202042841

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202042841 A

(43)公開日： 中華民國 109 (2020) 年 12 月 01 日

(21)申請案號：109103597 (22)申請日： 中華民國 102 (2013) 年 09 月 06 日

(51)Int. Cl.： *A61K39/395 (2006.01)* *A61K47/12 (2006.01)*

A61K47/18 (2006.01)

(30)優先權：2012/09/07 美國 61/698,138

2013/02/26 美國 61/769,581

2013/02/28 美國 61/770,421

(71)申請人：美商柯赫勒斯生物科學有限公司 (美國) COHERUS BIOSCIENCES, INC. (US)

美國

(72)發明人：曼寧 馬克 MANNING, MARK (US)；佩恩 羅伯特 W PAYNE, ROBERT W. (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：91 項 圖式數：28 共 171 頁

(54)名稱

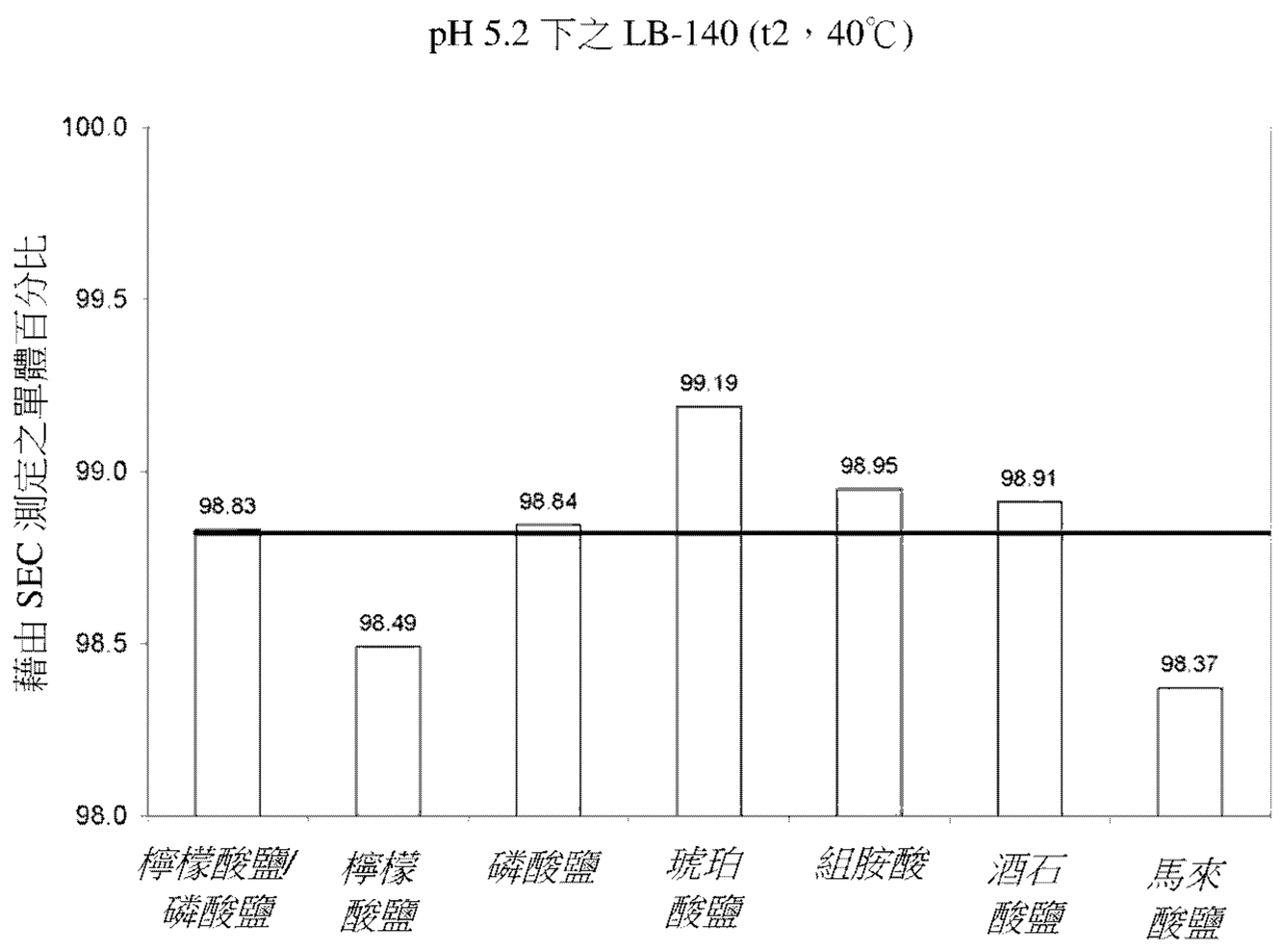
阿達木單抗(ADALIMUMAB)之穩定水性調配物

(57)摘要

本發明提供適於長期儲存阿達木單抗(adalimumab)之水性醫藥阿達木單抗組合物、該等組合物之製造方法、投與方法及含有其之套組。

The invention provides aqueous pharmaceutical adalimumab compositions suitable for long-term storage of adalimumab, methods of manufacture of these compositions, methods of administration, and kits containing same.

指定代表圖：


pH 5.2 下之 LB-140 (t2，40℃)
藉由 SEC 測定之單體百分比
100.0
99.5
99.0
98.5
98.0
98.83
98.49
98.84
99.19
98.95
98.91
98.37
檸檬酸鹽/磷酸鹽
檸檬酸鹽
磷酸鹽
琥珀酸鹽
組胺酸
酒石酸鹽
馬來酸鹽

【圖1】

202042841
專利案號：109103597
原申請案號：102132360
202042841

【發明摘要】

【中文發明名稱】

阿達木單抗(ADALIMUMAB)之穩定水性調配物

【英文發明名稱】

STABLE AQUEOUS FORMULATIONS OF ADALIMUMAB

【中文】

本發明提供適於長期儲存阿達木單抗(adalimumab)之水性醫藥阿達木單抗組合物、該等組合物之製造方法、投與方法及含有其之套組。

【英文】

The invention provides aqueous pharmaceutical adalimumab compositions suitable for long-term storage of adalimumab, methods of manufacture of these compositions, methods of administration, and kits containing same.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

阿達木單抗(ADALIMUMAB)之穩定水性調配物

【英文發明名稱】

STABLE AQUEOUS FORMULATIONS OF ADALIMUMAB

【技術領域】

本發明係關於適於長期儲存阿達木單抗(adalimumab)(包含視為或意欲作為市售阿達木單抗之「生物類似」或「生物較佳」變體之抗體蛋白)之水性醫藥組合物、該等組合物之製造方法、其投與方法及含有其之套組。

【先前技術】

腫瘤壞死因子α (TNFα)係由各種細胞類型(包含單核球及巨噬球)因應內毒素或其他刺激物產生之天然存在之哺乳動物細胞因子。TNFα係發炎性反應、免疫反應及病理生理反應之主要調介物(Grell, M.等人(1995) Cell, 83: 793-802)。

可溶性TNFα係藉由前體跨膜蛋白之裂解形成(Kriegler等人(1988) Cell 53: 45-53)，且所分泌17 kDa多肽組裝成可溶性同型三聚體複合物(Smith等人(1987), J. Biol. Chem. 262: 6951-6954；關於TNF之綜述，參見Butler等人(1986), Nature 320:584；Old (1986), Science 230: 630)。該等複合物然後結合至發現於各種細胞上之受體。結合會產生諸多促發炎效應(包含(i)釋放其他促發炎細胞因子，例如介白素(IL)-6、IL-8及IL-1，(ii)釋放基質金屬蛋白酶，及(iii)上調內皮黏附分子之表現)，從而藉由將白血球吸引至血管外組織來進一步擴增發炎性及免疫級聯。

存在許多與升高之TNFα含量有關之病症。舉例而言，已展示，TNFα在諸多人類疾病中上調，包含慢性疾病(例如類風濕性關節炎(RA))、發炎性腸病(包含克羅恩氏病(Crohn's disease)及潰瘍性結腸炎)、敗血症、充血性心臟衰竭、枝氣管哮喘及多發性硬化。TNFα亦稱為促發炎細胞因子。

在生理學上，TNFα亦與特定感染之防止有關(Cerami.等人(1988), Immunol. Today 9:28)。藉由由革蘭氏陰性細菌(Gram-negative bacteria)之脂多糖活化之巨噬球釋放TNFα。因此，TNFα似乎係涉及與細菌敗血症有關之內毒素性休克之發生及發病之至關重要的內源性調介物。

阿達木單抗(Humira®, AbbVie公司)係人類TNF之特異性重組人類IgG1單株抗體。此抗體亦稱為D2E7。阿達木單抗由1330個胺基酸組成且具有大約148千道爾頓(kilodalton)之分子量。阿達木單抗已闡述及主張於美國專利第6,090,382號中，該專利之揭示內容之全部內容以引用方式併入本文中。阿達木單抗通常係藉由重組DNA技術在哺乳動物細胞表現系統(例如中國倉鼠卵巢細胞(Chinese Hamster Ovary cell))中產生。阿達木單抗特異性結合至TNFα且藉由阻斷TNF與p55及p75細胞表面TNF受體之相互作用來中和TNF之生物功能。

業內已知阿達木單抗之各種調配物。例如參見美國專利8,216,583 B2。然而，仍需要容許長期儲存阿達木單抗且並不實質上損失有效性之阿達木單抗之其他穩定液體調配物。

【發明內容】

本發明提供包括阿達木單抗且容許長期儲存阿達木單抗之穩定水性調配物。

在第一實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括：阿達木單抗；穩定劑，其包括至少一個選自由多元醇及表面活性劑組成之群之成員；及緩衝劑，其選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群，其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該緩衝劑並不包括檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合。在此實施例中，穩定劑較佳地包括多元醇及表面活性劑二者。

在第二實施例中，利用單一緩衝劑系統，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇、表面活性劑及包括單一緩衝劑之緩衝劑系統，該單一緩衝劑係選自檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽或馬來酸鹽，但並不包含前述緩衝劑之組合；其中調配物具有約4至8及較佳地約5至約6之pH。組胺酸及琥珀酸鹽尤佳地用作單一緩衝劑。

在第三實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、包括至少一個選自多元醇及表面活性劑之成員之穩定劑，其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含緩衝劑。

在第四實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該組合物不含或實質上不含表面活性劑。較佳地，組合物(i)並不含有檸檬酸鹽及磷酸鹽之緩衝劑組合；且(ii)緩衝劑係至少一個選自由組胺酸及琥珀酸鹽組成之群之成員；且(iii)多元醇係選自由山梨醇及海藻糖組成之群。

在第五實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、表面活性劑及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約4至8及較佳地約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。較佳地，組合物(i)並不含有檸檬酸鹽及磷酸鹽之緩衝劑組合；且(ii)緩衝劑係至少一個選自由組胺酸及琥珀酸鹽組成之群之成員。

在上文所論述5個實施例中之每一者中，組合物可視情況進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。胺基酸穩定劑可選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。鹽穩定劑可選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。金屬離子穩定劑可選自由鋅、鎂及鈣組成之群。較佳地，含有上述穩定劑之阿達木單抗調配物亦並不含有磷酸鹽緩衝劑及檸檬酸鹽緩衝劑組合存在之緩衝劑系統。最佳地，(i)存在於此實施例中之可選其他穩定劑並非氯化鈉，且包括精胺酸及甘胺酸中之至少一者；(ii)緩衝劑(在存在時)不含檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合但代之以係組胺酸及琥珀酸鹽中之至少一者；且(iii)穩定劑在其包含多元醇時較佳地並非甘露醇，但代之以係選自海藻糖及山梨醇。

在其他實施例中，本發明係關於水性緩衝醫藥組合物，其包括阿達木單抗及緩衝劑，其中(i)組合物不含或實質上不含包括檸檬酸鹽緩衝劑及磷酸鹽緩衝劑二者之緩衝劑組合；且(ii)組合物展現長期穩定性。

本發明之另一實施例係關於展現長期穩定性之水性緩衝醫藥組合物，該組合物包括：(i)阿達木單抗；(ii)緩衝劑，其選自由組胺酸緩衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑及其組合組成之群；(iii)聚山梨醇酯或泊洛沙姆(poloxamer)表面活性劑或其組合；及(iv)下列中之一者或兩者：(a)穩定

劑，其選自由以下組成之群：甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合；及(b)多元醇，其選自山梨醇、甘露醇及海藻糖或其組合。

在另一實施例中，本發明係包括阿達木單抗及緩衝劑之水性緩衝醫藥組合物，其中(i)組合物不含或實質上不含多元醇；且(ii)組合物展現長期穩定性。

在另一實施例中，本發明係關於包括阿達木單抗及緩衝劑之水性緩衝醫藥組合物，其中(i)組合物不含或實質上不含表面活性劑；且(ii)組合物展現長期穩定性。

本發明之另一實施例係關於包括阿達木單抗之水性醫藥組合物，其中：(i)組合物不含或實質上不含緩衝劑；且(ii)組合物展現長期穩定性。

在一方法態樣中，本發明係關於增強水性緩衝阿達木單抗調配物之長期穩定性之方法，其包括以下步驟中之一或多者：(a)將組胺酸緩衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑或其組合納入調配物中，此係基於指示該等緩衝劑較其他緩衝劑或緩衝劑組合在更大程度上有助於調配物之穩定性之經驗數據；或(b)將甘胺酸、精胺酸或其組合作為穩定劑納入調配物中，此係基於指示該穩定劑較其他穩定劑在更大程度上有助於調配物之穩定性之經驗數據；或(c)實質上排除檸檬酸鹽緩衝劑或包括檸檬酸鹽緩衝劑之組合之存在，此係基於指示該緩衝劑或該等緩衝劑組合與其他緩衝劑相比在穩定調配物方面性能較差之經驗數據。該方法可用於獲得展現與以商標Humira®出售之市售阿達木單抗調配物相當或更佳之長期穩定性之阿達木單抗調配物。

在上文所提及穩定劑可包含於調配物中之前述實施例中，進一步發

現，在使用該等穩定劑代替多元醇及表面活性劑二者且由此本發明之穩定化調配物可不含或實質上不含多元醇及表面活性劑二者時，可獲得滿意穩定作用。因此，在第六實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、視情況緩衝劑、選自由胺基酸、鹽、EDTA及金屬離子組成之群之穩定劑，且其中該組合物具有約4至約8及較佳地5至約6之pH，且其中該組合物亦實質上不含多元醇及表面活性劑二者。在緩衝劑存在於此實施例中時，尤佳地，(i)緩衝劑並不包含檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合；(ii)緩衝劑係選自由組胺酸及琥珀酸鹽組成之群；且(iii)穩定劑並不包括氯化鈉，但代之以係至少一個選自由精胺酸及甘胺酸組成之群之成員。

某些實施例中之本發明之重要態樣包含：(i)發現山梨醇及海藻糖係顯著優於甘露醇之阿達木單抗調配物穩定劑，除非以高於約200-300 mM之濃度使用甘露醇，在該情形下，三者通常等效；(ii)發現精胺酸及甘胺酸係顯著優於氯化鈉之阿達木單抗調配物穩定劑；且；(iii)在調配物中使用緩衝劑時，發現檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合在穩定阿達木單抗方面令人吃驚地顯著差於其他緩衝劑(例如琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽及酒石酸鹽)。考慮到在美國專利8,216,583中歸因於使用檸檬酸鹽/磷酸鹽組合緩衝劑之顯著重要性，檸檬酸鹽及磷酸鹽之緩衝劑組合之相對較差性能令人吃驚。與之相反，現已發現，磷酸鹽/檸檬酸鹽緩衝劑組合並非用於獲得穩定化阿達木單抗調配物之最佳選擇，且實際上，本發明之一要點在於發現應完全避免此組合且支持其他緩衝劑系統。

較佳地，多元醇係糖醇；且甚至更佳地，糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。然而，在甘露醇與山梨醇之間，本發明已發現，如上所述，使用山梨醇或海藻糖代替甘露醇具有明顯穩定作用優點，除非

以高於約200mM之濃度使用甘露醇，在該情形下，甘露醇、山梨醇及海藻糖通常等效。在低於約200 mM之濃度下，已發現甘露醇在阿達木單抗調配物中係差於山梨醇或海藻糖之穩定劑。

較佳地，表面活性劑係聚山梨醇酯或泊洛沙姆及甚至更佳地聚山梨醇酯80或Pluronic F-68。已發現，在選擇PS 80代替PS-20 (Pluronic F-68)時具有明顯穩定作用優點。

自各種實施例之下列闡述可明瞭該等及其他態樣，但可在其中實施變化及修改，此並不背離本揭示內容之新穎概念之精神及範圍。

應理解，前述概括性闡述及下列詳細闡述二者僅係實例性及說明性，而並非限制所主張之本發明。

【圖式簡單說明】

圖1係如藉由尺寸排除層析(SEC)測定之各種阿達木單抗調配物之穩定性之條形圖。

圖2係如藉由反相(RP)高效液相層析(HPLC)測定之各種阿達木單抗調配物之穩定性之條形圖。

圖3係顯示檸檬酸鹽/磷酸鹽對於穩定性之效應之部分最小平方(PLS)模型1之圖形。

圖4係顯示檸檬酸鹽/磷酸鹽對於穩定性之效應之PLS模型2之圖形。

圖5係顯示組胺酸/甘胺酸對於穩定性之效應之PLS模型1之圖形。

圖6係顯示精胺酸/山梨醇對於穩定性之效應之PLS模型1之圖形。

圖7係顯示pH/組胺酸對於穩定性之效應之PLS模型1之圖形。

圖8係顯示pH/組胺酸對於穩定性之效應之PLS模型2之圖形。

圖9係顯示海藻糖/PS80對於穩定性之效應之PLS模型2之圖形。

圖10係顯示甘露醇/PS80對於穩定性之效應之PLS模型2之圖形。

圖11係顯示甘露醇/NaCl對於穩定性之效應之PLS模型1之圖形。

圖12係顯示EDTA/甲硫胺酸對於穩定性之效應之PLS模型1之圖形。

圖13係顯示檸檬酸鹽及磷酸鹽對於穩定性之效應之PLS模型A之圖形。

圖14係顯示pH及組胺酸緩衝劑對於穩定性之效應之PLS模型A之圖形。

圖15係顯示甘胺酸及精胺酸對於穩定性之效應之PLS模型A之圖形。

圖16係顯示NaCl及聚山梨醇酯80 (PS 80)對於穩定性之效應之PLS模型A之圖形。

圖17係顯示檸檬酸鹽及磷酸鹽對於穩定性之效應之PLS模型B之圖形。

圖18係顯示pH及組胺酸緩衝劑對於穩定性之效應之PLS模型B之圖形。

圖19係顯示精胺酸及甘胺酸對於穩定性之效應之PLS模型B之圖形。

圖20係顯示PS80及甘露醇對於穩定性之效應之PLS模型B之圖形。

圖21係顯示EDTA及NaCl對於穩定性之效應之PLS模型B之圖形。

圖22係顯示琥珀酸鹽緩衝劑及組胺酸緩衝劑對於穩定性之效應之PLS模型B之圖形。

圖23係顯示檸檬酸鹽及磷酸鹽對於穩定性之效應之PLS模型C之圖形。

圖24係顯示pH及組胺酸緩衝劑對於穩定性之效應之PLS模型C之圖形。

圖25係顯示精胺酸及甘胺酸對於穩定性之效應之PLS模型C之圖形。

圖26係顯示甘露醇及PS 80對於穩定性之效應之PLS模型C之圖形。

圖27係顯示PS 80及NaCl對於穩定性之效應之PLS模型C之圖形。

圖28係顯示pH及蛋白質濃度對於穩定性之效應之PLS模型C之圖形。

【實施方式】

現詳細闡述本發明之各種實施例。如說明及整個申請專利範圍中所使用，除非上下文另外明確指出，否則「一個(a、an)」及「該(the)」之含義包含複數個指示物。另外，如說明及整個申請專利範圍中所使用，除非上下文另外明確指出，否則「在……中」之含義包含「在……中」及「在……上」。另外，本說明書中所使用之一些術語具體定義於下文中。

定義

在本發明上下文中及在使用每一術語之具體上下文中，本說明書中所用術語通常具有業內普通含義。下文或說明書中其他地方論述用於闡述本發明之某些術語，其為關注本發明說明之從業人員提供額外指導。提供某些術語之同義詞。列舉一或多個同義詞並不排除其他同義詞之使用。本說明書中任一處之實例(包含本文所論述任一術語之實例)之使用僅具有闡釋性，且決不限制本發明或所例示任一術語之範圍及含義。本發明並不不限於此說明書中給出之各種實施例。

除非另有定義，否則本文所用之所有技術及科學術語皆具有與熟習本發明相關技術者通常所理解相同之含義。倘若出現衝突，則以本文件(包含定義)為準。

「在……周圍(around)」、「約(about)」或「大約(approximately)」通常應意指在給定值或範圍之20%內、10%內、5%內、4%內、3%內、

2%內或1%內。給定數值量係近似值，此意味著若非明確陳述，則可推斷術語「在……周圍(around)」、「約(about)」或「大約(approximately)」。

術語「阿達木單抗」與Humira®中之活性醫藥成份及其生物類似或生物較佳變體同義。其係人類TNF之特異性重組人類IgG1單株抗體。阿達木單抗亦稱為D2E7。阿達木單抗具有兩條各自具有大約24千道爾頓(kDa)之分子量之輕鏈及兩條各自具有大約49 kDa之分子量之IgG1重鏈。每一輕鏈由214個胺基酸殘基組成且每一重鏈由451個胺基酸殘基組成。因此，阿達木單抗由1330個胺基酸組成且具有大約148 kDa之總分子量。術語阿達木單抗亦意欲涵蓋市售Humira®中所使用之阿達木單抗蛋白之所謂的生物類似或生物較佳變體。舉例而言，商業Humira®之變體在與市售Humira®具有基本相同藥理學效應時可為FDA接受，即使其可展現某些可與與Humira®類似(若不相同)之物理性質，例如糖基化特徵。

出於本申請案之目的，術語「阿達木單抗」亦涵蓋在胺基酸結構(包含胺基酸之缺失、添加及/或替代)或糖基化性質中具有並不顯著影響多肽功能之改質之阿達木單抗。術語「阿達木單抗」涵蓋Humira®之所有形式及調配物，包含但不限於濃縮調配物、可注射即用調配物、使用水、醇及/或其他成份重構之調配物及其他形式。

本文所用之術語「人類TNFα」 (其可縮寫為hTNFα或簡寫為hTNF)意欲係指以以下形式存在之人類細胞因子：17 kD分泌形式及26 kD膜締合形式、由非共價結合17 kD分子之三聚體構成之生物活性形式。hTNFα之結構進一步闡述於(例如) Pennica, D.等人(1984) Nature 312:724-729；Davis, J. M.等人(1987) Biochemistry 26:1322-1326；及Jones, E. Y.等人(1989) Nature 338:225-228中。術語人類TNFα意欲包含重組人類TNFα

(rhTNFα)，其可藉由標準重組表現方法製得或在商業上購得(R & D Systems，目錄編號：210-TA, Minneapolis, Minn.)。

本文所用之術語「抗體」係指由藉由二硫鍵相互連結之四條多肽鏈(兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈)構成之免疫球蛋白分子。每一重鏈包括重鏈可變區(本文縮寫為HCVR或VH)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包括三個結構域：CH1、CH2及CH3。每一輕鏈包括輕鏈可變區(本文縮寫為LCVR或VL)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包括一個結構域CL。可將VH及VL區進一步細分成高度可變區(稱為互補決定區(CDR))及較為保守之區(稱為框架區(FR))，二者間雜排列。每一VH及VL由三個CDR及四個FR構成，其自胺基末端至羧基末端按下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本發明之一實施例中，調配物含有具有CDR1、CDR2及CDR3序列之抗體，例如彼等闡述於美國專利第6,090,382號、第6,258,562號及第8,216,583號中者。

抗體或其抗原結合部分可為藉由抗體或抗體部分與一或多種其他蛋白質或肽共價或非共價締合所形成之較大免疫黏附分子之一部分。該等免疫黏附分子之實例包含使用抗生蛋白鏈菌素核心區來製備四聚體scFv分子(Kipriyanov, S. M.等人(1995) Human Antibodies and Hybridomas 6:93-101)及使用半胱胺酸殘基、標記肽及C-末端聚組胺酸標籤來製備二價及生物素化scFv分子(Kipriyanov, S. M.等人(1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058)。諸如Fab及$F(ab')_2$片段等抗體部分可使用習用技術自全抗體製得，例如分別使用全抗體之木瓜蛋白酶或胃蛋白酶消化。另外，抗體、抗體部分及免疫黏附分子可使用如本文所闡述之標準重組DNA技術來獲得。

本文所用之術語「經分離抗體」係指實質上不含具有不同抗原特異

性之其他抗體的抗體(例如特異性結合hTNFα之經分離抗體實質上不含特異性結合除hTNFα外之抗原的抗體)。然而，與hTNFα特異性結合之經分離抗體可與其他抗原(例如來自其他物種之TNFα分子)具有交叉反應性。另外，經分離抗體可實質上不含其他細胞材料及/或化學物質。

術語「甘胺酸」係指密碼子為GGT、GGC、GGA及GGG之胺基酸。

術語「精胺酸」係指密碼子為CCU、CCC、CCA及CCG之α-胺基酸。

術語「丙胺酸」係指密碼子為GCT、GCC、GCA及GCG之胺基酸。

術語「甲硫胺酸」係指密碼子為ATG之胺基酸。

術語「麩胺酸鹽」係指密碼子為GAA及GAG之胺基酸。

術語「糖」係指單糖、二糖及多糖。糖之實例包含但不限於蔗糖、葡萄糖、右旋糖及其他糖。

術語「多元醇」係指含有多個羥基之醇。多元醇之實例包含但不限於甘露醇、山梨醇及其他多元醇。

術語「金屬離子」係指具有淨正電荷或負電荷之金屬原子。出於本申請案之目的，術語「金屬離子」亦包含金屬離子源，包含但不限於金屬鹽。

術語「長期儲存」應理解為意指醫藥組合物可儲存三個月或更長、六個月或更長及較佳地一年或更長(包含阿達木單抗之當前市售調配物通常所需之儲存持續時間)，且並不損失穩定性而致使調配物並不適用於其預期醫藥應用中。長期儲存亦理解為意指將醫藥組合物以液體形式儲存於2-8℃下或冷凍(例如在-20℃下或更冷)。亦涵蓋可將組合物冷凍及解凍一次以上。

關於長期儲存之術語「穩定」應理解為意指，相對於在開始儲存時之組合物活性，醫藥組合物中所含之阿達木單抗並不損失20%以上或更佳地15%或甚至更佳地10%及最佳地5%之其活性。

術語「實質上不含」意指不存在物質，或僅存在極少之痕量物質(此對組合物性質並不具有任何實質影響)。在一實施例中，無物質量包含「無可檢測量」。

術語「哺乳動物」包含但不限於人類。

術語「醫藥上可接受之載劑」係指任一習用類型之無毒固體、液體或液體填充劑、稀釋劑、囊封材料、調配物輔助劑或賦形劑。醫藥上可接受之載劑在所採用劑量及濃度下對接受者無毒且與調配物之其他成份相容。

術語「組合物」係指通常含有載劑(例如醫藥上可接受之載劑)或賦形劑(其為業內所習知且出於治療、診斷或預防目的適於投與個體)之混合物。其可包含細胞培養物，其中多肽或多核苷酸存在於細胞或培養基中。舉例而言，用於經口投與之組合物可形成溶液、懸浮液、錠劑、丸劑、膠囊、持續釋放調配物、口服清洗劑或粉劑。

術語「醫藥組合物」及「調配物」可互換使用。

術語「治療」係指哺乳動物中用於疾病之藥品之任一投與或施加，且包含(例如)藉由引起消退或恢復或修復損失、失去或缺陷功能或刺激無效過程來抑制疾病、阻止其發生、減輕疾病。該術語包含獲得期望藥理學及/或生理學效應，涵蓋哺乳動物中病理學病狀或病症之任一治療。效應就完全或部分地預防病症或其症狀而言可為預防效應，且/或就部分地或完全治癒病症及/或可歸因於病症之不良影響而言可為治療效應。其包含

(1)預防在可易患病症但尚未具有症狀性之個體中發生或復發病症，(2)抑制病症，例如阻止其發生，(3)停止或終止病症或至少其有關症狀，從而宿主不再患有病症或其症狀，例如藉由(例如)恢復或修復損失、失去或缺陷功能或刺激無效過程來引起病症或其症狀之消退，或(4)減輕、緩解或改善病症或與其有關之症狀，其中改善在廣泛意義上用於係指至少減小參數(例如發炎、疼痛及/或腫瘤大小)之等級。

術語「疾病」係指需要醫學幹預或期望醫學幹預之任一病狀、感染、病症或症候群。該醫學幹預可包含治療、診斷及/或預防。

術語「治療有效量」係指在投與活個體時在活個體中達成期望效應之量。舉例而言，本發明多肽投與活個體之有效量係預防及/或治療整合素αvβ3介導之疾病之量。確切量取決於治療目的，且可由熟習此項技術者使用已知技術來確定。如業內所已知，出於全身性以及局部性遞送、年齡、體重、一般健康狀況、性別、飲食、投與時間、藥物相互作用及病狀之嚴重程度的考慮，可能需要進行調節，且彼等熟習此項技術者可使用常規實驗來確定。

本發明實施例

在長期儲存含有阿達木單抗(Humira®)之醫藥組合物(包含阿達木單抗之水性及凍乾調配物)時，阿達木單抗之活性可因聚集及/或降解而失去或降低。因此，本發明提供容許穩定長期儲存阿達木單抗之阿達木單抗之水性調配物，從而阿達木單抗在以液體或冷凍狀態儲存之過程中較為穩定。所提供調配物無需任何額外步驟，例如再水合。

本發明之諸多實施例更詳細地闡釋於下文中。

阿達木單抗

本發明之所有組合物皆包括阿達木單抗。如本申請案之背景技術部分中所闡釋，阿達木單抗係人類腫瘤壞死因子(TNF)之特異性重組人類IgG1單株抗體。此抗體亦稱為D2E7。阿達木單抗由1330個胺基酸組成且具有大約148千道爾頓之分子量。阿達木單抗已闡述及主張於美國專利第6,090,382號中。術語「阿達木單抗」亦欲指存在於市售Humira®中之活性阿達木單抗蛋白之所謂的「生物類似」及「生物較佳」形式。

適於儲存於本發明醫藥組合物中之阿達木單抗可藉由業內已知之標準方法產生。舉例而言，美國專利6,090,382及8,216,583闡述熟習此項技術者可出於本發明目的用於製備阿達木單抗之各種方法。該等方法以引用方式併入本文中。舉例而言，可藉由在宿主細胞中重組表現免疫球蛋白輕及重鏈基因來製備阿達木單抗。

可藉由任一標準方法來純化經表現阿達木單抗。在細胞內產生阿達木單抗時，藉由(例如)離心或超濾去除微粒碎屑。在將阿達木單抗分泌至培養基中時，可首先使用標準多肽濃縮過濾器濃縮來自該等表現系統之上清液。亦可添加蛋白酶抑制劑以抑制蛋白水解且可包含抗生素以預防微生物之生長。

可使用(例如)以下技術來純化阿達木單抗：羥基磷灰石層析、凝膠電泳、透析及親和層析及已知或尚待發現純化技術(包含但不限於蛋白質A層析、離子交換管柱上分級分離、乙醇沈澱、反相HPLC、二氧化矽上層析、肝素SEPHAROSET®上層析、陰離子或陽離子交換樹脂層析(例如聚天門冬胺酸管柱)、層析聚焦法、SDS-PAGE及硫酸銨沈澱)之任一組合。

I　含有阿達木單抗與多元醇及/或表面活性劑但不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑之調配物

在第一實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括：阿達木單抗；穩定劑，其包括至少一個選自由多元醇及表面活性劑組成之群之成員；及緩衝劑，其選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群，其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該緩衝劑並不包括檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合。在此實施例中，穩定劑較佳地包括多元醇及表面活性劑二者。醫藥組合物可包括一種緩衝劑或兩種或更多種緩衝劑之任一組合，只要其並不包括檸檬酸鹽及磷酸鹽二者。表面活性劑可為任一醫藥上可接受之表面活性劑，較佳係聚山梨醇酯(例如聚山梨醇酯80)或泊洛沙姆(例如Pluronic F-68)。

II　使用單一緩衝劑系統之阿達木單抗調配物

在第二實施例中，利用單一緩衝劑系統，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇、表面活性劑及包括單一緩衝劑之緩衝劑系統，該單一緩衝劑係選自檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽或馬來酸鹽，但並不包含前述緩衝劑之組合；其中調配物具有約4至8及較佳地約5至約6之pH。組胺酸及琥珀酸鹽(包含其組合)尤佳地用作單一緩衝劑。令人吃驚地發現，包括僅一種緩衝劑(與兩種或更多種緩衝劑不同)之阿達木單抗組合物較包括檸檬酸鹽緩衝劑及磷酸鹽緩衝劑二者之阿達木單抗組合物更為穩定。在單一緩衝劑實施例中，阿達木單抗可以以下濃度存在：約20 mg/ml至約150 mg/ml、更佳地約20 mg/ml至約100 mg/ml及甚至更佳地約30 mg/ml至約50 mg/ml。緩衝劑係以約5 mM至約50 mM之濃度存在。組合物之pH介於約5與約6之間。本發明之單一緩衝劑組合物可進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸

鹽、精胺酸及甲硫胺酸、最佳地甘胺酸、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。金屬離子係選自由鋅、鎂及鈣組成之群。本發明組合物可進一步包括表面活性劑。表面活性劑係聚山梨醇酯表面活性劑或泊洛沙姆表面活性劑。聚山梨醇酯表面活性劑包含聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯40及聚山梨醇酯20。較佳聚山梨醇酯表面活性劑係聚山梨醇酯80。泊洛沙姆表面活性劑包含泊洛沙姆188 (亦可在商業上以Pluronic F-68形式獲得)。最佳地，表面活性劑係聚山梨醇酯80。單一緩衝劑組合物可進一步包括多元醇。較佳地，多元醇係糖醇；且甚至更佳地，糖醇係甘露醇或山梨醇。單一緩衝劑阿達木單抗組合物亦可包括糖、較佳地蔗糖或海藻糖。

在單一緩衝劑阿達木單抗調配物之一實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)及琥珀酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含任一其他緩衝劑。

在單一緩衝劑阿達木單抗調配物之另一實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)及組胺酸(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含任一其他緩衝劑。

在單一緩衝劑阿達木單抗調配物之另一實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)及酒石酸鹽、馬來酸鹽

或乙酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含任一其他緩衝劑。

III 不包含緩衝劑之阿達木單抗調配物

在第三實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、包括至少一個選自多元醇及表面活性劑之成員之穩定劑，其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含緩衝劑。術語「不含緩衝劑」應理解為容許包含蛋白質本身之固有緩衝效應。

IV 不包含表面活性劑之阿達木單抗調配物

在第四實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該組合物不含或實質上不含表面活性劑。較佳地，組合物(i)並不含有檸檬酸鹽及磷酸鹽之緩衝劑組合；且(ii)緩衝劑係至少一個選自由組胺酸及琥珀酸鹽組成之群之成員；且(iii)多元醇並非甘露醇，但代之以係選自由山梨醇及海藻糖組成之群。

V 不包含多元醇之阿達木單抗調配物

在第五實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、表面活性劑及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。較佳地，組合物(i)並不含有檸檬酸鹽及磷酸鹽之緩衝劑組合；且(ii)緩衝劑係至少一個選自由組胺酸及琥珀酸鹽組成之群之成員。

可用於實施例I至V中之其他穩定劑。視情況，在上文所匯總5個實施例中之每一者中，組合物可進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。胺基酸穩定劑可選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。鹽穩定劑可選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。金屬離子穩定劑可選自由鋅、鎂及鈣組成之群。較佳地，含有上述穩定劑之阿達木單抗調配物亦並不含有磷酸鹽緩衝劑及檸檬酸鹽緩衝劑組合存在之緩衝劑系統。最佳地，(i)存在於此實施例中之可選其他穩定劑並非氯化鈉，且包括精胺酸及甘胺酸中之至少一者或兩者；(ii)緩衝劑(在存在時)不含檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合但代之以係組胺酸及琥珀酸鹽中之至少一者；且(iii)穩定劑在其包含多元醇時並非甘露醇，但代之以係選自海藻糖及山梨醇。

VI 使用其他穩定劑代替表面活性劑及多元醇二者之阿達木單抗調配物

進一步發現，在使用上述穩定劑代替多元醇及表面活性劑二者時，可獲得滿意穩定作用，因此，在第六實施例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、視情況緩衝劑、選自由胺基酸、鹽、EDTA及金屬離子組成之群之穩定劑，且其中該組合物具有約4至約8及較佳地約5至約6之pH，且其中該組合物不含或實質上不含多元醇及表面活性劑。在緩衝劑存在於此實施例中時，尤佳地，(i)緩衝劑並不包含檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合；(ii)緩衝劑係選自由組胺酸及琥珀酸鹽組成之群；且(iii)穩定劑並不包括氯化鈉，但代之以係至少一個選自由精胺酸及甘胺酸組成之群之成員。

在上述實施例中之每一者中，可視情況存在下列有利條件中之至少一者(除非根據需要加以陳述)：(i)緩衝劑較佳地並不含有檸檬酸鹽及磷酸

鹽之組合；(ii)緩衝劑較佳地係至少一個選自由組胺酸及琥珀酸鹽組成之群之成員；及(iii)穩定劑較佳地並不包含氯化鈉，但代之以係至少一個選自由精胺酸及甘胺酸組成之群之成員；及(iv)多元醇較佳地並非甘露醇，但代之以係選自山梨醇或海藻糖。在使用多元醇用於穩定作用時，在本文中發現，甘露醇與山梨醇及海藻糖相比具有去穩定性。在使用其他穩定劑時，在本文中發現，氯化鈉與精胺酸或甘胺酸相比具有去穩定性。

較佳地，阿達木單抗以以下濃度存在於本發明組合物中：約20 mg/ml至約150 mg/ml、更佳地約20 mg/ml至約100 mg/ml及甚至更佳地約30 mg/ml至約50 mg/ml。

緩衝劑(若存在)係以以下濃度存在：約5 mM至約50 mM、更佳地約5 mM至約20 mM及甚至更佳地約10 mM至約20 mM。

表面活性劑(若存在)較佳係聚山梨醇酯(PS)。在一甚至更佳實施例中，聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80 (PS 80)。泊洛沙姆表面活性劑亦適宜(例如Pluronic® F-68)。

多元醇(若存在)係糖醇。在一甚至更佳實施例中，糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖及最佳地山梨醇及海藻糖組成之群。

較佳地，多元醇之濃度為約1%至約10%、更佳地約2%至約6%及甚至更佳地約3%至5%，其中所有值皆係總組合物之容重(w/v)。

穩定劑(在存在時)可選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群。胺基酸可選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。鹽可選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。金屬離子可選自由鋅、鎂及鈣組成之群。

鋅、鎂及鈣(在存在以用於穩定作用時)可具有約1 mM至約100 mM

及更佳地約1 mM至約10 mM之濃度。

甘胺酸(若存在以用於穩定作用)之濃度為約20 mM至約200 mM及更佳地約50 mM至約200 mM。

精胺酸(若存在以用於穩定作用)之濃度為約1 mM至約250 mM及更佳地約20 mM至約200 mM及甚至更佳地約20 mM至約100 mM。

甲硫胺酸(若存在以用於穩定作用)係以約1 mg/ml至約10 mg/ml、更佳地約1 mg/ml至約5 mg/ml之濃度存在。

氯化鈉(若存在以用於穩定作用)之濃度為約5 mM至約150 mM、更佳地約20 mM至約140 mM及甚至更佳地約75 mM至約125 mM。

硫酸鈉(若存在以用於穩定作用)之濃度為約5 mM至約150 mM、更佳地約20 mM至約120 mM及甚至更佳地約60 mM至約100 mM。

EDTA (若存在以用於穩定作用)係以約0.01%至約0.05%、更佳地約0.05%至約0.25%及甚至更佳地約0.08%至約0.2%之濃度存在。

較佳地，組合物之pH為約5至約5.5；且甚至更佳地為約5.2。

在上述實施例I及II之一實例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、山梨醇或海藻糖(濃度為約1%至10%容重)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或檸檬酸鹽緩衝劑中之至少一者(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且前提係該組合物不含或實質上不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。另外，將檸檬酸鹽評定為最差緩衝劑，且較佳地避免其，但其仍在本發明範圍內以調配包含檸檬酸鹽緩衝劑(若其不與磷酸鹽組合)之阿達木單抗穩定調配物。

在實施例IV之一實例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、山梨醇或海藻糖(濃度為約1%至10%容重)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或檸檬酸鹽緩衝劑中之至少一者(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含表面活性劑且視情況及較佳地不含或實質上不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在實施例VI之一實例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、甘胺酸(濃度為約20 mM至約200 mM)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或檸檬酸鹽緩衝劑中之至少一者(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物包含或實質上包含多元醇；表面活性劑(例如PS8)較佳地但視情況存在；且組合物視情況及較佳地不含或實質上不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在實施例VI之另一實例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、精胺酸或甘胺酸(濃度為約1 mM至約250 mM)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或檸檬酸鹽緩衝劑中之至少一者(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。表面活性劑(例如PS80)較佳地但視情況存在，且組合物視情況及較佳地不含或實質上不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在實施例VI之另一實例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、氯化鈉(濃度為約5 mM至約150 mM)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或

檸檬酸鹽緩衝劑中之至少一者(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物不含或實質上不含多元醇。表面活性劑(例如PS80)較佳地但視情況存在；且組合物視情況及較佳地不含或實質上不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在實施例V之一實例中，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、氯化鈉(濃度為約5 mM至約150 mM)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或檸檬酸鹽緩衝劑中之至少一者(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物不含或實質上不含多元醇且視情況及較佳地不含或實質上不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑。

在實施例I及II之一實例中，在額外穩定作用下，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、山梨醇或海藻糖(濃度為約1%至約10%容重)、EDTA (濃度為約0.01%至約0.5%)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或檸檬酸鹽中之至少一者(作為唯一緩衝劑，濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中組合物不含或實質上不含檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在實施例I及II之另一實例中，在額外穩定作用下，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、山梨醇或海藻糖(濃度為約1%至約10%容重)、甲硫胺酸(濃度為約1 mg/ml至約10 mg/ml)及琥珀酸鹽、組胺酸、磷酸鹽、酒石酸鹽、馬來酸鹽或檸檬酸鹽中之至少一

者(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，其中組合物不含或實質上不含任一檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在實施例I及II之另一實例中，在額外胺基酸穩定作用下，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、甘露醇、山梨醇或海藻糖(較佳地山梨醇) (濃度為約1%至約10%容重)及胺基酸(其較佳地係以下中之一者且並非兩者：(a)濃度為約1 mg/ml至約250 mg/ml之精胺酸及(b)濃度為約20 mg/ml至200 mg/ml之甘胺酸)及組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽緩衝劑(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH；且其中組合物不含或實質上不含任一檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在實施例IV之另一實例中，在額外胺基酸穩定作用下，本發明提供穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、精胺酸(濃度為約1 mg/ml至約250 mg/ml)、甘胺酸(濃度為約20 mg/ml至200 mg/ml)及組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽緩衝劑(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH且不含或實質上不含多元醇；且視情況其中組合物較佳地不含任一檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

在8個單獨實驗區(在本文中稱為「區A」至「區H」)製備本發明之阿達木單抗調配物之諸多實施例。每一區具有12至16種暴露於加速儲存條件(在40℃下1週及在25℃下2週)之不同調配物。對於每一時間點而言，藉由SEC、RP、UV、pH、CE-IEF及CE-SDS量測阿達木單抗蛋白之化學及物理穩定性。

材料及方法

1. 調配物研究中所使用之設備

設備	製造商	型號	序號
天平	Sartorius	CPA124S	23350022
pH計	Denver Instrument	型號250	E25006B100
UV	Cary	Bio 100	EL07103025
HPLC	Dionex 3	Ultimate 3000 UPLC	8047439
HPLC	Dionex 2	Ultimate 3000, UPLC	8036991
Beckman CE	Beckman	P/ACE	455436
Agilent CE	Agilent	3DCE 1600A	3546G00736
搖板	Labnet	Orbit P4	8091840

2. 調配物研究中所使用之化學試劑及材料

化學試劑/材料	生產商	純度	批號：
檸檬酸鹽	Mallinckrodt	ACS	H28475
磷酸鹽	Fisher	FCC	103372
	Fisher	ACS	113670
琥珀酸鹽	Spectrum	試劑級	ZM0462
組胺酸	Spectrum	USP	XV0239
	Spectrum	USP	ZG0216
酒石酸鹽	Spectrum	FCC	1BC0152
馬來酸鹽	TCI	>99%	206-738-1
甘露醇	BDH	USP	57910
甘胺酸	Spectrum	FCC	YM3312
	Spectrum	FCC	1BJ0243
	Fisher	組織級	070082
精胺酸	Spectrum	USP	2AK0238
	Spectrum	USP	1CB0771
氯化鈉	Mallinckrodt	ACS	J52619
	Macron	USP	26434
聚山梨醇酯80	Sigma-Aldrich	低過氧化物	028K5309
山梨醇	Spectrum	NF	1AH0521

海藻糖	Spectrum	N/A	1AE0739
乙酸鹽	Mallinckrodt	FCC	H31613
EDTA	Sigma	98.5%	057K00071
甲硫胺酸	Spectrum	USP	ZF0377
F-68	Sigma	細胞培養物	057K00331
聚山梨醇酯20	Spectrum	NF	1AE0882
十二烷基硫酸鈉	Fluka	ACS	1344034
Tris鹼	Fisher	ACS	S61374
2-巯基乙醇	Fisher	電泳	107667

材料/試劑	部件編號	供應商
Slide-A-Lyzers，7K截留分子量	66373	Thermo
微型透析單元	69550	Thermo
Millex®-GV 0.22μM，過濾器	SLGV004SL	Millipore
1 mL小瓶	4500050375	SCHOTT
cIEF凝膠聚合物溶液	477497	Beckman Coulter
pI標記套組	A58481	Beckman Coulter
Pharmalyte 3-10兩性電解質	17-0456-01	GE Healthcare
融合二氧化矽毛細管(50 μm內徑)	TSP050375	Polymicro
SDS-MW凝膠緩衝劑	A10663	Beckman
10 kD內部標準	A26487	Beckman

3. **調配物研究中所使用之HPLC管柱**

管柱	公司	部件編號	批次
Poroshell 300SB-C8, 2.1 × 75mm, 5um	Agilent	660750-906	USZW003083
Poroshell 300SB-C8, 2.1 × 75mm, 5um	Agilent	660750-906	USZW003073
ACQUITY UPLC BEH200 SEC, 1.7 um管柱，4.6 × 150 mm	Waters	186005225	138123331
ACQUITY UPLC BEH200 SEC, 1.7 um管柱，4.6 × 150 mm	Waters	186005225	

Humira®之處理。區A實驗使用存在於市售Humira®中之阿達木單抗。如下所述對Humira®材料實施透析：將100 μL Humira®置於使用3.5

MWCO之微型透析單元中且在4℃至8℃下於1 L調配物緩衝劑中透析24小時。少量試樣因透析而發生輕度體積增加，但不會達到聚山梨醇酯80之濃度降至低於CMC (臨界微胞濃度)之程度。

藉由UV吸收光譜使用所計算實驗莫耳吸收率基於所報告Humira®濃度(50 mg/mL)來量測每一調配物之蛋白質濃度。對於諸多調配物而言，藉由使用旋轉濃縮器來調節蛋白質濃度。將試樣置於旋轉濃縮器中且以14,000 RPM旋轉30 sec至60 sec。然後使用UV檢查蛋白質濃度。在達到約50 mg/mL之靶定蛋白質濃度後，經由0.22 μM無菌過濾器將試樣過濾至生物安全罩中之無菌小瓶中。然後將試樣在穩定及40℃下放置一週及兩週。

專有阿達木單抗蛋白之處理。本文所闡述之調配物研究使用並不含有聚山梨醇酯80之專有阿達木單抗生物類似蛋白質。使用7,000 MWCO Slide-A-Lyzers在介於4℃至8℃之間之溫度下於不同調配物緩衝劑中對材料實施24小時之透析。在透析之後，藉由UV量測蛋白質濃度且量測試樣pH。試樣之目標濃度為50 ± 2.5 mg/mL，若試樣濃度在上述範圍之外，則調節濃度。一些試樣因稀釋而使得試樣體積有所增加，從而需要增加蛋白質濃度。對於該等試樣而言，藉由使用旋轉濃縮器(通常以14,000 rpm進行30 sec至60 sec)來增加蛋白質濃度。使用1M NaOH或1M HCl調節諸多試樣之pH以達到5.2之目標pH。

在測得試樣之靶定蛋白質濃度及pH在實驗參數內之後，經由0.22 μM無菌過濾器將試樣過濾至生物安全罩中之無菌小瓶中。然後將試樣在穩定及40℃下放置一週且在25℃下放置兩週。

冷凍-解凍條件：在分析當天製備冷凍解凍試樣以匹配t=0。在-80℃

下將試樣冷凍3分鐘至7分鐘。然後在室溫下解凍冷凍之試樣直至所有冰皆已解凍為止。對於每一試樣而言，重複冷凍及解凍循環5次。

攪動研究。在150 rpm及4℃下於搖板上將試樣聚集24小時。對於每一試樣而言，製備對照且置於發生攪動之搖板附近。

pH量測。使用微型pH探針量測每一試樣之pH。在開始分析之前，使用三種自fisher訂購之pH標準校準pH探針。藉由將60μL每一穩定性試樣轉移至100 μL PCR管中來量測穩定性試樣之pH值。然後將微型pH探針浸漬於試樣中且在值穩定之後記錄該值。

UV吸收光譜。使用UV光譜量測試樣中之蛋白質濃度。主體物質之280 nm下莫耳消光係數為1.6355 mg/mL，此係根據實驗測得。使用0.0096 cm之樣品池路徑長度量測用於LB-140之所有調配物之蛋白質濃度。下文係用於LB-140之分析參數。

掃描範圍：400 nm至200 nm

平均時間(min)：0.1

數據間隔(nm)：1

掃描速率(nm/min)：600

循環計數：5

尺寸排除層析(SEC)方法。在Legacy BioDesign處研發用於分析LB-140穩定性試樣之SEC方法。下文係用於分析LB-140試樣之SEC方法參數之簡要匯總。

方法參數

管柱資訊：ACQUITY UPLC BEH200 SEC, 1.7 um管柱，4.6 × 150 mm

分析緩衝劑：50 mM磷酸鹽，250 mM NaCl, pH 6.8

流速：0.3 mL/min

管柱溫度：30℃

檢測：280 nm

注入體積：2 µl

試樣溫度：大約5℃

RP HPLC方法。發現RP HPLC方法可指示穩定性且使用其來分析LB-140穩定性試樣。下文係用於分析LB-140之RP方法參數之匯總。

方法參數

管柱資訊：Poroshell 300SB-C8, 2.1 × 75mm, 5um

流動相A：98% (v/v) H2O/ 2% (v/v) IPA/0.1% (v/v) TFA

流動相B：10% (v/v) H2O/ 70% (v/v) IPA/20% (v/v) ACN /0.1% (v/v) TFA

流速：0.25 mL/min

管柱溫度：80℃

檢測：225 nm

注入體積：1 µl

試樣溫度：大約5℃

運行時間：15分鐘

梯度：

時間	A%	B%
0	100	0
10	50	50
10.1	100	0
15	100	0

CE-IEF分析。如由Beckman Coulter公開之PA 800 *plus* Application Guide中所闡述來實施毛細管等電聚焦(cIEF)。更詳細闡述可參見由Mack等人[1]公開之研究文件。使用在環境溫度下使用30 cm總長度(20 cm有效長度)中性毛細管操作之Beckman Coulter P/ACE MDQ系統(Beckman Coulter公司；Brea, CA)來實施所有分析。藉由使用由Gao等人[2]闡述之方法將聚(丙烯醯胺)固定至毛細管壁上來製備中性毛細管。藉由混合0.25 mg/mL所關注蛋白質與含有兩性電解質、陰極穩定劑、陽極穩定劑及pI標記之3M脲-cIEF凝膠混合物來製備cIEF試樣。在9.5 psi壓力下經4.1 min將試樣注入毛細管中，然後藉由在分析物及陰極電解質之間施加25 kV電壓15 min來對其實施聚焦。在此步驟之後，在30 kV下經30 min在分析物及化學活動劑之間實施化學活動。在活動步驟期間使用280 nm下吸光度檢測pI標記及所關注蛋白質。根據自pI標準獲得之pI與第一峰矩之所得回歸方程式來計算蛋白質之pI。

CE-SDS分析。在還原條件下利用自由Beckman-Coulter公開之SOP改編且用於測定IgG純度/異質性之方法來實施CE-SDS分析。簡言之，使用DDI水將抗體稀釋至6 mg/mL，藉由添加試樣緩衝劑(0.1 M Tris/1.0% SDS, pH 8.0)予以變性，且經由添加2-巰基乙醇進行還原；最終抗體濃度為1.2 mg/mL。藉由將試樣在70℃下加熱10 min來促進變性及還原。將試樣在室溫下冷卻10 min，然後進行分析。在加熱試樣之前且在冷卻之後即刻採用離心步驟(300g, 5 min)。使用在環境溫度下使用30 cm總長度(20 cm有效長度，50 μm內徑)毛細管操作之Beckman Coulter P/ACE MDQ系統來實施CE分析。在引入試樣之前，依次使用0.1 M NaOH、0.1M HCL、DDI水及SDS-凝膠緩衝劑溶液沖洗毛細管。在5 kV下經30s以電動

方式注入試樣，隨後在30 kV下分離30 min。對於注入及分離而言，儀器皆以反極性模式進行操作。使用214 nm下吸光度(4 Hz獲取)及針對所量測峰報告之時間正規化面積來檢測抗體片段。

區A調配物研究

區A研究檢驗不同緩衝劑系統且使用經再處理以用於該等研究之市售阿達木單抗材料。應注意，US專利8,216,583提及關於使用pH 5.2檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑系統之阿達木單抗調配物之穩定性，且實際上該專利需要使用此一緩衝劑組合。本文所展現之工作指示，檸檬酸鹽/磷酸鹽與其他緩衝劑(例如組胺酸及琥珀酸鹽)相比實際上係極差緩衝劑選擇。在下文之區A研究中，pH保持恆定於5.2。甘露醇及聚山梨醇酯80之濃度亦保持恆定。將試樣在40℃下保持兩週。研究設計匯總於下表中。

表A

區A研究設計

調配物編號	API	檸檬酸鹽(mM)	磷酸鹽(mM)	琥珀酸鹽(mM)	組胺酸(mM)	酒石酸鹽(mM)	馬來酸鹽(mM)	甘露醇(mM)	PS 80 (%)
1	Humira®	8	18	0	0	0	0	12	0.1
2	Humira®	10	0	0	0	0	0	12	0.1
3	Humira®	0	10	0	0	0	0	12	0.1
4	Humira®	0	0	10	0	0	0	12	0.1
5	Humira®	0	0	0	10	0	0	12	0.1
6	Humira®	0	0	0	0	10	0	12	0.1
7	Humira®	0	0	0	0	0	10	12	0.1

SEC分析展示，僅含有檸檬酸鹽之調配物之性能差於含有緩衝劑組合者(圖1)，從而指示磷酸鹽係組合中之主要穩定劑。此令人吃驚且較為意外，此pH在磷酸鹽之標稱緩衝能力範圍外，但在檸檬酸鹽之緩衝範圍

內。另外，琥珀酸鹽、組胺酸及酒石酸鹽等效或優於檸檬酸鹽/磷酸鹽組合，從而指示其他緩衝劑系統向阿達木單抗提供等效或優良穩定性。因此，在一實施例中，本發明係關於展現長期穩定性之阿達木單抗調配物，其中避免檸檬酸鹽及磷酸鹽之緩衝劑組合而支持至少一種選自由組胺酸、磷酸鹽、琥珀酸鹽及酒石酸鹽組成之群之緩衝劑。乙酸鹽亦適於代替檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

使用RP HPLC檢查該等儲存試樣之純度(圖2)。對於SEC而言，檸檬酸鹽調配物展現最差穩定性，而所有其他緩衝劑等效或優於發現於市售阿達木單抗(Humira®)中之緩衝劑組合。該等結果顯示，可發現改變緩衝劑(亦即避免商業阿達木單抗之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合)可改良阿達木單抗之穩定性特徵。

區B調配物研究。

實施第二研究(「區B」)以僅檢驗緩衝劑物質之變化，其中pH (5.2)並不改變，如標記為「區B研究設計」之下表中所概述。在此情形下，使用Humira®之市售調配物作為對照，而所有其他調配物採用專有阿達木單抗生物類似蛋白質。下表B-1匯總區B調配物之單體百分比(以及經測定為阿達木單抗蛋白片段之雜質量百分比)。

表B

區B研究設計

調配物編號	API	檸檬酸鹽(mM)	磷酸鹽(mM)	琥珀酸鹽(mM)	組胺酸(mM)	酒石酸鹽(mM)	馬來酸鹽(mM)	甘露醇(mM)	PS 80 (%)
1	Humira®	8	18	0	0	0	0	12	0.1
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	0	12	0.1
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	0	12	0.1
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	10	0	0	0	12	0.1
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	0	0	12	0.1
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	0	10	0	12	0.1
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	0	0	10	12	0.1

表B-1

在t0及在40℃下兩週之後(t2)區B調配物之單體百分比

調配物編號	API	緩衝劑	單體(t0)	單體(t2)	片段(t0)	片段(t2)
1	Humira®	檸檬酸鹽/磷酸鹽	99.34		0.26	
2	CHS-1420	檸檬酸鹽	98.71	97.92	0.62	0.40
3	CHS-1420	磷酸鹽	99.21	98.07	0.05	0.30
4	CHS-1420	琥珀酸鹽	99.19	98.04	0.04	0.31
5	CHS-1420	組胺酸	99.19	98.41	0.07	0.23
6	CHS-1420	酒石酸鹽	99.13	98.10	0.04	0.29
7	CHS-1420	馬來酸鹽	98.91	97.90	0.36	0.76

如可自上表B-1中看到，在40℃下儲存兩週之後，對於區B中之所有試樣而言，單體含量降低1%以上，含有組胺酸(His)緩衝劑者除外(表IX)。自此研究發現，His可能係阿達木單抗之優良緩衝劑系統。(應注意，調配物2中所報告藉由SEC量測之片段含量似乎不正確，此乃因所有其他初始片段含量皆小於0.1%。)

區C調配物研究。

在區C中所實施之研究中實施大規模調配物篩選研究(參見下表C)。將試樣在40℃下儲存一週(在下文中稱為「**t1**」)或在25℃下儲存兩週(在下文中稱為「**t2**」)。在全部剩餘研究中使用該等條件，因此在整個本發明詳細論述中採用此方法。區C經設計以擴展區B中所實施之緩衝劑評價。此外，其檢驗甘胺酸(Gly)及/或精胺酸(Arg)作為可能穩定劑代替甘露醇及/或NaCl (表C)。應注意，Humira®產品中所使用之緩衝劑系統採用8 mM檸檬酸鹽/18 mM磷酸鹽緩衝劑，此係區C之調配物1之組合物。在此情形下，將專有阿達木單抗生物類似蛋白質用於區C之調配物1以代替自市售Humira®獲得之阿達木單抗蛋白。

表C

區C研究設計

調配物編號	API	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	組胺酸	甘胺酸	精胺酸	甘露醇	NaCl
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	0	0	65	100
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	18	8	0	0	0	0	65	100
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	0	0	65	100
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	0	0	100
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	0	0	100
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	0	65	0	100
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	0	65	0	100
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	20	0	65	0	0	100
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	20	0	0	65	0	100
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	20	65	0	0	100
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	20	0	65	0	100
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	0	130	0	35
13	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	20	0	0	130	0	35
14	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	20	0	130	0	35
15	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	130	0	0	60
16	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	20	130	0	0	60

表C-1

在t0及t1 (一週，40℃)時區C調配物之所量測pH

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	組胺酸	甘胺酸	精胺酸	甘露醇	NaCl	pH t0	pH t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	**5.51**	**5.57**
2	18	8	0	0	0	0	65	100	**5.46**	**5.43**
3	20	0	0	0	0	0	65	100	**5.28**	**5.27**
4	20	0	0	0	65	0	0	100	**5.27**	**5.24**
5	0	20	0	0	65	0	0	100	**5.43**	**5.44**
6	20	0	0	0	0	65	0	100	**5.29**	**5.29**
7	0	20	0	0	0	65	0	100	**5.28**	**5.32**
8	0	0	20	0	65	0	0	100	**5.22**	**5.17**
9	0	0	20	0	0	65	0	100	**5.19**	**5.16**
10	0	0	0	20	65	0	0	100	**5.28**	**5.30**
11	0	0	0	20	0	65	0	100	**5.26**	**5.29**
12	0	20	0	0	0	130	0	35	**5.24**	**5.24**
13	0	0	20	0	0	130	0	35	**5.18**	**5.16**
14	0	0	0	20	0	130	0	35	**5.28**	**5.35**
15	0	20	0	0	130	0	0	60	**5.31**	**5.31**
16	0	20	0	20	130	0	0	60	**5.36**	**5.40**

表C-2

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區C中調配物之SEC單體含量

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	**98.75**	**97.90**	**98.06**
2	18	8	0	0	0	0	65	100	**99.26**	**98.22**	**98.80**
3	20	0	0	0	0	0	65	100	**99.28**	**98.32**	**98.78**
4	20	0	0	0	65	0	0	100	**99.36**	**98.45**	**99.03**
5	0	20	0	0	65	0	0	100	**99.25**	**98.20**	**98.77**
6	20	0	0	0	0	65	0	100	**99.42**	**98.68**	**99.10**
7	0	20	0	0	0	65	0	100	**99.39**	**98.59**	**99.13**
8	0	0	20	0	65	0	0	100	**99.41**	**98.51**	**99.04**
9	0	0	20	0	0	65	0	100	**99.36**	**98.52**	**98.96**
10	0	0	0	20	65	0	0	100	**99.41**	**98.66**	**99.15**
11	0	0	0	20	0	65	0	100	**99.37**	**98.70**	**99.15**
12	0	20	0	0	0	130	0	35	**99.41**	**98.66**	**99.14**
13	0	0	20	0	0	130	0	35	**99.42**	**98.71**	**99.17**
14	0	0	0	20	0	130	0	35	**99.40**	**98.75**	**99.26**
15	0	20	0	0	130	0	0	60	**99.32**	**98.53**	**99.05**
16	0	20	0	20	130	0	0	60	**99.40**	**98.66**	**99.19**

表C-3

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區C中調配物之RP HPLC純度百分比

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	98.04	97.92	98.10
2	18	8	0	0	0	0	65	100	97.94	97.83	98.03
3	20	0	0	0	0	0	65	100	98.03	97.92	98.00
4	20	0	0	0	65	0	0	100	97.94	97.75	97.98
5	0	20	0	0	65	0	0	100	97.98	97.69	97.95
6	20	0	0	0	0	65	0	100	97.89	97.72	97.92
7	0	20	0	0	0	65	0	100	97.80	97.70	97.91
8	0	0	20	0	65	0	0	100	97.98	97.77	98.01
9	0	0	20	0	0	65	0	100	97.98	97.73	97.94
10	0	0	0	20	65	0	0	100	97.98	97.76	98.00
11	0	0	0	20	0	65	0	100	97.87	97.78	97.97
12	0	20	0	0	0	130	0	35	97.88	97.71	97.95
13	0	0	20	0	0	130	0	35	97.95	97.62	97.93
14	0	0	0	20	0	130	0	35	97.98	97.72	98.04
15	0	20	0	0	130	0	0	60	97.91	97.72	97.96
16	0	20	0	20	130	0	0	60	98.00	97.79	97.78

表C-4

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時在區C中調配物之cIEF譜中看見之主要譜帶百分比

調配物編號	pH	T0	t1	t2
1	**8.59**	1.94	1.97	1.82
	8.43	11.76	11.30	12.49
	8.27	58.29	49.88	51.54
	8.20		7.18	7.59
	8.05	21.49	22.38	19.79
	7.86	6.53	5.35	4.66
2	**8.60**	1.96		1.84
	8.44	12.08		10.89
	8.29	51.70		47.63
	8.22	9.74		12.32
	8.09	16.29		18.25
	7.91	3.50		3.64
3	**8.60**	1.83	1.82	1.12
	8.43	11.58	9.67	10.40
	8.27	45.80	32.99	44.04
	8.20	12.44	22.27	18.68
	8.01	17.57	16.21	14.40
	7.86	4.39		3.61
4	**8.57**	2.31	2.04	2.13
	8.41	12.94	11.51	12.62
	8.25	33.37	59.98	61.97
	8.20	23.03		
	8.02	15.21	18.33	16.07
	7.88	3.45	5.32	3.70
5	**8.58**	2.40	2.00	2.30
	8.41	13.01	11.02	12.34
	8.25	42.09	46.32	37.30
	8.21	15.58	10.65	15.80

	8.03	18.48	20.58	16.80
	7.86	3.74	6.13	4.83
6	**8.57**			2.83
	8.38	13.17		13.23
	8.23	32.66		31.18
	8.18	17.52		18.54
	8.02	17.48		13.82
	7.91	5.30		5.83
7	**8.58**	2.08	2.41	2.64
	8.44	13.42	12.64	12.63
	8.27	56.79	52.48	54.76
	8.16	5.36	6.16	6.38
	8.04	16.91	20.09	18.45
	7.94	5.44	4.12	5.15
8	**8.57**	1.76	2.37	1.55
	8.44	14.41	12.13	11.61
	8.29	60.01	48.87	52.94
	8.19		7.07	10.66
	8.10	16.22	16.55	17.10
	7.95	7.61	5.02	4.55
9	**8.58**	2.19	2.06	0.99
	8.41	11.69	10.64	12.73
	8.26	50.07	44.21	60.33
	8.19	10.66	10.39	
	8.01	15.62	21.51	17.79
	7.87	4.67	5.37	8.16
10	**8.57**	1.78	2.64	1.62
	8.41	10.55	10.95	8.11
	8.25	43.82	42.93	36.11
	8.21	15.96	15.24	17.66
	8.02	14.63	14.58	14.22
	7.88	3.82	4.21	3.95
11	**8.58**	1.59	1.81	1.89
	8.41	12.98	11.58	12.86
	8.23	62.74	29.63	12.00

	8.19		22.86	34.77
	8.02	17.15	19.52	17.06
	7.87	5.54	5.56	4.77
12	**8.61**	0.35	1.57	1.47
	8.35	13.24	13.41	8.83
	8.19	43.18	60.12	26.52
	8.15	15.43	20.46	25.60
	7.98	16.74		17.38
	7.88	4.96	4.44	4.99
13	**8.58**	1.71		1.67
	8.41	11.63		10.01
	8.26	49.19		42.65
	8.20	14.25		16.64
	8.03	17.35		18.12
	7.86	4.28		4.18
14	**8.56**	1.64	1.79	1.73
	8.39	13.17	10.45	10.96
	8.25	58.68	46.06	45.60
	8.21		11.03	13.34
	8.07	14.10	20.24	14.50
	7.92	2.10	5.13	4.28
15	**8.57**	1.74	1.22	1.60
	8.41	10.49	15.21	10.78
	8.25	46.06	55.05	44.98
	8.20	14.46		13.79
	8.02	13.90	20.31	10.79
	7.89	4.23	4.90	3.43
16	**8.56**	1.96	1.08	
	8.40	9.25	12.23	12.58
	8.24	38.08	31.03	58.61
	8.20	19.02	22.08	21.50
	8.03	12.00	13.24	7.31
	7.89	4.73	4.82	

表C-5

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區C中調配物之輕鏈(LC)、重鏈(HC)、非糖基化HC及其他物質之譜帶百分比

調配物編號	時間	LC	HC	ngHC	其他物質
1	t0	**35.87**	**63.20**	**0.51**	**0.42**
	t1	**29.71**	**63.08**	**0.37**	**6.84**
	t2	**31.01**	**67.83**	**0.54**	**0.61**
2	t0	**29.50**	**69.57**	**0.56**	**0.37**
	t1	**30.51**	**67.28**	**0.56**	**1.65**
	t2	**32.32**	**65.51**	**0.56**	**1.61**
3	t0	**32.53**	**66.45**	**0.54**	**0.47**
	t1	**33.04**	**65.34**	**0.55**	**1.07**
	t2	**31.94**	**66.60**	**0.57**	**0.90**
4	t0	**33.40**	**64.90**	**0.46**	**1.24**
	t1	**30.96**	**67.16**	**0.52**	**1.36**
	t2	**32.08**	**65.84**	**0.56**	**1.52**
5	t0	**34.17**	**63.89**	**0.49**	**1.45**
	t1	**33.60**	**64.27**	**0.56**	**1.57**
	t2	**32.15**	**66.20**	**0.48**	**1.17**
6	t0	**37.91**	**60.35**	**0.54**	**1.19**
	t1	**34.80**	**62.88**	**0.73**	**1.59**
	t2	**32.90**	**65.62**	**0.50**	**0.99**
7	t0	**32.17**	**66.80**	**0.55**	**0.49**
	t1	**29.83**	**68.33**	**0.59**	**1.25**
	t2	**33.32**	**65.97**	**0.55**	**0.15**
8	t0	**33.83**	**65.51**	**0.49**	**0.17**
	t1	**30.37**	**68.48**	**0.58**	**0.57**
	t2	**32.86**	**66.40**	**0.55**	**0.19**
9	t0	**30.69**	**69.31**	**0.00**	**0.00**
	t1	**34.30**	**64.24**	**0.52**	**0.94**
	t2	**29.08**	**69.87**	**0.62**	**0.43**
10	t0	**38.68**	**59.95**	**0.57**	**0.80**

	t1	**36.52**	**58.65**	**0.00**	**4.83**
	t2	**43.68**	**54.39**	**1.92**	**0.00**
11	t0	**35.25**	**59.00**	**1.75**	**4.00**
	t1	**30.71**	**67.58**	**0.66**	**1.05**
	t2	**30.18**	**67.14**	**0.47**	**2.21**
13	t0	**44.58**	**55.42**	**0.00**	**0.00**
	t1	**37.73**	**60.75**	**0.25**	**1.28**
	t2	**38.05**	**61.44**	**0.52**	**0.00**
14	t0	**32.50**	**66.66**	**0.60**	**0.24**
	t1	**30.91**	**67.77**	**0.61**	**0.70**
	t2	**29.14**	**70.32**	**0.23**	**0.31**
15	t0	**30.07**	**68.95**	**0.63**	**0.35**
	t1	**30.14**	**68.49**	**0.62**	**0.75**
	t2	**31.57**	**67.55**	**0.62**	**0.26**
16	t0	**30.54**	**68.61**	**0.63**	**0.22**
	t1	**29.81**	**68.81**	**0.63**	**0.75**
	t2	**29.46**	**69.14**	**0.59**	**0.81**

區C結果之論述

參照上表C-1，量測pH且發現對於所有調配物而言pH相對穩定。然而，檸檬酸鹽/磷酸鹽調配物之初始pH值稍高。SEC分析中之最不穩定調配物似乎為調配物1，其使用Humira®緩衝劑系統。與之相比，發現使用His作為緩衝劑之調配物及/或含有Gly或Arg之調配物展現最大穩定性(參見表C-2)。在考慮RP HPLC純度時，看到類似趨勢(參見表C-3)。SEC似乎可成為優於RP HPLC之穩定性指示方法，但在綜合考慮時RP HPLC方法似乎確實可指示穩定性。基於上文所匯總之區C數據發現，組胺酸就調配物穩定性而言適於作為較佳緩衝劑，且甘胺酸或精胺酸或其組合亦係用於包含於阿達木單抗調配物中之穩定性增強組份。

藉由cIEF在t1及t2時進一步分析儲存試樣(上表C-4)。專有阿達木單抗材料展現4至5個峰且積分強度大於約1%。一般而言，在儲存時主峰強

度略有小副降低。該等損失通常在t1時大於在t2時。另外，並未觀察到顯著新峰，從而表明發生導致蛋白質之整體電荷發生變化之最小化學降解。數據變化指示，此方法儘管可用於表徵，但似乎並不指示穩定性。

用於評估阿達木單抗調配物之穩定性之最終分析方法係CE-SDS，其基本上係SDS-PAGE平板凝膠之CE形式。此方法指示，在儲存於升高溫度下時LC峰之相對面積有所降低(表C-5)，而新峰(統稱為「其他物質」)之量有所增加。總而言之，對於任一調配物而言，該等變化通常小於2%。在一些試樣中，「其他物質」之百分比在4-6%範圍內，但該等試樣可能係贗品。

區D調配物研究

將另一組調配物評估為「區D」。設計16種調配物以評估作為甘露醇之替代物之其他穩定劑(例如山梨醇及海藻糖) (參見表D)。區D亦檢驗使用甘露醇或NaCl作為唯一張力劑代替使用兩種賦形劑之混合物。調配物之pH穩定性相當良好，但實際初始pH值略低於一些調配物之目標值(表D-1)。

表D

區D研究設計

調配物編號	API	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	海藻糖	甘露醇	NaCl	PS 80
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0.1
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0.1
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0.1
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	65	0	0	100	0.1
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	65	0	100	0.1
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	65	0	0	100	0.1
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	240	0	0.1
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	240	0	0	0	0.1
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	240	0	0	0.1
13	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0.1
14	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0
15	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0.1
16	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0

表D-1

在t0及t1 (一週，40℃)時區D調配物之所量測pH

調配物編號	API	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	海藻糖	甘露醇	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0.1	**5.09**	**5.17**	**5.12**
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0	**5.12**	**5.16**	**5.16**
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0.1	**5.11**	**5.16**	**5.14**
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0	**5.13**	**5.17**	**5.18**
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0.1	**5.19**	**5.25**	**5.24**
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0	**5.16**	**5.24**	**5.17**
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	65	0	0	100	0.1	**5.14**	**5.17**	**5.18**
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	65	0	100	0.1	**5.15**	**5.21**	**5.16**
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	65	0	0	100	0.1	**5.19**	**5.29**	**5.28**
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	240	0	0.1	**5.23**	**5.28**	**5.27**
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	240	0	0	0	0.1	**5.45**	**5.35**	**5.33**
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	240	0	0	0.1	**5.44**	**5.32**	**5.31**
13	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0.1	**5.30**	**5.25**	**5.23**
14	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0	**5.39**	**5.20**	**5.18**
15	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0.1	**5.35**	**5.30**	**5.22**
16	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0	**5.41**	**5.33**	**5.28**

表D-2

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區D中調配物之SEC單體含量

調配物編號	API	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	海藻糖	甘露醇	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0.1	**99.28**	**98.21**	**98.96**
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0	**99.25**	**98.11**	**98.85**
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0.1	**99.25**	**98.16**	**98.86**
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0	**99.27**	**98.26**	**98.92**
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0.1	**99.24**	**98.16**	**98.84**
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0	**99.21**	**98.23**	**98.82**
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	65	0	0	100	0.1	**99.30**	**98.19**	**98.94**
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	65	0	100	0.1	**99.28**	**98.14**	**98.85**
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	65	0	0	100	0.1	**99.29**	**98.23**	**98.90**
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	240	0	0.1		**97.93**	**98.54**
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	240	0	0	0	0.1	**99.32**	**98.65**	**99.00**
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	240	0	0	0.1	**99.32**	**98.53**	**98.96**
13	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0.1	**99.29**	**98.12**	**98.84**
14	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0	**99.28**	**98.28**	**98.90**
15	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0.1	**99.26**	**97.99**	**98.83**
16	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0	**99.20**	**97.76**	**98.62**

表D-3

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區D中調配物之RP HPLC純度百分比

調配物編號	API	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	海藻糖	甘露醇	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0.1	**98.17**	**97.75**	**98.02**
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	65	100	0	**98.09**	**97.84**	**98.08**
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0.1	**98.03**	**97.81**	**98.19**
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	20	0	0	0	65	100	0	**98.17**	**97.85**	**98.06**
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0.1	**98.11**	**97.88**	**98.18**
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	0	0	65	100	0	**98.21**	**97.77**	**98.10**
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	65	0	0	100	0.1	**98.11**	**97.80**	**98.14**
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	65	0	100	0.1	**98.06**	**97.73**	**98.03**
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	20	65	0	0	100	0.1	**98.09**	**97.80**	**98.07**
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	240	0	0.1	**98.13**	**97.82**	**98.08**
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	240	0	0	0	0.1	**98.10**	**97.90**	**98.06**
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	240	0	0	0.1	**98.13**	**97.95**	**98.14**
13	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0.1	**98.07**	**97.79**	**98.02**
14	阿達木單抗生物類似蛋白質	10	0	0	0	0	150	0	**98.13**	**97.78**	**98.14**
15	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0.1	**98.17**	**97.80**	**98.10**
16	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	10	0	0	0	150	0	**98.14**	**97.79**	**98.06**

表D-4

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時在區D中調配物之cIEF譜中看見之主要譜帶百分比

調配物編號	pH	t0	t1	t2
1	**8.56**	2.26		1.81
	8.41	13.84	12.88	11.73
	8.25	62.27	59.80	56.15
	8.14			6.48
	8.04	15.71	22.93	13.73
	7.99	5.92	4.39	4.13
2	**8.55**	2.08		1.58
	8.40	12.89		12.58
	8.24	60.15		53.24
	8.14	5.98		6.69
	8.03	11.92		9.72
	7.98	3.65		5.67
3	**8.57**	1.58	2.10	1.89
	8.41	11.87	11.83	11.99
	8.26	54.93	54.45	54.51
	8.16	9.10	6.31	8.24
	8.05	9.21	11.16	10.22
	7.91	7.60	4.16	5.26
4	**8.57**	3.57	1.82	1.05
	8.40	11.12	10.66	10.83
	8.24	49.37	47.85	42.34
	8.14	3.01	1.83	3.68
	8.03	10.11	10.06	17.12
	7.90	2.78	4.72	3.84
5	**8.55**	2.30	2.18	2.13
	8.40	7.63	8.86	8.63
	8.25	33.90	14.41	16.64
	8.20	23.41	33.90	33.75

	8.03	10.14	20.39	19.42
	7.99	6.76	5.42	4.63
6	**8.59**	1.87		1.39
	8.42	11.25	11.18	11.89
	8.27	50.07	61.72	64.17
	8.20	12.43	22.08	19.18
	8.03	10.20		
	7.91	2.70	5.01	3.38
7	**8.55**			
	8.40			
	8.25			
	8.20			
	8.03			
	7.99			
8	**8.59**	1.46	2.64	1.16
	8.39	13.52	13.62	7.37
	8.22	60.79	50.83	55.40
	8.08	5.21	11.28	9.78
	8.02	15.24	8.55	11.94
	7.91	3.79	3.02	5.18
9	**8.53**	2.64	3.25	1.94
	8.38	13.83	12.72	11.67
	8.25	64.97	51.32	54.14
	8.17	8.33	11.21	8.61
	8.06	11.75	9.98	9.03
	8.01	5.79	4.80	7.31
10	**8.54**	1.78	3.26	
	8.38	13.04	11.19	
	8.21	60.53	44.83	
	8.15	19.60	10.95	
	7.99		9.41	
	7.90	5.05	4.27	
11	**8.52**	1.95	2.11	1.89
	8.36	11.24	12.43	12.43
	8.21	48.64	54.10	59.90

	8.13	11.69		6.31
	8.00	10.30	21.14	11.14
	8.01	5.27	5.64	8.32
12	**8.51**	1.85		
	8.29	11.31	11.38	
	8.18	63.11	45.14	
	8.14	2.54		
	8.05	16.16	22.03	
	7.94	5.03	6.88	
13	**8.62**	3.51		3.05
	8.44	12.44		12.30
	8.29	65.10		51.44
	8.21			12.18
	8.06	15.37		17.25
	7.91	3.58		3.77
14	**8.61**		2.74	1.73
	8.43		10.60	12.19
	8.27		46.23	41.11
	8.21		13.97	10.49
	8.05		18.56	17.52
	7.91		5.15	
15	**8.62**			
	8.35	12.40	10.91	8.34
	8.21	31.87	30.32	36.39
	8.20	41.14	25.57	30.62
	8.02	12.42	13.72	18.26
	7.89	2.18	5.44	3.86
16	**8.61**			
	8.48	12.96	12.86	13.19
	8.34	34.40	31.45	39.25
	8.31	27.74	20.29	18.81
	8.05		22.76	19.35
	7.89	8.17	7.69	4.83

表D-5

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區D中調配物之輕鏈(LC)、重鏈(HC)、非糖基化HC及其他物質之譜帶百分比

調配物編號	時間	LC	HC	ngHC	其他物質
1	t0				
	t1	**34.11**	**62.58**	**0.58**	**2.73**
	t2	**33.19**	**64.28**	**0.60**	**1.92**
2	t0	**30.25**	**66.81**	**0.64**	**2.31**
	t1	**30.61**	**65.79**	**0.54**	**3.07**
	t2	**29.22**	**67.04**	**0.64**	**3.10**
3	t0	**27.48**	**68.51**	**0.59**	**3.42**
	t1	**30.84**	**67.27**	**0.54**	**1.35**
	t2	**30.30**	**68.13**	**0.58**	**0.99**
4	t0	**30.88**	**68.33**	**0.60**	**0.19**
	t1	**29.76**	**68.32**	**0.57**	**1.34**
	t2	**31.49**	**66.95**	**0.55**	**1.01**
5	t0	**33.77**	**64.50**	**0.56**	**1.17**
	t1	**31.59**	**66.54**	**0.52**	**1.34**
	t2	**29.19**	**69.16**	**0.59**	**1.06**
6	t0	**30.90**	**68.08**	**0.56**	**0.47**
	t1	**29.32**	**69.88**	**0.54**	**0.26**
	t2	**31.08**	**67.58**	**0.54**	**0.79**
7	t0	**30.41**	**68.60**	**0.56**	**0.43**
	t1	**30.87**	**66.95**	**0.55**	**1.63**
	t2	**30.14**	**68.28**	**0.55**	**1.03**
8	t0	**31.68**	**67.41**	**0.60**	**0.31**
	t1				
	t2				
9	t0	**29.62**	**68.12**	**0.51**	**1.75**
	t1				
	t2	**29.46**	**68.10**	**0.61**	**1.83**
10	t0	**29.80**	**67.99**	**0.58**	**1.64**

	t1	**30.04**	**65.53**	**0.45**	**3.98**
	t2	**30.41**	**66.27**	**0.53**	**2.80**
11	t0	**29.85**	**67.63**	**0.61**	**1.91**
	t1	**29.02**	**68.18**	**0.60**	**2.20**
	t2	**30.44**	**67.14**	**0.58**	**1.84**
12	t0	**29.38**	**68.11**	**0.55**	**1.96**
	t1	**30.16**	**65.55**	**0.49**	**3.80**
	t2	**28.20**	**69.19**	**0.59**	**2.02**
13	t0	**31.38**	**66.28**	**0.55**	**1.79**
	t1	**33.67**	**64.10**	**0.56**	**1.67**
	t2	**29.72**	**67.99**	**0.58**	**1.71**
14	t0	**37.34**	**60.53**	**0.52**	**1.62**
	t1	**33.03**	**63.46**	**0.53**	**2.97**
	t2	**34.39**	**63.62**	**0.54**	**1.45**
15	t0	**30.20**	**68.42**	**0.59**	**0.79**
	t1	**28.67**	**69.42**	**0.58**	**1.33**
	t2	**29.96**	**68.24**	**0.56**	**1.24**
16	t0	**31.62**	**66.95**	**0.58**	**0.85**
	t1	**30.48**	**66.36**	**0.55**	**2.61**
	t2	**27.94**	**70.17**	**0.60**	**1.29**

區D之結果

該等調配物之pH穩定性相當良好(表D-1)。同樣，使用商業阿達木單抗(Humira®)調配物作為對照(但使用專有阿達木單抗生物類似蛋白質作為API)。商業調配物藉由SEC同樣展示穩定性較使用單一緩衝劑(例如磷酸鹽及His)者差(參見表D-2)。在Humira®中所用之兩種緩衝劑中，吾等現已發現，磷酸鹽係較佳穩定劑。此令人吃驚，因為磷酸鹽在pH 5.2實際上無緩衝能力，而檸檬酸鹽在此pH緩衝良好。此表明，穩定性特徵差異可能由於緩衝劑與蛋白質之直接相互作用，此一吾等認為在商業Humira®調配物之現象先前並不理解或瞭解。因此，選擇磷酸鹽作為阿達木單抗調配物中緩衝劑之對比益處(因調配物穩定性優於選擇檸檬酸鹽/磷酸鹽組合)

構成本發明之重要態樣之一。

在用作該等調配物中之唯一張力劑時，山梨醇及海藻糖皆顯示優於甘露醇之穩定性特徵。亦顯示去除聚山梨醇酯80 (PS 80)略微降低穩定性。調配物10及11由SEC顯示最佳穩定性特徵，該等調配物含有高濃度之山梨醇或海藻糖代替甘露醇/NaCl (表D-2)。該等結果指示，自調配物去除NaCl或將NaCl濃度限制低於某些目標 含量(例如小於約100 mM)將有益於穩定性。

RP數據指示，檸檬酸鹽或磷酸鹽提供優於Humira®中使用該組合之穩定性(表D-3)。同樣，避免檸檬酸鹽/磷酸鹽組合代表本發明之一個重要特徵。尚未知或預測，單獨檸檬酸鹽或單獨磷酸鹽將提供調配物穩定性優於包括檸檬酸鹽及磷酸鹽組合之商業緩衝劑系統。

進行區D試樣之cIEF分析(上表D-4)。如上述，主峰強度略降，未觀察到新峰。在一些情形下，較酸峰之強度略增。主峰減小顯示在t1大於在t2，表明在5℃降解幾乎覺察不到。總體而言，降解似乎小於5% (且可能遠小於5%)，如cIEF所測量(表D-4)。同樣，藉由CE-SDS看到極小降解(表D-5)。看到最多2%至4%之降解，但方法變異性使得難以確定該等為實際變化。調配物1及2及10至14顯示確實具有較高雜質含量(其他物質)。

區E調配物研究

設計此調配物區以評估調配物在不同pH含量下之穩定性。若未指定緩衝劑，則採用乙酸鹽緩衝劑(10 mM) (表E)。次級目標係評估作為甘露醇及NaCl之替代穩定劑之較高濃度且組合之Gly及Arg。

表E

區E研究設計

調配物編號	API	pH	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0.1
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	0	0	0	240	0	0	0	0
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	0	240	0	0	0	0
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	0	0	0	100	100	0	0	0
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	0	100	100	0	0	0
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	3.5	0	0	0	150	50	0	0	0

表E-1

在t0及t1 (一週，40℃)時區E調配物之所量測pH

調配物編號	pH	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	5.15	5.11	**5.21**
2	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1	3.36	3.49	**3.50**
3	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1	5.13	5.24	**5.24**
4	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1	3.31	3.43	**3.45**
5	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1	3.30	3.48	**3.42**
6	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0.1	3.24	3.52	**3.42**
7	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0	3.27	3.59	**3.48**
8	3.5	0	0	0	240	0	0	0	0	3.27	3.33	**3.39**
9	5.2	0	0	0	240	0	0	0	0	5.05	5.25	**5.20**
10	3.5	0	0	0	100	100	0	0	0	3.30	3.45	**3.41**
11	5.2	0	0	0	100	100	0	0	0	5.20	5.38	**5.39**
12	3.5	0	0	0	150	50	0	0	0	3.24	3.38	**3.37**

表E-2

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區E中調配物之SEC單體含量

調配物編號	pH	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	**99.23**	**98.20**	**98.85**
2	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1	**98.82**	**44.15**	**86.37**
3	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**99.30**	**98.37**	**99.02**
4	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**95.85**	**33.51**	**76.21**
5	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1	**97.37**	**26.21**	**77.80**
6	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0.1	**97.79**	**35.67**	**65.83**
7	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0	**99.00**	**55.51**	**90.60**
8	3.5	0	0	0	240	0	0	0	0	**99.24**	**75.60**	**98.24**
9	5.2	0	0	0	240	0	0	0	0	**99.08**	**98.63**	**99.18**
10	3.5	0	0	0	100	100	0	0	0	**99.28**	**51.03**	**91.66**
11	5.2	0	0	0	100	100	0	0	0	**99.32**	**98.54**	**99.09**
12	3.5	0	0	0	150	50	0	0	0	**99.29**	**45.86**	**93.06**

表E-3

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區E中調配物之RP HPLC純度百分比

調配物編號	pH	檸檬酸鹽	磷酸鹽	山梨醇	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	**98.58**	**96.88**	**96.91**
2	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1	**98.51**	**90.29**	**95.99**
3	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**98.50**	**96.90**	**96.83**
4	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**98.56**	**91.18**	**95.55**
5	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1	**98.45**	**90.96**	**95.71**
6	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0.1	**98.71**	**93.28**	**95.38**
7	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0	**98.40**	**90.65**	**96.54**
8	3.5	0	0	0	240	0	0	0	0	**98.03**	**93.94**	**96.82**
9	5.2	0	0	0	240	0	0	0	0	**98.23**	**97.19**	**97.12**
10	3.5	0	0	0	100	100	0	0	0	**98.13**	**91.10**	**96.67**
11	5.2	0	0	0	100	100	0	0	0	**98.13**	**97.17**	**97.12**
12	3.5	0	0	0	150	50	0	0	0	**98.07**	**93.40**	**96.48**

表E-4

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區E中調配物之輕鏈(LC)、重鏈(HC)、非糖基化HC及其他物質之譜帶百分比

調配物編號	時間	LC	HC	ngHC	其他物質
1	t0	**29.97**	**68.80**	**0.59**	**0.64**
	t1	**28.49**	**70.07**	**0.60**	**0.81**
	t2	**28.21**	**70.29**	**0.59**	**0.90**
2	t0	**28.50**	**68.67**	**0.52**	**2.31**
	t1	**29.69**	**50.92**	**0.30**	**19.09**
	t2	**28.76**	**69.64**	**0.60**	**1.00**
3	t0	**24.30**	**74.01**	**0.60**	**1.09**
	t1	**28.27**	**69.63**	**0.60**	**1.51**
	t2	**28.17**	**69.89**	**0.54**	**1.40**

4	t0	**29.45**	**68.73**	**0.56**	**1.26**
	t1	**29.52**	**51.33**	**0.30**	**18.86**
	t2	**27.92**	**65.73**	**0.52**	**5.83**
5	t0	**35.59**	**63.85**	**0.56**	**0.00**
	t1	**32.47**	**48.72**	**0.30**	**18.52**
	t2	**34.98**	**60.88**	**0.46**	**3.68**
6	t0	**34.33**	**63.39**	**0.51**	**1.77**
	t1				
	t2	**35.32**	**61.31**	**0.45**	**2.92**
7	t0	**30.13**	**68.87**	**0.60**	**0.40**
	t1	**28.13**	**54.79**	**0.59**	**16.49**
	t2	**34.39**	**63.32**	**0.53**	**1.76**
8	t0	**33.27**	**64.97**	**0.55**	**1.21**
	t1	**33.20**	**52.62**	**0.33**	**13.85**
	t2	**33.25**	**65.26**	**0.58**	**0.92**
9	t0	**32.28**	**66.34**	**0.57**	**0.81**
	t1	**31.81**	**65.76**	**0.57**	**1.86**
	t2	**31.23**	**66.81**	**0.57**	**1.39**
10	t0	**35.66**	**63.36**	**0.43**	**0.56**
	t1	**24.96**	**58.61**	**0.33**	**16.10**
	t2	**33.44**	**66.03**	**0.53**	**0.00**
11	t0	**29.75**	**69.08**	**0.60**	**0.57**
	t1	**27.67**	**70.83**	**0.61**	**0.89**
	t2	**28.81**	**69.86**	**0.59**	**0.73**
12	t0	**30.23**	**49.07**	**0.26**	**20.44**
	t1	**28.14**	**70.11**	**0.58**	**1.18**
	t2	**29.75**	**69.08**	**0.60**	**0.57**

表E-5

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時在區E中調配物之cIEF譜中看見之主要譜帶百分比

調配物編號	pH	t0	t1	t2
1	**8.56**			
	8.37		12.52	12.65
	8.23		51.77	50.04
	8.14			
	8.03		21.54	12.40
	7.93		14.17	16.26
2			1.88	1.49
	8.37	10.07	17.66	14.15
	8.21	37.52	32.26	33.88
	8.13	19.03	9.96	
	8.01	16.57		28.70
	7.93	4.12	7.45	
4	**8.54**	1.04	2.67	
	8.38	10.50	9.32	
	8.21	68.34	31.91	
	8.13		28.52	
	8.02	16.55	10.05	
	7.88	3.57	8.67	
5				
6				

7				
8				
9	**8.60**	1.40	2.60	3.26
	8.43	10.04	12.33	12.03
	8.26	62.39	63.19	63.89
	8.14			
	8.03	15.00	16.95	16.57
	7.88	7.08	4.93	4.25

區E研究之結果

pH穩定性較為適當，其中許多調配物在t1下發生pH增加，尤其係彼等使用乙酸鹽在低pH下緩衝者(上表E-1)。兩種試樣(調配物6及12)在t1時發生膠凝。

pH3.5試樣之單體含量具有較大損失(表E-3)，而pH 5.2試樣顯示與先前區中所看到相當之穩定性。亦顯而易見，在40℃下之降解遠明顯於在25℃下(儘管儲存兩倍時間長度)。實際上，調配物8在t2時失去小於1%之單體(表E-2)。Gly及Arg調配物皆顯示良好穩定性，前提係將pH保持於5.2。此研究區中之數據證實，發現甘胺酸或精胺酸或其混合物係阿達木單抗調配物中之良好穩定劑。

RP HPLC數據展示純度具有較大降低，但遠非SEC之單體損失大(表E-3)。此表明化學不穩定性小於物理不穩定性。對於SEC結果而言，t1時之穩定性損失更明顯於t2時。

CE-SDS結果展示，新峰具有較大增加，且對於低pH試樣而言在t1時其他種類增加至15-20%(表E-4)。最穩定CE-SDS調配物似乎為調配物11，其含有Gly及Arg二者作為張力改質劑/穩定劑。

對於許多區E試樣而言，在運行cIEF時會遇到一定困難。然而，考慮到在pH 3.5下之顯著較差穩定性，cIEF不可能提供關於彼等穩定性特徵之任何新資訊。舉例而言，調配物4 (pH 3.5)展示主峰在t1時分裂。

區F調配物研究

區F研究意欲使用甘露醇、Gly或Arg作為唯一張力改質劑來探究含His調配物之穩定性(下表F)。其亦可用於評估諸如EDTA及甲硫胺酸(Met)等可有效減緩氧化之添加劑。此外，檢驗一種高檸檬酸鹽濃度調配物及一種高磷酸鹽濃度調配物。

表F

區F研究設計

調配物編號	API	pH	檸檬酸鹽	磷酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80	EDTA	Met
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0	0
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0.5	0
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	10	0	150	0	0	0	0.1	0
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	10	0	150	0	0	0	0.5	0
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	10	0	0	240	0	0	0	10
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	10	0	0	240	0	0	0	50
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	5.2	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0

表F-1

在t0及t1 (一週，40℃)時區F調配物之所量測pH

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	HIS	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80	EDTA	Met	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0	0	**4.67**	**4.88**	**4.77**
2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0.5	0	**5.05**	**5.15**	**5.20**
3	0	0	10	0	150	0	0	0	0.1	0	**5.11**	**5.22**	**5.27**
4	0	0	10	0	150	0	0	0	0.5	0	**4.95**	**5.06**	**5.15**
5	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0	**5.12**	**5.25**	**5.29**
6	0	0	10	0	0	240	0	0	0	10	**4.45**	**4.74**	**4.67**
7	0	0	10	0	0	240	0	0	0	50	**5.03**	**5.24**	**5.24**
8	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0	**5.09**	**5.18**	**5.22**
9	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0	**5.13**	**5.25**	**5.32**
10	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0	**5.08**	**5.24**	**5.24**
11	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	**5.01**	**5.17**	**5.18**
12	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	**5.06**	**5.20**	**5.19**

表F-2

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區F中調配物之SEC單體含量

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80	EDTA	Met	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0	0	**97.69**	**94.75**	**96.06**
2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0.5	0	**99.25**	**98.14**	**98.92**
3	0	0	10	0	150	0	0	0	0.1	0	**99.30**	**98.54**	**99.16**
4	0	0	10	0	150	0	0	0	0.5	0	**99.28**	**98.31**	**99.14**
5	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0	**99.17**	**98.64**	**99.14**
6	0	0	10	0	0	240	0	0	0	10	**99.07**	**98.50**	**99.07**
7	0	0	10	0	0	240	0	0	0	50	**99.29**	**98.92**	**99.24**
8	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0	**99.28**	**98.40**	**99.04**
9	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0	**99.30**	**98.50**	**99.08**
10	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0	**99.31**	**98.60**	**99.23**
11	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	**99.27**	**98.64**	**99.16**
12	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	**99.29**	**98.51**	**99.17**

表F-3

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區F中調配物之RP HPLC純度百分比

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS 80	EDTA	Met	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0	0	**97.47**	**96.89**	**97.98**
2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0.5	0	**97.33**	**97.02**	**97.99**
3	0	0	10	0	150	0	0	0	0.1	0	**97.64**	**97.14**	**98.04**
4	0	0	10	0	150	0	0	0	0.5	0	**97.59**	**97.00**	**97.97**
5	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0	**97.11**	**97.30**	**98.03**
6	0	0	10	0	0	240	0	0	0	10	**97.61**	**97.27**	**98.03**
7	0	0	10	0	0	240	0	0	0	50	**97.55**	**97.37**	**98.08**
8	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0	**97.48**	**97.51**	**98.05**
9	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0	**97.64**	**97.58**	**98.03**
10	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0	**97.68**	**97.41**	**98.06**
11	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	**97.67**	**97.18**	**98.03**
12	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	**97.68**	**97.33**	**98.02**

表F-4

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區F中調配物之輕鏈(LC)、重鏈(HC)、非糖基化HC及其他物質之譜帶百分比

調配物編號	時間	LC	HC	ngHC	其他物質
1	t0	**27.36**	**71.86**	**0.60**	**0.17**
	t1				
	t2	**25.34**	**73.18**	**0.63**	**0.86**
2	t0	**27.80**	**71.07**	**0.60**	**0.53**
	t1	**28.29**	**71.08**	**0.63**	**0.00**
	t2	**27.53**	**70.97**	**0.64**	**0.86**
3	t0	**27.78**	**70.62**	**0.65**	**0.95**
	t1	**28.26**	**70.85**	**0.66**	**0.23**

	t2	**28.26**	**70.50**	**0.63**	**0.61**
4	t0	**28.20**	**70.24**	**0.60**	**0.96**
	t1	**29.17**	**69.30**	**0.74**	**0.80**
	t2	**29.17**	**70.27**	**0.56**	**0.00**
5	t0	**27.50**	**70.74**	**0.59**	**1.17**
	t1	**29.56**	**65.79**	**0.41**	**4.24**
	t2	**28.24**	**69.90**	**0.58**	**1.28**
6	t0	**29.10**	**68.84**	**0.54**	**1.52**
	t1	**28.58**	**69.18**	**0.54**	**1.70**
	t2	**27.47**	**70.39**	**0.54**	**1.60**
7	t0	**27.87**	**70.28**	**0.55**	**1.30**
	t1				
	t2				
8	t0	**34.72**	**64.87**	**0.41**	**0.00**
	t1	**34.94**	**64.53**	**0.53**	**0.00**
	t2	**33.21**	**65.76**	**0.50**	**0.52**
9	t0	**31.96**	**68.04**	**0**	**0**
	t1	**48.51**	**51.49**	**0**	**0**
	t2	**33.15**	**65.82**	**0.57**	**0.46**
10	t0	**27.81**	**71.27**	**0.51**	**0.40**
	t1	**29.59**	**68.46**	**0.53**	**1.43**
	t2	**31.25**	**67.89**	**0.50**	**0.36**
11	t0	**27.33**	**70.80**	**0.61**	**1.26**
	t1	**26.54**	**71.00**	**0.64**	**1.82**
	t2	**29.46**	**69.85**	**0.69**	**0.00**
12	t0	**24.18**	**71.21**	**0**	**4.61**
	t1				
	t2	**28.95**	**68.98**	**0.59**	**1.46**

表F-5

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時在區F中調配物之cIEF譜中看見之主要譜帶百分比

調配物編號	pH	T0	t1	t2
1	**8.65**			2.11
	8.31	13.07	11.43	34.17
	8.24	64.66	67.99	28.67
	8.14			2.29
	8.08	16.13	17.73	15.98
	7.95	6.14		4.80
2	**8.60**	1.56	1.93	1.12
	8.48	12.95	11.26	11.12
	8.24	58.99	55.85	60.37
	8.13	20.98	22.43	18.77
	7.93	3.56	6.41	6.09
	8.60	1.56	1.93	1.12
3	**8.56**		1.56	1.69
	8.34	10.88	12.85	10.83
	8.18	66.93	55.35	62.00
	8.02	17.28	19.04	20.13
	7.89	4.91	11.21	5.35
4	**8.58**	1.86	1.68	
	8.45	13.79	10.61	12.84
	8.27	65.06	51.89	61.94
	8.06	19.29	18.85	25.22
	7.96	6.28	4.91	
5	**8.60**	1.35	1.78	1.45
	8.45	12.35	13.63	8.59
	8.27	60.12	55.07	64.28
	8.07	20.50	20.35	19.73
	7.94	5.69	9.17	5.95
6	**8.55**	1.30	1.30	1.08
	8.43	13.29	13.26	13.23

	8.24	54.83	56.88	61.67
	8.08	20.76	19.79	17.19
	7.96	9.82	8.76	6.84
7	**8.57**	1.28	1.41	2.40
	8.44	12.08	12.63	13.05
	8.27	61.50	55.33	60.70
	8.08	17.55	19.48	17.43
	7.94	5.93	8.92	4.25
8	**8.55**	1.32	0.90	
	8.43	11.51	12.47	10.09
	8.24	62.99	54.09	63.81
	8.05	15.43	22.71	20.91
	7.90	8.75	9.83	5.19
9	**8.59**	1.35		1.63
	8.45	11.59	13.67	11.40
	8.28	63.60	52.70	63.11
	8.06	17.98	24.08	18.57
	7.94	2.28	7.05	5.29
10	**8.57**	1.56	2.50	2.08
	8.45	13.22	11.93	12.90
	8.28	61.86	55.12	61.87
	8.08	17.87	20.99	18.74
	7.97	5.50	4.71	4.41
11	**8.59**	1.43	1.19	
	8.45	12.25	11.42	9.85
	8.28	58.83	59.88	64.13
	8.08	18.18	22.06	17.46
	7.97	9.61	5.45	6.97
12	**8.56**	1.64	1.39	0.94
	8.39	15.30	13.07	15.71
	8.21	63.76	59.71	62.92
	8.02	16.72	20.51	16.60
	7.97	2.58	4.21	3.85

區F之結果

在此調配物區中，pH值皆略低於pH 5.2之目標值(表F-1)。此外，對於大部分調配物而言，在t1時量測時，pH改變約0.1個單位。如下文所論述，在構建數據之數學模型時，應考慮該等差異。

添加EDTA似乎確實會改良最差調配物(調配物1)之穩定性。一般而言，基於SEC數據，是否增加穩定性不太明瞭(表F-2)。在儲存時，含有高濃度Arg或Gly之調配物皆實施相當良好(表F-2)。

初始RP HPLC純度普遍低於該等調配物之預期純度(表F-3)。在t1及t2下儲存時，存在一些輕微差異，其中基於Gly之調配物及基於Arg之調配物展示最大穩定性。基於RP HPLC數據，EDTA似乎並非顯著穩定劑(表F-3)。同樣，Met對於穩定性之效應似乎最小，如藉由RP HPLC或SEC所量測，最高Met濃度之單體含量除外(表F-2，調配物7)。

CE-SDS分析指示，在儲存時發生極少降解(「其他物質」之增加通常小於1%) (表F-4)。然而，一些調配物在開始時具有較高「其他物質」含量(例如調配物4至7)。該等調配物皆係使用高甘露醇濃度(240 mM)之調配物。含有120 mM甘露醇之調配物同樣如此。

對於cIEF分析而言，主峰之相對強度至少以容許辨別穩定性趨勢之系統化方式具有較小變化(表F-5)。一般而言，t2時之變化小於t1時。

區G調配物研究

區G調配物研究檢驗使用Gly及Arg之組合作為主要穩定劑之各種調配物(表XXXIV)。此外，除PS 80外，評估兩種其他表面活性劑(Pluronic F-68及聚山梨醇酯20 (PS 20))。最後，評估各種PS 80濃度。

表G

區G研究設計

調配物編號	API	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	HIS	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	F68	PS20	PS80
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0

表G-1

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，40℃)時區G調配物之所量測pH

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	F68	PS20	PS80	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1	**5.19**	**5.38**	**5.25**
2	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0	**5.23**	**5.28**	**5.24**
3	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0	**5.22**	**5.26**	**5.20**
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1	**5.20**	**5.33**	**5.29**
5	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05	**5.23**	**5.34**	**5.29**
6	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01	**5.19**	**5.40**	**5.27**
7	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0	**5.23**	**5.39**	**5.42**
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	**5.19**	**5.38**	**5.41**
9	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05	**5.19**	**5.27**	**5.24**
10	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0	**5.23**	**5.28**	**5.24**
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01	**5.23**	**5.33**	**5.27**
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0	**5.22**	**5.29**	**5.29**

表G-2

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區G中調配物之SEC單體含量

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	F68	PS20	PS80	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1	**99.17**	**97.45**	**98.09**
2	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0	**99.11**	**97.78**	**98.09**
3	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0	**98.99**	**97.74**	**97.92**
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1	**99.12**	**98.67**	**98.68**
5	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05	**99.05**	**98.57**	**98.53**
6	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01	**99.05**	**98.66**	**98.70**
7	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0	**99.04**	**98.63**	**98.50**
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	**99.11**	**98.64**	**98.55**
9	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05	**99.12**	**98.56**	**98.98**
10	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0	**99.10**	**98.49**	**98.88**
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01	**99.07**	**98.76**	**98.45**
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0	**99.11**		**98.48**

表G-3

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區G中調配物之RP HPLC純度百分比

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	His	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	F68	PS20	PS80	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1	**99.74**	**99.66**	**98.93**
2	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0	**99.59**	**99.66**	**98.97**
3	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0	**99.58**	**99.60**	**99.22**
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1	**99.62**	**99.62**	**98.99**
5	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05	**99.70**	**99.61**	**99.01**
6	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01	**99.60**	**99.66**	**99.00**
7	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0	**99.71**	**99.65**	**98.99**
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	**99.70**	**99.61**	**99.03**
9	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05	**99.71**	**99.60**	**99.03**
10	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0	**99.72**	**99.60**	**99.02**
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01	**99.72**	**99.61**	**99.05**
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0	**99.61**		**99.04**

表G-4

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區G中調配物之輕鏈(LC)、重鏈(HC)、非糖基化HC及其他物質之譜帶百分比

調配物編號	時間	LC	HC	ngHC	其他物質
1	t0	**28.55**	**70.77**	**0.50**	**0.17**
	t1	**29.71**	**69.42**	**0.57**	**0.30**
	t2	**30.32**	**68.80**	**0.53**	**0.35**
2	t0	**37.14**	**62.38**	**0.49**	**0.00**
	t1	**30.31**	**69.38**	**0.28**	**0.03**
	t2	**31.60**	**67.87**	**0.53**	**0.00**
3	t0	**28.95**	**70.40**	**0.65**	**0.00**
	t1	**28.17**	**70.26**	**0.58**	**0.99**

	t2	**27.32**	**71.52**	**0.56**	**0.59**
4	t0	**29.56**	**69.02**	**0.65**	**0.77**
	t1	**32.19**	**66.09**	**0.53**	**1.19**
	t2	**31.58**	**66.03**	**0.57**	**1.81**
5	t0	**36.54**	**62.48**	**0.56**	**0.42**
	t1	**28.77**	**69.28**	**0.62**	**1.33**
	t2	**23.76**	**74.49**	**0.60**	**1.16**
6	t0	**29.60**	**68.61**	**0.58**	**1.21**
	t1	**30.37**	**67.42**	**0.59**	**1.61**
	t2	**32.27**	**66.08**	**0.59**	**1.06**
7	t0	**31.90**	**65.50**	**0.63**	**1.97**
	t1	**31.26**	**66.66**	**0.56**	**1.51**
	t2	**31.37**	**66.64**	**0.67**	**1.31**
8	t0	**31.04**	**67.38**	**0.54**	**1.04**
	t1	**30.34**	**67.99**	**0.62**	**1.05**
	t2	**30.21**	**67.63**	**0.68**	**1.48**
9	t0	**33.12**	**65.34**	**0.61**	**0.94**
	t1	**34.01**	**63.97**	**0.56**	**1.46**
	t2	**34.47**	**63.77**	**0.57**	**1.19**
10	t0	**36.78**	**61.61**	**0.54**	**1.07**
	t1	**39.25**	**58.66**	**0.53**	**1.56**
	t2	**32.83**	**65.42**	**0.55**	**1.21**
11	t0	**36.37**	**61.97**	**0.54**	**1.11**
	t1				
	t2	**34.97**	**63.14**	**0.54**	**1.36**
12	t0	**34.26**	**64.16**	**0.52**	**1.05**
	t1				
	t2	**34.90**	**63.35**	**0.56**	**1.19**

表G-5

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時在區G中調配物之cIEF譜中看見之主要譜帶百分比

調配物編號	pH	t0	t1	t2
1	**8.53**	1.24		1.21
	8.36	14.30	12.69	13.67
	8.24	64.03	53.50	60.30
	8.14			
	8.01	15.77	9.32	19.12
	7.86	3.73	3.35	4.48
2	**8.52**	1.06	1.37	0.88
	8.35	13.10	13.30	12.53
	8.16	66.28	59.68	57.99
	7.97	17.14	19.60	21.55
	7.83	2.42	4.78	4.92
3	**8.51**	0.65	0.65	1.03
	8.34	13.31	14.00	15.31
	8.16	65.13	59.04	60.70
	8.14			
	7.98	17.26	18.90	17.56
	7.82	2.89	5.68	4.16
4	**8.36**	1.87	2.43	1.00
	8.19	7.74	10.89	11.69
	7.99	61.91	54.27	59.10
	7.82	20.94	22.72	19.81
	7.66	6.35	7.98	6.92
5	**8.44**	1.79	0.95	071
	8.26	13.33	12.85	10.43
	8.06	61.67	59.94	60.12
	7.88	17.49	21.08	20.82
	7.69	4.02	4.50	6.50
6	**8.36**	1.71	4.76	

	8.21	12.37	12.93	10.95
	8.04	62.53	54.16	56.48
	7.87	19.24	26.08	17.97
	7.64	4.15	2.07	6.50
7	**8.54**	0.77	1.19	0.79
	8.34	7.15	12.32	13.15
	8.17	54.73	42.64	60.58
	8.02	22.18	29.90	17.28
	7.83	7.12	11.47	4.77
	7.69	1.41	2.48	2.11
8	**8.55**		1.04	2.11
	8.39	7.28	10.69	14.82
	8.23	64.01	57.42	55.68
	8.05	20.81	23.86	23.76
	7.96	6.79	5.37	5.74
9	**8.54**			
	8.48	10.99	7.91	
	8.31	53.85	61.43	
	8.17	31.58	23.83	
	7.99		8.82	
	7.85	3.58	3.27	
10	**8.50**	0.95	2.16	
	8.36	9.10	10.65	15.79
	8.18	59.02	55.35	58.56
	8.02	23.76	24.79	25.66
	7.87	5.63	7.05	
11	**8.58**		2.08	1.68
	8.40	9.74	10.05	9.67
	8.21	62.70	56.96	57.36
	8.05	21.39	24.14	25.18
	7.99	5.24	6.77	6.11
12	**8.54**	1.67		
	8.37	15.99		
	8.22	63.18		
	8.02	15.41		
	7.82	3.75		

表G-6

用於F/T及攪動研究之區G研究設計

調配物編號	API	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	HIS	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	F68	PS20	PS80
1	阿達木單抗生物類似蛋白質	**8**	**18**	**0**	**0**	**0**	**0**	**65**	**100**	**0**	**0**	**0.1**
2	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0
3	阿達木單抗生物類似蛋白質	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0
4	阿達木單抗生物類似蛋白質	**0**	**0**	**0**	10	120	120	0	0	0	0	0.1
5	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05
6	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01
7	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0
8	阿達木單抗生物類似蛋白質	**0**	**0**	**0**	10	120	120	0	0	0.1	0	0
9	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05
10	阿達木單抗生物類似蛋白質	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0
11	阿達木單抗生物類似蛋白質	**0**	**0**	**0**	20	150	100	0	0	0	0	0.01
12	阿達木單抗生物類似蛋白質	**0**	**0**	**0**	20	120	120	0	0	0	0.01	0

表G-7

區G中未處理(Q，靜止)、經受5個F/T循環或經受攪動24小時之所選調配物之SEC單體含量

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	HIS	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	F68	PS20	PS80	Q	F/T	攪動
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1	**99.15**	**99.03**	**99.14**
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1	**99.21**	**99.11**	**99.18**
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	**99.18**	**99.14**	**99.17**
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01	**99.16**	**99.09**	**99.13**
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0		**99.10**	

表G-7

區G中未處理(Q，靜止)、經受5個F/T循環或經受攪動24小時之所選調配物之RP HPLC純度百分比

調配物編號	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	HIS	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	F68	PS20	PS80	Q	F/T	攪動
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1	**99.60**	**99.72**	**99.76**
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1	**99.56**	**99.70**	**99.59**
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	**99.58**	**99.57**	**99.73**
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01	**99.72**	**99.59**	**99.65**
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0	**99.75**	**99.56**	

區G之結果

所有pH值皆接近目標值(表G-1)，其中在儲存時發生相對較小變化。就穩定性而言，聚山梨醇酯似乎略優於F-68，如藉由SEC所量測(表G-2)。然而，差異相對較小。琥珀酸鹽調配物(調配物9及10)似乎確實在保留單體含量方面之性能相當良好。

RP HPLC數據皆極為接近，從而使得實際上不可能存在關於穩定性差異之任何測定(表G-3)。該等數據僅在所有篩選研究區之較大範圍中檢

驗時方可解釋。

CE-SDS結果表明，PS 20在0.1%濃度下係用於Humira®調配物之最佳穩定劑(調配物1至3) (表G-4)。另外，差異似乎過小且可變以致無法作出任何一般性結論。

如先前所看到，cIEF數據結果足夠可變以致難以解釋(表G-5)。Gly/Arg調配物中之變化似乎確實小於使用其他穩定劑(例如甘露醇)之調配物。另外，總而言之，對於此研究中之許多調配物而言，cIEF穩定性相當良好。

區G (F/T及攪動)研究。

對於液體調配物而言，評估對於界面應力之敏感性較為重要。選擇兩種應力研究。第一種係以150 rpm在2-8℃下於定軌振盪器上攪動24小時。第二種係5個冷凍及解凍(F/T)之連續循環，其中此循環應生成增加量之損害蛋白質(若蛋白質對界面損害敏感)。選擇4種來自區G之調配物進行評價，且在表G-6中將其以藍色黑體字突出顯示。

在重複F/T循環後，所測試所有調配物之單體含量具有極小降低(表G-7)。因此，似乎對此應力具有較小界面敏感性且PS 80之存在對於保護作用而言並不重要。對於經攪動試樣而言，損失甚至更小。RP HPLC數據中之趨勢基本上相同(表G-7)。在暴露於界面應力後，具有較小(若存在)純度損失。

區H調配物研究

區H調配物著眼於阿達木單抗調配物之三個態樣：(1)較高蛋白質濃度，(2)不存在緩衝劑之調配物(除蛋白質外)，及(3)使用除檸檬酸鹽-磷酸鹽外之各種緩衝劑組合(參見下表H)。

表H

區H研究設計

調配物編號	API	蛋白質	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	HIS	乙酸鹽	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS80
1	***	100	8	18	0	0	0	0	0	65	100	0.1
2	***	100	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0.1
3	***	50	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0.1
4	***	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0.1
5	***	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0
6	***	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0.1
7	***	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0.1
8	***	50	0	10	0	10	0	0	0	65	100	0.1
9	***	50	0	0	10	0	10	0	0	65	100	0.1
10	***	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0.1
11	***	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0.1
12	***	50	0	0	10	10	0	120	100	0	0	0.1

***表示專有阿達木單抗生物類似蛋白質

表H-1

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，40℃)時區H調配物之所量測pH

調配物編號	蛋白質	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	組胺酸	乙酸鹽	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS80	t0	t1	t2
1	100	8	18	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**5.19**	**5.30**	**5.29**
2	100	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0.1	**5.20**	**5.19**	**5.15**
3	50	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**5.21**	**5.23**	**5.21**
4	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0.1	**5.21**	**5.41**	**5.46**
5	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0	**5.21**	**5.30**	**5.39**
6	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0.1	**5.20**	**5.28**	**5.28**
7	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0.1	**5.21**	**5.24**	**5.24**
8	50	0	10	0	10	0	0	0	65	100	0.1	**5.20**	**5.17**	**5.16**
9	50	0	0	10	0	10	0	0	65	100	0.1	**5.21**	**5.24**	**5.29**
10	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0.1	**5.20**	**5.24**	**5.26**
11	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0.1	**5.21**	**5.24**	**5.26**
12	50	0	0	10	10	0	120	100	0	0	0.1	**5.21**	**5.26**	**5.29**

表H-2

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區H中調配物之SEC單體含量

調配物編號	蛋白質	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	組胺酸	乙酸鹽	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS80	t0	t1	t2
1	100	8	18	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**99.25**	**98.36**	**98.42**
2	100	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0.1	**99.19**	**98.88**	**98.47**
3	50	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**99.06**	**98.81**	**98.74**
4	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0.1	**99.19**	**99.06**	**98.99**
5	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0	**99.26**	**99.03**	**98.96**
6	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0.1	**99.26**	**98.92**	**98.86**
7	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0.1	**99.14**	**98.98**	**98.93**
8	50	0	10	0	10	0	0	0	65	100	0.1	**99.11**	**98.93**	**98.66**
9	50	0	0	10	0	10	0	0	65	100	0.1	**99.16**	**98.79**	**98.63**
10	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0.1	**99.10**	**98.79**	**98.49**
11	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0.1	**99.21**	**98.93**	**98.18**
12	50	0	0	10	10	0	120	100	0	0	0.1	**99.30**	**99.22**	**98.65**

表H-3

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區H中調配物之RP HPLC純度百分比

調配物編號	蛋白質	檸檬酸鹽	磷酸鹽	琥珀酸鹽	組胺酸	乙酸鹽	Gly	Arg	甘露醇	NaCl	PS80	t0	t1	t2
1	100	8	18	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**99.36**	**99.64**	**99.64**
2	100	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0.1	**99.37**	**99.68**	**99.74**
3	50	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0.1	**99.45**	**99.47**	**99.70**
4	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0.1	**99.50**	**99.69**	**99.59**
5	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0	**99.47**	**99.71**	**99.56**
6	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0.1	**99.48**	**99.56**	**99.72**
7	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0.1	**99.43**	**99.45**	**99.72**
8	50	0	10	0	10	0	0	0	65	100	0.1	**99.43**	**99.51**	**99.72**
9	50	0	0	10	0	10	0	0	65	100	0.1	**99.47**	**99.55**	**99.72**
10	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0.1	**99.48**	**99.53**	**99.67**
11	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0.1	**99.45**	**99.69**	**99.60**
12	50	0	0	10	10	0	120	100	0	0	0.1	**99.44**	**99.54**	**99.72**

表H-4

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時區H中調配物之輕鏈(LC)、重鏈(HC)、非糖基化HC及其他物質之譜帶百分比

調配物編號	時間	LC	HC	ngHC	其他物質
1	t0	**32.87**	**65.48**	**0.54**	**1.11**
	t1	**28.08**	**70.09**	**0.58**	**1.25**
	t2	**52.57**	**47.43**	**0.00**	**0.00**
2	t0	**36.20**	**62.40**	**0.55**	**0.86**
	t1	**29.64**	**68.68**	**0.57**	**1.11**
	t2	**43.09**	**55.23**	**0.57**	**1.10**
3	t0	**34.70**	**63.55**	**0.57**	**1.18**
	t1	**28.24**	**69.72**	**0.61**	**1.57**
	t2	**34.25**	**63.97**	**0.67**	**1.11**
4	t0	**41.04**	**57.61**	**0.51**	**0.84**
	t1	**27.58**	**70.65**	**0.62**	**1.15**
	t2	**34.14**	**64.01**	**0.60**	**1.26**
5	t0	**37.64**	**60.77**	**0.50**	**1.09**
	t1	**28.07**	**70.02**	**0.61**	**1.30**
	t2	**37.67**	**60.76**	**0.55**	**1.02**
6	t0	**31.64**	**66.46**	**0.55**	**1.34**
	t1	**27.67**	**70.19**	**0.50**	**1.64**
	t2	**34.07**	**63.49**	**0.62**	**1.81**
7	t0	**30.38**	**69.10**	**0.53**	**0.00**
	t1	**27.14**	**70.55**	**0.62**	**1.69**
	t2	**46.41**	**51.21**	**0.00**	**2.38**
8	t0	**28.46**	**71.19**	**0.35**	**0.00**
	t1	**30.05**	**68.71**	**0.55**	**0.69**
	t2	**34.14**	**63.97**	**0.63**	**1.25**
9	t0	**27.74**	**70.63**	**0.60**	**1.03**
	t1	**27.48**	**70.48**	**0.61**	**1.43**
	t2	**36.56**	**61.59**	**0.49**	**1.36**
10	t0				

	t1	**27.69**	**70.46**	**0.60**	**1.24**
	t2				
11	t0	**27.64**	**70.83**	**0.57**	**1.13**
	t1	**31.85**	**66.08**	**0.61**	**1.46**
	t2	**38.58**	**59.26**	**0.52**	**1.64**
12	t0	**29.48**	**68.55**	**0.58**	**1.40**
	t1	**29.53**	**68.68**	**0.58**	**1.40**
	t2	**30.64**	**68.20**	**0.70**	**0.46**

表H-5

在t0、t1 (一週，40℃)及t2 (兩週，25℃)時在區H中調配物之cIEF譜中看見之主要譜帶百分比

調配物編號	**pH**	**t0**	**t1**	**t2**
1	**8.55**	1.20	1.17	1.21
	8.39	9.57	5.57	8.23
	8.23	46.84	38.18	39.78
	7.99	13.67	12.64	11.62
	7.81	6.93	4.61	3.70
2	**8.43**	1.17	1.06	1.38
	8.26	8.97	8.15	8.38
	8.09	45.46	40.27	39.95
	7.87	13.37	16.45	6.77
	7.72	5.47	5.39	9.55
	7.56	1.64	1.52	3.33
3	**8.36**	0.80	0.74	0.61
	8.16	6.02	6.03	7.30
	7.98	35.60	35.58	37.24
	7.83	11.75	14.10	13.15
	7.64	2.17	4.78	2.00
	7.51	1.23	1.81	
4	**8.40**	0.82	0.74	0.30
	8.22	7.87	7.38	6.29

	8.04	42.46	34.42	35.89
	7.89	14.44	13.71	11.34
	7.71	3.18	3.31	2.69
	7.56	0.98	0.95	
5	**8.42**	0.82		1.02
	8.25	7.22		5.09
	8.07	34.68		28.99
	7.91	2.67		3.63
	7.86	10.63		7.83
	7.72	2.52		2.05
6	**8.42**	1.17	1.28	1.22
	8.23	9.88	8.56	7.90
	8.09	45.26	40.45	40.80
	7.94	13.23	16.50	13.28
7	**8.59**	1.79	1.45	1.90
	8.45	11.74	11.32	11.51
	8.28	59.90	61.63	56.22
	8.05	20.34	19.49	22.98
	7.92	6.24	6.11	7.39
8	**8.58**	1.59	2.94	1.38
	8.44	11.86	12.83	12.12
	8.26	61.08	60.20	63.05
	8.05	20.21	24.03	23.45
	7.88	5.25		6.55
9	**8.61**	1.22	1.42	1.21
	8.48	12.47	12.36	11.00
	8.33	56.64	54.59	55.34
	8.10	23.37	23.81	25.31
	7.94	6.30	7.83	

區H之結果

該等調配物之pH穩定性可接受(< 0.1個單位)，調配物4及5除外。該等調配物係使用Gly及Arg作為穩定劑之無緩衝劑調配物(表H-1)。調配物1 (具有100 mg/ml蛋白質濃度之Humira®調配物)之pH亦略有升高。

使用SEC及RP HPLC監測區H調配物之穩定性。單體含量具有較小損失，其中調配物1之SEC穩定性似乎最小(表H-2)。在100 mg/ml阿達木單抗生物類似API下，含有Gly及Arg之組胺酸緩衝調配物似乎相當穩定。一般而言，最佳緩衝劑組合似乎為His-琥珀酸鹽(調配物7及12)。含有Gly及Arg之無緩衝劑調配物亦展示可接受之穩定性(表H-2)。RP HPLC數據指示，無緩衝劑調配物(4及5)可能並非如藉由SEC所展示一般(表H-3)，且純度具有可量測降低，但對於獲得具有長期穩定性之調配物而言可視為滿意。

CE-SDS數據檢測到在調配物12 (其係His-琥珀酸鹽調配物)中具有最小變化(表H-4)。調配物7 (其亦係His-琥珀酸鹽調配物，但使用甘露醇及NaCl作為張力改質劑)在t1時發生最大變化。

PLS建模

PLS方法

使用稱為部分最小平方(PLS)之化學計量方法一起分析區A至H中阿達木單抗調配物之數據。

已公開PLS建模之詳細闡述。例如參見Katz, M.H. *Multivariate Analysis: A Practice Guide for Clinicians*. Cambridge University Press, New York，第158-162頁(1999)；Stahle, L., Wold, K., Multivariate data analysis and experimental design in biomedical research. *Prog. Med.*

Chem. **1988**, **25**: 291-338；Wold S. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2001**, **58**: 109-130；及 Martens, H.; Martens, M. *Multivariate Analysis of Quality: An Introduction*, Wiley and Sons, Chichester, UK (2001)。

對於存在適當數量試樣(一起形成所謂的X-矩陣)之任一較大值矩陣而言，可構建闡釋所關注獨立變量(Y-矩陣)之最大方差量之數學模型。X-矩陣變化與端點(Y矩陣)間之關係之最佳單一闡述稱為第一主分量PC1。下一重要(就闡述Y-矩陣方差而言)分量稱為第二主分量PC2等等。極為通常地，需要僅一個或兩個PC來闡釋Y-矩陣中之大部分方差。該等PC中之每一者含有來自X-矩陣中之每一變量之一定貢獻。若X-矩陣內之變量在很大程度上有助於構建給定PC，則可將其歸類為顯著性。實際上，可計算給定模型之X-矩陣中每一變量之回歸係數，其中模型係某些PC之複合體以適當闡述Y-矩陣。總而言之，PLS自X-矩陣獲取資訊，計算期望數量之PC，且構建適宜模型。包含所有試樣之模型稱為校準模型[1、2]。總體測定係數(r^2)指示模型之品質。使用Unscrambler®軟體(CAMO, Corvallis, OR)實施所有PLS計算。使用Y-矩陣中之單一變量進行之PLS分析稱為PLS1分析。構造擬合Y-矩陣中之多個變量之模型稱為PLS2分析。

使用標準技術對所有校準模型實施全交叉驗證。簡言之，每次去除一種試樣，再校準數據組，且構建新模型。重複此過程直至達到所有校準試樣且量化為驗證模型為止。因此，含有所有試樣之一組稱為校準組且交叉驗證之後之組稱為驗證組。使用傑克刀算法(jack-knife algorithm) (參見Martens等人)來測定用於構建上述PLS模型之任一因子之統計學顯著性。

阿達木單抗調配物之PLS建模

(區B、C及D)

(參見圖3至12)

注意：圖3至12中所繪示之PLS表面圖形係基於自區B、C及D獲得之數據。下文論述反映於圖3至12中所展示PLS表面圖線中之發現。

PLS模型1 -圖3。

圖3繪示隨檸檬酸鹽及磷酸鹽濃度而變化之t1時單體含量(模型1)。pH已固定於5.2。該模型指示，磷酸鹽及檸檬酸鹽以及酒石酸鹽及馬來酸鹽本身係弱去穩定劑(並無統計學顯著性)。與之相比，琥珀酸鹽(其在結構上類似於檸檬酸鹽、酒石酸鹽及馬來酸鹽)係弱穩定劑。發現可作為顯著穩定劑之唯一緩衝劑係組胺酸。不能基於文獻或每一緩衝劑之化學結構之檢驗來預測該等發現。該模型亦指示，在一起使用檸檬酸鹽及磷酸鹽緩衝劑時，調配物之穩定性最小。若僅使用單一緩衝劑、尤其磷酸鹽，則穩定性得以改良。此令人吃驚，此乃因磷酸鹽在pH 5.2下具有較小或並無緩衝能力，而檸檬酸鹽緩衝劑在此情形下具有一定緩衝能力。不能基於業內已知情形來預測此行為。

PLS模型2 -圖4。

圖4繪示t2時單體含量(模型2)。同樣，使用t2時之SEC單體含量作為端點來構建模型。此模型亦顯示，在一起使用檸檬酸鹽及磷酸鹽時，穩定性最低。在檸檬酸鹽高於10 mM且磷酸鹽介於5 mM與15 mM之間時，展示最低穩定性。在降低檸檬酸鹽濃度及/或降低或升高磷酸鹽濃度時，穩定性得以改良。該等發現表明，單一緩衝劑組合物較佳。在PLS模型1中亦看到關於緩衝劑穩定作用之相同趨勢，其中檸檬酸鹽及磷酸鹽係弱穩定

劑(並非統計學顯著)，而組胺酸係強穩定劑(統計學顯著)。

PLS模型1 -圖5。

圖5係展示組胺酸及甘胺酸對於調配物穩定性之效應之PLS模型1。其繪示t1時單體含量(模型1)。此模型指示，組胺酸及甘胺酸之組合得到極良好穩定性結果。組胺酸(His)及甘胺酸(Gly)二者經測定係穩定劑。反應表面上之最低穩定性(以藍色展示)出現於His及Gly具有最低濃度時。His對於穩定性之效應較大，其中20 mM His與120 mM Gly提供相當穩定作用(參見圖形中之對角)。該模型指示，使用兩種賦形劑對於穩定性具有加和益處，其中最高穩定性發生於His濃度為20 mM且Gly濃度為120 mM時。

PLS模型1 -圖6。

圖6係展示精胺酸及山梨醇對於調配物穩定性之效應之PLS模型1。其繪示t1時單體含量(模型1)。此模型指示，精胺酸係良好穩定劑，而山梨醇係較差穩定劑。同樣，精胺酸(Arg)提供類似於針對Gly所發現穩定程度之穩定程度。由此模型所指示之最差穩定性出現於Arg濃度較低且山梨醇濃度較低時(圖形中之藍色區域)。隨著增加每一賦形劑之濃度，t1時單體含量亦有所增加。山梨醇效應與濃度大致呈線性，而Arg效應在濃度超過60 mM時似乎增加地更快。儘管預計山梨醇就保留單體含量而言會增加阿達木單抗穩定性，但其增加穩定性之能力小於針對Gly及Arg所發現者(以莫耳計)。

PLS模型1 -圖7。

圖7係展示pH及組胺酸對於調配物穩定性之效應之PLS模型1。其繪示t1時單體含量(模型1)。此模型指示，組胺酸似乎係最佳緩衝劑，而pH

應較佳為5或較更高以獲得最佳穩定性。

PLS模型2 -圖8。

圖8係展示pH及組胺酸對於調配物穩定性之效應之PLS模型2。其繪示t2時單體含量(模型2)。此模型指示，組胺酸似乎係最佳緩衝劑，而pH應較佳為5或較更高以獲得最佳穩定性。結果指示，最佳pH接近5.2。在檢驗之所有緩衝劑中，組胺酸提供最大穩定程度。此反應表面圖解說明兩個重要點。首先，穩定性似乎在接近pH 5.2處最大，而在較高及較低pH下有所降低。第二，展示組胺酸可顯著增加穩定性。在使用20 mM組胺酸時，其與較低緩沖劑濃度相比顯著增加穩定性。實際上，該效應似乎為非線性，且在10 mM至20 mM上發生之穩定作用大於0至10 mM時。另外，在較高pH下之穩定性損失與較低pH相比更具突變性。

PLS模型2 -圖9。

圖9係展示海藻糖及PS80對於調配物穩定性之效應之PLS模型2。其繪示t2時單體含量。此模型指示，海藻糖似乎係弱穩定劑，而PS80會改良熱穩定性。圖9中所展示之反應表面指示，PS 80係用於保護阿達木單抗以抵抗熱應力之強力穩定劑，其中0.1%濃度提供最大穩定性。PS 80濃度除0及0.1%外並無變化。與之相比，此模型展示，海藻糖之穩定效應相當小，且必定小於使用山梨醇所看到者。

PLS模型2 -圖10。

圖10係展示甘露醇及PS80對於調配物穩定性之效應之PLS模型2。其繪示t2時單體含量(模型2)。此模型指示，甘露醇似乎係去穩定劑，而PS80可改良熱穩定性。使用t2時SEC單體含量之PLS模型使得可檢驗模型中所包含任一因子之相對效應。隨著甘露醇濃度增加，總體穩定性有所降

低。與之相比，PS80對於穩定性之影響極小。

PLS模型1 -圖11。

圖11係展示甘露醇及NaCl對於調配物穩定性之效應之PLS模型1。其繪示t1時單體含量(模型1)。此模型指示，甘露醇及NaCl似乎皆係去穩定劑。穩定性(如由t1時單體含量所指示)在甘露醇濃度係低於150 mM之任一值時最低。同樣，添加NaCl亦減小阿達木單抗穩定性。

PLS模型1 -圖12。

圖12係展示EDTA及甲硫胺酸對於調配物穩定性之效應之PLS模型1。其繪示t1時單體含量。在EDTA之情形下，穩定性因該添加劑之濃度有所增加而略有降低。與之相比，添加Met似乎會改良穩定性。

阿達木單抗調配物之PLS建模

(區B至G)

(參見圖13至28)

第一PLS模型(「PLS模型A」)

第一PLS模型(PLS模型A)使用t1時單體含量之差作為端點。該模型採用三種PC且校準組之相關係數為0.83以及驗證組之r值為0.67。其係包含pH-緩衝劑及緩衝劑-緩衝劑相互作用項之二次模型。

表J

PLS 「模型A」係數

注意：每一線性因子之總體相關係數包含於使用t1時之SEC單體含量差作為端點之第一PLS模型(PLS模型A)中。視為統計學顯著之因子以黑體字突出顯示。

因子	*r值*
pH t0	0.041
蛋白質	-0.025
檸檬酸鹽	**+0.123**
磷酸鹽	**+0.267**
琥珀酸鹽	-0.089
組胺酸	-0.174
乙酸鹽	-0.053
甘胺酸	**-0.190**
精胺酸	**-0.128**
山梨醇	-0.003
海藻糖	+0.020
甘露醇	**-0.104**
NaCl	**+0.250**
F68	+0.018
PS 20	+0.021
PS 80	**-0.152**
EDTA	+0.112
Met	-0.062

考慮校準及驗證組之相關係數，模型品質可接受。模型中所包含各種因子之總體相關係數匯總於表J中。應注意，本文並未列示二次項及相互作用項。因端點係單體含量之差，故期望最小化此值。因此，穩定劑展現負相關係數，而去穩定劑具有正r值。在各種穩定劑中，His、Gly、Arg及PS 80最強，但甘露醇及琥珀酸鹽亦具有穩定效應(表J)。同時，存在一些顯著去穩定劑，例如NaCl、檸檬酸鹽及磷酸鹽。應注意，該等模型係在各種調配物區A至H中收集之所有穩定性數據之複合體，且個別調配物可自該模型有所變化。儘管相關係數表可幫助計量各種因子之效應，但其不能捕獲非線性及相互作用效應，因此其可幫助觀察反應表面以更詳細檢驗各種參數之效應，如圖13至28中再現之反應表面中所展示。

PLS模型A --圖13及14之論述。

Krause '583專利闡述檸檬酸鹽-磷酸鹽緩衝劑系統對於產物穩定性而言具有整體性。研究展示並非如此。根據此模型(圖13[1])，在組合使用該兩種緩衝劑時出現最差穩定性且隨著緩衝劑濃度增加該效應變得更差。反應表面指示，與一些較早觀察相反，磷酸鹽及檸檬酸鹽具有同等去穩定性，但必須稍微謹慎地考慮該等表面之定性性質，此乃因其包含來自區B至H中所有調配物之數據。

pH及His之效應展示於圖14中。其展示His在低pH下具有去穩定性，其中其明顯處於His之緩衝能力之外。同樣，此結果隨此研究中之所有pH觀察值而變化，而並非僅彼等與His有關者(儘管可為此情形)。根據此反應表面，最佳pH可較接近5.4而非5.2，但在此區中表面相對較平坦，從而指示自pH 5至5.4具有淺反應表面(圖14)。

PLS模型A --圖15之論述

Gly及Arg之反應表面展示於圖15中。研究重複展示，該兩種胺基酸可為阿達木單抗之強力穩定劑。應注意，在100 mM Arg但在200 mM Gly下達到最小單體含量差(亦即表面之藍色部分)，從而表明在pH 5.2下Arg可為阿達木單抗之較佳穩定劑。

PLS模型A --圖16之論述

所展示關於PLS模型A之最終反應表面係針對NaCl及PS 80之效應(圖16)。其展示，在添加NaCl (尤其高於100 mM)後阿達木單抗穩定性有所降低。同時，PS 20在以高於0.04%使用時提供顯著穩定性。

第二PLS模型(PLS模型B)

第二PLS模型(PLS模型B)使用t1及t2時之單體含量作為端點。該模型

採用4種PC且校準組之相關係數為0.82以及驗證組之r值為0.67。其係包含pH-緩衝劑及緩衝劑-緩衝劑相互作用項之二次模型。就模型品質而言，此與上述第一PLS模型A相當。

表K (L)

PLS「模型B」相關係數

因子	*r值*
pH	**-0.086**
蛋白質	+0.030
檸檬酸鹽	-0.079
磷酸鹽	**-0.157**
琥珀酸鹽	+0.060
組胺酸	**+0.185**
乙酸鹽	+0.063
甘胺酸	**+0.126**
精胺酸	**+0.150**
山梨醇	+0.025
海藻糖	+0.006
甘露醇	+0.014
NaCl	**-0.215**
F68	-0.044
PS 20	-0.028
PS 80	**+0.227**
EDTA	**-0.097**
Met	+0.096

用於PLS模型B之端點係在t1及t2時之總單體含量。因此，期望最大化該等值。此意味著穩定劑具有正相關係數且去穩定劑顯示負r值(表K)。對於先前模型而言，檸檬酸鹽、磷酸鹽及NaCl係顯著去穩定劑。另一方面，His、Gly、Arg及PS 20係強力穩定劑。在此模型中，海藻糖、山梨

醇及甘露醇具有極小效應。主要差異在於，pH現為顯著因子且EDTA係顯著去穩定劑，而Met似乎亦係穩定劑。

PLS模型B -圖17之論述

此模型表明，若不存在磷酸鹽，則添加檸檬酸鹽對於穩定性具有較小效應(參見圖5之反應表面之背邊緣)。另一方面，添加磷酸鹽會降低單體含量(參見右手邊緣)且組合甚至具有更大去穩定性(圖5)。因此，與'583專利所教示相反，檸檬酸鹽-磷酸鹽緩衝劑組合不能有效地穩定阿達木單抗。根據此模型，磷酸鹽之去穩定性效應約為檸檬酸鹽之三倍。

PLS模型B -圖18之論述

在低pH下使用His具有較小或有害效應(圖18[6])。然而，在pH 5.2或更高pH下採用時，His會顯著增加穩定性(如藉由SEC單體含量所量測)。

PLS模型B -圖19之論述

Gly及Arg之反應表面展示於圖19中。包含高濃度之該兩種穩定劑將有益於穩定性，但出於張力原因不切實際。在此模型中，似乎Arg確實係強於Gly之穩定劑，其中75 mM濃度之Arg與約120 mM Gly具有相同效應。該模型指示，單獨之任一者工作良好，或其組合亦有效。

PLS模型B -圖20之論述

PLS模型B展示甘露醇對於穩定性之適當效應，而PS 80在高於接近0.05%之濃度下係有效穩定劑(圖20)。因此，可自此數據總結出，穩定調配物可在pH 5.2下包括240 mM甘露醇及0.1% PS 80。

PLS模型B -圖21之論述

在整個計劃中，似乎NaCl係阿達木單抗之去穩定劑，尤其在濃度達到100 mM或更高時，如此反應表面中所展示(圖21)。儘管僅測試包含

EDTA之一些調配物，但似乎此賦形劑具有去穩定性，除非濃度約為0.1%。亦注意，Met效應有益於穩定性，但不能證實係顯著效應，此很可能係因為評估相對較少實例。

PLS模型B -圖22之論述

擬考慮之來自PLS模型B之最終反應表面係琥珀酸鹽及His之效應(圖22)。該模型包含所有相關緩衝劑-緩衝劑相互作用。此表面展示，琥珀酸鹽本身具有較小或甚至有害效應(參見圖線之前邊緣)。然而，證實連同His一起可增加總體穩定性(例如注意表面之背邊緣)。因此，在迄今為止所測試之所有緩衝劑組合中，His-琥珀酸鹽緩衝劑系統似乎最有益。

第三PLS模型(PLS模型C)

第三PLS模型C使用t1時RP HPLC純度百分比之差作為端點。該模型採用兩種PC且校準組之相關係數為0.86以及驗證組之r值為0.67。其係包含pH-緩衝劑及緩衝劑-緩衝劑相互作用項之二次模型。就模型品質而言，此模型極類似於先前模型。

表L

PLS「模型C」相關係數

因子	*r值*
pH	-0.115
蛋白質	**-0.139**
檸檬酸鹽	+0.014
磷酸鹽	**+0.084**
琥珀酸鹽	-0.051
組胺酸	**-0.075**
乙酸鹽	**+0.159**
甘胺酸	-0.096
精胺酸	-0.045

山梨醇	+0.029
海藻糖	+0.020
甘露醇	-0.060
NaCl	+0.068
F68	-0.047
PS 20	-0.067
PS 80	-0.028
EDTA	+0.099
Met	-0.015

PLS模型C顯示，RP HPLC可指示穩定性，即使敏感性可能小於SEC。該模型發現，磷酸鹽及檸檬酸鹽二者皆具有去穩定性，其中磷酸鹽效應係統計學顯著(表LI)。同樣，與EDTA一樣，乙酸鹽係強去穩定劑。Gly及Arg二者皆展示係穩定劑，但其效應並不視為統計學顯著。發現僅His係顯著穩定劑(連同蛋白質濃度)。

PLS模型C --圖23之論述

檸檬酸鹽及磷酸鹽在pH 5.2下之反應表面展示於圖23[11]中。兩種緩衝劑皆具有去穩定性(參見圖線之前及左手邊緣)。在約10 mM濃度以上，組合變得具有相當大去穩定性。總而言之，根據此模型，預計磷酸鹽具有較大去穩定性(圖11)。

PLS模型C --圖24之論述

如先前模型中所看到，隨著pH減小至小於5.0，阿達木單抗穩定性有所降低(圖12)。在此模型中，在所有pH值中皆看到His之穩定效應，但在pH較低時最明顯。

PLS模型C --圖25之論述

Gly及Arg之效應見於圖25中。兩種賦形劑皆隨著濃度增加而降低純度損失且預計其大致等效，如藉由沿反應表面之邊緣之斜率所判斷。另

外，似乎達成最佳純度損失(圖形之藍色區)所需之Arg (75 mM)少於Gly (約200 mM)。

PLS模型C --圖26之論述

甘露醇及PS 80之效應見於圖26[14]之反應表面中。顯而易見，藉由添加PS 80 (尤其在高於0.04%之濃度下)會大大改良化學穩定性。同時，甘露醇亦具有穩定性，但即使240 mM甘露醇之效應小於少量表面活性劑。

PLS模型C --圖27之論述

在該模型(參見圖27[15])及先前PLS模型中，儘管甘露醇可視為Humira®調配物中之穩定劑，但NaCl係顯著去穩定劑。在NaCl濃度超過約75 mM時，效應具有實質性。

PLS模型C --圖28之論述

來自PLS模型C之最終反應表面見於闡述pH及蛋白質濃度之效應之圖28[16]中。如前文所看到，穩定性在pH高於4.8或5.0時最佳。對於蛋白質效應而言，此模型預測，基於RP HPLC，穩定性在較高蛋白質濃度下較佳。在SEC數據(t1及t2時之單體含量)中看到類似趨勢(但極弱)。因此，可在100 mg/ml濃度下達成類似於可在50 mg/ml下獲得者之穩定性特徵。

區A至H之發現之匯總

區A至H中之調配物研究評估儲存於升高溫度下且在40℃下保持一週或在25℃下保持兩週之阿達木單抗調配物。使用SEC、RP HPLC、cIEF及CE-SDS監測穩定性。

最佳pH似乎為5.2 ± 0.2。在所測試之所有緩衝劑組合物中，檸檬酸鹽-磷酸鹽組合幾乎差於所評估之任一其他緩衝劑系統，由此本發明之一

重要態樣係避免一起使用此組合緩衝劑系統。最佳單一緩衝劑似乎為His，而His-琥珀酸鹽緩衝劑亦提供極良好穩定性。即使無緩衝劑系統(其依賴於蛋白質緩衝調配物之能力)亦似乎在加速應力條件下具有可接受之穩定性特徵。

在所評估之所有穩定劑/張力改質劑中，Arg及Gly皆誘發阿達木單抗之極良好穩定作用。其性能優於甘露醇。甘露醇似乎確實係穩定劑，然而發現在使用時其應處於最高可能濃度下，且無論如何濃度應超過約150 mM及最佳地在200 mM下或超過約200 mM。與之相比，NaCl係顯著去穩定劑，尤其在濃度超過75-100 mM時；因此，應將NaCl (若存在)含量控制為低於約75 mM。其他多元醇(例如山梨醇及海藻糖)似乎大致如甘露醇一般工作良好且由此可替代甘露醇(若期望)。

令人吃驚的是，聚山梨醇酯80 (PS 80)提供抵抗熱應力之顯著保護。儘管穩定作用之機制未知，但似乎所測試之其他表面活性劑(PS 20及F-68)並不如PS 80有效。因此，PS80對PS 20之選擇係本發明之一較佳特徵。本發明調配物較佳地含有至少0.04% (w/v) PS 80。

基於區A至H之調配物研究中之發現，下文係本發明之尤佳阿達木單抗調配物。

表M

所選調配物

調配物編號	pH	His (mM)	琥珀酸鹽 (mM)	Gly (mM)	Arg (mM)	甘露醇 (mM)	NaCl (mM)	PS 80 (wt %)
A	5.2	30	0	240	0	0	0	0.1
B	5.2	30	0	240	0	0	0	0.02
C	5.2	30	0	0	0	240	0	0.1
D	5.2	30	15	0	0	220	0	0.1
E	5.2	30	0	90	0	150	0	0.1
F	5.2	30	0	240	0	0	0	0
G	5.2	20	0	0	0	240	0	0
H	5.4	30	0	240	0	0	0	0.02
I	5.2	30	0	120	80	0	0	0.1
J	5.2	30	15	90	80	0	0	0.1
K	5.2	30	0	0	0	240	0	0.1
L	5.2	30	0	0	50	160	0	0.1
M	5.2	30	0	90	100	0	0	0.1
N	5.2	20	0	120	90	0	0	0.1
O	5.4	30	0	120	80	0	0	0.1
P	5.2	30	0	120	0	0	50	0.01
Q	5.2	30	0	0	0	240	0	0.02

所提供醫藥組合物之其他組份

本發明調配物亦可包含其他緩衝劑(除非將其具體排除於本發明之具體實施例之闡述中)、張力改質劑、賦形劑、醫藥上可接受之載劑及醫藥組合物之其他常用惰性成份。

張力改質劑係有助於溶液滲透壓之分子。較佳地調節醫藥組合物之滲透壓以最大化活性成份穩定性及/或最小化投與後之患者不適。通常較佳地，醫藥組合物與血清等滲，亦即具有相同或類似滲透壓，此係藉由添加張力改質劑來達成。

在一較佳實施例中，所提供調配物之滲透壓為約180 mOsM至約420 mOsM。然而，應理解，滲透壓可隨具體病狀之需要而較高或較低。

適於改變滲透壓之張力改質劑之實例包含但不限於胺基酸(不含精胺酸) (例如半胱胺酸、組胺酸及甘胺酸)、鹽(例如氯化鈉或氯化鉀)及/或糖/多元醇(例如蔗糖、山梨醇、麥芽糖及乳糖)。

在一較佳實施例中，調配物中之張力改質劑之濃度較佳地介於約1 mM至約1 M之間，更佳地介於約10 mM至約200 mM之間。張力改質劑為業內所熟知且藉由已知方法製得及可自商業供應商獲得。

適宜張力改質劑可存在於本發明組合物中，除非將其具體排除於本發明之具體實施例之闡述中。

亦可向醫藥組合物中添加穩定呈溶液形式(亦呈乾燥或冷凍形式)之多肽之賦形劑(亦稱為化學添加劑、共溶質或共溶劑)。賦形劑為業內所熟知且藉由已知方法製得及可自商業供應商獲得。

適宜賦形劑之實例包含但不限於糖/多元醇，例如：蔗糖、乳糖、甘油、木糖醇、山梨醇、甘露醇、麥芽糖、肌醇、海藻糖、葡萄糖；聚合物，例如：血清白蛋白(牛血清白蛋白(BSA)、人類SA或重組HA)、右旋糖酐、PVA、羥丙基甲基纖維素(HPMC)、聚乙烯亞胺、明膠、聚乙烯基吡咯啶酮(PVP)、羥乙基纖維素(HEC)；非水性溶劑，例如：多元醇(例如PEG、乙二醇及甘油)、二甲基亞碸(DMSO)及二甲基甲醯胺(DMF)；胺基酸，例如：麩胺酸、L-絲胺酸、麩胺酸鈉、丙胺酸、甘胺酸、離胺酸鹽酸鹽、肌胺酸及γ-胺基丁酸；表面活性劑，例如：Tween®-80 (聚山梨醇酯80)、Tween®-20 (聚山梨醇酯20)、SDS、聚山梨醇酯、泊洛沙姆；及混雜賦形劑，例如：磷酸鉀、乙酸鈉、硫酸銨、硫酸鎂、硫酸鈉、三甲胺N-

氧化物、甜菜鹼、CHAPS、單月桂酸酯、2-O-β-甘露甘油酸酯或上述賦形劑之任一組合。

適宜賦形劑可存在於本發明組合物中，除非將其具體排除於本發明之具體實施例之闡述中。

本發明調配物中之中之一或多種賦形劑之濃度較佳地介於約0.001重量%至5重量%之間，更佳地介於約0.1重量%至2重量%之間。

治療方法

在另一實施例中，本發明提供治療哺乳動物之方法，其包括向哺乳動物投與治療有效量之本發明之醫藥組合物，其中該哺乳動物患有可使用阿達木單抗有益治療之疾病或病症。

在一實施例中，哺乳動物係人類。

可使用所提供組合物治療之疾病或病症包含但不限於類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、強直性脊柱炎、韋格納氏病(Wegener's disease)(肉芽腫病)、克羅恩氏病(或發炎性腸病)、慢性阻塞性肺病(COPD)、C型肝炎、子宮內膜異位症、哮喘、惡病質、牛皮癬及特應性皮炎。可使用本發明組合物治療之其他疾病或病症包含彼等闡述於美國專利第6,090,382號及第8,216,583號中者，該等專利之相關部分以引用方式併入本文中。

可藉由以下方式將所提供醫藥組合物投與需要治療之個體：全身性注射，例如靜脈內注射；或注射或施加至相關位點，例如直接注射或直接施加至位點(在位點暴露於手術中時)；或局部施加。

在一實施例中，本發明提供治療及/或預防類風濕性關節炎之方法，其包括向有需要之哺乳動物投與治療有效量之一種所提供阿達木單抗組合物。

所提供組合物中之阿達木單抗之治療有效量取決於所治療病狀、病狀嚴重程度、先前療法及患者臨床史及對治療劑之反應。可根據主治醫師之判斷來調節適當劑量，從而可一次性或在投與系列內將該劑量投與患者。

在一實施例中，每一成人劑量之有效阿達木單抗量為約1-500 mg/m^2或約1-200 mg/m^2或約1-40 mg/m^2或約5-25 mg/m^2。

另一選擇為，可投與固定劑量，其量可介於2-500 mg/劑量、2-100 mg/劑量或約10-80 mg/劑量之間。

若擬每週投與該劑量一次以上，則實例性劑量範圍與前述劑量範圍相同或較低，且較佳地以25-100 mg/劑量之每劑量範圍每週投與兩次或更多次。

在另一實施例中，藉由注射投與之可接受劑量含有80-100 mg/劑量，或者含有80 mg/劑量。

該劑量可每週、每兩週或間隔數週(例如2至8週)投與。

在一個實施例中，藉由單一皮下(SC)注射投與40 mg阿達木單抗。

在一些情況下，藉由在至少三週時段內每週一至三次投與多至約100 mg劑量之醫藥組合物可獲得改良患者病狀。可能需要較長時段治療以誘導期望改良程度。對於可治癒慢性病狀而言，方案可無限期持續。對於兒科患者(4-17歲)而言，適宜方案可涉及每週一或多次投與0.4 mg/kg至5 mg/kg阿達木單抗之劑量。

在另一實施例中，本發明之醫藥調配物可製成主體調配物，且由此將醫藥組合物之組份調節至高於投與所需者且在投與之前適當稀釋。

醫藥組合物可以單獨治療劑投與或視需要與其他療法組合投與。因

此，在一個實施例中，將所提供之治療及/或預防方法與投與治療有效量之另一活性劑組合使用。另一活性劑可在投與本發明之醫藥組合物之前、期間或之後投與。另一活性劑可作為所提供組合物之一部分投與，或者作為各別調配物投與。

可以各種方式投與所提供醫藥組合物，包含非經腸、經口、經頰、經鼻、經直腸、腹膜內、皮內、經皮、皮下、靜脈內、動脈內、心內、室內、顱內、氣管內、鞘內投與、肌內注射、玻璃體內注射及局部施用。

本發明之醫藥組合物尤其可用於非經腸投與，亦即皮下、經肌內、經靜脈內、腹膜內、腦脊髓內、關節內、滑膜內及/或鞘內。非經腸投與可藉由濃注或連續輸注進行。用於注射之醫藥調配物可以單位劑型呈現，例如存於安瓿(ampoule)或存於多劑量容器中，同時添加有防腐劑。此外，已研發諸多最新藥物遞送方式且本發明之醫藥組合物適於使用該等新方法投與，例如Inject-ease®、Genject®、注射筆(例如GenPen®)及無針式裝置(例如MediJector®及BioJector®)。本發明之醫藥組合物亦可適用於待發現投與方法。亦參見Langer, 1990, Science, 249:1527-1533。

亦可將所提供醫藥組合物調配為儲積製劑。該等長效調配物可藉由植入(例如經皮下或經肌內)或藉由肌內注射來投與。因此，舉例而言，可使用適宜聚合或疏水性材料(例如作為存於可接受油中之乳液)或離子交換樹脂或作為微溶衍生物(例如作為微溶鹽)來對調配物進行改質。

若期望，則醫藥組合物可呈現於小瓶、包裝或分配器裝置中，其可含有一或多個含有活性成份之單位劑型。在一實施例中，分配器裝置可包括注射器，該注射器具有單一劑量之準備注射之液體調配物。注射器可藉由投與說明書來達成。

在另一實施例中，本發明係關於套組或容器，其含有本發明之水性醫藥組合物。水性醫藥組合物中之多肽濃度可在寬範圍內變化，但通常在約0.05微克/毫升(μg/ml)至約20,000微克/毫升(μg/ml)水性調配物之範圍內。套組亦可藉由使用說明書來達成。

除區A至H之調配物研究中所提及之調配物外，提供下列額外實例作為本發明之其他實施例，且提供附錄A至C中所包含之實施例(其應理解為本說明書之一部分)。

實例1

含有多元醇且不含表面活性劑之穩定化阿達木單抗調配物(單一緩衝劑)

可如下所述來製備含有阿達木單抗、使用單一緩衝劑且實質上不含表面活性劑之穩定水性醫藥組合物：

可根據給定調配物緩衝劑體積所需量稱取每一固體調配物組份。然後可將該等組份合併於能夠攜載及量測給定調配物緩衝劑體積之燒杯或器皿中。可向燒杯中添加體積等於大約¾之給定目標調配物緩衝劑之去離子水，且可經由使用磁力攪拌棒來溶解該等組份。可使用1 M氫氧化鈉及/或1 M氯化氫將緩衝劑之pH調節至目標調配物pH。然後可經由添加去離子水將最終調配物緩衝劑體積升至目標體積。在最終水添加之後，然後可使用磁力攪拌棒混合溶液。然後可將阿達木單抗溶液置於透析材料殼體(例如Thermo Scientific Slide-A-Lyzer微型透析單元，10,000 MWCO)中，然後可使殼體與期望調配物緩衝劑在4℃下接觸12小時。調配物緩衝劑體積對蛋白質溶液體積之比率應不小於1000:1。然後可將透析殼體及其所含蛋白質溶液置於第二等體積調配物緩衝劑中在4℃下再保持12小時。

然後可自透析材料殼體取出所得阿達木單抗溶液，且然後可使用紫

外光譜測定阿達木單抗之濃度。然後可使用離心(例如Amicon Ultra 10,000 MWCO離心濃縮器)及/或稀釋(使用調配物緩衝劑)將阿達木單抗濃度調節至期望值。

本發明之試樣組合物表示於下表1中：

表1

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
甘露醇(惰性成份)	4%
檸檬酸鹽(pH 5.2) (單一緩衝劑)	15 mM

表1中所揭示之組合物並不含有檸檬酸鹽及磷酸鹽緩衝劑之組合。其亦無需存在表面活性劑。

實例2

不含多元醇或表面活性劑之穩定化阿達木單抗調配物(單一緩衝劑)

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
檸檬酸鹽(pH 5.2)	15 mM
甘胺酸(惰性成份)	100 mM

實例3

含有多元醇且不含表面活性劑之穩定化阿達木單抗調配物(單一緩衝劑)

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
甘露醇(惰性成份)	4%
檸檬酸鹽(pH 5.2)	15 mM

實例2及3之組合物具有長期穩定性且並不含有檸檬酸鹽及磷酸鹽緩衝劑之組合，且無需存在表面活性劑。

實例4

含有表面活性劑且不含多元醇之穩定化阿達木單抗調配物(單一緩衝劑)

4A

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
(無多元醇成份)	---
組胺酸緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	20 mM
甘胺酸(穩定劑)	50 mM
精胺酸(穩定劑)	130 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

4B

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
(無多元醇成份)	---
組胺酸緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	20 mM
甘胺酸(穩定劑)	120 mM
精胺酸(穩定劑)	100 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

4C

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
(無多元醇成份)	---
組胺酸緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	10 mM
甘胺酸(穩定劑)	50 mM
精胺酸(穩定劑)	130 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

4D

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
(無多元醇成份)	---
琥珀酸鹽緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	20 mM
甘胺酸(穩定劑)	50 mM
精胺酸(穩定劑)	130 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

4E

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
(無多元醇成份)	---
琥珀酸鹽緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	20 mM
甘胺酸(穩定劑)	120 mM
精胺酸(穩定劑)	100 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

4F

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
(無多元醇成份)	---
琥珀酸鹽緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	10 mM
甘胺酸(穩定劑)	50 mM
精胺酸(穩定劑)	130 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

上文實例4(a)至4(f)中所揭示之組合物提供穩定性且無需多元醇及組合緩衝劑系統。儘管本發明已發現無需美國專利8,216,583中所需之檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合來穩定本發明之阿達木單抗調配物，但熟習此項技術者可瞭解，在實踐實例4(a)至4(f)時，可與本文所揭示之組胺酸及琥

珀酸鹽緩衝劑組合採用其他緩衝劑(例如乙酸鹽、檸檬酸鹽、馬來酸鹽、酒石酸鹽及磷酸鹽緩衝劑)；前提係調配物並不使用檸檬酸鹽及磷酸鹽之緩衝劑組合。

實例5

含有表面活性劑及多元醇之穩定化阿達木單抗調配物(單一緩衝劑)

5A

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
山梨醇	65 mM
組胺酸緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	20 mM
精胺酸(穩定劑)	130 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

5B

成份	濃度
阿達木單抗(活性成份)	50 mg/ml
山梨醇	65 mM
琥珀酸鹽緩衝劑(pH 5.2) (唯一緩衝劑)	20 mM
精胺酸(穩定劑)	130 mM
聚山梨醇酯80	0.1 (wt %) (w/v)

附錄A

其他代表性實施例

(揭示於優先權申請案USSN 61/698,138中)

A.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇、表面活性劑及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該緩衝劑並不包括檸檬酸鹽及磷酸鹽二者。

B.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及表面活性劑，其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含緩衝劑。

C.如實施例A至B中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

D.如實施例A至C中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

E.如實施例A至D中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約30 mg/ml至約50 mg/ml。

F.如實施例A至E中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

G.如實施例A至F中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

H.如實施例A至G中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

I.如A至G實施例中任一項之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

J.如實施例I之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

K.如實施例A至J中任一項之組合物，其中該多元醇係糖醇。

L.如實施例K之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

M.如實施例L之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之1%至10%容重。

N.如實施例L至M中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之2%至6%容重。

O.如實施例L至N中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之3%至5%容重。

P.如實施例A至O中任一項之組合物，其進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。

Q.如實施例P之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。

R.如實施例P之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

S.如實施例P之組合物，其中該金屬離子係選自鋅、鎂及鈣。

T.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)及檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含磷酸鹽。

U.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含表面活性劑。

V.如實施例U之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

W.如實施例U至V中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

X.如實施例U至V中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

Y.如實施例U至Y中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

Z.如實施例U至Y中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

AA.如實施例U至Z中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

BB.如實施例U至AA中任一項之組合物，其中該多元醇係糖醇。

CC.如實施例BB之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

DD.如實施例CC之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之1%至10%容重。

EE.如實施例CC至DD中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之2%至6%容重。

FF.如實施例CC至EE中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之3%至5%容重。

GG.如實施例CC至FF中任一項之組合物，其進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。

HH.如實施例GG之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。

II.如實施例GG之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

JJ.如實施例GG之組合物，其中該金屬離子係選自鋅、鎂及鈣。

KK.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)及檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含表面活性劑。

LL.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、緩衝劑、選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑，且其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

MM.如實施例LL之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

NN.如實施例LL至MM中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

OO.如實施例LL至NN中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

PP.如實施例LL至OO中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

QQ.如實施例LL至PP中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

RR.如實施例LL至QQ中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

SS.如實施例LL之組合物，其中該穩定劑係選自由胺基酸、鹽、EDTA及金屬離子組成之群。

TT.如實施例SS之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸可

精胺酸組成之群。

UU.如實施例SS之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

VV.如實施例TT之組合物，其中該甘胺酸之濃度為約20 mM至約200 mM。

WW.如實施例VV之組合物，其中該甘胺酸之濃度為約50 mM至約200 mM。

XX.如實施例SS之組合物，其中該精胺酸之濃度為約1 mM至約250 mM。

YY.如實施例XX之組合物，其中該精胺酸之濃度為約20 mM至約200 mM。

ZZ.如實施例YY之組合物，其中該精胺酸之濃度為約20 mM至約100 mM。

AAA.如實施例UU之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約5 mM至約150 mM。

BBB.如實施例AAA之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約20 mM至約140 mM。

CCC.如實施例BBB之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約75 mM至約125 mM。

DDD.如實施例UU之組合物，其中該硫酸鈉之濃度為約5 mM至約150 mM。

EEE.如實施例UU之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約20 mM至約120 mM。

FFF.如實施例EEE之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約60 mM至約100 mM。

GGG.如實施例LL至FF中任一項之組合物，其進一步包括表面活性劑。

HHH.如實施例GGG之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

III.如實施例HHH之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

JJJ.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、甘胺酸(濃度為約20 mM至約200 mM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

KKK.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、精胺酸(濃度為約1 mM至約250 mM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

LLL.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、氯化鈉(濃度為約5 mM至約150 mM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

MMM.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、氯化鈉(濃度為約5 mM至約150 mM)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

NNN.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇、表面活性劑、選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約5至約6之pH。

OOO.如實施例NNN之組合物，其中緩衝劑並不包括檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合。

PPP.如實施例NNN之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

QQQ.如實施例NNN至PPP中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

RRR.如實施例NNN至QQQ中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

SSS.如實施例NNN至RRR中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

TTT.如實施例NNN至SSS中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

UUU.如實施例NNN至TTT中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

VVV.如實施例NNN至UUU中任一項之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

WWW.如實施例VVV之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

XXX.如實施例NNN至WWW中任一項之組合物，其中該多元醇係糖

醇。

YYY.如實施例XXX之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

ZZZ.如實施例XXX之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之1%至10%容重。

AAAA.如實施例XXX至ZZZ中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之2%至6%容重。

BBBB.如實施例YYY至AAAA中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之3%至5%容重。

CCCC.如實施例NNN至BBBB中任一項之組合物，其中該穩定劑係EDTA。

DDDD.如實施例CCCC之組合物，其中該EDTA之濃度為約0.01%至約0.5%。

EEEE.如實施例DDDD之組合物，其中該EDTA之濃度為約0.05%至約0.25%。

FFFF.如實施例EEEE之組合物，其中該EDTA之濃度為約0.08%至約0.2%。

GGGG.如實施例NNN至BBBB中任一項之組合物，其中該穩定劑係甲硫胺酸。

HHHH.如實施例GGGG之組合物，其中該甲硫胺酸之濃度為約1 mg/ml至約10 mg/ml。

IIII.如實施例GGGG之組合物，其中該甲硫胺酸之濃度為約1 mg/ml至約5 mg/ml。

JJJJ.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)、EDTA (濃度為約0.01%至約0.5%)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH。

KKKK.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)、甲硫胺酸(濃度為約1 mg/ml至約10 mg/ml)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH。

LLLL.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約3.5之pH。

MMMM.如實施例LLLL之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

NNNN.如實施例LLLL至MMMM中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

OOOO.如實施例LLLL至NNNN中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

PPPP.如實施例LLLL至OOOO中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

QQQQ.如實施例LLLL至PPPP中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

RRRR.如實施例LLLL至QQQQ中任一項之組合物，其中該緩衝劑之

濃度為約10 mM至約20 mM。

SSSS.如實施例LLLL至RRRR中任一項之組合物，其中該多元醇係糖醇。

TTTT.如實施例SSSS之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

UUUU.如實施例TTTT之組合物，其中該甘露醇之濃度為總組合物之約1%至約10%容重。

VVVV.如實施例TTTT至UUUU中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度為總組合物之約2至約6%容重。

WWWW. 如實施例TTTT至VVVV中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度為總組合物之約3至約5%容重。

XXXX.如實施例LLLL至WWWW中任一項之組合物，其進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。

YYYY.如實施例XXXX之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。

ZZZZ.如實施例XXXX之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

AAAAA.如實施例XXXX之組合物，其中該金屬離子係選自鋅、鎂及鈣。

BBBBB.如實施例TTTT至AAAAA中任一項之組合物，其進一步包括表面活性劑。

CCCCC.如實施例BBBBB之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇

酯。

DDDDD.如實施例CCCCC之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

附錄B

其他代表性實施例

(揭示於優先權申請案USSN 61/770,421中)

A.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇、表面活性劑及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該緩衝劑並不包括檸檬酸鹽及磷酸鹽二者。

B.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及表面活性劑，其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含緩衝劑。

C.如實施例A至B中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

D.如實施例A至C中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

E.如實施例A至D中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約30 mg/ml至約50 mg/ml。

F.如實施例A至E中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

G.如實施例A至F中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

H.如實施例A至G中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

I.如A至H實施例中任一項之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

J.如實施例I之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

K.如實施例A至J中任一項之組合物，其中該多元醇係糖醇。

L.如實施例K之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

M.如實施例L之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之1%至10%容重。

N.如實施例L至M中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之2%至6%容重。

O.如實施例L至N中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之3%至5%容重。

P.如實施例A至O中任一項之組合物，其進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。

Q.如實施例P之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。

R.如實施例P之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

S.如實施例P之組合物，其中該金屬離子係選自鋅、鎂及鈣。

T.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)、聚山梨醇酯80 (濃度

為約1 μM至50 μM)及檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含磷酸鹽。

U.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、組胺酸、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含表面活性劑。

V.如實施例U之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

W.如實施例U至V中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

X.如實施例U至W中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

Y.如實施例U至X中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

Z.如實施例U至Y中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

AA.如實施例U至Z中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

BB.如實施例U至AA中任一項之組合物，其中該多元醇係糖醇。

CC.如實施例BB之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

DD.如實施例CC之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之1%至10%容重。

EE.如實施例CC至DD中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之2%至6%容重。

FF.如實施例CC至EE中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之3%至5%容重。

GG.如實施例U至FF中任一項之組合物，其進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。

HH.如實施例GG之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。

II.如實施例GG之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

JJ.如實施例GG之組合物，其中該金屬離子係選自鋅、鎂及鈣。

KK.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)及檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含表面活性劑。

LL.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、緩衝劑、選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑，且其中該組合物具有約5至約6之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

MM.如實施例LL之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

NN.如實施例LL至MM中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

OO.如實施例LL至NN中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度

為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

PP.如實施例LL至OO中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

QQ.如實施例LL至PP中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

RR.如實施例LL至QQ中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

SS.如實施例LL之組合物，其中該穩定劑係選自由胺基酸、鹽、EDTA及金屬離子組成之群。

TT.如實施例TT之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸可精胺酸組成之群。

UU.如實施例TT之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

VV.如實施例TT之組合物，其中該甘胺酸之濃度為約20 mM至約200 mM。

WW.如實施例VV之組合物，其中該甘胺酸之濃度為約50 mM至約200 mM。

XX.如實施例TT之組合物，其中該精胺酸之濃度為約1 mM至約250 mM。

YY.如實施例XX之組合物，其中該精胺酸之濃度為約20 mM至約200 mM。

ZZ.如實施例YY之組合物，其中該精胺酸之濃度為約20 mM至約100 mM。

AAA.如實施例UU之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約5 mM至約150 mM。

BBB.如實施例AAA之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約20 mM至約140 mM。

CCC.如實施例AAA之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約75 mM至約125 mM。

DDD.如實施例UU之組合物，其中該硫酸鈉之濃度為約5 mM至約150 mM。

EEE.如實施例UU之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約20 mM至約120 mM。

FFF.如實施例EEE之組合物，其中該氯化鈉之濃度為約60 mM至約100 mM。

GGG.如實施例LL至FF中任一項之組合物，其進一步包括表面活性劑。

HHH.如實施例GGG之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

III.如實施例HHH之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

JJJ.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、甘胺酸(濃度為約20 mM至約200 mM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

KKK.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、精胺酸(濃度為約1 mM至約250 mM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其

中該組合物實質上不含多元醇。

LLL.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、氯化鈉(濃度為約5 mM至約150 mM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

MMM.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、氯化鈉(濃度為約5 mM至約150 mM)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至50 μM)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含多元醇。

NNN.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇、表面活性劑、選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約5至約6之pH。

OOO.如實施例NNN之組合物，其中緩衝劑並不包括檸檬酸鹽及磷酸鹽之組合。

PPP.如實施例NNN之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

QQQ.如實施例NNN至PPP中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

RRR.如實施例NNN至QQQ中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

SSS.如實施例NNN至RRR中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度

為約5 mM至約50 mM。

TTT.如實施例NNN至SSS中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

UUU.如實施例NNN至TTT中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

VVV.如實施例NNN至UUU中任一項之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

WWW.如實施例VVV之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

XXX.如實施例NNN至WWW中任一項之組合物，其中該多元醇係糖醇。

YYY.如實施例XXX之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

ZZZ.如實施例YYY之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之1%至10%容重。

AAAA.如實施例YYY至ZZZ中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之2%至6%容重。

BBBB.如實施例YYY至AAAA中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度約為總組合物之3%至5%容重。

CCCC.如實施例NNN至BBBB中任一項之組合物，其中該穩定劑係EDTA。

DDDD.如實施例CCCC之組合物，其中該EDTA之濃度為約0.01%至約0.5%。

EEEE.如實施例DDDD之組合物，其中該EDTA之濃度為約0.05%至約0.25%。

FFFF.如實施例EEEE之組合物，其中該EDTA之濃度為約0.08%至約0.2%。

GGGG.如實施例NNN至BBBB中任一項之組合物，其中該穩定劑係甲硫胺酸。

HHHH.如實施例GGGG之組合物，其中該甲硫胺酸之濃度為約1 mg/ml至約10 mg/ml。

IIII.如實施例GGGG之組合物，其中該甲硫胺酸之濃度為約1 mg/ml至約5 mg/ml。

JJJJ.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)、EDTA (濃度為約0.01%至約0.5%)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH。

KKKK.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、甘露醇(濃度為約1%至10%容重)、甲硫胺酸(濃度為約1 mg/ml至約10 mg/ml)、檸檬酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH。

LLLL.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗、多元醇及選自由檸檬酸鹽、磷酸鹽、琥珀酸鹽、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群之緩衝劑，其中該組合物具有約3.5之pH。

MMMM.如實施例LLLL之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20

mg/ml至約150 mg/ml。

NNNN.如實施例LLLL至MMMM中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約100 mg/ml。

OOOO.如實施例LLLL至NNNN中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約40 mg/ml。

PPPP.如實施例LLLL至OOOO中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

QQQQ.如實施例LLLL至PPPP中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約20 mM。

RRRR.如實施例LLLL至QQQQ中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約10 mM至約20 mM。

SSSS.如實施例LLLL至RRRR中任一項之組合物，其中該多元醇係糖醇。

TTTT.如實施例SSSS之組合物，其中該糖醇係選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群。

UUUU.如實施例TTTT之組合物，其中該甘露醇之濃度為總組合物之約1%至約10%容重。

VVVV.如實施例TTTT至UUUU中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度為總組合物之約2至約6%容重。

WWWW.如實施例TTTT至VVVV中任一項之組合物，其中該甘露醇之濃度為總組合物之約3至約5%容重。

XXXX.如實施例LLLL至WWWW中任一項之組合物，其進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定

劑。

YYYY.如實施例XXXX之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。

ZZZZ.如實施例XXXX之組合物，其中該鹽係選自由氯化鈉及硫酸鈉組成之群。

AAAAA.如實施例XXXX之組合物，其中該金屬離子係選自鋅、鎂及鈣。

BBBBB.如實施例LLLL至AAAAA中任一項之組合物，其進一步包括表面活性劑。

CCCCC.如實施例BBBBB之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

DDDDD.如實施例CCCCC之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

EEEEE.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、選自山梨醇、甘露醇或海藻糖之多元醇(濃度為約1%至約10%容重)及至少一種選自由(a)精胺酸(濃度為約1 mg/ml至約250 mg/ml)及(b)甘胺酸(濃度為約20 mg/ml至200 mg/ml)組成之群之胺基酸穩定劑及組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽緩衝劑(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH。

FFFFF.如實施例EEEEE之組合物，其中多元醇係山梨醇，且組合物不含或實質上不含任一檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合，且調配物包括精胺酸或甘胺酸但並不包括二者。

GGGGG.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為約1 μM至約50 μM)、精胺酸(濃度為約1 mg/ml至約250 mg/ml)、甘胺酸(濃度為約20 mg/ml至200 mg/ml)及組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽緩衝劑(濃度為約5 mM至約50 mM)，且其中該組合物具有約5至約5.5之pH且該組合物不含或實質上不含多元醇。

HHHHH.如實施例GGGGG之組合物，其中組合物不含或實質上不含任一檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

附錄C

其他代表性實施例

(揭示於優先權申請案USSN 61/769,581中)

A.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗及單一緩衝劑。

B.如實施例A之組合物，其中該單一緩衝劑係選自由琥珀酸鹽、組胺酸、檸檬酸鹽、磷酸鹽、酒石酸鹽及馬來酸鹽組成之群。

C.如先前實施例中任一項之組合物，其中該組合物具有約5至約6之pH。

D.如先前實施例中任一項之組合物，其中含於該醫藥組合物中之該阿達木單抗相對於組合物在開始儲存時之活性並不損失大於20%之其活性。

E.如先前實施例中任一項之組合物，其進一步包括表面活性劑。

F.如實施例E之組合物，其中該表面活性劑係聚山梨醇酯。

G.如實施例F之組合物，其中該聚山梨醇酯係聚山梨醇酯80。

H.如先前實施例中任一項之組合物，其進一步包括多元醇。

I.如實施例H之組合物，其中該多元醇係糖醇。

J.如實施例I之組合物，其中該糖醇係山梨醇。

K.如先前實施例中任一項之組合物，其進一步包括糖。

L.如實施例K之組合物，其中該糖係選自由蔗糖及海藻糖組成之群。

M.如先前實施例中任一項之組合物，其中該阿達木單抗之濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml。

N.如先前實施例中任一項之組合物，其中該緩衝劑之濃度為約5 mM至約50 mM。

O.如實施例A至N中任一項之組合物，其進一步包括選自由胺基酸、鹽、乙二胺四乙酸(EDTA)及金屬離子組成之群之穩定劑。

P.如實施例O之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸及甲硫胺酸組成之群。

Q.如實施例O之組合物，其中該金屬離子係選自鋅、鎂及鈣。

R.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為總調配物重量之約0.01 % w/v至0.5% w/v)及琥珀酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含任一其他緩衝劑。

S.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為總調配物重量之約0.01 % w/v至0.5% w/v)及組胺酸(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含任一其他緩衝劑。

T.一種穩定水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗(濃度為約20 mg/ml至約150 mg/ml)、聚山梨醇酯80 (濃度為總調配物重量之約0.01 % w/v至

0.5% w/v)及酒石酸鹽(濃度為約5 mM至約50 mM)，其中該組合物具有約5至約5.5之pH，且其中該組合物實質上不含任一其他緩衝劑。

U.一種治療哺乳動物之方法，其包括向該哺乳動物投與治療有效量之如先前實施例中任一項之組合物，其中該哺乳動物患有可使用阿達木單抗有益治療之疾病或病症。

V.如實施例U之方法，其中該疾病或病症係選自由以下組成之群：類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、強直性脊柱炎、韋格納氏病(肉芽腫病)、克羅恩氏病(或發炎性腸病)、慢性阻塞性肺病(COPD)、C型肝炎、子宮內膜異位症、哮喘、惡病質、牛皮癬及特應性皮炎。

呈現區研究A至H、上述實例及附錄A至C中之本發明實例性實施例之前述闡述僅用於闡釋及闡述目的，且並不意欲具有窮盡性或將本發明限制於所揭示確切形式。根據上文之教示內容可作出諸多修改及變化形式。

藉由考量本說明書及實踐本文中所揭示之本發明，彼等熟習此項技術者將易知本發明之其他實施例。本說明書及各實例意欲僅視為例示性，且本發明之真實範圍及精神係由隨附申請專利範圍來指示。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種水性緩衝醫藥組合物，其包括阿達木單抗(adalimumab)及緩衝劑，其中(i)該組合物不含或實質上不含包括檸檬酸鹽緩衝劑及磷酸鹽緩衝劑二者之緩衝劑組合；且(ii)該組合物展現長期穩定性。

【請求項2】

如請求項1之組合物，其包括至少一種選自由組胺酸、琥珀酸鹽、磷酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、馬來酸鹽及酒石酸鹽緩衝劑(包含其組合)組成之群之緩衝劑，前提係該等組合不包含檸檬酸鹽緩衝劑及磷酸鹽緩衝劑之組合。

【請求項3】

如請求項1之組合物，其中該緩衝劑包括組胺酸。

【請求項4】

如請求項1之組合物，其中該緩衝劑包括琥珀酸鹽。

【請求項5】

如請求項1之組合物，其中該緩衝劑包括琥珀酸鹽緩衝劑及組胺酸緩衝劑之組合。

【請求項6】

如請求項2之組合物，其不含或實質上不含檸檬酸鹽緩衝劑。

【請求項7】

如請求項6之組合物，其中存在之唯一緩衝劑係(i)組胺酸緩衝劑；(ii)琥珀酸鹽緩衝劑；或(iii)基本上由組胺酸緩衝劑及琥珀酸鹽緩衝劑組成之緩衝劑組合。

【請求項8】

如請求項1之組合物，其進一步包括選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合組成之群之穩定劑。

【請求項9】

如請求項8之組合物，其中該穩定劑包括甘胺酸。

【請求項10】

如請求項8之組合物，其中該穩定劑包括精胺酸。

【請求項11】

如請求項8之組合物，其中該穩定劑包括甘胺酸及精胺酸之組合。

【請求項12】

如請求項1之組合物，其進一步包括選自由甘露醇、山梨醇及海藻糖組成之群之多元醇。

【請求項13】

如請求項1之組合物，其進一步包括聚山梨醇酯或泊洛沙姆(poloxamer)表面活性劑。

【請求項14】

如請求項1之組合物，其不含或實質上不含多元醇。

【請求項15】

如請求項1之組合物，其不含或實質上不含表面活性劑。

【請求項16】

如請求項1之組合物，其不含或實質上不含表面活性劑及多元醇二者。

【請求項17】

如請求項1之組合物，其包括(i)組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽緩衝劑或其組合；(ii)聚山梨醇酯或泊洛沙姆表面活性劑或其組合；及(iii)下列之一者或兩者：

(a) 穩定劑，其選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合組成之群；及

(b) 多元醇，其選自山梨醇、甘露醇及海藻糖或其組合。

【請求項18】

如請求項17之組合物，其包括(a)且不包括(b)。

【請求項19】

如請求項17之組合物，其包括(b)且不包括(a)。

【請求項20】

如請求項17之組合物，其包括(a)及(b)。

【請求項21】

如請求項17之組合物，其中(i)組胺酸緩衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑或其組合基本上構成該組合物中之唯一緩衝劑；(ii)該穩定劑(若存在)包括甘胺酸、精胺酸或其組合；(iii)該多元醇(若存在)包括甘露醇；及(iv)該表面活性劑包括至少一個由PS 80、PS 40、PS20、Pluronic F-68及其組合組成之群之成員。

【請求項22】

如請求項21之組合物，其中該穩定劑進一步包括多至約100 mM之氯化鈉。

【請求項23】

如請求項17之組合物，其中該等穩定劑可視情況包含蔗糖。

【請求項24】

如請求項21之組合物，其中阿達木單抗之量為約50 mg/ml至約150 mg/ml；緩衝劑之量為多至約50 mM；穩定劑(若存在)之量為多至約300 mM；多元醇(若存在)之量為多至約300 mM；及表面活性劑之量在約0.01 wt.%至約0.1 wt.%之範圍內。

【請求項25】

如請求項24之組合物，其中該穩定劑不存在。

【請求項26】

如請求項23之組合物，其中該多元醇係以大約200 mM或大於約200 mM之量存在。

【請求項27】

如請求項24之組合物，其中該多元醇不存在。

【請求項28】

如請求項23之組合物，其中該多元醇及該穩定劑二者皆存在，且其中該穩定劑及該多元醇之組合量為約150 mM至300 mM。

【請求項29】

一種展現長期穩定性之水性緩衝醫藥組合物，該組合物包括：(i)阿達木單抗；(ii)緩衝劑，其選自由組胺酸緩衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑及其組合組成之群；(iii)聚山梨醇酯或泊洛沙姆表面活性劑或其組合；及(iv)下列之一者或兩者：

(a) 穩定劑，其選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合組成之群；及

(b) 多元醇，其選自山梨醇、甘露醇及海藻糖或其組合。

【請求項30】

如請求項29之組合物，其進一步包括選自由磷酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、馬來酸鹽及酒石酸鹽緩衝劑(包含其組合)組成之群之緩衝劑。

【請求項31】

如請求項29之組合物，其中該組合物不含包括檸檬酸鹽緩衝劑及磷酸鹽緩衝劑之緩衝劑組合。

【請求項32】

如請求項29之組合物，其中該組合物不含檸檬酸鹽緩衝劑，且視情況其中存在組胺酸緩衝劑，或組胺酸及琥珀酸鹽緩衝劑之組合，作為基本上該組合物中之唯一緩衝劑。

【請求項33】

如請求項29之組合物，其包括(a)且不包括(b)。

【請求項34】

如請求項29之組合物，其包括(b)且不包括(a)。

【請求項35】

如請求項29之組合物，其包括(a)及(b)。

【請求項36】

如請求項29之組合物，其中(i)該穩定劑(若存在)包括甘胺酸、精胺酸或其組合；(ii)該多元醇(若存在)包括甘露醇；及(iii)該表面活性劑包括至少一個由PS 80、PS 40、PS20、Pluronic F-68及其組合組成之群之成員。

【請求項37】

如請求項36之組合物，其中該穩定劑進一步包括多至約100 mM之氯化鈉。

【請求項38】

如請求項36之組合物，其中阿達木單抗之量為約50 mg/ml至約150 mg/ml；緩衝劑之量為多至約50 mM；穩定劑(若存在)之量為多至約300 mM；多元醇(若存在)之量為多至約300 mM；及表面活性劑之量在約0.01 wt.%至約0.1 wt.%之範圍內。

【請求項39】

如請求項38之組合物，其中該穩定劑不存在。

【請求項40】

如請求項39之組合物，其中該多元醇係以大約200 mM或大於約200 mM之量存在。

【請求項41】

如請求項38之組合物，其中該多元醇及該穩定劑二者皆存在，且其中該穩定劑及該多元醇之組合量為約150 mM至300 mM。

【請求項42】

如請求項30之組合物，其不含或實質上不含(i)檸檬酸鹽緩衝劑；或(ii)檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

【請求項43】

如請求項38之組合物，其含有該穩定劑但不含該多元醇。

【請求項44】

一種水性緩衝醫藥組合物，其包括阿達木單抗及緩衝劑，其中(i)該組合物不含或實質上不含多元醇；且(ii)該組合物展現長期穩定性。

【請求項45】

如請求項44之組合物，其包括至少一種選自由組胺酸、琥珀酸鹽、磷酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、馬來酸鹽及酒石酸鹽緩衝劑(包含其組合)組成之群之緩衝劑。

【請求項46】

如請求項45之組合物，其中該緩衝劑包括組胺酸。

【請求項47】

如請求項45之組合物，其中該緩衝劑包括琥珀酸鹽。

【請求項48】

如請求項45之組合物，其中該緩衝劑包括琥珀酸鹽緩衝劑及組胺酸緩衝劑之組合。

【請求項49】

如請求項45之組合物，其中存在之基本上唯一緩衝劑係(i)組胺酸緩衝劑；(ii)琥珀酸鹽緩衝劑；或(iii)基本上由組胺酸緩衝劑及琥珀酸鹽緩衝劑組成之緩衝劑組合。

【請求項50】

如請求項45之組合物，其進一步包括選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合組成之群之穩定劑。

【請求項51】

如請求項50之組合物，其中該穩定劑包括甘胺酸。

【請求項52】

如請求項50之組合物，其中該穩定劑包括精胺酸。

【請求項53】

如請求項50之組合物，其中該穩定劑包括甘胺酸及精胺酸之組合。

【請求項54】

如請求項45之組合物，其進一步包括聚山梨醇酯或泊洛沙姆表面活性劑。

【請求項55】

如請求項44之組合物，其包括(i)組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽緩衝劑或其組合；(ii)聚山梨醇酯或泊洛沙姆表面活性劑或其組合；及(iii)選自甘胺酸、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉及其組合之穩定劑。

【請求項56】

如請求項55之組合物，其中(i)組胺酸緩衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑或其組合基本上構成該組合物中之唯一緩衝劑；(ii)該穩定劑包括甘胺酸、精胺酸或其組合；及(iii)該表面活性劑包括至少一個由PS 80、PS 40、PS20、Pluronic F-68及其組合組成之群之成員。

【請求項57】

如請求項56之組合物，其中該穩定劑進一步包括多至約100 mM之氯化鈉。

【請求項58】

如請求項56之組合物，其中阿達木單抗之量為約50 mg/ml至約150 mg/ml；緩衝劑之量為多至約50 mM；穩定劑之量為多至約300 mM；及表面活性劑之量在約0.01 wt.%至約0.1 wt.%之範圍內。

【請求項59】

如請求項45之組合物，其不含或實質上不含(i)檸檬酸鹽緩衝劑；或

(ii)檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

【請求項60】

如請求項45之組合物，其不含或實質上不含表面活性劑。

【請求項61】

一種水性緩衝醫藥組合物，其包括阿達木單抗及緩衝劑，其中(i)該組合物不含或實質上不含表面活性劑；且(ii)該組合物展現長期穩定性。

【請求項62】

如請求項61之組合物，其包括至少一種選自由組胺酸、琥珀酸鹽、磷酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、馬來酸鹽及酒石酸鹽緩衝劑(包含其組合)組成之群之緩衝劑。

【請求項63】

如請求項62之組合物，其中該緩衝劑包括組胺酸。

【請求項64】

如請求項62之組合物，其中該緩衝劑包括琥珀酸鹽。

【請求項65】

如請求項62之組合物，其中該緩衝劑包括琥珀酸鹽緩衝劑及組胺酸緩衝劑之組合。

【請求項66】

如請求項62之組合物，其中存在之基本上唯一緩衝劑係(i)組胺酸緩衝劑；(ii)琥珀酸鹽緩衝劑；或(iii)基本上由組胺酸緩衝劑及琥珀酸鹽緩衝劑組成之緩衝劑組合。

【請求項67】

如請求項62之組合物，其進一步包括選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺

酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合組成之群之穩定劑。

【請求項68】

如請求項67之組合物，其中該穩定劑包括甘胺酸。

【請求項69】

如請求項67之組合物，其中該穩定劑包括精胺酸。

【請求項70】

如請求項67之組合物，其中該穩定劑包括甘胺酸及精胺酸之組合。

【請求項71】

如請求項61之組合物，其進一步包括多元醇。

【請求項72】

如請求項62之組合物，其包括(i)組胺酸緩衝劑或琥珀酸鹽緩衝劑或其組合；及下列之一者或兩者：

(a)穩定劑，其選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合組成之群；及/或

(b)多元醇，其選自山梨醇、甘露醇及海藻糖或其組合。

【請求項73】

如請求項72之組合物，其包括(a)且不包括(b)。

【請求項74】

如請求項72之組合物，其包括(b)且不包括(a)。

【請求項75】

如請求項72之組合物，其包括(a)及(b)。

【請求項76】

如請求項72之組合物，其中(i)組胺酸緩衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑或其組合基本上構成該組合物中之唯一緩衝劑；(ii)該穩定劑(若存在)包括甘胺酸、精胺酸或其組合；及(iii)該多元醇(若存在)包括甘露醇。

【請求項77】

如請求項76之組合物，其中該穩定劑進一步包括多至約100 mM之氯化鈉。

【請求項78】

如請求項76之組合物，其中阿達木單抗之量為約50 mg/ml至約150 mg/ml；緩衝劑之量為多至約50 mM；穩定劑(若存在)之量為多至約300 mM；及多元醇(若存在)之量為多至約300 mM。

【請求項79】

如請求項61之組合物，其不含或實質上不含(i)檸檬酸鹽緩衝劑；或(ii)檸檬酸鹽/磷酸鹽緩衝劑組合。

【請求項80】

如請求項62之組合物，其不含或實質上不含多元醇。

【請求項81】

一種水性醫藥組合物，其包括阿達木單抗，其中：(i)該組合物不含或實質上不含緩衝劑；且(ii)該組合物展現長期穩定性。

【請求項82】

如請求項81之組合物，其進一步包括下列之一者或兩者：

(a)穩定劑，其選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、EDTA、氯化鈉、硫酸鈉、金屬離子及其組合組成之群；及/或

(b)多元醇，其選自山梨醇、甘露醇及海藻糖或其組合。

【請求項83】

如請求項82之組合物，其包括(a)且不包括(b)。

【請求項84】

如請求項82之組合物，其包括(b)且不包括(a)。

【請求項85】

如請求項82之組合物，其包括(a)及(b)。

【請求項86】

如請求項82之組合物，其中該穩定劑(若存在)包括甘胺酸、精胺酸或其組合。

【請求項87】

如請求項82之組合物，其中該多元醇(若存在)包括甘露醇。

【請求項88】

如請求項82之組合物，其中阿達木單抗之量為約50 mg/ml至約150 mg/ml；穩定劑之量為多至約300 mM；及多元醇(若存在)之量為多至約300 mM。

【請求項89】

如請求項82之組合物，其中穩定劑及多元醇之組合量在約150 mM至300 mM之範圍內。

【請求項90】

一種增強水性緩衝阿達木單抗調配物之長期穩定性之方法，其包括以下步驟中之一或多者：

(a) 將組胺酸緩衝劑、琥珀酸鹽緩衝劑或其組合納入該調配物中，此係基於指示該等緩衝劑較其他緩衝劑或緩衝劑組合貢獻該調配物更大程度

穩定性之實驗數據；或

(b) 將甘胺酸、精胺酸或其組合作為穩定劑納入該調配物中，此係基於指示該穩定劑較其他穩定劑貢獻該調配物更大程度穩定性之實驗數據；或

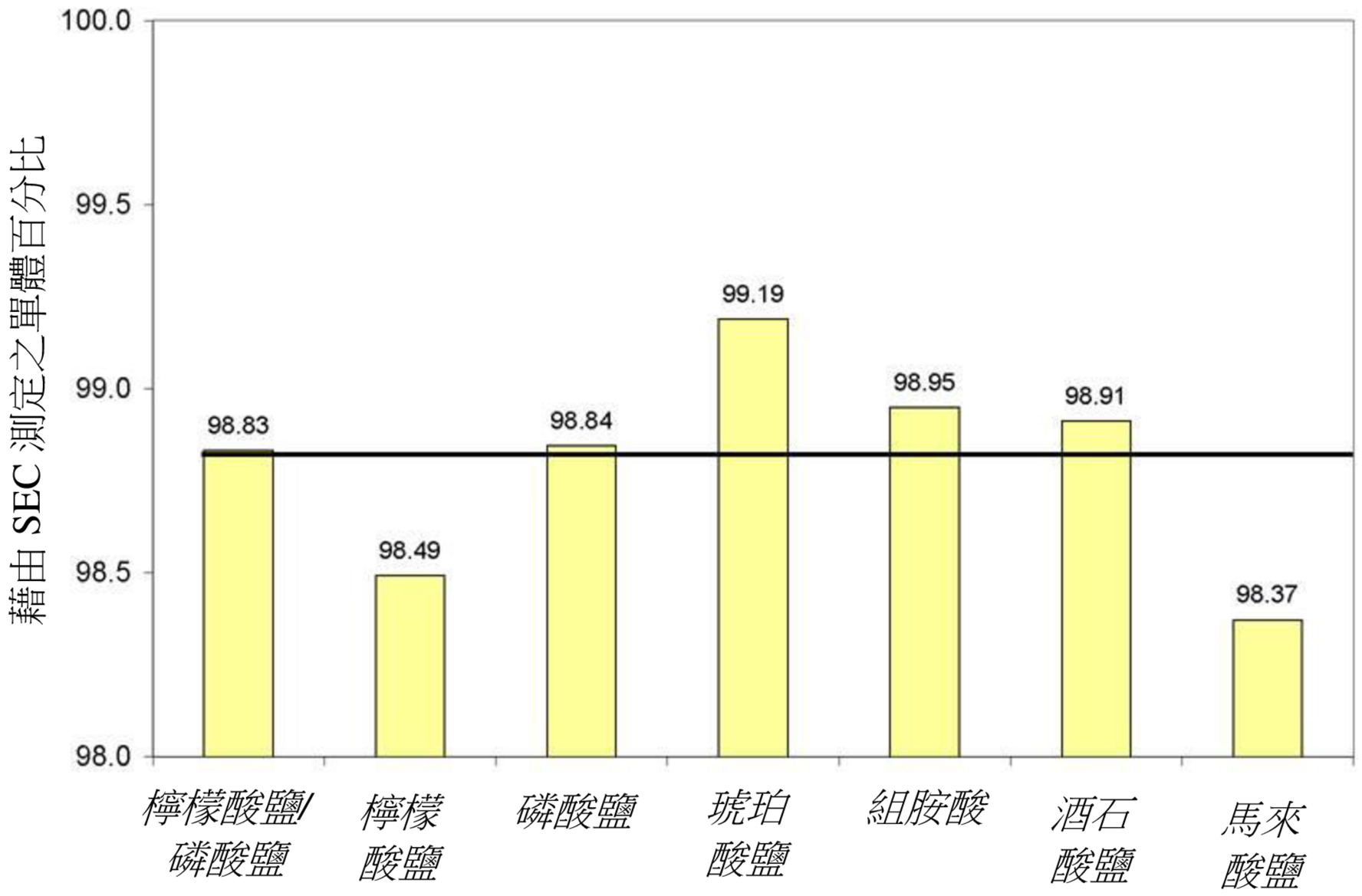
(c) 實質上排除檸檬酸鹽緩衝劑或包括檸檬酸鹽緩衝劑之組合之存在，此係基於指示該緩衝劑或該等緩衝劑組合與其他緩衝劑相比在穩定該調配物方面性能差之實驗數據。

【請求項91】

如請求項90之方法，其中該所得調配物展現與以商標Humira®出售之市售阿達木單抗調配物相當或更佳之長期穩定性。

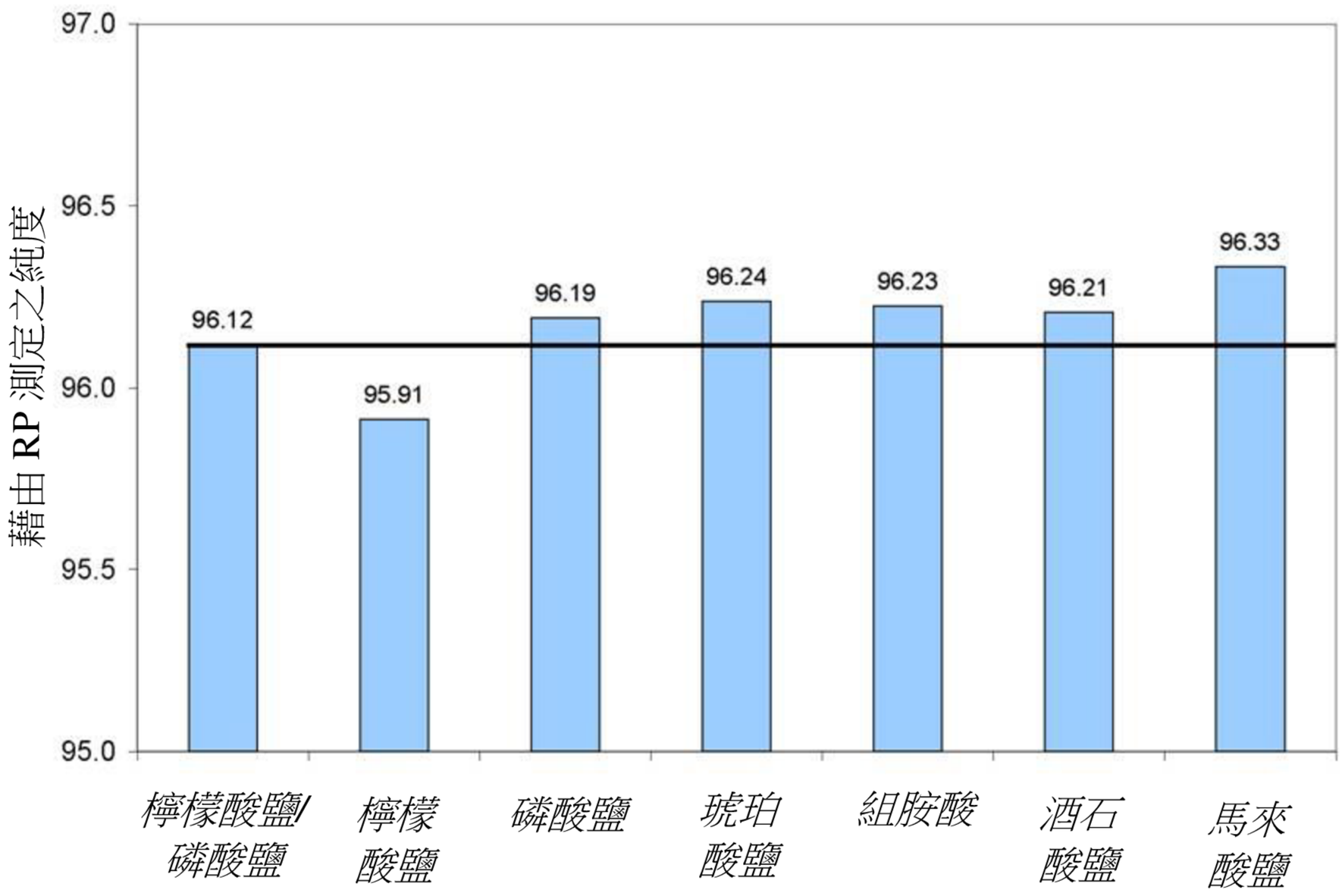
【發明圖式】

pH 5.2 下之 LB-140 (t2，40℃)



【圖1】

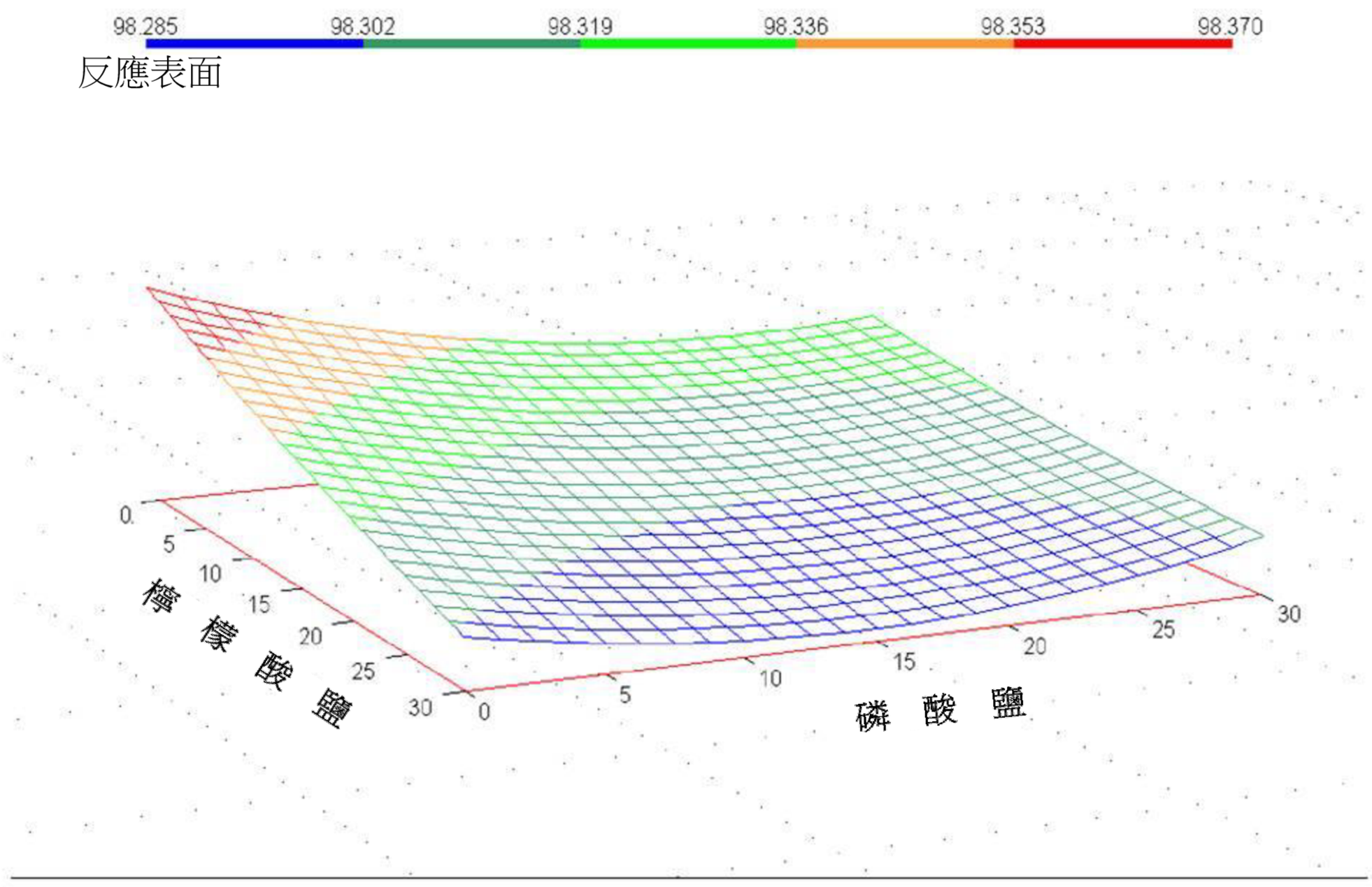
pH 5.2 下之 LB-140 (t2，40℃)



【圖2】

202042841

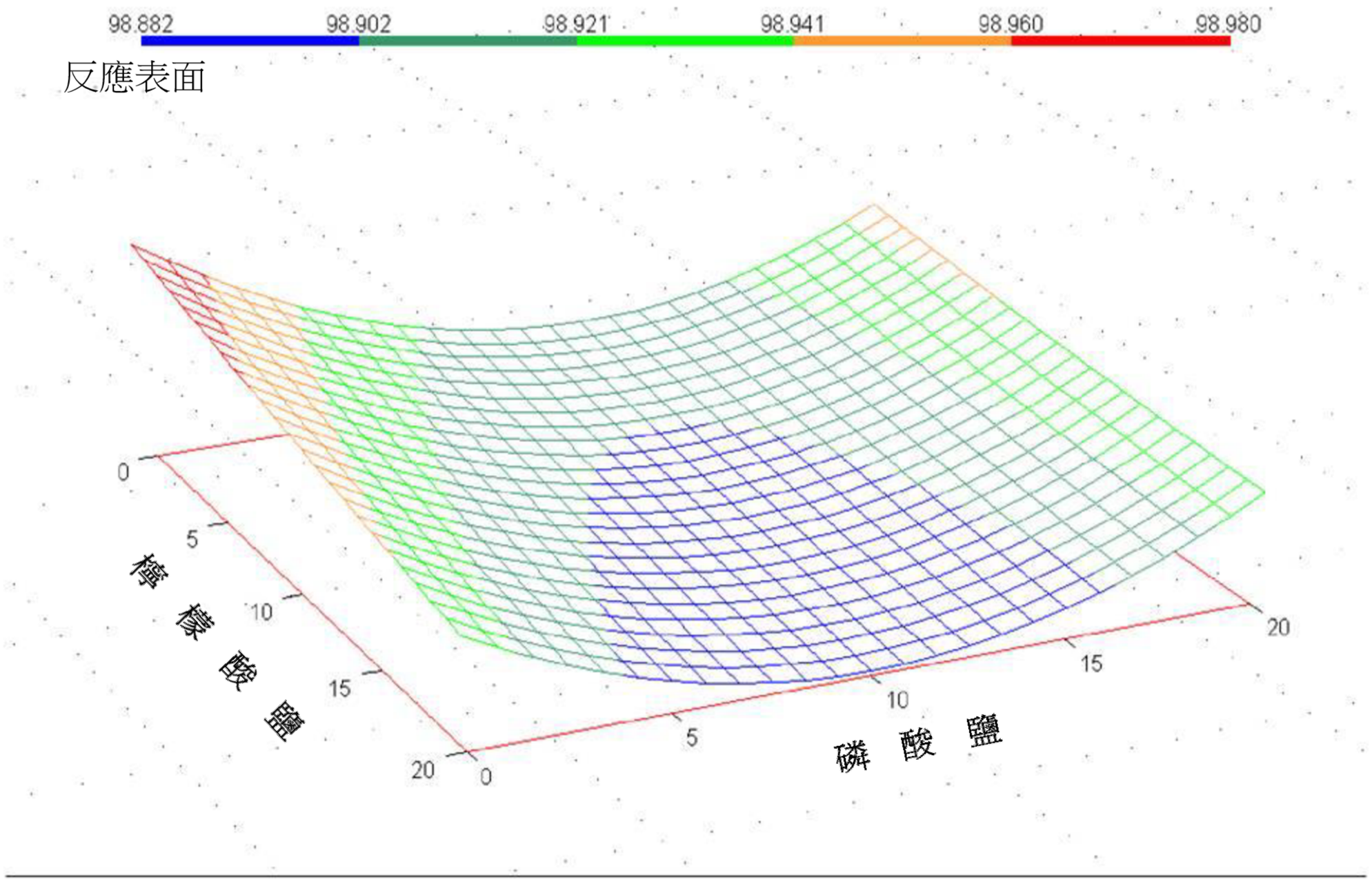
檸檬酸鹽/磷酸鹽之效應(PLS 模型 1)



結果 8，PC：1，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸 = 0.0000，酒石酸鹽= 0.0000，馬來酸鹽= 0.0000，乙酸鹽

【圖3】

202042841

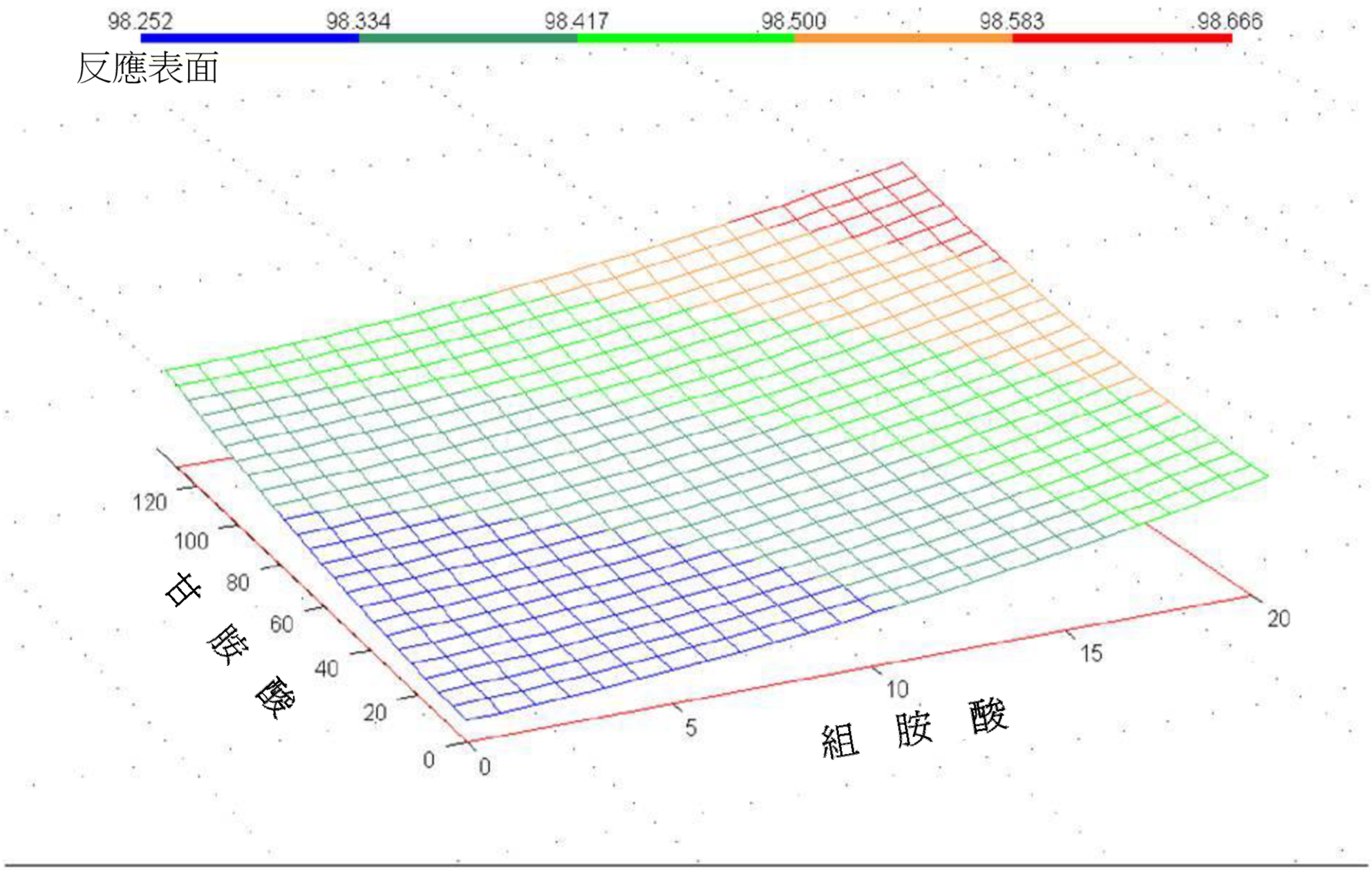


LB-140 區 B…，PC：1，Y-變量：t2 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，乙酸鹽= 0.0000，甘胺酸= 0.0000

【圖4】

202042841

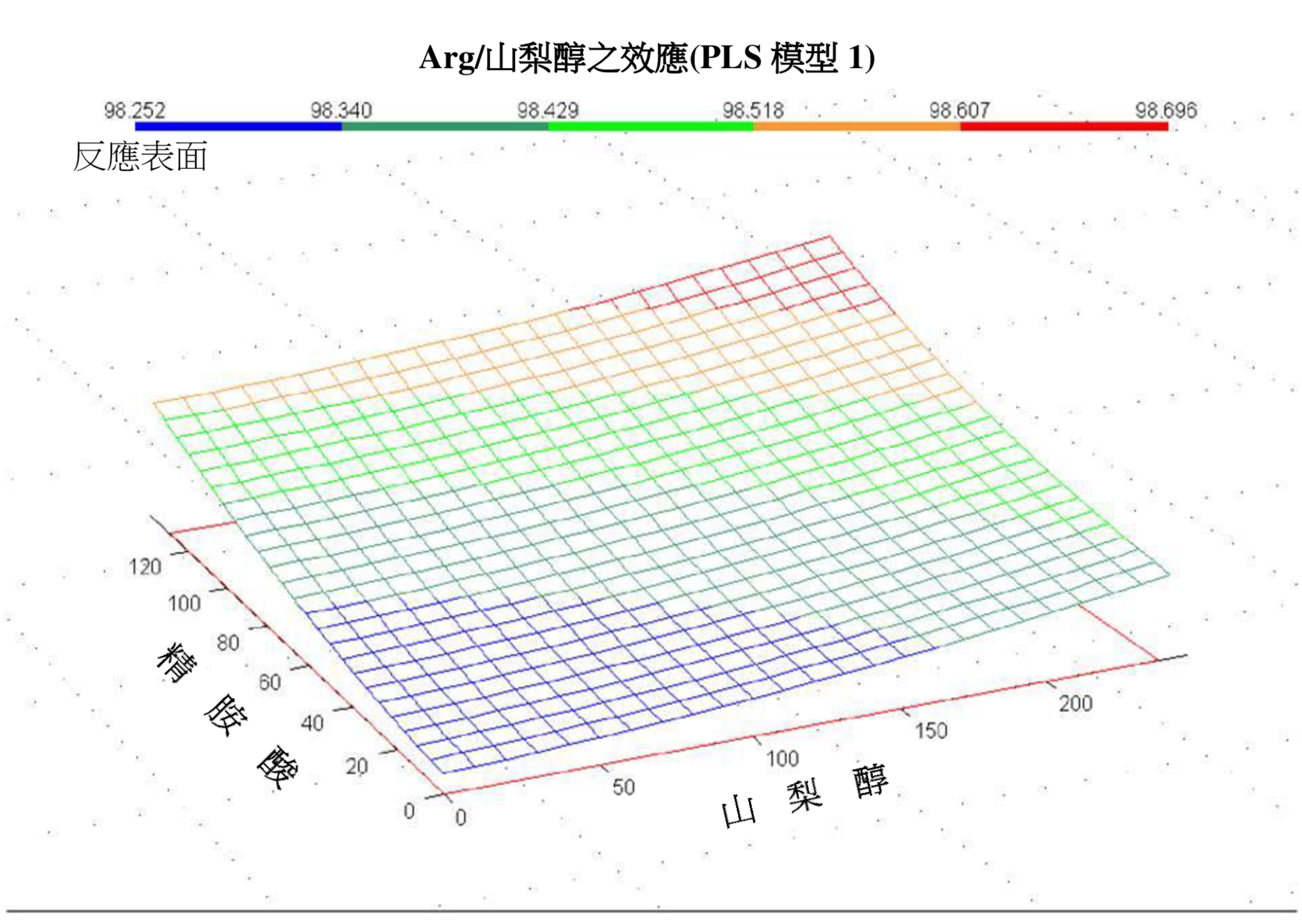
HIS/GLY 之效應(PLS 模型 1)



LB-140 SEC t1 M…，PC：1，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，酒石酸鹽= 0.0000，m

【圖5】

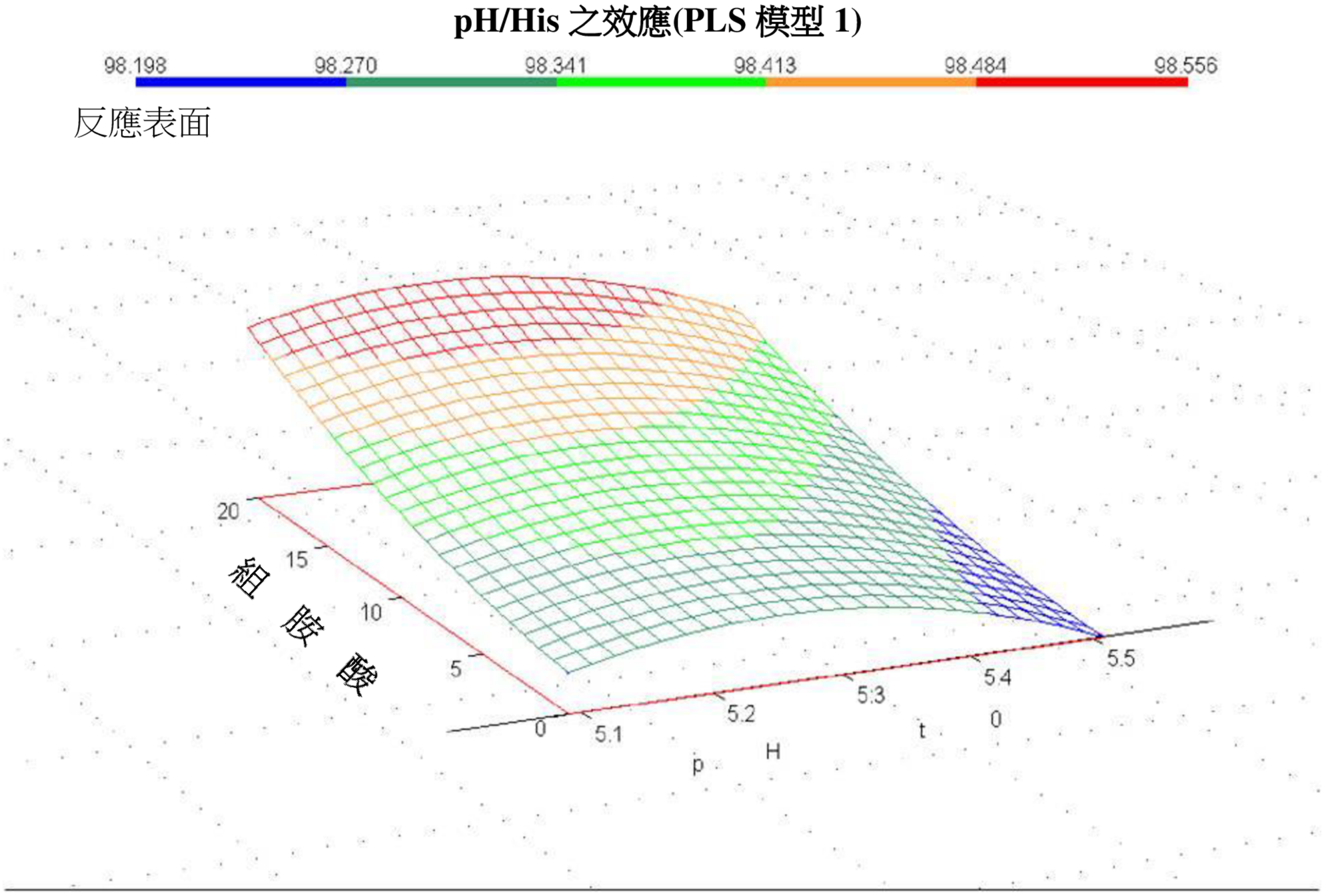
202042841



LB-140 SEC t1 M…，PC：1，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，t

【圖6】

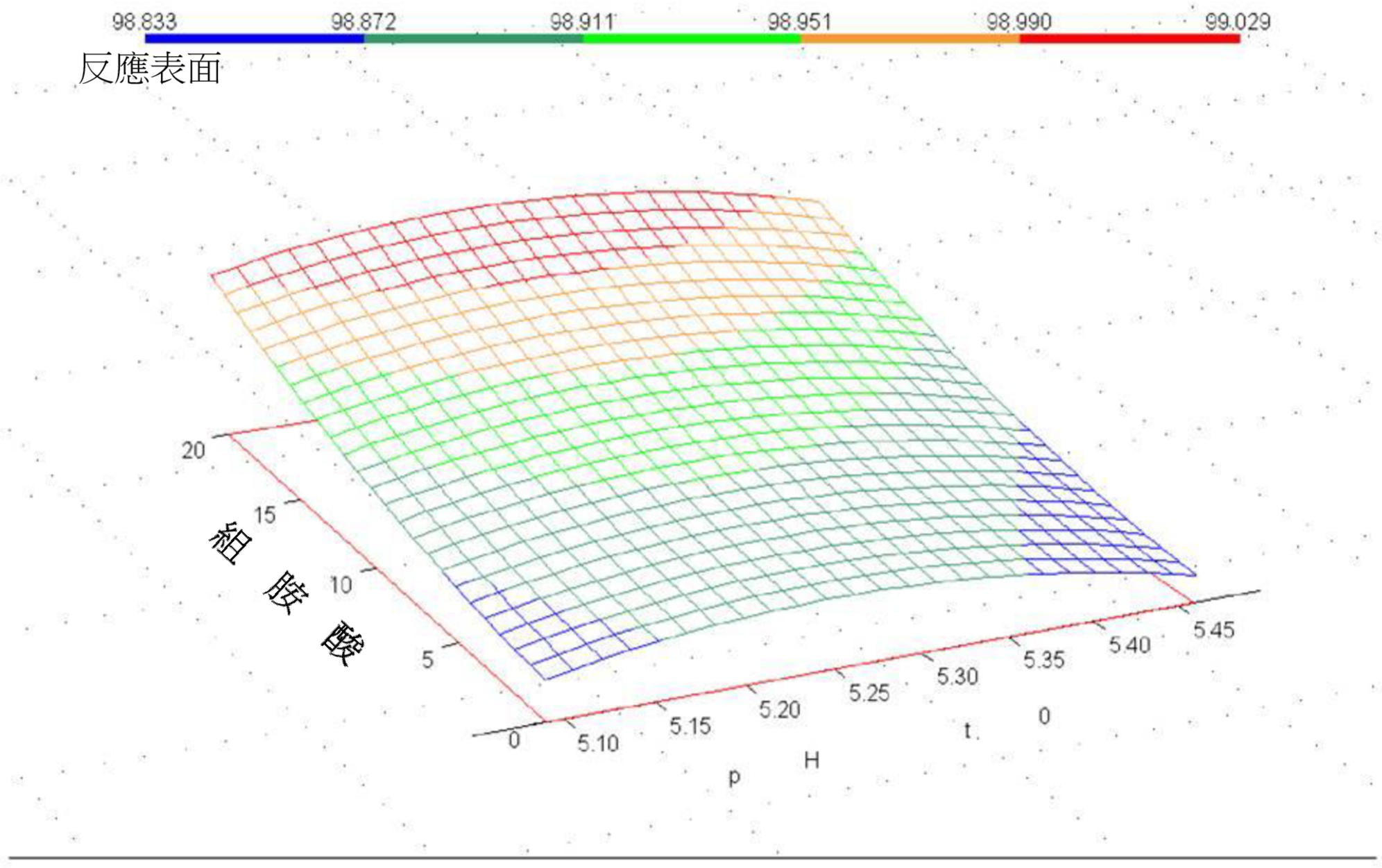
202042841



LB-140 區 BC…，PC：1，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，酒石酸鹽= 0.0000，馬來酸鹽= 0.0000，

【圖7】

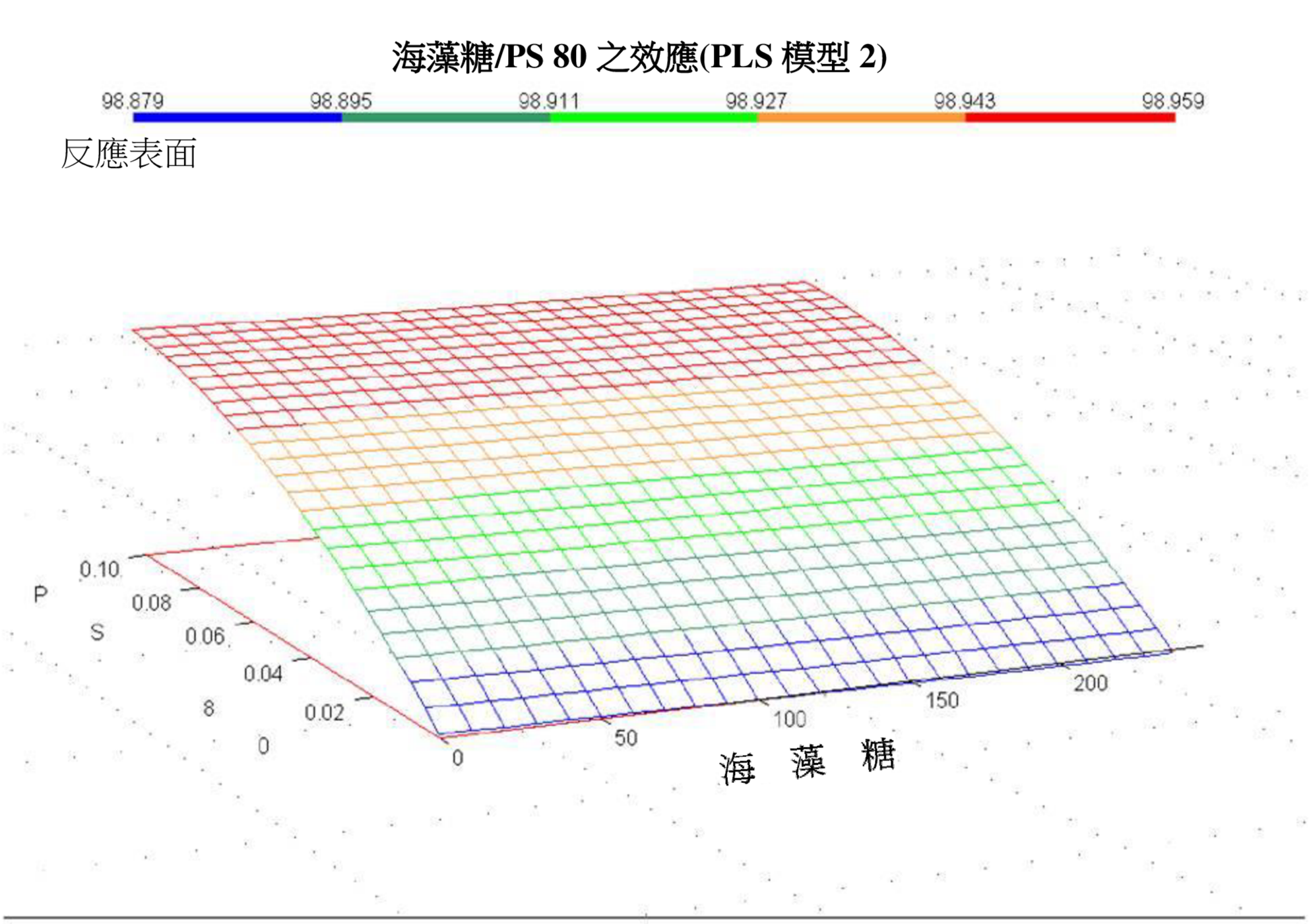
pH/His 之效應(PLS 模型 2)



LB-140 SEC t2 M…，PC：1，Y-變量：t2 SEC，(X-變量=值)：檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，甘胺酸= 0.0000，精胺酸= 0.0000，

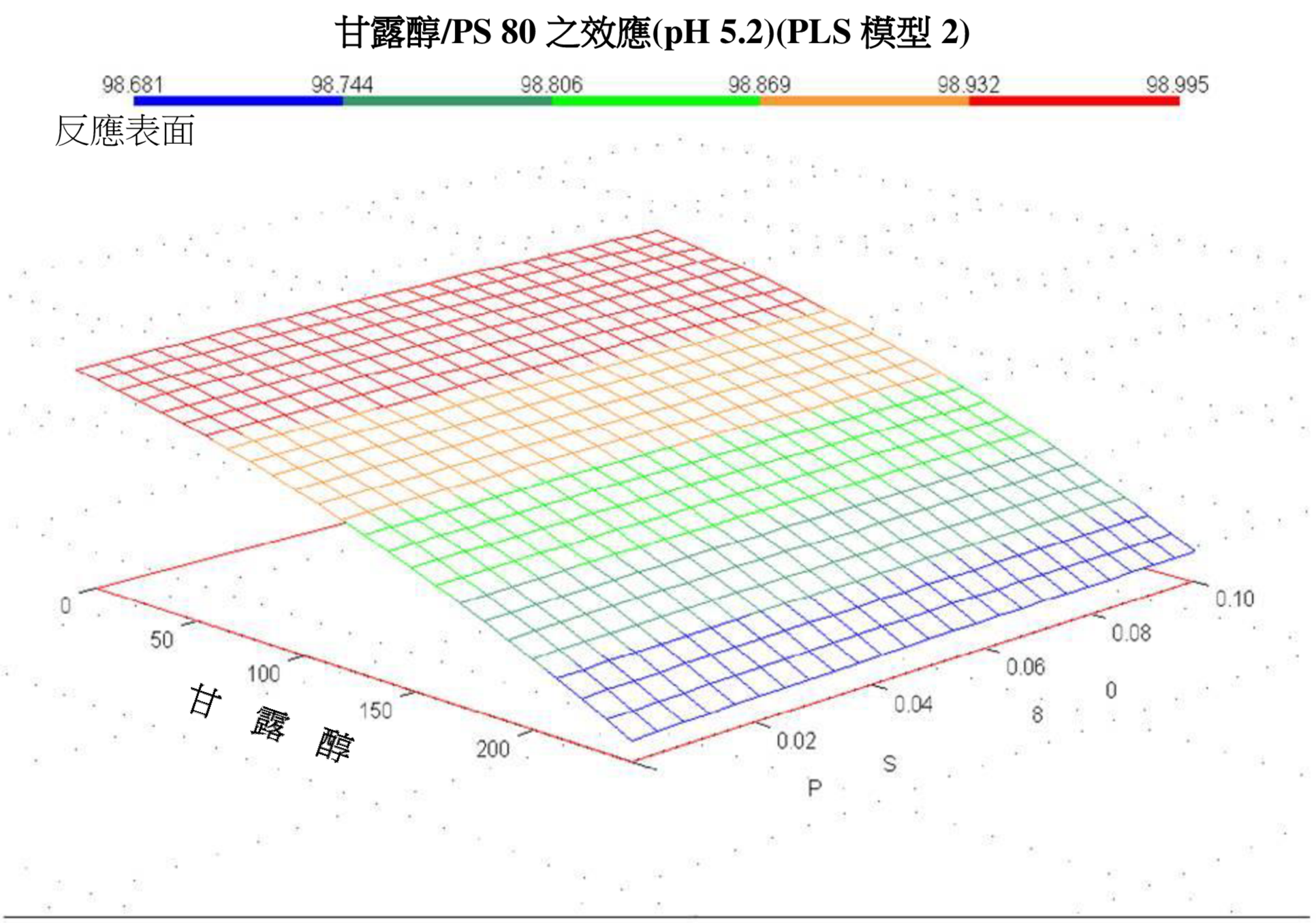
【圖8】

202042841



LB-140 SEC t2 M…，PC：1，Y-變量：t2 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，g

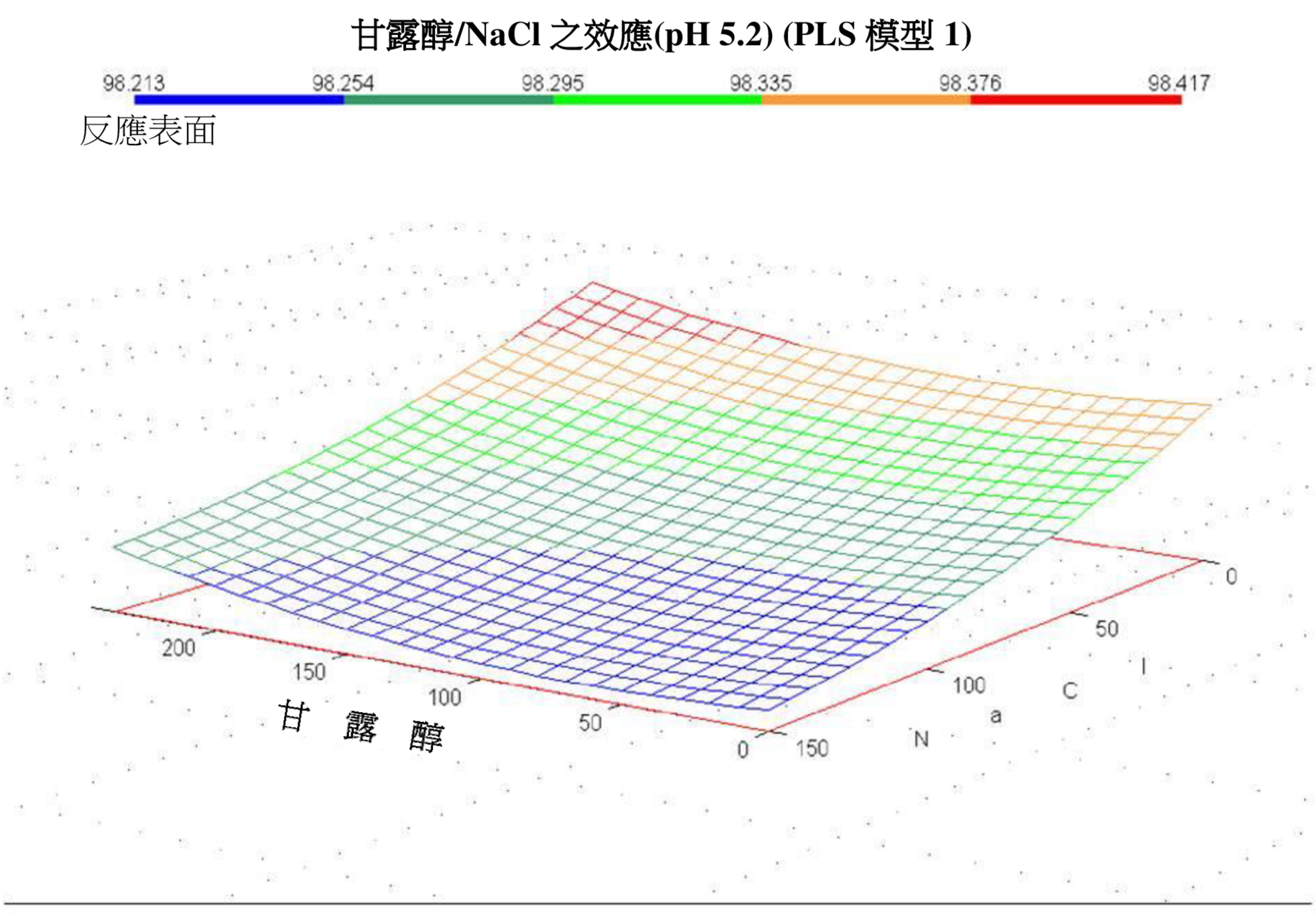
【圖9】



LB-140 區 B…，PC：1，Y-變量：t2 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，a

【圖10】

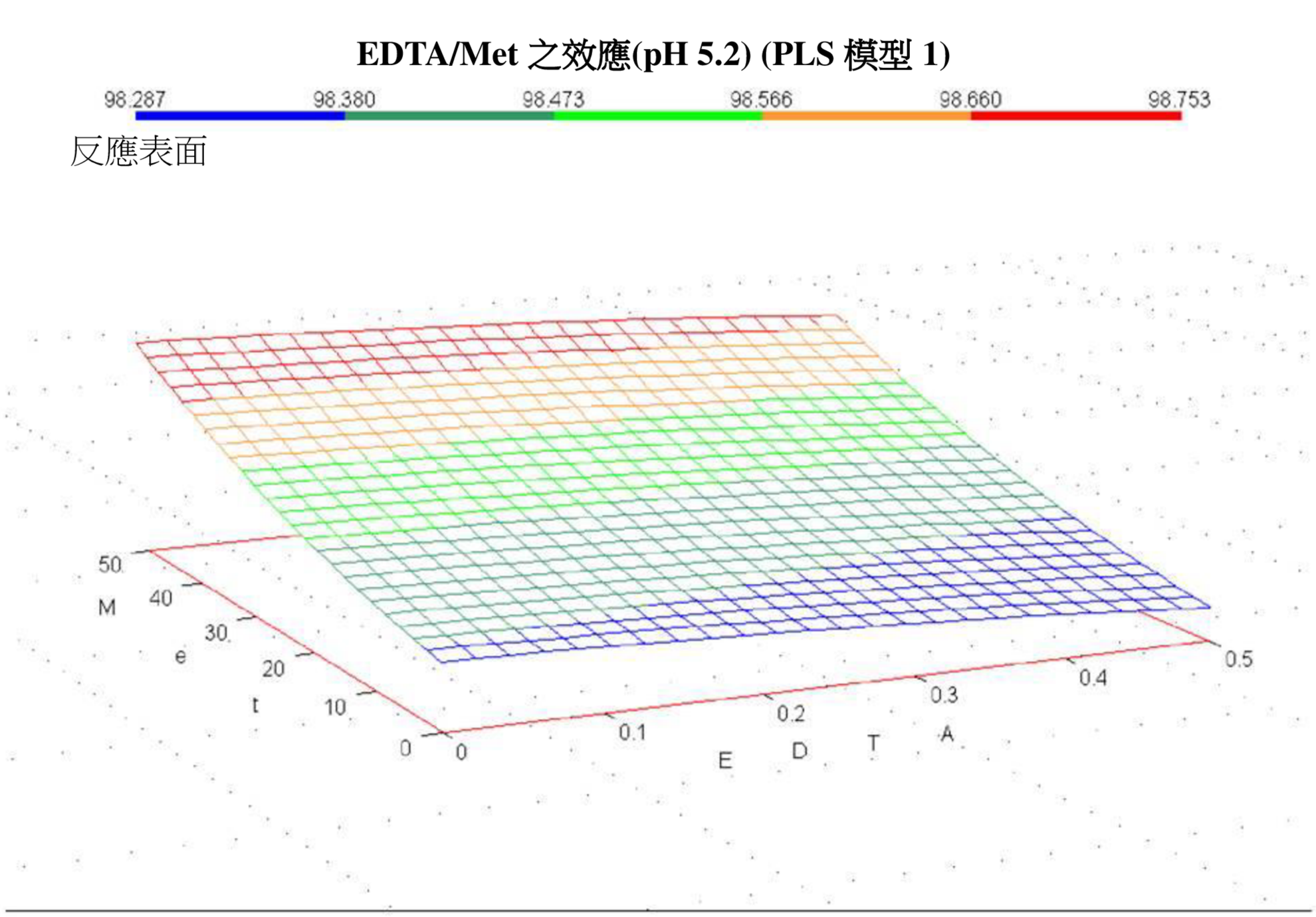
202042841



結果 8，PC：1，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽 = 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，酒石酸鹽= 0

【圖11】

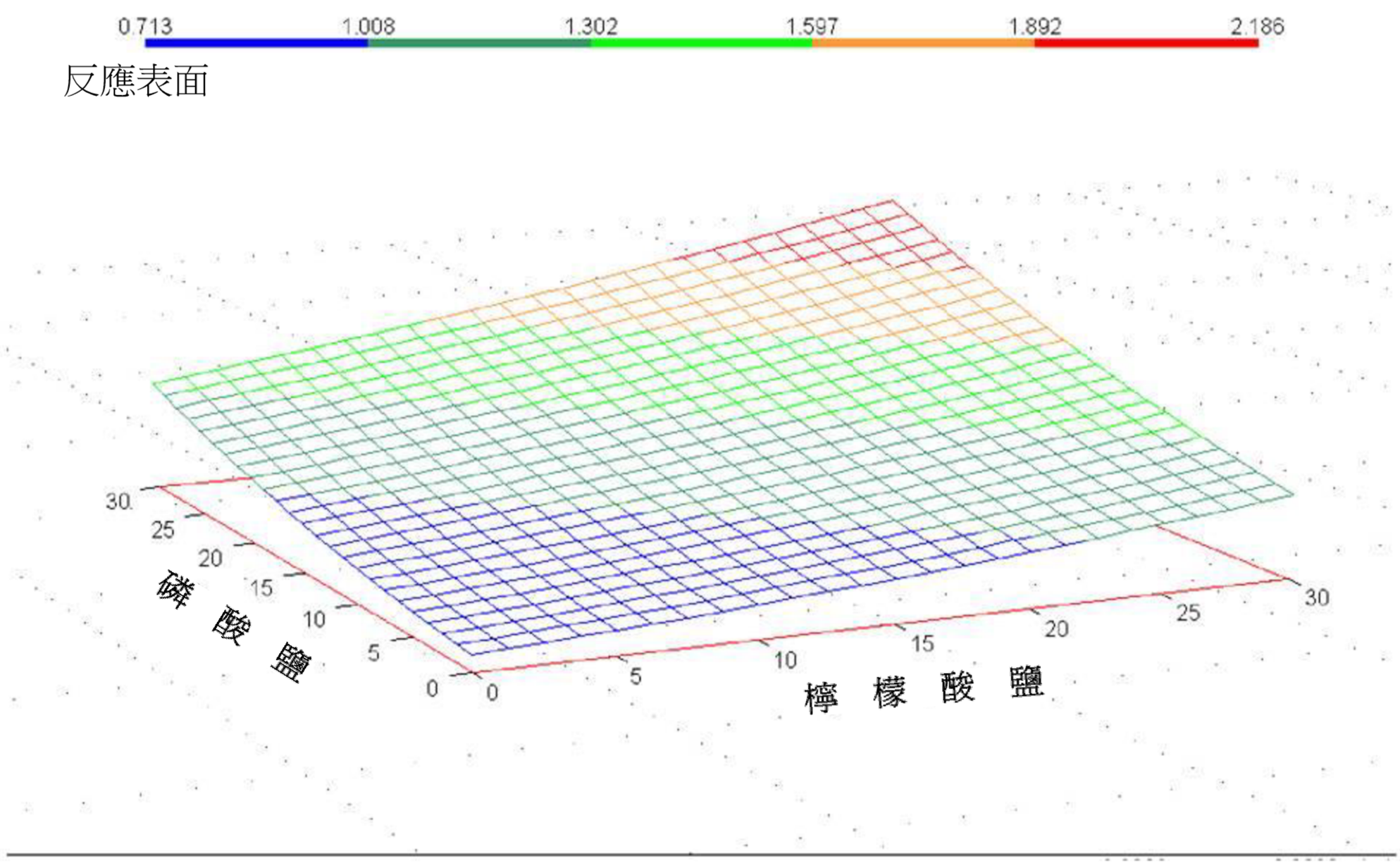
202042841



結果 8，PC：1，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽 = 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，酒石酸鹽=0

【圖12】

根據 PLS 模型 A 使用 t1 時單體含量差作為端點之檸檬酸鹽及磷酸鹽之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質固定於 50 mg/ml。

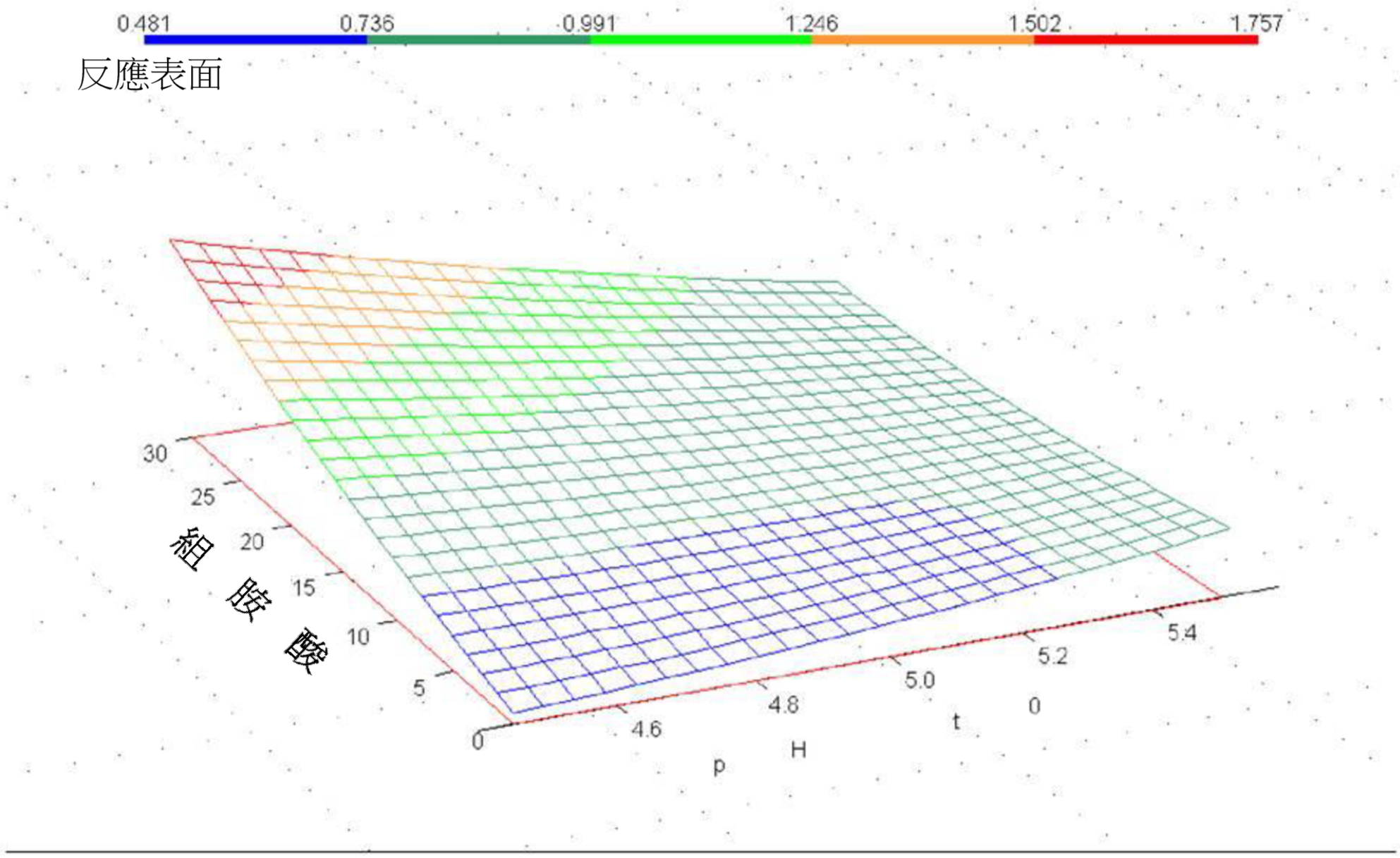


結果 2，PC：3，Y-變量：SEC 差，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，乙酸鹽=0.0000，甘胺酸

【圖13】

202042841

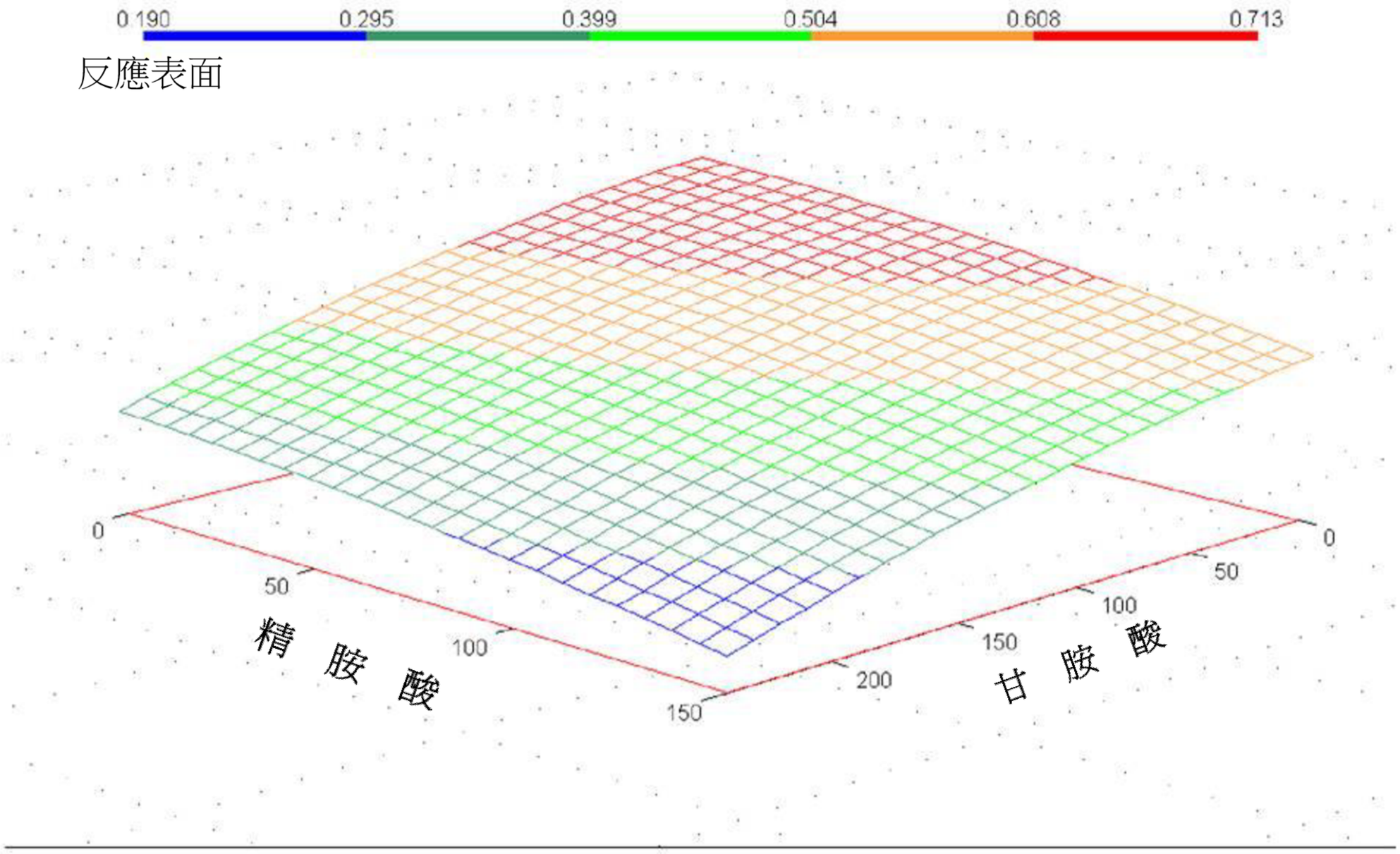
根據 PLS 模型 A 使用 t1 時單體含量差作為端點之 pH 及 His 之效應。將蛋白質濃度固定於 50 mg/ml。



結果 2，PC：3，Y-變量：SEC 差，(X-變量=值)：蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，乙酸鹽=0.0000，甘胺酸

【圖14】

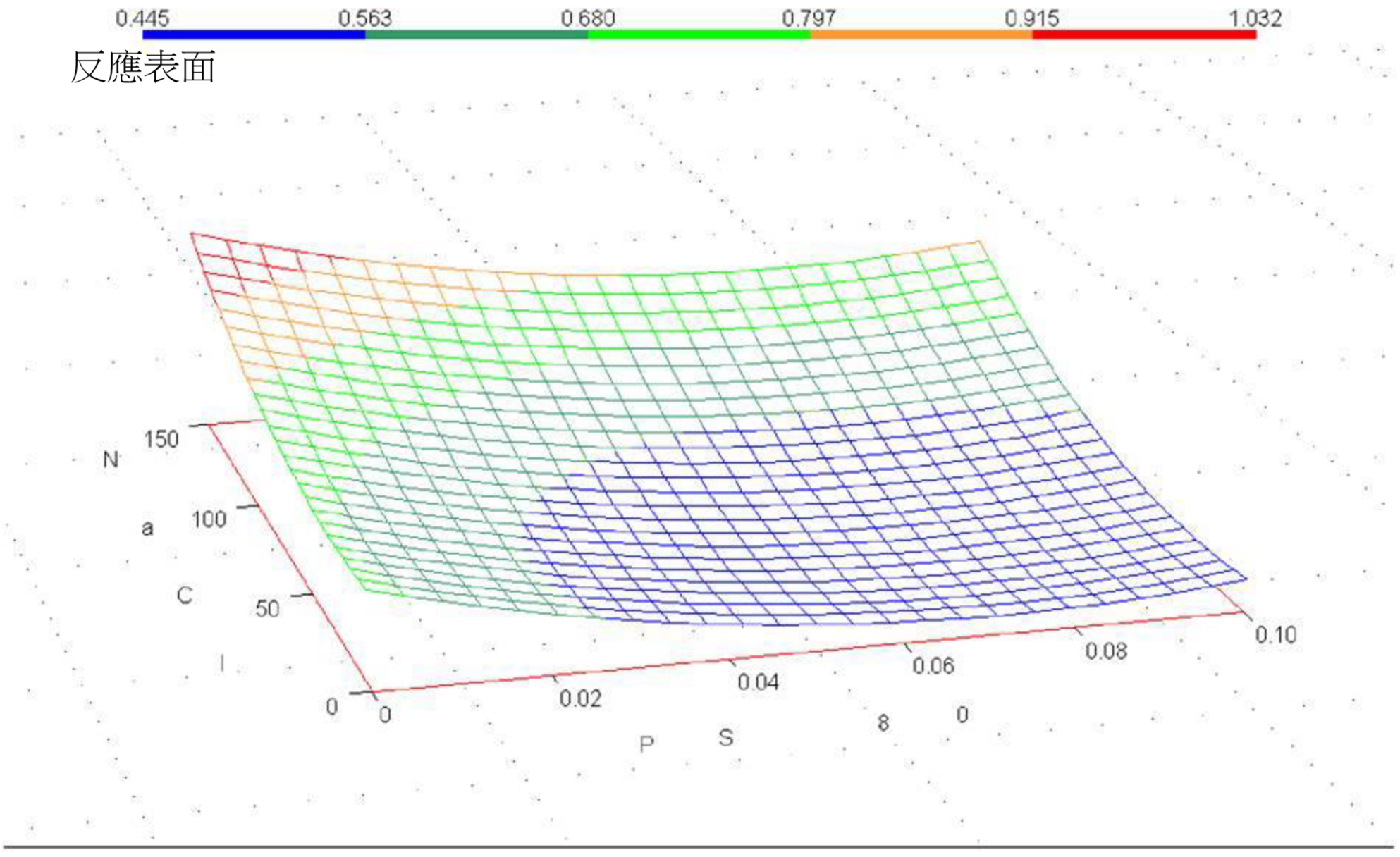
根據 PLS 模型 A 使用 t1 時單體含量差作為端點之 Gly 及 Arg 之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度固定於 50 mg/ml。



結果 2，PC：3，Y-變量：SEC 差，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸=

【圖15】

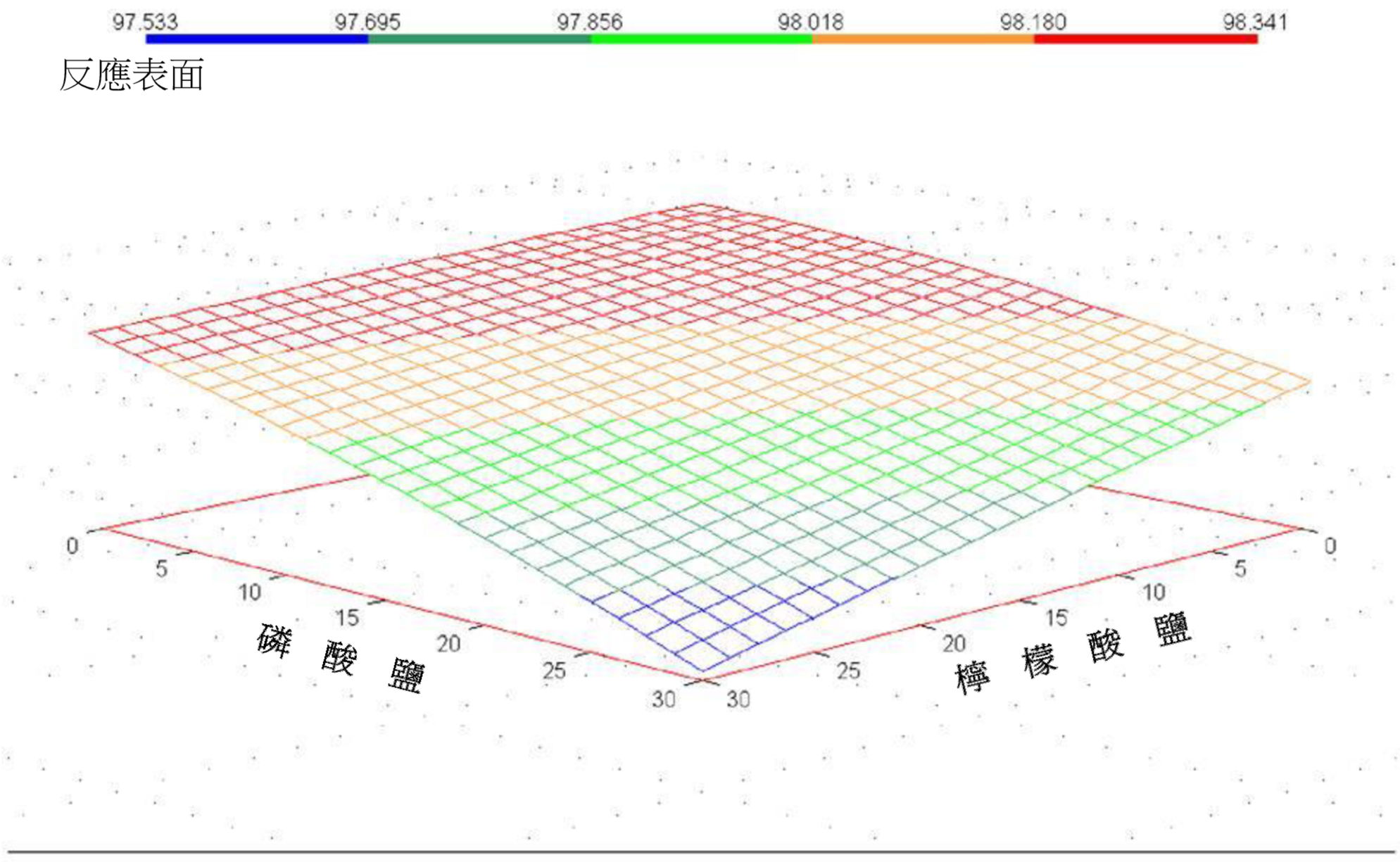
根據 PLS 模型 A 使用 t1 時單體含量差作為端點之 NaCl 及聚山梨醇酯 80 (PS 80)之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度固定於 50 mg/ml。



結果 2，PC：3，Y-變量：SEC 差，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸=

【圖16】

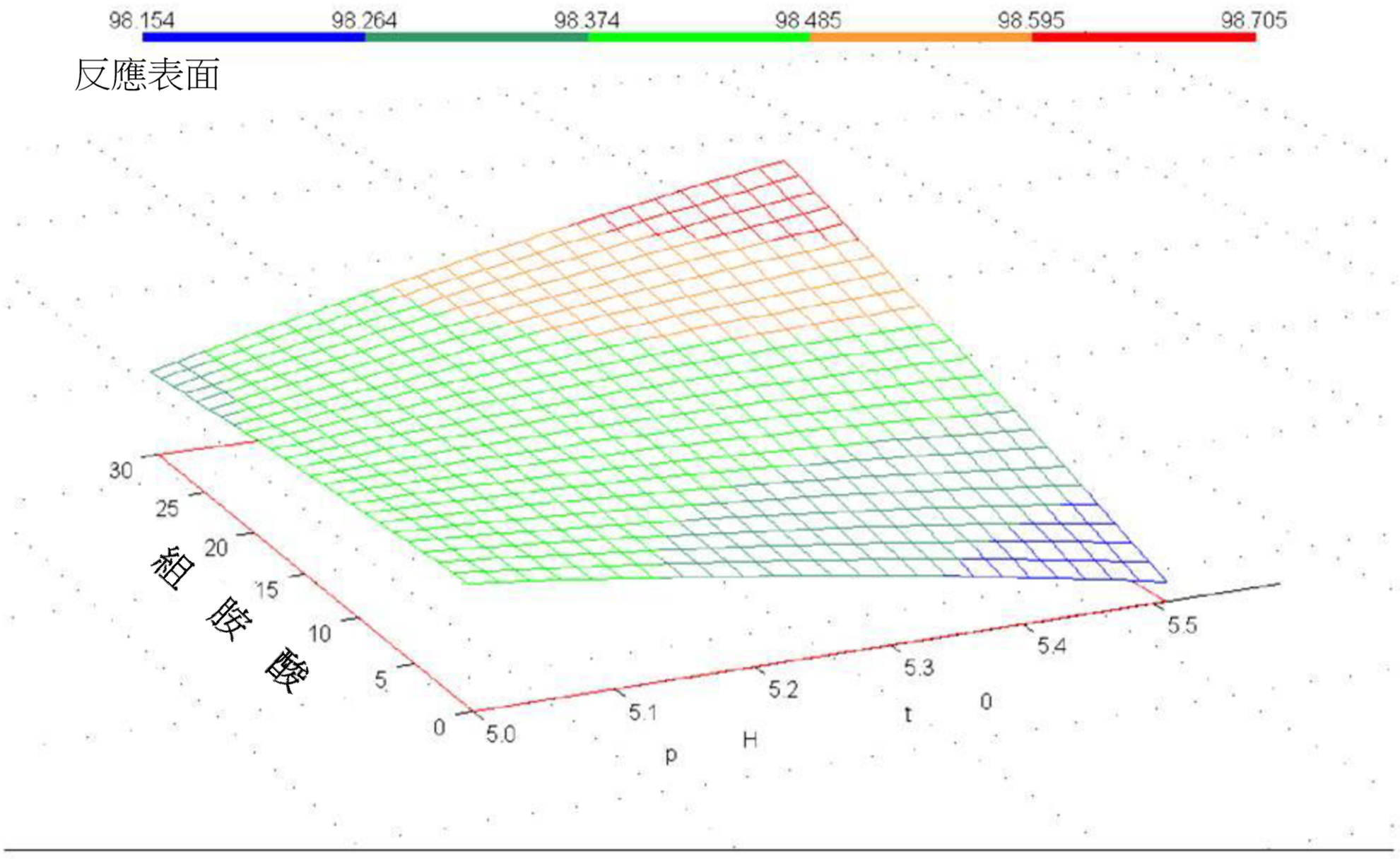
根據 PLS 模型 B 使用 t1 及 t2 時之單體含量作為端點之檸檬酸鹽及磷酸鹽之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度固定於 50 mg/ml。



LB-140 PLS2 SEC…，PC：4，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸=0.0000，乙酸鹽=0.0

【圖17】

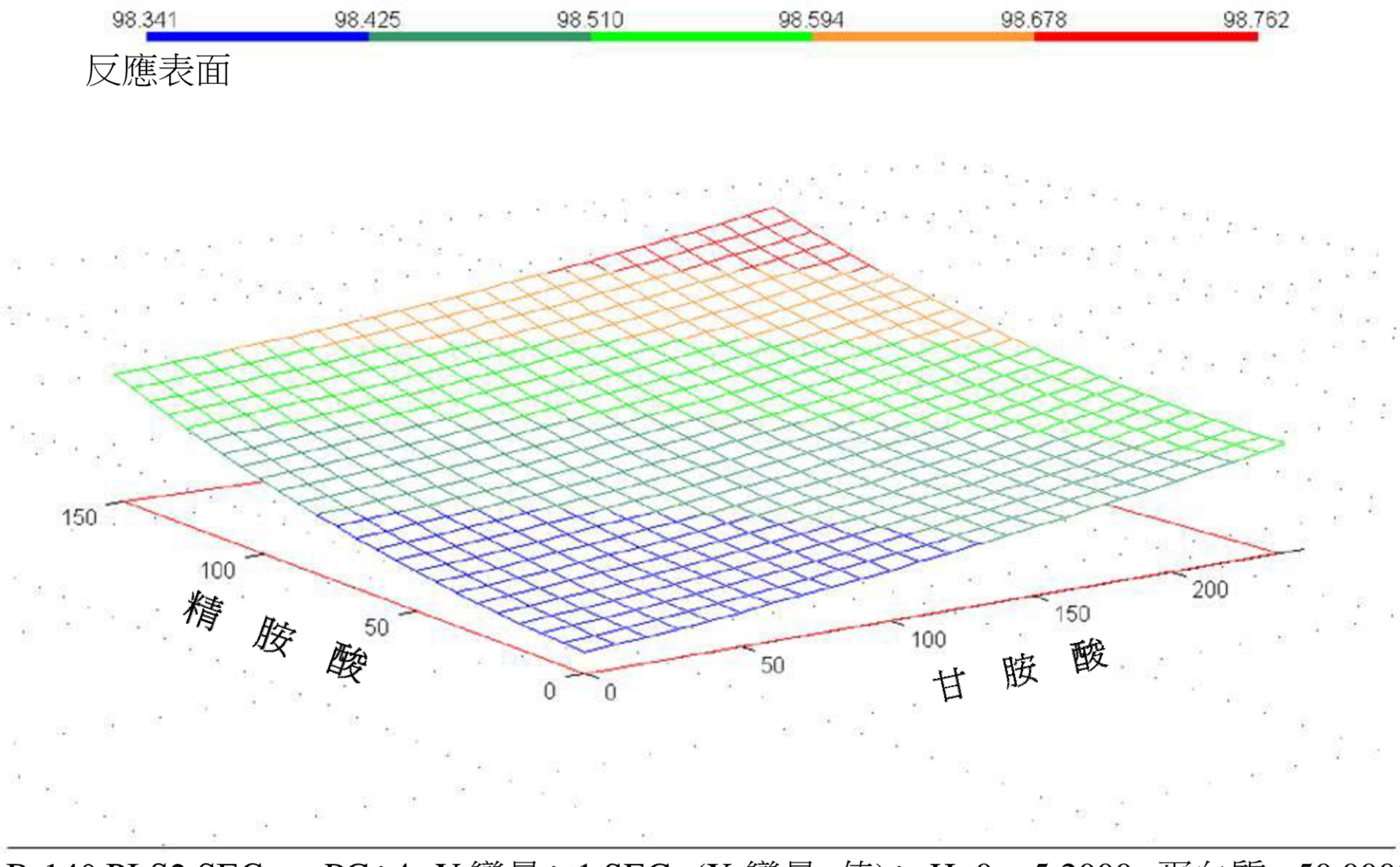
根據 PLS 模型 B 使用 t1 及 t2 時之單體含量作為端點之 pH 及 His 之效應。
將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。



LB-140 PLS2 SEC…，PC：4，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，乙酸鹽=0.000

【圖18】

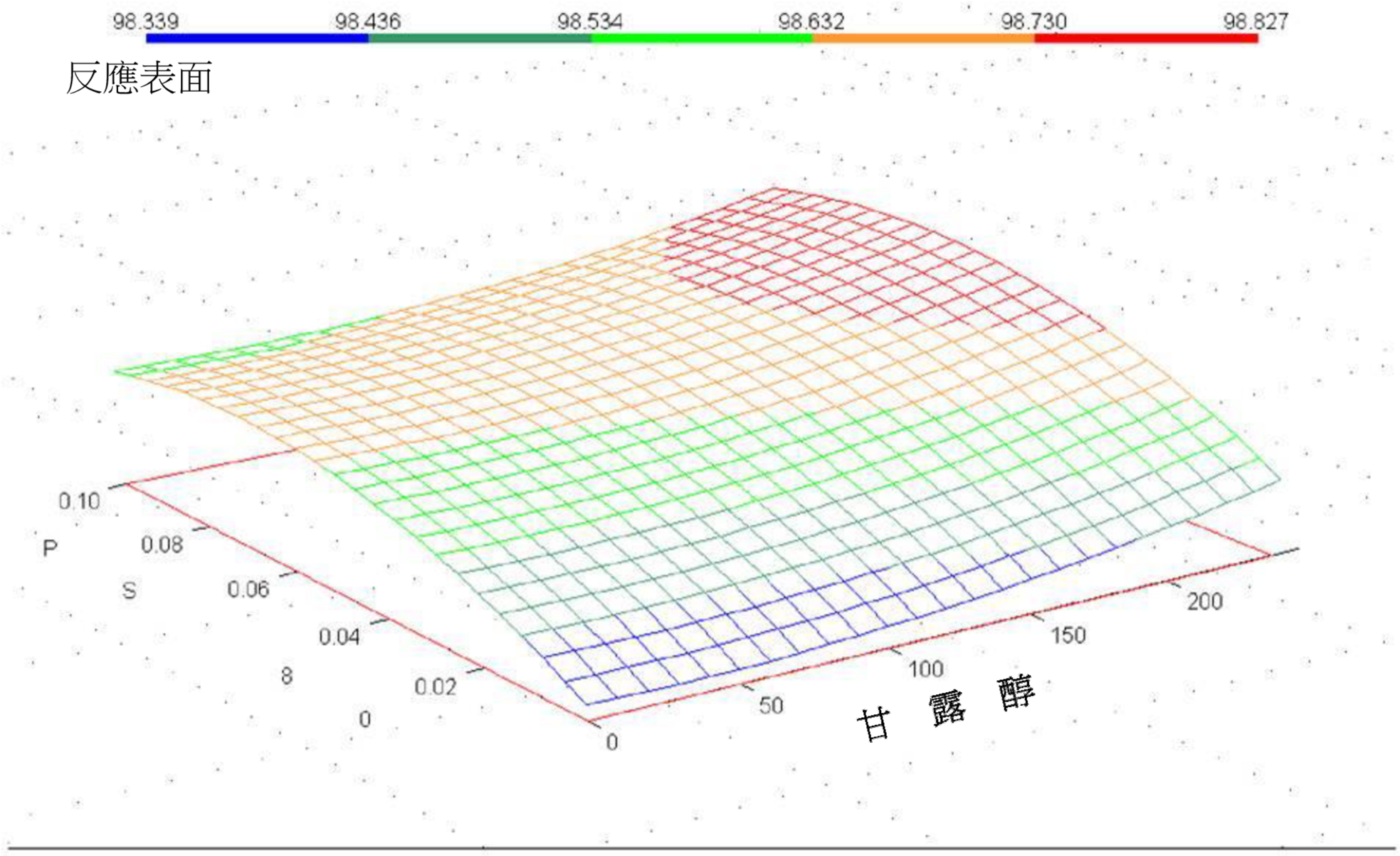
根據 PLS 模型 B 使用 t1 及 t2 時之單體含量作為端點之 Arg 及 Gly 之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。



LB-140 PLS2 SEC…，PC：4，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，

【圖19】

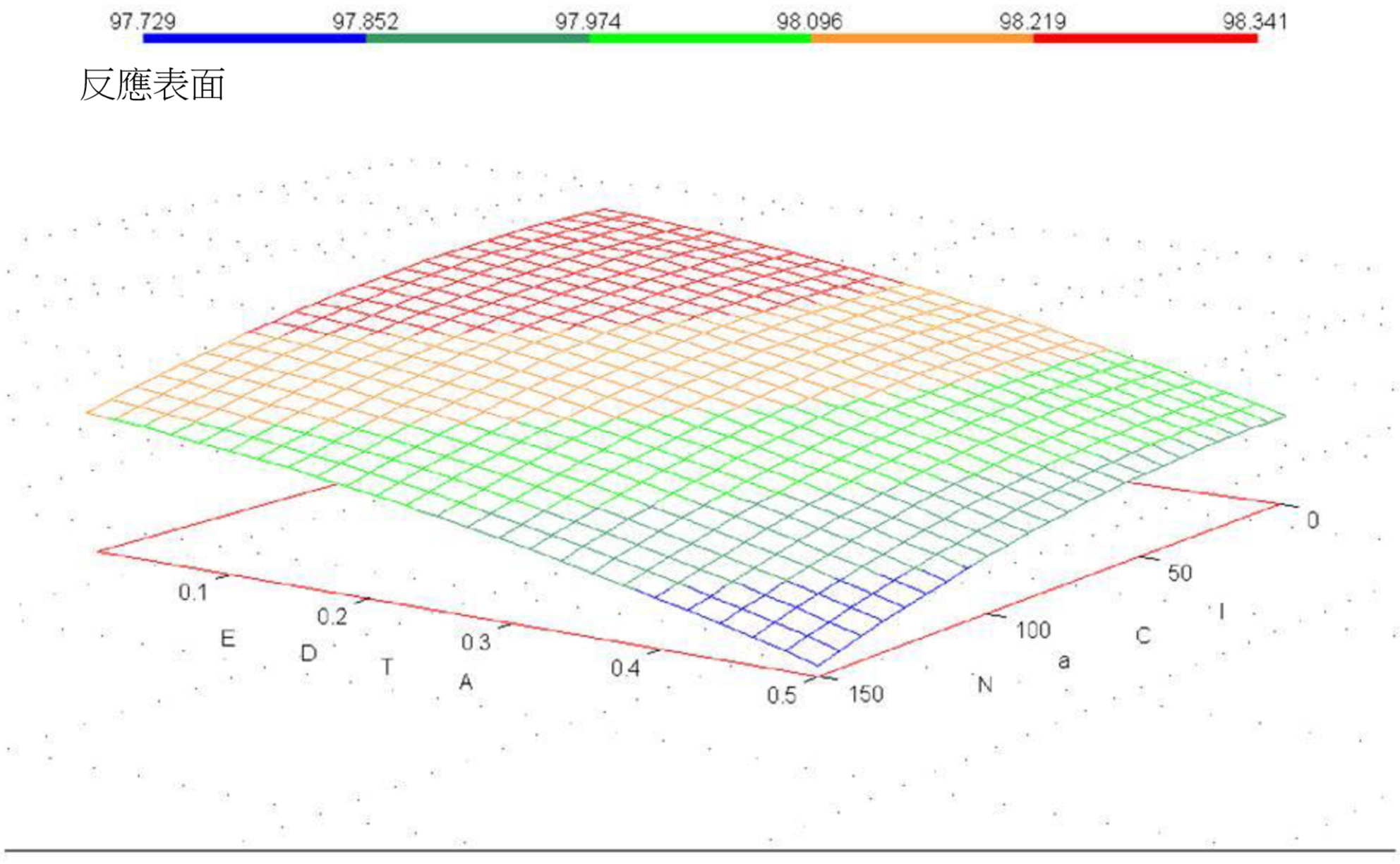
根據 PLS 模型 B 使用 t1 及 t2 時之單體含量作為端點之 PS 80 及甘露醇之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度固定於 50 mg/ml。



LB-140 PLS2 SEC…，PC：4，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，

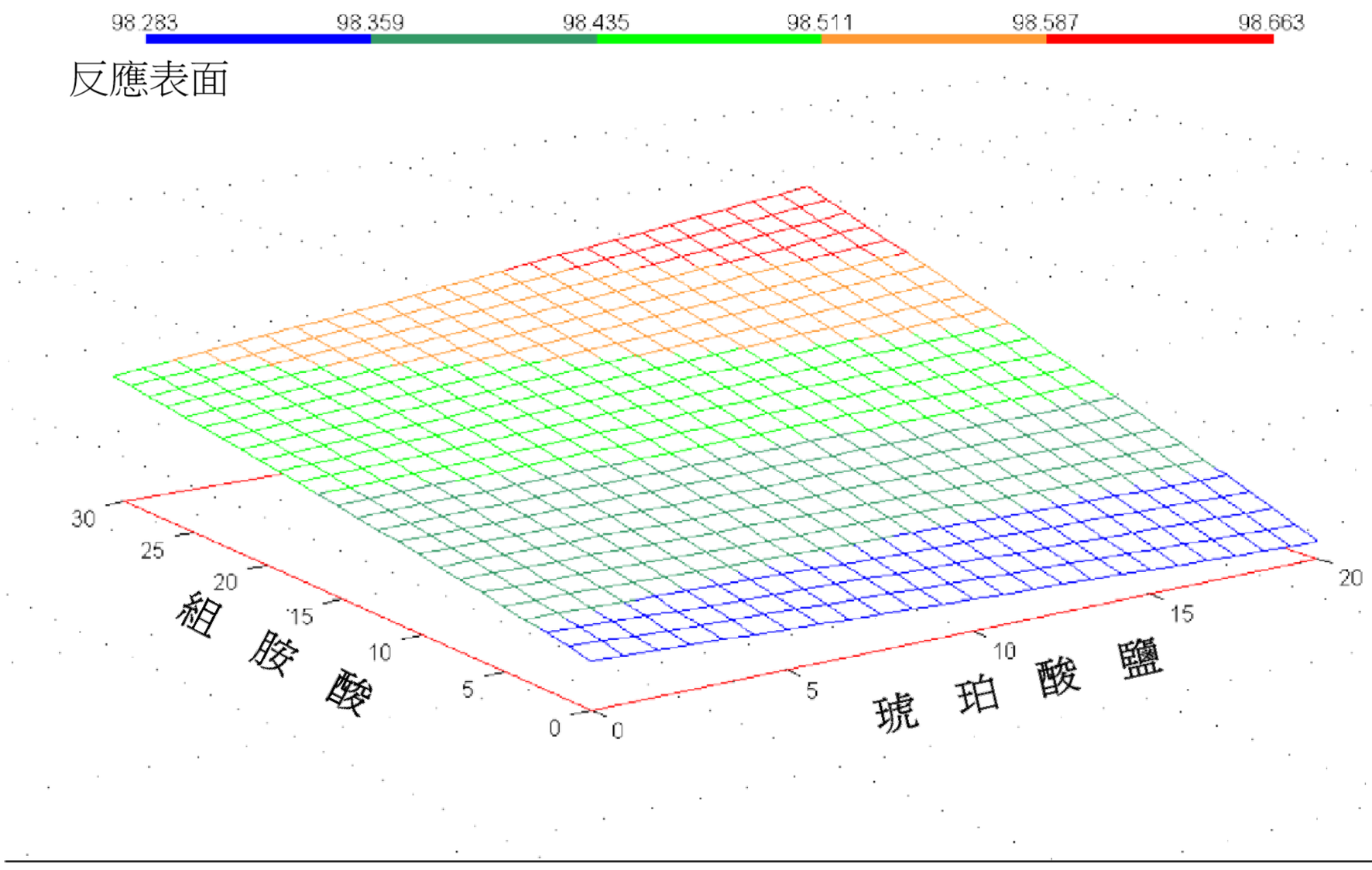
【圖20】

根據 PLS 模型 B 使用 t1 及 t2 時之單體含量作為端點之 EDTA 及 NaCl 之效應。
將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。



【圖21】

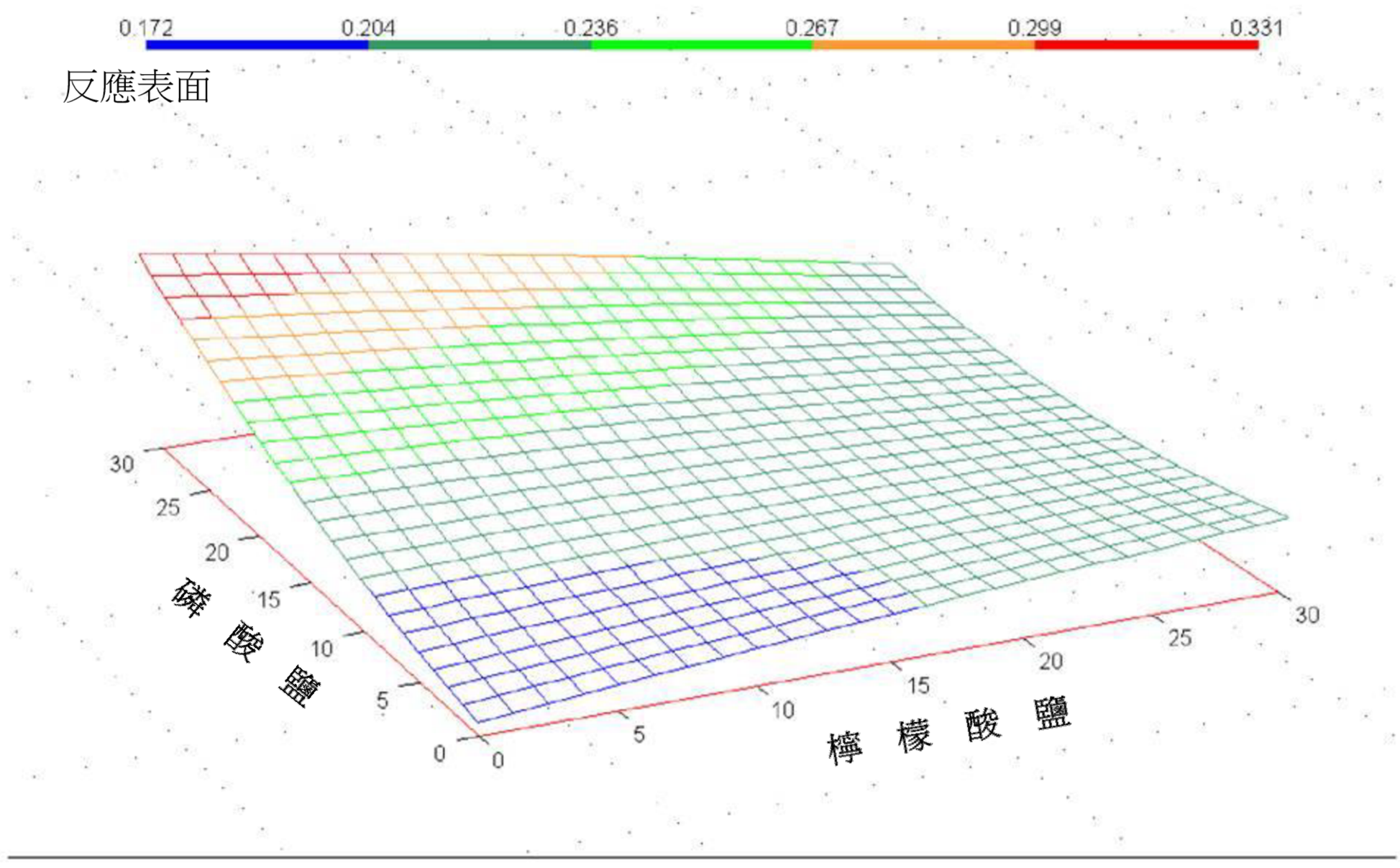
根據 PLS 模型 B 使用 t1 及 t2 時之單體含量作為端點之琥珀酸鹽及 His 之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。



LB-140 PLS2 SEC…，PC：4，Y-變量：t1 SEC，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，乙酸鹽= 0.0000，g

【圖22】

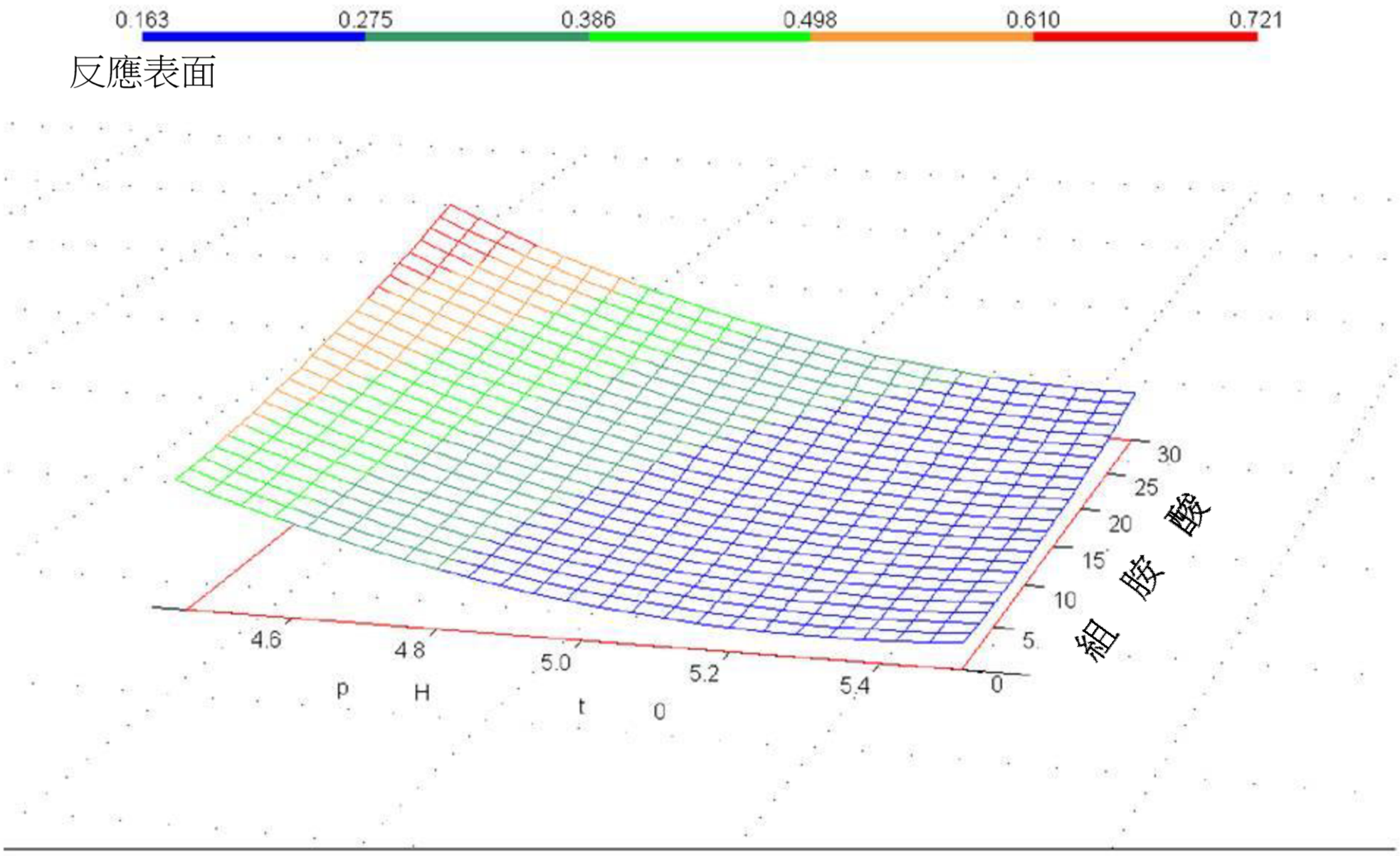
根據 PLS 模型 C 使用 t1 時藉由 RP HPLC 測定之純度差作為端點之磷酸鹽及檸檬酸鹽之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。



結果 14，PC：2，Y-變量：t1 RP 差，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸=0.0000，乙酸鹽= 0.0000，gly

【圖23】

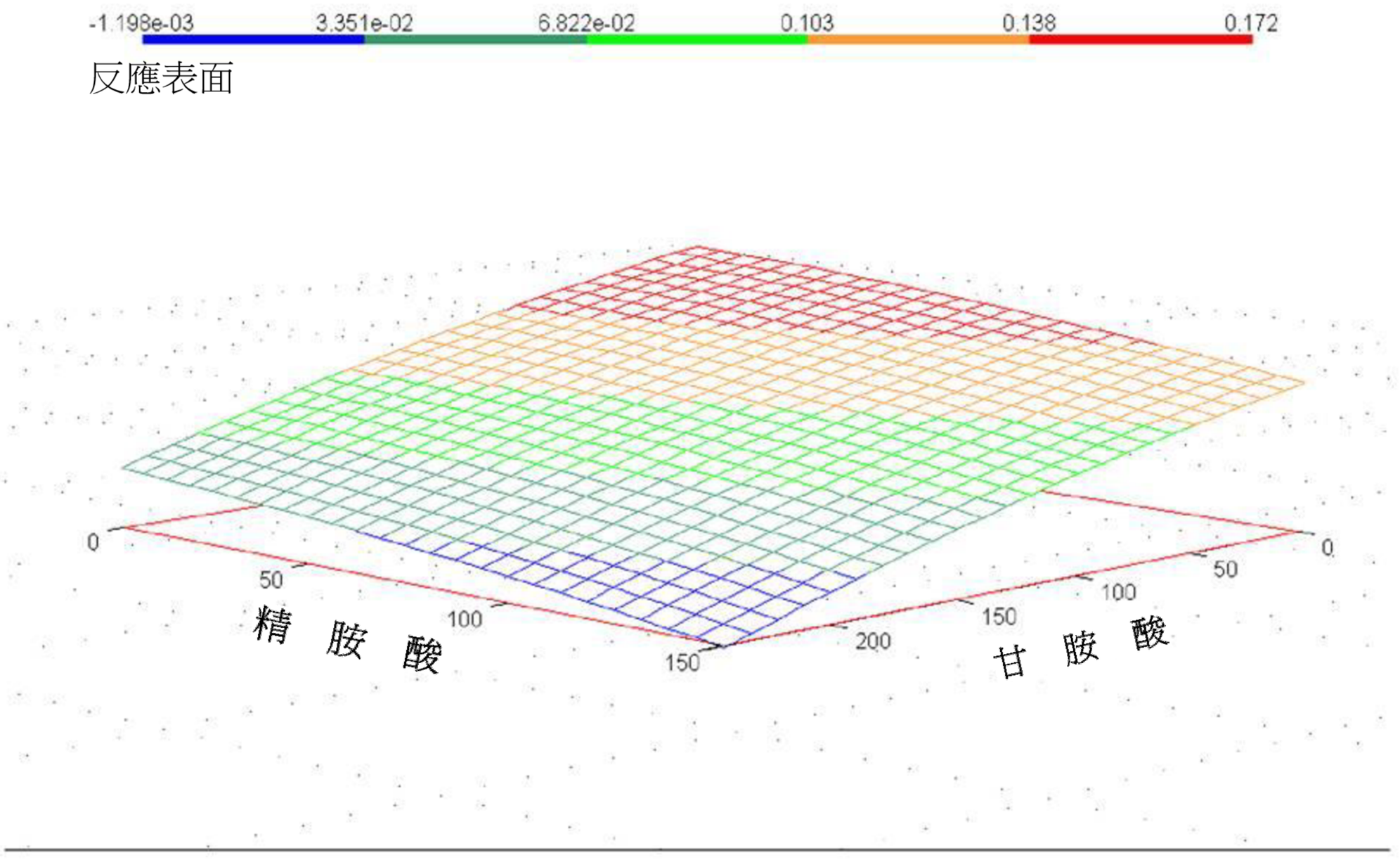
根據 PLS 模型 C 使用 t1 時藉由 RP HPLC 測定之純度差作為端點之 pH 及 His 之效應。將蛋白質濃度固定於 50 mg/ml。



結果 14，PC：2，Y-變量：t1 RP 差，(X-變量=值)：蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，乙酸鹽= 0.0000，甘胺酸

【圖24】

根據 PLS 模型 C 使用 t1 時藉由 RP HPLC 測定之純度差作為端點之 Arg 及 Gly 之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。

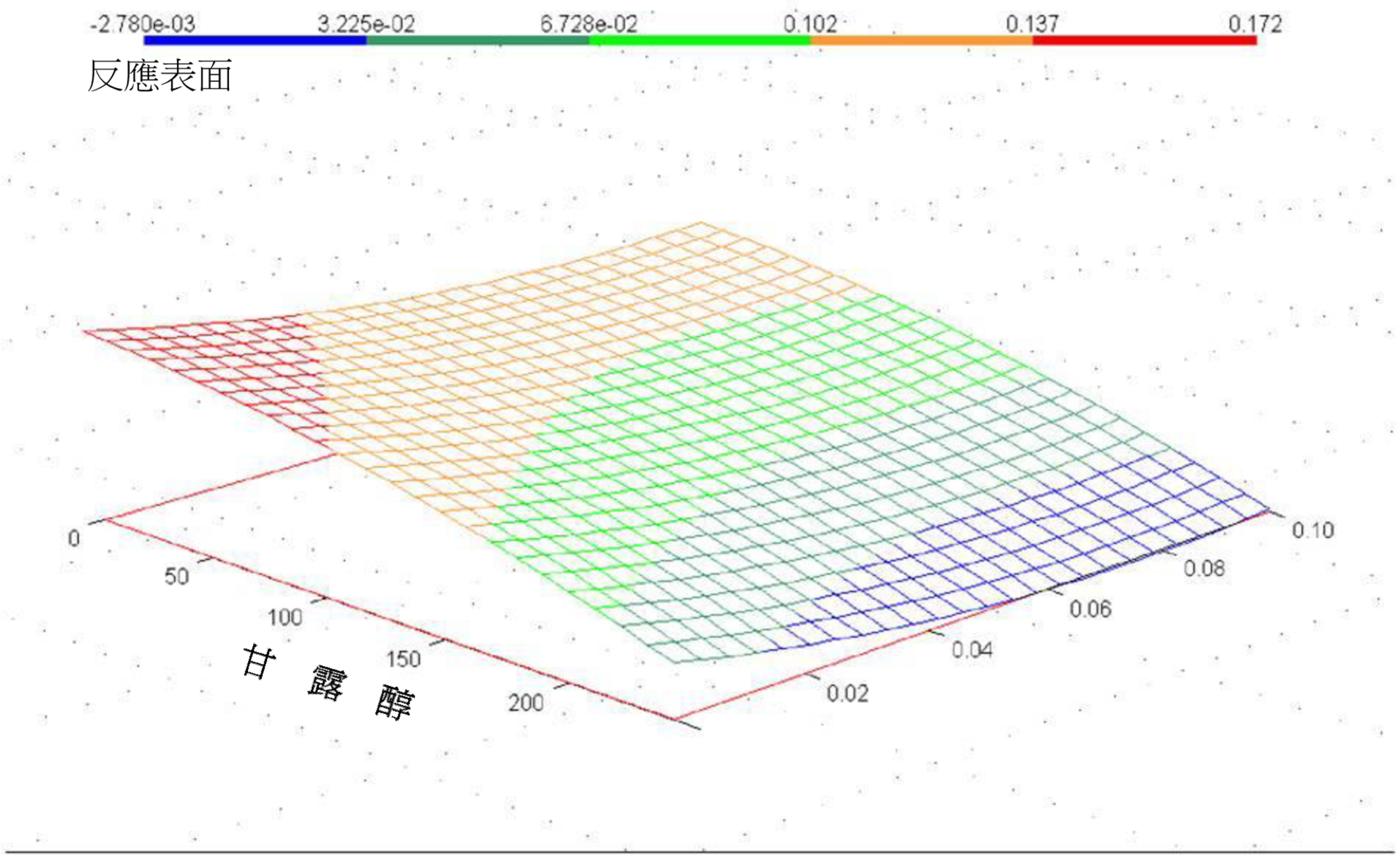


反應表面

結果 14，PC：2，Y-變量：t1 RP 差，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸

【圖25】

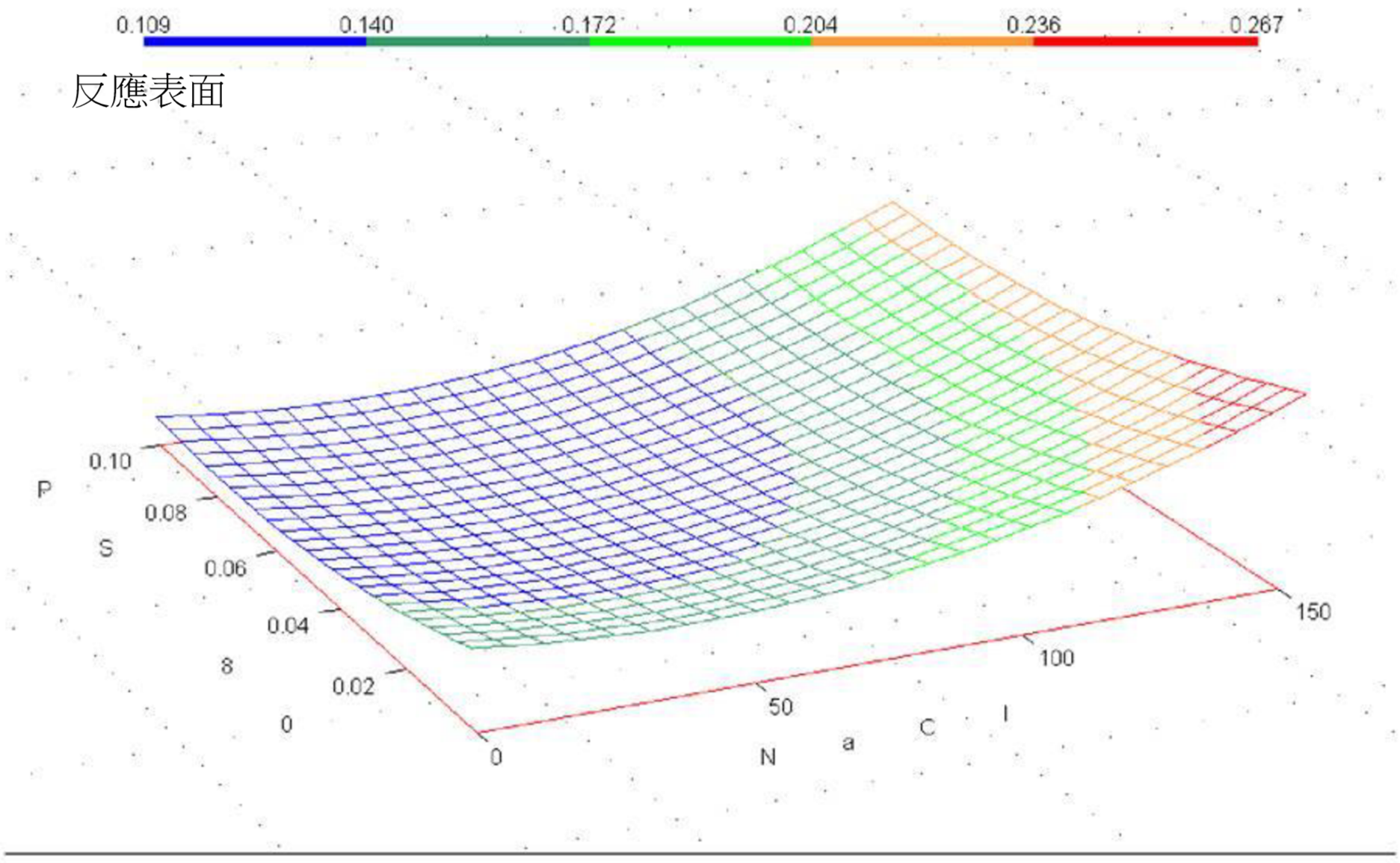
根據 PLS 模型 C 使用 t1 時藉由 RP HPLC 測定之純度差作為端點之甘露醇及 PS 80 之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。



結果 14，PC：2，Y-變量：t1 RP 差，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸

【圖26】

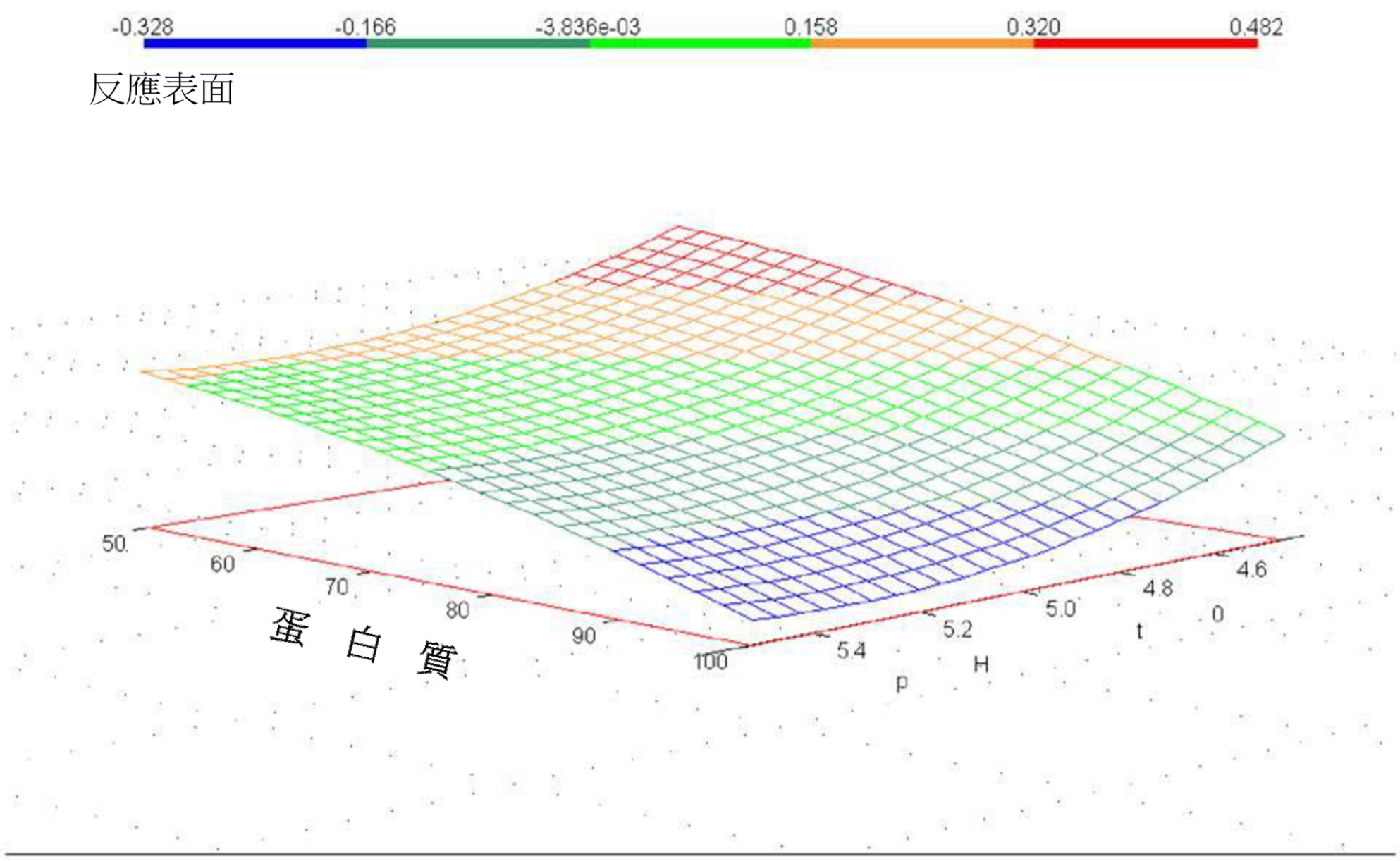
根據 PLS 模型 C 使用 t1 時藉由 RP HPLC 測定之純度差作為端點之 PS 80 及 NaCl 之效應。將 pH 固定於 5.2 且將蛋白質濃度設定於 50 mg/ml。



結果 14，PC：2，Y-變量：t1 RP 差，(X-變量=值)：pH t0 = 5.2000，蛋白質= 50.0000，檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸

【圖27】

根據 PLS 模型 C 使用 t1 時藉由 RP HPLC 測定之純度差作為端點之 pH 及蛋白質濃度之效應。



反應表面

結果 7，PC：2，Y-變量：t1 RP 差，(X-變量=值)：檸檬酸鹽= 0.0000，磷酸鹽= 0.0000，琥珀酸鹽= 0.0000，組胺酸= 0.0000，乙酸鹽= 0.0000，甘胺酸

【圖28】

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種水性醫藥組合物，其包括

(i) 阿達木單抗(adalimumab)；及

(ii) 選自由胺基酸、鹽、EDTA及金屬離子成之群之穩定劑；

其中該組合物不含緩衝劑且具有約5至約6之pH。

【請求項2】

如請求項1之組合物，其係(1)不含多元醇；或(2)不含表面活性劑；或(3)不含多元醇及表面活性劑兩者。

【請求項3】

如請求項1之組合物，其中該穩定劑包括胺基酸。

【請求項4】

如請求項3之組合物，其中該胺基酸係選自由甘胺酸、丙胺酸、麩胺酸鹽、精胺酸、甲硫胺酸、絲胺酸、離胺酸、脯胺酸及其組合組成之群。

【請求項5】

如請求項4之組合物，其中該胺基酸係為甘胺酸、精胺酸或其組合組成之群。

【請求項6】

如請求項1之組合物，其中該穩定劑包括鹽。

【請求項7】

如請求項6之組合物，其中該鹽係選自氯化鈉及硫酸鈉。

【請求項8】

如請求項1之組合物，其該穩定劑係為EDTA。

【請求項9】

如請求項1之組合物，其中該穩定劑包括金屬離子。

【請求項10】

如請求項1之組合物，其中該組合物具有約180 mOsM至約420 mOsM之滲透壓；該組合物適合以單一劑量投與個體；該組合物包括濃度範圍為約30 mg/mL至約50 mg/mL之阿達木單抗；且該劑量包括約10至80 mg之阿達木單抗。

【請求項11】

如請求項10之組合物，其中該穩定劑包括胺基酸。

【請求項12】

如請求項10之組合物，其中該穩定劑包括鹽。

【請求項13】

如請求項10之組合物，其中該穩定劑為精胺酸及氯化鈉。

【請求項14】

如請求項10之組合物，其中該穩定劑為甘胺酸及氯化鈉。

【請求項15】

如請求項10之組合物，其中該組合物係不含表面活性劑及多元醇二者。

【請求項16】

如請求項10之組合物，其中該劑量為約40 mg。

【請求項17】

如請求項10之組合物，其中阿達木單抗之濃度為約50 mg/mL且該劑量為約40 mg之阿達木單抗。

【請求項18】

如請求項6之組合物，其中該組合物包括胺基酸。

【請求項19】

如請求項18之組合物，其中該組合物係(1)不含多元醇；或(2)不含表面活性劑；或(3)不含多元醇及表面活性劑兩者。

【請求項20】

如請求項18之組合物，其中該組合物具有約180 mOsM至約420 mOsM之滲透壓；該組合物適合以單一劑量投與個體；該組合物具有濃度範圍為約30 mg/mL至約50 mg/mL之阿達木單抗；且該劑量包括約10至80 mg之阿達木單抗。

【請求項21】

如請求項20之組合物，其中阿達木單抗之濃度為約50 mg/mL且該劑量為約40 mg之阿達木單抗。

【請求項22】

一種如請求項1-21中任一項之組合物之用途，其係用以製備用於治療個體中發炎病況之藥物。