có thể được mong muốn (ví dụ, nằm trong khoảng từ 5 đến 50 mg/mL).

Việc tái cấu trúc thường diễn ra ở nhiệt độ khoảng 25°C để đảm bảo việc khử nước hoàn toàn, mặc dù các nhiệt độ khác có thể được sử dụng nếu muốn. Thời gian cần để tái cấu trúc sẽ tùy thuộc vào, ví dụ, loại chất pha loãng, lượng (các) tá dược và protein. Các chất pha loãng minh họa bao gồm nước khử trùng, nước kìm hãm vi khuẩn để tiêm (BWFI), dung dịch đệm pH (ví dụ, muối đệm phosphat), dung dịch muối khử trùng, dung dịch Ringer hoặc dung dịch dextroza.

Sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV dạng lỏng mà được tái cấu trúc thành được tái cấu trúc từ chế phẩm được làm khô lạnh trong đó dung dịch được tái cấu trúc bao gồm: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 150 mg/mL; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 6% đến khoảng 8% khối lượng/thể tích (w/v); d) tá dược được chọn từ L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, L-prolin hoặc muối dược dụng của L-prolin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến

khoảng 75 mM, L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, hỗn hợp của L-arginin và L-glutamat nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và hỗn hợp của L-arginin(HCl) và L-lysin(HCl) nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM; e) DTPA nằm trong khoảng từ khoảng 25 µM đến khoảng 75 µM; f) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% ; và tùy ý là g) L-methionin nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM.

Sáng chế đề xuất chế phẩm kháng thể kháng RSV dạng lỏng mà được tái cấu trúc từ chế phẩm được làm khô lạnh trong đó dung dịch được tái cấu trúc bao gồm: a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) tá dược được chọn từ 50 mM L-arginin(HCl), 50 mM L-lysin(HCl), hỗn hợp của 25 mM L-arginin và 25 mM L-glutamat và hỗn hợp của 25 mM L-arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50 µM DTPA; f) 0,02% polysorbat 80; và tùy ý là g) từ 1 mM đến 20 mM L-methionin.

Sáng chế đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV dạng lỏng mà được tái cấu trúc từ chế phẩm được làm khô lạnh trong đó dung dịch được tái cấu trúc bao gồm: a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) hỗn hợp của 25 mM L-arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50 µM DTPA; và f) 0,02% polysorbat 80.

Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm kháng thể kháng RSV dạng lỏng mà được tái cấu trúc từ chế phẩm được làm khô lạnh trong đó dung dịch tái cấu trúc này bao gồm: a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL; b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM; c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích); d) tá dược được chọn từ nhóm chứa L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, hỗn hợp của L-arginin

hoặc muối dược dụng của L-arginin là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-glutamat hoặc muối dược dụng của L-glutamat là nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM, và hỗn hợp của L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM và L-lysin hoặc muối dược dụng của L-lysin nằm trong khoảng từ khoảng 25 mM đến khoảng 75 mM ; và e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích).

VII. Dược phẩm dạng lỏng

Chế phẩm kháng thể dạng lỏng có thể được tạo ra bằng cách cho chất thuốc (ví dụ, kháng thể kháng RSV) mà ở dạng lỏng và chất đệm mà trao đổi nó vào trong chất đệm mong muốn như bước cuối cùng của quy trình tinh chế. Không có bước làm khô lạnh nào theo phương án này. Chất thuốc trong chất đệm cuối cùng được cô đặc đến nồng độ mong muốn. Các tá dược như sucroza, methionin và polysorbat 80 được bổ sung vào chất thuốc và nó được hòa tan mà sử dụng chất đệm thích hợp vào nồng độ protein cuối cùng. Lọc chất thuốc được phối chế cuối cùng, ví dụ, sử dụng các bộ lọc 0,22 µm và được làm đầy vào trong vật chứa cuối (ví dụ, các lọ thủy tinh hoặc các bơm tiêm). Chế phẩm dạng lỏng này được minh họa bằng chế phẩm dạng lỏng cuối cùng bao gồm a) 100 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó; b) 10 mM histiđin; c) 7% khối lượng/thể tích (w/v) sucroza; d) hỗn hợp của 25 mM L-arginin(HCl) và 25 mM L-lysin(HCl); e) 50 µM DTPA; và f) 0,02% polysorbat 80.

VIII. Phương pháp sử dụng

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị sự lây nhiễm RSV ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của chế phẩm bất kỳ trong số các chế phẩm theo sáng chế; tức là, chế phẩm bất kỳ được mô tả ở đây, cho đối tượng. Theo một số phương án của phương pháp này, chế phẩm này được dùng cho đối tượng thông qua việc dùng trong tĩnh mạch. Theo các phương án khác, chế phẩm này được dùng cho đối tượng thông qua việc

dùng dưới da. Theo các phương án khác, chế phẩm này được dùng thông qua việc dùng trong cơ.

Theo một phương án cụ thể, động vật có vú, tốt hơn là con người, được dùng chế phẩm dược hoặc điều trị, phòng bệnh theo sáng chế để điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến sự lây nhiễm RSV với lượng hữu hiệu để làm giảm các độ chuẩn RSV. Theo phương án này, lượng hữu hiệu của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh kháng thể làm giảm các độ chuẩn RSV trong phổi như đo được, ví dụ, bằng cách cô đặc RSV trong các mẫu đờm hoặc rửa từ các lá phổi của động vật có vú. Theo phương án khác, động vật có vú, tốt hơn là con người, được dùng chế phẩm phòng bệnh, chữa bệnh hoặc dược phẩm chứa kháng thể kháng RSV theo sáng chế hoặc các mảnh của chúng để điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm các triệu chứng liên quan đến sự lây nhiễm với lượng hữu hiệu để trung hòa RSV và/hoặc ngăn chặn sự lây nhiễm RSV ở động vật có vú.

Các chế phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng về mặt điều trị miễn dịch đối với bệnh RSV ở cả con người và các động vật khác. Thuật ngữ "điều trị miễn dịch" hoặc "liệu pháp miễn dịch" như được sử dụng ở đây kết hợp với kháng thể kháng RSV hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của nó theo sáng chế nhằm chỉ cả cách dùng phòng bệnh cũng như cách dùng chữa bệnh và cả miễn dịch thụ động với các sản phẩm polypeptit được tinh sạch về cơ bản cũng như liệu pháp gen bằng cách chuyển các trình tự polynucleotit mã hóa sản phẩm hoặc một phần của nó. Việc gây miễn dịch thụ động bao gồm việc chuyển giao miễn dịch dịch thể chủ động hoặc cung cấp các kháng thể cho đối tượng cần chúng. Do đó, theo một số phương án của sáng chế, sáng chế đề xuất các phương pháp chuyển giao miễn dịch dịch thể chủ động và các phương pháp tạo ra các kháng thể RSV hoặc các mảnh gắn kết kháng nguyên của chúng, như các kháng thể IgG, cho bệnh nhân có nguy cơ lây nhiễm RSV. Do đó, các kháng thể đơn dòng hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó có thể được dùng cho các đối tượng có nguy cơ cao để làm giảm khả năng này và/hoặc tính nghiêm trọng của bệnh RSV hoặc được dùng cho các đối tượng đã chứng minh được sự lây nhiễm RSV chủ động.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều biến hoặc điều trị ít nhất một bệnh liên quan đến RSV ở người trưởng thành hoặc nhi khoa, ở tế bào, mô, cơ quan, động vật, hoặc bệnh nhân bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các lây nhiễm đường hô hấp dưới, viêm phổi, viêm khí phế quản, viêm tiểu phế quản, viêm phế quản, các lây nhiễm có liên quan bất kỳ hoặc các rối loạn do viêm, như nhưng không giới hạn ở ít nhất một trong, hoặc ít nhất một bệnh viêm liên quan đến, hội chứng đáp ứng viêm hệ thống, triệu chứng nhiễm trùng, nhiễm trùng gram dương, nhiễm trùng gram âm, nhiễm trùng nuôi cấy âm, nhiễm trùng nấm, sốt do giảm bạch cầu trung tính, nhiễm khuẩn niệu, màng não cầu huyết, hội chứng suy hô hấp ở người trưởng thành, viêm mũi dị ứng, viêm mũi dai dẳng, bệnh hen, phản vệ hệ thống, các phản ứng quá mẫn thụ thể, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), viêm phổi quá mẫn, u hạt do các sinh vật nội bào, mẫn cảm với thuốc, chứng suy mòn, xơ nang, bệnh phổi mạn tính sơ sinh; ít nhất bệnh lây nhiễm trong tế bào, mô, cơ quan, động vật hoặc bệnh nhân, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, ít nhất một trong số: nhiễm khuẩn cấp tính hoặc mạn tính, các quá trình lây nhiễm hoặc ký sinh cấp tính và mạn tính, bao gồm các lây nhiễm do vi khuẩn, virut và nấm, lây nhiễm HIV, bệnh thần kinh HIV, viêm màng não, viêm gan (A,B hoặc C, hoặc tương tự), viêm khớp nhiễm khuẩn, viêm màng bụng, viêm phổi, viêm tiểu thiệt, E. coli 0157:h7, hội chứng ure huyết tán huyết, xuất huyết giảm tiểu cầu huyết khối, bệnh sốt rét, sốt xuất huyết dengue, bệnh do Leishmania, bệnh phong, hội chứng sốc độc tố, viêm họng liên cầu khuẩn, hoại thư sinh hơi, bệnh lao do Mycobacterium tuberculosis, bệnh lao do Mycobacterium avium intracellulare, viêm phổi do nhiễm trùng bào tử Pneumocystis, bệnh viêm vùng chậu, viêm tinh hoàn, viêm mào tinh hoàn, bệnh Legionella, bệnh Lyme, cúm A, virut Epstein-Barr, hội chứng thực bào tế bào máu liên quan đến virut, viêm não do virut, viêm màng não virut vô khuẩn, và bệnh tương tự. Phương pháp này có thể tùy ý bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của chế phẩm hoặc dược phẩm bao gồm ít nhất một kháng thể RSV hoặc mảnh kháng nguyên của nó vào tế bào, mô, cơ quan, động vật hoặc bệnh nhân cần điều biến, điều trị hoặc chữa bệnh này.

Theo một phương án, chế phẩm phòng bệnh, chữa bệnh hoặc dược phẩm chứa kháng thể kháng RSV theo sáng chế hoặc các mảnh của chúng được dùng cho động vật có vú, tốt hơn là con người, để điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến lây nhiễm RSV. Theo phương án khác, chế phẩm phòng bệnh, chữa bệnh hoặc dược phẩm chứa kháng thể kháng RSV theo sáng chế hoặc các mảnh của chúng được dùng cho người mắc xơ nang, loạn sản phổi phế quản, bệnh tim bẩm sinh, suy giảm miễn dịch bẩm sinh hoặc suy giảm miễn dịch mắc phải, hoặc cho người mà có cấy ghép (ví dụ, tủy xương, phổi hoặc ghép tế bào gốc tạo máu (HSCT)) để điều trị, ngăn ngừa hoặc cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến lây nhiễm RSV.

Theo phương án khác, các chế phẩm phòng bệnh, chữa bệnh hoặc dược phẩm chứa kháng thể kháng RSV theo sáng chế hoặc các mảnh của chúng được dùng cho trẻ sơ sinh, tốt hơn là trẻ sơ sinh bị sinh non hoặc trẻ sơ sinh có nguy cơ nằm viện do lây nhiễm RSV để điều trị, ngăn ngừa hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến sự lây nhiễm RSV. Theo phương án khác nữa, các chế phẩm phòng bệnh, chữa bệnh hoặc dược phẩm theo sáng chế được dùng cho người già hoặc người ở nhà tập thể (ví dụ, viện dưỡng lão hoặc các trung tâm phục hồi chức năng) hoặc các cá thể bị suy giảm miễn dịch.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa sự lây nhiễm đường hô hấp gây ra do RSV. Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa sự lây nhiễm đường hô hấp dưới gây ra do RSV. Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa sự lây nhiễm đường hô hấp dưới gây ra do các chủng RSV A và B. Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa sự lây nhiễm đường hô hấp dưới được can thiệp về mặt y học gây ra do các chủng RSV A và B ở trẻ sơ sinh được sinh > 29 tuần thai kỳ và < 8 tháng tuổi tại thời điểm dùng liều. Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương pháp ngăn ngừa sự lây nhiễm đường hô hấp dướigây ra do RSV ở tất cả các trẻ sơ sinh mà mắc RSV ở mùa đầu tiên và trẻ em mắc bệnh phổi mạn tính hoặc bệnh tim bẩm sinh mà mắc RSV ở mùa thứ nhất và mùa thứ hai.

IX. Các phương pháp chung

Các phương pháp chuẩn trong sinh học phân tử được mô tả trong Sambrook, Fritsch and Maniatis (1982 & 1989 2nd Edition, 2001 3rd Edition) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook and Russell (2001) *Molecular Cloning, 3rd ed.,* Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA). Các phương pháp chuẩn cũng có trong Ausubel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology, Vols.1-4*, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY, mà mô tả việc tách dòng các tế bào vi khuẩn và đột biến ADN (Vol. 1), tách dòng trong các tế bào động vật có vú và nấm men (Vol. 2), biểu hiện glycoconjugate và protein (Vol. 3) và tin sinh học (Vol. 4).

Các phương pháp tinh sạch protein bao gồm kết tủa miễn dịch, sắc ký, điện di, ly tâm và kết tinh được mô tả (Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 1*, John Wiley and Sons, Inc., New York). Phân tích hóa học, biến đổi hóa học, biến đổi sau dịch mã, sản xuất các protein dung hợp, glycosyl hóa các protein được mô tả (xem, ví dụ, Coligan, *et al.* (2000) *Current Protocols in Protein Science, Vol. 2*, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubel, *et al.* (2001) *Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 3*, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5-16.22.17; Sigma-Aldrich, Co. (2001) *Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45-89; Amersham Pharmacia Biotech (2001) *BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384-391). Việc sản xuất, tinh sạch và phân đoạn các kháng thể đơn dòng và đa dòng được mô tả (Coligan, *et al.* (2001) *Current Protocols in Immunology, Vol. 1*, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow and Lane (1999) *Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlow and Lane, *supra*). Các kỹ thuật chuẩn để mô tả các tương tác phối tử/thụ thể là có sẵn (xem, ví dụ, Coligan, *et al.* (2001) *Current Protocols in Immunology, Vol. 4*, John Wiley, Inc., New York).

Các kháng thể đơn dòng, đa dòng và nhân tính hóa có thể được điều chế (xem trong ví dụ như Sheperd and Dean (eds.) (2000) *Monoclonal Antibodies*,

Oxford Univ. Press, New York, NY; Kontermann and Dubel (eds.) (2001) *Antibody Engineering*, Springer-Verlag, New York; Harlow and Lane (1988) *Antibodies A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenter, *et al.* (2000) *J. Immunol.* 165:6205; He, *et al.* (1998) *J. Immunol.* 160:1029; Tang *et al.* (1999) J. Biol. Chem. 274:27371-27378; Baca *et al.* (1997) *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684; Chothia *et al.* (1989) *Nature* 342:877-883; Foote and Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487-499; Patent Mỹ số 6,329,511).

Giải pháp thay thế với nhân tính hóa là sử dụng thư viện kháng thể người được biểu hiện trên thực khuẩn thể hoặc thư viện kháng thể người ở chuột chuyển gen(Vaughan *et al.* (1996) *Nature Biotechnol.* 14:309-314; Barbas (1995) *Nature Medicine* 1:837-839; Mendez *et al.* (1997) *Nature Genetics* 15:146-156; Hoogenboom and Chames (2000) *Immunol. Today* 21:371-377; Barbas *et al.* (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kay *et al.* (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruin *et al.* (1999) *Nature Biotechnol.* 17:397-399).

Việc tinh sạch kháng nguyên là không cần thiết để tạo ra các kháng thể. Các động vật có thể được tạo miễn dịch bằng các tế bào mang kháng nguyên quan tâm. Sau đó, các tế bào lách có thể được phân lập từ các động vật được tạo miễn dịch và các tế bào lách có thể được dung hợp với dòng tế bào u tủy để tạo ra các thể lai (xem, ví dụ, Meyaard *et al.* (1997) *Immunity* 7:283-290; Wright *et al.* (2000) *Immunity* 13:233-242; Preston *et al.*, *supra*; Kaithamana *et al.* (1999) *J. Immunol.* 163:5157-5164).

Các kháng thể có thể được tiếp hợp, ví dụ, với các phân tử thuốc nhỏ, enzym, liposom, polyetylen glycol (PEG). Các kháng thể là hữu ích cho chữa bệnh, chẩn đoán, kit hoặc các mục đích khác và bao gồm các kháng thể được ghép đôi, ví dụ, với chất nhuộm, các đồng vị phóng xạ, enzym hoặc các kim loại, ví dụ, vàng keo (xem, ví dụ, Le Doussal *et al.* (1991) *J. Immunol.* 146:169-175; Gibellini

et al. (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898; Hsing and Bishop (1999) *J. Immunol.* 162:2804-2811; Everts *et al.* (2002) *J. Immunol.* 168:883-889).

Các phương pháp đếm tế bào chảy, bao gồm phân loại tế bào hoạt hóa huỳnh quang (FACS), là có sẵn (xem, ví dụ, Owens, *et al.* (1994) *Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ; Givan (2001) *Flow Cytometry, 2nd ed.*; Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Shapiro (2003) *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ). Các chất phản ứng huỳnh quang thích hợp để biến đổi các axit nucleic, bao gồm các đoạn mồi axit nucleic và các mẫu dò, polypeptit và các kháng thể, để sử dụng, ví dụ làm các chất phản ứng chẩn đoán, là có sẵn (Molecular Probes (2003) *Catalogue*, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich (2003) *Catalogue*, St. Louis, MO).

Các phương pháp chuẩn về mô học của hệ miễn dịch được mô tả (xem, ví dụ, Muller-Harmelink (ed.) (1986) *Human Thymus: Histopathology and Pathology*, Springer Verlag, New York, NY; Hiatt, *et al.* (2000) *Color Atlas of Histology*, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louis, *et al.* (2002) *Basic Histology: Text and Atlas*, McGraw-Hill, New York, NY).

Các gói phần mềm và cơ sở dữ liệu để xác định, ví dụ, các mảnh kháng nguyên, các trình tự dẫn đầu, gấp protein, các miền chức năng, các vị trí glycosyl hóa và các sắp hàng trình tự, là có sẵn (xem, ví dụ, GenBank, Vector NTI Suite (Informax, Inc, Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA); DECYPHER (TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menne, *et al.* (2000) *Bioinformatics* 16: 741-742; Menne, *et al.* (2000) *Bioinformatics Applications Note* 16:741-742; Wren, *et al.* (2002) *Comput. Methods Programs Biomed.* 68:177-181; von Heijne (1983) *Eur. J. Biochem.* 133:17-21; von Heijne (1986) *Nucleic Acids Res.* 14:4683-4690).

X. Các phương pháp phân tích

Các phương pháp phân tích thích hợp để đánh giá độ ổn định của sản phẩm bao gồm sắc ký loại trừ kích thước (size exclusion chromatography - SEC), thử nghiệm phân tán ánh sáng động (DLS), phân tích nhiệt quét vi sai (differential

scanning calorimetery - DSC), định lượng iso-asp, tiềm năng, UV ở 340 nm, quang phổ UV, và FTIR. SEC (J. Pharm. Scien., 83:1645-1650, (1994); Pharm. Res., 11:485 (1994); J. Pharm. Bio. Anal., 15:1928 (1997); J. Pharm. Bio. Anal., 14:1133-1140 (1986)) đo phần trăm monome trong sản phẩm và thu được thông tin về lượng kết tụ hòa tan. DSC (Pharm. Res., 15:200 (1998); Pharm. Res., 9:109 (1982)) thu được thông tin về nhiệt độ biến tính protein và nhiệt độ chuyển hóa thủy tinh. DLS (American Lab., November (1991)) đo hệ số khuếch tán trung bình và thu được thông tin về lượng kết tụ hòa tan và không hòa tan. Tia UV ở 340 nm đo cường độ ánh sáng phân tán ở 340 nm và thu được thông tin về các lượng kết tụ hòa tan và không hòa tan. Khối phổ tia UV đo sự hấp thụ ở 278 nm và thu được thông tin về nồng độ protein. FTIR (Eur. J. Pharm. Biopharm., 45:231 (1998); Pharm. Res., 12:1250 (1995); J. Pharm. Scien., 85:1290 (1996); J. Pharm. Scien., 87:1069 (1998)) đo phổ IR ở vùng một amit, và thu được thông tin về cấu trúc thứ cấp của protein.

Hàm lượng iso-asp trong các mẫu được đo nhờ sử dụng hệ thống phát hiện Isoaspartat đẳng lượng (Promega). Kit sử dụng enzym Protein Isoaspartyl Metyltransferaza (PIMT) để phát hiện đặc hiệu sự có mặt của các gốc axit isoaspartic ở protein đích. PIMT xúc tác việc chuyển nhóm metyl từ S-adenosyl-L-methionin vào axit isoaspartic ở vị trí .alpha.-carboxyl, mà tạo ra S-adenosyl-L-homoxystein (SAH) trong quá trình này. Đây là phân tử tương đối nhỏ và có thể thường được phân lập và định lượng bằng HPLC pha đảo mà sử dụng các tiêu chuẩn SAH HPLC được cung cấp trong kit.

Tiềm năng hoặc độ tương đồng sinh học của kháng thể có thể đo được bởi khả năng của nó để gắn kết vào kháng nguyên của nó. Sự gắn kết đặc hiệu của kháng thể vào kháng nguyên của nó có thể được định lượng bằng phương pháp bất kỳ đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ví dụ, thử nghiệm miễn dịch, như ELISA (enzyme-linked immunosorbant assay - thử nghiệm hấp phụ miễn dịch liên kết enzym).

Tất cả các công bố được đề cập ở đây được kết hợp bằng cách viện dẫn với mục đích mô tả và bộc lộ các phương pháp học và vật liệu mà có thể được sử dụng theo sáng chế.

Mô tả các phương án khác nhau theo sáng chế ở đây đối với các hình vẽ kèm theo, thì cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn ở các phương án rõ ràng đó và các thay đổi và cải biến khác nhau có thể được thực hiện ở đây bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này mà không xa rời khỏi phạm vi hoặc tinh thần của sáng chế như được xác định trong các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Độ ổn định của chế phẩm kháng thể kháng RSV ở độ pH khác nhau

Nghiên cứu này được tiến hành với nồng độ kháng thể kháng RSV 100 mg/mL trong chất đệm histiđin 10 mM. Bảy % (w/v) sucroza được bổ sung vào chế phẩm này để làm tăng độ ổn định khối (do chất ổn định và chất biến đổi trương lực phi ion) của phân tử này. Một cách vắn tắt, dược chất (drug substance - DS) được phối chế ở 100 mg/mL trong histiđin 10 mM, 7% sucroza ở độ pH là 5,5, độ pH là 6,0 và độ pH là 6,5. DS được phối chế được làm đầy vào các lọ và được đưa vào ổn định ở 5°C (độ ẩm môi trường), 25°C (độ ẩm tương đối 60%), và 40°C (độ ẩm tương đối 75%) trong ba tháng được bảo vệ khỏi ánh sáng.

Các mẫu được đánh giá bằng sắc ký loại trừ kích thước (SEC) để tinh sạch trong đó xác định phần trăm monome, cũng như các phần trăm của các loại trọng lượng phân tử cao (HMW) và các đỉnh rửa giải muộn (các loại LMW). Sắc ký loại trừ kích thước - hiệu năng cực cao (Ultra Performance - Size Exclusion Chromatography - UP-SEC) được tiến hành bằng cách pha loãng các mẫu (kháng thể kháng RSV) đến 1,0 mg/mL trong pha động (100 mM natri phosphat và 100 mM natri clorua, pH = 7,0); tốc độ dòng là 0,5 mL/phút. Các mẫu được pha loãng được tiêm (5 µL) vào trong UPLC mà được trang bị cột Waters BEH200 và đầu dò UV. Các protein trong mẫu này được tách theo kích thước và được phát hiện bởi sự hấp thụ UV ở 214 nm.

Nghiên cứu này được tiến hành để nghiên cứu ảnh hưởng của độ pH lên độ ổn định của chế phẩm kháng thể kháng RSV. Dựa trên các kết quả từ nghiên cứu độ ổn định nhiệt trong thời gian lên đến 3 tháng, không có sự khác biệt đáng kể giữa độ ổn định của 100 mg/mL chế phẩm ở độ pH là 5,5, 6,0, và 6,5 với điều kiện bất kỳ. Không thấy có sự thay đổi ở % mức monome của UP-SEC ở 5°C; tuy nhiên, thấy có giảm nhẹ (~2%) ở 25°C và giảm đáng kể hơn (~20%) ở 40°C. Dựa trên các kết quả này, độ pH là 6,0 được chọn cho sự phát triển tiếp theo (xem Bảng 1).

Bảng 1

Số chế phẩm	Mô tả				
A1	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	Độ pH=5,5
A2	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	Độ pH=6,0
A3	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	Độ pH=6.5

Ví dụ 2

Sàng lọc tá dược của chế phẩm kháng thể kháng RSV (các axit amin và các hỗn hợp của chúng) (để làm giảm sự kết tụ)

Nghiên cứu này đã so sánh độ ổn định của kháng thể kháng RSV trong 10 mM histiđin (pH=6), 0,02% PS80, 7% sucroza với sự có mặt của (i) 50 mM L-Arg.HCl hoặc (ii) 50 mM L-Lys.HCl hoặc (iii) hỗn hợp của 25 mM L-Arg và 25 mM L-Glu hoặc (iv) hỗn hợp của 25 mM L-Arg.HCl và 25 mM L-Lys.HCl.

Bốn tá dược này được thử nghiệm để làm giảm sự kết tụ, cải thiện độ ổn định hóa học (xem ví dụ 3) và làm giảm độ nhớt (xem ví dụ 4). Bốn tá dược được thử nghiệm là:

(i) 50 mM L-Arg.HCl;

(ii) 50 mM L-Lys.HCl;

(iii) hỗn hợp của 25 mM L-Arg và 25 mM L-Glu; và

(iv) hỗn hợp của 25 mM L-Arg.HCl và 25 mM L-Lys.HCl.

Hai tá dược đầu tiên được kiểm tra để hiểu được hiệu quả của lysin và arginin tích điện dương với sự có mặt của anion đối clorua. Tá dược thứ ba được thử nghiệm để hiểu được ảnh hưởng của arginin với sự có mặt của anion đối khác (glutamat). Tá dược thứ tư là hỗn hợp của hai tá dược đầu tiên để xác định liệu hai tá dược này có thể đóng vai trò bổ sung hay không. Giả thiết rằng hỗn hợp này có thể đóng vai trò tốt hơn so với các tá dược riêng lẻ, thì do hỗn hợp của các tá dược này có pKa khác nhau và bảo vệ biệt hóa sự phân bố thay đổi bề mặt của mAb, theo đó làm tăng các tương tác đẩy nhau mà lần lượt sẽ làm giảm sự kết tụ và độ nhớt.

Để đánh giá độ ổn định của các chế phẩm này, năm chế phẩm được làm đầy vào lọ và được đưa vào ổn định ở 5°C (độ ẩm môi trường), 25° C (độ ẩm tương đối 60%), và 40°C (độ ẩm tương đối 75%) trong tám tuần được bảo vệ với ánh sáng. Năm chế phẩm được liệt kê trong Bảng 2 sau đây.

Bảng 2

Số chế phẩm	Mô tả				
1	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin (pH=6)	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	N/A
2	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin (pH=6)	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	50 mM L-Arg.HCl
3	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin (pH=6)	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	50 mM L-Lys.HCl
4	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin (pH=6)	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	Hỗn hợp của 25 mM L-Arg và 25 mM L-Glu
5	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin (pH=6)	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	Hỗn hợp của 25 mM L-Arg.HCl và 25 mM L-Lys.HCl

Các mẫu được đánh giá bằng sắc ký loại trừ kích thước (SEC) để tinh sạch trong đó xác định phần trăm monome, cũng như các phần trăm của các loại trọng lượng phân tử cao (HMW) và các đỉnh rửa giải muộn (các loại LMW). Sắc ký loại trừ kích thước - hiệu năng cực cao (Ultra Performance - Size Exclusion

Chromatography - UP-SEC) được tiến hành bằng cách pha loãng các mẫu đến 1,0 mg/mL (kháng thể kháng RSV) trong pha động (100 mM natri phosphat và 100 mM natri clorua, pH = 7,0); tốc độ dòng là 0,5 mL/phút. Các mẫu được pha loãng được tiêm (5 µL) vào trong UPLC mà được trang bị cột Waters BEH200 và đầu dò UV. Các protein trong mẫu này được tách theo kích thước và được phát hiện bởi sự hấp thụ UV ở 214 nm.

Dữ liệu UPSEC để đánh giá các mức của các loại trọng lượng phân tử cao (HMW hoặc các kết tụ), % monome và các loại trọng lượng phân tử thấp (LMW) được thể hiện trong Bảng 3. [T0 =thời điểm 0; 4W = 4 tuần; và 8W = 8 tuần]

Bảng 3

Tên mẫu	Đỉnh		
	HMW	Monome	LMW
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV đối chứng ở T0 5°C	1,77	98,1	0,09
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T0 4W5°C	1,88	98,0	0,11
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV đối chứng ở T0 4W25°C	2,86	96,9	0,21
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV đối chứng ở T0 4W40°C	4,05	93,2	2,77
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV đối chứng ở T0 8W5°C	2,00	97,9	0,13
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV đối chứng ở 8W25°C	3,13	96,6	0,28
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV đối chứng ở T0 8W40°C	4,83	91,1	4,05
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở T05°C	1,55	98,3	0,14

Tên mẫu	Đỉnh		
	HMW	Monome	LMW
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 4W5°C	1,54	98,3	0,12
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 4W25°C	2,06	97,8	0,18
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 4W40°C	2,72	95,4	1,90
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 8W5°C	1,66	98,2	0,13
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 8W25°C	2,34	97,4	0,28
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 8W40°C	3,46	93,1	3,41
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Lys.HCl ở T05°C	1,58	98,3	0,12
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Lys.HCl ở 4W5°C	1,79	98,1	0,12
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Lys.HCl ở 4W25°C	2,17	97,6	0,20
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Lys.HCl ở 4W40°C	3,01	95,1	1,87
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Lys.HCl ở 8W5°C	1,71	98,2	0,13
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Lys.HCl ở 8W25°C	2,51	97,2	0,27
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Lys.HCl ở 8W40°C	3,94	92,5	3,58

Tên mẫu	Đỉnh		
	HMW	Monome	LMW
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở T05°C	1,80	98,1	0,10
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 4W5°C	1,87	98,0	0,12
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 4W25°C	2,49	97,3	0,22
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 4W40°C	3,77	93,4	2,83
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 8W5°C	1,90	98,0	0,13
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 8W25°C	2,68	97,0	0,31
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 8W40°C	4,40	91,8	3,80
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl ở T05°C	1,67	98,2	0,10
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl 4W5°C	2,22	97,6	0,20
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl ở 4W25°C	1,79	98,1	0,12
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl ở 4W40°C	3,03	94,8	2,19
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl ở 8W5°C	1,71	98,2	0,13
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl ở 8W25°C	2,34	97,4	0,25

Tên mẫu	Đỉnh		
	HMW	Monome	LMW
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl ở 8W40°C	3,36	93,7	2,95

Như được thể hiện trên Fig.1, Fig.2, và Fig.3, phân tích UP-SEC của các mẫu để xác định phần trăm của HMW và phần trăm monome đã chỉ ra rằng ở 5°C, 25°C và 40°C, tất cả các chế phẩm đã thể hiện xu hướng tăng % đỉnh HMW và % đỉnh LMW (và giảm % đỉnh monome sau đó) lên đến thời điểm 8 tuần. Ở 25°C, tất cả các chế phẩm thể hiện xu hướng tương tự, nhưng có các thay đổi nhỏ hơn, như so với 40°C. Ở 5°C, không có các thay đổi đáng kể quan sát được.

Như được thể hiện trên Fig.2 và Fig.3, chế phẩm 1 thể hiện tăng %HMW và %LMW lớn hơn so với các chế phẩm khác. Ngoài ra, chế phẩm 1 thể hiện % monome giảm lớn hơn. Do đó, tất cả bốn bộ tá dược làm giảm %HMW và %LMW và do đó cải thiện độ ổn định của kháng thể kháng RSV DP.

Ví dụ 3

Sàng lọc tá dược của chế phẩm kháng thể kháng RSV (axit amin và hỗn hợp của chúng) để cải thiện độ ổn định hóa học của kháng thể kháng RSV

Nghiên cứu này so sánh độ ổn định của kháng thể kháng RSV trong 10 mM histiđin (độ pH=6), 0,02% PS80, 7% sucroza với sự có mặt của (i) 50 mM L-Arg.HCl hoặc (ii) 50 mM L-Lys.HCl hoặc (iii) hỗn hợp của 25 mM L-Arg và 25 mM L-Glu hoặc (iv) hỗn hợp của 25 mM L-Arg.HCl và 25 mM Lys.HCl.

Bốn tá dược này được thử nghiệm để cải thiện độ ổn định hóa học. Bốn tá dược được thử nghiệm là:

(i) 50 mM L-Arg.HCl;

(ii) 50 mM L-Lys.HCl;

(iii) hỗn hợp của 25 mM L-Arg và 25 mM L-Glu; và

(iv) hỗn hợp của 25 mM L-Arg.HCl và 25 mM Lys.HCl.

Hai tá dược đầu tiên được kiểm tra để hiểu được các ảnh hưởng của lysin và arginin tích điện dương với sự có mặt của anion đối clorua.. Tá dược thứ ba được thử nghiệm để hiểu được ảnh hưởng của anion đối khác (glutamat). Tá dược thứ tư là hỗn hợp của hai tá dược đầu tiên để xác định liệu rằng hai tá dược này có thể đóng vai trò bổ sung. Đã giả thiết rằng hỗn hợp này có thể đóng vai trò tốt hơn so với các tá dược riêng biệt, do hỗn hợp của các tá dược có pKa khác nhau và bảo vệ biệt hóa sự phân bố thay đổi bề mặt của mAb, theo đó điều này có thể tác động đến sự phân hủy hóa học của mAb.

Để đánh giá độ ổn định của các chế phẩm này, năm chế phẩm được làm đầy vào các lọ và được đưa vào ổn định ở 5°C (độ ẩm môi trường), 25°C (độ ẩm tương đối 60%), và 40°C (độ ẩm tương đối 75%) trong tám tuần được bảo vệ khỏi ánh sáng. Năm chế phẩm này là như được thể hiện trong ví dụ 2.

Sắc ký trao đổi ion được tiến hành để đánh giá độ ổn định hóa học và kiểm soát sự thay đổi về biên dạng biến thể tích điện theo thời gian. Phương pháp HPLC trao đổi ion được tiến hành bằng cách sử dụng cột Dionex ProPac WCX-10 và đầu dò UV ở 280 nm. Các mẫu được pha loãng trong nước được tinh chế, và 80 µg được tiêm cho việc phân tích. Pha động được sử dụng cho phân tích IEX của các mẫu ổn định nhiệt là gradien của các pha động sau đây (pha động A:20 mM MOPS, độ pH = 7,2; pha động B: 50 mM natri phosphat, 60 mM natri clorua pH 8,0). Thử nghiệm này được tiến hành bằng cách sử dụng gradien pha động từ 20 mM MOPS, pH = 7,2 đến 50 mM natri phosphat, 60 mM NaCl, pH = 8,0. Việc dò UV được tiến hành ở 280 nm.

Dữ liệu HP-IEX để đánh giá các mức của các Biến thể axit, % Đỉnh chính và % Biến thể cơ bản được thể hiện trong Bảng 4. [T0 =thời điểm 0; 4W = 4 tuần; và 8W = 8 tuần]

Bảng 4

Tên mẫu	% Diện tích đỉnh có thể báo cáo được		
	Các biến thể axit	Tổng đỉnh chính	Các biến thể cơ bản
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C	25,18	58,1	16,68
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W5°C	24,97	58,9	16,10
Kháng thể kháng RSV DP đối chứng T05°C 4W25°C	28,41	54,1	17,47
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W40°C	44,06	37,5	18,41
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W5°C	24,57	59,0	16,38
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W25°C	30,62	52,0	17,38
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W40°C	53,49	28,7	17,82
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở T05°C	24,23	59,8	15,92
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 4W5°C	24,43	59,2	16,35
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 4W25°C	26,05	56,6	17,39
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 4W40°C	35,13	46,0	18,88

Tên mẫu	% Diện tích đỉnh có thể báo cáo được		
	Các biến thể axit	Tổng đỉnh chính	Các biến thể cơ bản
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 8W5°C	24,00	59,7	16,34
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 8W25°C	28,25	53,2	18,54
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl ở 8W40°C	48,43	32,6	18,96
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + Lys.HCl ở T05°C	23,98	60,3	15,72
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + Lys.HCl ở 4W5°C	24,08	59,8	16,09
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + Lys.HCl ở 4W25°C	25,25	57,4	17,37
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + Lys.HCl ở 4W40°C	34,94	45,7	19,36
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + Lys.HCl ở 8W5°C	23,95	59,9	16,14
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + Lys.HCl ở 8W25°C	27,79	53,6	18,59
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + Lys.HCl ở 8W40°C	48,05	32,7	19,28
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở T05°C	24,55	59,5	15,92

Tên mẫu	% Diện tích đỉnh có thể báo cáo được		
	Các biến thể axit	Tổng đỉnh chính	Các biến thể cơ bản
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 4W5°C	24,34	59,7	15,94
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 4W25°C	29,80	52,6	17,63
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 4W40°C	47,35	34,8	17,89
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 8W5°C	24,46	59,4	16,14
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 8W25°C	32,22	49,2	18,55
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV DP + L-Arg.L-Glu ở 8W40°C	55,41	26,8	17,77
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + Lys.HCl T05°C	23,40	60,9	15,68
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + Lys.HCl 4W5°C	22,84	61,2	15,93
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + Lys.HCl 4W25°C	25,02	57,5	17,45
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + Lys.HCl 4W40°C	36,75	44,0	19,29
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + Lys.HCl 8W5°C	22,71	61,4	15,93

Tên mẫu	% Diện tích đỉnh có thể báo cáo được		
	Các biến thể axit	Tổng đỉnh chính	Các biến thể cơ bản
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + Lys.HCl 8W25°C	25,97	56,1	17,97
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl + Lys.HCl 8W40°C	42,05	38,9	19,04

Như được thể hiện trong Fig.4, Fig.5 và Fig.6, việc phân tích HP-IEX của các mẫu để xác định độ ổn định hóa học đã chỉ ra rằng ở 5°C, 25°C và 40°C, tất cả các chế phẩm thể hiện xu hướng theo hướng tăng % đỉnh axit và sau đó giảm % đỉnh monome lên đến thời điểm ở 8 tuần. Ở 25°C, tất cả các chế phẩm thể hiện xu hướng tương tự, nhưng có các thay đổi nhỏ hơn, như so với 40°C. Ở 5°C, không có các thay đổi đáng kể quan sát được.

Như được quan sát trong Fig.5 và Fig.6, chế phẩm 1 thể hiện tăng % đỉnh axit lớn hơn như so với các chế phẩm khác. Ngoài ra, chế phẩm 1 thể hiện giảm % đỉnh chính lớn hơn như so với các chế phẩm khác. Do đó, tất cả bốn bộ tá dược giảm % đỉnh axit và do đó cải thiện độ ổn định hóa học của kháng thể kháng RSV DP.

Ví dụ 4

Sàng lọc tá dược chế phẩm kháng thể kháng RSV (để làm giảm độ nhớt của kháng thể kháng RSV)

Nghiên cứu này đã so sánh độ ổn định của kháng thể kháng RSV trong 10 mM histiđin (pH=6), 0,02% PS80, 7% sucroza với sự có mặt của (i) 50 mM L-Arg.HCl hoặc (ii) 50 mM L-Lys.HCl hoặc (iii) hỗn hợp của 25 mM L-Arg và 25 mM L-Glu hoặc (iv) hỗn hợp của 25 mM L-Arg.HCl và 25 mM L-Lys.HCl.

Bốn tá dược này được thử nghiệm khả năng của chúng để làm giảm độ nhớt của kháng thể kháng RSV. Bốn tá dược được thử nghiệm là:

(i) 50 mM L-Arg.HCl;

(ii) 50 mM L-Lys.HCl;

(iii) hỗn hợp của 25 mM L-Arg và 25 mM L-Glu; và

(iv) hỗn hợp của 25 mM L-Arg.HCl và 25 mM L-Lys.HCl.

Hai tá dược đầu tiên được kiểm tra để hiểu được các ảnh hưởng của lysin và arginin tích điện dương với sự có mặt của anion đối clorua. Tá dược thứ ba được thử nghiệm để hiểu được ảnh hưởng của anion đối khác (glutamat). Tá dược thứ tư là hỗn hợp của hai tá dược đầu tiên để xem liệu hai tá dược này có thể đóng vai trò bổ sung hay không. Đã giả thiết rằng hỗn hợp này có thể đóng vai trò tốt hơn so với các tá dược riêng biệt, do hỗn hợp của các tá dược có pKa khác nhau và bảo vệ biệt hóa sự phân bố thay đổi bề mặt của mAb, theo đó làm tăng sự tương tác protein-protein đẩy nhau và giảm độ nhớt của mAb.

Để đo độ nhớt, các mẫu được nạp vào bơm tiêm 500 µl và đo độ nhớt (năm lần đối với mỗi mẫu) ở 20°C bằng máy đo độ nhớt MVROC. Các bộ cảm biến VROC đã phát hiện độ nhớt bằng cách đo áp suất giảm do các mẫu chảy qua các kênh chảy của bộ cảm biến tại các vị trí được chỉ định từ đầu vào. Độ nhớt được đo là hàm của tốc độ trượt với các tốc độ trượt của các mẫu mà được xác định bởi độ nhớt của mẫu.

Như được thể hiện trên Fig.5 và Fig.7, tất cả bốn bộ tá dược làm giảm độ nhớt của kháng thể kháng RSV DP.

Bảng 5

Số mẫu	Các mẫu	Độ nhớt (cP)
S1	Kháng thể kháng RSV	4,3940 ± 0,1265
S2	Kháng thể kháng RSV + L-Arg.HCl	3,2658 ± 0,1585
S3	Kháng thể kháng RSV + L-Lys.HCl	3,2916 ± 0,1633
S4	Kháng thể kháng RSV + (L-Arg.HCl + L-Lys.HCl)	2,9982 ± 0,1435

Số mẫu	Các mẫu	Độ nhớt (cP)
S5	Kháng thể kháng RSV + (L-Arg + L-Glu)	2,6344 ± 0,1288

Ví dụ 5

Bổ sung chất chelat hóa vào chế phẩm kháng thể kháng RSV để làm giảm sự kết tụ

Nghiên cứu so sánh độ ổn định của kháng thể kháng RSV trong 10 mM histiđin (pH=6), 0,02% PS80, 7% sucroza với sự có mặt hoặc vắng mặt của 50 µM DTPA (đietylentriamin pentaaxetat).

Để đánh giá độ ổn định của các chế phẩm này, hai chế phẩm được làm đầy vào các lọ và được đưa vào ổn định ở 5°C (độ ẩm môi trường), 25°C (độ ẩm tương đối 60%),và 40°C (độ ẩm tương đối 75%) trong tám tuần được bảo vệ khỏi ánh sáng. Hai chế phẩm này được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6

Số chế phẩm	Mô tả				
1	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin (pH=6)	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	N/A
2	Kháng thể kháng RSV (100 mg/mL)	10 mM histiđin (pH=6)	7% Sucroza (khối lượng/thể tích)	0,02% PS80 (khối lượng/thể tích)	50 µM DTPA

Các mẫu được đánh giá bằng sắc ký loại trừ kích thước (size exclusion chromatography - SEC) để tinh sạch trong đó xác định phần trăm monome, cũng

như các phần trăm của các loại trọng lượng phân tử cao (high molecular weight species - HMW) và các đỉnh rửa giải muộn (các loại LMW). Sắc ký loại trừ kích thước - hiệu năng cực cao (Ultra Performance - Size Exclusion Chromatography - UP-SEC) được tiến hành bằng cách pha loãng các mẫu đến 1,0 mg/mL trong pha động (100 mM natri phosphat và 100 mM natri clorua, pH = 7,0); tốc độ dòng là 0,5 mL/phút. Các mẫu được pha loãng được tiêm (5 µL) vào trong UPLC mà được trang bị cột Waters BEH200 và đầu dò UV. Các protein trong mẫu này được tách theo kích thước và được phát hiện bởi sự hấp thụ UV ở 214 nm.

Dữ liệu UPSEC để đánh giá các mức của các loại trọng lượng phân tử cao (HMW hoặc các kết tụ), % monome và LMW (các loại trọng lượng phân tử thấp) được thể hiện trong Bảng 7. [T0 =thời điểm 0; 4W = 4 tuần; và 8W = 8 tuần]

Bảng 7

Tên mẫu	Đỉnh		
	HMW	Monome	LMW
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C	1,77	98,1	0,09
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T0 4W5°C	1,88	98,0	0,11
Kháng thể kháng RSV DP đối chứng T0 4W25°C	2,86	96,9	0,21
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T0 4W40°C	4,05	93,2	2,77
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T0 8W5°C	2,00	97,9	0,13
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T0 8W25°C	3,13	96,6	0,28
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T0 8W40°C	4,83	91,1	4,05

Tên mẫu	Đỉnh		
	HMW	Monome	LMW
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA T05°C	1,72	98,2	0,12
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA 4W5°C	1,81	98,1	0,11
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 4W25°C	2,53	97,3	0,19
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA 4W40°C	3,24	94,7	2,02
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA 8W5°C	1,87	98,0	0,12
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W25°C	2,68	97,1	0,21
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W40°C	3,50	93,8	2,68

Như được thể hiện trên Fig.8, Fig.9 và Fig.10, phân tích UP-SEC của các mẫu để xác định phần trăm HMW và phần trăm monome đã chỉ ra rằng ở 5°C, 25°C và 40°C, cả hai chế phẩm thể hiện xu hướng theo hướng tăng % đỉnh HMW và % đỉnh LMW (và giảm % đỉnh monome sau đó) lên đến thời điểm 8 tuần. Ở 25°C, cả hai chế phẩm thể hiện xu hướng tương tự, nhưng có các thay đổi nhỏ hơn, như so với 40°C. Ở 5°C, không có các thay đổi đáng kể quan sát được.

Như được thể hiện trên Fig.9 và 10, chế phẩm 1 thể hiện tăng lớn hơn về %HMW và %LMW như được so sánh với chế phẩm 2. Ngoài ra, chế phẩm 1 thể hiện giảm % monome lớn hơn như so với chế phẩm 2. Do đó, DTPA (chế phẩm 2) làm giảm %HMW và %LMW và do đó cải thiện sự kết tụ của kháng thể kháng RSV DP.

Ví dụ 6

Bổ sung chất chelat hóa vào chế phẩm kháng thể kháng RSV để cải thiện độ ổn định hóa học của kháng thể kháng RSV

Nghiên cứu này so sánh độ ổn định hóa học của kháng thể kháng RSV ở 10 mM histiđin (độ pH=6), PS80 0,02%, sucroza 7% với sự có mặt hoặc vắng mặt của 50 µM DTPA.

Để đánh giá độ ổn định hóa học của các chế phẩm này, hai chế phẩm được làm đầy vào các lọ và được đưa vào ổn định ở 5°C (độ ẩm môi trường), 25°C (độ ẩm tương đối 60%),và 40°C (độ ẩm tương đối 75%) trong tám tuần được bảo vệ khỏi ánh sáng. Hai chế phẩm này được cung cấp trong ví dụ 5.

Sắc ký trao đổi ion được tiến hành để đánh giá độ ổn định hóa học và kiểm soát sự thay đổi về biên dạng biến thể tích điện theo thời gian. Phương pháp HPLC trao đổi ion được tiến hành nhờ sử dụng cột Dionex ProPac WCX-10 và đầu dò UV ở 280 nm. Các mẫu được pha loãng trong nước được tinh chế, và 80 µg được tiêm cho việc phân tích. Pha động được sử dụng cho phân tích IEX của các mẫu ổn định nhiệt là gradien của các pha động sau đây (pha động A:20 mM MOPS, độ pH = 7,2; pha động B: 50 mM natri phosphat, 60 mM natri clorua pH 8,0). Thử nghiệm này được tiến hành bằng cách sử dụng gradien pha động từ 20 mM MOPS, độ pH = 7,2 đến 50 mM natri phosphat, 60 mM NaCl, pH = 8,0. Việc dò UV được tiến hành ở 280 nm.

Dữ liệu HP-IEX để đánh giá các mức của các Biến thể axit, % Đỉnh chính và % Biến thể cơ bản được thể hiện trong Bảng 8. [T0 =thời điểm 0; 4W = 4 tuần; và 8W = 8 tuần]

Bảng 8

Tên mẫu	% Diện tích đỉnh có thể báo cáo được		
	Các biến thể axit	Tổng đỉnh chính	Các biến thể cơ bản
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C	25,18	58,1	16,68
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W5°C	24,97	58,9	16,10
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W25°C	28,41	54,1	17,47
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W40°C	44,06	37,5	18,41
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W5°C	24,57	59,0	16,38
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W25°C	30,62	52,0	17,38
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W40°C	53,49	28,7	17,82
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở T05°C	22,96	61,5	15,54
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 4W5°C	23,00	61,8	15,19
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 4W25°C	24,32	58,4	17,26
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 4W40°C	35,11	45,4	19,47

Tên mẫu	% Diện tích đỉnh có thể báo cáo được		
	Các biến thể axit	Tổng đỉnh chính	Các biến thể cơ bản
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W5°C	22,79	61,0	16,25
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W25°C	25,25	56,8	17,95
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W40°C	40,90	39,2	19,86

Như được thể hiện trong Fig.11, Fig.12 và Fig.13, việc phân tích HP-IEX của các mẫu để xác định độ ổn định hóa học đã chỉ ra rằng ở 5°C, 25°C và 40°C, cả hai chế phẩm đã thể hiện xu hướng theo hướng tăng % đỉnh axit và sau đó giảm % đỉnh monome) lên đến thời điểm 8 tuần. Ở 25°C, cả hai chế phẩm thể hiện xu hướng tương tự, nhưng có các thay đổi nhỏ hơn, như so với 40°C. Ở 5°C, không có các thay đổi đáng kể quan sát được.

Như được thấy ở các Fig.12 và 13, chế phẩm 1 thể hiện tăng % đỉnh axit lớn hơn so với chế phẩm 2. Ngoài ra, chế phẩm 1 thể hiện giảm % đỉnh chính lớn hơn như so với chế phẩm 2. Do đó, DTPA (chế phẩm 2) giảm % đỉnh axit và do đó cải thiện độ ổn định hóa học của kháng thể kháng RSV DP.

Ví dụ 7

Bổ sung chất chelat hóa vào chế phẩm kháng thể kháng RSV để làm giảm sự phân hủy PS80

Nghiên cứu này so sánh độ ổn định hóa học của PS80 trong kháng thể kháng RSV trong 10 mM histiđin (pH=6), 0,02% PS80, 7% sucroza với sự có mặt hoặc vắng mặt của 50 µM DTPA. Sự phân hủy của PS80 thường được quan sát nhờ sự

bảo quản lâu dài của các mAb và tiến hành thí nghiệm để xác định nếu DTPA tương thích hợp với PS80.

Để đánh giá độ ổn định hóa học của PS80 trong hai chế phẩm này, hai chế phẩm này được làm đầy vào lọ và được đưa vào ổn định ở 5°C (độ ẩm môi trường), 25° C (độ ẩm tương đối 60%), và 40°C (độ ẩm tương đối 75%) trong tám tuần được bảo vệ với ánh sáng. Hai chế phẩm này được cung cấp trong ví dụ 5.

Các kết quả trong Bảng 9 thể hiện các biên dạng suy giảm tương tự của PS80 đối với cả hai chế phẩm. Fig.14 là hình vẽ thể hiện % phân hủy PS80 ở 40°C. % phân hủy nhỏ hơn một chút đối với chế phẩm 2 (với sự có mặt của DTPA). Do đó, DTPA có thể bảo vệ chống lại sự phân hủy PS80 và hai tá dược này (DTPA và PS80) tương hợp lẫn nhau. [T0 =thời điểm 0; 4W = 4 tuần; và 8W = 8 tuần]

Bảng 9

Tên mẫu	Nồng độ PS80
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C	0,28
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W5°C	0,27
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W25°C	0,21
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 4W40°C	0,19
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W5°C	0,25
Sản phẩm dược chất của kháng thể RSV đối chứng ở T05°C 8W25°C	0,18
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV đối chứng° ở T05°C 8W40°C	0,16

Tên mẫu	Nồng độ PS80
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở T05°C	0,25
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 4W5°C	0,23
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 4W25°C	0,19
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 4W40°C	0,17
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W5°C	0,23
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W25°C	0,16
Sản phẩm dược chất của kháng thể kháng RSV + DTPA ở 8W40°C	0,16

Ví dụ 8

Tăng các nồng độ tá dược để làm giảm độ nhớt và duy trì độ ổn định

Để đánh giá ảnh hưởng của nồng độ được tăng của các tá dược để làm giảm độ nhớt, kháng thể kháng RSV được phối chế ở hai nồng độ khác nhau (khoảng 200 mg/ml và 154 mg/mL) vào bốn chế phẩm khác nhau: chế phẩm thứ nhất là 10mM histiđin, 7% sucroza và 0,02% PS80, pH=6, và ba chế phẩm bổ sung nồng độ tá dược cao: 70mM histiđin (đối với tổng nồng độ là 80mM histiđin), 70mM Lysin hoặc 70mM Arg.

Để đo độ nhớt của bốn chế phẩm này, các mẫu được nạp vào bơm tiêm 500 µl và độ nhớt được đo (bốn lần với mỗi mẫu) ở nhiệt độ phòng bằng máy đo độ nhớt MVROC. Các bộ cảm biến VROC đã phát hiện độ nhớt bằng cách đo áp suất giảm do các mẫu chảy qua các kênh chảy của bộ cảm biến tại các vị trí được chỉ định từ đầu vào. Độ nhớt được đo là hàm của tốc độ trượt (đo được theo giây nghịch đảo [S^{-1}]). Tốc độ trượt được dùng là 997 S^{-1}. Fig.15 là hình vẽ thể hiện

biểu đồ thanh so sánh bốn chế phẩm khác nhau của kháng thể kháng RSV ở các nồng độ tương ứng của chúng (khoảng 200 mg/ml và ở 154 mg/mL).

So với chế phẩm của 10mM histiđin, 7% sucroza và 0,02% PS80, độ pH = 6, sự bổ sung của các nồng độ cao hơn của histiđin, lysin và arginin đã thể hiện độ nhớt tăng lên đáng kể. Như được thể hiện trên Fig.15, bốn chế phẩm không thể hiện độ nhớt tăng đáng kể ở nồng độ kháng thể kháng RSV là 154 mg/mL. Tuy nhiên, ở các nồng độ kháng thể kháng RSV cao khoảng 200mg/mL, các chế phẩm sử dụng thêm 70 mM histiđin, 70 mM lysin hoặc 70 mM arginin thể hiện giảm đáng kể độ nhớt trung bình so với chế phẩm thứ nhất. Kháng thể kháng RSV ở 213 mg/mL trong chế phẩm là 10mM histiđin, 7% sucroza và 0,02% PS80, độ pH = 6 có độ nhớt trung bình là 64,97 centipoise (cP). Nhờ sử dụng tá dược bổ sung là 70mM histiđin (tổng nồng độ là 80 mM histiđin) đã giảm độ nhớt trung bình của 204 mg/mL chế phẩm kháng thể kháng RSV đến 30,85 cP. Nhờ sử dụng 70mM lysin làm tá dược đã làm giảm độ nhớt trung bình của 192 mg/mL chế phẩm kháng thể kháng RSV đến 19,81 cP. Việc sử dụng 70mM arginin làm tá dược giảm độ nhớt trung bình của 217 mg/mL chế phẩm kháng thể kháng RSV đến 29,27 cP.

Độ ổn định của mỗi chế phẩm trong các chế phẩm được theo dõi trong thời gian 3 tháng ở 5°C, 25°C và 40°C. Các mẫu được đánh giá bằng sắc ký loại trừ kích thước (SEC) để tinh sạch mà trong đó xác định phần trăm monome được xác định, cũng như các phần trăm của các loại trọng lượng phân tử cao (HMW) và các đỉnh rửa giải muộn (các loại LMW). Sắc ký trao đổi ion được tiến hành như được mô tả trong ví dụ 6 để đánh giá độ ổn định hóa học và kiểm soát sự thay đổi về biên dạng biến thể tích điện theo thời gian. Các giá trị được liệt kê trong Bảng 10 dưới đây.

Bảng 10

	10mM His (213mg/mL)	**80mM His (204mg/mL)**	**10mM His, 70mM Lys (192mg/mL)**	**10mM His, 70mM Arg (217mg/mL)**
Tháng thứ 0, % Monome (5°C / 25°C / 40°C)	97,2 / 97,2 / 97,2	98,0 / 98,0 / 98,0	97,7 / 97,7 / 97,7	97,6 / 97,6 / 97,6
Tháng thứ 0, % trọng lượng phân tử cao (5°C / 25°C / 40°C)	2,4 / 2,4 / 2,4	1,6 / 1,6 / 1,6	1,8 / 1,8 / 1,8	1,9 / 1,9 / 1,9
Tháng thứ 0, % trọng lượng phân tử thấp (5°C / 25°C / 40°C)	0,4 / 0,4 / 0,4	0,4 / 0,4 / 0,4	0,5 / 0,5 / 0,5	0,5 / 0,5 / 0,5
Tháng thứ 3, % Monome (5°C / 25°C / 40°C)	96,9 / 93,4 / 26,5	97,7 / 96,3 / 36,8	97,3 / 62,4 / 52,2	97,3 / 94,4 / 3,8
Tháng thứ 3, % trọng lượng phân tử cao (5°C / 25°C / 40°C)	2,4 / 4,0 / 44,2	1,6 / 2,4 / 40,3	1,9 / 34,6 / 37,2	1,9 / 2,5 / 65,4
Tháng thứ 3, % trọng lượng phân tử cao (5°C / 25°C / 40°C)	0,7 / 2,6 / 29,3	0,7 / 1,3 / 22,9	0,8 / 3,1 / 10,6	0,8 / 3,1 / 30,9

So với chế phẩm của 10mM histiđin, 7% sucroza và 0,02% PS80, pH=6, việc bổ sung các nồng độ cao hơn của histiđin, lysin và arginin không dẫn đến việc tăng đáng kể các loại trọng lượng phân tử cao hoặc các loại trọng lượng phân tử thấp, và không dẫn đến giảm đáng kể phần trăm monome.

Yêu cầu bảo hộ

1. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp (RSV) bao gồm:
a) kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg/mL đến khoảng 250 mg/mL, bao gồm các vùng quyết định bổ thể (CDR) có các trình tự axit amin: SEQ ID NO: 1 (chuỗi nặng CDR 1), SEQ ID NO: 2 (chuỗi nặng CDR 2), SEQ ID NO: 3 (chuỗi nặng CDR 3), SEQ ID NO: 4 (chuỗi nhẹ CDR 1), SEQ ID NO: 5 (chuỗi nhẹ CDR 2), và SEQ ID NO: 6 (chuỗi nhẹ CDR 3);
b) histiđin nằm trong khoảng từ khoảng 5 mM đến khoảng 20 mM;
c) sucroza nằm trong khoảng từ khoảng 4% đến khoảng 8% (khối lượng/thể tích);
d) L-arginin hoặc muối dược dụng của L-arginin là khoảng 70 mM,
e) polysorbat 80 nằm trong khoảng từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,10% (khối lượng/thể tích).

2. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 125 mg/mL đến khoảng 175 mg/mL.

3. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này chứa khoảng 150 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

4. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này chứa nằm trong khoảng từ khoảng 150 mg/mL đến khoảng 200 mg/mL kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

5. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này chứa khoảng 175 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

6. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này chứa kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 175 mg/mL đến khoảng 225 mg/mL.

7. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này chứa khoảng 200 mg/ml kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó.

8. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này còn chứa đietylentriamin pentaaxetat (DTPA) nằm trong khoảng từ khoảng 25 đến khoảng 75 μM.

9. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm 1, chế phẩm này còn chứa L-methionin nằm trong khoảng từ khoảng 1 mM đến khoảng 20 mM.

10. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó độ pH là từ 5,5 đến 6,5.

11. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, trong đó độ pH là 6,0.

12. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ từ 1 đến 11, trong đó kháng thể kháng RSV bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin SEQ ID NO: 7 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin SEQ ID NO: 8.

13. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó kháng thể kháng RSV bao gồm globulin miễn dịch

chuỗi nặng chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 9 và globulin miễn dịch chuỗi nhẹ chứa trình tự axit amin được nêu trong SEQ ID NO: 10.

14. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, chế phẩm này chứa liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 10 mg đến khoảng 150 mg.

15. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, chế phẩm này chứa liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 25 mg đến khoảng 125 mg.

16. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, chế phẩm này chứa liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó nằm trong khoảng từ khoảng 50 mg đến khoảng 100 mg.

17. Chế phẩm kháng thể kháng virut hợp bào hô hấp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, chế phẩm này chứa liều lượng cố định của kháng thể kháng RSV hoặc mảnh gắn kết kháng nguyên của nó là khoảng 100 mg.

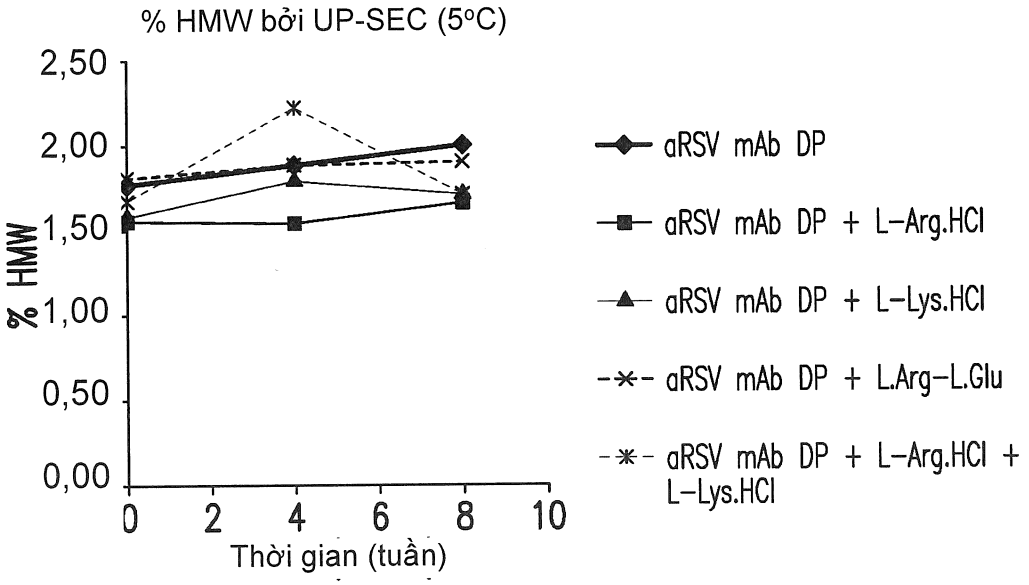
% HMW bởi UP-SEC (5°C)
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
% HMW
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.1A

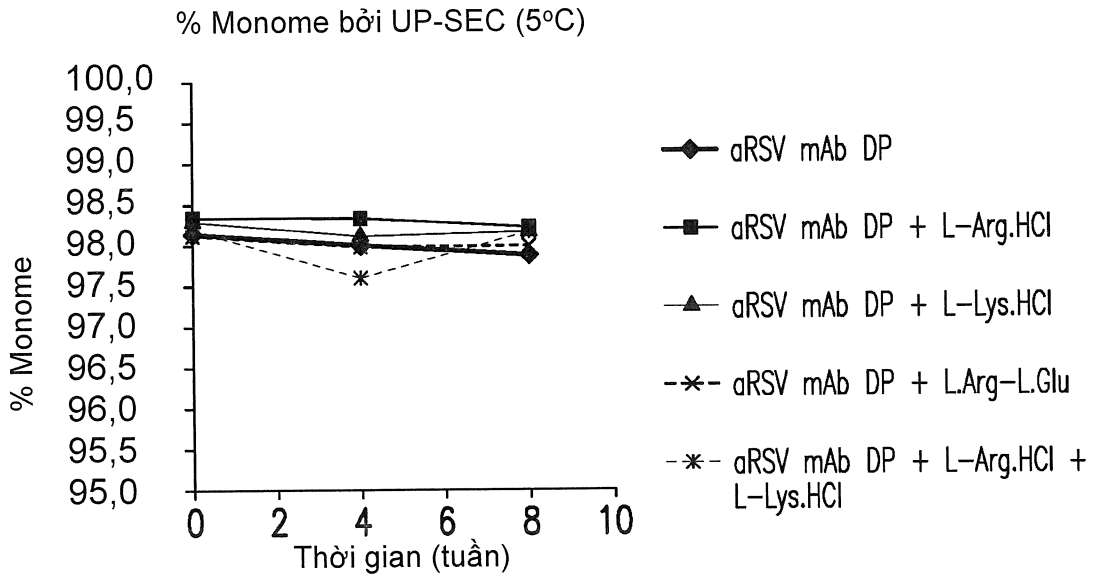
% Monome bởi UP-SEC (5°C)
100,0
99,5
99,0
98,5
98,0
97,5
97,0
96,5
96,0
95,5
95,0
% Monome
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.1B

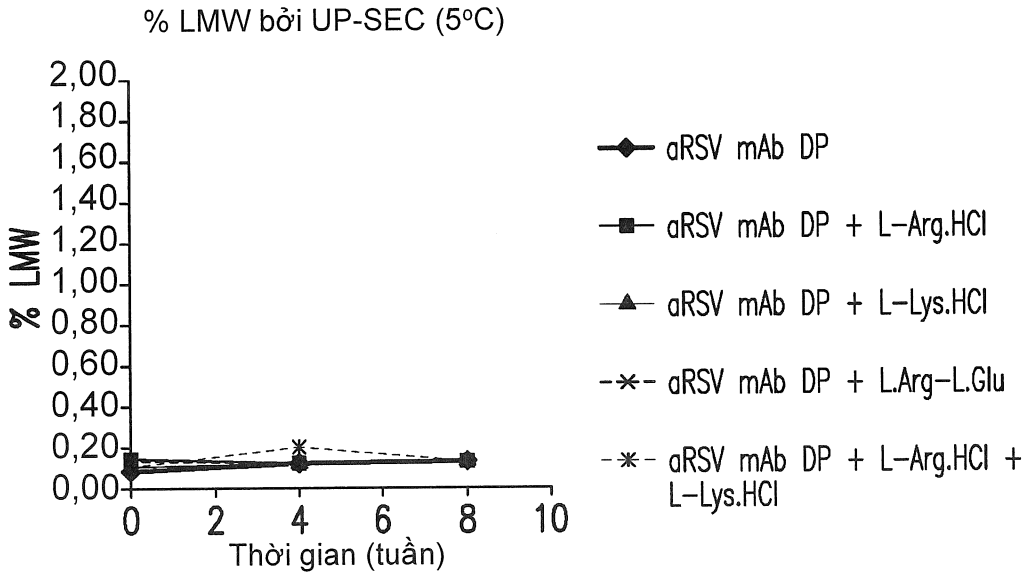
% LMW bởi UP-SEC (5°C)
% LMW
2,00
1,80
1,60
1,40
1,20
1,00
0,80
0,60
0,40
0,20
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.1C

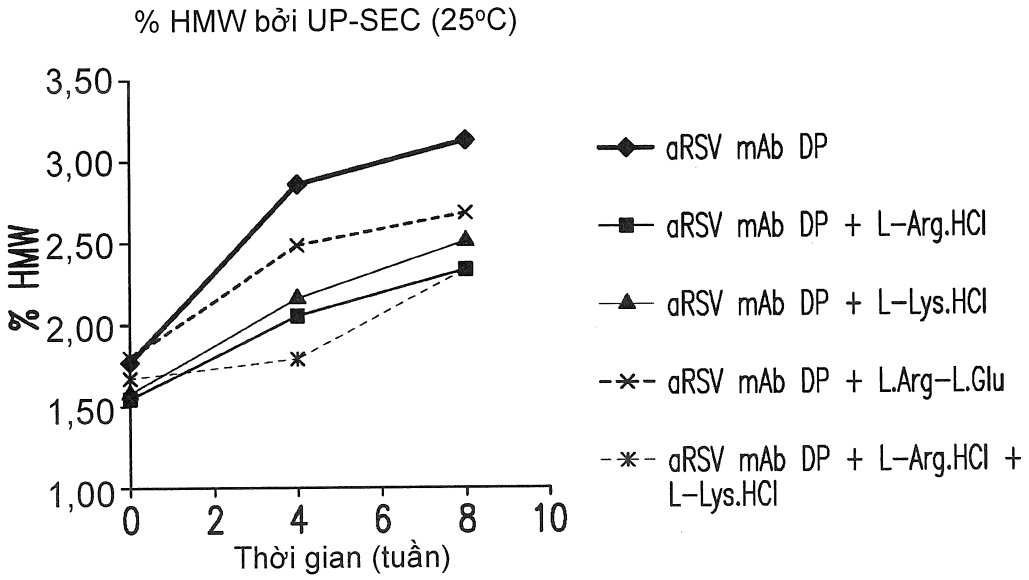
% HMW bởi UP-SEC (25°C)
% HMW
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.2A

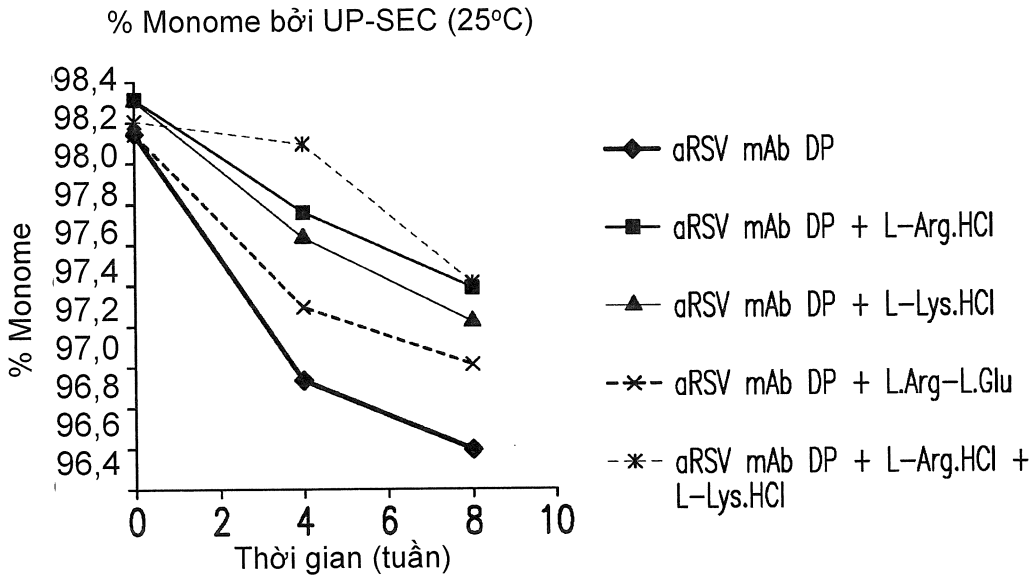
% Monome bởi UP-SEC (25°C)
% Monome
98,4
98,2
98,0
97,8
97,6
97,4
97,2
97,0
96,8
96,6
96,4
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.2B

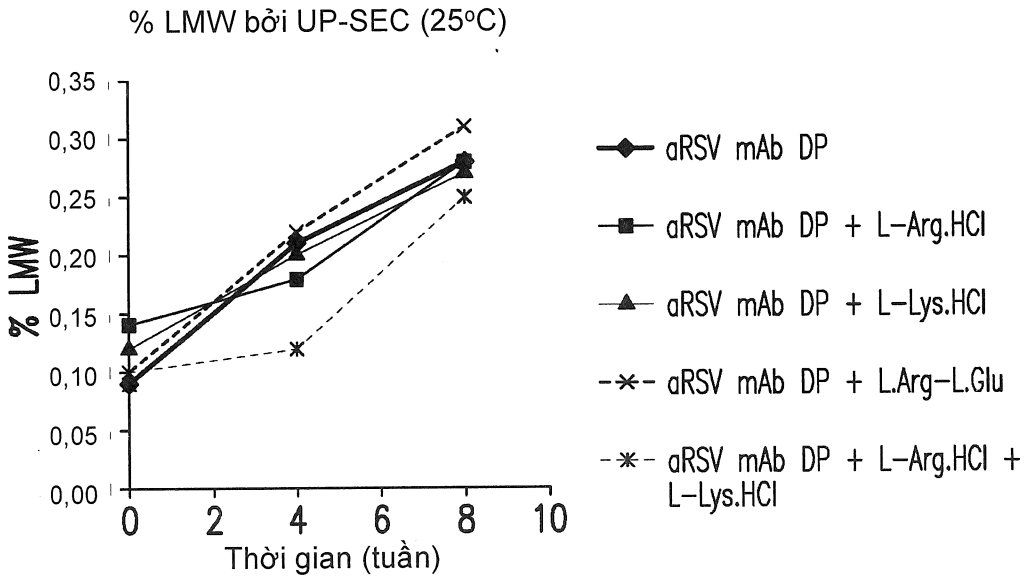
% LMW bởi UP-SEC (25°C)
% LMW
0,35
0,30
0,25
0,20
0,15
0,10
0,05
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.2C

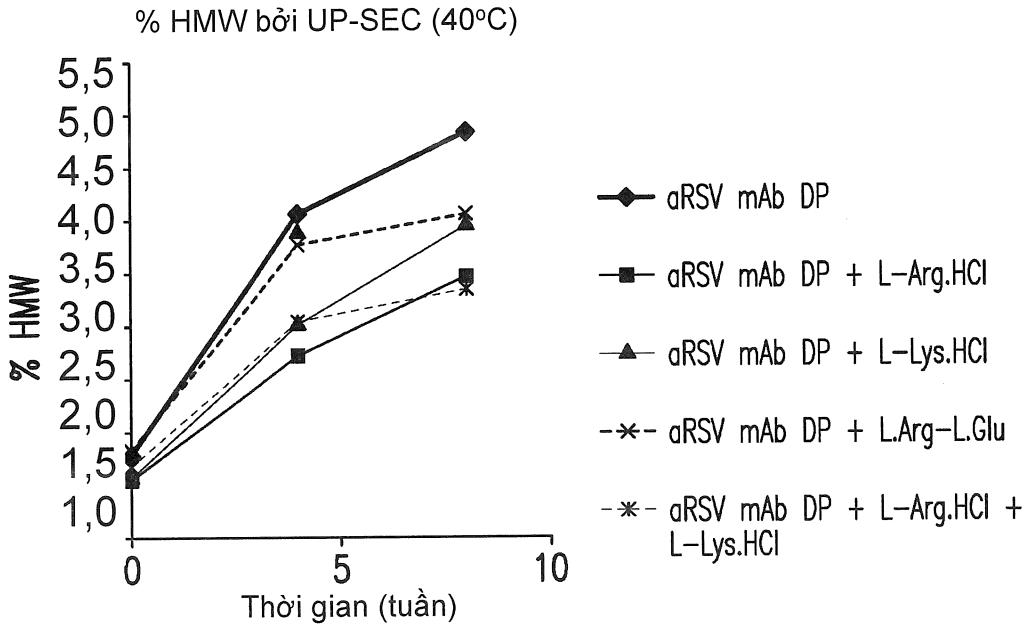
% HMW bởi UP-SEC (40°C)
% HMW
5,5
5,0
4,5
4,0
3,5
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0
5
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.3A

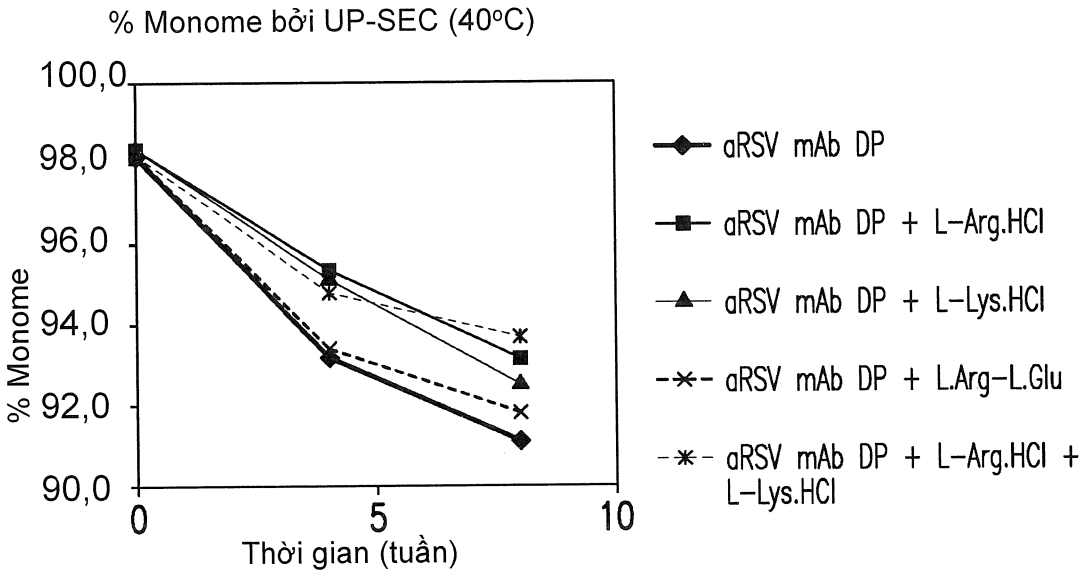
% Monome bởi UP-SEC (40°C)
% Monome
100,0
98,0
96,0
94,0
92,0
90,0
0
5
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.3B

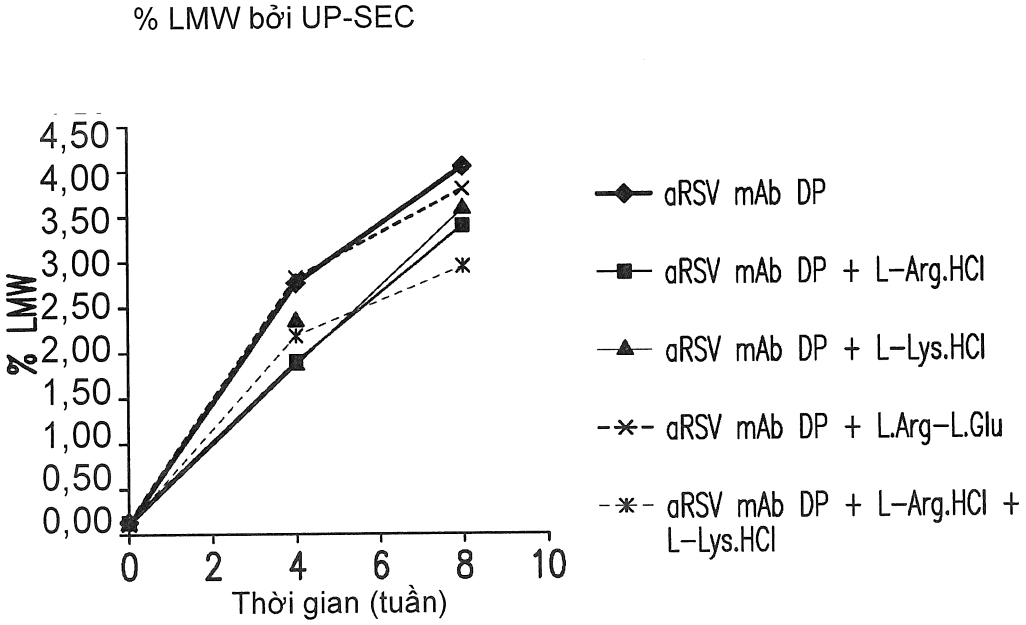
% LMW bởi UP-SEC
% LMW
4,50
4,00
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
aRSV mAb DP
aRSV mAb DP + L-Arg.HCl
aRSV mAb DP + L-Lys.HCl
aRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
aRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.3C

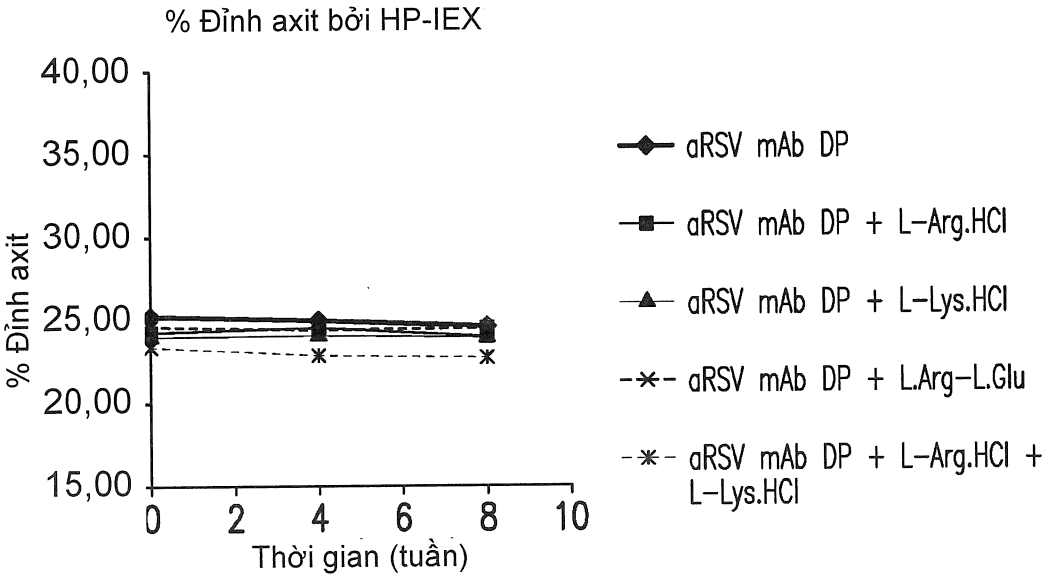
% Đỉnh axit bởi HP-IEX
40,00
35,00
30,00
25,00
20,00
15,00
% Đỉnh axit
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.4A

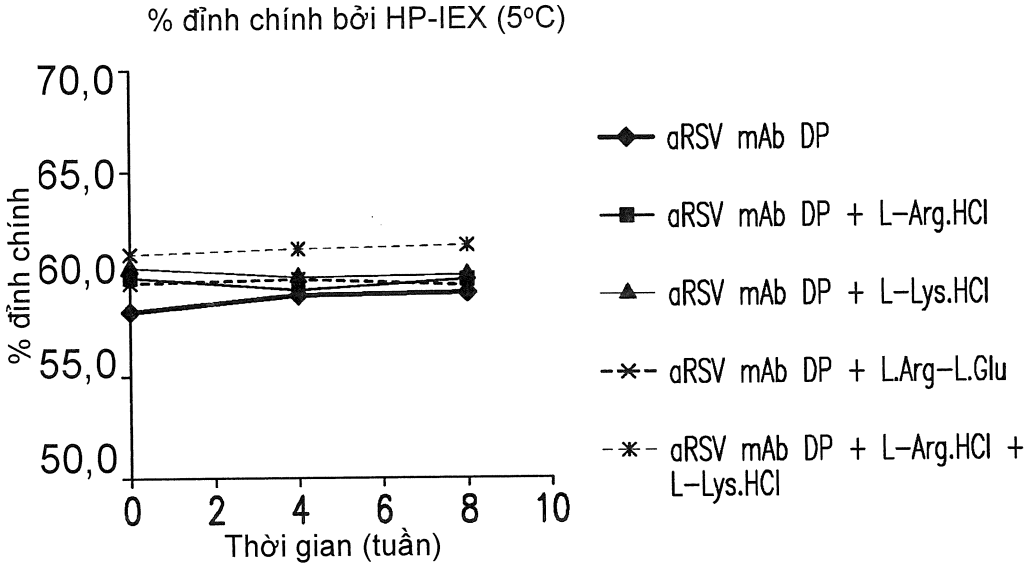
% đỉnh chính bởi HP-IEX (5°C)
70,0
65,0
60,0
55,0
50,0
% đỉnh chính
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.4B

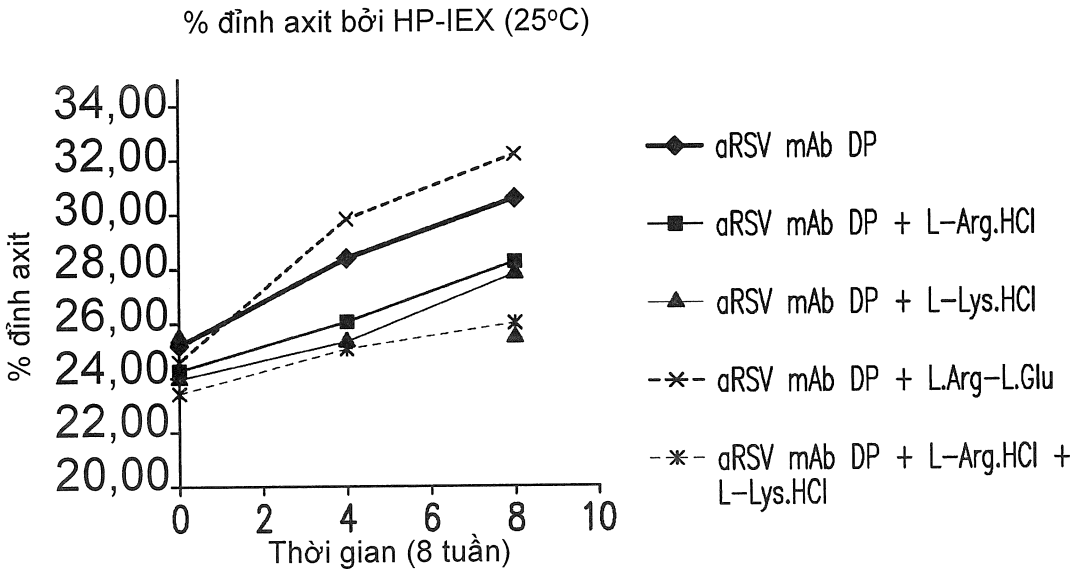
% đỉnh axit bởi HP-IEX (25°C)
% đỉnh axit
34,00
32,00
30,00
28,00
26,00
24,00
22,00
20,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (8 tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.5A

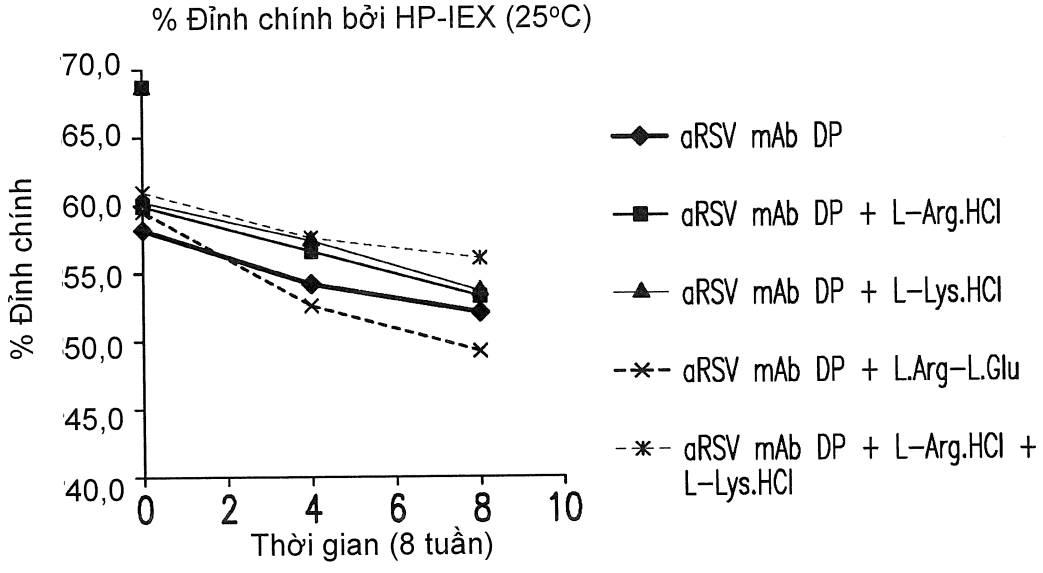
% Đỉnh chính bởi HP-IEX (25°C)
% Đỉnh chính
70,0
65,0
60,0
55,0
50,0
45,0
40,0
0
2
4
6
8
10
Thời gian (8 tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.5B

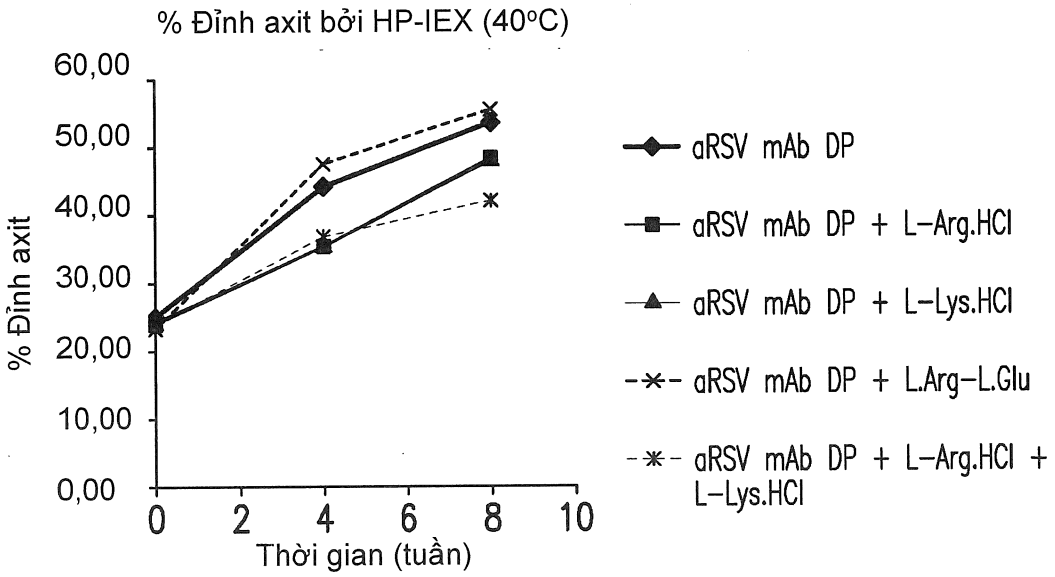
% Đỉnh axit bởi HP-IEX (40°C)
% Đỉnh axit
60,00
50,00
40,00
30,00
20,00
10,00
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
aRSV mAb DP
aRSV mAb DP + L-Arg.HCl
aRSV mAb DP + L-Lys.HCl
aRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
aRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.6A

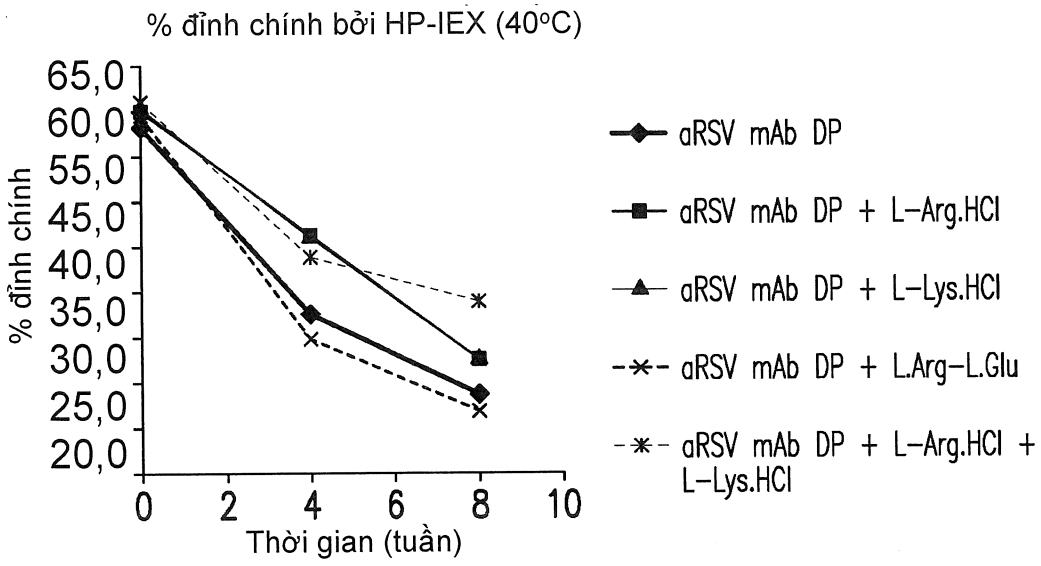
% đỉnh chính bởi HP-IEX (40°C)
% đỉnh chính
65,0
60,0
55,0
45,0
40,0
35,0
30,0
25,0
20,0
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
aRSV mAb DP
aRSV mAb DP + L-Arg.HCl
aRSV mAb DP + L-Lys.HCl
aRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu
aRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl

FIG.6B

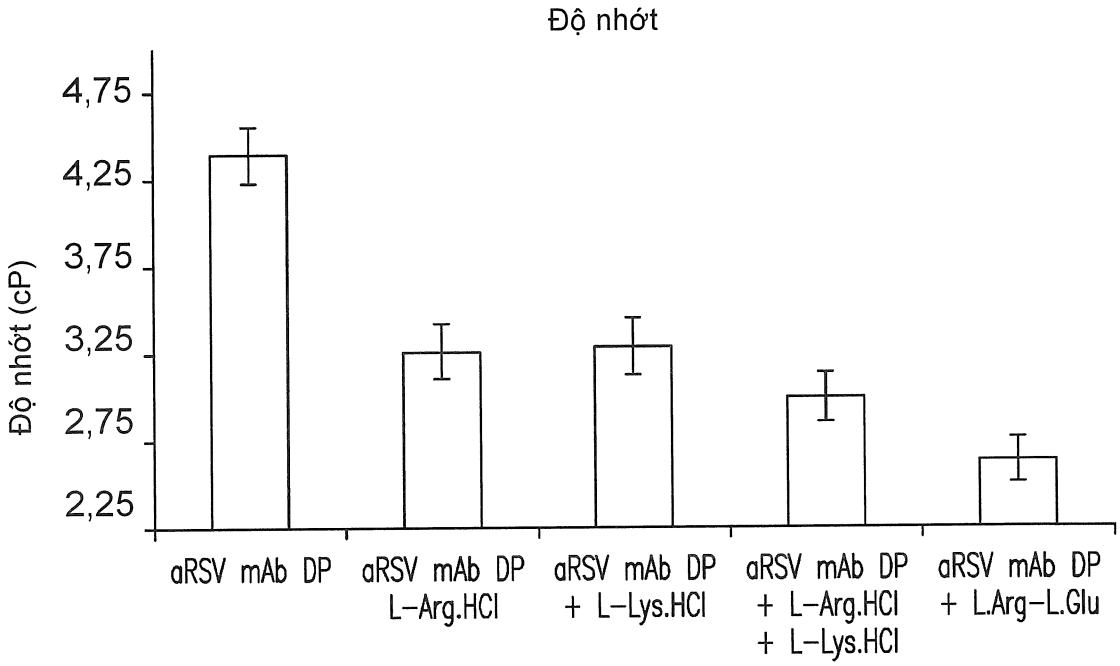
Độ nhớt
Độ nhớt (cP)
4,75
4,25
3,75
3,25
2,75
2,25
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP L-Arg.HCl
αRSV mAb DP + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L-Arg.HCl + L-Lys.HCl
αRSV mAb DP + L.Arg-L.Glu

FIG.7

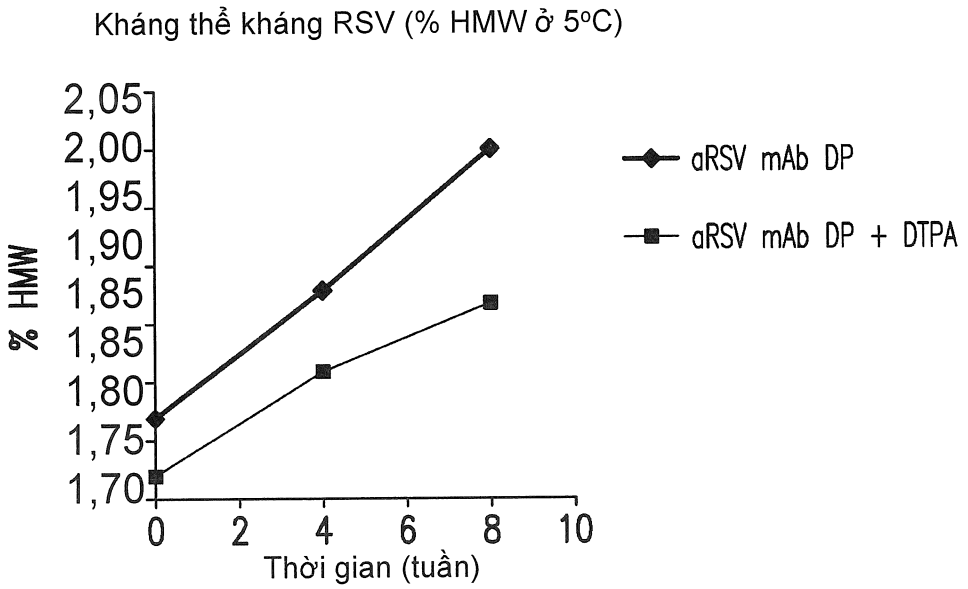
Kháng thể kháng RSV (% HMW ở 5°C)
% HMW
2,05
2,00
1,95
1,90
1,85
1,85
1,80
1,75
1,70
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.8A

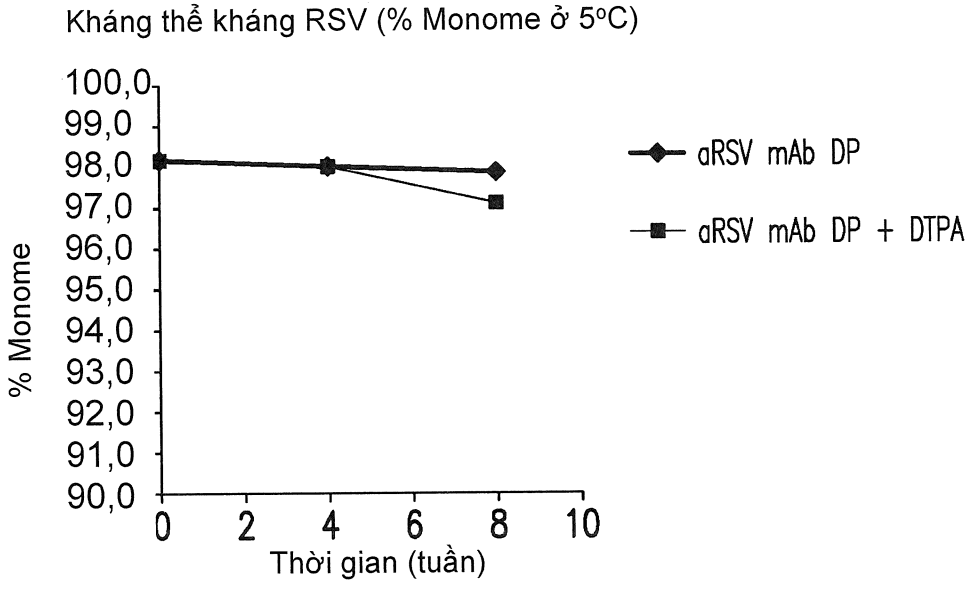
Kháng thể kháng RSV (% Monome ở 5°C)
% Monome
100,0
99,0
98,0
97,0
96,0
95,0
94,0
93,0
92,0
91,0
90,0
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.8B

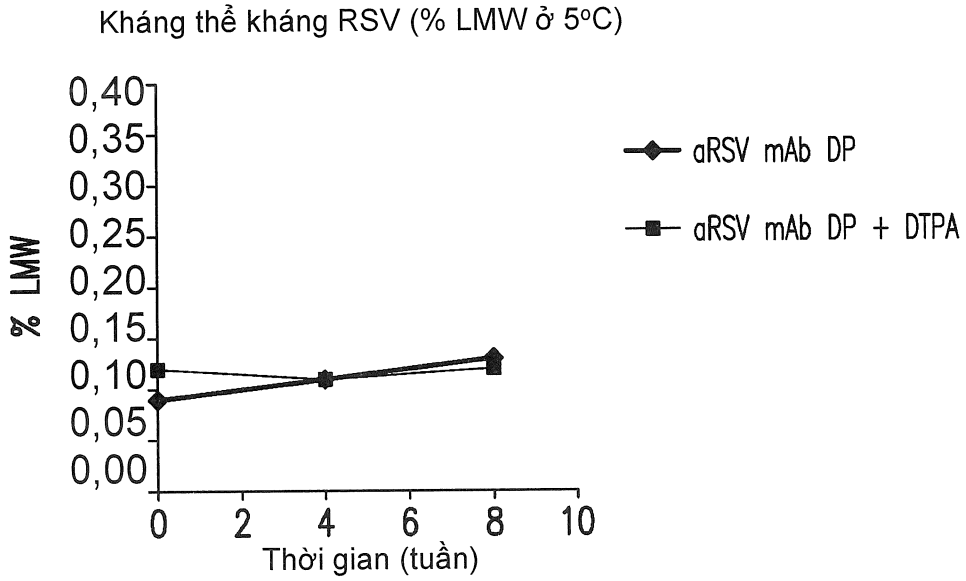
Kháng thể kháng RSV (% LMW ở 5°C)
% LMW
0,40
0,35
0,30
0,25
0,20
0,15
0,10
0,05
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.8C

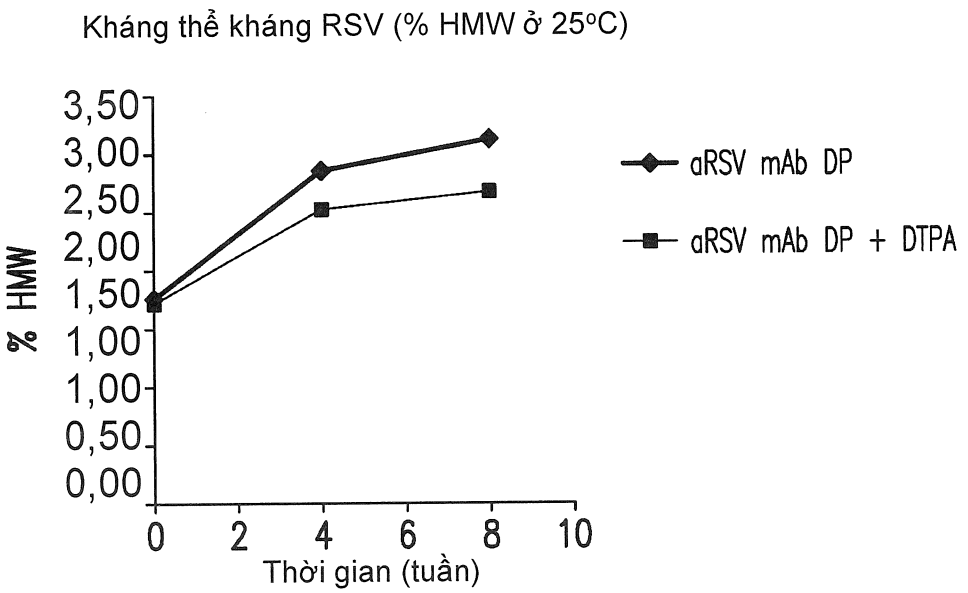
Kháng thể kháng RSV (% HMW ở 25°C)
% HMW
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
1,00
0,50
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.9A

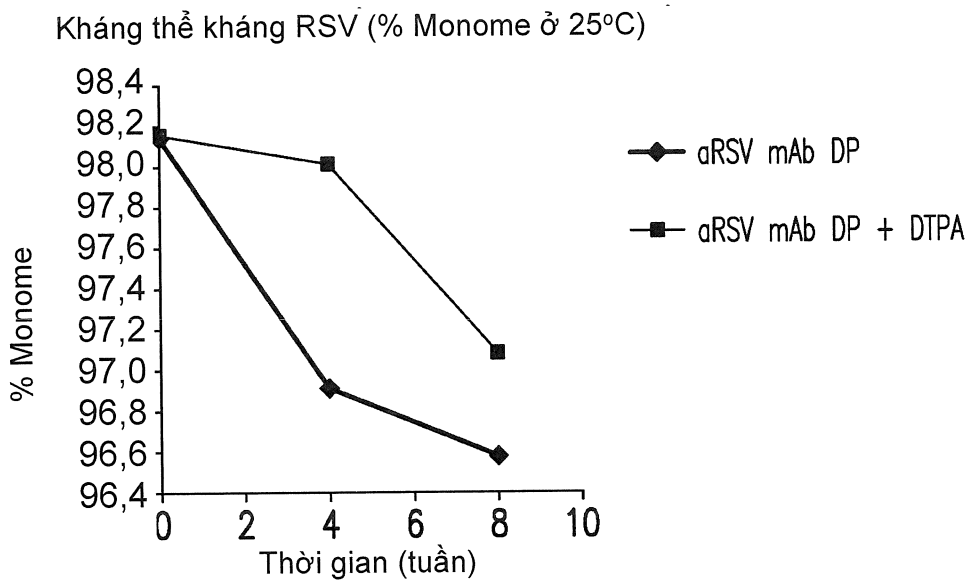
Kháng thể kháng RSV (% Monome ở 25°C)
% Monome
98,4
98,2
98,0
97,8
97,6
97,4
97,2
97,0
96,8
96,6
96,4
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.9B

14/21

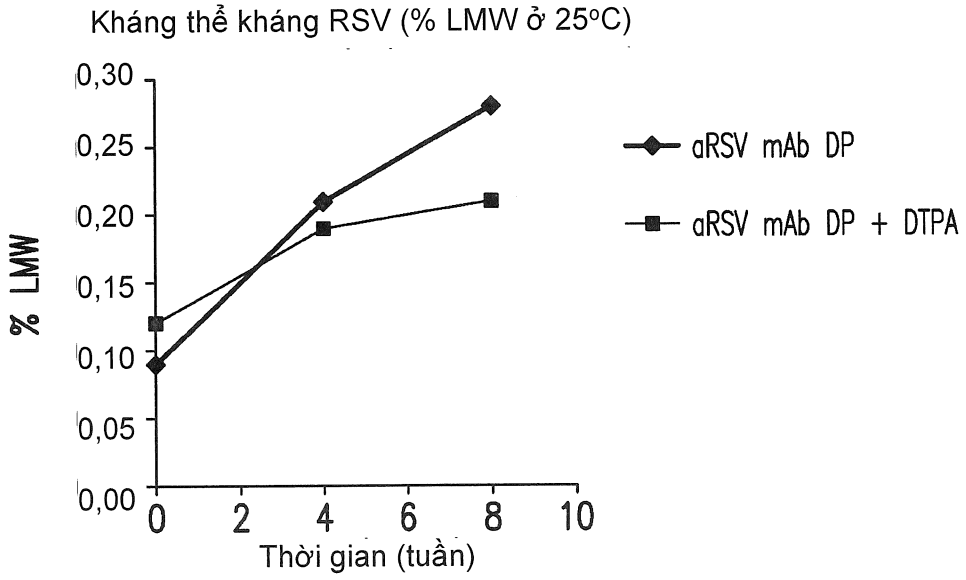
Kháng thể kháng RSV (% LMW ở 25°C)
% LMW
0,30
0,25
0,20
0,15
0,10
0,05
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.9C

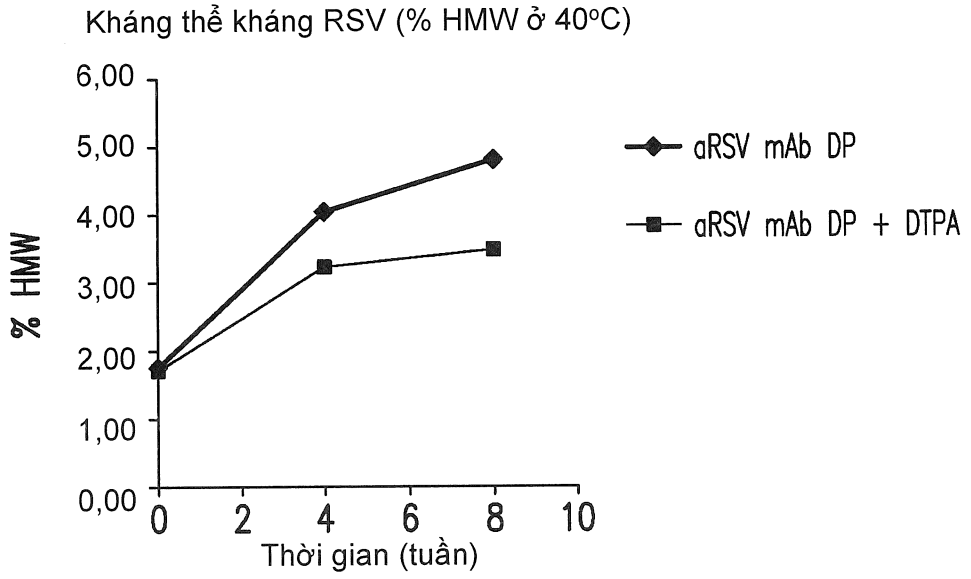

FIG.10A

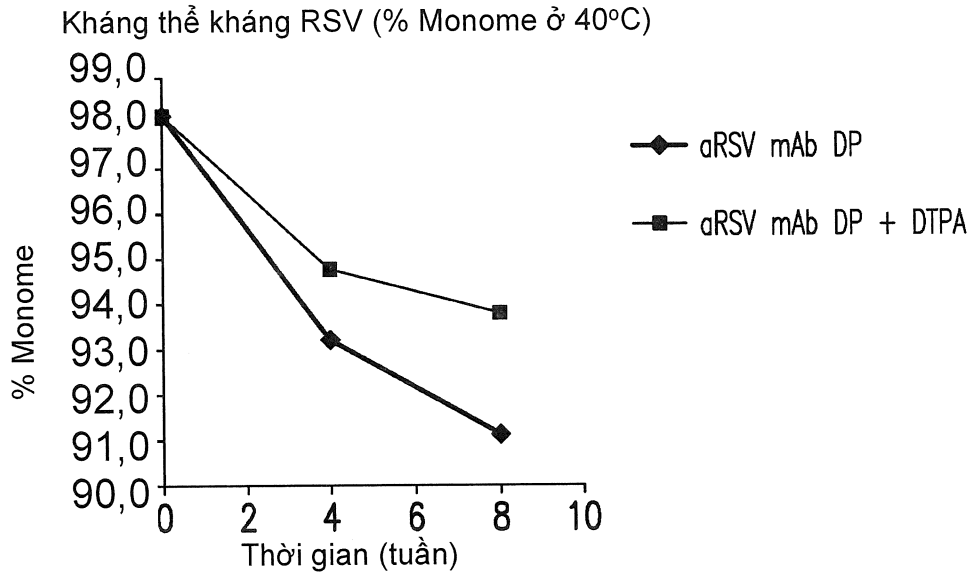

FIG.10B

16/21

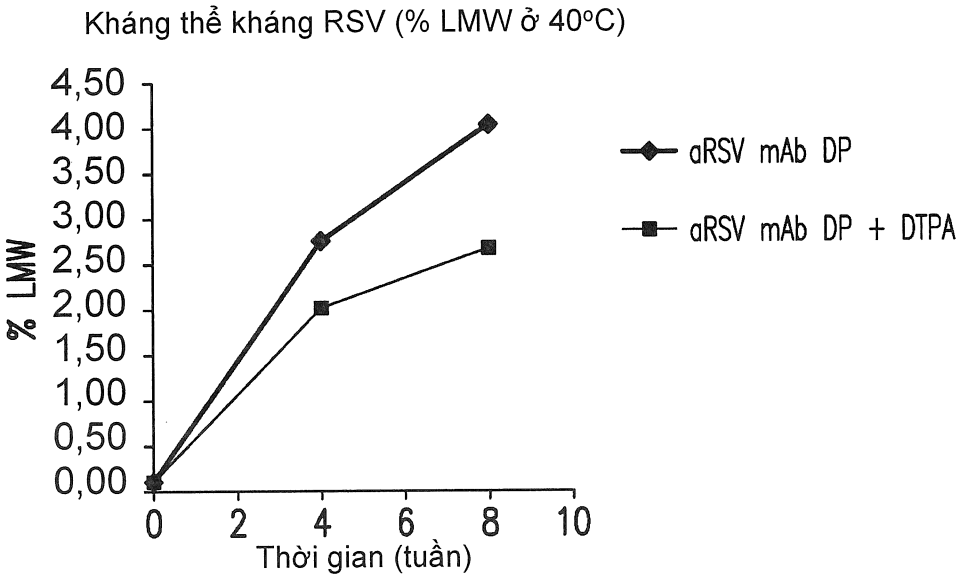
Kháng thể kháng RSV (% LMW ở 40°C)
% LMW
4,50
4,00
3,50
3,00
2,50
2,00
1,50
1,00
0,50
0,00
0
2
4
6
8
10
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.10C

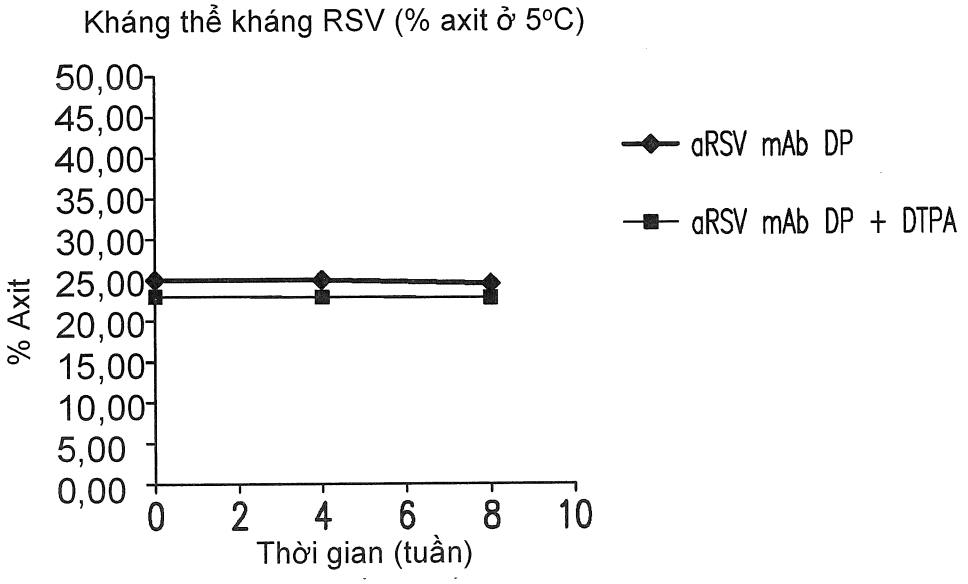

FIG.11A

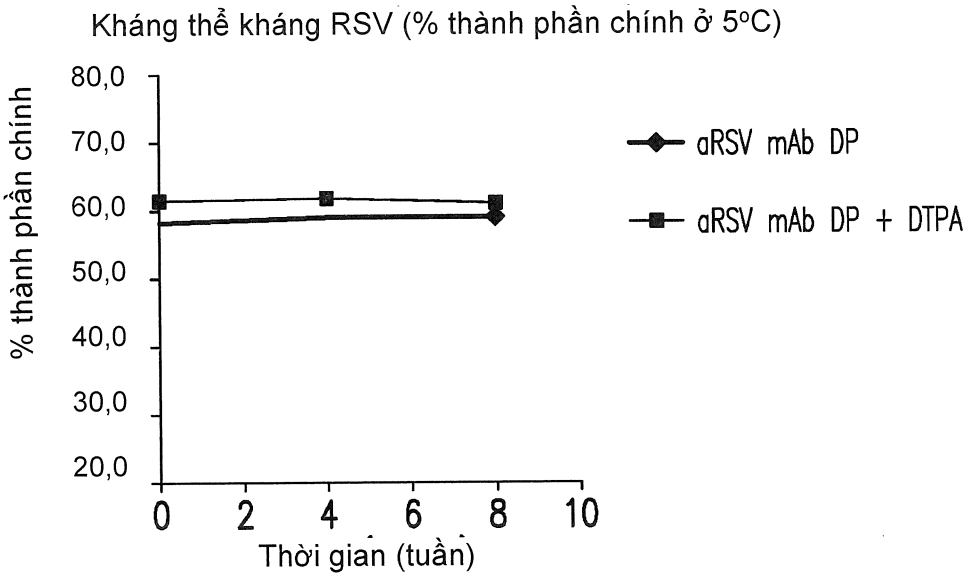

FIG.11B

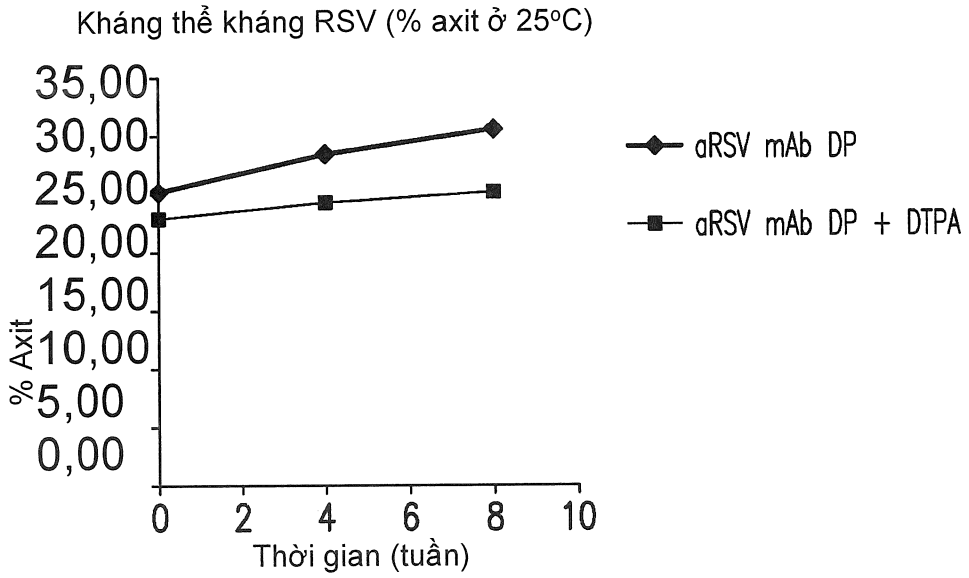

FIG.12A

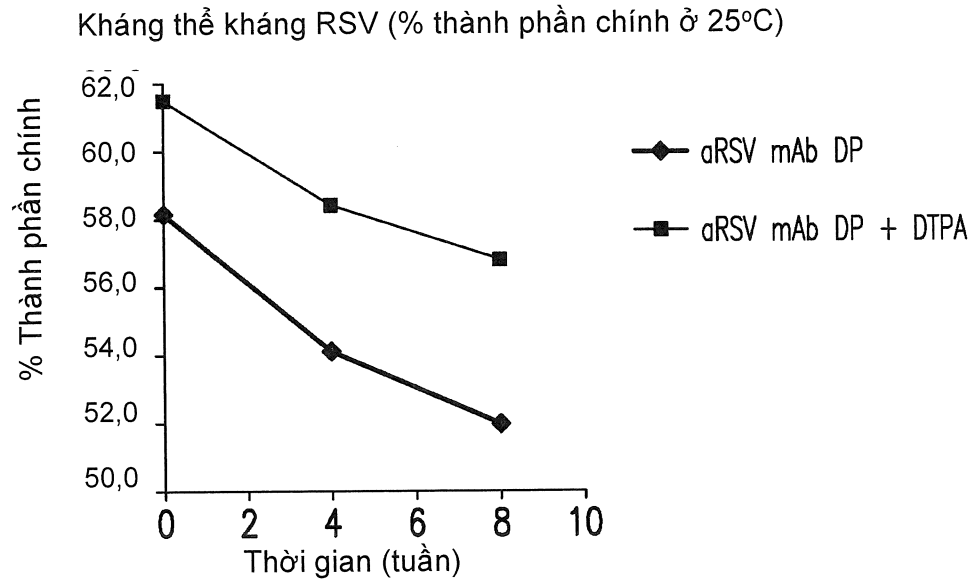

FIG.12B

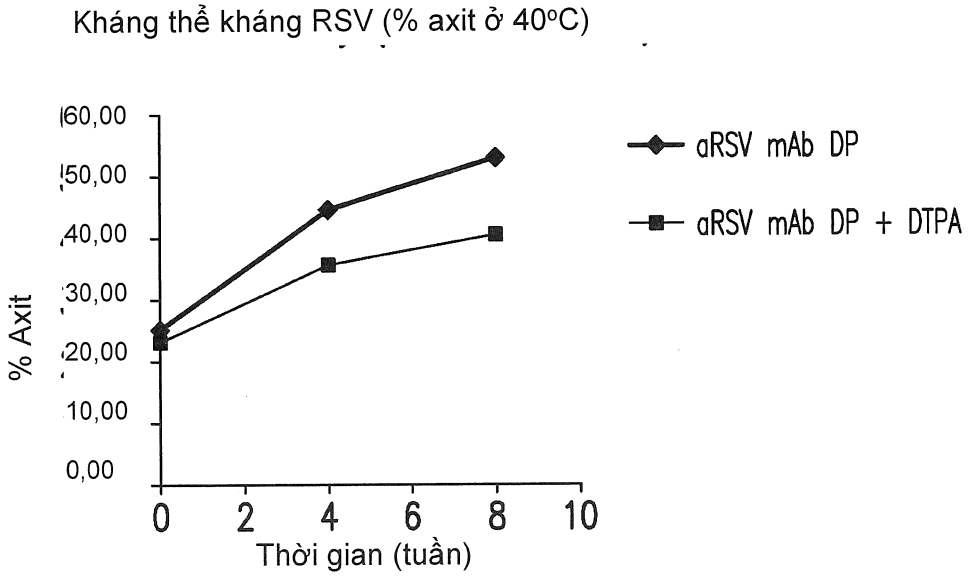

FIG.13A

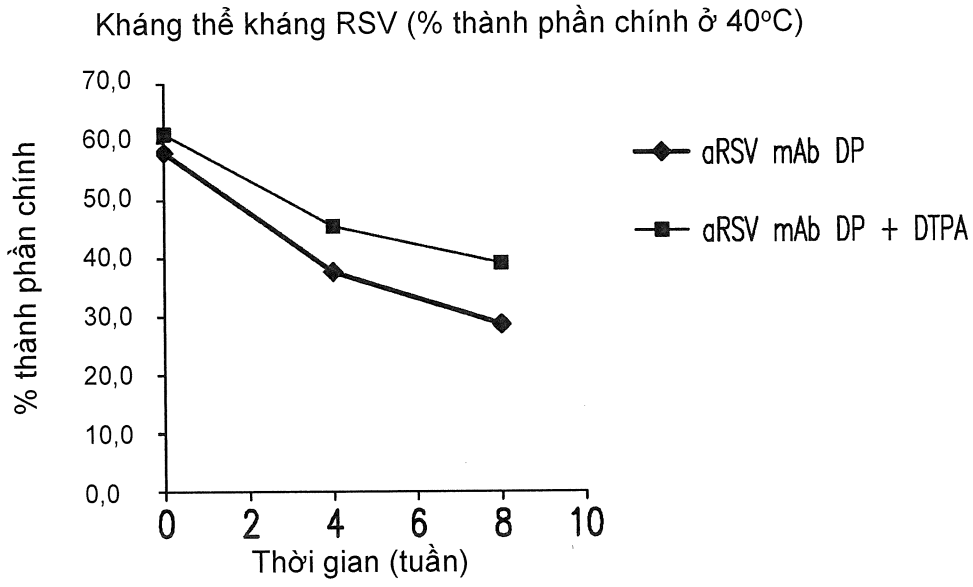

FIG.13B

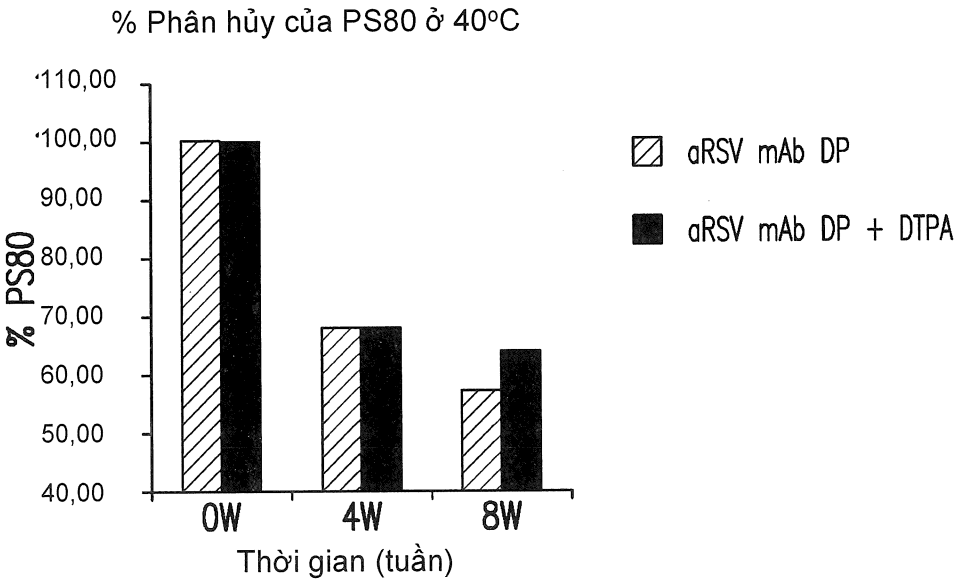
% Phân hủy của PS80 ở 40°C
110,00
100,00
90,00
80,00
70,00
60,00
50,00
40,00
% PS80
0W
4W
8W
Thời gian (tuần)
αRSV mAb DP
αRSV mAb DP + DTPA

FIG.14

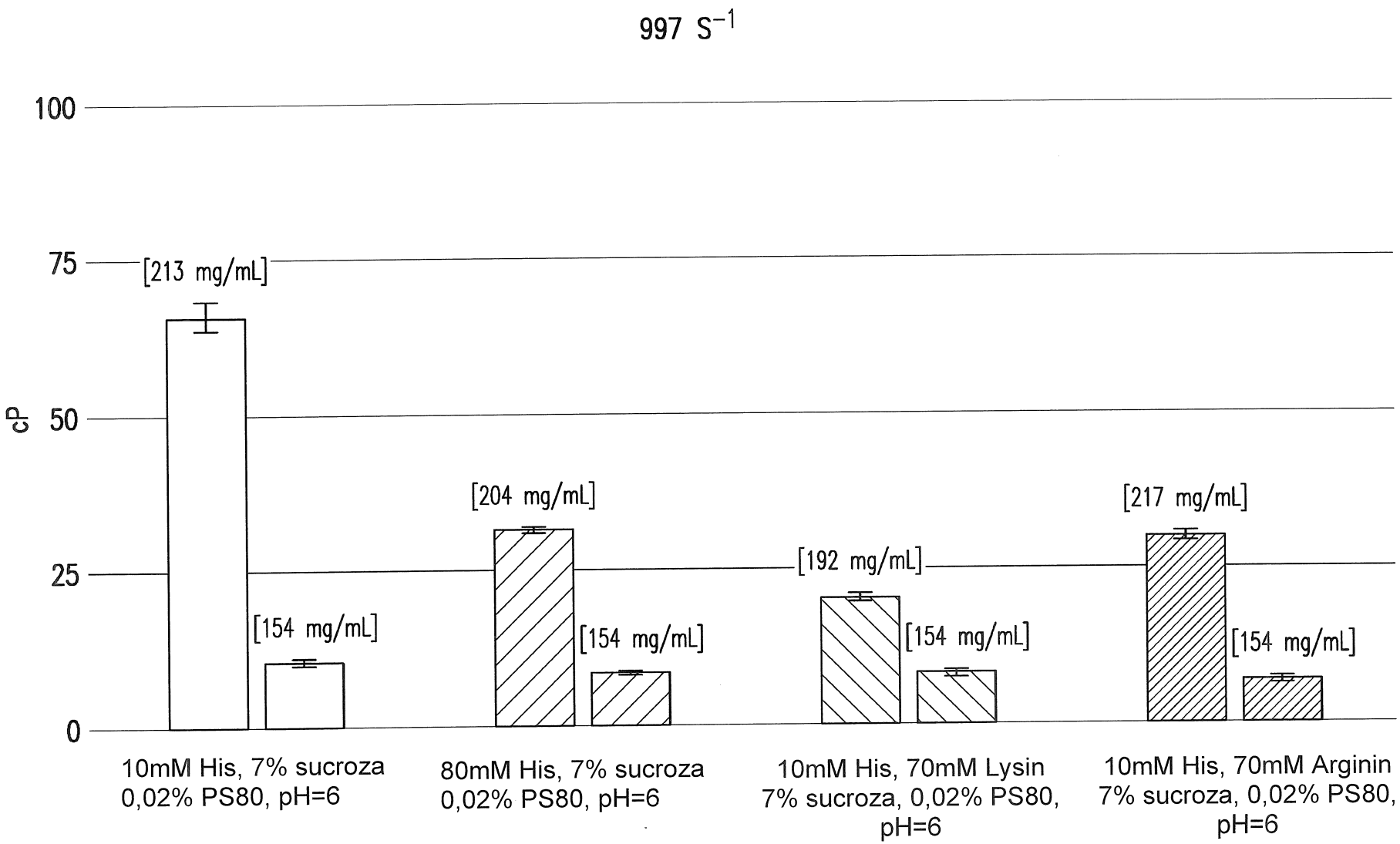
997 S^{-1}
100
75
50
25
0
cP
[213 mg/mL]
[154 mg/mL]
[204 mg/mL]
[154 mg/mL]
[192 mg/mL]
[154 mg/mL]
[217 mg/mL]
[154 mg/mL]
10mM His, 7% sucroza 0,02% PS80, pH=6
80mM His, 7% sucroza 0,02% PS80, pH=6
10mM His, 70mM Lysin 7% sucroza, 0,02% PS80, pH=6
10mM His, 70mM Arginin 7% sucroza, 0,02% PS80, pH=6

FIG.15

DANH MỤC TRÌNH TỰ

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

<120> CHẾ PHẨM KHÁNG THỂ KHÁNG VIRUT HỢP BÀO HÔ HẤP

<130> 24641-WO-PCT

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

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Người tinh khôn (Homo sapiens)

<400> 1

Asp Ser Ala Met Ser
1 5

<210> 2
<211> 19
<212> PRT
<213> Người tinh khôn (Homo sapiens)

<400> 2

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

Val Lys Gly

<210> 3
<211> 16
<212> PRT
<213> Người tinh khôn (Homo sapiens)

<400> 3

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

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Người tinh khôn (Homo sapiens)

<400> 4

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

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> Người tinh khôn (Homo sapiens)

<400> 5

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Thr
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> Người tinh khôn (Homo sapiens)

<400> 6

Gln Gln Phe Leu Asp Phe Pro Phe Thr
1 5

<210> 7
<211> 124
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng RB-1 với việc thế axit amin

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 8
<211> 106
<212> PRT
<213> Người tinh khôn (Homo sapiens)

<400> 8

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

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

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

Ser Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

50 55 60

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

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

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

<210> 9
<211> 457
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nặng RB1+YTE

<400> 9

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Thr Arg Gly Ala Pro Tyr Gly Gly Asn Ser Asp Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
130 135 140

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
145 150 155 160

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
165 170 175

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
180 185 190

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
195 200 205

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
210 215 220

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
225 230 235 240

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
245 250 255

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
260 265 270

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
275 280 285

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
290 295 300

```
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
305                 310                 315                 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                325                 330                 335

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            340                 345                 350

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
        355                 360                 365

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

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

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    450                 455
```

<210> 10
<211> 214
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Chuỗi nhẹ RB1+YTE

<400> 10

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
```

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210