



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I871539 B

(45) 公告日：中華民國 114 (2025) 年 02 月 01 日

- (21) 申請案號：111142719 (22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 11 月 09 日
- (51) Int. Cl. : *A61K38/28 (2006.01)* *A61K47/04 (2006.01)*  
*A61K47/10 (2006.01)* *A61K9/08 (2006.01)*  
*A61P3/10 (2006.01)*
- (30) 優先權：2021/11/15 美國 63/279,390
- (71) 申請人：美商美國禮來大藥廠 (美國) ELI LILLY AND COMPANY (US)  
美國
- (72) 發明人：艾倫 大衛 保羅 ALLEN, DAVID PAUL (US)；比爾斯 約翰 麥可 BEALS, JOHN MICHAEL (US)；寇維立 文森 約翰 CORVARI, VINCENT JOHN (US)；唐納文 派翠克 丹尼爾 DONOVAN, PATRICK DANIEL (US)；錢 肯 康宜 QIAN, KEN KANGYI (US)；王薇 WANG, WEI (CN)
- (74) 代理人：陳長文
- (56) 參考文獻：  
US 2013/011378A1
- 審查人員：蔡明憲
- 申請專利範圍項數：33 項 圖式數：0 共 40 頁

(54) 名稱

可保存之調配物

(57) 摘要

本文描述胰島素-Fc 融合物之可保存之調配物。該等調配物包括胰島素-Fc 融合物，其具有長期藥物動力學及藥效學概況而足以在糖尿病治療中每週投與一次，且足夠穩定以允許儲存及使用而無不可接受之化學或物理穩定性損失。

Described herein are preserved formulations of insulin-Fc fusions. The formulations include insulin-Fc fusions having prolonged pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles sufficient for once weekly administration in the treatment of diabetes and are sufficiently stable to allow for storage and use without unacceptable loss of chemical or physical stability.



I871539

【發明摘要】

【中文發明名稱】

可保存之調配物

【英文發明名稱】

PRESERVED FORMULATIONS

【中文】

本文描述胰島素-Fc融合物之可保存之調配物。該等調配物包括胰島素-Fc融合物，其具有長期藥物動力學及藥效學概況而足以在糖尿病治療中每週投與一次，且足夠穩定以允許儲存及使用而無不可接受之化學或物理穩定性損失。

【英文】

Described herein are preserved formulations of insulin-Fc fusions. The formulations include insulin-Fc fusions having prolonged pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles sufficient for once weekly administration in the treatment of diabetes and are sufficiently stable to allow for storage and use without unacceptable loss of chemical or physical stability.

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

可保存之調配物

### 【英文發明名稱】

PRESERVED FORMULATIONS

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於胰島素-Fc融合物之可保存之調配物。該等調配物包括胰島素-Fc融合物，其具有足以在糖尿病治療中每週投與一次的長期藥物動力學及藥效學概況，且足夠穩定以允許儲存及使用而無不可接受之化學或物理穩定性損失。

### 【先前技術】

【0002】 糖尿病係一種以由胰島素分泌缺陷、胰島素作用缺陷或兩者所造成之高血糖症為特徵的慢性病症。1型糖尿病(T1D)之特徵在於極少或無胰島素分泌能力，且T1D患者需要胰島素療法維持存活。2型糖尿病(T2D)之特徵在於由胰島素分泌減弱、胰島素抗性、肝葡萄糖過量輸出及/或所有上述促成因素產生之血糖含量升高。在許多T2D患者中，疾病進展至需要胰島素療法。

【0003】 因為T1D患者產生極少或不產生胰島素，所以有效胰島素療法一般涉及使用兩種類型之外源投與之胰島素：由推注注射提供之速效餐時胰島素；及長效基礎胰島素，每天投與一次或兩次以控制兩餐之間的血糖含量。T2D患者之治療通常開始於規定的減重、運動及糖尿病性飲食，但當此等措施無法控制升高的血糖時，則可能需要口服藥物及基於腸泌素的療法。當此等藥物仍不足時，考慮用胰島素進行治療。疾病已進展

至需要胰島素療法之時刻的T2D患者通常以單次每日注射長效基礎胰島素開始。

**【0004】** 目前可用的基礎胰島素包括以商品名LANTUS®出售的甘精胰島素、以商品名LEVEMIR®出售的地特胰島素及以商品名TRESIBA®出售的德穀胰島素。此等胰島素各自經指定用於每天一次投與且以可保存之調配物形式獲取，該等調配物具有足夠的抗微生物效果以允許自單個容器或裝置投與多次劑量。

**【0005】** 涉及每日注射現有胰島素治療之治療方案可能為複雜的且對於投與較為疼痛，且可能導致非所需的副作用，諸如低血糖及體重增加。正在研究開發具有更長作用持續時間之胰島素產品；因此，需要的注射次數少於目前可用之胰島素產品，包括每週一次之較少注射頻率。

**【0006】** 一種類別之此類胰島素產品包含活化連接至抗體Fc區之胰島素受體的部分，在本文中稱為胰島素-Fc融合物。此類產品之實例描述於美國專利第9,855,318號中，其描述化合物及其調配物，包括包含酚類防腐劑間甲酚（其常用於胰島素產品）之調配物，包括上述每日一次之基礎胰島素。

**【0007】** 然而，已發現具有美國專利第9,855,318號及/或目前可獲得之胰島素產品中所描述之防腐劑濃度的胰島素-Fc融合物之調配物可引起不可接受之穩定性傾向。因此，需要具有防腐劑之新調配物，其提供足夠的抗微生物效果但不會引起不可接受之穩定性傾向。

#### **【發明內容】**

**【0008】** 本發明尋求滿足彼等需要。

**【0009】** 因此，在一個態樣中，本發明提供一種水性無菌醫藥組合

物，其包含：

- a) 胰島素-Fc融合物；
- b) 苯酚；
- c) 一或多種選自由苯氧基乙醇及苯甲醇組成之群的額外防腐劑；
- d) 張力劑；
- e) 界面活性劑；
- f) 緩衝液；及

具有在6至7.5之間的pH；且

其中該苯酚及一或多種額外防腐劑以允許至少12週之使用時段而無不可接受之穩定性損失的濃度存在。

**【0010】** 在另一態樣中，本發明提供一種水性無菌醫藥組合物，其包含：

- a) 濃度在5至30 mg/mL之間的基礎BIF；
- b) 濃度為1.5至4 mg/mL之苯酚；
- c) 濃度在4至14 mg/mL之間的苯甲醇；
- d) 濃度為15至35 mg/mL之甘油；
- e) 濃度為0.01至0.5 mg/mL之泊洛沙姆188；及
- f) 濃度為5至10 mM之磷酸鹽；

其中該組合物具有6至7.5之pH。

**【0011】** 在另一態樣中，本發明提供一種改善血糖控制之方法，其包含向有需要之人類投與有效劑量之本發明之水性無菌醫藥組合物。

**【0012】** 另外，本發明提供一種用於療法之本發明之水性無菌醫藥組合物。更特定言之，本發明提供一種用於改善血糖控制之醫藥組合物。

本發明亦提供一種醫藥組合物之用途，其用於製造改善血糖控制之藥劑。

【0013】 另外，本發明提供一種製品，其包含本發明之水性無菌醫藥組合物。更特定言之，在某些態樣中，製品為多次使用之小瓶、筒、可重複使用之筆式注射器、一次性筆式裝置、用於連續皮下胰島素輸注療法之泵裝置或用於連續皮下胰島素輸注療法之泵裝置的容器封閉系統。

#### 【實施方式】

【0014】 本申請案根據35 U.S.C. §119(e)主張2021年11月15日申請之美國臨時申請案序列號63/279,390之優先權，其揭示內容以引用之方式併入本文中。

【0015】 本發明係關於具有長期作用持續時間之胰島素-Fc融合物的可保存之調配物。胰島素-Fc融合物已描述於例如美國專利號9,855,318；CN103509118；WO2011/122921；US2015/0196643；WO2018/185131；WO2020/006529；WO2020/074544；WO2021126584；US20210300983；US2021/0324033；及US2021340212中。

【0016】 在某些較佳實施例中，胰島素-Fc融合物為美國專利第9,855,318號中所描述之化合物，被稱為基礎胰島素Fc (BIF)或胰島素efsitora  $\alpha$  (CAS註冊號2131038-11-2)。BIF包含與人類IgG Fc區融合之胰島素受體促效劑的二聚體，其中該胰島素受體促效劑包含經由使用第一肽連接子與胰島素A鏈類似物融合之胰島素B鏈類似物，且其中該胰島素A鏈類似物之C端殘基直接與第二肽連接子之N端殘基融合，且該第二肽連接子之C端殘基直接與人類IgG Fc區之N端殘基融合。BIF之各單體具有SEQ ID NO:1中所闡述之胺基酸序列：

FVNQHLCGSHLVEALELVCGGERGFHYGGGGGGSGGGGGIVEQCCTSTCSSL  
 DQLENYCGGGGGQGGGGQGGGGQGGGGGECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKP  
 KDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN  
 STFRVVSVLTVVHQQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ  
 VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPM  
 LDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID

NO:1)。各單體在位置7及44、19及57、43及48、114及174及220及278處之半胱胺酸殘基之間包含鏈內二硫鍵。兩個單體藉由在位置80及83處之半胱胺酸殘基之間的二硫鍵連接以形成二聚體。BIF之結構、功能及產生更詳細地描述於美國專利第9,855,318號中。

【0017】當在本文中使用时，術語「BIF」係指任何由兩種具有SEQ ID NO:1之胺基酸序列之單體構成的胰島素受體促效劑，包括作為尋求胰島素受體促效劑產品批准之監管提交文件主題的任何蛋白，該批准全部或部分依賴於禮來公司(Eli Lilly and Company)向監管機構提交之與BIF有關的資料，無論尋求該產品批准的一方是否實際上將胰島素受體促效劑確定為BIF或使用一些其他術語。

【0018】本發明組合物中之胰島素-Fc融合物濃度必須足以允許投與具有大範圍胰島素需求之T2DM及T1DM患者所需的胰島素劑量範圍。目前可用的適合每天一次給藥之基礎胰島素產品，諸如LANTUS (甘精胰島素)、TOUJEO (甘精胰島素)、TRESIBA (德穀胰島素)及LEVEMIR (地特胰島素)在100胰島素單位(IU) /mL至300 IU/mL濃度範圍內可用。在本發明之某些實施例中，胰島素-Fc融合物係以約100至約2000胰島素單位(IU) /mL之濃度範圍內存在。在某些實施例中，胰島素-Fc融合物以約250 IU/mL、500 IU/mL或1000 IU/mL之濃度存在。胰島素-Fc融合物之濃度亦可表示為質量/體積。例如，在其中胰島素-Fc融合物為BIF之某些實施例中，BIF之濃度在約5至30 mg/mL之間。在某些實施例中，BIF之濃度

係選自由7.15、14.3及28.6 mg/mL組成之群。

【0019】本發明之調配物在製造初始時為無菌的，然而當將組合物以多次使用之小瓶或筒提供時，添加與調配物之胰島素-Fc融合物及任何其他組分相容之足夠強度的抗微生物防腐劑，以滿足多次使用產品之監管及藥典抗微生物防腐劑要求。此等要求包括經設計以考驗防腐劑抑制或殺滅可能無意引入產品中微生物之能力的測試。美國藥典(USP) <51> 「抗微生物效果測試(Antimicrobial Effectiveness Testing)」及歐洲藥典(Ph. Eur. 或 EP) 5.1.3 「抗微生物防腐之效果(Efficacy of Antimicrobial Preservation)」中提供進行此等測試的指南。參見例如，Meyer, B.D.等人，*Antimicrobial preservative use in parenteral products: Past and present*. JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES 2007, 96, (12), 3155-3167；Moser, C.L., Meyer, B.K., *Comparison of compendial antimicrobial effectiveness tests: A review*. AAPS PHARM. SCI. TECH 2011, 12, (1), 222-226。

【0020】上文提及之驗收準則評估微生物計數在不同限定時間點之 $\log_{10}$ 減少且將彼等計數與初始時間零接種水平進行比較。例如，USP標準要求在7天時自初始細菌計數減少不小於1.0-log，在14天時自初始計數減少不小於3.0-log，且在28天時與14天計數相比無增加。EP B標準被EU監管機構視為強制性標準，且要求在24小時初始細菌計數至少減少1 log且在7天時減少3 log。由於其比USP標準更嚴格，任何符合EP B標準之調配物亦將符合USP <51>標準。EP A標準最為嚴格，要求在6小時減少2-log且在24小時減少3-log。許多防腐劑系統難以達到EP A標準，且經常為了達到EP A而添加之防腐劑對產品具有不利影響及/或處於認為更可達成對

患者有毒的水平。

【0021】 目前可用於皮下投與之治療性胰島素產品為多次使用之產品，且因此必須符合抗微生物效果之監管要求，包括USP及EP B標準。通常用於滿足彼等要求的防腐劑包括苯酚(CAS號108-95-2，分子式C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O，分子量94.11)及間甲酚(CAS號108-39-4，分子式C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O，分子量108.14)，如下表1中所列之產品。

產品	防腐劑	濃度
APIDRA® (賴麩胰島素) HUMALOG® (賴脯胰島素) LYUMJEV™ (賴脯胰島素-aabc)	間甲酚	3.15 mg/mL
HUMULIN® R (人類胰島素)	間甲酚	2.5 mg/mL
LANTUS® (甘精胰島素) BASAGLAR® (甘精胰島素)	間甲酚	2.7 mg/mL
FIASP® (門冬胰島素) NOVOLOG® (門冬胰島素) TRESIBA® (德穀胰島素)	間甲酚 苯酚	1.72 mg/mL 1.50 mg/mL
LEVEMIR® (地特胰島素)	間甲酚 苯酚	2.06 mg 1.80 mg

表1.市售胰島素產品中所使用之防腐劑之實例。

【0022】 然而，在如BIF之胰島素-Fc融合物之調配物中，彼等濃度之間甲酚及苯酚導致蛋白沈澱，且因此無法用於提供足夠的抗微生物功效來滿足USP及EP之要求。本發明之調配物因此依賴於使用不同防腐劑：苯氧基乙醇(CAS編號122-99-6，分子式C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>，分子量138.16 g/mol)及/或苯甲醇(CAS編號100-51-6，分子式C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O，分子量108.14 g/mol)。特定言之，已發現，經由使用某些濃度之苯酚與苯甲醇及/或苯氧基乙醇組合，在BIF之所需pH值範圍內的調配物中可滿足抗微生物效果標準而不會引起不可接受的物理穩定性損失。

【0023】 本發明調配物中苯酚及苯甲醇及/或苯氧基乙醇之濃度必須足以確保調配物符合USP及EP B指導文件中闡述之非經腸產品的最低無菌

要求。當在本文中使用时，術語「無菌」係指滿足彼等最低無菌要求之調配物。

**【0024】** 然而，此等防腐劑之濃度不必過高以致引起胰島素-Fc融合蛋白出現不可接受的物理或化學穩定性問題。本發明之組合物足夠穩定以允許儲存及使用數週(在本文中稱為「使用」時段)而無不可接受的穩定性損失。在某些實施例中，組合物足夠穩定以允許使用時段達至少12週。在某些實施例中，組合物足夠穩定以允許在冷藏下使用時段達12週，在30°C下使用時段達2週。在某些實施例中，組合物足夠穩定以允許在25°C下使用時段達8週。在某些實施例中，組合物足夠穩定以允許在25°C下使用時段達12週。在某些實施例中，組合物足夠穩定以允許在30°C下使用時段達8週。在某些實施例中，組合物足夠穩定以允許在30°C下使用時段達12週。

**【0025】** 就苯酚而言，一些多劑量非經腸藥品使用5 mg/mL苯酚作為防腐劑，但發現濃度導致BIF調配物中之蛋白沈澱，因此濃度必須小於5 mg/mL。在本發明之某些實施例中，苯酚之濃度在1.5至4 mg/mL範圍內。在本發明之某些實施例中，苯酚之濃度為約1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9或4.0 mg/mL。在某些較佳實施例中，苯酚之濃度在1.8至3.5 mg/mL範圍內。在某些較佳實施例中，苯酚之濃度為約1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4或3.5 mg/mL。在某些較佳實施例中，苯酚之濃度為約1.8、2、2.5、3或3.5 mg/mL。在尤其較佳實施例中，苯酚之濃度為約1.8 mg/mL。應注意，由於其物理特性，苯酚通常以90%水溶液

形式添加至水性組合物，諸如本文所描述之彼等組合物中。例如，在下文所描述之許多研究中，苯酚作為「苯酚，液化，蒸餾」添加，其為90%苯酚及10%水。在彼等研究中，所列苯酚濃度係指添加至組合物中之90%溶液的濃度。因此，用2 mg/mL之90%苯酚溶液製備之組合物中的絕對苯酚含量將為1.8 mg/mL。除非另外說明，否則例如在下文描述之使用90%苯酚溶液的研究中，包含於本發明之組合物中之苯酚的濃度係指絕對苯酚含量。

**【0026】** 本發明之調配物中苯氧基乙醇或苯甲醇之濃度視苯酚之濃度而定，但必須以足以使調配物在所需pH下無菌的濃度存在。例如，在某些實施例中，在pH 6.5下，9 mg/mL苯氧基乙醇不足以在不存在苯酚之情況下通過EP B標準，但當與低至1.8 mg/mL之苯酚濃度組合時，低至4 mg/mL之濃度可用於通過EP B標準。類似地，在某些實施例中，9 mg/mL苯甲醇甚至不足以通過USP標準，但當與1.8 mg/mL苯酚組合使用時，低至5 mg/mL之濃度可通過USP標準。

**【0027】** 在某些實施例中，苯氧基乙醇之濃度在4 mg/mL至14 mg/mL範圍內。在某些實施例中，苯氧基乙醇之濃度為約4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14 mg/mL。在某些較佳實施例中，苯氧基乙醇之濃度為約4或約8 mg/mL。

**【0028】** 在某些實施例中，苯甲醇之濃度在5至10 mg/mL範圍內。在某些實施例中，苯甲醇之濃度為約5、6、7、8、9或10 mg/mL。在某些較佳實施例中，苯甲醇之濃度為約9 mg/mL。

**【0029】** 本發明之調配物之pH在5.5至7.5範圍內，在某些實施例中pH為約5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、

6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4或7.5。在某些實施例中，pH在6至7範圍內。在某些實施例中，pH為約6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9或7.0。較佳地，本發明之調配物之pH至少在胰島素-Fc融合物之PI處。對於包含BIF之調配物，pH較佳為至少約6.1。在包含BIF之某些實施例中，pH在6.2至7.4範圍內。在包含BIF之某些實施例中，pH在6.2至6.9範圍內。在包含BIF之某些實施例中，pH在6.3至6.8範圍內。在包含BIF之尤其較佳實施例中，pH為約6.5。

【0030】視需要，可包括緩衝劑。此類緩衝劑之實例為磷酸鹽，諸如磷酸氫二鈉、檸檬酸鹽、乙酸钠及三(羥基甲基)胺基甲烷或TRIS。若需要緩衝化合物，則檸檬酸鹽或磷酸鹽緩衝液為較佳的。在某些實施例中，本發明之組合物包括濃度在5至10 mM範圍內之檸檬酸鹽緩衝液。在某些實施例中，本發明之組合物包括濃度在5至10 mM範圍內之磷酸鹽。在某些較佳實施例中，本發明之組合物包括濃度為約5、6、7、8、9或10 mM之磷酸鹽。在某些較佳實施例中，本發明之組合物包括濃度為約5 mM或約10 mM之磷酸鹽。

【0031】當投與組合物時，期望儘可能接近地大致匹配注射部位處之體液之張力(亦即，重量莫耳滲透濃度)，因為與體液非近似等張之溶液在投與時可能產生疼痛性刺痛感。因此，期望組合物與注射部位處之體液近似地等張。若在張力劑不存在之情況下，組合物之重量莫耳滲透濃度足以小於組織之重量莫耳滲透濃度(對於血液，為約300 mOsmol/kg；歐洲藥典對重量莫耳滲透濃度之要求為>240 mOsmol/kg)，則一般應添加張力劑以使組合物之張力升高至約300 mOsmol/kg。組合物之重量莫耳滲透濃度藉由組合物中其他賦形劑(包括穩定劑)之特性及濃度確定。因此，必須

評估組合物中所有各種賦形劑之濃度以確定是否必須添加張力劑，且此類評估及確定可輕易地使用標準技術進行。參見Remington: The Science and Practice of Pharmacy, David B. Troy及Paul Beringer編, Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 第257-259頁；Remington: Essentials of Pharmaceutics, Linda Ed Felton, Pharmaceutical Press, 2013, 第277-300頁。典型張力劑包括丙三醇(甘油)、甘露醇及氯化鈉。若需要添加張力劑，則甘油為較佳的。在某些實施例中，丙三醇之濃度為約10至約50 mg/mL。在某些實施例中，丙三醇之濃度為約15至約35 mg/mL。在某些實施例中，丙三醇之濃度係選自由約15、17、20、21及35 mg/mL組成之群。在某些較佳實施例中，甘油之濃度為約17 mg/mL。

**【0032】** 本發明組合物亦可包括其他賦形劑，包括穩定劑，諸如界面活性劑。用於非經腸醫藥組合物中所揭示之界面活性劑之實例包括聚山梨醇酯，諸如聚山梨醇酯20 (TWEEN® 20)及聚山梨醇酯80 (TWEEN 80)；聚乙二醇，諸如PEG 400、PEG 3000、TRITON™ X-100；聚乙二醇，諸如聚氧化乙烯(23)月桂基醚(CAS編號：9002-92-0，以商品名BRIJ®出售)；烷氧基化脂肪酸，諸如MYRJ™；聚丙二醇；嵌段共聚物，諸如泊洛沙姆188 (CAS編號9003-11-6，以商品名PLURONIC® F-68出售)及泊洛沙姆407 (PLURONIC® F127)；脫水山梨糖醇烷基酯(例如SPAN®)；聚乙氧基化蓖麻油(例如KOLLIPHOR®、CREMOPHOR®)及海藻糖及其衍生物，諸如海藻糖月桂酸酯。

**【0033】** 在某些實施例中，組合物包含選自由聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80及泊洛沙姆188組成之群的界面活性劑。最佳為泊洛沙姆188。在某些實施例中，界面活性劑之濃度在0.01至10 mg/mL或0.1至0.5

mg/mL範圍內。在其中界面活性劑為泊洛沙姆188之較佳實施例中，泊洛沙姆188之濃度為約0.4 mg/mL。

【0034】 在某些實施例中，本發明組合物係以製品提供，諸如多次使用之小瓶、筒、可重複使用之筆式注射器、一次性筆式裝置、用於連續皮下胰島素輸注療法之泵裝置或用於連續皮下胰島素輸注療法之泵裝置的另一容器封閉系統。在某些實施例中，組合物提供於可重複使用之筆式注射器中，其可用於提供可以特定增量調節之可變劑量的胰島素。例如，在某些實施例中，此類筆式注射器包含1500單位胰島素且可以5單位增量調節以在單次注射中遞送至多400單位之劑量。在其他實施例中，此類筆式注射器包含3000單位胰島素且可以10單位增量調節以在單次注射中遞送至多800單位之劑量。

【0035】 如本文所使用，術語「約」意欲指鑒於量測之性質或精確度，所指定之量或數量之可接受誤差程度。例如，誤差程度可藉由量測所提供之有效數字之數目指定，如此項技術中所理解，包括但不限於所報告之量或數量之最精確有效數字之 $\pm 1$ 的變化。典型例示性誤差程度在指定值或值範圍之20百分比(%)內，較佳在10%內，且更佳在5%內。除非另外說明，否則本文中給出之數值數量為近似值，意謂當不明確地陳述時可推斷術語「約」。

### 【0036】

#### 實例

#### 在防腐劑存在下之構形穩定性

當與各種酚類防腐劑一起調配時，對BIF之構形穩定性進行研究。組合物闡述於下表2中。

樣品	溶劑	BIF (mg/mL)	間甲酚 (mg/mL)	苯酚 (mg/mL)	苯甲醇 (mg/mL)	溶液之 pH值
1	水	2	-	-	-	-
2	水	2	3.15	-	-	~6.5
3	水	-	3.15	-	-	-
4	水	2	-	5	-	~6.5
5	水	-	-	5	-	-
6	水	2	-	-	9	~6.5
7	水	-	-	-	9	-

表2.對照物及樣品組合物。

【0037】 進行外源性螢光量測以評估BIF之構形穩定性。諸如1-苯胺基萘-8-磺酸酯(ANS)之外源性螢光染料在水性環境中極少發螢光，但在極性有機溶劑中變得極易發螢光。此等螢光染料已用於偵測疏水性斑塊在蛋白表面上之暴露且提供關於蛋白摺疊及展開過程之資訊。參見例如，Hawe, A. 等人，*Extrinsic fluorescent dyes as tools for protein characterization*. PHARMACEUTICAL RESEARCH 2008, 25 (7), 1487-1499。外源性螢光方法為使用Bis-ANS螢光探針量測溶液中蛋白之表面疏水性的基於盤之方法。使用SpectraMax i3x多模式微量盤讀取器(Molecular Devices, San Jose, USA)量測螢光光譜。將樣品置於黑色聚丙烯96孔康寧半面積平盤中。將大約100  $\mu$ L含有5  $\mu$ M染料之樣品組合物轉移至各孔中且在25 $^{\circ}$ C下進行量測。激發波長( $\lambda_{EX}$ )為390 nm，且發射光譜自420 nm掃描至600 nm，步長為2 nm。

【0038】 含BIF組合物之峰值螢光信號提供於下表3中。

樣品	峰值螢光強度(a.u.)
1	24066400
2	33857500
4	33108600
6	27998820

表3.峰值ANS螢光強度量測。

【0039】 如表3中所示，在不存在任何防腐劑之情況下，偵測到一

些螢光，表明BIF之表面上存在疏水性斑塊，即使在其天然摺疊狀態下亦是如此。一旦添加防腐劑，螢光強度便增加。在BIF不存在之情況下，Bis-ANS及防腐劑不產生任何螢光信號。因此，所觀測到之強度係由於BIF與防腐劑分子之間的相互作用及由此產生之蛋白部分展開，其導致更多疏水性斑塊之暴露。

【0040】此外，螢光信號之強度與防腐劑之疏水性相關，其中間甲酚之疏水性最強且產生的信號最強，接著為苯酚及苯甲醇。在三種防腐劑中，苯甲醇之疏水性最弱，誘導對BIF構形之擾動最小。

#### 【0041】

#### 在目前可用之胰島素產品中所用之防腐劑存在情況下的物理穩定性

在pH 6.5下製備之調配物含有28.6 mg/mL BIF及某些濃度之間甲酚及/或苯酚，該等調配物已用於以多劑量形式出售之胰島素產品。將調配物填充至玻璃瓶中，在室溫下儲存且藉由目視檢查進行測試。結果提供於下表4中：

調配物編號	防腐劑	外觀
1	3.15 mg/mL間甲酚	沈澱
2	5 mg/mL苯酚	沈澱
3	9 mg/mL苯甲醇及3.5 mg/mL苯酚	澄清
4	14 mg/mL苯氧基乙醇及3.5 mg/mL苯酚	澄清

表4.隨防腐劑變化之物理外觀觀測結果。

【0042】調配物1-2各自導致BIF藥物物質之沈澱，表明物理不穩定性。調配物3及4保持澄清，表明BIF藥物物質保持物理穩定。

#### 【0043】

#### 隨pH而變化之穩定性

在不同緩衝液基質及pH條件下對2 mg/mL BIF調配物進行生物物理

可開發性/高產量概況研究。使用差示掃描熱量測定(DSC)量測熔融溫度  $T_m$  之起始點( $T_{m, 起始點}$ )。  $T_{m, 起始點}$  為摺疊蛋白開始失去其天然構形之溫度，亦即  $T_{m, 起始點}$  越高，蛋白越不容易變性。結果提供於下表5中。

BIF (mg/mL)	緩衝液	NaCl (mM)	pH	$T_{m, 起始點}(^{\circ}\text{C})$
2	檸檬酸鹽, 10 mM	25	5.5	60.29
			6.0	63.58
			6.5	65.61
			7.0	66.32
		150	5.5	59.59
			6.0	62.78
			6.5	64.76
			7.0	65.41
	磷酸鹽, 10 mM	25	6.0	62.86
			6.5	64.06
			7.0	66.39
			7.5	66.90
150	6.0	63.36		
	6.5	64.42		
	7.0	65.79		
	7.5	66.11		

表5. DSC  $T_{m, 起始點}$  溫度隨緩衝液、離子強度及pH變化。

【0044】 隨著溶液pH自5.5增加至7.5，無論緩衝液類型或離子強度如何， $T_{m, 起始點}$  都會相應增加。

【0045】 亦在低於及高於其  $pI \approx 6.1$  之pH值條件下對含有及不含有防腐劑之BIF的膠體穩定性進行研究。在檸檬酸鹽緩衝液中製備之BIF藥物物質用於使用1.5 N檸檬酸或1 N NaOH 進行pH滴定。

【0046】 目視檢查組合物之乳光，其被視為可能存在之液體-液相分離的前兆。Raut, A. S.; Kalonia, D. S., *Pharmaceutical perspective on opalescence and liquid-liquid phase separation in protein solutions. Molecular Pharmaceutics* 2016, 13 (5), 1431-1444。含有及不含有防腐劑之組合物在pH接近藥物物質  $pI$  時均呈現乳白色且在pH高於  $pI$  時變得澄清。

【0047】 此等研究顯示BIF在構形及膠體穩定性方面傾向於高於其pI之pH。

【0048】

防腐劑濃度及抗微生物功效

研究經設計以研究包含不同濃度之苯氧基乙醇及苯甲醇(含有或不含有苯酚)之用於抗微生物功效之BIF藥品的調配物。用於製備組合物之材料確認於下表7中。

材料	CAS #	供應商
BIF藥物物質	n/a	Eli Lilly
甘油，合成	56-81-5	Eli Lilly
泊洛沙姆188	9003-11-6	BASF
苯氧基乙醇	122-99-6	A & C American Chemicals
苯甲醇	100-51-6	Avantor
苯酚，液化，蒸餾 <sup>a</sup>	108-95-2	Eli Lilly

表7.成分資訊<sup>a</sup>「苯酚，液化，蒸餾」為90%苯酚及10%水。

【0049】 含有BIF及苯酚與苯氧基乙醇或苯甲醇之混合物的組合物如下表8及表9中所描述來製備。

#	組合物(mg/mL，或以其他方式陳述)						pH
	BIF	溶劑	甘油	泊洛沙姆 188	防腐劑		
					苯氧基乙醇	苯酚	
1	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	14	-	6.5
2	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	13	-	6.5
3	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	12	-	6.5
4	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	11	-	6.5
5	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	10	-	6.5
6	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	9	-	6.5
7	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	4	3.5	6.5

8	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	4	2.5	6.5
9	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	4	2	6.5
10	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	4	1.5	6.5
11	45	5 mM檸檬酸鹽	35	0.4	4	1	6.5
12	30	水	20	0.4	4	3	7.5
13	30	水	20	0.4	4	3	7

表8.含有苯氧基乙醇及液化苯酚之BIF藥品。

#	組合物(mg/mL, 或以其他方式陳述)						pH
	BIF	溶劑	甘油	泊洛沙姆 188	防腐劑		
					苯甲醇	苯酚	
14	30	水	20	0.4	9	-	7.5
15	30	水	20	0.4	9	-	7
16	30	水	20	0.4	9	-	6.5
17	30	水	20	0.4	9	3.5	7.5
18	30	水	20	0.4	9	3	7.5
19	30	水	20	0.4	9	2.5	7.5
20	30	水	20	0.4	9	2	7.5
21	30	水	20	0.4	7	2	7.5
22	30	水	20	0.4	5	2	7.5
23	30	水	14	0.4	8	2	7
24	30	水	14	0.4	8	2	6.5

表9.含有苯甲醇及液化苯酚之BIF藥品

【0050】 將大約150 mL溶液經由0.22- $\mu$ m PVDF過濾器過濾且立即轉移至經滅菌之玻璃容器。將樣品儲存在5°C下直至進行抗微生物功效測試。

【0051】 AET係藉由用各種微生物之純培養物接種測試溶液來進行，以代表常見潛在微生物污染物。特定言之，用USP<51>及EP 5.1.3中所列之以下微生物接種溶液：巴西麴黴(*Aspergillus brasiliensis*)孢子、白色念珠菌(*Candida albicans*)、大腸桿菌(*Escherichia coli*)、銅綠假單胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)及金黃色葡萄球菌(*Staphylococcus*

*aureus*)。將經接種之溶液在受控室溫(20°C至25°C)下儲存於冷藏培養箱中。接種小瓶中之活細胞濃度係藉由接種後最初、6小時、24小時、7天、14天及28天時之盤計數來測定。將結果與EP 5.1.3及USP<51>中所闡述之驗收標準相比，且確定調配物通過或未通過各測試標準。EP「A」標準被視為最嚴格的，接著為EP「B」標準，且隨後為USP標準。本研究之目標為確定符合EP B及USP標準之BIF藥品調配物。

【0052】含有苯氧基乙醇之組合物的結果提供於下表10中：

樣品編號	苯氧基乙醇 (mg/mL)	苯酚 (mg/mL)	pH	EP B	USP
1	14	-	6.5	通過	通過
2	13	-	6.5	通過	通過
3	12	-	6.5	通過	通過
4	11	-	6.5	通過	通過
5	10	-	6.5	通過	通過
6	9	-	6.5	未通過	通過
7	4	3.5	6.5	通過	通過
8	4	2.5	6.5	通過	通過
9	4	2	6.5	通過	通過
10	4	1.5	6.5	未通過	通過
11	4	1	6.5	未通過	未通過
12	4	3	7.5	通過	通過
13	4	3	7.0	通過	通過

表10.含有苯氧基乙醇及液化苯酚之BIF藥品的AET結果。

【0053】如表10中所示，苯氧基乙醇本身可為有效防腐劑。在10 mg/mL或更高之濃度下，符合EP B及USP標準。此外，4 mg/mL苯氧基乙醇及2 mg/mL或更高之液化苯酚的組合亦能夠符合EP B及USP標準。最後，在整個pH範圍內均符合EP B及USP標準。

【0054】含有苯甲醇之組合物的結果提供於下表11中。

調配物編號	苯甲醇 (mg/mL)	苯酚 (mg/mL)	pH	EP A	EP B	USP
14	9	-	7.5	未通過	未通過	未通過
15	9	-	7.0	未通過	未通過	未通過
16	9	-	6.5	未通過	未通過	未通過

17	9	3.5	7.5	通過	通過	通過
18	9	3	7.5	通過	通過	通過
19	9	2.5	7.5	通過	通過	通過
20	9	2	7.5	通過	通過	通過
21	7	2	7.5	未通過	通過	通過
22	5	2	7.5	未通過	未通過	通過
23	8	2	7.0	未通過	通過	通過
24	8	2	6.5	未通過	通過	通過

表11.含有苯甲醇及液化苯酚之BIF藥品的AET結果。

【0055】如表11中所見，含有9 mg/mL之苯甲醇及無苯酚之溶液不符合EP B及USP標準，可能由於pH範圍高於苯甲醇之最佳範圍。參見Meyer, B.D., 等人, *Antimicrobial preservative use in parenteral products: Past and present*. JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES 2007, 96, (12), 3155-3167。然而，當與苯酚組合時，在BIF藥品之整個pH範圍內的溶液均符合USP標準及-除含有最低測試濃度之苯甲醇及苯酚之調配物外-EP B標準。此外，出人意料地，含有9 mg/mL苯甲醇及不同濃度液化苯酚之調配物符合較嚴格的EP A標準。

### 【0056】

#### 防腐劑比較-化學及物理穩定性

研究經設計以測試含有苯酚與苯氧基乙醇或苯甲醇之組合的兩種BIF調配物之物理及化學穩定性。所用藥物物質及賦形劑列於下表12中。

材料	CAS #	供應商
BIF藥物物質(120 mg/mL)	n/a	Eli Lilly
單水合磷酸二氫鈉	10049-21-5	Eli Lilly
七水合磷酸氫二鈉	7782-85-6	Eli Lilly
甘油，合成	56-81-5	Eli Lilly
泊洛沙姆188	9003-11-6	BASF
苯氧基乙醇	122-99-6	A & C American Chemicals
苯甲醇	100-51-6	Avantor
苯酚，液化，蒸餾 <sup>a</sup>	n/a	Eli Lilly
NaOH, 1 N	n/a	Fisher Scientific
水，純化	n/a	GE/Hospira

表12.成分資訊<sup>a</sup>：「苯酚，液化，蒸餾(QA205HV1E)」為90%苯酚及10%水。

【0057】製備包含50 mg/mL BIF及緩衝液的溶液，該緩衝液包含單水合磷酸二氫鈉及七水合磷酸氫二鈉之組合，得到5 mM磷酸鹽及如下表13中所示之其他組分的緩衝液強度。

	甘油	泊洛沙姆 188	苯氧基乙醇	苯甲醇	苯酚 <sup>a</sup>	pH
1	20	0.4	4	-	3	6.4
2	20	0.4	4	-	3	6.7
3	20	0.4	4	-	3	7.0
4	15	0.4	-	8	2	6.4
5	15	0.4	-	8	2	6.7
6	15	0.4	-	8	2	7.0

表13.含有苯酚及苯氧基乙醇或苯甲醇之BIF藥品的組合物：純化水用作溶劑；<sup>a</sup>：研究中所列之「苯酚」為「苯酚、液化、蒸餾」，其為90%苯酚及10%水。<sup>c</sup>：在配料混合期間使用1 N NaOH將pH調節至目標pH。

【0058】溶液經由0.22- $\mu$ m PVDF過濾器過濾且立即轉移至經滅菌之玻璃容器，且隨後填充至5 mL玻璃小瓶中。小瓶加蓋且在5°C、25°C及30°C下儲存至多六個月。提供樣品用於測試，其不同穩定性指示在不同時間點之分析。

【0059】結果提供於下表14至表19中。

溫度 (°C)	時間(月)	1	2	3	4	5	6
5	0	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	1	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	2	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	3	6.4	6.7	7.0	6.4	6.7	7.0
	6	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
25	0	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	1	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	2	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	3	6.4	6.7	6.9	6.4	6.6	7.0
	6	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9

30	0	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	1	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	7.0
	2	6.4	6.6	6.9	6.4	6.6	6.9
	3	6.4	6.7	6.9	6.3	6.6	6.9

表14. BIF藥品調配物之pH。

溫度 (°C)	時間 (月)	單體(%)						總聚集體(%)					
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-1	-2	-3	-4	-5	-6
5	0	98.5	98.2	98.0	98.5	98.2	97.8	1.5	1.7	2.0	1.5	1.7	2.2
	1	98.5	98.2	98.0	98.5	98.2	97.8	1.5	1.8	2.0	1.5	1.8	2.2
	2	98.2	98.2	97.9	98.3	98.2	97.8	1.8	1.8	2.1	1.7	1.8	2.2
	3	98.3	98.2	97.9	98.3	98.1	97.8	1.7	1.8	2.0	1.7	1.9	2.2
	6	98.2	98.0	97.9	98.2	98.0	97.6	1.8	2.0	2.1	1.8	2.0	2.4
25	0	98.5	98.2	98.0	98.5	98.2	97.8	1.5	1.7	2.0	1.5	1.7	2.2
	1	98.1	98.0	97.9	98.1	98.0	97.7	1.9	2.0	2.1	1.9	2.0	2.2
	2	98.7	97.7	97.6	97.7	97.7	97.5	2.2	2.3	2.3	2.2	2.3	2.5
	3	98.6	97.6	97.4	97.6	97.5	97.3	2.3	2.4	2.4	2.4	2.4	2.5
	6	98.9	97.1	97.0	97.0	96.9	96.9	3.0	2.8	2.8	2.9	3.0	2.9
30	0	98.5	98.2	98.0	98.5	98.2	97.8	1.5	1.7	2.0	1.5	1.7	2.2
	1	98.8	97.8	97.6	97.9	97.7	97.5	2.2	2.2	2.3	2.1	2.2	2.4
	2	98.3	97.1	97.2	97.3	97.1	97.0	2.6	2.7	2.7	2.6	2.8	2.9
	3	98.8	96.9	97.0	96.7	96.9	96.8	3.0	2.9	2.8	3.2	3.0	3.0

表15. 藉由SEC之BIF單體及總聚集體。

批次 編號	1個月(部分/mL)											
	5 °C				25 °C				30 °C			
	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm
1	111	30	9	3	115	29	8	1	297	81	24	1
2	160	37	9	0	167	37	11	1	135	38	7	0
3	195	66	20	1	239	83	25	3	154	36	9	0
4	172	49	21	1	306	86	26	3	171	53	19	2
5	193	63	14	1	141	46	7	1	163	40	9	1
6	162	55	13	2	111	35	9	1	91	30	7	1
批次 編號	2個月(部分/mL)											
	5 °C				25 °C				30 °C			
	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm
1	747	273	87	8	282	62	12	1	389	112	31	3
2	144	46	9	1	190	53	14	1	248	69	18	1
3	297	103	50	19	171	52	13	0	305	101	35	9
4	418	112	44	7	91	34	15	1	292	67	16	0
5	227	65	25	5	104	30	9	3	356	97	28	4
6	158	64	29	9	141	45	13	2	139	48	11	0
批次 編號	3個月(部分/mL)											
	5 °C				25 °C				30 °C			
	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm	≥ 2 µm	≥ 5 µm	≥ 10 µm	≥ 25 µm

	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$
1	158	47	14	3	281	67	26	6	605	145	35	5
2	156	47	22	6	241	101	48	21	285	87	39	12
3	147	31	4	1	215	60	19	4	195	61	19	5
4	469	144	54	6	369	113	57	15	499	180	87	42
5	210	87	51	23	151	40	11	0	375	114	48	11
6	138	77	56	23	185	62	24	6	246	94	49	16

表16. 藉由HIAC之BIF藥品調配物之亞可見顆粒物質。

批次 編號	1個月(部分/mL)											
	5 °C				25 °C				30 °C			
	> 2 $\mu\text{m}$	$\geq 5$ $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF	> 2 $\mu\text{m}$	> 5 $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF	> 2 $\mu\text{m}$	> 5 $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF
1	550	108	23	0.22	648	42	35	0.84	1246	113	37	0.32
2	233	52	13	0.26	242	63	18	0.29	232	52	23	0.45
3	400	118	37	0.31	340	67	48	0.73	223	47	33	0.71
4	583	225	18	0.08	440	150	52	0.34	307	93	33	0.36
5	477	147	37	0.25	178	67	35	0.53	343	60	33	0.56
6	825	152	23	0.15	88	33	8	0.25	128	40	20	0.5
批次 編號	2個月(部分/mL)											
	5 °C				25 °C				30 °C			
	> 2 $\mu\text{m}$	$\geq 5$ $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF	> 2 $\mu\text{m}$	> 5 $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF	> 2 $\mu\text{m}$	> 5 $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF
1	475	82	20	0.24	731	158	83	0.53	1308	183	90	0.49
2	495	137	35	0.26	305	75	28	0.38	427	113	72	0.63
3	716	252	85	0.34	758	95	52	0.54	318	82	23	0.29
4	536	200	25	0.12	963	227	88	0.39	1415	213	77	0.36
5	490	193	32	0.16	297	45	32	0.7	367	127	37	0.29
6	48	13	5	0.38	175	52	17	0.32	190	67	10	0.15
批次 編號	3個月(部分/mL)											
	5 °C				25 °C				30 °C			
	> 2 $\mu\text{m}$	$\geq 5$ $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF	> 2 $\mu\text{m}$	> 5 $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF	> 2 $\mu\text{m}$	> 5 $\mu\text{m}$	$\geq 5 \mu\text{m}$ & > 0.85 AR	CF
1	710	168	20	0.12	1328	63	35	0.55	1460	170	120	0.71
2	278	88	15	0.17	906	62	35	0.57	318	42	33	0.8
3	523	160	25	0.16	373	52	42	0.81	355	52	45	0.87
4	1511	615	48	0.08	708	97	37	0.38	750	100	45	0.45
5	402	130	10	0.08	378	65	40	0.62	357	38	25	0.65
6	117	37	5	0.14	310	48	22	0.45	330	58	40	0.69

表17.藉由MFI之亞可見顆粒物質。CF=循環分數。

溫度	時間 (月)	BIF主峰純度(%)						總雜質(%)					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
5 °C	0	78.9	78.4	78.4	78.5	78.6	77.5	21.1	21.6	21.6	21.5	21.4	22.5
	1	79.5	79.8	79.4	79.8	79.8	79.3	20.5	20.2	20.6	20.2	20.2	20.7
	2	77.9	77.2	77.7	76.9	76.8	77.0	22.1	22.8	22.3	23.1	23.2	23.0
	3	78.8	78.7	79.5	80.1	78.7	78.6	21.2	21.3	20.5	19.9	21.3	21.4
	6	79.9	79.0	78.3	78.7	80.0	78.9	20.1	21.0	21.7	21.3	20.0	21.1
25 °C	0	78.9	78.4	78.4	78.5	78.6	77.5	21.1	21.6	21.6	21.5	21.4	22.5
	1	80.2	79.7	79.1	79.9	79.6	79.4	19.8	20.3	20.9	20.1	20.4	20.6
	2	75.6	75.4	72.4	74.4	72.4	72.4	24.4	24.6	27.6	25.6	27.6	27.6
	3	76.8	75.9	71.7	76.4	74.5	72.8	23.2	24.1	28.3	23.6	25.5	27.2
	6	74.7	70.7	67.2	73.4	71.2	67.0	25.3	29.3	32.8	26.6	28.8	33.0
30 °C	0	78.9	78.4	78.4	78.5	78.6	77.5	21.1	21.6	21.6	21.5	21.4	22.5
	1	79.3	78.3	76.0	79.4	78.5	75.9	20.7	21.7	24.0	20.6	21.5	24.1
	2	75.7	72.2	69.1	75.1	72.5	68.6	24.3	27.8	30.9	24.9	27.5	31.4
	3	73.9	70.2	66.8	73.0	69.5	65.5	26.1	29.8	33.2	27.0	30.5	34.5

表18.藉由RP-HPLC之BIF主峰純度及總雜質。

溫度 (°C)	時間 (月)	BIF主峰(%)						全部酸性變體(TAV)(%)						全部鹼性變體(TBV) (%)					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
5	0	65.1	65.1	65.0	65.1	65.2	65.1	32.3	32.3	32.4	32.3	32.2	32.3	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6
	1	64.2	63.9	63.0	64.1	63.8	63.3	32.7	33.0	33.9	32.7	33.1	33.7	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.0
	2	62.2	61.1	60.8	62.1	61.7	61.0	34.7	35.1	36.1	34.8	35.2	35.9	3.2	3.1	3.1	3.1	3.2	3.1
	3	62.1	61.7	59.8	61.6	61.6	60.9	34.7	35.1	36.4	34.8	34.9	35.7	4.1	3.8	3.8	3.7	3.4	3.4
	6	60.7	59.6	57.2	59.7	59.7	58.1	34.7	35.8	38.1	35.0	36.2	37.7	4.4	4.4	4.5	3.9	3.9	4.0
25	0	65.1	65.1	65.0	65.1	65.2	65.1	32.3	32.3	32.4	32.3	32.2	32.3	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6
	1	61.1	59.1	55.8	61.0	59.2	55.7	35.7	37.8	41.4	35.8	37.8	41.6	3.2	3	2.8	3.2	3.0	2.8
	2	55.5	52.2	46.8	55.6	52.1	46.6	41.3	44.9	50.6	41.3	45.0	50.8	3.2	2.9	2.6	3.1	2.9	2.6
	3	52.4	47.8	40.6	53.0	47.9	40.9	43.5	48.4	55.7	43.5	48.5	56.1	4.1	3.9	3.6	3.5	3.6	3.0
	6	42.7	36.0	26.4	43.5	36.2	26.4	52.2	59.2	69.4	52.2	59.8	69.9	4.9	4.6	3.9	4.2	3.8	3.4
30	0	65.1	65.1	65.0	65.1	65.2	65.1	32.3	32.3	32.4	32.3	32.2	32.3	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6
	1	56.5	52.8	47.4	56.5	53.1	46.8	40.3	44.4	50.1	40.3	44.1	50.6	3.1	2.8	2.5	3.1	2.8	2.5
	2	46.9	40.7	33.0	47.0	40.9	32.2	50.2	56.7	64.9	50.1	56.6	65.7	3.0	2.5	2.1	2.9	2.5	2.1
	3	42.2	35.8	26.5	43.2	35.7	26.2	53.7	60.5	70.2	53.3	61.2	71.0	4.1	3.7	3.2	3.5	3.1	2.8

表19.藉由AEX之BIF主峰、全部酸性變體及全部鹼性變體。

【0060】如表14中所示，溶液pH在整個研究持續期間保持恆定。來自SEC及亞可見粒子之結果亦證實樣品在各pH值下為物理穩定的，如藉由HIAC或MFI之總聚集體(表15)及顆粒物質(表16及17)所示。使用RP-HPLC及AEX評估調配物之化學穩定性。調配物顯示相當的化學穩定性，

如總雜質(表18)及全部酸性變體(表19)中所反映，且在此研究中在pH 6.4下最穩定。

### 【0061】

#### 穩定性

研究經設計以評估3-mL筒中多次使用BIF藥品之穩定性及功能性。所有組合物均用5 mM磷酸鹽、21 mg/mL甘油及0.4 mg/mL泊洛沙姆製造。組合物之其他特徵提供於下表20中。

組合物ID	BIF (mg/mL)	苯甲醇(mg/mL)	苯酚 (mg/mL) <sup>a</sup>	pH	密度(g/cc)	黏度(cPs)
A	15	-	-	6.6	1.0081	1.203
B	-	9	2	6.6	1.0045	1.123
1	15	9	2	6.6	1.0089	1.244
2	15	9	2	6.3	1.0089	1.248
3	15	8.1	1.8	6.4	1.0088	1.243
4	15	9.9	2.2	6.4	1.0089	1.242
5	15	8.1	1.8	6.8	1.0089	1.238
6	15	9.9	2.2	6.8	1.0090	1.242

表20.所測試調配物之溶液特徵。<sup>a</sup>：研究中所列之「苯酚」為「苯酚，液化，蒸餾」，其為90%苯酚及10%水。

【0062】將組合物填充在3-mL玻璃筒中且用矽化氯丁基柱塞及無DNR圓盤密封件封閉。筒在5°C、25°C、30°C或35°C下儲存至多6個月。抽取樣品進行測試，如下表21中所示。

測試方法	特性	單位	溫度	時間點				
				0	1	2	3	6
SEC	單體 總聚集體 總片段	%	5 °C	X	X	X	X	X
			25 °C		X	X	X	X
			30 °C		X	X	X	-
			35 °C		X	X	X	-
RP-HPLC	主峰純度 總雜質	%	5 °C	X	X	X	X	X
			25 °C		X	X	X	X
			30 °C		X	X	X	-
			35 °C		X	X	X	-
AEX	主峰純度 全部酸性變體 全部鹼性變體	%	5 °C	X	X	X	X	X
			25 °C		X	X	X	X
			30 °C		X	X	X	-
			35 °C		X	X	X	-

藉由HIAC之顆粒物質	≥ 2 μm	部分/mL	5 °C	X	X	X	X	X
	≥ 5 μm		25 °C		X	X	X	X
	≥ 10 μm		30 °C		X	X	X	-
	≥ 25 μm		35 °C		X	X	X	-
藉由MFI之顆粒物質	≥ 2 μm	部分/mL	5 °C	X	X	X	X	X
	≥ 5 μm		25 °C		X	X	X	X
	≥ 5 μm，縱橫比≥ 0.85		30 °C		X	X	X	-
	循環分數		35 °C		X	X	X	-

表21.分析性測試。

【0063】對於HIAC或MFI資料，未觀測到關於pH、儲存條件或調配組合物之明顯趨勢。藉由HIAC之粒子計數均符合≥ 10 μm及≥ 25 μm量測之規格。

【0064】SEC、RP-HPLC及AEX之結果提供於下表22至表24中。

溫度(°C)	月	單體(%)							總聚集體(%)						
		-A	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-A	-1	-2	-3	-4	-5	-6
5	0	95.8	95.7	96.3	95.7	95.6	95.7	95.6	4.2	4.3	3.7	4.3	4.4	4.3	4.4
	1	95.9	95.8	96.1	95.8	95.7	95.8	95.8	4.1	4.2	3.9	4.2	4.3	4.2	4.2
	2	96.0	95.8	96.3	95.8	95.8	95.8	95.8	4.0	4.2	3.7	4.2	4.2	4.2	4.2
	3	95.9	95.8	95.9	95.8	95.8	92.3	95.9	4.1	4.2	4.1	4.2	4.2	7.7	4.1
	6	96.0	96.0	95.9	95.9	95.9	96.0	96.0	4.0	4.0	4.1	4.1	4.1	4.0	4.0
25	0	95.8	95.7	96.3	95.7	95.6	95.7	95.6	4.2	4.3	3.7	4.3	4.4	4.3	4.4
	1	96.3	96.2	96.1	96.1	96.1	96.3	96.3	3.7	3.8	3.9	3.9	3.9	3.7	3.7
	2	96.3	96.2	96.1	96.1	96.1	96.4	96.4	3.6	3.8	3.9	3.9	3.9	3.6	3.6
	3	96.3	96.2	96.0	96.1	96.0	96.4	96.4	3.6	3.8	4.0	3.9	3.9	3.6	3.6
	6	96.3	96.2	95.8	96.0	95.9	96.5	96.5	3.6	3.7	4.1	3.9	4.0	3.4	3.4
30	0	95.8	95.7	96.3	95.7	95.6	95.7	95.6	4.2	4.3	3.7	4.3	4.4	4.3	4.4
	1	96.4	96.3	96.1	96.2	96.1	96.4	96.4	3.6	3.7	3.8	3.8	3.8	3.6	3.5
	2	96.3	96.2	95.9	96.0	95.9	96.5	96.4	3.6	3.8	4.1	3.9	4.0	3.5	3.5
	3	96.2	96.1	95.8	95.9	95.9	96.5	96.4	3.7	3.8	4.1	4.0	4.0	3.4	3.4
35	0	95.8	95.7	96.3	95.7	95.6	95.7	95.6	4.2	4.3	3.7	4.3	4.4	4.3	4.4
	1	96.5	96.2	96.1	96.0	96.0	96.4	96.4	3.5	3.7	3.9	3.9	3.9	3.5	3.5
	2	96.5	96.1	96.0	95.9	95.9	96.6	96.4	3.4	3.8	3.9	4.0	4.0	3.3	3.5
	3	96.3	94.8	94.3	95.4	95.0	96.2	95.6	3.5	5.0	5.5	4.4	4.8	3.6	4.2

表22.藉由SEC之單體及總聚集體。

溫度(°C)	時間(月)	主峰純度(%)								總雜質(%)							
		-A	-B	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-A	-B	-1	-2	-3	-4	-5	-6
5	0	78.6	n/a	78.3	78.0	78.1	78.0	77.9	78.0	21.4	n/a	21.7	22.0	21.9	22.0	22.1	22.0
	1	78.3	n/a	78.0	78.1	78.0	78.2	77.9	78.3	21.7	n/a	22.0	21.9	22.0	21.8	22.1	21.7
	2	75.6	n/a	76.4	76.4	76.8	75.8	76.7	76.1	24.4	n/a	23.6	23.6	23.2	24.2	23.3	23.9
	3	77.9	n/a	78.0	78.4	77.7	78.4	77.9	77.9	22.1	n/a	22.0	21.6	22.3	21.6	22.1	22.1
	6	74.0	n/a	74.5	74.0	74.1	74.7	72.4	73.5	26.0	n/a	25.5	26.0	25.9	25.3	27.6	26.5

25	0	78.6	n/a	78.3	78.0	78.1	78.0	77.9	78.0	21.4	n/a	21.7	22.0	21.9	22.0	22.1	22.0
	1	77.7	n/a	77.0	77.6	77.2	76.9	75.9	77.1	22.3	n/a	23.0	22.4	22.8	23.1	24.1	22.9
	2	72.1	n/a	74.7	75.1	74.4	74.8	73.4	72.7	27.9	n/a	25.3	24.9	25.6	25.2	26.6	27.3
	3	75.5	n/a	74.4	75.9	76.2	76.2	72.0	71.4	24.5	n/a	25.6	24.1	23.8	23.8	28.0	28.6
	6	70.0	n/a	66.6	68.9	68.6	68.8	64.2	64.6	30.0	n/a	33.4	31.1	31.4	31.2	35.8	35.4
30	0	78.6	n/a	78.3	78.0	78.1	78.0	77.9	78.0	21.4	n/a	21.7	22.0	21.9	22.0	22.1	22.0
	1	76.5	n/a	76.3	77.0	76.6	76.6	74.6	74.8	23.5	n/a	23.7	23.0	23.4	23.4	25.4	25.2
	2	70.4	n/a	71.9	72.9	73.2	72.5	69.6	69.8	29.6	n/a	28.1	27.1	26.8	27.5	30.4	30.2
	3	71.3	n/a	68.9	71.4	71.0	71.3	67.0	66.3	28.7	n/a	31.1	28.6	29.0	28.7	33.0	33.7
35	0	78.6	n/a	78.3	78.0	78.1	78.0	77.9	78.0	21.4	n/a	21.7	22.0	21.9	22.0	22.1	22.0
	1	73.9	n/a	73.1	74.8	74.6	74.5	71.8	71.5	26.1	n/a	26.9	25.2	25.4	25.5	28.2	28.5
	2	68.7	n/a	67.5	70.2	69.5	69.4	64.8	64.4	31.3	n/a	32.5	29.8	30.5	30.6	35.2	35.6
	3	66.0	n/a	62.3	68.2	66.1	65.9	58.5	58.4	34.0	n/a	37.7	31.8	33.9	34.1	41.5	41.6

表23.藉由RP-HPLC之主峰純度及總雜質。

溫度 (°C)	時間	主峰(%)							全部酸性變體(TAV) (%)						
		-A	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-A	-1	-2	-3	-4	-5	-6
5	0	61.5	60.4	60.5	60.7	60.6	60.6	60.3	35.3	33.1	32.7	33.1	32.5	33.2	32.9
	1	61.7	60.5	60.6	60.8	60.4	60.4	60.2	35.1	32.8	32.4	32.8	32.3	33.2	32.6
	2	60.6	59.9	60.1	60.7	59.6	59.6	59.1	36.9	35.2	34.8	34.6	35.2	35.8	35.8
	3	61.2	61.6	62.4	61.6	61.8	61.1	61.7	35.7	35.8	35	35.8	35.6	36.3	35.8
	6	64.4	61.7	63	62.6	62.7	61.5	61.4	33.2	32.5	31	31.9	31.1	33	32.5
25	0	61.5	60.4	60.5	60.7	60.6	60.6	60.3	35.3	33.1	32.7	33.1	32.5	33.2	32.9
	1	58	56.8	58.3	57.6	57.5	55.3	55	38.8	36.5	34.8	35.8	35.2	38.3	37.9
	2	54.3	51.7	55.3	54.7	53.9	49.6	49.7	43.2	43.3	39.4	40.4	40.7	45.8	45.1
	3	51.5	50.4	53.5	52.5	52.9	46.4	46.3	45.3	47.2	43.9	45	44.7	51.5	51.7
	6	45.8	40.4	47.1	45.4	44.7	34.9	34.5	51.8	54.1	46.9	49.2	49.1	60.1	59.8
30	0	61.5	60.4	60.5	60.7	60.6	60.6	60.3	35.3	33.1	32.7	33.1	32.5	33.2	32.9
	1	53.9	52.3	54.7	54.1	53.7	49.3	49	42.7	41	38.2	39.3	39	44.4	44
	2	46.4	43.9	49.2	48.4	48	39.8	39.3	51.1	51.1	45.4	46.7	46.5	55.7	55.6
	3	39.7	38.5	45.1	43.2	43.1	33.5	33.1	57.1	59.6	52.5	54.6	54.8	65	65.5
35	0	61.5	60.4	60.5	60.7	60.6	60.6	60.3	35.3	33.1	32.7	33.1	32.5	33.2	32.9
	1	47.3	44.8	49	47.9	47.4	41.1	39.8	49.5	48.5	43.8	45.7	45.3	52.8	53.2
	2	35.2	32.6	39.2	36.9	36.3	27	26.5	55.9	62.6	55.4	58.4	58.3	68.7	68.7
	3	26.3	24.1	32.4	29.5	29.1	18.4	17.8	70.6	74.7	65.9	68.9	69.5	80.7	81.4
溫度 (°C)	全部鹼性變體(TBV) (%)														
	-A	-1	-2	-3	-4	-5	-6								
5	3.1	6.3	6.7	6.1	6.9	6.1	6.8								
	3	6.6	6.9	6.3	7.1	6.3	7.1								
	2.5	4.9	5.2	4.7	5.2	4.6	5.1								
	3.1	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6	2.5								
	2.5	5.8	6	5.6	6.1	5.4	6.2								
25	3.1	6.3	6.7	6.1	6.9	6.1	6.8								
	3	6.6	6.8	6.4	7.2	6.3	7								
	2.5	5	5.3	4.9	5.4	4.6	5.3								
	3.3	2.3	2.6	2.5	2.4	2.1	2								
	2.5	5.5	6	5.4	6.2	5	5.8								
30	3.1	6.3	6.7	6.1	6.9	6.1	6.8								

	3.2	6.5	7	6.5	7.2	6.2	6.9
	2.5	5	5.4	4.9	5.6	4.5	5.2
	3.2	1.9	2.4	2.2	2.1	1.6	1.5
35	3.1	6.3	6.7	6.1	6.9	6.1	6.8
	3	6.5	7.1	6.3	7.2	6	6.9
	2.4	4.8	5.4	4.8	5.4	4.3	4.8
	3	1.1	1.7	1.5	1.4	0.9	0.9

表24. 藉由AEX之主峰、全部酸性變體及全部鹼性變體。

【0065】 如表22中所見，所有調配物在5°C、25°C及30°C下表現良好，對照物與測試樣品之間顯著差異，表明在研究濃度下之苯甲醇及苯酚未誘導顯著蛋白質變性。在35°C下觀測到的聚集體增長主要由熱應力驅動，因為在樣品中不存在明顯趨勢。

【0066】 如表23中所見，在5°C下，對照物與測試樣品之間無差異。在25°C、30°C及35°C下可見差異。在此等溫度下，總雜質之增長隨著pH值增加而增加。

【0067】 類似地，如表24中所見，在5°C下，在TAV中存在可忽略的增長。TAV增長在高溫(25°C、30°C及35°C)下顯著且與pH增加相關。

【0068】 總體而言，所測試之防腐劑顯示對調配物穩定性之影響最小，而影響穩定性之主要因素為pH及溫度。在5°C下，調配物保持穩定，在聚集及化學降解之情況下極少增長，但隨著儲存溫度增加(25°C、30°C及35°C)，降解相應地加速。亞可見顆粒物質在所有研究組之規格內。總體而言，此研究之結果顯示所測試調配物之穩固性。

#### 【0069】

#### 隨pH變化之化學穩定性

研究經設計以研究含有及不含有防腐劑之BIF調配物在pH高於其pI之條件下的化學穩定性。

【0070】 含有防腐劑之組合物的製備闡述於下表25中。

批次編號	組合物(mg/mL) <sup>a</sup>						pH <sup>c</sup>
	BIF	磷酸鹽緩衝液 (mM)	甘油	泊洛沙姆 188	苯甲醇	苯酚 <sup>b</sup>	
1	15	5	21	0.4	9	2	6.2
2	15	5	21	0.4	9	2	6.3
3	15	5	21	0.4	9	2	6.4
4	15	5	21	0.4	9	2	6.5
5	15	5	21	0.4	9	2	6.6
6	15	5	21	0.4	9	2	6.7
7	15	5	21	0.4	9	2	6.8
8	15	5	21	0.4	9	2	6.9

表25. BIF藥品之組合物。<sup>a</sup>：純化水用作溶劑；<sup>b</sup>：「苯酚」為「苯酚、液化、蒸餾」，其為90%苯酚及10%水；<sup>c</sup>：在樣品製備期間使用1 N NaOH將pH值調節至目標pH值。

【0071】 不含有防腐劑之組合物的製備闡述於下表26中。

批次編號	組合物(mg/mL) <sup>a</sup>		pH <sup>b</sup>
	BIF	磷酸鹽緩衝液(mM)	
9	2	5	6.1
10	2	5	6.3
11	2	5	6.4
12	2	5	6.5
13	2	5	6.6
14	2	5	6.7
15	2	5	6.8
16	2	5	7.0

表26. BIF藥品之組合物。<sup>a</sup>：純化水用作溶劑；<sup>b</sup>：在樣品製備期間使用1 N NaOH將pH值調節至目標pH值。

【0072】 所有溶液均經由0.22- $\mu$ m PVDF過濾器過濾且立即轉移至經滅菌之玻璃容器。在層流罩中，將溶液填充至玻璃瓶中。小瓶加蓋且在5°C及30°C下儲存至多三個月。在適當時間，提取樣品且提交用於測試。

【0073】 化學穩定性藉由陰離子交換層析(AEX)評估。結果提供於下表27中。

溫度 (°C)	時間 (月)	全部酸性變體(TAV) (%)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
5	0	37.3	37.1	37.1	37.4	37.2	36.2	36.7	36
	1	37.6	37.6	37.7	37.8	37.8	37.9	38.1	38.2

	2	37.4	37.6	37.7	37.5	37.7	37.6	38	38.4
	3	37.6	37.6	37.4	37.6	38	38.2	38	38.4
30	0	37.3	37.1	37.1	37.4	37.2	36.2	36	36
	1	40.7	41.2	41.9	42.3	43.3	44.2	45.1	45.9
	2	44.1	45.1	46.4	47.6	49	51.1	53.8	54.9
	3	48.2	49.5	51.1	53.4	55.6	58.1	60.7	63.3

表27.藉由AEX測定之含有防腐劑的調配物中之TAV。

溫度 (°C)	時間 (月)	全部酸性變體 (TAV) (%)							
		9	10	11	12	13	14	15	16
5	0	34.8	35.3	34.9	35.2	35.3	35.2	35.1	35.4
	1	34.3	34.3	35	34.4	34.6	34.8	35.2	35.1
	2	35.4	35.5	35.3	35.9	35.7	35.7	36.2	36.2
	3	34.6	34.8	34.8	34.5	35.1	35.4	35.7	36
30	0	34.8	35.3	34.9	35.2	35.3	35.2	35.1	35.4
	1	37.4	38.4	38.8	37.6	41	42.6	43.5	46.1
	2	73.4	43.9	45.8	46.9	48.7	51.1	52.6	55.9
	3	45.5	49.1	51.4	51.7	53.8	58.1	60.4	64.3

表28.藉由AEX測定之非防腐劑調配物中之TAV。

【0074】 如表27至表28中所見，在5°C下，在全部酸性變體(TAV)中存在可忽略的增長，而在30°C下增長以pH敏感的方式發生。此等組合物中防腐劑之存在不會實質上影響穩定性。

### 【0075】

#### 儲放時限及使用

TAV視為BIF之最相關化學穩定性指示分析，因此上文在表27至表28中描述之結果用於儲放時限及使用估計。以下等式用於分解儲存溫度( $T$ )在時間點( $t$ )之加速效應，以使時間標度收縮至單一任意參考溫度( $T_{Ref}$ )。

$$e^{\frac{-E_a}{R} \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{T_{Ref}} \right)} \cdot t = t_{Ref}$$

【0076】 在5°C之參考溫度下使用21.5 kcal/mol之表觀活化能( $E_a$ )值。Raut, A. S.; Kalonia, D. S., Pharmaceutical perspective on opalescence and liquid-liquid phase separation in protein solutions.

*Molecular Pharmaceutics* 2016, 13 (5), 1431-1444。  $E_a$  為大約 21.5 kcal/mol 之假設的有效性藉由繪製分析觀測結果隨時間變化的圖表根據經驗進行評估，或在  $E_a=21.5$  kcal/mol 下縮放至 5°C。若真實  $E_a$  不同於假定值，則將出現溫度中之一者的一致趨勢，亦即，證據表明假定  $E_a$  沒有充分考慮溫度影響且真實  $E_a$  不同於當前估計。目前穩定性結果並不指示  $E_a$  為 21.5 kcal/mol 之假設無效。因此，上表 27 至表 28 中之資料用作測定在冷藏條件下之長期穩定性的工具。各產品在使用條件下之儲放時限在 5°C 下的等效月數提供於表 29 中。

產品儲放時限及使用條件	在 5°C 下之等效月數
在 5°C 下 24 個月	24 個月
在 5°C 下 24 個月加 30°C 下 2 週	35.4 個月
在 5°C 下 24 個月加 30°C 下 4 週	46.8 個月

表 29. 在 5°C 下儲放時限及使用條件與時間之間的關係。

【0077】 表 27 至表 28 中之資料顯示此類實施例中之較佳藥品 pH 為大約 6.5 或更低。

【0078】

## 臨床研究

在健康參與者中之臨床研究經設計以比較與含有防腐劑及張力劑之基質相關之急性注射部位疼痛強度。各參與者在階段 1 至階段 5 的第 1 天接受一次 0.6-mL SC 注射。未投與活性藥物。5 種溶液調配物如下：

調配物	組合物		
	緩衝液	張力劑	防腐劑
1	未緩衝(水)	甘油	苯氧基乙醇(0.4% w/v) + 苯酚(0.3% w/v)
2	5 mM 檸檬酸鹽	甘油	苯氧基乙醇(0.4% w/v) + 苯酚(0.3% w/v)
3	未緩衝(水)	甘油	苯甲醇(0.8% w/v) + 苯酚(0.2% w/v)
4	5 mM 檸檬酸鹽	甘油	苯甲醇(0.8% w/v) + 苯酚(0.2% w/v)
5	未緩衝(水)	甘油	無

表 30. 測試注射部位疼痛之調配物。

【0079】 使用100 mm視覺類比量表(VAS)評估及量化注射部位疼痛，其中0指示「無疼痛」，且100指示「最不可想像的疼痛」。資料藉由治療及時間點列出及彙總。

【0080】 混合效應模型用於各調配物在各次注射後自VAS疼痛評分分析連續注射部位疼痛。該模型係根據注射後量測之時間點進行，且包括治療(溶液調配物)、組內之注射次序(週期之第1、第2、第3、第4或第5次注射)、組(注射順序組參與者隨機分組)作為固定因素及參與者作為隨機效應。肯沃德-羅傑(Kenward-Roger)方法用於估計分母自由度。最小平方(LS)平均值之III型測試用於統計比較；亦報告差異之95%信賴區間(CI)。若95% CI不包含零，則LS平均值之差異視為在統計學上顯著。

【0081】 列出所有不良事件(AE)。彙總治療出現之AE。列出任何嚴重不良事件(SAE)。

【0082】 在預定時間點及自發報告之ISR收集注射-部位反應(ISR)調查表。ISR資料藉由頻率表中之處理列出及彙總。

【0083】 所有溶液調配物(包括參考調配物)均具有良好耐受性，其中大多數參與者報告低嚴重程度之注射部位疼痛(小於10 mm)。所有調配物之所有時間點(注射後0至60分鐘)，76%至100%參與者報告小於10 mm之VAS疼痛評分且平均VAS疼痛評分在0.2至7.1 mm範圍內。

【0084】 參與者對藉由SC注射投與之所有溶液調配物，包括參考調配物均耐受良好。無死亡或SAE。一個參與者由於與研究干預無關之AE而中斷，如由研究者所判定。AE之頻率總體較低。所有治療中出現之不良事件(TEAE)之嚴重程度均為輕度或中度且無TEAE與研究干預相關，如由研究者判定。相比於參考調配物，更少參與者在10至60分鐘之預定時

間點報告ISR，且在注射測試調配物後自發報告的ISR更少。輕度疼痛為在預定時間點及自發報告事件中報告之最常見的ISR參數。

**【0085】**

**序列**

**SEQ ID NO:1**

```

      10      20      30      40      50      60
FVNQHLCGSHLVEALELVCGERGFHYGGGGGGSGGGGGIVEQCCTSTCSLDQLENYCGGG
      70      80      90     100     110     120
GGQGGGGQGGGGQGGGGGECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS
      130     140     150     160     170     180
HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKG
      190     200     210     220     230     240
LPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
      250     260     270     280     290
ENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPG

```

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="C251637SEQA.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-03-
14">
  <ApplicantFileReference>22456_WO</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>63/279,390</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2021-11-15</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">美商美國禮來大藥廠(ELI LILLY AND
COMPANY)</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>ELI LILLY AND COMPANY</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">可保存之調配物</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>1</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>299</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..299</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>Synthetic Construct</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..299</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q2">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>FVNQHLCGSHLVEALELVCGERGFHYGGGGGSGGGGIVEQCCTSTCSLDQLENYCGGGGG
QGGGGQGGGGQGGGGGECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</I
NSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

## 【發明申請專利範圍】

### 【請求項1】

一種水性無菌醫藥組合物，其包含：

a) 胰島素-Fc融合物；

b) 濃度為1.5至4 mg/mL之苯酚；

c) 一或多種選自由濃度為4至14 mg/mL之苯氧基乙醇及濃度為5至10 mg/mL之苯甲醇組成之群的額外防腐劑；

d) 張力劑；

e) 界面活性劑；及

f) 緩衝液；

且具有介於6至7.5之間的pH；且

其中該苯酚及一或多種額外防腐劑係以允許至少12週之使用時段而無不可接受之穩定性損失的濃度存在。

### 【請求項2】

如請求項1之組合物，其中該苯酚濃度為約1.8 mg/mL。

### 【請求項3】

如請求項1之組合物，其中該額外防腐劑為苯氧基乙醇。

### 【請求項4】

如請求項3之組合物，其中該苯氧基乙醇濃度為約4 mg/mL。

### 【請求項5】

如請求項3之組合物，其中該苯氧基乙醇濃度為約8 mg/mL。

### 【請求項6】

如請求項1之組合物，其中該額外防腐劑為苯甲醇。

**【請求項7】**

如請求項6之組合物，其中該苯甲醇濃度為約9 mg/mL。

**【請求項8】**

如請求項1之組合物，其中該胰島素-Fc融合物為基礎胰島素-Fc (basal insulin-Fc；BIF)。

**【請求項9】**

如請求項8之組合物，其中BIF濃度介於5至30 mg/mL之間。

**【請求項10】**

如請求項9之組合物，其中該BIF濃度係選自由約7.15、14.3及28.6 mg/mL組成之群。

**【請求項11】**

如請求項1之組合物，其中該組合物之pH介於6.3至6.8之間。

**【請求項12】**

如請求項1之組合物，其中該組合物之pH為約6.5。

**【請求項13】**

如請求項1之組合物，其中該張力劑係選自由氯化鈉、甘露醇及甘油組成之群。

**【請求項14】**

如請求項1之組合物，其中該張力劑為甘油。

**【請求項15】**

如請求項14之組合物，其中甘油濃度介於15至35 mg/mL之間。

**【請求項16】**

如請求項15之組合物，其中該甘油濃度為約17 mg/mL。

**【請求項17】**

如請求項1之組合物，其中該界面活性劑係選自由泊洛沙姆（poloxamer）188、聚山梨醇酯20及聚山梨醇酯80組成之群。

**【請求項18】**

如請求項17之組合物，其中該界面活性劑為泊洛沙姆188。

**【請求項19】**

如請求項18之組合物，其中泊洛沙姆188之濃度介於0.01至0.5 mg/mL之間。

**【請求項20】**

如請求項19之組合物，其中該泊洛沙姆188之濃度為約0.4 mg/mL。

**【請求項21】**

如請求項1之組合物，其中該緩衝液係選自由磷酸鹽、檸檬酸鹽及TRIS組成之群。

**【請求項22】**

如請求項21之組合物，其中該緩衝液為磷酸鹽。

**【請求項23】**

如請求項22之組合物，其中磷酸鹽濃度介於5至10 mM之間。

**【請求項24】**

一種水性無菌醫藥組合物，其包含：

- a) 濃度為5至30 mg/mL之胰島素efsitora  $\alpha$ ；
- b) 濃度為1.5至4 mg/mL之苯酚；
- c) 濃度為4至14 mg/mL之苯甲醇；
- d) 濃度為15至35 mg/mL之甘油；

e) 濃度為0.01至0.5 mg/mL之泊洛沙姆188；及

f) 濃度為5至10 mM之磷酸鹽；

其中該組合物具有6.3至6.8之pH。

**【請求項25】**

如請求項24之組合物，其中：

a) 胰島素efsitora  $\alpha$ 呈選自由約7.15、約14.3及約28.6 mg/mL組成之群的濃度；

b) 苯酚呈約1.8 mg/mL的濃度；

c) 苯甲醇呈約9 mg/mL的濃度；

d) 甘油呈約17 mg/mL的濃度；

e) 泊洛沙姆188呈約0.4 mg/mL的濃度；且

f) 磷酸鹽呈選自由約5 mM及約10 mM組成之群的濃度；

其中該組合物具有約6.5之pH。

**【請求項26】**

如請求項25之組合物，其中該胰島素efsitora  $\alpha$ 之濃度為約14.3 mg/mL且磷酸鹽之濃度為約5 mM。

**【請求項27】**

如請求項25之組合物，其中該胰島素efsitora  $\alpha$ 之濃度為約28.6 mg/mL且磷酸鹽之濃度為約10 mM。

**【請求項28】**

如請求項25之組合物，其中該胰島素efsitora  $\alpha$ 之濃度為約7.15 mg/mL。

**【請求項29】**

一種如請求項1至28中任一項之醫藥組合物的用途，其用於製造供治療糖尿病用之藥劑。

**【請求項30】**

一種製品，其包含如請求項1至28中任一項之醫藥組合物。

**【請求項31】**

如請求項30之製品，其為多次使用之小瓶。

**【請求項32】**

如請求項30之製品，其為多次使用之筆式注射器。

**【請求項33】**

如請求項30之製品，其為用於連續皮下胰島素輸注療法之泵裝置。