發明專利說明書

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：96127623

※ 申請日期：96.10.5

※IPC 分類：A61K 9/08 (2006.01,
A61K 39/395 (2006.01,
A61K 47/10 (2006.01,
A61K 47/36 (2006.01,
A61K 47/14 (2006.01,

一、發明名稱：（中文/英文）

穩定調配物

STABLE FORMULATIONS

二、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

美商安美基公司

AMGEN INC.

代表人：（中文/英文）

史都華 L 瓦特

WATT, STUART L.

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國加利福尼亞州91320千橡城安美基第一中央大道

ONE AMGEN CENTER DRIVE, THOUSAND OAKS, CA 91320-1799, U.S.A.

國 籍：（中文/英文）

美國 U.S.A.

三、發明人：（共 3 人）

姓　名：（中文/英文）

1. 亞諾　J　麥奧利
   MCAULEY, ARNOLD J.
2. 道格拉斯　瑞德
   REHDER, DOUGLAS
3. 松浦　正澄
   MATSUMURA, MASAZUMI

國　籍：（中文/英文）

1. 美國　U.S.A.
2. 美國　U.S.A.
3. 美國　U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：　年　月　日。

☑ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☑ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2006年10月06日；60/850,362

2. 美國；2006年10月10日；60/850,970

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明大體上有關治療疾病之醫藥，更特別是治療分子之持續穩定調配物。

【先前技術】

隨著重組DNA技術之發展，基於蛋白質之治療劑在開業醫師可用於治療自癌症至自體免疫疾病之廣泛範圍疾病之藥單中已變得頻繁且逐漸尋常。隨著製造重組蛋白質中已發生之科學及技術進展，蛋白質治療劑成功的另一個原因為其較小分子治療劑對標靶具高度特異性及展現優異安全情況之能力。過去四分之一世紀以來，利用生物學分子作為醫藥以治療疾病的能力已明顯增進醫療護理及生活品質。截至2005年，已有150種以上核准之基於蛋白質之醫藥上市，且此數量預期在未來幾年會劇烈增加。有關其他醫藥，以該醫藥蛋白質治療需要恆定且可再現的調配物以達到安全且可信賴之治療結果。

已知在體內可展現各種藥理作用之蛋白質現在已可大量製造用於各種醫藥用途。治療性蛋白質之長期穩定性為安全、恆定及有效治療之一個特別重要標準。製劑中治療劑之功能喪失將降低其對既定投藥的有效濃度。同樣地，治療劑之非所欲改質可能影響製劑之活性及/或安全性，導致喪失效力及有不良副作用之風險。

蛋白質為具有所界定之一級、二級、三級及有些情況下四級結構之複合分子，該等結構均在賦予特定生物學功能

上扮演角色。生物學醫藥如蛋白質之結構複雜性使其對各種過程敏感，導致結構及功能不穩定性以及喪失安全性。關於該等不穩定過程或降解路徑，蛋白質在溶液中可能經歷各種共價及非共價反應或修飾。例如，蛋白質降解路徑一般可歸類為兩種主要類別：(i)物理降解或非共價路徑，及(ii)化學或共價降解路徑。

蛋白質對不可逆凝集之物理降解過程敏感。蛋白質凝集在多肽製造中尤其受矚目，因為其經常導致生物活性消失而影響藥物效力，且亦可能於病患中誘生嚴重的免疫學或抗原反應。蛋白質治療劑之化學降解(包含化學結構經由例如化學修飾而降解)亦與其免疫原潛力增加有關連。因此，穩定之蛋白質調配物需要同時使藥物之物理及化學降解路徑最少。

蛋白質可經由例如物理過程如介面吸附及凝集而降解。吸附可明顯影響蛋白質的藥物效力及穩定性。其可引起低濃度劑型之效力少許喪失。第二個影響為展開折疊介導吸附於介面可能經常為溶液中不可逆凝集之起始步驟。就此而言，蛋白質傾向於吸附在液體-固體、液體-空氣及液體-液體介面。因攪動、溫度或pH引發之應力，蛋白質核心充分曝露於疏水性表面可能導致吸附。再者，蛋白質亦對例如pH、離子強度、熱應力、剪切及介面應力敏感，其均可能引起凝集且導致不穩定。凝集的另一影響為顆粒形成，為液體及凍乾蛋白質醫藥中的一個重要考量。

蛋白質亦進行各種化學修飾及/或降解反應，如去醯胺

化、異構化、水解、二硫化物混入(scrambling)、β-脫除、氧化及加成形成。降解的主要水解機制包含肽鍵水解、天門冬醯胺酸及麩醯胺酸之去醯胺化、天門冬胺酸之異構化及麩胺酸環化成焦-麩胺酸。該等水解降解路徑之一個共通特徵為該等反應速率之一個重要調配物變數為溶液pH。

例如，肽鍵的水解可為酸或鹼催化。天門冬醯胺酸及麩醯胺酸去醯胺化亦在pH低於約4經酸催化。天門冬醯胺酸去醯胺化在中性pH經由琥珀醯亞胺基中間物而發生，其為鹼催化。天門冬胺酸殘基之異構化及消旋化在略酸性至中性pH(pH 4-8)中可能快速。除了一般pH影響之外，緩衝鹽及其他賦形劑可能影響水解反應速率。

其他例舉的降解路徑包含β-脫除反應，其可能在鹼性pH條件下發生且導致某些胺基酸消旋化或喪失部份側鏈。甲硫胺酸、半胱胺酸、組胺酸、酪胺酸及色胺酸殘基之氧化為蛋白質共價降解路徑的例子。

由於多種及多樣不同反應可導致蛋白質不穩定，故調配物中成分的組成可能明顯影響蛋白質降解程度且因此影響治療的安全性及效力。多肽之調配物亦可能影響投藥的容易性以及頻度以及注射時的疼痛性。例如，免疫原反應不僅已歸因於蛋白質凝集物且亦歸因於治療性蛋白質與調配物中所含之不活性成分之混合凝集物(Schellekens, H., Nat. Rev. Drug Discov. 1:457-62(2002); Hesmeling, et al., Pharm. Res. 22:1997-2006 (2005))。

然而，儘管利用蛋白質於治療性治療中已獲得進展且已

知其可能經歷的不穩定過程，但仍需要發展具有增進的長期穩定特性的調配物。在各種條件下保有長期穩定性之調配物可提供輸送有效及安全量多肽之有效手段。於調配物中保有長期穩定性亦可降低製造及治療成本。多種重組或天然蛋白質可自此種恆定穩定之調配物中獲得效益，且因此可提供更有效的臨床效果。

因此，對於在各樣不同製造及儲存條件下保有長期穩定性之調配物仍有需求。本發明可滿足此需求，亦可提供相關優點。

【發明內容】

本發明提供一種調配物，包含pH自約4.5-7.0之乙酸緩衝劑、麩胺酸緩衝劑或琥珀酸緩衝劑；至少一種包括糖或多元醇之賦形劑；以及有效量之治療性抗體。該緩衝劑可包含乙酸、麩胺酸或琥珀酸之鹽，且該糖或多元醇可包含甘油、蔗糖、海藻糖或山梨糖醇。該治療性抗體可包含人類抗體、人類化抗體、嵌合性抗體、或其功能性片段。

【實施方式】

本發明有關一種可展現多肽且尤其抗體或其他多肽之最佳穩定能力之調配物。此調配物含有乙酸鹽、麩胺酸鹽或琥珀酸鹽緩衝劑系統，其尤其可用於自約5.0至7.0之pH範圍。溶解於或包含於本發明調配物中之治療性多肽展現長期穩定性，使得可投與安全且有效量之治療性多肽如抗體或其他多肽。

在一個特定具體例中，本發明包含一種治療性多肽於具

有乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑系統之調配物中。此緩衝劑系統之弱酸成分係由乙酸鹽、麩胺酸鹽或琥珀酸鹽提供以緩衝該調配物且以約1-100 mM之濃度存在。本發明之緩衝系統在pH約4.0-7.5之範圍，尤其約5.0-7.0之範圍，更尤其約4.8-5.3之範圍內維持多肽穩定性。在此特定具體例中，本發明之經調配多肽亦可含有賦形劑如甘油、蔗糖或海藻糖。本發明之一種調配物為一種展現pH約5.0且在多肽存在下維持緩衝能力之水溶液。本發明之另一種調配物為一種展現pH約5.0、在多肽存在下在低於冷凍溫度維持至少約12-18個月緩衝能力且減少冷凍-解凍引起的凝集及/或顆粒形成之溶液。本發明調配物中所含之多肽可包含治療性多肽，如抗體、人類化抗體、人類抗體，尤其是對人類表皮生長因子受體(EGFR)之人類或人類化抗體，或更尤其是人類抗體帕尼單抗(panitumumab)。

本文所用之"生物醫藥"欲意指巨分子或生物聚合物，如多肽、核酸、碳水化合物或脂質、或其構成嵌段，其欲使用作為醫藥。"生物醫藥調配物"表一種可與生物醫藥相容且對人類投藥時安全且無毒性之醫藥可接受介質。

本文所用之名詞"抗體"欲意指在多肽之免疫球蛋白類內之B細胞之多肽產物，該多肽係由重鏈及輕鏈所構成且可與特定分子標靶或抗原結合。名詞"單株抗體"表單一細胞選殖株或融合瘤(hybridoma)產物的抗體。此名詞亦欲表藉重組方法由編碼重鏈及輕鏈之免疫球蛋白基因產生單分子免疫球蛋白種類所產生之抗體。單株抗體製劑中抗體的胺

基酸序列實質上為同源，且此製劑內之抗體結合活性展現實質上相同之抗原結合活性。如下列進一步所述，抗體及單株抗體特性為本技藝所周知。

單株抗體可使用本技藝已知之各種方法製備，包含使用融合瘤、重組體、噬菌體顯示及組合抗體庫方法或其組合。例如，單株抗體可使用融合瘤技術製造，包含本技藝已知及教示於例如 Harlow and Lane., *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Hammerling, et al., in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563-681, Elsevier, N.Y. (1981); Harlow et al., *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1999), 及*Antibody Engineering: A Practical Guide*, C.A.K. Borrebaeck, Ed., W.H. Freeman and Co., Publishers, New York, pp. 103-120 (1991)之技術。藉重組體、噬菌體顯示及組合抗體庫方法(包含衍生自免疫及自然界動物之庫)製造單株抗體之已知方法之實例可發現描述於*Antibody Engineering: A Practical Guide*, C.A.K. Borrebaeck, Ed., 如上述。本文所用之名詞"單株抗體"不限於經由融合瘤技術產生之抗體。名詞"單株抗體"表自單一選殖株衍生之抗體，包含任何真核、原核或噬菌體選殖株，並非其製造方法。

本文所用之名詞"功能性片段"，當用於抗體時，意指仍保有些許或所有特異抗原結合活性之抗體之一部份。此功能性片段包含例如抗體功能性片段如Fd、Fv、Fab、

F(ab')、$F(ab)_2$、$F(ab')_2$、單鏈Fv (scFv)、嵌合抗體、雙功能抗體(diabodies)、三功能抗體(triabodies)、四功能抗體(tetrabodies)及微小抗體。其他功能性片段可包含例如重鏈(H)或輕鏈(L)多肽、可變重鏈(V_H)及可變輕鏈(V_L)區域多肽、互補決定區域(CDR)多肽、單區域(domain)抗體、及含有至少一部份足以保有特異結合活性之免疫球蛋白之多肽。此抗體結合片段可發現描述於例如Harlow and Lane, 如上述; *Molec. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference* (Myers, R.A. (ed.), New York: VCH Publisher, Inc.); Huston et al., *Cell Biophysics*, 22:189-224 (1993); Plückthun and Skerra, *Meth. Enzymol.*, 178:497-515 (1989) 及 Day, E.D., *Advanced Immunochemistry*, Second Ed., Wiley-Liss, Inc., New York, NY (1990)。

關於抗體及其功能性片段，各種形式、改變以及修飾為本技藝所悉知。本發明之單株抗體可包含任何此等各種單株抗體形式、改變以及修飾。本技藝已知之各種形式及名詞之實例述於下文。

Fab片段表由V_L、V_H、C_L及C_H1區域所構成之單價片段；$F(ab')_2$片段為包括兩個Fab片段在絞鏈區域藉由二硫橋鍵聯之雙價片段；Fd片段由V_H及C_H1區域所構成；Fv片段由抗體之單臂之V_L及V_H區域所構成；dAb片段(Ward *et al.*, *Nature* 341:544-546, (1989))由V_H區域所構成。

一個抗體可具有一或多個結合位置。若有一個以上的結

合位置，則該等結合位置可能彼此相同或可能不同。例如一個天然免疫球蛋白具有兩個相同結合位置，單鏈抗體或Fab片段具有一個結合位置，而"雙特異性"或"雙功能性"抗體具有兩個不同結合位置。

單鏈抗體(scFv)表V_L及V_H區域經由一個鍵聯子(linker)(例如胺基酸殘基之合成序列)結合形成連續多肽鏈之抗體，其中該鍵聯子足夠長可使得蛋白質鏈摺疊回本身上且形成一個單價抗原結合位置(參見例如Bird *et al.*, *Science* 242: 423-26 (1988)及Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-83 (1988))。雙功能抗體表包括兩個多肽鏈之雙價抗體，其中各多肽鏈包括V_H及V_L區域藉由一個鍵聯子結合在一起，該鍵聯子太短而不能使相同鏈上兩區域間配對，因此使得各區域與另一多肽鏈上之一個互補區域配對(參見例如Holliger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-48 (1993), 及Poljak *et al.*, *Structure* 2:1121-23 (1994))。若雙功能抗體之兩個多肽鏈相同，則其配對所生之雙功能抗體將具有兩個相同抗原結合位置。具有不同序列之多肽鏈可用以製造具有兩個不同抗原結合位置之雙功能抗體。類似地，三功能抗體及四功能抗體為分別包括三個及四個多肽鏈且分別形成三個及四個可能相同或不同之抗原結合位置之抗體。

CDR表一個含有免疫球蛋白(Ig或抗體)V_H β-片狀框架之非框架(non-framework)區域內三個高度變異環(loop)(H1、H2或H3)之一的區域，或一個含有抗體V_L β-片狀框架之非

框架區域內三個高度變異環(L1、L2或L3)之一的區域。據此，CDRs為散佈在該框架區域序列內之可變區域序列。CDR區域為熟知本技藝者所悉知者，且已由例如Kabat定義為在抗體可變(V)區域內之最高度變異性之區域(Kabat et al., *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616 (1977); Kabat, *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75 (1978))。CDR區域序列結構上亦已被Chothia定義為不為保守β-片狀框架之一部份之該等殘基，且因此可採用不同構形(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))。此兩名詞學為本技藝充分認知。一個標準(canonical)抗體可變區域內之CDRs位置已藉由比較多種結構而決定(Al-Lazikani et al., *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); Morea et al., *Methods* 20:267-279 (2000))。由於一個環內殘基之數目於不同抗體中會變化，因此與該標準位置有關之其他環殘基在該標準可變區域編號系統中之殘基號碼下一個習慣上以a、b、c等編號(Al-Lazikani et al., 如上述(1997))。此種命名法同樣為熟知本技藝者所悉知。

例如，依據Kabat(高度可變異)或Chothia(結構上)命名所定義之CDRs述於下表。

表：CDR定義

	Kabat[1]	**Chothia[2]**	**環位置**
V_H CDR1	31-35	26-32	連結B及C股
V_H CDR2	50-65	53-55	連結C'及C"股
V_H CDR3	95-102	96-101	連結F及G股

V_L CDR1	24-34	26-32	連結B及C股
V_L CDR2	50-56	50-52	連結C'及C"股
V_L CDR3	89-97	91-96	連結F及G股

[1]殘基編號依循Kabat等人上述文獻之命名法

[2]殘基編號依循Chothia等人上述文獻之命名法

一種嵌合抗體表含有一個抗體之一或多個區域以及一或多個其他抗體之一或多個區域的抗體。在一個特定實例中，一或多個CDRs係衍生自對EGFR具有特異活性之非人類給予者抗體且該可變區域框架係衍生自人類接受者抗體。在另一個特定實例中，所有CDRs係衍生自對EGFR具有特異活性之非人類給予者抗體且該可變區域框架係衍生自人類接受者抗體。在又另一個特定實例中，來自一個以上之非人類EGFR-特異抗體之CDRs混合並匹配於一個嵌合抗體中。例如，一個嵌合抗體可包含來自第一非人類EGFR-特異抗體之輕鏈的CDR1、來自第二非人類EGFR-特異抗體之輕鏈的CDR2及CDR3、以及來自第三EGFR-特異抗體之重鏈的CDRs。再者，該框架區域可衍生自相同人類抗體之一或衍生自一或多個不同人類抗體或衍生自一個人類化抗體。嵌合抗體可在該給予者及接受者兩者均為人類之下產生。

人類化抗體或接枝抗體具有一個與非人類物種抗體序列不同之序列，其不同處為一或多個胺基酸取代、刪除及/或添加，因而當對人類個體投與時，與非人類物種抗體相

較，該人類化抗體似較不會引發免疫反應及/或引發較不嚴重的免疫反應。在一個特定實例中，非人類物種抗體之框架及重鏈及/或輕鏈之不變區域中之某些胺基酸經改變而產生人類化抗體。在另一個特定具體例中，人類抗體之不變區域融合至非人類抗體之可變區域。如何製造人類化抗體之實例可見於美國專利號6,054,297、5,886,152及5,877,293。人類化抗體亦包含使用抗體表面重建(resurfacing)方法等產生之抗體。

一種人類抗體表具有一或多個衍生自人類免疫球蛋白序列之可變區域及不變區域之抗體。例如，一種完全人類抗體包含一種所有可變及不變區域係衍生自人類免疫球蛋白序列之抗體。人類抗體可使用本技藝已知之各種方法製備。人類抗體之一個特定實例為帕尼單抗(panitumumab)，其為美國專利號6,235,883中所述之人類抗-EGFR抗體之主體。帕尼單抗在本技藝中亦稱為Vectibix™ (Amgen, Thousand Oaks, California)，可用於治療病理學病況例如轉移性結直腸癌。

一或多個CDRs亦可藉共價或非共價併入一個分子中以使其成為免疫黏附素(immunoadhesin)。免疫黏附素可併入CDR(s)成為一個較大多肽鏈之一部份，可共價鍵聯CDR(s)至另一多肽鏈，或可非共價併入CDR(s)。該CDR(s)可使免疫黏附素特異結合至相關之特定抗原。

中和抗體或抑制抗體，當使用於本發明之經調配抗體時，表可抑制受體結合至配位體之抗體。在EGFR-特異之

單株抗體之特定實例中，當過量EGFR-特異之抗體減少EGF結合至EGFR之量時，抑制抗體表可抑制EGFR結合至EGF之單株抗體。結合抑制作用可發生至少10%，尤其至少約20%。在各特定實例中，該單株抗體可減少EGF結合至EGFR之量例如至少30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%及99.9%。該結合減少量可藉由熟知本技藝者已知之任何手段測量，例如於體外競爭性結合分析中測量。

"拮抗性"抗體表可抑制其抗原之活性反應之抗體。在EGFR-特異之單株抗體之特定實例中，當添加至一個表現EGFR之細胞、組織或有機體時，拮抗性抗體表可抑制EGFR活性之抗體。相較於EGF單獨存在時EGFR活性程度，活性可減少至少約5%，尤其至少約10%，更尤其至少約15%或以上。在各特定實例中，本發明之EGFR-特異之單株抗體可抑制EGFR活性至少約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。

激動劑抗體表可活化其抗原之活性反應之抗體。在EGFR-特異之單株抗體之特定實例中，當添加至一個表現EGFR之細胞、組織或有機體時，激動劑抗體表可活化EGFR至少約5%，尤其至少約10%，更尤其至少約15%之抗體，其中"100%活化"為在生理條件下藉相同莫耳濃度之EGF所達成之活化程度。在各特定實例中，本發明之EGFR-特異之單株抗體可活化EGFR活性至少約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、

125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450%、500%、750%或1000%。

抗原決定基(epitope)表可特異結合至一或多個抗體於抗體之抗原結合部位之一個分子之一部分，例如多肽之一部分。抗原決定基決定子(determinants)可包含結合至抗體之分子的連續或非連續區域。抗原決定基決定子亦可包含分子之化學活性表面基團如胺基酸或糖側鏈且具有特定之三維結構特性及/或特定電荷特性。

本文所用之名詞"特異"，當用於表示單株抗體結合活性時，欲意指該單株抗體對其抗原展現比其他類似抗原優先的結合。在EGFR-特異之單株抗體之特定實例中，特異結合活性欲意指該EGFR單株抗體對EGFR比表皮生長因子有關之其他受體展現優先的結合。優先結合包含本發明單株抗體對EGFR展現可偵測的結合，而對其他相關生長因子受體展現極少或無可偵測之結合。

本文所用之名詞"表皮生長因子受體"或"EGFR"欲意指可發現表現於表皮細胞表面上且結合至表皮生長因子(EGF)及/或轉化生長因子α(TGFα)之受體。此受體為本技藝所悉知且可見於例如Yarden, Y., and Sliwkowski, M. X., *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2, 127-37 (2001), 及 Mendelsohn, J. and Baselga, J., *J Clin Oncol* 21, 2787-99 (2003)。EGFR亦為帕尼單抗人類抗體之抗原，其為美國專利號6,235,883之主體。

本文所用之名詞"乙酸"欲意指具有式CH_3COOH之酸。乙

酸具有16.7℃的熔點及118.0℃的沸點。

本文所用之名詞"麩胺酸"欲意指具有式$C_5H_9NO_4$之酸性胺基酸。該名詞包含L及D形式的胺基酸。

本文所用之名詞"琥珀酸"欲意指具有式$C_4H_6O_4$之二羧酸。琥珀酸具有185℃的熔點及235℃的沸點。

本文所用之名詞"乙酸"或"乙酸鹽緩衝劑"、"麩胺酸"或"麩胺酸鹽緩衝劑"、或"琥珀酸"或"琥珀酸鹽緩衝劑"欲表含有乙酸、麩胺酸或琥珀酸與其個別共軛鹼平衡之緩衝劑。各該等緩衝劑在其pK_a區域內可提供最適的緩衝能力，其中緩衝能力表當酸或鹼添加至該溶液中擾亂時對pH改變之抗性。乙酸之pK_a為4.75。麩胺酸側鏈之pK_a為4.07，而琥珀酸兩個羧酸基團之pK_a為4.19及5.57。本發明之乙酸緩衝劑之乙酸形式可包含例如乙酸、乙酸根離子及/或乙酸酯，包含乙酸鹽形式。類似地，本發明之麩胺酸緩衝劑之麩胺酸形式可包含例如麩胺酸、麩胺酸根離子及/或麩胺酸酯，包含麩胺酸鹽形式。再者，本發明之琥珀酸緩衝劑之琥珀酸形式可包含例如琥珀酸、琥珀酸根離子及/或琥珀酸酯，包含琥珀酸鹽形式。可包含於本發明之緩衝劑中之鹽類實例包含例如鈉、鉀、鈣、有機胺基或鎂鹽。乙酸、乙酸緩衝劑、麩胺酸、麩胺酸緩衝劑、琥珀酸及琥珀酸緩衝劑為熟知本技藝者所熟知。

本文所用之名詞"賦形劑"欲意指治療上惰性物質。就多樣目的而言，可包含於調配物中之賦形劑包含例如稀釋劑、載體、緩衝劑、穩定劑、張力劑、填充劑(bulking

agent)、界面活性劑、冷凍保護劑(cryoprotectant)、凍乾保護劑、抗氧化劑、金屬離子來源、螯合劑及/或保存劑。賦形劑包含例如多元醇如山梨糖醇或甘露糖醇；糖類如蔗糖、乳糖或右旋糖(dextrose)；聚合物如聚乙二醇；鹽類如NaCl、KCl或磷酸鈣；胺基酸如甘胺酸、甲硫胺酸或麩胺酸；界面活性劑；金屬離子；緩衝鹽如丙酸鹽、乙酸鹽或琥珀酸鹽；保存劑；及多肽如人類血清白蛋白；以及食鹽水及水。本發明特別有用之賦形劑包含糖類，包含糖醇、還原糖、非還原糖及糖酸。賦形劑為本技藝悉知者且可見於例如Wang W., *Int. J. Pharm.* 185:129-88 (1999) and Wang W., *Int. J. Pharm.* 203:1-60 (2000)。

簡言之，糖醇亦稱為多元醇、多羥醇或聚醇類，為具有一個羰基還原成一級或二級羥基之碳水化合物之氫化形式。多元醇可在液體及凍乾調配物兩者中使用作為穩定賦形劑及/或等張劑。多元醇可保護多肽免於經歷物理及化學降解路徑。優先排除的共溶劑(co-solvents)會增加溶劑在蛋白質界面之有效表面張力，因而能量上最有利的結構構形為具有最小表面積者。糖醇之特定實例包含山梨糖醇、甘油、甘露糖醇、木糖醇、麥芽糖醇、乳糖醇、赤蘚糖醇及蘇糖醇。

還原糖包含例如具有一個酮或醛基且含有一個可使糖作為還原劑之反應性半縮醛基之糖類。還原糖之特定實例包含果糖、葡萄糖、甘油醛、乳糖、阿拉伯糖、甘露糖、木糖、核糖、鼠李糖、半乳糖及麥芽糖。

非還原糖含有一個異位(anomeric)碳，其為縮醛且實質上不與胺基酸或多肽反應而引發Maillard反應。可還原Fehling氏溶液或Tollen氏試劑之糖類亦稱為還原糖。非還原糖之特定實例包含蔗糖、海藻糖、山梨糖、蔗糖素(sucralose)、松三糖(melezitose)及棉子糖。

糖酸包含例如葡萄糖二酸、葡糖酸鹽及其他多羥基糖及其鹽。

緩衝劑賦形劑在整個產品擱置壽命期維持液體調配物之pH及在凍乾製程期間以及例如復原(reconstitution)時維持凍乾調配物之pH。

液體調配物中所包含之張力劑及/或穩定劑可用以對調配物提供例如等張性、低張性或高張性，使其適用於投藥。此等賦形劑亦可用於例如促進多肽結構之維持及/或使靜電、溶液蛋白質-蛋白質相互作用達最小。張力劑及/或穩定劑之特定實例包含多元醇、鹽類及/或胺基酸。包含於凍乾調配物中之張力劑及/或穩定劑可用於例如作為冷凍保護劑以保護多肽免於受冷凍應力作用或作為凍乾保護劑以使多肽在冷凍乾燥狀態穩定。此冷凍保護劑及凍乾保護劑之特定實例包含多元醇、糖類及聚合物。

填充劑(Bulking agents)可用於凍乾調配物，例如以促進產物良好外觀且避免爆裂(blowout)。填充劑對該凍乾塊提供結構強度，包括例如甘露糖醇及甘胺酸。

抗氧化劑可用於液體調配物中以控制蛋白質氧化且亦可用於凍乾調配物中以阻止氧化反應。

金屬離子可包含於液體調配物中作為例如輔因子，二價陽離子如鋅及鎂可用於懸浮液調配物中。液體調配物中所包含之螯合劑可用於例如抑制金屬離子催化之反應。關於凍乾調配物，亦可包含金屬離子，例如作為輔因子。雖然凍乾調配物一般略去螯合劑，但若需要亦可包含螯合劑以減少凍乾製程期間及復原(reconstitution)時之催化反應。

液體及/或凍乾調配物中所包含之保存劑可用於例如避免微生物生長，於多劑量調配物中尤其有利。在凍乾調配物中，保存劑一般包含在復原之稀釋劑中。苄醇為一個可用於本發明調配物之保存劑的特定實例。

本文所用之術語"界面活性劑"欲意指一種用於降低溶有該物之液體的表面張力之物質。界面活性劑可包含於調配物中用於各種目的，包括例如避免或控制液體調配物中之凝集、顆粒形成及/或表面吸附，或在凍乾調配物之凍乾製程及/或復原製程期間避免或控制該等現象。界面活性劑包括例如兩親性(amphipathic)有機化合物，其在有機溶劑及水溶液兩者中展現部分溶解度。界面活性劑之一般特性包括降低水的表面張力之能力、降低油與水間之界面張力之能力、以及形成微胞(micelles)的能力。本發明之界面活性劑包括非離子及離子性界面活性劑。界面活性劑為本技藝悉知者且可見於例如Randolph T.W. and Jones L.S., Surfactant-protein interactions. *Pharm Biotechnol.* 13:159-75 (2002)。

簡言之，非離子性界面活性劑包含例如烷基聚(環氧乙

烷)、烷基聚葡萄糖苷如辛基葡萄糖苷及癸基麥芽糖苷、脂肪醇如鯨蠟醇及油醯醇、椰油醯胺(cocamide)MEA、椰油醯胺DEA及椰油醯胺TEA。非離子性界面活性劑之特定實例包含聚山梨糖醇酯(polysorbates)包含例如聚山梨糖醇酯20、聚山梨糖醇酯28、聚山梨糖醇酯40、聚山梨糖醇酯60、聚山梨糖醇酯65、聚山梨糖醇酯80、聚山梨糖醇酯81、聚山梨糖醇酯85等；波洛薩姆(poloxamers)包含例如波洛薩姆188(亦稱為聚氧醇(poloxalkol)或聚(環氧乙烷)-聚(環氧丙烷))、波洛薩姆407或聚乙二醇-聚丙二醇等，及聚乙二醇(PEG)。聚山梨糖醇酯20與TWEEN 20、山梨糖醇酐單月桂酸酯及聚氧乙烯山梨糖醇酐單月桂酸酯同義。

離子性界面活性劑包含例如陰離子性、陽離子性及兩性離子性界面活性劑。陰離子性界面活性劑包含例如基於磺酸根或基於羧酸根之界面活性劑如皂類、脂肪酸鹽、十二烷基硫酸鈉(SDS)、月桂基硫酸銨及其他烷基硫酸鹽。陽離子性界面活性劑包含例如基於四級銨之界面活性劑如鯨蠟基三甲基溴化銨(CTAB)、其他烷基三甲基銨鹽、氯化鯨蠟基吡啶鎓、聚乙氧化牛脂胺(POEA)及氯化苄烷(benzalkonium)銨。兩性離子性或兩性界面活性劑包含例如十二烷基甜菜鹼、十二烷基二甲基氧化胺、椰油醯胺基丙基甜菜鹼及椰子兩性甘胺酸酯(coco ampho glycinate)。

本文所用之名詞"治療性"，當用於表示本發明之多肽(包含本發明之抗體)時，欲意指該多肽欲用於人類或其他動物以治癒、緩和、治療或預防疾病。據此，治療性多肽為

特定種類之醫藥且可包含單一多肽或兩或多種多肽次單元。治療性多肽包含抗體、其功能性抗體片段、肽體(peptibody)或其功能性片段、生長因子、細胞激素(cytokines)、細胞發訊分子及激素。廣泛種類之治療性多肽為本技藝已知，其全部包含在本文所用該名詞之意義中。可用於本發明調配物之治療性多肽之實例包含例如抗體如帕尼單抗(Vectibix™)及Epratuzumab® (Emab)以及對廣泛種類抗原之功能性片段、介白素、G-CSF、GM-CSF、激酶、TNF及TNFR配位體、週期素(cyclins)及紅血球生成素(erythropoietin)。

本文所用之名詞"有效量"，當用以表示治療性巨分子如治療性多肽時，欲意指治療性分子足以舒緩標的疾病或生理學病況相關之至少一種病徵之量。

本發明提供一種調配物，包含具有pH約4.5-7.0之乙酸緩衝劑、麩胺酸緩衝劑或琥珀酸緩衝劑、至少一種包括糖或多元醇之賦形劑及有效量之治療性抗體。該治療性抗體可為一種對人類表皮生長因子受體(EGFR)具有特異結合活性之抗體。

本發明之調配物展現對多肽(包含抗體)的投藥、儲存及操作之最適性質。特別可用於本發明調配物之多肽為帕尼單抗。操作包含例如凍乾、復原、稀釋、滴定等。本發明調配物之緩衝成分係有效製備且可易於使用本技藝悉知之任何各種方法與所需多肽組合，可避免繁瑣且有時避免漫長、準備及/或中間步驟。此外，含水乙酸、麩胺酸或琥

琥珀酸緩衝成分可與廣泛種類的賦形劑及界面活性劑相容以促進多肽穩定性。本文所述調配物之該等及其他屬性使得可製備生物活性分子之穩定調配物且維持超過12-18個月或以上之期間。

本發明調配物(包含本發明之液體調配物)之穩定性表在調配物中保有多肽之結構及/或功能。本發明調配物中之多肽將展現例如對於影響穩定性或功能之變化或降解之抗性屬性且因此可於時段內維持恆定的功能特性。據此，本發明之調配物將展現例如每體積活性或活性單位的可靠性及安全性。

在一個具體例中，多肽於本發明調配物中之穩定性包含例如保有物理及/或化學穩定性。評估多肽穩定性可藉例如測定該多肽是否已進行如前所述之物理降解及/或化學降解路徑，包含其結構之化學修飾。多肽於本發明調配物中保有之穩定性包含，相較於最初時間點之多肽穩定性，例如保有介於約80-100%、85-99%、90-98%、92-96%或94-95%間之物理或化學穩定性。據此，多肽於本發明調配物中之穩定性包含，相較於最初時間點之多肽穩定性，保有穩定性大於99.5%、至少約99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%或80%。

在又一具體例中，多肽在本發明調配物中之穩定性包含例如保有活性。多肽活性可利用例如顯示多肽功能之體外、體內及/或就地分析加以評估。在本發明調配物中保

有多肽穩定性包含例如保有活性介於約50-100%之間或以上，端視分析之變化而定。例如，保有穩定性可包含，與最初時間點之多肽活性相較，保有介於約60-90%或70-80%間之活性。據此，多肽在本發明調配物中之穩定性包含，與最初時間點之多肽活性相較，保有至少約50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%之活性，且可包含大於100%之活性測量，如105%、110%、115%、120%、125%或150%或以上。通常，最初時間點係選擇多肽最初製備於本發明調配物中之時間或最初檢視品質之時間(即符合釋出規格)。最初時間點亦可包含多肽再調配於本發明調配物中之時間。該再調配可為例如最初製備之較高濃度、較低濃度或相同濃度。

本發明之調配物可製備為與參考溶液或流體(如血液血清)等張。等張溶液具有相較於其周圍物實質上類似量之溶解之溶質於其中，因此其在滲透上穩定。除非表示與特定溶液或流體相較，否則等張或等張性於本文舉例用於人類血液血清(如300 mOsmol/kg)。因此，本發明之等張調配物將含有如人類血液之實質上類似濃度之溶質或展現實質上類似滲透壓。通常，等張溶液含有與用於人類及許多其他哺乳類之生理食鹽水約相同濃度之溶質，該生理食鹽水為在水溶液中約0.9重量%(0.009克/毫升)鹽(如0.009克/毫升NaCl)。本發明之調配物亦可包含低張或高張溶液製劑。

調配物可以本技藝已知之各種方法之任一者製備，以製

造具有所需pH之乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑成分、至少一種賦形劑及有效量之多肽。就此而言，本發明調配物之緩衝能力係由弱酸乙酸、麩胺酸或琥珀酸所提供，該等弱酸在其個別pK_as之約1 pH單位內之pH範圍內展現強緩衝能力。乙酸、麩胺酸或琥珀酸具有對許多生物分子(例如抗體如帕尼單抗)最佳之pK_as。

該乙酸、麩胺酸或琥珀酸成分可以各種不同的乙酸、麩胺酸或琥珀酸形式供應至緩衝系統中。例如，乙酸、麩胺酸或琥珀酸成分可以其酸、酸鹽或任何可得或可使用化學合成製造之其他形式供應。該等酸之酸鹽形式-乙酸鹽、麩胺酸鹽或琥珀酸鹽-尤其可用於製造調配物之緩衝系統，因為彼等可以高度純化形式自商業上獲得。乙酸鹽、麩胺酸鹽或琥珀酸鹽包含例如先前所述者以及本技藝已知者。高度純化形式之調配物成分表醫藥級之純度水準，其足夠純而可投藥於人類，無污染，因而安全且無毒性。

乙酸、麩胺酸及琥珀酸緩衝劑為熟知本技藝者眾所周知。本發明之調配物將含有一個濃度之例如一種具有充分緩衝能力可在所選擇溫度下維持調配物之所選擇pH之本發明之酸或酸鹽。酸或鹽(即乙酸或乙酸鹽、麩胺酸或麩胺酸鹽、或琥珀酸或琥珀酸鹽)之可用濃度包含例如約1-150 mM之間且高至200 mM或以上。例如，在有些例中，可能需要包含高達1 M酸或酸鹽以產生本發明之高張調配物。此高張溶液可如需要在使用前稀釋而產生等張調配物。舉例而言，本發明之酸或酸鹽緩衝劑之可用濃度包含例如介

於約1-200 mM、5-175 mM、10-150 mM、15-125 mM、20-100 mM、25-80 mM、30-75 mM、35-70 mM、40-65 mM及45-60 mM。其他酸或酸鹽緩衝劑之可用濃度包含例如介於約1-50 mM、2-30 mM、3-20 mM、4-10 mM及5-8 mM。據此，酸或酸鹽濃度亦可使用約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20 mM或以上。高於及低於該等舉例濃度之所有值亦可用於調配物中。因此，本發明之調配物可具有小於1 mM或高於20 mM之酸或酸鹽，包含例如21、22、23、24、25、30、35、40、45或50 mM或以上之酸或酸鹽。各種調配物舉例於下列實例並示於圖1-13中。

如前所述，本發明調配物中之乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑之pK_a尤其適用於多肽，由於其在介於約pH 4.5-7之間具有強緩衝能力，其對維持多肽穩定性可能最佳。本發明調配物之緩衝劑成分可製備為在約4.5至7.0之pH範圍內呈現任何有效之緩衝能力。乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑及/或最終調配物之例舉pH範圍可包含約3.5-6.5之pH範圍、約4.0-6.0之pH範圍、約4.5-5.5之pH範圍、約4.8-5.2之pH範圍或約5.0之pH。據此，緩衝劑及/或最終調配物可製備為具有約3.0或以下、約3.5、4.0、4.5、4.8、5.0、5.2、5.5、6.0、6.5或約7.0或以上之pH。高於、低於及介於所例舉值之間之所有pH值亦可用於乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑及/或最終調配物中。因此，例如，本發明之緩衝劑成分及/或最終調配物可製備為具有小於3.5、大於6.5及該

等範圍內所有值之pH。熟知本技藝者應了解緩衝劑之緩衝能力之大致強度將降低至其pK_a之約1 pH單位以外，給予本文提供之教示及指引，可決定包含低於約3.5之pH或高於約6.5之pH之乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑之溶液是否可用於本發明調配物。

本發明調配物之乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑成分可包含一或多種賦形劑。如前所述，所包含賦形劑之角色為提供多肽對抗製造、運輸及儲存期間可能發生之應力的穩定作用。為了完成此角色，至少一種賦形劑可用作緩衝劑、穩定劑、張力劑、填充劑、界面活性劑、冷凍保護劑、凍乾保護劑、抗氧化劑、金屬離子來源、螯合劑及/或保存劑。此外，至少一種賦形劑亦可用作稀釋劑及/或載體或用以降低高濃度調配物之黏度以使其可輸送及/或增進病患便利性。

類似地，至少一種賦形劑另外可賦予一種以上之上述功能於本發明調配物。或者，本發明調配物中可包含兩種或多種賦形劑以進行一種以上的上述或其他功能。例如，賦形劑可包含於本發明調配物中作為一種成分以改變、調整或最適化調配物之滲透性，因而用作張力劑(tonicifier)。類似地，張力劑及界面活性劑兩者可包含於本發明調配物中以同時調整滲透性及控制凝集。賦形劑、其用途、調配物以及特性為本技藝所悉知且可見於例如Wang W., *Int. J. Pharm.* 185:129-88 (1999) 及Wang W., *Int. J. Pharm.* 203:1-60 (2000)。

通常，可基於賦形劑穩定蛋白質對抗各種化學及物理應力之機制選擇賦形劑。如本文所述，包含某些賦形劑有利於舒緩特定應力之影響或調節特定多肽之特定敏感性。包含其他賦形劑亦有利，因為彼等對蛋白質之物理及共價穩定性具有更普遍的效果。特別有用之賦形劑包含該等在化學上及功能上無害或與緩衝劑水溶液及多肽可相容之賦形劑以使調配物之穩定性質最佳化。各種此等賦形劑述於本文為展現與本發明之水性調配物化學相容及與此調配物中所含之多肽功能相容之賦形劑範例。熟知本技藝者應了解本文所提供有關舉例之賦形劑之教示及指引同樣可應用於廣泛範圍之本技藝悉知之其他賦形劑之使用。

例如，所選擇用以增進或賦予調配物內多肽之穩定性之最佳賦形劑包含實質上不與該多肽之官能基反應者。就此而言，還原及非還原糖兩者均可使用作本發明調配物中之賦形劑。然而，由於還原糖含有一個半縮醛基，故其可能與多肽之胺基酸側鏈上之胺基反應且形成加成物或其他修飾(如糖化)。類似地，賦形劑如檸檬酸鹽、琥珀酸鹽或組胺酸亦可能與胺基酸側鏈形成加成物。給予本文提供之教示及指引，熟知本技藝者將理解，與選擇還原糖或選擇如上述之其他胺基酸反應性賦形劑相較，藉由選擇非還原糖可達成對於既定多肽保有更大穩定性。

亦可選擇最適賦形劑以增進或提供本發明水性調配物投藥模式穩定作用。例如，當調配物中所有成分在製造、儲存及投藥期間維持物理及化學穩定性時，靜脈內(IV)、皮

下(SC)或肌肉內(IM)之非經腸道投藥路徑可能更安全且更有效。熟知本技藝者將理解可使用一或多種賦形劑以維持例如特定製造或儲存條件或特定投藥模式所給予之多肽活性形式之最大穩定性。本文舉例用於調配物之賦形劑展現該等及其他特性。

用於本發明調配物之賦形劑之量或濃度將隨著例如調配物中所包含之多肽量、所需調配物中所包含之其他賦形劑之量(無論是否期望或需要稀釋劑)、調配物之其他成分之量或體積、調配物中各成分之總量、多肽之特定活性及欲達成之所需張力性或滲透性而改變。賦形劑濃度之特定實例進一步舉例如下。再者，不同種類之賦形劑可組合於單一調配物中。據此，本發明調配物可含有單一賦形劑、兩種、三種或四種或更多種不同種類之賦形劑。賦形劑的組合尤其可用於與含有兩種或更多種不同多肽之調配物聯用。該等賦形劑可展現類似或不同的化學性質。

給予本文提供之教示及指引，熟知本技藝者將理解賦形劑之何種量或範圍可包含於任何特定調配物中以達成促進保有多肽穩定性的本發明調配物。例如，欲包含於本發明之調配物中鹽的量及種類可基於最終溶液之所需滲透性(如等張性、低張性或高張性)以及欲包含於調配物中之其他成份的量及滲透性加以選擇。類似地，就調配物中所包含之多元醇或糖之種類舉例說明，此賦形劑之量將隨其滲透性而變。包含約5%山梨糖醇可達成等張性，而蔗糖賦形劑則需要約9%以達到等張性。選擇可包含於本發明調

配物中之一或多種賦形劑之量或濃度範圍已針對鹽類、多元醇及糖類於上述舉例。然而，熟知本技藝者將了解本文所述之考量及關於特定賦形劑之進一步舉例同樣可應用於所有種類及組合的賦形劑，包含例如鹽類、胺基酸、其他張力劑、界面活性劑、穩定劑、填充劑、冷凍保護劑、凍乾保護劑、抗氧化劑、金屬離子、螯合劑及/或保存劑。

賦形劑一般可以約1-40% (w/v)之間、約5-35% (w/v)之間、約10-30% (w/v)之間、約15-25% (w/v)之間或約20% (w/v)之濃度範圍包含於本發明調配物中。在某些例中，本發明調配物中亦可使用高至約45% (w/v)、50% (w/v)或多於50% (w/v)之濃度。例如，在有些例中，其可能需要包含濃度達60% (w/v)或75% (w/v)以產生本發明之高張調配物。此高張溶液若需要可在使用前稀釋以產生等張調配物。其他可用濃度範圍包含介於約1-20%，尤其介於約2-18% (w/v)，更好介於約4-16% (w/v)，甚至更尤其介於6-14% (w/v)或介於約8-12% (w/v)或約10% (w/v)。本發明調配物中亦可使用低於、大於或在該等範圍內之賦形劑濃度及/或量。例如，一或多種賦形劑可包含於調配物中構成小於約1% (w/v)。類似地，調配物可含大於約40% (w/v)濃度的一或多種賦形劑。據此，本發明調配物可製造為基本上含有任何所需濃度或量之一或多種賦形劑，包含例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20% (w/v)或以上。以下提供一個具有約10.0%賦形劑之多肽調配物實例。

可用於本發明調配物之各種賦形劑已於前文描述。在實例中描述之特定調配物中，例舉的賦形劑包含甘油、蔗糖、海藻糖及/或山梨糖醇，其係使用作為穩定劑。實例中所述調配物中舉例之其他賦形劑為聚山梨糖醇酯80，相較於儲存之塊狀(bulk)調配物，其用於液體調配物。可用於本發明之液體或凍乾調配物之其他賦形劑包含例如岩藻糖、纖維二糖、麥芽三糖、蜜二糖、辛酮糖、核糖、木糖醇、精胺酸、組胺酸、甘胺酸、丙胺酸、甲硫胺酸、麩胺酸、離胺酸、咪唑、甘胺醯基甘胺酸、甘露糖基甘油酸酯、Triton X-100、Pluoronic F-127、纖維素、環糊精、葡聚糖(10、40及/或70 kD)、聚右旋糖、麥芽糊精、聚蔗糖(ficoll)、明膠、羥基丙基甲基纖維素(hydroxypropylmeth)、磷酸鈉、磷酸鉀、$ZnCl_2$、鋅、氧化鋅、檸檬酸鈉、檸檬酸三鈉、胺基丁三醇(tromethamine)、銅、纖維黏素(fibronectin)、肝素、人類血清白蛋白、魚精蛋白、甘油(glycerin)、甘油(glycerol)、EDTA、間甲酚、苄醇及苯酚。這些及本技藝已知之其他賦形劑可見於例如Wang W., 如上文獻(1999)及Wang W.,如上文獻(2000)。

本發明調配物之緩衝劑成分亦可包含一或多種界面活性劑作為賦形劑。如前所述，本發明調配物中界面活性劑之角色為避免或最小化凝集及/或吸附作用，如表面引發之降解作用。在足夠濃度下，通常在約界面活性劑之臨界微胞濃度下，界面活性劑分子之表面層用於避免蛋白質分子

吸附在界面上。因此，表面引發之降解作用最小化。用於調配物之界面活性劑、其用途、調配及特性為本技藝所悉知且可見於例如Randolph and Jones，如上文獻(2002)。

包含於本發明調配物中之最適界面活性劑可例如藉由避免或減少凝集及/或吸附以增進或促進保有多肽之穩定性而選擇。例如，山梨糖醇酐脂肪酸酯如聚山梨糖醇酯為呈現寬廣範圍親水性及乳化特性之界面活性劑。其可個別使用或與其他界面活性劑組合使用以涵蓋廣泛範圍的穩定需求。此等特性尤其適用於多肽，因為其可調整以涵蓋多肽之廣泛範圍疏水性及親水性特性。選擇界面活性劑之考量包含前文關於一般賦形劑以及界面活性劑之疏水特性及臨界微胞濃度所述者。本文舉例的界面活性劑以及本技藝已知之許多其他界面活性劑可用於本發明之調配物。

本發明調配物之界面活性劑濃度範圍包含前文關於一般賦形劑所述者，尤其可用濃度為小於約1% (w/v)。就此而言，界面活性劑濃度一般可用在約0.001-0.10% (w/v)之範圍，尤其在約0.002-0.05% (w/v)之間，更好在約0.003-0.01% (w/v)之間，甚至更好在約0.004-0.008% (w/v)之間，或在約0.005-0.006% (w/v)之間。小於、大於或在該等範圍之間之界面活性劑濃度及/或量亦可用於本發明調配物中。例如，一或多種界面活性劑可包含於調配物中構成小於約0.001% (w/v)。類似地，調配物可含濃度大於約0.10% (w/v)之一或多種界面活性劑。據此，本發明調配物可製造為基本上含有任何所需濃度或量之一或多種界面活

性劑，包含例如0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009、0.010、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09或0.10% (w/v)或以上。

可用於本發明調配物中作為賦形劑之各種界面活性劑已於前文描述。可用於本發明液體或凍乾調配物中之其他界面活性劑包含例如糖酯如酯類月桂酸(C12)、棕櫚酸(C16)、硬脂酸(C18)、聚乙二醇(macrogol)鯨蠟硬脂醚、聚乙二醇月桂醚、聚乙二醇油基醚、聚乙二醇油酸酯、聚乙二醇硬脂酸酯、聚乙二醇甘油蓖蔴油酸酯、聚乙二醇甘油羥基硬脂酸酯；烷基聚葡糖苷如辛基葡糖苷及癸基麥芽糖苷；脂肪醇如鯨蠟醇及油醇，及椰油醯胺如椰油醯胺MEA、DEA、TEA、其他非離子性界面活性劑及其他離子性界面活性劑。

因此，本發明提供一種調配物，包含具有約1-100 mM之pH自約4.5至約7.0之乙酸、麩胺酸或琥珀酸、介於約1-20%之多元醇或糖、介於約0.001-0.010%之聚山梨糖醇酯80及有效量之治療性抗體之水溶液。本發明之調配物亦可包含約10 mM之具有pH約5.0之乙酸、麩胺酸或琥珀酸、約2.6%甘油及約0.004%聚山梨糖醇酯80。各種其他調配物成分、成分之組合、及其濃度亦可包含於本發明調配物中。

進而提供一種具有治療性多肽作為調配物之多肽成份的調配物。該治療性多肽包含抗體、抗體之功能性片段、肽體、激素、生長因子或細胞發訊分子。在一個特定具體例

中，抗體為人類抗體。在另一個特定具體例中，該抗體係對EGFR特異。在又另一個特定具體例中，該抗體為帕尼單抗。

本發明調配物中亦包含廣泛種類之治療性分子。本發明之治療性分子包含例如巨分子或生物聚合物，如多肽、核酸、脂質、碳水化合物，用作活性醫藥成分或其構成組份，其可用於診斷、治療或預防病理學病況或作為醫藥的成分。例如，本發明之調配物可應用於且促進保有下列穩定性：多肽、糖多肽、肽聚糖，DNA如基因組DNA、cDNA等，RNA如mRNA、RNAi、SNRPS等，欲作為活性醫藥成分之碳水化合物，其可包含單糖、多糖、N-鍵聯之糖類、O-鍵聯之糖類、脂瘦素(leptins)等，脂質如磷脂質、糖脂質、脂肪酸、聚胺、類異戊二烯(isoprenoids)、胺基酸、核苷酸、神經傳導素及輔因子，以及哺乳類(包含人類)生理系統內生之許多其他巨分子、生物聚合物及其構成組份。該等及其他生物醫藥為熟知本技藝者悉知且可包含於本發明調配物中用於診斷、治療或預防病理病況或作為醫藥成分。

給予本文提供之教示及指引，熟知本技藝者將了解本發明調配物同樣可應用於所有種類的治療性分子，包含上述舉例者以及其他本技藝悉知者。給予本文提供之教示及指引，熟知本技藝者將了解可基於與欲調配之治療性分子之化學及功能相容性及/或投藥模式以及本技藝悉知之其他化學、功能性、生理學及/或醫藥因子而選擇例如一或多

種賦形劑、界面活性劑及/或選擇性成分之種類及/或量。例如，如前所述，當與治療性多肽使用時，與還原糖相較，非還原糖展現有利的賦形劑性質。據此，本發明調配物進一步關於治療性多肽而舉例如下。然而，應用於治療性多肽之應用範圍、化學及物理性質、考量及方法類似地可應用於治療性多肽以外之治療性分子。

可用於本發明調配物之例舉多肽種類包含所有種類的治療性多肽，包含例如多肽之免疫球蛋白超族(superfamily)、生長因子、細胞激素、細胞發訊分子及激素。可用於本發明調配物之例舉多肽包含所有治療性多肽，包含例如抗體及其功能性片段、介白素、G-CSF、GM-CSF、激酶、TNF及TNFR配位體包含Fhm、週期素、紅血球生成素、神經生長因子(NGF)、發育調節之神經生長因子VGF、神經營養因子、神經營養因子NNT-1、Eph受體、Eph受體配位體；似Eph之受體、似Eph之受體配位體、細胞凋亡(apoptosis)蛋白質之抑制劑(IAP)、Thy-1特異蛋白質、Hek配位體(hek-L)、Elk受體及Elk受體配位體、STATs、膠原酶抑制劑、骨保護素(osteoprotegerin)(OPG)、APRIL/G70、AGP-3/BLYS、BCMA、TACI、Her-2/neu、載脂蛋白(Apolipoprotein)多肽、整合素、金屬蛋白酶之組織抑制劑、C3b/C4b補體受體、SHC結合蛋白質、DKR多肽、細胞外基質多肽、上述治療性多肽之抗體及其抗體功能性片段、上述治療性多肽之受體的抗體及其抗體功能性片段、其功能性多肽片段、

融合多肽、嵌合性多肽等。

可用於本發明調配物之市售醫藥之特定實例包含例如ENBREL (Etanercept；一種CHO表現之二聚融合蛋白質((Amgen, Inc.))；EPOGEN(紅血球生成素α；一種哺乳類細胞表現之糖蛋白質(Amgen, Inc.))；INFERGEN®(干擾素alfacon-1；一種大腸桿菌(E. Coli)表現之重組蛋白質(Amgen, Inc.))；KINERET®(阿納白滯素(anakinra)；一種大腸桿菌表現之重組非糖化形式之人類介白素-1受體拮抗劑(IL-1Ra)(Amgen, Inc.))；ARANESP(達貝汀(darbepoetin)α；一種CHO表現之重組人類紅血球生成刺激蛋白質(Amgen, Inc.))；NEULASTA (聚乙二醇化非格思廷(pegfilgrastim)；重組甲硫胺醯化人類G-CSF及20kD PEG之共價共軛物(Amgen, Inc.))；NEUPOGEN (非格思廷(Filgrastim)；一種大腸桿菌表現之人類顆粒細胞群落刺激因子 (G-CSF)(Amgen, Inc.))；及STEMGEN(安色廷(Ancestim)，幹細胞因子；一種大腸桿菌表現之重組人類蛋白質(Amgen, Inc.))。該等及所有其他市售醫藥可例如在製造時、使用前及/或短期或長期儲存之前再調配於本發明調配物中。

可用於本發明調配物中作為治療性抗體之抗體，尤其是對EGFR特異之抗體，特定實例包含例如帕尼單抗(Amgen, Inc.)；色土脈(cetuximab)(Erbitux™; Imclone Systems, 紐約市)；IMC-11F8(Imclone Systems)；Humax-EGFR (Genmab, Copenhagen, 丹麥)；馬土脈(matuzumab)(EMD-

7200; Merck KGaA, Darmstadt, 德國)，及尼馬土脈(nimotuzumab)(TheraCIM hR3; YM Biosciences, Mississauga, Ontario, 加拿大)。所有上述抗體為本技藝所悉知。例如，帕尼單抗係購自Amgen且為美國專利號6,235,883中所述人類抗-EGFR抗體之主體。IMC-11F8為美國專利號7,060,808之主體，Humax-EGFR為美國專利公開案20030091561及20030194403之主體。

為進一步說明本發明調配物之治療性分子利用性之範圍，下列進一步描述可在本發明調配物中使用作為治療性多肽之舉例抗體種類及其功能性片段。如前述，可應用於抗體及其功能性片段之化學及物理性質、調配考量及方法類似地可應用於生物醫藥，包含其他多肽之生物醫藥。

用作本發明多肽之標靶特異單株抗體或其功能性片段可製成任何各種抗體形式及/或可以前述各種方法改變或修飾但仍維持其特異標靶結合活性。標靶特異單株抗體之任何此種抗體形式、改變或修飾，包含其組合，或其功能性片段，包含在本發明中作為多肽。用作本發明多肽之標靶特異單株抗體之任何此種抗體形式、改變或修飾，包含其組合，或其功能性片段，如本文所述，可類似地用於本發明之方法、組合物及/或製造物件中。例如，本發明之標靶特異單株抗體或其功能性片段包含標靶特異之接枝、人類化、Fd、Fv、Fab、$F(ab)_2$、acFv及肽體單株抗體以及所有前述之其他形式、改變及/或修飾，及包含本技藝熟知之其他形式。

製造融合瘤及使用融合瘤技術篩選標靶特異單株抗體之方法為例行性且為本技藝悉知者。例如，可以標靶分子如多肽使小鼠免疫，一旦偵測到免疫反應，如在小鼠血清中偵測到對標靶分子特異之抗體，則收取小鼠脾臟並單離脾細胞。該脾細胞接著藉悉知方法融合至任何適宜的骨髓瘤細胞，例如獲自ATCC的細胞株SP20的細胞。選擇融合瘤並以限制稀釋選殖。該融合瘤選殖株接著藉本技藝已知之方法篩選可分泌可結合標靶分子之抗體的細胞。一般含有高量抗體之腹水液可藉由以陽性融合瘤選殖株使小鼠免疫而產生。

此外，可使用在原核生物或真核生物宿主中之重組表現以產生標靶特異之單株抗體。重組表現可用以產生單一標靶特異單株抗體種類或其功能性片段。或者，重組表現可用以產生多樣重鏈及輕鏈或可變重鏈及可變輕鏈組合之庫，接著篩選對該標靶分子展現特異結合活性之單株抗體或其功能性片段。例如，重鏈及輕鏈、可變重鏈及輕鏈區域、或其功能性片段可使用本技藝已知方法自編碼標靶特異單株抗體之核酸共同表現，以產生特異單株抗體種類。該庫可使用本技藝悉知方法自編碼重鏈及輕鏈、可變重鏈及重鏈區域、或其功能性片段之核酸的共同表現群落產生，並藉對標靶分子之親和性結合用於鑑定標靶特異單株抗體而加以篩選。此等方法可見於例如 *Antibody Engineering: A Practical Guide*, C.A.K. Borrebaeck, Ed., 如上述; Huse et al., *Science* 246: 1275-81 (1989); Barbas et

al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:7978-82 (1991); Kang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:4363-66 (1991); Plückthun and Skerra, 如上述; Felici et al., *J. Mol. Biol.* 222:301-310 (1991); Lerner et al., *Science* 258:1313-14 (1992)，及美國專利號5,427,908中。

編碼核酸之選殖可使用本技藝人士悉知之方法完成。相似地，重鏈及/或輕鏈編碼核酸庫(repertoires)(包括V_H及/或V_L編碼核酸)之選殖亦可以熟知本技藝者悉知之方法完成。此等方法包括例如表現選殖、以互補探針雜交篩選、使用引子之互補對之聚合酶鏈反應(PCR)、或使用互補引子之接合酶鏈反應(LCR)、逆轉錄酶PCR (RT-PCR)等。此等方法可見於例如Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Third Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York (2001)及Ansubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, MD (1999)。

編碼核酸亦可自任何各種公開資料庫獲得，包括全基因組資料庫，如由National Institutes of Health (NIH)之國家生物技術資訊中心(NCBI)營運者。分離重鏈及/或輕鏈或其功能性片段之單一編碼核酸或編碼核酸庫之特別有用的方法可無需該編碼區域部份之特別知識而完成，因為引子可以獲得或可輕易使用抗體可變或不變區域部份的保守部份設計。例如，編碼核酸庫可使用多數此等區域之簡併性(degenerate)引子與PCR一起選殖。此等方法為本技藝悉知

者且可見於例如Huse et al., 如上述，及 *Antibody Engineering: A Practical Guide*, C.A.K. Borrebaeck, Ed., 如上述。任何上述方法以及本技藝已知之其他方法，包括其組合，可用以產生用作本發明多肽之標靶特異性單株抗體。

因此，本發明提供一種具有抗體、抗體之功能性片段作為治療性多肽之調配物。該治療性多肽可包括單株抗體、Fd、Fv、Fab、F(ab')、$F(ab)_2$、$F(ab')_2$、單鏈Fv (scFv)、嵌合抗體、雙功能抗體(diabodies)、三功能抗體(triabodies)、四功能抗體(tetrabodies)、微小抗體(minibody)、或肽體(peptibody)。

包含於本發明調配物中之多肽之濃度將隨例如多肽活性、欲治療之適應症、投藥模式、治療療程、及調配物是否欲以液體或凍乾形式長期儲存而定。熟知本技藝者由該等周知之考量及醫藥科學技藝之狀態可知使用何種濃度。例如，對於廣泛範圍的醫學適應症、投藥模式及治療療程，在美國有超過80種多肽被核准用於治療用途。該等核准之多肽為可用於本發明調配物中之多肽濃度範圍的範例。

通常，多肽，包含例如治療性多肽，將可以約1-200毫克/毫升、約10-200毫克/毫升、約20-180毫克/毫升、尤其約30-160毫克/毫升、更尤其約40-120毫克/毫升、甚至更尤其約50-100毫克/毫升或約60-80毫克/毫升之濃度包含在本發明調配物中。本發明調配物中亦可使用小於、大於或

在該等範圍之間之多肽濃度及/或量。例如，調配物中可包含一或多種多肽，其構成小於約1.0毫克/毫升。類似地，調配物可含濃度大於約200毫克/毫升之一或多種多肽，尤其是當調配供儲存時。據此，本發明調配物可製造為基本上含有任何所需濃度或量之一或多種多肽，包含如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200毫克/毫升或以上。下列實例中列舉者為一種具有濃度約10毫克/毫升之治療性多肽之調配物。

本發明調配物亦可包含多肽之組合於調配物中。例如，本發明調配物可包含單一多肽用於治療一或多種症狀。本發明調配物亦可包含兩種或多種不同多肽。於本發明調配物中使用多種多肽可用於例如相同或不同適應症。類似地，多種多肽可用於本發明調配物中以治療例如病理學病況及一或多種由主要治療所引起的副作用。多種多肽亦可包含於本發明調配物中以完成不同的醫學目的，包含例如同時治療及偵察病理學病況的發展。多種共同治療，例如上述舉例以及本技藝悉知之其他組合者，對於病患的順應性尤其有用，因為單一調配物對於有些或所有提議的治療及/或診斷即已足夠。熟知本技藝者將理解該等多肽可混合用於廣泛範圍之組合治療。類似地，本發明調配物亦可以小分子醫藥及一或多種多肽與一或多種小分子醫藥一起

組合而使用。因此，本發明提供一種含1、2、3、4、5或6種或以上之不同多肽之本發明之調配物以及提供含一或多種多肽與一或多種小分子醫藥組合之調配物。

本發明調配物亦可包含一或多種本技藝已知之保存劑及/或添加劑。類似地，本發明調配物可進而調配成任何各種已知之輸送調配物。例如，本發明調配物可包含潤滑劑、乳化劑、懸浮劑、保存劑如羥基苯甲酸甲酯及丙酯、甜味劑及矯味劑。此等選擇性成分、其化學及功能特性為本技藝已知。類似地，本技藝悉知在投藥後可加速、持續或延遲釋出多肽之調配物。本發明之調配物可製成包含本技藝已知之該等及其他調配成分。

本發明調配物亦可製成例如水性液體以外之狀態。例如，含乙酸、麩胺酸或琥珀酸之本發明調配物可製備呈例如凍乾調配物。

一旦如上述製備本發明之調配物，該調配物中所含之一或多種多肽之穩定性可使用本技藝已知方法評估。下列實例中進一步列舉數種此等方法，包含大小排斥層析及顆粒計數。包含例如結合活性、其他生化活性及/或生理活性之數種功能性分析之任一者可在兩個或多個不同時間點評估以測定本發明之經緩衝調配物中多肽的穩定性。

通常，本發明之調配物係依據醫藥標準並使用醫藥等級試劑製備。類似地，本發明調配物通常使用滅菌試劑於滅菌製造環境中製備或在製備後滅菌。滅菌之注射溶液可使用本技藝悉知程序製備，包含例如將所需量之一或多種多

肽併入本發明之乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑或賦形劑以及本文所述之調配成分之一或組合中，接著滅菌微過濾。在製備滅菌注射溶液之滅菌粉末之特定具體例中，尤其可用之製備方法包含例如前述之真空乾燥及冷凍乾燥(凍乾)。此乾燥方法將可自先前滅菌過濾之溶液產生一或多種多肽與任何另外所需成分之粉末。

投藥及劑量療程可調整以提供最適治療反應的有效量。例如，可投與單一丸粒(bolus)，可於時段內投與數個分割劑量，或該劑量可隨治療狀況之急迫性所示按比例減少或增加。尤其有用為調配用於靜脈內、非經腸或皮下注射的本發明調配物，呈易於投藥且可投與有效量之一或多種多肽之均勻劑量的單位劑型。單位劑量表物理上區分量之醫藥，適合作為欲治療個體之單元劑量；各單位含有經計算可產生所需治療效果的預定量之活性多肽。

就進一步舉例而言，有效量的多肽，例如治療性抗體，尤其是帕尼單抗，可於一段時間內以預定間隔投與一次以上。在某些具體例中，治療性抗體係投藥至少一個月或以上的期間，包含例如一個月、二個月或三個月或更久。就治療慢性病況而言，長期持續治療一般最有效。當治療急性病況時，短期投藥即已足夠，包含例如自1至6週。通常，治療性抗體或其他多肽投藥至病患較所選擇之指標基準出現醫學相關程度的改善。

視所選擇之多肽及欲治療之適應症而定，治療有效量係足以引起該標的病理學病況之至少一病徵相對於未治療個

體降低至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%或以上。調配物降低或抑制病徵之能力可以例如預測對人類標的病況之效力之動物模型系統評估。或者，調配物降低或抑制病徵之能力可以例如檢視體外功能或體內治療活性之調配物活性指標而評估。

本發明調配物中一或多種多肽之實際劑量可改變以獲得對特定病患、調配物及投藥模式有效達到所需治療反應，但對病患無毒性之活性多肽之量。熟知本技藝者將可依據數種因素決定投藥量，如個體大小、個體病徵嚴重性及所選擇之多肽及/或投藥路徑。所選擇之劑量可視例如各種藥物動力學因素而定，包含所用多肽之活性、投藥路徑、投藥時間、排泄速率、治療持續期、其他藥物、用以與所用特定組合物組合之化合物及/或物質，欲治療病人之年齡、性別、體重、病況、一般健康狀況及先前的醫藥史，以及醫藥領域中悉知之類似因素。本發明之特定具體例包含將治療性多肽如抗體或其功能性片段於本發明調配物中投與個體，以每公斤個體體重每天約1奈克(1 ng/kg/day)至約 10 mg/kg/day、更尤其約 500 ng/kg/day 至約 5 mg/kg/day、甚至更尤其約5 μg/kg/day至約2 mg/kg/day之抗體之劑量。

具有該項技藝之醫師或獸醫師可輕易決定及處方有效量之所需醫藥調配物。例如，醫師或獸醫師最初可以低於達到所需治療效果所需量之本發明調配物之劑量投藥且逐漸

增加劑量直至達到所需效果。通常，本發明調配物之適宜每日劑量將為有效產生治療效果之最低劑量之多肽量。此有效量一般將視前述因素而定。其尤其可用於靜脈內、肌肉內、腹膜內或皮下投藥。若需要，達到調配物之有效量之有效每日劑量可在一天內以適宜間隔分別投與兩、三、四、五、六或更多個次劑量(sub-doses)，視情況以單位劑量投藥。

本發明調配物可以例如本技藝已知之醫學裝置投藥。例如，在特別有用之具體例中，本發明調配物可以無針之皮下注射裝置投藥，如述於美國專利號5,399,163；5,383,851；5,312,335；5,064,413；4,941,880；4,790,824或4,596,556之裝置。可用於本發明之悉知植入物及模組(modules)實例包含：美國專利號4,487,603，其描述以控制速率分配藥物之可植入微灌注泵；美國專利號4,486,194，其描述用於經由皮膚投與醫藥之治療性裝置；美國專利號4,447,233，其描述以精確灌注速率輸送醫藥之投藥灌注泵；美國專利號4,447,224，其描述用於連續輸送藥物之可變流速可植入灌注設備；美國專利號4,439,196，其描述具有多腔室隔間之滲透性藥物輸送系統；及美國專利號4,475,196，其描述滲透性藥物輸送系統。許多其他此等植入物、輸送系統及模組為熟知本技藝者已知。

在某些特定具體例中，用於本發明調配物之多肽可另外調配以促進活體內之選擇性分佈。例如，血-腦障壁(BBB)排除許多高度親水性化合物。若需要，為了促進穿透

BBB，調配物可另外包含例如用於一或多種多肽包膠之微脂體(liposomes)。就製造微脂體之方法，參見例如美國專利號4,522,811；5,374,548；及5,399,331。該等微脂體可另含有一或多個可選擇性運輸至特定細胞或器官內之基團，因而增進所選擇多肽之標的輸送(參見例如V. V. Ranade (1989) *J. Clin. Pharmacol.* 29:685)。舉例的靶向基團包含葉酸或生物素(參見例如Low等人之美國專利號5,416,016)；甘露糖苷(Umezawa et al., (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153:1038)；抗體(P. G. Bloeman et al. (1995) *FEBS Lett.* 357:140; M. Owais et al. (1995) *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:180)；或界面活性劑蛋白質A受體(Briscoe et al. (1995) *Am. J. Physiol.* 1233:134)。

因此，本發明另外提供一種製備調配物之方法。該方法包含組合具有pH自約4.5至約7.0之乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑以及選自糖或多元醇之賦形劑之水溶液與有效量之治療性多肽(包含例如EGFR特異抗體)。該EGFR特異抗體可為例如帕尼單抗。本文所述之一或多種調配成分可與一或多種有效量之多肽組合以產生廣泛範圍之本發明調配物。

另外提供一種含有調配物之容器，該調配物包含具有約1-10 mM之pH自約4.5至約7.0之乙酸、麩胺酸或琥珀酸緩衝劑、約1-10%甘油或山梨糖醇、約0.001-0.010%聚山梨糖醇酯80及有效量之治療性抗體(包含例如EGFR特異抗體

或帕尼單抗)之水溶液。簡言之，關於本發明之組合物、套組及/或醫藥，組合有效量之一或多種多肽於本發明調配物內可包含在單一容器或容器裝置中、或包含於分開容器或容器裝置中。可視情況包含顯影成分，且該包裝亦可包含印製或網路可獲得之使用該調配物之仿單。容器或容器裝置包含例如小瓶、瓶子、針筒，或多重分配包裝領域悉知之任何各種於形式。

應了解實質上不影響本發明各種具體例之活性之修飾亦包含在本文本發明之定義中。據此，下列實例欲用以說明而非限制本發明。

實例I

緩衝溶液中多肽穩定性特性化

此實例描述各種調配物於帕尼單抗(panitumumab)穩定性之特性化。亦描述各種調配物於帕尼單抗塊狀(bulk)製劑之長期穩定性之特性化。

使單株IgG2抗體帕尼單抗穩定之各種調配物條件如下。該等調配物條件包含可應用於治療性多肽之投與以及用於治療性多肽之儲存、維持及/或分批(lot)製劑之條件。下列舉例之本發明調配物條件尤其可用於帕尼單抗對抗凝集、化學降解及顆粒形成之穩定性。該等條件顯示可特別有效地預防顆粒形成，其可消除靜脈內投藥之管線中過濾器(in-line filter)的任何需求。

簡言之，經發現帕尼單抗在約5.0至7.0之pH範圍內穩定。關於凝集及顆粒形成，在pH 5.0觀察到最佳穩定性。

pH 5.0之調配物亦為最澄清(即最透明)之液體溶液，顯示極少凝集。特別有用之緩衝劑系統包含乙酸、L-麩胺酸及琥珀酸。所有該等三種緩衝劑系統在pH接近約5.0(例如自約4.8至約5.2)作用良好。在該等緩衝劑系統中，觀察到L-麩胺酸對帕尼單抗的穩定性與乙酸同等有效或更佳。帕尼單抗之尤其有用賦形劑包含甘油、蔗糖、海藻糖及山梨糖醇。關於凝集及/或顆粒形成，所有均顯示有效的穩定性質。最佳賦形劑包含甘油及蔗糖。

下述結果顯示維持、增加或最佳化帕尼單抗穩定性之各種調配物。在某些特定調配物中，尤其有用之帕尼單抗之液體調配物包含10 mM乙酸、2.6%甘油、0.004%聚山梨糖醇酯80，pH 5.0；及10 mM L-麩胺酸、2.6%甘油、0.004%聚山梨糖醇酯80，pH 5.0。在其他特定具體例中，當該帕尼單抗調配物維持在-30℃或以下時，對於例如冷凍儲存、維持及/或分批製劑如塊狀(bulk)物質製劑，尤其有用之長期調配物包含10 mM乙酸、2.6%甘油，pH 5.0；及10 mM L-麩胺酸、2.6%甘油，pH 5.0。另外發現甘油、蔗糖及海藻糖為保護帕尼單抗避免冷凍-解凍引發之凝集及顆粒形成特別有用的賦形劑。

本文所述之研究係有關增加保有帕尼單抗穩定性之調配物之特性化及選擇。基於預先分析，選擇三種緩衝劑系統用於帕尼單抗之穩定液體及冷凍調配物之特性化。該等緩衝劑系統為乙酸、麩胺酸及琥珀酸。衍生自該等緩衝劑系統之調配物之特性舉例如下。

一個最初特性化為帕尼單抗在各種乙酸緩衝劑調配物中之視覺外觀。簡言之，在不同pH值評估下列七種調配物。

1. pH 5.0：20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.0

2. pH 5.5：20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.5

3. pH 6.0：20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.0

4. pH 6.5：20mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.5

5. pH 7.0：20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 7.0

6. pH 7.5：20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 7.5

7. A58N：20 mg/ml帕尼單抗、50 mM乙酸鹽、100 mM NaCl, pH 5.8 (對照組)

圖1顯示在pH值範圍自5.0至7.5調配之帕尼單抗之視覺外觀。結果顯示該蛋白質溶液在較低pH值下更澄清且更透明。比較下，調配物在較高pH值變得較渾濁。

進行加速穩定性研究以對帕尼單抗在不同pH條件下之穩定性特性化。簡言之，在特定pH及在例如37℃於玻璃小瓶中進行加速穩定性研究。樣品透析至待試驗之個別調配物中並滅菌過濾至滅菌容器中。將約2毫升量的各調配樣品置入滅菌通風櫥中之滅菌3毫升玻璃小瓶中並塞住。指定

用於冷凍之樣品置於滅菌聚丙烯微量離心管(eppindorf tubes)中。所有小瓶貼標籤並卡口(crimped)，接著置入特別用於儲存在-80℃、2-8℃及37℃條件之盒子中。在指定時間點移開樣品並分析。使用大小排除層析(SEC)作為分析方法之一。使用串聯(in tandem)之TosoHaas G3000SWxl雙重管柱，使用由100 mM磷酸鹽(pH 7)、150 mM NaCl構成之移動相進行該分析。

不同形式之樣品可依據其流體動力體積定量評估及分離。舉例結果說明於圖2，顯示在37℃儲存達2個月之帕尼單抗之單體百分比。觀察到在較高pH條件下單體損失較高。圖2中在各時間點舉例的調配物為：

1. EGF_20pH 5.0: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.0

2. EGF_20pH 5.5: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.5

3. EGF_20pH 6.0: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.0

4. EGF_20pH 6.5: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.5

5. EGF_20pH 7.0: 20mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 7.0

6. EGF_20pH 7.5: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 7.5

7. EGF_20pH A58N: 20 mg/ml帕尼單抗、50 mM乙酸鹽、

100 mM NaCl, pH 5.8(對照組)

亦藉由陽離子交換層析(CEX)對上述儲存達2個月的樣品測定蛋白質溶液電荷變動之改變。簡言之，使用本技藝已知之陽離子交換程序評估帕尼單抗。此方法基於蛋白質表面電荷差異，使用線性鹽梯度在pH 6.2及Dionex弱陽離子交換管柱(WCX-10；Sunnyvale，CA)，及有些胺基酸之酸性修飾(以脫醯胺化表示)，分離優勢的C-端離胺酸異構形式。

下列所示具有不同pH條件且在37℃儲存達2個月之七種調配物之CEX數據示於圖3。結果顯示在酸性pH(5.0及5.5)酸變異物(以峰0表示，其表示脫醯胺化產物)之百分比最小。

1. EGF_20pH 5.0: 20mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.0

2. EGF_20pH 5.5: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.5

3. EGF_20pH 6.0: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.0

4. EGF_20pH 6.5: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.5

5. EGF_20pH 7.0: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 7.0

6. EGF_20pH 7.5: 20 mg/ml帕尼單抗、5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 7.5

7. EGF_20pH A58N: 20 mg/ml帕尼單抗、50 mM乙酸鹽、100 mM NaCl, pH 5.8(對照組)

關於單株抗體及其他多肽之一個特性為發生非肉眼可見(subvisible)不可溶顆粒。關於此方面，多肽顆粒表例如多肽之片段或凝集物且為可溶及/或不可溶。此外，顆粒可能由外來物(即玻璃碎片、線頭、橡膠塞小片)所構成，未必由多肽構成。可溶凝集物/顆粒可使用例如SEC之方法評估。不可溶顆粒可使用例如液體顆粒計數法或光晦暗(light obscuration)方法如HIAC之方法評估。粗顆粒一般分類為具有粒徑大於1.0微米之顆粒，粒徑較小者被視為微細顆粒。使用具有HIAC儀器之LD-400雷射系統(Geneva，瑞士)可測量介於2至400微米間之粒徑。

對七種舉例的調配物以不同pH條件使用液體顆粒計數評估不可溶顆粒之形成。供參考用，圖4所示之該等調配物為：

1. pH 5.0: 20 mg/ml帕尼單抗於5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.0中

2. pH 5.5: 20 mg/ml帕尼單抗於5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.5中

3. pH 6.0: 20 mg/ml帕尼單抗於5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.0中

4. pH 6.5: 20 mg/ml帕尼單抗於5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 6.5中

5. pH 7.0: 20 mg/ml帕尼單抗於5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸

鹽、5%山梨糖醇，pH 7.0中

6. pH 7.5: 20 mg/ml帕尼單抗於5 mM乙酸鹽、5 mM磷酸鹽、5%山梨糖醇，pH 7.5中

7. A58N: 20 mg/ml帕尼單抗於50 mM乙酸鹽、100 mM NaCl, pH 5.8(對照組)

該HIAC顆粒計數儀器配備有PharmSpec軟體版本1.4，需要測量既有Emab樣品中存在之10微米及25微米顆粒。所用方法依據符合顆粒估算及品質之USP要件之程序。經由不銹鋼管使用1.0毫升體積抽出過濾水(0.22微米)，並在樣品測量之間沖洗約10次。使用Duke scientific EZY-CAL液體顆粒10微米大小標準以確認儀器適當校正。樣品及標準之測量均採取0.2毫升體積，抽取4次，丟棄第一次操作，及平均最後兩次或三次。自最初小瓶取出樣品，在測量前對各樣品略微漩渦以確保均勻混合溶液。標準品在測量前激烈搖晃。

在各種pHs調配之帕尼單抗於4℃漩渦15分鐘後之HIAC顆粒計數結果示於圖4。計算自5微米至25微米大小之顆粒。結果顯示在5.0至7.0之pH調配之所有樣品比在pH 7.5調配之樣品展現較少顆粒計數。在含氯化鈉緩衝劑中(A58N)調配之顆粒計數明顯高於在山梨糖醇緩衝劑中調配者。

基於上述舉例結果，選擇5.0之pH用於下述其他調配物之特性化。

如上述使用大小排斥層析以評估帕尼單抗在乙酸緩衝

劑、琥珀酸緩衝劑或麩胺酸緩衝劑中調配接著在37℃儲存達4個月後之穩定性。該等調配物描述如下：

1. A_2.6%甘油_pH5_T80: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

2. Succ_2.6%甘油_pH5_T80: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM琥珀酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

3. Gluta_2.6%甘油_pH5_T80: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM L-麩胺酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

此研究結果示於圖5。簡言之，對所有緩衝劑系統觀察類似單體含量。含琥珀酸之調配物顯示略低的單體含量，含麩胺酸之調配物在37℃儲存4個月後維持且展現最大量單體。

於乙酸、麩胺酸或琥珀酸中之帕尼單抗調配物之穩定性亦進行較長時期及不同溫度評估，如下述。簡言之，利用前述之陽離子交換層析以評估帕尼單抗在該等緩衝劑系統中在29℃培育達6個月後之穩定性。如圖6所示，該等調配物包含：

1. A_2.6%甘油_pH5_T80: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

2. Succ_2.6%甘油_pH5_T80: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM琥珀酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

3. Glau_2.6%甘油_pH5_T80: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM L-麩胺酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

圖6中所示之結果顯示酸變異體(由峰0表示，其表示脫

醯胺化產物)之百分比在所有調配物中相當。觀察到使用麩胺酸緩衝劑系統最少變異體形成。

亦使用前述之HIAC顆粒分析評估帕尼單抗於乙酸、麩胺酸或琥珀酸中之顆粒形成。簡言之，帕尼單抗如下述調配且在4℃培育6個月。

1. Ace2.6甘油T80pH5.0: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

2. Succ2.6甘油T80pH5.0: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM琥珀酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

3. Gluta2.6甘油T80pH5.0: 20 mg/mL帕尼單抗於10 mM L-麩胺酸、2.6%甘油，pH 5.0、0.004% Tween 80中。

結果示於圖7，在所有調配物中顯示可接受的顆粒計數。由USP指引判斷，有極少顆粒>10微米及>25微米，但觀察到乙酸鹽緩衝劑中大小>2微米之顆粒計數高於在麩胺酸鹽或琥珀酸鹽緩衝劑中者。

圖8顯示含不同賦形劑之各種等張調配物藉SEC HPLC測量之單體含量。如前述進行SEC HPLC。經特性化之不同賦形劑包含山梨糖醇(S)、甘油(GLY)、精胺酸(ARG)、蔗糖(SUC)及聚山梨糖醇酯80(T80)。用於4℃儲存達2年之樣品之完全調配物顯示如下。結果顯示帕尼單抗在山梨糖醇、甘油、蔗糖及聚山梨糖醇酯80中穩定。觀察到在精胺酸中較不穩定。

A5S	10 mM 乙酸鈉	5%山梨糖醇	pH 5.0		20 mg/mL
A5ST	10 mM 乙酸鈉	5%山梨糖醇	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
GLY5	10 mM 乙酸鈉	2.6%甘油	pH 5.0		20 mg/mL

GLY5T	10 mM 乙酸鈉	2.6%甘油	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
ARG5	10 mM 乙酸鈉	2.5%精胺酸	pH 5.0		20 mg/mL
ARG5T	10 mM 乙酸鈉	2.5%精胺酸	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
SUC5	10 mM 乙酸鈉	9.3%蔗糖	pH 5.0		20 mg/mL
SUC5T	10 mM 乙酸鈉	9.3%蔗糖	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
A58N	50 mM 乙酸鈉	100mM NaCl	pH 5.8		20 mg/mL
A58NT	50 mM 乙酸鈉	100mM NaCl	pH 5.8	0.004% Tween-80	20 mg/mL

圖9顯示使用前述之HIAC方法對上述不同賦形劑測量顆粒大小>10微米之顆粒計數測量值。圖9的調配物及要點提供如下。結果顯示帕尼單抗在含山梨糖醇、甘油、蔗糖及鹽在有或無聚山梨糖醇酯存在下之各種調配物中在4℃儲存1年後穩定。

A5S	10 mM 乙酸鈉	5%山梨糖醇	pH 5.0		20 mg/mL
A5ST80	10 mM 乙酸鈉	5%山梨糖醇	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
2.6GLY5	10 mM 乙酸鈉	2.6%甘油	pH 5.0		20 mg/mL
2.6GLY5T80	10 mM 乙酸鈉	2.6%甘油	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
ARG5	10 mM 乙酸鈉	2.5%精胺酸	pH 5.0		20 mg/mL
ARG5T	10 mM 乙酸鈉	2.5%精胺酸	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
SUC5	10 mM 乙酸鈉	9.3%蔗糖	pH 5.0		20 mg/mL
SUC5T	10 mM 乙酸鈉	9.3%蔗糖	pH 5.0	0.004% Tween-80	20 mg/mL
A58N	50 mM 乙酸鈉	100mM NaCl	pH 5.8		20 mg/mL
A58NT	50 mM 乙酸鈉	100mM NaCl	pH 5.8	0.004% Tween-80	20 mg/mL

除上述調配物以外，許多其他成分及調配物對於帕尼單抗在長期儲存條件下及冷凍-解凍循環之穩定性加以特性化。該等特性進一步描述如下。所有分析方法如前述進行。

簡言之，圖10顯示藉SE-HPLC分析於pH範圍5.0至7.0之各種調配物中帕尼單抗之單體百分比。各調配物包含下述不同賦形劑。帕尼單抗樣品在-30℃儲存達3個月。該等調配物係關於發展冷凍調配物或冷凍藥物物質或塊狀物質溶液加以研究。

1. EGF_p5glycerol2.6: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、2.6%甘油，pH 5.0中

2. EGF_p5 glycerol10: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、10%甘油，pH 5.0中

3. EGF_p5suc9.3: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、9.3%蔗糖，pH 5.0中

4. EGF_p5suc20: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、20%蔗糖，pH 5.0中

5. EGF_p5tre9.3: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、9.3%海藻糖，pH 5.0中

6. EGF_p5tre20: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、20%海藻糖，pH 5.0中

7. EGF_p5arg2.5: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、2.5%精胺酸，pH 5.0中

8. EGF_p5arg10: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM乙酸鹽、10%精胺酸，pH 5.0中

9. EGF_p6glycerol2.6: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、2.6%甘油，pH 6.0中

10. EGF_p6glycerol10: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、10%甘油，pH 6.0中

11. EGF_p6suc9.3: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、9.3%蔗糖，pH 6.0中

12. EGF_p6suc20: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、20%蔗糖，pH 6.0中

13. EGF_p6tre9.3: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、9.3%海藻糖，pH 6.0中

14. EGF_p6tre20: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、20%海藻糖，pH 6.0中

15. EGF_p6arg2.5: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、2.5%精胺酸，pH 6.0中

16. EGF_p6arg10: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、10%精胺酸，pH 6.0中

17. EGF_p7glycerol2.6: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、2.6%甘油，pH 7.0中

18. EGF_p7glycerol10: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、10%甘油，pH 7.0中

19. EGF_p7suc9.3: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、9.3%蔗糖，pH 7.0中

20. EGF_p7suc20: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、20%蔗糖，pH 7.0中

21. EGF_p7tre9.3: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、9.3%海藻糖，pH 7.0中

22. EGF_p7tre20: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、20%海藻糖，pH 7.0中

23. EGF_p7arg2.5: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、2.5%精胺酸，pH 7.0中

24. EGF_p7arg10: 40 mg/mL帕尼單抗於10 mM磷酸鉀、10%精胺酸，pH 7.0中

25. EGF_A58N: 50 mM乙酸鹽、100 mM氯化鈉，pH 5.8(對照組)

26. EGF_A5S: 10 mM乙酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.0(對照組)

27. EGF_H58Suc: 50 mM組胺酸、1%蔗糖，pH 5.8(對照組)

圖11顯示藉由SE-HPLC分析之帕尼單抗之單體百分比，以pH (5或6)及各種穩定劑在乙酸鹽或磷酸鹽緩衝劑中為函數。結果顯示當帕尼單抗在-30℃儲存達1年時，單體含量未明顯改變。下列調配物特性為：

1. EGF_p5gly2.6: 10mM乙酸鹽、2.6%甘油，pH 5.0

2. EGF_p5gly10: 10mM乙酸鹽、10%甘油，pH 5.0

3. EGF_p5suc9: 10mM乙酸鹽、9.3%蔗糖，pH 5.0

4. EGF_p5suc20: 10mM乙酸鹽、20%蔗糖，pH 5.0

5. EGF_p5arg2.5: 10mM乙酸鹽、2.5%精胺酸，pH 5.0

6. EGF_p5A5S: 10mM乙酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.0

7. EGF_p55gly2.6: 10mM乙酸鹽、2.6%甘油，pH 5.5

8. EGF_p55gly10: 10mM乙酸鹽、10%甘油，pH 5.5

9. EGF_p55suc9.3: 10mM乙酸鹽、9.3%蔗糖，pH 5.5

10. EGF_p55suc20: 10mM乙酸鹽、20%蔗糖，pH 5.5

11. EGF_p55arg2.5: 10mM乙酸鹽、2.5%精胺酸，pH 5.5

12. EGF_p55A5S: 10mM乙酸鹽、5%山梨糖醇，pH 5.5

13. EGF_p6gly2.6: 10mM磷酸鉀、2.6%甘油，pH 6.0

14. EGF_p6gly10: 10mM磷酸鉀、10%甘油，pH 6.0

15. EGF_p6suc9.3: 10mM磷酸鉀、9.3%蔗糖，pH 6.0

16. EGF_p6suc20: 10mM磷酸鉀、20%蔗糖，pH 6.0

17. EGF_p6arg2.5: 10mM磷酸鉀、2.5%精胺酸，pH 6.0

18. EGF_p6A5S: 10mM磷酸鉀、5%山梨糖醇，pH 6.0

圖12顯示藉由SE-HPLC分析之帕尼單抗之單體百分比。就此特性化而言，在下列所示各種調配物中，包括帕尼單抗40毫克/毫升，且在-30℃儲存達一年。

名稱	緩衝劑	賦形劑	pH
A5G2.6	10 mM 乙酸鈉	2.6%甘油	5.0
S5G2.6	10mM 琥珀酸	2.6%甘油	5.0
G5G2.6	10mM 麩胺酸	2.6%甘油	5.0
G2.6	無緩衝劑	2.6%甘油	~5.8
A57G2.6	10mM 乙酸鹽	2.6%甘油	5.7
A58N	50 mM 乙酸鈉	100mM NaCl	5.8

結果顯示在-30℃儲存超過12個月在任何上述調配物間並未導致任何明顯差異。在此研究中，在不銹鋼容器(S)中儲存效果亦與在聚丙烯(P)瓶中儲存效果相較，如圖12所示。該兩種容器間並無可觀察到之差異可測得。

圖13顯示冷凍-解凍循環及在-30℃儲存對帕尼單抗的顆粒形成之影響。經特性化之調配物如下述。該結果顯示各研究調配物之可接受顆粒數。

名稱	緩衝劑	賦形劑	pH
A5G2.6	10 mM 乙酸鈉	2.6%甘油	5.0
S5G2.6	10mM 琥珀酸	2.6%甘油	5.0
G5G2.6	10mM 麩胺酸	2.6%甘油	5.0
G2.6	無緩衝劑	2.6%甘油	~5.8
A57G2.6	10mM 乙酸鹽	2.6%甘油	5.7
A58N	50 mM 乙酸鈉	100mM NaCl	5.8

在整個申請案中，各種發表示於括弧內。該等發表之揭

示全部併入本文供參考以更完全描述本發明有關之技藝狀態。

雖然本發明已關於所揭示的具體例加以描述，但熟知本技藝者將輕易了解該特定實例及上述研究細節僅用以說明本發明。應了解在不脫離本發明精神之下可做各種修飾。據此，本發明僅由下列申請專利範圍限制。

【圖式簡單說明】

圖1顯示在5.0至7.5之各種pH調配之抗體之視覺外觀。

圖2顯示在37℃儲存達2個月之抗體調配物對pH穩定性之SE-HPLC結果。對於各測量之pH的統計柱狀圖(Histogram)組自左至右對應於下列儲存期間：未儲存(0)；1週(1w)；2週(2w)；1個月(1m)；及2個月(2m)。對各時間點，該pH值對應於5.0、5.5、6.0、6.5、7.0及7.5。

圖3顯示在各種pH調配之抗體於37℃儲存達2個月後之陽離子交換層析結果。儲存條件對應於：未儲存(0，菱形)；1週(1w，正方形)；2週(2w，三角形)；1個月(1m，X)及2個月(2m，星形)。

圖4顯示在各種pH調配之抗體於4℃漩渦15分鐘後之顆粒計數。對於各所示顆粒大小的統計學柱狀圖組自左至右對應於：5微米(5)；7.5微米(7.5)；10微米(10)；20微米(20)；及25微米(25)。

圖5顯示在不同調配物中調配之抗體於37℃儲存達4個月後之分子大小排斥層析(size exclusion chromatography)結果。對於各調配物的統計柱狀圖組自左至右對應於下列儲

存期間：未儲存(0)；2週(2w)；1個月(1m)；2個月(2m)；3個月(3m)；及4個月(4m)。

圖6顯示在不同調配物中調配之抗體於29℃儲存達6個月後之陽離子交換層析圖。對於各調配物的統計柱狀圖組自左至右對應於下列儲存期間：未儲存(0)；2週(2w)；1個月(1m)；2個月(2m)；3個月(3m)；及6個月(6m)。

圖7顯示不同抗體調配物之抗體在4℃儲存6個月後之HIAC非肉眼可見(subvisible)的顆粒計數。對於各所示顆粒大小的統計學柱狀圖組自左至右對應於：2微米(2)；5微米(5)；7.5微米(7.5)；10微米(10)；20微米(20)；及25微米(25)。

圖8顯示自含不同賦形劑之各種調配物獲得之抗體單體含量的分子大小交換層析(SEC)-HPLC測量。對於各調配物的統計柱狀圖組自左至右對應於下列儲存期間：未儲存(0)；2週(2w)；1個月(1m)；2個月(2m)；3個月(3m)；6個月(6m)；及1年(1y)。

圖9顯示不同抗體調配物在4℃儲存1年後粒徑大於10微米之HIAC非肉眼可見之顆粒測量。對於各所示顆粒大小的統計學柱狀圖組自左至右對應於：10微米(10)；20微米(20)；及25微米(25)。

圖10顯示在具有範圍自5.0至7.0之pH且含不同賦形劑之各種調配物中在-30℃儲存達3個月後抗體單體含量之SE-HPLC測量。對於各調配物的統計柱狀圖組自左至右對應於下列儲存期間：未儲存(0)；5次冷凍及解凍且未在-30℃

儲存數個月或數週(C5)；6週(6w)；及3個月(3m)。

圖11顯示在具有範圍自5.0至6.0之pH且含不同穩定劑之各種調配物於乙酸鹽或磷酸鹽緩衝劑中在-30℃儲存達1年後抗體單體含量之SE-HPLC測量。對於各調配物的統計柱狀圖組自左至右對應於下列儲存期間：未儲存(0)；5次冷凍及解凍且未在-30℃儲存數個月或數週(C5)；3個月(3m)；6個月(6w)；及12個月(12m)。

圖12顯示不同調配物在不銹鋼或聚丙烯容器中在-30℃儲存達1年後抗體單體含量之SE-HPLC測量。對於各調配物的統計柱狀圖組自左至右對應於下列儲存期間：未儲存(0)；5次冷凍及解凍且未在-30℃儲存數個月或數週(C5)；1個月(1m)；3個月(3m)；6個月(6w)；及12個月(12m)。

圖13顯示冷凍/解凍及在-30℃儲存對各種抗體調配物之顆粒形成的影響。對於各調配物的統計柱狀圖組自左至右對應於下列儲存期間：未儲存(t=0)；5次冷凍及解凍且未在-30℃儲存數個月或數週(t=c5)；1個月(t=1m)；及3個月(t=3m)。

五、中文發明摘要：

本發明提供一種調配物，其包含pH自約4.5至7.0之乙酸緩衝劑、麩胺酸緩衝劑或琥珀酸緩衝劑；至少一種包括糖或多元醇之賦形劑；以及有效量之治療性抗體。該緩衝劑可包含乙酸、麩胺酸或琥珀酸之鹽，該糖或多元醇可包含甘油、蔗糖、海藻糖或山梨糖醇。該治療性抗體可包含人類抗體、人類化抗體、嵌合性抗體、或其功能性片段。

六、英文發明摘要：

The invention provides a formulation including an acetic acid buffer, a glutamic acid buffer or a succinic acid buffer with a pH from about 4.5-7.0, at least one excipient comprising a sugar or a polyol and an effective amount of a therapeutic antibody. The buffer can include a salt of acetate, glutamate or succinate and the sugar or polyol can include glycerol, sucrose, trehalose or sorbitol. The therapeutic antibody can include a human antibody, a humanized antibody, a chimeric antibody, or a functional fragment thereof.

十、申請專利範圍：

1. 一種調配物，包含pH約4.5-7.0之乙酸緩衝劑、麩胺酸緩衝劑或琥珀酸緩衝劑；至少一種包括糖或多元醇之賦形劑；以及有效量之一種對人類表皮生長因子受體(EGFR)具有特異結合活性之治療性抗體，其中該治療性抗體在溶液中保有至少約80%之穩定性達2個月。
2. 如請求項1之調配物，其中該緩衝劑包括乙酸、麩胺酸或琥珀酸之鈉鹽。
3. 如請求項1之調配物，其中該乙酸緩衝劑、麩胺酸緩衝劑或琥珀酸緩衝劑包括約1-50 mM之濃度。
4. 如請求項3之調配物，其中該乙酸緩衝劑、麩胺酸緩衝劑或琥珀酸緩衝劑包括約5-10 mM之濃度。
5. 如請求項1之調配物，其中該pH包括約4.8-5.2之pH。
6. 如請求項1之調配物，其中該糖或多元醇係選自甘油、蔗糖、海藻糖或山梨糖醇。
7. 如請求項6之調配物，其中該甘油、蔗糖、海藻糖或山梨糖醇包括選自約1-20%之濃度。
8. 如請求項6之調配物，其中該甘油包括約2.6%之濃度。
9. 如請求項6之調配物，其中該蔗糖包括選自約9.3%或20%之濃度。
10. 如請求項6之調配物，其中該海藻糖包括選自約9.3%或20%之濃度。
11. 如請求項6之調配物，其中該山梨糖醇包括約5%之濃度。

12. 如請求項1之調配物，其進而包括界面活性劑。

13. 如請求項12之調配物，其中該界面活性劑包括一種聚山梨糖醇酯(polysorbate)。

14. 如請求項12之調配物，其中該界面活性劑包括選自約0.001-0.10%(w/v)之濃度。

15. 如請求項1之調配物，其進而包括第二種賦形劑。

16. 如請求項15之調配物，其中該第二種賦形劑係選自緩衝劑、穩定劑、張力劑、填充劑(bulking agent)、界面活性劑、冷凍保護劑(cryoprotectant)、凍乾保護劑、抗氧化劑、金屬離子、螯合劑、及保存劑。

17. 如請求項1之調配物，其中該對人類EGFR具有特異結合活性之治療性抗體包括人類抗體、人類化抗體、嵌合抗體、或其功能性片段。

18. 如請求項17之調配物，其中該人類抗體為帕尼單抗(panitumumab)。

19. 如請求項17之調配物，其中該嵌合抗體為Erbitux(色土脈(cetuximab))。

20. 如請求項17之調配物，其中該人類抗體係選自IMC-11F8或HUMAX-EGFR。

21. 如請求項17之調配物，其中該人類化抗體係選自馬土脈(matuzumab)(EMD-7200)或尼馬土脈(nimotuzumab)(TheraCIM hR3)。

22. 如請求項17之調配物，其中該其功能性片段包括Fd、Fv、Fab、F(ab')、$F(ab)_2$、$F(ab')_2$、單鏈Fv (scFv)或嵌合

抗體。

23. 如請求項1之調配物，其中該治療性抗體包括選自約10-200毫克/毫升之濃度。

24. 一種液體調配物，包括具有pH約4.8-5.2之10 mM麩胺酸緩衝劑、至少一種包括約2.6%甘油之賦形劑、及有效量之帕尼單抗，其中該帕尼單抗在溶液中保有至少約80%之穩定性達2個月。

25. 如請求項21之液體調配物，其中該調配物進而包括0.004%聚山梨糖醇酯80。

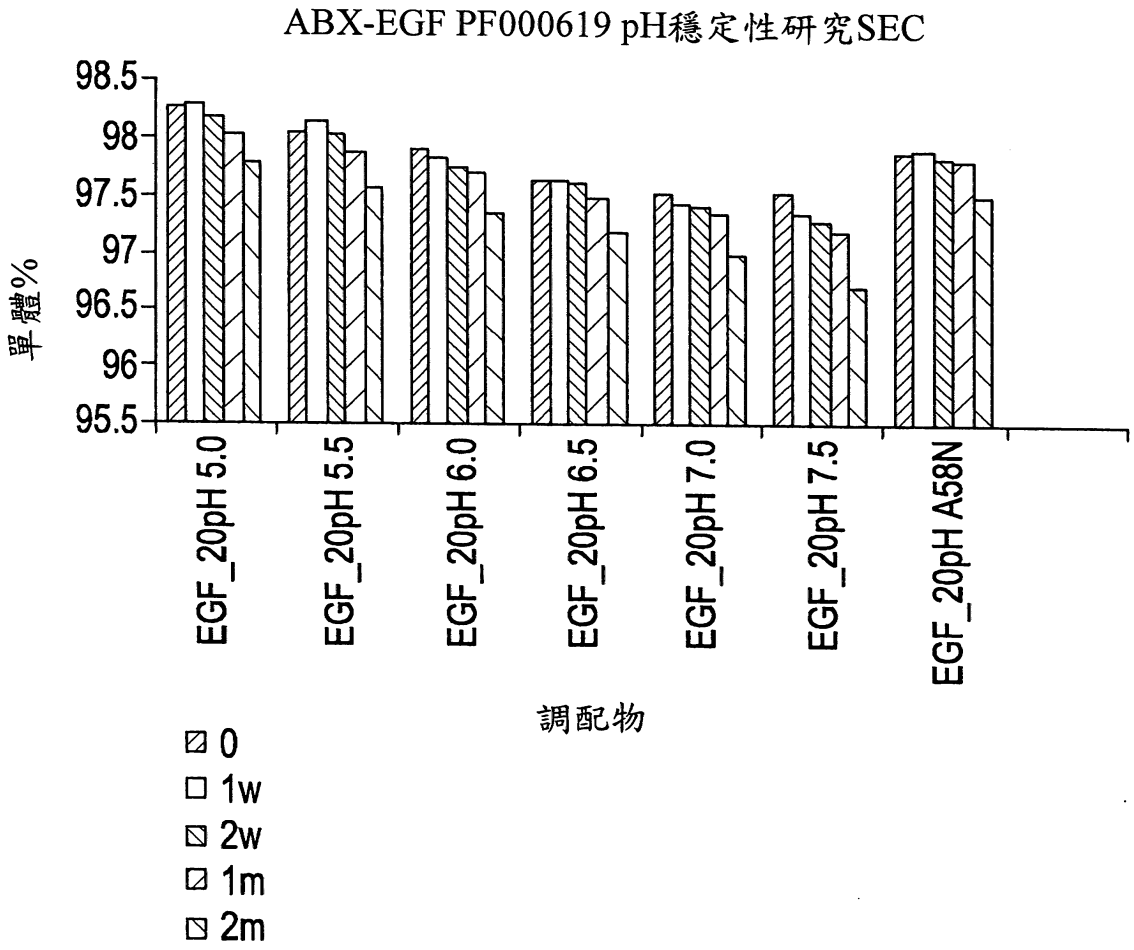
ABX-EGF PF000619 pH穩定性研究SEC
98.5
98
97.5
97
96.5
96
95.5
單體%
EGF_20pH 5.0
EGF_20pH 5.5
EGF_20pH 6.0
EGF_20pH 6.5
EGF_20pH 7.0
EGF_20pH 7.5
EGF_20pH A58N
調配物
0
1w
2w
1m
2m

圖2

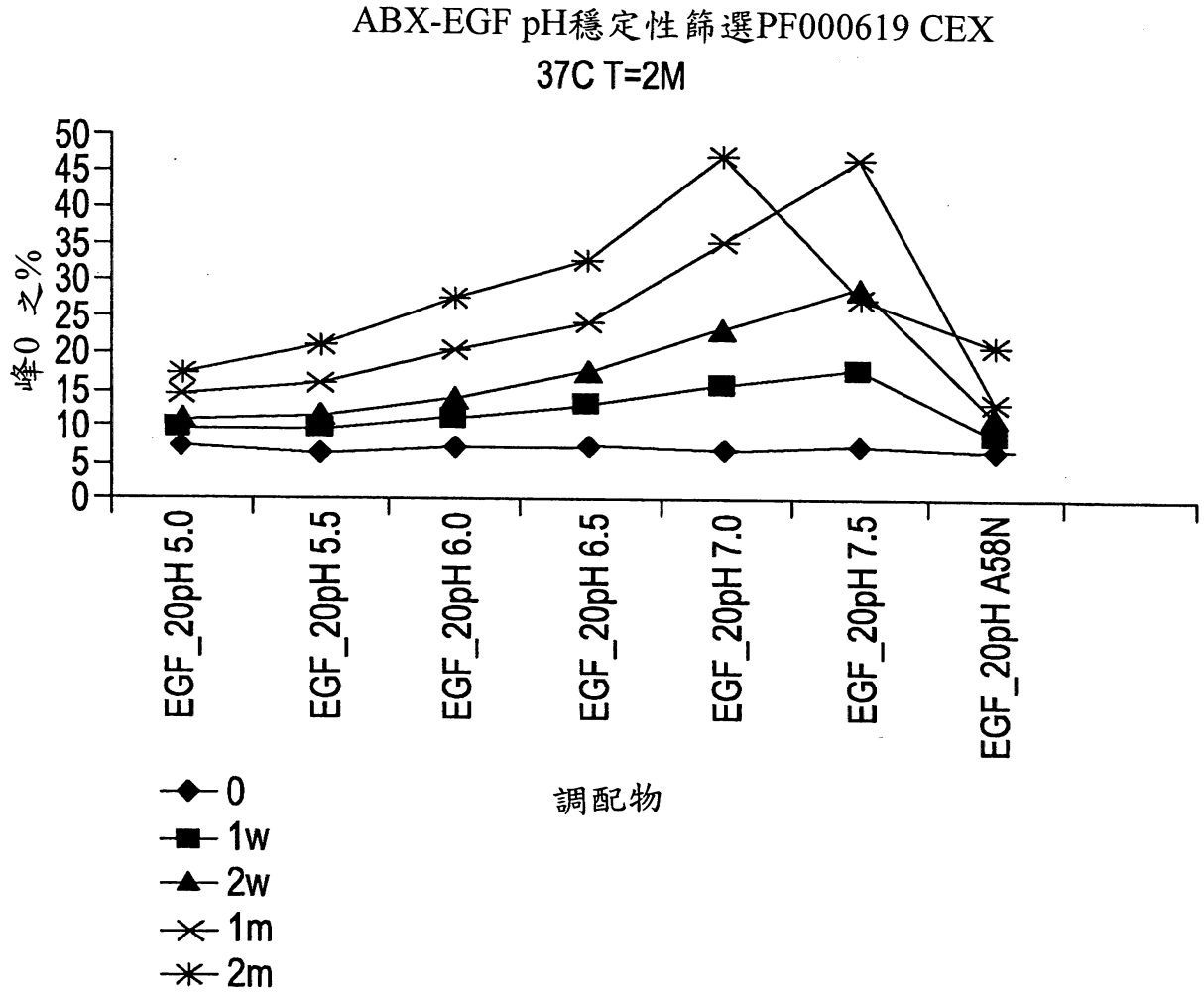
ABX-EGF pH穩定性篩選PF000619 CEX
37C T=2M
峰0 之%
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
EGF_20pH 5.0
EGF_20pH 5.5
EGF_20pH 6.0
EGF_20pH 6.5
EGF_20pH 7.0
EGF_20pH 7.5
EGF_20pH A58N
調配物
0
1w
2w
1m
2m

圖3

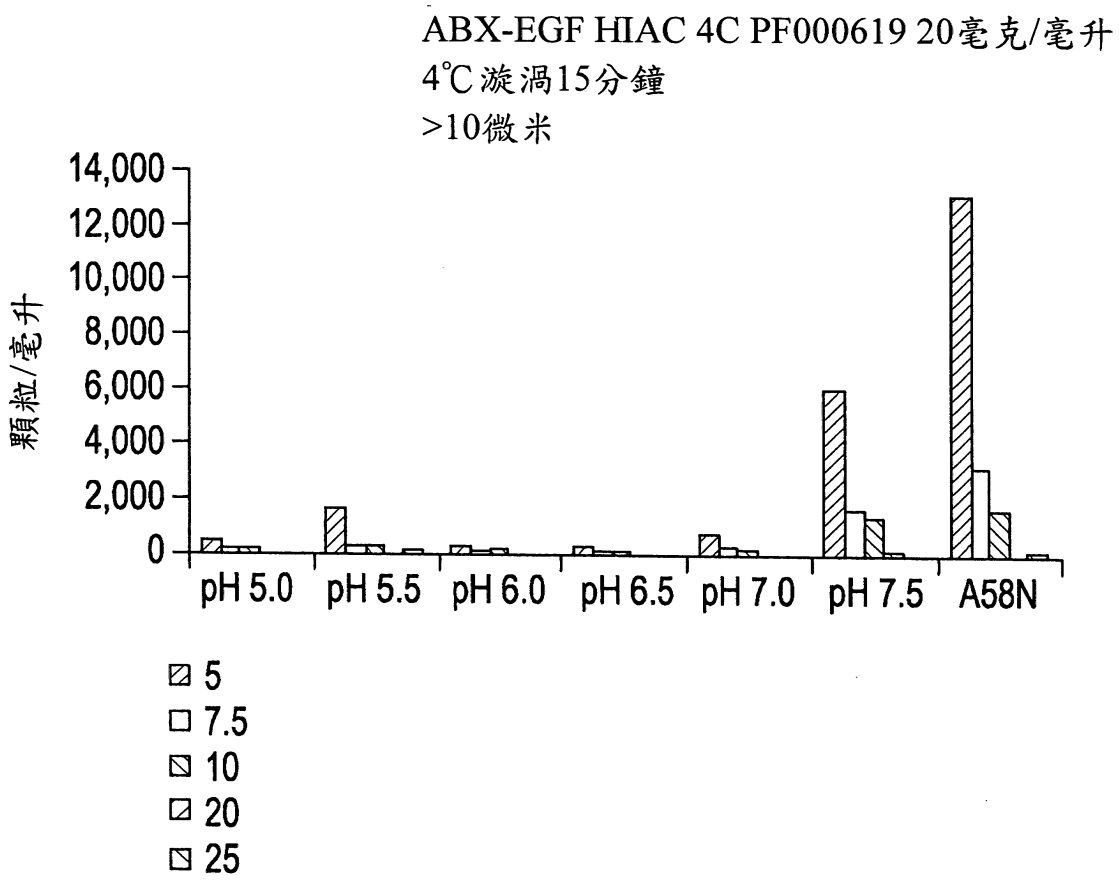
ABX-EGF HIAC 4C PF000619 20毫克/毫升
4℃漩渦15分鐘
>10微米
14,000
12,000
10,000
8,000
6,000
4,000
2,000
0
顆粒/毫升
pH 5.0
pH 5.5
pH 6.0
pH 6.5
pH 7.0
pH 7.5
A58N
5
7.5
10
20
25

圖4

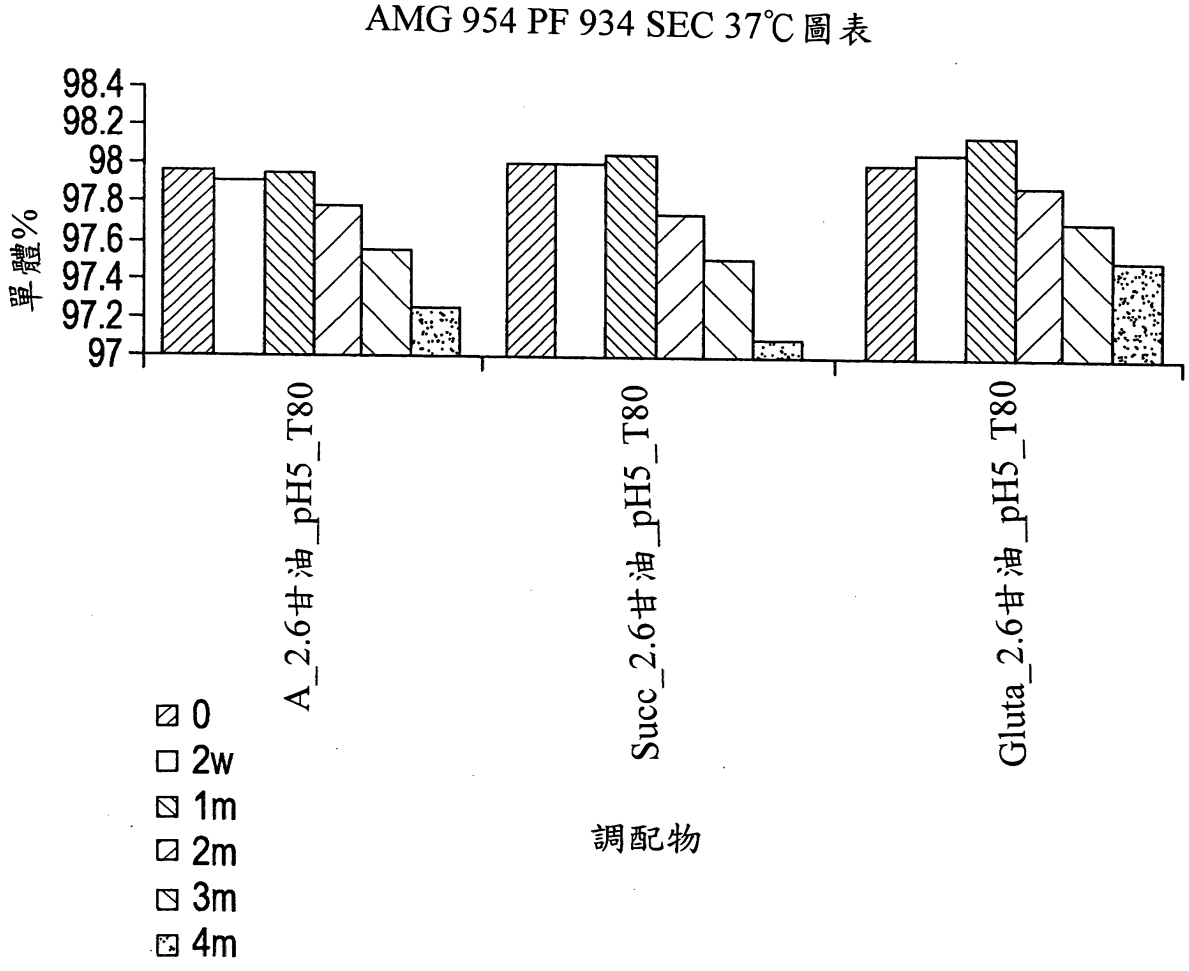
AMG 954 PF 934 SEC 37℃圖表
98.4
98.2
98
97.8
97.6
97.4
97.2
97
單體%
A_2.6甘油_pH5_T80
Succ_2.6甘油_pH5_T80
Gluta_2.6甘油_pH5_T80
0
2w
1m
2m
3m
4m
調配物

圖5

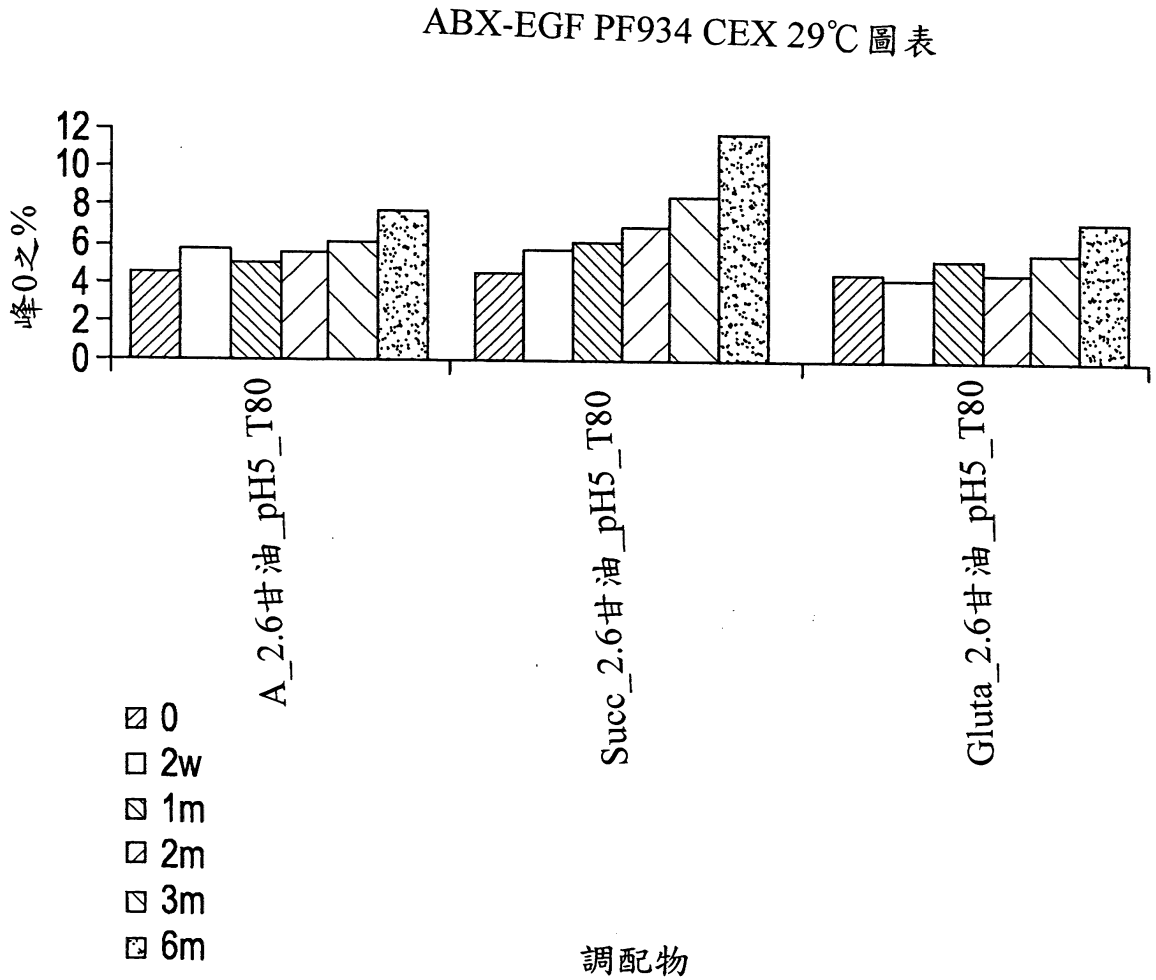
ABX-EGF PF934 CEX 29℃ 圖表
峰0之%
12
10
8
6
4
2
0
A_2.6甘油_pH5_T80
Succ_2.6甘油_pH5_T80
Gluta_2.6甘油_pH5_T80
0
2w
1m
2m
3m
6m
調配物

圖6

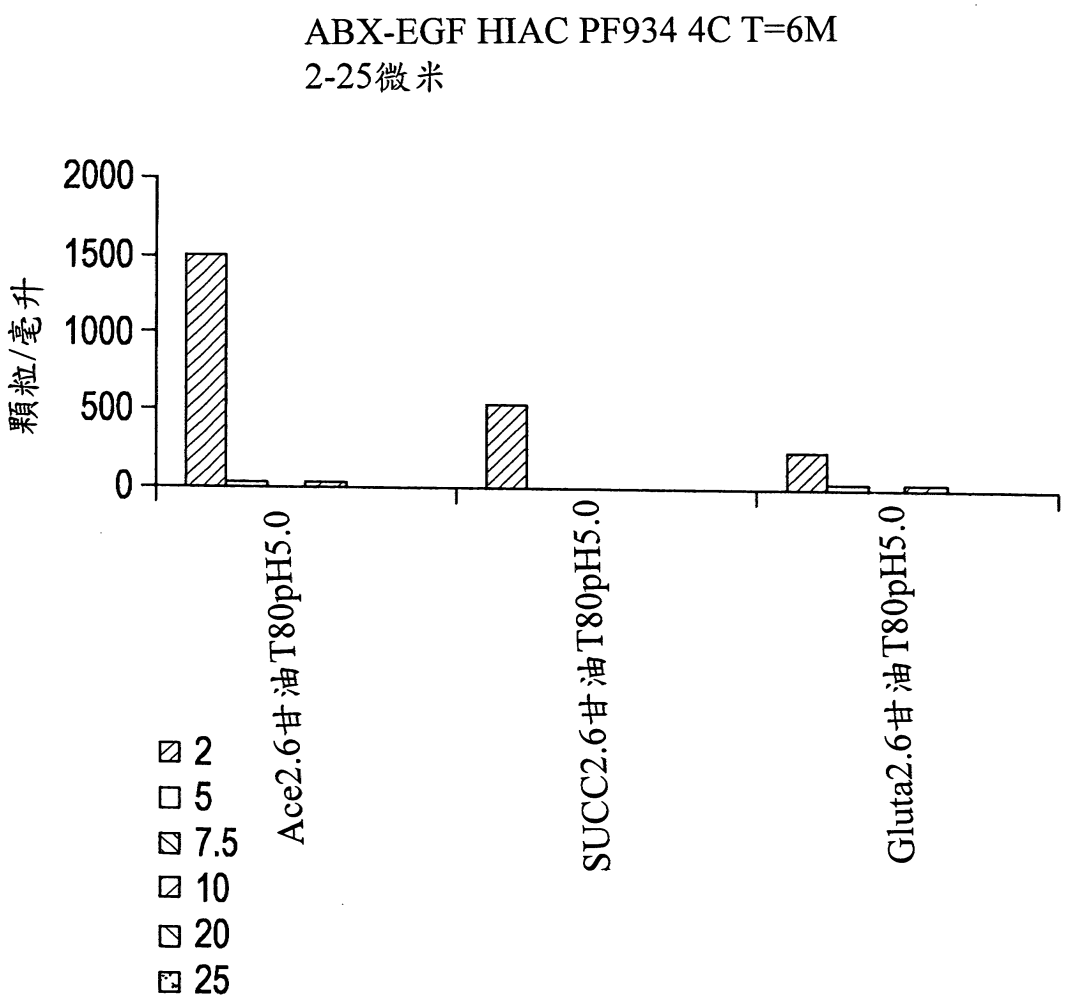
ABX-EGF HIAC PF934 4C T=6M
2-25微米
2000
1500
1000
500
0
顆粒/毫升
Ace2.6甘油T80pH5.0
SUCC2.6甘油T80pH5.0
Gluta2.6甘油T80pH5.0
2
5
7.5
10
20
25

圖7

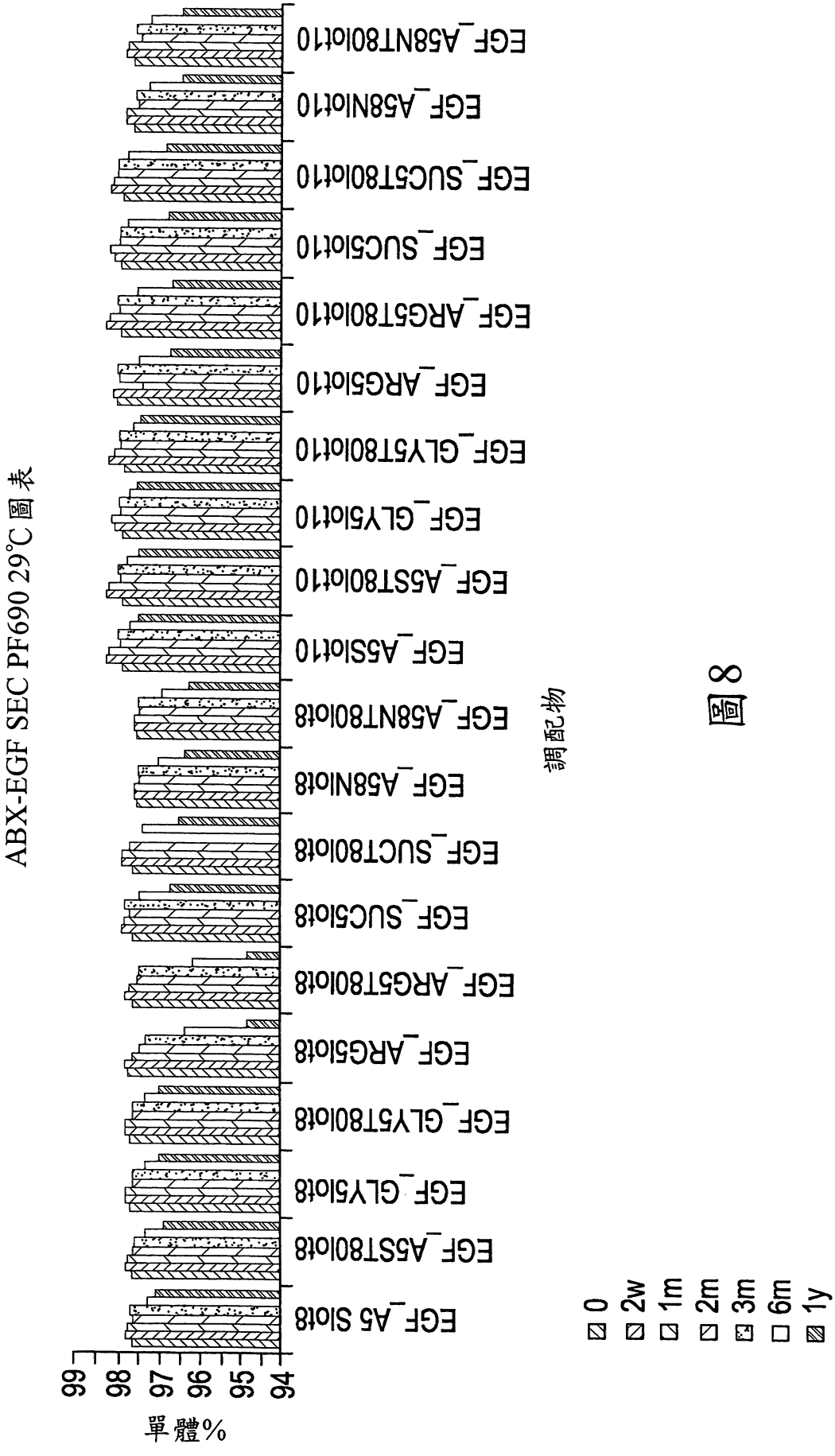
ABX-EGF SEC PF690 29℃ 圖表
單體%
99
98
97
96
95
94
調配物
EGF_A5 Slot8
EGF_A5ST80lot8
EGF_GLY5lot8
EGF_GLY5T80lot8
EGF_ARG5lot8
EGF_ARG5T80lot8
EGF_SUC5lot8
EGF_SUC5T80lot8
EGF_A58Nlot8
EGF_A58NT80lot8
EGF_A5Slot10
EGF_A5ST80lot10
EGF_GLY5lot10
EGF_GLY5T80lot10
EGF_ARG5lot10
EGF_ARG5T80lot10
EGF_SUC5lot10
EGF_SUC5T80lot10
EGF_A58Nlot10
EGF_A58NT80lot10
0
2w
1m
2m
3m
6m
1y

圖8

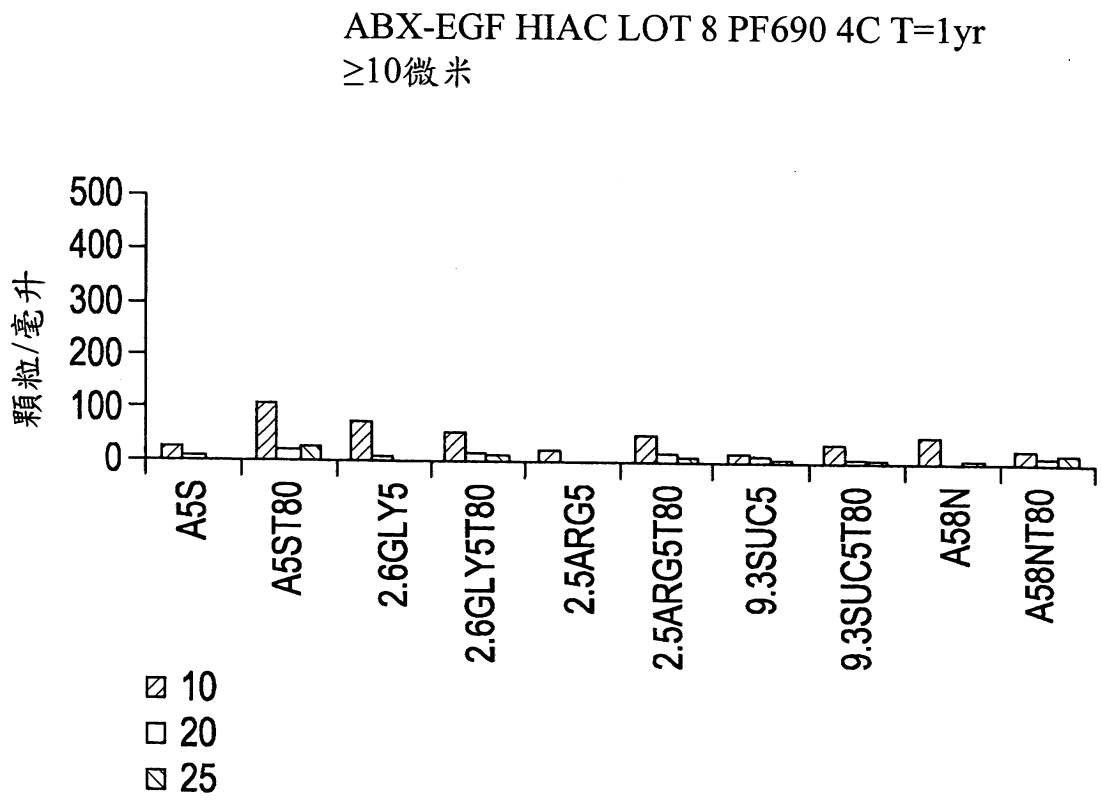
ABX-EGF HIAC LOT 8 PF690 4C T=1yr
≥10微米
500
400
300
200
100
0
顆粒/毫升
A5S
A5ST80
2.6GLY5
2.6GLY5T80
2.5ARG5
2.5ARG5T80
9.3SUC5
9.3SUC5T80
A58N
A58NT80
10
20
25

圖9

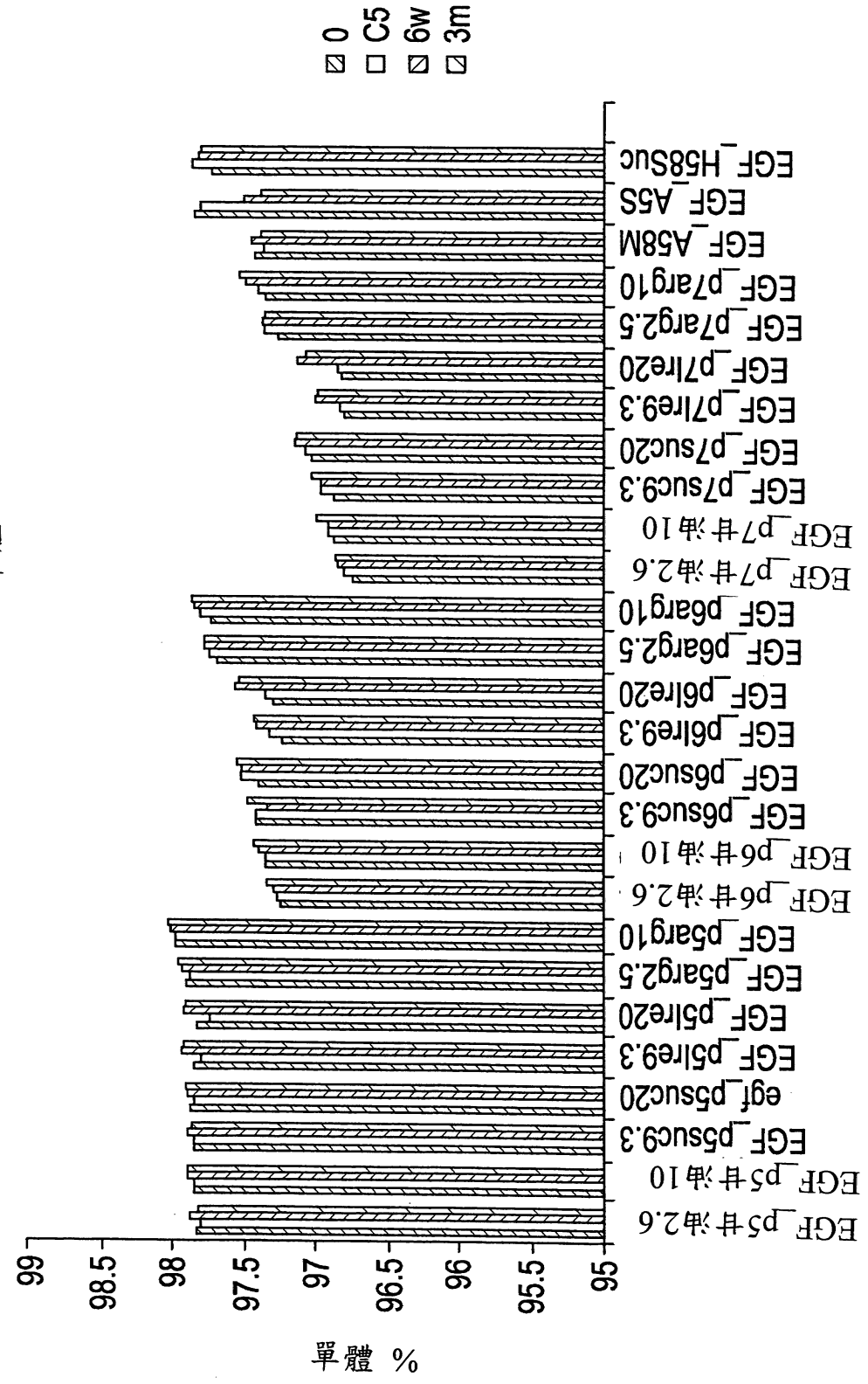
0
C5
6w
3m
PF-658 SEC 單體 %
99
98.5
98
97.5
97
96.5
96
95.5
95
單體 %
EGF_p5甘油2.6
EGF_p5甘油10
EGF_p5suc9.3
egf_p5suc20
EGF_p5lre9.3
EGF_p5lre20
EGF_p5arg2.5
EGF_p5arg10
EGF_p6甘油2.6
EGF_p6甘油10
EGF_p6suc9.3
EGF_p6suc20
EGF_p6lre9.3
EGF_p6lre20
EGF_p6arg2.5
EGF_p6arg10
EGF_p7甘油2.6
EGF_p7甘油10
EGF_p7suc9.3
EGF_p7suc20
EGF_p7lre9.3
EGF_p7lre20
EGF_p7arg2.5
EGF_p7arg10
EGF_A58M
EGF_A5S
EGF_H58Suc
調配物

圖10

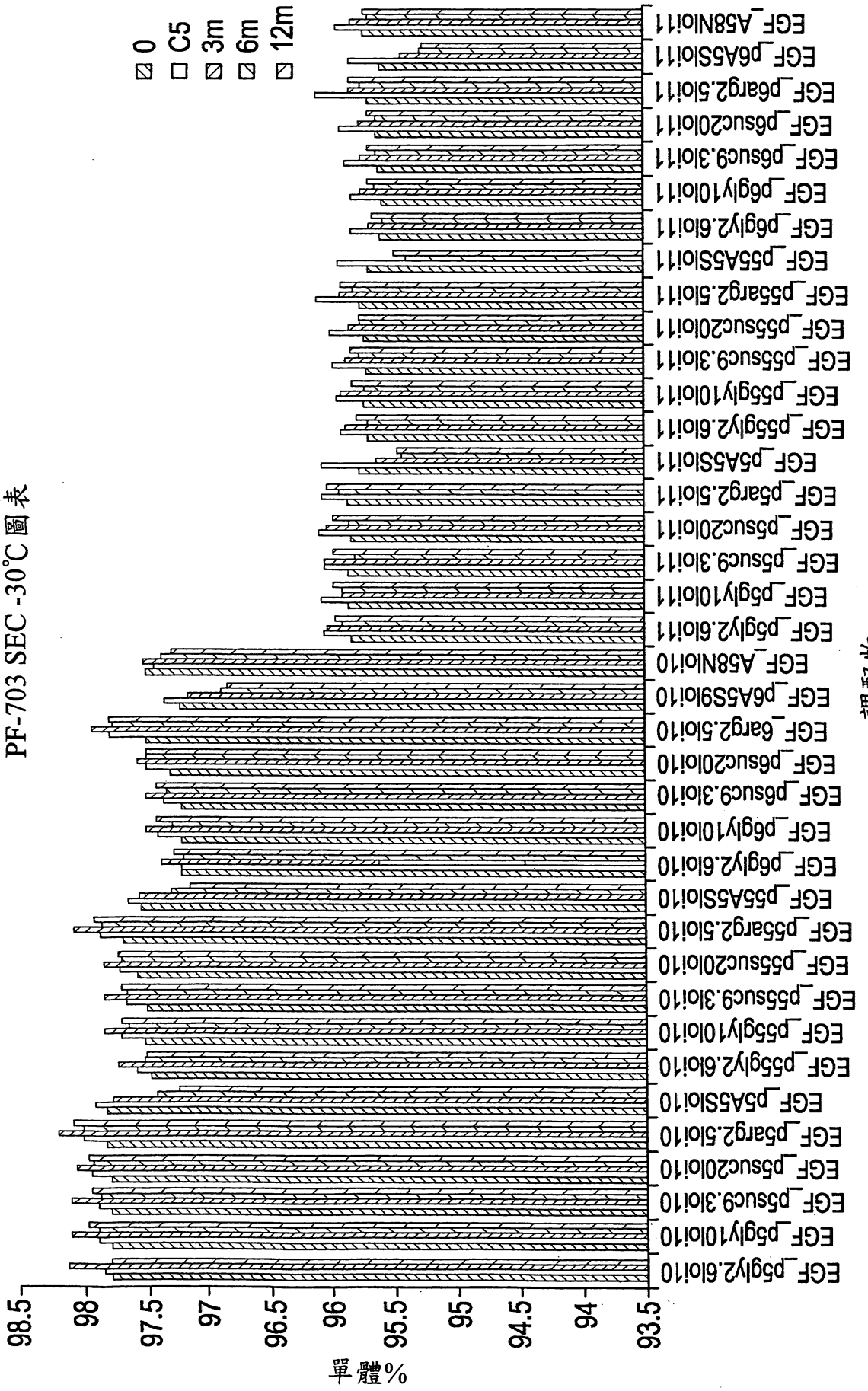
PF-703 SEC -30℃ 圖表
0
C5
3m
6m
12m
98.5
98
97.5
97
96.5
96
95.5
95
94.5
94
93.5
單體%
調配物
EGF_p5glyl0loi10
EGF_p5glyl0loi11
EGF_p5suc9.3loi10
EGF_p5suc9.3loi11
EGF_p5suc20loi10
EGF_p5suc20loi11
EGF_p5arg2.5loi10
EGF_p5arg2.5loi11
EGF_p5A5Sloi10
EGF_p5A5Sloi11
EGF_p5glyl0loi10
EGF_p5glyl0loi11
EGF_p5glyl2.6loi10
EGF_p5glyl2.6loi11
EGF_p6suc9.3loi10
EGF_p6suc9.3loi11
EGF_p6suc20loi10
EGF_p6suc20loi11
EGF_p6arg2.5loi10
EGF_p6arg2.5loi11
EGF_p6A5Sloi10
EGF_p6A5Sloi11
EGF_p6glyl0loi10
EGF_p6glyl0loi11
EGF_p6glyl2.6loi10
EGF_p6glyl2.6loi11
EGF_A58Nloi10
EGF_A58Nloi11

圖 11

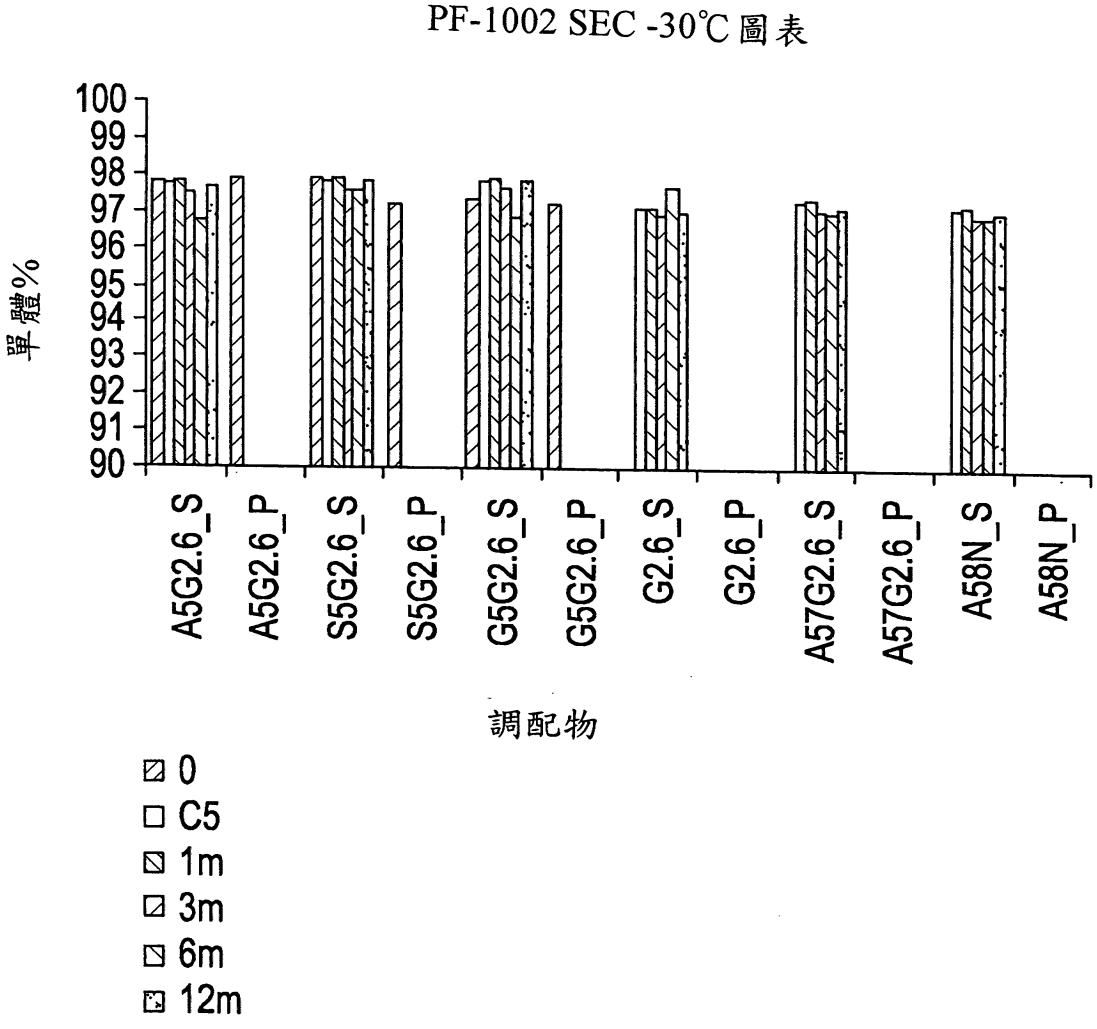
PF-1002 SEC -30℃圖表
單體%
100
99
98
97
96
95
94
93
92
91
90
A5G2.6_S
A5G2.6_P
S5G2.6_S
S5G2.6_P
G5G2.6_S
G5G2.6_P
G2.6_S
G2.6_P
A57G2.6_S
A57G2.6_P
A58N_S
A58N_P
調配物
0
C5
1m
3m
6m
12m

圖12

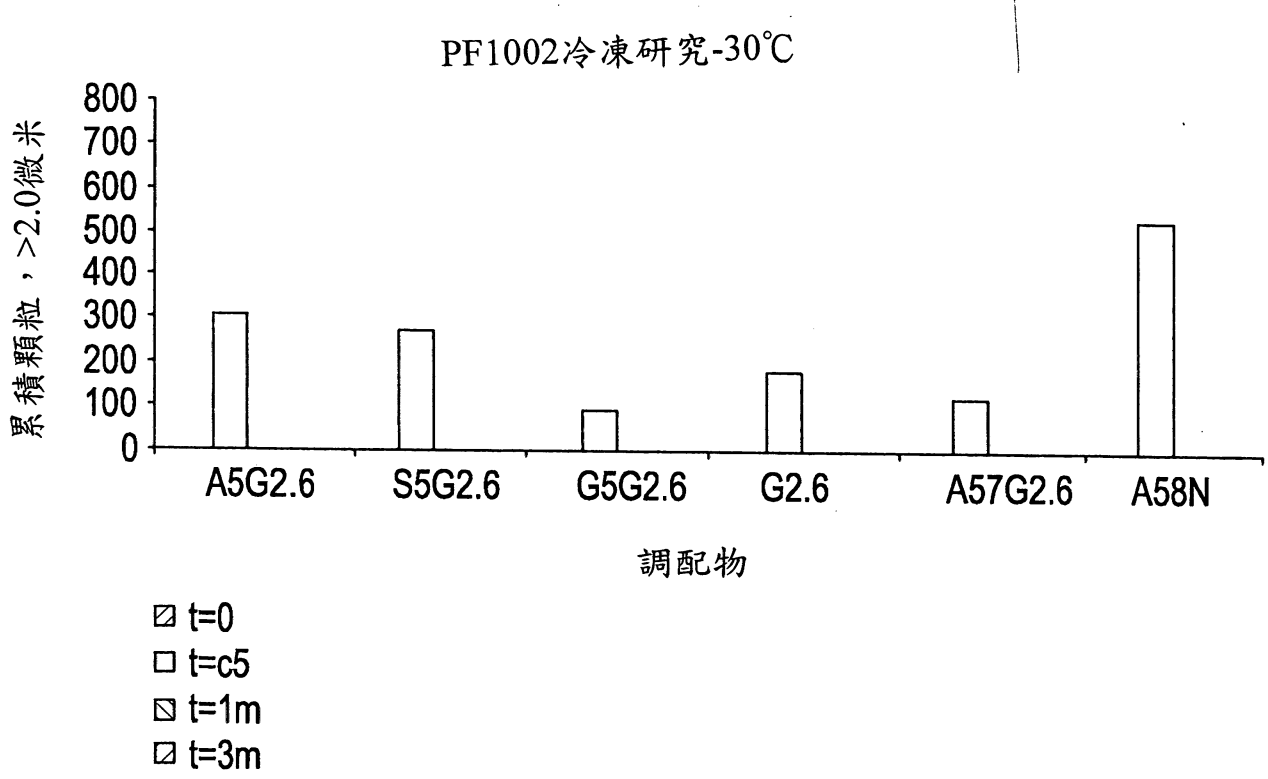
PF1002冷凍研究-30℃
累積顆粒，>2.0微米
800
700
600
500
400
300
200
100
0
A5G2.6
S5G2.6
G5G2.6
G2.6
A57G2.6
A58N
調配物
t=0
t=c5
t=1m
t=3m

圖13

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 2 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)