

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：97122208 A61K9/19 (2006.01)  
※ 申請日期：97.6.13 ※IPC 分類：A61K 39/395 (2006.01)  
一、發明名稱：(中文/英文) C07K 16/30 (2006.01)  
冷凍乾燥之免疫球蛋白調配物及其製備方法 A61P 35/00 (2006.01)

LYOPHILIZED IMMUNOGLOBULIN FORMULATIONS AND  
METHODS OF PREPARATION

## 二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

美商伊蘭製藥公司  
ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

代表人：(中文/英文)

卡爾 W 巴托  
BATTLE, CARL W.

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國加州南舊金山市蓋特維大道800號  
800 GATEWAY BOULEVARD SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080,  
U.S.A.

國籍：(中文/英文)

美國 U.S.A.

三、發明人：(共 3 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 芭芭拉 荷西 歐康諾  
O'CONNOR, BARBARA HORSEY
2. 尚恩 E 巴克里  
BUCKLEY, SHAUN E.
3. 大衛 J 波克  
BURKE, DAVID J.

國 籍：(中文/英文)

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

#### 四、聲明事項：

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

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007年06月14日；60/929,133

2.

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

## 九、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明一般係關於免疫球蛋白之醫藥調配領域。具體言之，本發明係關於穩定、冷凍乾燥之高濃度免疫球蛋白調配物。本發明係藉由重組人類化抗- $\alpha$ -4整合素抗體那他珠單抗(natalizumab)之穩定冷凍乾燥之調配物例示。

### 【先前技術】

意欲投與至人類之藥物製劑可能需要穩定劑來防止在使用製劑之前藥物之改變。因為蛋白質比傳統有機及無機藥物更大且更複雜(亦即，除複雜三維結構外，蛋白質亦具有多種官能基)，所以蛋白質之調配提出特殊問題。蛋白質之降解路徑可涉及化學不穩定性(涉及藉由產生新化學實體之鍵形成或裂解對蛋白質進行修飾的任何方法)或物理不穩定性(蛋白質之高階結構之變化)。化學不穩定性可由脫醯胺作用、外消旋作用、水解作用、氧化作用、 $\beta$ 消除或二硫化物交換引起。物理不穩定性可由例如變性、聚集、沈澱或吸附引起。許多蛋白質製劑於極稀或高濃度溶液中尤其不穩定，且當儲存或運輸蛋白質製劑時，此不穩定性常常增加。因此，蛋白質藥物之領域中存在之主要挑戰為開發維持蛋白質穩定性及活性之調配物。

抗體(包括單株抗體)在與其在調配物中之行為及功效有關之方式方面均互不相同。舉例而言，單株抗體關於等電點、溶解度及單株抗體之聚集條件互不相同。蛋白質關於其在調配物中之行為及功效互不相同，使得難以預測調配

物對於特定抗體是否穩定。蛋白質調配物中之三個常見問題包括蛋白質降解、聚集、脫醯胺及氧化。此外，影響調配物穩定性之許多不同反應可同時進行，使得難以判定何種反應引起何種結果。參見 Cleland 等人，"The Development of Stable Protein Formulations: A Close Look at Protein Aggregation, Deamidation, and Oxidation", *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 10(4):307-377 (1993)。

### 【發明內容】

具體而言，本發明係關於穩定、冷凍乾燥之高濃度免疫球蛋白調配物。製備本發明之調配物存在三個步驟，包括製備預冷凍乾燥之水性調配物、冷凍乾燥步驟及復水步驟。

本發明係針對一種藉由冷凍乾燥水性調配物所製備之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物包含於緩衝劑、聚山梨醇酯及蔗糖中之約 40 mg/ml 至約 50 mg/ml 之免疫球蛋白。在本發明之一較佳實施例中，該預冷凍乾燥之水性調配物包含 (a) 約 30 mg/ml 至約 60 mg/ml 那他珠單抗；(b) 具有約 5.5 至約 6.5 之 pH 值之緩衝劑；(c) 約 20 mg/ml 至約 50 mg/ml 蔗糖；及 (d) 約 0.02% 至約 0.08% 聚山梨醇酯。在一更佳實施例中，該預冷凍乾燥之水性調配物包含 (a) 約 40 mg/ml 那他珠單抗；(b) 約 6 mM 組胺酸，pH 值約 6.0；(c) 約 41 mg/ml 蔗糖；及 (d) 約 0.04% 聚山梨醇酯 80。

冷凍乾燥之調配物保持免疫球蛋白之穩定性，且防止意

欲投與至人類個體之免疫球蛋白於最終產物中形成聚集體及/或微粒。此冷凍乾燥之調配物於室溫下穩定至少三個月，較佳6個月，且更佳一年。冷凍乾燥之調配物亦於2-8°C下穩定1年，較佳2年。此冷凍乾燥之調配物具有少於10分鐘之短復水時間，且重組後適於非經腸投藥，諸如肌肉內、皮下、靜脈內或腹膜內注射。

用液體使冷凍乾燥之調配物重組為含有約80-160 mg/ml免疫球蛋白濃度之澄清溶液。在一較佳實施例中，重組調配物包含(i)約80 mg/ml至約160 mg/ml那他珠單抗；(ii) pH值為約6.0之約18 mM組胺酸；(iii)約123 mg/ml蔗糖；及(iv)約0.12%聚山梨醇酯80。在一更佳實施例中，重組調配物包含約120 mg/ml那他珠單抗。

本發明之預冷凍乾燥之調配物可使用適當乾燥參數經冷凍乾燥。下列乾燥參數為較佳的：約-25°C之第一乾燥階段溫度及介於約80 mTorr至約120 mTorr之間的壓力；及於約20°C及介於約80 mTorr至120 mTorr之間的壓力下之第二乾燥階段。

本發明進一步提供用於製造及用於使用重組調配物之方法。

## 【實施方式】

### 1. 定義

如本文所使用，術語"免疫球蛋白"包括(但不限於)抗體及抗體片段(諸如 scFv、Fab、Fc、(Fab')<sub>2</sub>)，及抗體之其他遺傳工程化部分。視重鏈恆定域之胺基酸序列而定，免疫

球蛋白可分為不同種類。存在五種主要免疫球蛋白種類：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM。此等種類中之若干種類可進一步分為子類(同型)，例如IgG1、IgG2、IgG3及IgG4；IgA1及IgA2。

術語"抗體"以最廣泛之意義使用且特定地遮蓋單株抗體(包括促效劑及拮抗劑抗體)、具有多抗原決定基特異性之抗體組合物及抗體片段(例如，Fab、(Fab')<sub>2</sub>、scFv及Fv)，只要其展現所需生物活性即可。"抗體"意欲包括多株抗體、單株抗體、人類化抗體、人類抗體、靈長類化抗體及經由遺傳工程化製造之其他抗體。

如本文所使用，術語"單株抗體"係指自大體上均質抗體之群體所獲得之抗體，亦即，除可以微量存在之可能天然存在之修飾或糖基化變異體外包含該群體之個別抗體相同。修飾語"單株"表明如自大體上均質抗體之群體所獲得之抗體的特徵，且不應理解為需要藉由任何特定方法來產生該抗體。術語"單株抗體"亦包括："嵌合"抗體(免疫球蛋白)，其中重鏈及/或輕鏈之一部分與源自特定物種或屬於特定抗體種類或子類之抗體中的相應序列一致或同源，而該(該等)鏈之其餘部分與源自其他物種或屬於其他抗體種類或子類之抗體中的相應序列一致或同源，以及該等抗體之片段，只要其呈現所需生物活性即可。非人類(例如，鼠科動物、兔、牛、馬、豬及其類似物)抗體之"人類化"形式為含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(諸如Fv、Fab、Fab'、

F(ab')<sub>2</sub>或抗體之其他抗原結合子序列)。

術語"那他珠單抗"係指亦稱為AN100226(抗體編碼序號)之抗體，且為TYSABRI®(商品名稱；原先為ANTEGREN®)中之活性成份。術語"那他珠單抗"為美國通用名稱(United States Adopted Name, USAN)(給予醫藥物質之官方非專用或通用名稱)。那他珠單抗為重組、人類化抗- $\alpha$ -4整合素抗體。那他珠單抗為IgG4抗體。以引用的方式併入本文中之美國專利第5,840,299號描述如何使用常規合成及分子生物學方法來製造包括那他珠單抗之重組人類化抗- $\alpha$ -4整合素抗體。

術語"冷凍乾燥(lyophilization, lyophilized, freeze-dried)"係指一種首先將待乾燥之材料冷凍且接著藉由於真空環境下昇華來移除冰或冷凍溶劑之方法。一或多種賦形劑可包括在預冷凍乾燥之調配物中以增強冷凍乾燥之產物儲存後之穩定性。

術語"醫藥調配物"係指呈允許活性成份有效之方式且不含有對將投與調配物之個體有毒之其他組份的製劑。

"醫藥學上可接受"之賦形劑(媒劑、添加劑)為可適度投與至目標哺乳動物以提供有效劑量之所用活性成份的彼等賦形劑。

"重組時間"為用溶液使冷凍乾燥之調配物重組為無顆粒澄清溶液所需之時間。

"穩定"調配物為其中之蛋白質基本上保持其物理穩定性及/或化學穩定性及/或儲存後之生物活性之調配物。用於

量測蛋白質穩定性之各種分析技術均可用於此項技術中且於Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee 編, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs.(1991)及 Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10:29-90(1993)中有所評述。可於所選溫度下量測穩定性歷時所選時期。

"穩定"冷凍乾燥之免疫球蛋白調配物為於冷凍溫度(2-8°C)下歷時至少12個月、較佳2年且更佳3年；或於室溫(23-27°C)下歷時至少3個月、較佳6個月且更佳1年未觀察到顯著變化之冷凍乾燥之抗體調配物。穩定性標準如下。如藉由SEC-HPLC所量測，不超過10%之抗體單體降解。如藉由SEC-HPLC所量測，較佳地不超過5%之抗體單體降解。藉由目視分析，重組溶液為無色的，或澄清至輕微乳白色。調配物之濃度、pH值及滲透壓度具有不超過 $\pm 10\%$ 之變化。效能在對照組之70-130%內且較佳在80-120%內。觀察到不超過10%之剪短。較佳地，觀察到不超過5%之剪短。形成不超過10%之聚集。較佳地，形成不超過5%之聚集。

若免疫球蛋白顯示在目視檢查顏色及/或澄清度或如藉由UV光散射、尺寸排阻層析(SEC)及動態光散射所量測後聚集、沈澱及/或變性無顯著增加，則其於醫藥調配物中"保持其物理穩定性"。蛋白質構形之變化可藉由測定蛋白質三級結構之螢光光譜法及藉由測定蛋白質二級結構之FTIR光譜法來評估。

若免疫球蛋白顯示無顯著化學變化，則其於醫藥調配物

中"保持其化學穩定性"。可藉由偵測及量化蛋白質之化學改變形式來評估化學穩定性。常常改變蛋白質化學結構之降解過程包括水解或剪短(藉由諸如尺寸排阻層析及SDS-PAGE之方法評估)、氧化(藉由諸如肽圖結合質譜法或MALDI/TOF/MS之方法來評估)、脫醯胺(藉由諸如離子交換層析、毛細管等電聚焦、肽圖、異天冬胺酸量測之方法來評估)及異構化(藉由量測異天冬胺酸含量、肽圖等來評估)。

若在特定時間時免疫球蛋白之生物活性在製備醫藥調配物時所展現之生物活性之預定範圍內，則免疫球蛋白於醫藥調配物中"保持其生物活性"。例如，可藉由抗原結合檢定來測定免疫球蛋白之生物活性。

術語"等張"意謂所關注之調配物具有與人類血液基本上相同之滲透壓。等張調配物一般將具有約270-328 mOsm之滲透壓。輕微低滲壓為250-269且輕微高滲壓為328-350 mOsm。例如，可使用蒸氣壓或冰冷凍型滲透計來量測滲透壓。

術語"緩衝劑"包含在冷凍乾燥之前維持溶液pH值在可接受之範圍內的彼等試劑且可能包括組胺酸、丁二酸鹽(鈉或鉀)、磷酸鹽(鈉或鉀)、Tris(參(羥基甲基)胺基甲烷)、二乙醇胺、檸檬酸鹽(鈉)、葡糖酸鹽及其他有機酸緩衝劑。

"張力調節劑"包括可用於控制滲透壓之鹽，諸如NaCl、KCl、MgCl<sub>2</sub>、CaCl<sub>2</sub>等。另外，低溫保護劑、凍乾保護劑及/或諸如蔗糖、甘露糖醇、甘胺酸等之膨化劑可用作張

力調節劑。

在本發明之內容中，免疫球蛋白之"治療有效量"係指有效預防或治療免疫球蛋白可有效治療之病症之量。"病症"為將得益於用免疫球蛋白治療之任何病狀。此包括慢性及急性病症或疾病，包括使哺乳動物易患所述病症之彼等病理病狀。較佳地，該病症為可藉由識別 $\alpha$ -4整合素且與其結合之免疫球蛋白(諸如那他珠單抗)治療及/或預防之病症。

"治療"係指治療性治療及預防性措施。需要治療者包括已患有病症者以及欲預防病症者。

"防腐劑"為可包括在調配物中以基本上減少其中之細菌作用之化合物，因此有助於產生例如多用途調配物。可能之防腐劑之實例包括氯化十八烷基二甲基苄基銨、氯化六煙季銨、氯化苯甲煙銨(氯化烷基苄基二甲基銨之混合物，其中烷基為長鏈化合物)及苄索氯銨。其他類型之防腐劑包括芳族醇，諸如酚、丁基醇及苄醇；對羥基苯甲酸烷酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚。

術語"患者"或"個體"意欲包括任何哺乳動物。用於治療目的之"哺乳動物"係指任何分類為哺乳動物之動物，包括(但不限於)人類、家畜及農畜動物，及動物園動物、運動動物或寵物動物，諸如狗、馬、貓、牛及其類似動物。較佳地，哺乳動物為人類。較佳地，哺乳動物之所治療疾病或病狀為當投與治療有效劑量之那他珠單抗時得到調節之

疾病或病狀。

## 2. 免疫球蛋白調配物

本發明之組合物將聚集體及微粒之形成減至最少且確保溶液中之免疫球蛋白隨時間維持其免疫反應性。該等組合物包含無菌、醫藥學上可接受之冷凍乾燥之調配物，其由包含具有中性或酸性pH值(約5.5至約6.5)之緩衝劑、蔗糖及聚山梨醇酯中之免疫球蛋白的預冷凍乾燥之水性調配物製備。

在一較佳實施例中，免疫球蛋白以約30 mg/ml至約60 mg/ml、更佳約40至約50 mg/ml且甚至更佳約40 mg/ml之濃度存在於預冷凍乾燥之調配物中。較佳免疫球蛋白為IgG抗體，更佳為IgG4抗體，甚至更佳為人類化重組IgG4抗體，且最佳為那他珠單抗。

預冷凍乾燥之調配物中使用pH值為約5.5至約6.5之緩衝劑。較佳地，pH值為約6.0。合適之緩衝劑之實例包括組胺酸、丁二酸鹽(諸如丁二酸鈉)、葡糖酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸緩衝劑。較佳預冷凍乾燥之調配物含有組胺酸，較佳約1至約12 mM組胺酸。甚至更佳之預冷凍乾燥之調配物含有約6 mM組胺酸。

預冷凍乾燥之調配物亦包含蔗糖。蔗糖之合適濃度在約20 mg/ml至約50 mg/ml之範圍內，較佳為約41 mg/ml。

預冷凍乾燥之調配物亦包含聚山梨醇酯，諸如聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80(亦即，分別為吐溫(Tween) 20及吐溫80)及泊洛沙姆(poloxamer)(例如泊洛沙姆188)。在一較佳

實施例中，聚山梨醇酯為聚山梨醇酯 80。聚山梨醇酯較佳以每體積濃度約 0.02 至約 0.08%、更佳約 0.04% 之重量存在。

預冷凍乾燥之調配物中免疫球蛋白與蔗糖之重量比較佳在約 2:1 至約 0.5:1 之範圍內，更佳為約 1:1。免疫球蛋白與蔗糖之莫耳比率為約 300:1 至約 500:1，較佳為約 400:1 至 500:1，更佳為約 450:1。

提供良好冷凍乾燥之餅狀物特性之膨化劑(諸如絲胺酸、甘胺酸及甘露糖醇)可視情況添加至本發明之組合物中。此等試劑亦促進調配物之張力，且可對凍融過程提供保護並改良長期穩定性。另外，張力調節劑可添加至調配物中以控制滲透壓。調配物可進一步包含一或多種防腐劑。

較佳預冷凍乾燥之調配物為包含約 40 mg/ml 那他珠單抗、約 6 mM 組胺酸(pH 值約 6)、約 0.04% 聚山梨醇酯 80 及約 41 mg/ml 蔗糖之調配物。上述預冷凍乾燥之調配物經冷凍乾燥以形成乾燥、穩定粉末，其可容易重組為適於投與至人類之無顆粒溶液。

冷凍乾燥為常常用於藥品製備中以保持其生物活性之冷凍乾燥方法。製備液體組合物，接著冷凍乾燥以形成乾燥餅狀產物。該方法一般涉及於真空中乾燥先前冷凍之樣品以移除冰，留下呈粉狀或餅狀物質形式之完整非水組份。冷凍乾燥之產物可於高溫下儲存較長時期，而無生物活性損失，且可容易地藉由添加適當稀釋劑而重組為無顆粒溶

液。適當稀釋劑可為生物學上可接受且冷凍乾燥之粉末可完全溶解於其中之任何液體。水，尤其無菌、無熱原質水為較佳稀釋劑，因為其不包括鹽或可能影響抗體穩定性之其他化合物。冷凍乾燥之優點在於將水含量減少至大大減少導致產物在長期儲存後不穩定之各種分子事件的程度。冷凍乾燥之產物亦更容易能夠經受住運輸之物理應力。重組產物無顆粒，因此其可在無需預先過濾之情況下投與。

本發明之預冷凍乾燥之調配物可使用適當冷凍及乾燥參數來冷凍乾燥。舉例而言，參數可包括預冷凍以於約 $10^{\circ}\text{C}$ 至約 $-10^{\circ}\text{C}$ 下保持約10-30分鐘。冷凍參數可包括經約45分鐘至約75分鐘之時期於 $-50^{\circ}\text{C}$ 至 $-70^{\circ}\text{C}$ 下冷凍。用於其他冷凍步驟之參數可包括於 $-40^{\circ}\text{C}$ 至約 $-60^{\circ}\text{C}$ 下冷凍。乾燥參數可包括約 $-10^{\circ}\text{C}$ 至 $-30^{\circ}\text{C}$ 之第一乾燥階段溫度及介於約40 mTorr至約120 mTorr之間的壓力；及於約 $10^{\circ}\text{C}$ 至約 $25^{\circ}\text{C}$ 下使用介於約40 mTorr至120 mTorr之間的壓力之第二乾燥階段。較佳之總循環時間為約60至100小時。較佳之冷凍乾燥循環可包括預冷凍步驟、冷凍步驟、第一乾燥步驟及第二乾燥步驟。對於冷凍乾燥循環之考慮因素包括冷凍溫度、壓力、第一乾燥、第二乾燥及循環時間。

舉例而言，較佳之冷凍乾燥循環參數可如下：

第一，預冷凍，於 $0^{\circ}\text{C}$ 下保持15分鐘。

對於冷凍而言，經60分鐘勻變至 $-60^{\circ}\text{C}$ 。於 $-60^{\circ}\text{C}$ 下保持60分鐘。

在另一冷凍步驟中，勻變至 $-50^{\circ}\text{C}$ 且保持30分鐘。

對於第一乾燥而言，經45分鐘勻變至 $-15^{\circ}\text{C}$ 而壓力下降至50 mTorr。於 $-15^{\circ}\text{C}$ 及50 mT壓力下保持54小時。

對於第二乾燥而言，經35分鐘勻變至 $20^{\circ}\text{C}$ 且保持24小時。總循環時間為82小時。

此冷凍乾燥之產物保持免疫球蛋白之免疫活性之穩定性，且防止意欲投與至人類個體之免疫球蛋白於最終產物中之物理及化學降解。

冷凍乾燥之產物在使用時重組於稀釋劑(例如，無菌水或生理食鹽水)中以得到無顆粒溶液。重組抗體溶液無顆粒，即使在冷凍乾燥之餅狀物於周圍溫度下長時間儲存後。重組溶液可非經腸、較佳經肌肉內或經皮下投與至個體。

冷凍乾燥之產物之重要特徵為重組時間或使產物重組所需之時間。為了能夠極快速且完全重組，使餅狀物具有高度多孔結構係重要的。餅狀物結構隨許多參數而變，此等參數包括蛋白質濃度、賦形劑類型及濃度及冷凍乾燥循環之過程參數。一般，當蛋白質濃度增加時，重組時間亦增加，且因此，短重組時間為開發高濃度冷凍乾燥之抗體調配物之重要目標。長重組時間可由於使蛋白質較長時間暴露於較濃溶液而劣化產物品質。另外，在用戶端，直至產物完全重組後才能投與產物。此將確保產物無微粒，投與正確劑量，且不影響其無菌狀態。因此，諸如重組時間少於十分鐘之快速重組對患者及醫師提供更多方便。

在冷凍乾燥之產物中，所需劑量可藉由於目標蛋白質濃

度下冷凍乾燥調配物且用與起始填充體積相同之體積使產物重組來獲得。所需劑量亦可藉由冷凍乾燥較大體積之經稀釋調配物且用較少體積使其重組來獲得。舉例而言，若所需產物劑量為於1 mL調配物中之100 mg蛋白質，則調配物可用下列液體配置來冷凍乾燥：1 mL之100 mg/mL蛋白質調配物、2 mL之50 mg/ml蛋白質調配物或4 mL之25 mg/mL蛋白質調配物。在所有情況下，最終產物均可用1 mL稀釋劑來重組以獲得100 mg/mL之目標蛋白質濃度。然而，當預冷凍乾燥之調配物中之蛋白質濃度降低時，填充體積成比例地增加。此相應地增加冷凍乾燥循環(尤其第一乾燥時間)之長度，且因此顯著增加產物之成本。舉例而言，若1 mL填充體積(在小瓶中為1 mm高度)之冷凍材料耗費約1小時使其游離水昇華，則10 mL填充體積(10 mm高度)之冷凍產物將耗費約10小時之第一乾燥時間。因此，最好具有濃縮之預冷凍乾燥之調配物(免疫球蛋白濃度為約40 mg/ml至約50 mg/ml)以致冷凍乾燥方法將更有效。

本發明提供一種高度濃縮之預冷凍乾燥之免疫球蛋白調配物(約40 mg/ml至約50 mg/ml)，其經有效及高效地冷凍乾燥為保持免疫球蛋白之生物、物理及化學穩定性之乾燥調配物。該乾燥調配物於室溫下穩定儲存至少3個月、較佳6個月。乾燥調配物可在少於十分鐘之短時間內重組為含有約80 mg/ml至約160 mg/ml免疫球蛋白之無顆粒溶液。該等高度濃縮之抗體溶液準備用於非經腸投藥，諸如靜脈內、肌肉內、腹膜內或皮下注射。

較佳之重組產物包含約 80 mg/ml 至約 160 mg/ml 那他珠單抗，更佳約 120 mg/ml 那他珠單抗；約 123 mg/ml 蔗糖；約 0.12% 聚山梨醇酯 80；及約 pH 6.0 之約 18 mM 組胺酸。

### 3. 分析方法

用於評估產物穩定性之分析方法包括尺寸排阻層析 (SEC)、動態光散射測試 (DLS)、差示掃描熱量測定 (DSC)、iso-asp 量化、效能、於 340 nm 下之 UV、UV 光譜法及 FTIR。SEC (J. Pharm. Scien., 83:1645-1650, (1994); Pharm. Res., 11:485 (1994); J. Pharm. Bio. Anal., 15:1928 (1997); J. Pharm. Bio. Anal., 14:1133-1140 (1986)) 量測產物中之單體百分比且給出可溶性聚集體之量之資訊。抗體之效能或生物一致性 (bioidentity) 可藉由其與其抗原結合之能力來量測。抗體與其抗原之特異性結合可藉由熟習此項技術者已知之任何方法來定量，例如免疫檢定，諸如 ELISA (酶聯免疫吸附檢定)。此等方法僅為熟習此項技術者熟知之用於評估產物穩定性之例示性方法。舉例而言，於 340 nm 下之 UV 量測於 340 nm 下之散射光強度且給出關於可溶性及不可溶聚集體之量之資訊。UV 光譜法量測於 278 nm 下之吸光度且給出蛋白質濃度之資訊。FTIR (Eur. J. Pharm. Biopharm., 45:231 (1998); Pharm. Res., 12:1250 (1995); J. Pharm. Scien., 85:1290 (1996); J. Pharm. Scien., 87:1069 (1998)) 量測在醯胺酮區域中之 IR 光譜，且給出蛋白質二級結構之資訊。特定分析方法進一步於實驗章節 (見上) 中陳述。

#### 4. 重組調配物之用途

本發明之重組免疫球蛋白調配物可根據已知方法投與至需要用免疫球蛋白治療之哺乳動物。此等方法可包括(但不限於)以大丸劑形式或藉由經一段時間連續輸注之靜脈內投藥、藉由肌肉內、腹膜內、腦脊髓內、皮下、關節內、滑膜內、鞘內、口服、局部或吸入途徑投藥。在較佳實施例中，免疫球蛋白調配物係藉由肌肉內或皮下投藥投與至哺乳動物。典型日劑量可在約1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 至約200  $\text{mg}/\text{kg}$ 個體重量或更佳約0.01  $\text{mg}/\text{kg}$ 至約150  $\text{mg}/\text{kg}$ 個體重量、更佳約0.1  $\text{mg}/\text{kg}$ 至約100  $\text{mg}/\text{kg}$ 個體重量、更佳約1  $\text{mg}/\text{kg}$ 至約75  $\text{mg}/\text{kg}$ 個體重量且最佳約3  $\text{mg}/\text{kg}$ 至約6  $\text{mg}/\text{kg}$ 個體重量之範圍內。通常，醫師將投與免疫球蛋白直至達到實現所需效應之劑量。此療法之進展可容易藉由習知方法及檢定來監測。

例如，免疫球蛋白之適當劑量將視待治療之病狀、病狀之嚴重性及病程、是否投與免疫球蛋白以用於預防性或治療性目的、先前療法、患者之臨床病史及對免疫球蛋白之反應、所用免疫球蛋白之類型及主治醫師之判斷而定。通常，臨床醫師將投與免疫球蛋白直至達到實現所需效應之劑量。此療法之進展可容易藉由習知檢定來監測。

適當地，一次性或經一系列治療將免疫球蛋白投與至患者且可在診斷開始後之任何時間投與至患者。免疫球蛋白可以單獨治療形式或結合適用於治療所述病狀之其他藥物或療法來投與。如本文所使用，當兩種(或兩種以上)試劑

同時投與或以一定方式獨立投與以致該等試劑將同時起作用時，稱為將兩種試劑組合投與。舉例而言，本發明之那他珠單抗調配物可與用於治療類風濕性關節炎、多發性硬化症(MS)、克羅恩氏病(Crohn's Disease)及其他 $\alpha$ -4調節之疾病之其他治療劑或物理療法組合投與。

本發明進一步藉由下列實例來說明，不應將該等實例視為將本發明限制於其中所述之特定程序之範疇內。

實例

#### 實例 1

對石蟹獼猴執行那他珠單抗之高濃度重組冷凍乾燥的調配物及液體調配物之比較研究。研究結果顯示那他珠單抗之重組冷凍乾燥之調配物產生極其類似於液體調配物之預期的藥物動力學及藥效學概況。

評估那他珠單抗之高濃度液體調配物及重組冷凍乾燥之調配物以比較其各自藥物動力學/藥效學概況、相對生物可用性及皮下(SC)及肌肉內(IM)給藥後之局部耐受性。在第1天，藉由各血管外途徑投與液體(150 mg/mL)及重組冷凍乾燥(120 mg/mL)之高濃度調配物且直至第36天，評估其藥物動力學/藥效學概況。在第1天，亦投與單一30 mg劑量之商業液體那他珠單抗以測定高濃度調配物之相對生物可用性。在第36天，向SC及IM劑量組之動物投與第二次注射且在第39天執行注射部位活組織檢查以評估局部耐受性。

測試物品，商業液體那他珠單抗、液體高濃度那他珠單

抗及冷凍乾燥之高濃度那他珠單抗係由Biogen Idec供應。重組冷凍乾燥之那他珠單抗重組流體(注射用無菌水)係以水溶液形式供應。在各給藥日使用新鮮小瓶之原料測試物品且進行調配以得到適當濃度之給藥溶液。

將三十隻未經實驗處理之石蟹獼猴(15隻雄性及15隻雌性)分配給如下表1中所示之五個劑量組：

表 1

組序號	M/F之 數目	途徑	測試物品調 配物	劑量含量 (毫克/隻 動物)	劑量體積 (毫升/隻動 物)	劑量溶液 濃度 (mg/ml)
1	3/3	IV	液體*	30	1.5	20
2	3/3	SC	液體**	150	1.0	150
3	3/3	IM	液體**	150	1.0	150
4	3/3	SC	冷凍乾燥***	120	1.0	120
6	3/3	IM	冷凍乾燥***	120	1.0	120

\*商業液體那他珠單抗；\*\*液體高濃度那他珠單抗；\*\*\*重組冷凍乾燥之高濃度那他珠單抗。

IV=靜脈內；SC=皮下；IM=肌肉內；M/F=雄性/雌性。

在所有組中均注意到與預先研究基線值相比周邊血液淋巴細胞(及在次要程度上，嗜伊紅血球、嗜鹼細胞及未分類之細胞)之藥理學相關增加且將其視為測試物品之預期藥效學效應。增加含量之受影響之白血球一般在接受較高SC及IM劑量之那他珠單抗(例如，第8天至第36天)的個別動物體內與在接受較低IV劑量之商業調配物(通常第8天至第15天)的個別動物體內相比持續時間更長。然而，不存在與測試物品之液體對比冷凍乾燥之高濃度調配物、性別或投藥途徑有關的反應之量值或持續時間之一致或明顯差

異。

商業液體IV劑量組最快達成平均 $T_{max}$ ，且在高濃度調配物方面IM組比SC組快。當與商業液體IV劑量組相比時，在途徑方面平均 $C_{max}$ 值小於劑量比例且當血管外投與時，在高濃度調配物方面一致。與途徑無關，平均 $t_{1/2}$ 值在所有劑量組方面一致。

在SC及IM劑量組中與調配物無關，平均 $AUC_{last}$ 及 $AUC_{inf}$ 大於劑量比例，表示完全吸收(亦即100%之相對生物可用性)，且當血管外投與時，在調配物方面亦相當一致。

與存在於所有劑量組中之預先研究基線相比，可見循環淋巴細胞計數及在次要程度上嗜伊紅血球、嗜鹼細胞及未分類之細胞計數之預期測試物品相關增加。此等結果與4-整合素飽和度概況一致且歸因於那他珠單抗之藥理學效應。受影響之白血球計數之增加之持續時間具劑量依賴性且液體高濃度那他珠單抗及冷凍乾燥之高濃度那他珠單抗治療組(例如，第8天至第36天)通常高於經靜脈內接受商業液體調配物之組(通常第8天至第15天)。在那他珠單抗之高濃度液體及重組冷凍乾燥之調配物之間未觀察到關於此等白細胞群體的變化之一致差異，或不存在認為與投藥途徑(皮下或肌肉內注射)或動物性別有關之任何差異。

總之，以120 mg之劑量(重組冷凍乾燥之調配物)皮下及肌肉內注射至石蟹獼猴體內後重組冷凍乾燥之高濃度那他珠單抗調配物耐受良好且產生周邊血液淋巴細胞計數之預

期藥理學相關增加，其與單一30 mg靜脈內劑量之商業液體調配物相當，但比其持久性略高。

### 實例

目前經1至2小時之時期以IV輸注形式傳遞那他珠單抗。此需要患者去醫院或專業輸注中心就診。為了使得那他珠單抗傳遞更方便，需要皮下投藥。最好由接著可以較高濃度重組之較低濃度之塊狀藥物物質發展冷凍乾燥之調配物。此處所述之本研究係經設計以篩選各種起始及最終蛋白質濃度對使用蔗糖作為賦形劑之穩定性之效應(研究A)。該研究之第二部分係經設計以關於對蛋白質穩定性之效應來篩選其他熟知凍乾保護劑及賦形劑(研究B)。亦嘗試根據填充體積及重組體積來檢驗關於可製造性可行之溶液。

在研究A中，製備四種調配物以檢驗對於預冷凍乾燥之塊狀物及冷凍乾燥之餅狀物而言起始及最終蛋白質濃度對實時及加速穩定性之效應。所有四種預冷凍乾燥之調配物均展現足以於5°C下以預冷凍乾燥之塊狀物形式使用歷時多達6個月之保持時間的穩定性。兩種冷凍乾燥之調配物展現足以視為用於進一步調配發展之候選者之調配物特徵及穩定性。此等調配物之一由40 mg/mL之起始濃度及100 mg/mL之重組濃度組成且蛋白質與蔗糖之重量比為1:1。第二候選調配物含有50 mg/mL起始濃度及200 mg/mL之重組濃度且蛋白質與蔗糖之重量比為2:1。兩種調配物皆含有組胺酸緩衝劑及聚山梨醇酯80。

另外，製備具有與當前那他珠單抗(Tysabri™)調配物相同之賦形劑概況之高濃度液體調配物。於5°C下，此調配物證明足以視為用於進一步發展之候選者之聚集體形成穩定性，儘管脫醯胺之速率比冷凍乾燥之調配物快。於加速溫度下，此調配物顯示形成低分子量降解產物之趨勢，此在冷凍乾燥之調配物中未觀察到相同程度。

## 實驗設計

### 材料

用於此等研究之那他珠單抗係由BiogenIdec供應之於2003年2月製造之那他珠單抗製備。此材料已經調配及裝瓶，因此材料需要混合且在用於此等調配物研究之前移除聚山梨醇酯80。簡言之，此係藉由透濾至低離子強度、高pH值(10 mM tris、10 mM NaCl, pH 8.5)緩衝劑中來實現。在此等條件下將材料結合於DEAE-瓊脂糖管柱上且接著使用10 mM磷酸鈉、140 mM NaCl(pH 6)溶離。接著，將管柱溶離液透濾至6 mM組胺酸(pH 6)中且濃縮至70 mg/mL與100 mg/mL之間，隨後進行進一步調配。

### 化學品及試劑

所有用於此研究之化學品及試劑(除有註釋外)均購自VWR且為ACS級或更佳等級。當可得到USP級試劑時，將其用作賦形劑。聚山梨醇酯80係購自Sigma(目錄號P6474)，且源自植物並具有低過氧化值。

### 用於研究A之調配物

下列調配物係藉由將賦形劑及活性物質之儲備溶液稀釋

至所需濃度來製備，如表2：研究A調配物參數中所指示。  
所有調配物均製備為pH 6。

表2：研究A調配物參數。

調配物ID	預冷凍乾燥濃度	重組濃度
3944-18A	20 mg/mL Ab、20 mg/mL蔗糖、 6 mM his、0.02% PS80	100 mg/mL Ab、100 mg/mL蔗糖、 30 mM his、0.1% PS80
3944-18B	40 mg/mL Ab、40 mg/mL蔗糖、 6 mM his、0.02% PS80	100 mg/mL Ab、100 mg/mL蔗糖、 15 mM his、0.05% PS80
3944-18C	50 mg/mL Ab、25 mg/mL蔗糖、 6 mM his、0.02% PS80	200 mg/mL Ab、100 mg/mL蔗糖、 24 mM his、0.08% PS80
3944-18D	75 mg/mL Ab、40 mg/mL蔗糖、 6 mM his、0.02% PS80	225 mg/mL Ab、120 mg/mL蔗糖、 18 mM his、0.06% PS80
3944-18L	100 mg/mL、10 mM磷酸鈉、 140 mM NaCl(pH 6)、0.02% PS80	NA

縮寫：Ab=抗體，his=組胺酸，PS80=聚山梨醇酯80。

#### 用於研究B之調配物

下列調配物係藉由將賦形劑及活性物質之儲備溶液稀釋至所需濃度來製備，如表3：研究B調配物參數中所示。所有調配物均為pH 6。

表3：研究B調配物參數。

調配物ID	預冷凍乾燥濃度	重組濃度
3976-4C	50 mg/mL Ab、25 mg/mL蔗糖、6 mM his、0.02% PS80	200 mg/mL Ab、100 mg/mL蔗糖、24 mM his、0.08% PS80
3976-4G	50 mg/mL Ab、25 mg/mL蔗糖、15 mM NaCl、6 mM his、0.02% PS80	200 mg/mL Ab、100 mg/mL蔗糖、60 mM NaCl、24 mM his、0.08% PS80
3976-4H	50 mg/mL Ab、25 mg/mL蔗糖、6 mM his、0.02% PS20	200 mg/mL Ab、100 mg/mL蔗糖、24 mM his、0.08% PS20
3976-4I	50 mg/mL Ab、25 mg/mL海藻糖、6 mM his、0.02% PS80	200 mg/mL Ab、100 mg/mL海藻糖、 24 mM his、0.08% PS80
3976-4K	40 mg/mL Ab、25 mg/mL蔗糖、6 mM his、0.02% PS80	160 mg/mL Ab、100 mg/mL蔗糖、24 mM his、0.08% PS80

縮寫：Ab=抗體，his=組胺酸，PS80=聚山梨醇酯80。

## 方法

### 調配物之製備

將溶液無菌過濾且如所指示填充至無菌玻璃小瓶中。將所有用於預冷凍乾燥分析之樣品及3944-18L以0.5 mL填充至2 cc小瓶中，用塞子塞住且蓋上蓋子。將待冷凍乾燥之配方以下列體積填充至5 cc Kimble小瓶中：調配物3944-18A-2.5 mL，調配物3944-18B-1.25 mL，調配物3944-18C-2 mL，調配物3944-18D-1.5 mL。將所有用於研究B之調配物以2 mL填充至5 cc Kimble小瓶中。

### 冷凍乾燥循環

對於研究A而言，將小瓶冷凍於-20°C下。週末時冷凍乾燥器發生故障且溫度下降至-70°C。隨後試圖重新開始冷凍乾燥循環，導致溫度上升至3-4°C，接著重新冷凍。重新啟動冷凍乾燥器且繼續該循環。於-20°C下以100 mTorr真空執行第一乾燥歷時20小時。接著，經3小時使溫度勻變至20°C且於100 mTorr下保持30小時以進行第二乾燥。

對於研究B而言，將小瓶於-50°C下冷凍2小時以確保均勻冷凍。接著，於100 mTorr之真空下使溫度達-40°C歷時20 min。接著，經20分鐘以100 mTorr真空使溫度勻變至-25°C且第一乾燥繼續進行20小時。經10小時使存放溫度緩慢勻變至20°C以於100 mTorr下開始第二乾燥且接著於20°C下保持4小時。

### 研究設置

將預冷凍乾燥之液體、高濃度液體對照物及冷凍乾燥之

餅狀物之小瓶置放於5°C、30°C及40°C下。於2、4、8及12週時檢定於40°C下儲存之樣品。於3、6、9及12週時檢定於30°C下儲存之樣品。於4、8及12週時檢定於5°C下儲存之樣品。對於一些調配物而言，於6個月及1年時分析30°C及5°C之其他小瓶。在預冷凍乾燥及冷凍乾燥後之零時間檢定所有調配物。

### 檢定

藉由下列方法檢定樣品。並非所有檢定均在所有時間點執行。除用於預冷凍乾燥之樣品之零時間點外，各檢定對相同兩個小瓶進行取樣。

### 根據目視檢查獲得之外觀

對所有樣品進行目視檢查且記錄其外觀。檢查冷凍乾燥之餅狀物之顏色、均勻性、穩固性及回熔證據。檢查液體及重組樣品之顏色、澄清度及微粒之存在。

### 殘餘水分及重組時間

於零時間點，使用Karl Fischer檢定冷凍乾燥之餅狀物之殘餘水分(BOP 000-01290)。藉由添加適當體積之DI水，接著平緩旋轉來量測重組時間。記錄餅狀物完全溶解之時間(EOP 000-01292)。

### 濃度

量測所有樣品之濃度。使用那他珠單抗安慰劑將樣品稀釋至1 mg/mL。使用Varian 300Bio光譜光度計及1 cm光程比色管，以200奈米/分鐘自400 nm至240 nm掃描UV吸光度。記錄 $\lambda$ 極大值時之吸光度且藉由將該值除以1.498(那他

珠單抗之吸光係數)並經適當稀釋進行調節來測定濃度。

### 混濁度

使用 10 mm 小容積比色管 (Starna Cells Inc., 目錄號 16.160-Q-10\Z20) 量測純樣品自 300 nm 至 400 nm 之吸收。報導於 360 nm 下記錄之值。

### 尺寸排阻層析

使用 Biogen SOP 22d.505 之修正來測定單體、高分子量物質、二聚物及低分子量物質之量。將樣品以純形式負載至管柱上且調節負載體積以使得管柱上質量為約 400  $\mu\text{g}$ 。亦將參考材料負載之質量調節至可相當。於 215 nm 及 280 nm 下記錄偵測，然而主峰於 215 nm 下超出量表，因此使用 280 nm 迹線進行此處報導之計算。

### 陽離子交換層析

執行陽離子交換層析。由於層析系統之差異，對梯度略作修正以使得主峰在 9 與 12 分鐘之間溶離。因為所用系統為二元泵，所以僅在各組分析後執行高鹽洗滌。在高鹽洗滌中不存在於最近滯留時間溶離之任何峰之證據。因為不在各樣品後執行高鹽洗滌，所以再平衡時間縮短至 7 分鐘。

### 效能

藉由 VCAM 溶胞物檢定 (AAM 001-00965) 及藉由 Jurkat 細胞檢定 (AAM 001-00700) 來分析所選樣品之效能。

### 研究 A 之結果

此研究係設計為篩選研究以檢驗初始蛋白質濃度及最終

蛋白質濃度對冷凍乾燥之餅狀物參數、重組時間及穩定性之效應。初步研究已展示蔗糖對那他珠單抗提供充分短期凍乾保護劑特性，而甘露糖醇並不提供。為此，使用蔗糖作為凍乾保護劑來執行初始篩選。早期研究亦已展示用於那他珠單抗之最佳pH值為pH 6。磷酸鹽、檸檬酸鹽及組胺酸緩衝劑最常用於此pH值之緩衝。磷酸鹽緩衝劑由於冷凍後其pH值位移而對於用於冷凍乾燥蛋白質並非最優。檸檬酸鹽緩衝劑與一些皮下調配物之注射疼痛有關。因此，選擇組胺酸作為較佳緩衝劑物質。將初始濃度確定為6 mM以便製備調配物且維持重組後最終濃度等於或低於30 mM。對於研究3A而言，將預冷凍乾燥之溶液中之聚山梨醇酯80濃度維持在0.02%，因為此已顯示給予蛋白質足夠保護且亦維持最終濃度等於或低於0.1%。選擇蔗糖濃度以使蛋白質與糖之重量比維持在1:1與2:1之間，同時仍然維持接近等張之最終溶液。

#### 預冷凍乾燥之調配物及液體調配物

附錄中之表格含有對所有調配物所記錄之所有結果。目視檢查時，所有調配物呈現無色及澄清至乳白色，而無任何可見微粒。不出所料，乳白色隨蛋白質濃度增加而略有增加。無樣品在分析變化中顯示蛋白質濃度之變化且未觀察到傾向。如藉由於360 nm下之吸光度所量測，混濁度顯示於5°C下經6個月或於30°C下經12週之研究無變化。40°C預冷凍乾燥之樣品顯示對於40 mg/mL、50 mg/mL及75 mg/mL之樣品而言混濁度隨時間略有增加。20 mg/mL預冷

凍乾燥之樣品及高濃度液體並未證明在40°C樣品中存在此傾向。

對所有調配物監測二聚物、高分子量聚集體及低分子量物質之形成。表格結果在附錄中之表格中展示。圖1及2展示於30°C及40°C下高分子量物質之形成。於5°C下儲存6個月之任何調配物中，高分子量物質之含量均無變化。

5°C資料在本文中展示。30°C下之結果(圖1)顯示對於任何預冷凍乾燥之調配物而言在儲存12週後均無形成高分子量物質之傾向。高濃度液體調配物顯示於30°C下經6個月儲存期高分子量物質有明確增加。

於40°C下，預冷凍乾燥之調配物中高分子量物質之形成似乎直至儲存4週後才開始。接著，高分子量物質之量持續增加。高離子強度之高濃度液體調配物顯示較低起始百分比之高分子量物質，但於40°C下經3個月研究，此量似乎以恆定速率增加。

圖3及4展示在30°C及40°C下於預冷凍乾燥之溶液中低分子量物質之形成。於30°C下，在儲存3個月期間低分子量物質之含量僅存在極少變化，但可見明確上升傾向。於6個月時僅檢定高濃度液體。當時，存在大量低分子量物質，幾乎為6%。

在於40°C下儲存期間，存在形成低分子量物質之明確傾向。於此溫度下之形成速率似乎略有濃度依賴性，因為樣品濃度愈高顯示形成愈快。又，於30°C及40°C下低分子量物質之形成似乎以比高分子量物質之形成快之速率先進行

行，使此成為液體樣品中之重要降解路徑。

對於5°C下儲存之樣品而言，經6個月時期低分子量物質之百分比存在極小變化。此資料在附錄中展示，但並不在此處用圖表表示。所有預冷凍乾燥之調配物均自約0.6-0.9%之初始含量達到6個月時之0.15%。高濃度液體甚至於5°C下儲存6個月亦不顯示任何低分子量物質。

圖5、6及7展示於各溫度下由於高分子量及低分子量物質之形成而引起之總單體損失。於2-8°C下，單體百分比基本上無變化。此將表明此等調配物中之任一者均將以預冷凍乾燥之調配物形式於2-8°C下適當地穩定儲存多達6個月。高濃度液體調配物亦顯示於2-8°C下無變化。30°C樣品顯示單體之減少甚微。此變化係歸因於低分子量物質之形成。此亦表明此等調配物中之任一者均將於周圍溫度下展現充分穩定性以允許加工。高濃度液體顯示於6個月時與低分子量物質之增加同時發生之單體損失。所有調配物均顯示於40°C下經測試之三個月時期之單體損失。損失速率似乎大致與蛋白質濃度有關，其中100 mg/mL液體及75 mg/mL預冷凍乾燥調配物顯示最快損失速率。對歸因於低分子量物質之形成之降解機制的進一步研究可對此降解路徑提供較佳穩定化作用。

藉由陽離子交換層析分析所選樣品。在所有情況下，結果顯示向更具酸性之物質(脫醯胺)位移，其中基於時間及溫度進行儲存。在各種預冷凍乾燥之調配物中不存在差異。因為脫醯胺一般受pH值、離子強度及某些緩衝劑物質

影響，所以此結果將為吾人所預期。於5°C下，高濃度液體調配物之降解並未顯著不同於預冷凍乾燥之調配物。然而，其於30°C及40°C下顯示顯著較快降解。此很可能歸因於高離子強度及磷酸鹽緩衝劑之存在。

### 冷凍乾燥之調配物

表5-12展示以冷凍乾燥之調配物形式於5°C、30°C及40°C下儲存之樣品之穩定性的結果。所有調配物均於40°C下儲存12週，於30°C及5°C下儲存6個月。另外，於30°C及5°C下1年後分析調配物3944-18B及3944-18C。

於初始時間點分析調配物之殘餘水分。殘餘水分高於所需殘餘水分，此可能歸因於在冷凍乾燥循環期間所經歷之問題。對於此等樣品而言，殘餘水分在5-6%範圍內。

量測重組時間且其直接與起始及最終蛋白質濃度有關。自75 mg/mL蛋白質溶液冷凍乾燥之餅狀物耗費平均15-20分鐘來重組。自50 mg/mL冷凍乾燥之樣品耗費平均6-7分鐘，自40 mg/mL冷凍乾燥耗費5-6分鐘且自20 mg/mL冷凍乾燥耗費4-5分鐘。該等值可變化，但不顯示關於儲存時間或溫度之任何傾向。

檢查重組小瓶之外觀。所有樣品均為澄清至乳白色、無色且不含顆粒。於30°C下儲存1年之兩種調配物顯示一些輕微黃色。量測混濁度，其為360 nm下之吸光度之函數。所有調配物均顯示當於40°C下儲存12週時期時混濁度升高。所有調配物均顯示當於30°C下儲存多達12個月時混濁度升高較不明顯。所有調配物均顯示當於5°C下儲存多達

一年時混濁度略微升高，調配物3944-18C除外。(參見附錄E-H中之表格)。在材料之人工填充及重組中固有之標準變化外未觀察到蛋白質濃度之變化。

藉由尺寸排阻層析分析重組樣品之低分子量及高分子量降解產物之形成。低分子量降解在一些時間點明顯，但似乎並不存在形成傾向。所有時間點之量在任何樣品中均低於0.2%，此被視為BiogenIdec檢定之偵測極限。主要降解路徑係經由二聚物及高階聚集體之形成。隨時間產生之單體損失在圖8、9及10中展示。於40°C下儲存，存在一些單體損失，其中調配物3944-18D及3944-18C中之損失最快。調配物39944-18B及3944-18A顯示更不明顯之下降傾向。於30°C下可見相同傾向次序，其中3944-18D及3944-18C顯示較快單體損失。無調配物顯示於5°C下歷時對於3944-18A及3944-18D而言多達6個月及對於3944-18B及3944-18C而言多達一年之單體損失。

藉由陽離子交換層析分析所選樣品。似乎在調配物中並不存在任何差異。於5°C下，存在自71%主峰至66%主峰之位移。酸性峰之百分比隨時間保持相當恆定，但鹼性峰之百分比隨時間自初始時間點之8-10%增加至一年後之14-15%。30°C及40°C樣品展現相同傾向，其中鹼性峰百分比於30°C下一年後達到18-19%且於40°C下3個月後達到22-26%。將需要其他工作來表徵此反應路徑且測定降解物質之來源。

## 研究B之結果

### 調配物之選擇

設置研究B以研究除蔗糖外之賦形劑對那他珠單抗之穩定性的效應且驗證研究A中所見之結果。基於研究A之結果，判定40-50 mg/mL之起始濃度對於良好餅狀物形成及重組特徵為最優。將蛋白質對糖之比率確定為2:1重量比，其中初始濃度為50 mg/mL且重組濃度目標為200 mg/mL。另外，以40 mg/mL之起始濃度及160 mg/mL之目標重組濃度來檢驗一種調配物。此調配物亦具有1.6:1重量比之蛋白質對糖之比率。

調配物3976-4C含有與研究A中之3944-18C相同之調配物。在研究A中檢驗預冷凍乾燥之溶液之穩定性且不在B中重複。來自文獻之報導已表明添加至高濃度蛋白質溶液中低含量之氯化鈉可幫助降低此等溶液之黏度。調配物3976-4G將15 mM NaCl添加至預冷凍乾燥配方中以檢驗NaCl之效應。聚山梨醇酯20(PS20)常常用於蛋白質調配物中以替代聚山梨醇酯80(PS80)。在調配物3976-4H中，用等量之PS20替代0.02% PS80。在調配物3976-4I中，用等量之海藻糖取代蔗糖。

### 預冷凍乾燥之調配物

分析預冷凍乾燥之調配物之外觀。無關乎儲存溫度，任何溶液均未發生顯著外觀變化。其均為無微粒外觀之無色及輕微乳白色。任何調配物中之蛋白質濃度均無變化。在所有時間點量測混濁度。對於調配物3976-4G而言，初始混濁度量測較高，但於後續時間點保持相當恆定。在任何

調配物中均未觀察到混濁度之變化傾向，儘管對於3976-4G所量測之值於所有溫度下仍舊比其他調配物高。

監測由二聚物及較高分子量聚集體之形成引起及由低分子片段引起之單體損失。如先前所見，任何樣品之單體百分比於5°C下歷時多達3個月均無變化。亦於5°C下歷時6個月時分析調配物3976-4K且其未顯示任何單體百分比變化。圖11及12分別展示於30°C及40°C下形成各調配物之低分子量物質。如先前所見，於40°C下在所有調配物中有低分子量物質之實質形成，其中具有較低的蛋白質濃度之3976-4K中之形成速率略微較低。此等結果可與研究A中所見之彼等結果相比。另外，似乎賦形劑對此反應無影響。於30°C下，低分子量物質略微增加。此速率亦可與研究3A中所見相比，12週後達到介於0.2與0.4%之間。

於40°C下，所有調配物之高分子量物質均略有增加，但3976-4H除外，其含有PS20(圖13)。任何調配物之高分子量於其他溫度下均無變化。顯示所有調配物均穩定形成聚集體，且主要降解路徑為於高溫下形成低分子量物質。此等調配物中之任一者均會足以穩定於進一步發展為預冷凍乾燥之塊狀藥物。

於初始時間點對所有調配物執行陽離子交換層析，但僅對3976-4K係於5°C下儲存6個月後執行。如研究A中所見，儲存時有向更具酸性物質之位移。此降解係由pH值及溫度驅動。

#### 冷凍乾燥之調配物

於初始時間點分析所有樣品之水分、餅狀物外觀及重組時間。所有餅狀物之餅狀物外觀均為可接受的。水分含量略微低於研究A者，一般介於3%與4%之間，除了調配物3976-4I以外，其具有5.4%水分。於所有時間點及溫度下，所有樣品之重組時間一般均為可接受的且低於10分鐘，少數例外耗時10與14分鐘之間。具有最低的起始蛋白質濃度之調配物3976-4K亦顯示較快的重組時間。一經重組時，所有樣品於所有溫度下均為無色及輕微乳白色至乳白色，歷時多達12週，但3976-4I及3976-4G除外。於40°C下及歷經12週，3976-4I為完全乳白色。3976-4G於30°C下歷經6週且於5°C及40°C下歷經8週開始為完全乳白色。自重組期間較少起泡及氣泡形成之傾向可見，添加NaCl似乎的確降低調配物之黏度，然而其亦顯示溶液之乳白光顯著增加。分析於5°C下歷時6個月及1年時之調配物3976-4C。3976-4C於5°C下歷時一年後顯示輕微黃色。分析於5°C及30°C下歷時6個月及1年時之調配物3976-4K。調配物3976-4k於30°C下儲存6個月後顯示輕微黃色，但於5°C下儲存1年後並不如此。

於40°C下，藉由尺寸排阻層析分析樣品歷時多達3個月。於5°C及30°C下分析樣品多達3個月，且接著於一年時間點進行分析。另外，亦於6個月時分析調配物3976-4C及3976-4K。在所有樣品中，低分子量物質之量均小於0.2%。主要降解路徑係歸因於二聚物及較高分子量物質之形成。圖14、15及16展示於各溫度下由聚集體之形成引起

之單體損失。顯然，於所有溫度下，含有海藻糖之調配物 3976-4I 中之單體損失均比其他調配物快。含有 PS20 及 NaCl 之調配物顯示與含有蔗糖及 PS80 之調配物可相當的降解。調配物 3976-4K 顯示於所有溫度下最不快之單體損失。此調配物具有較低起始蛋白質濃度、較低重組濃度及較高蔗糖與蛋白質之比率。

藉由陽離子交換層析分析所選樣品。此檢定之結果可稍微變化，但所有調配物似乎於 5°C 下均保持電荷分布之穩定變化。於 40°C 下，所有調配物均顯示主峰減少及酸性與鹼性物質增加。亦在來自調配物 3976-4K 之樣品中觀察到此傾向，於 30°C 下儲存 1 年後對此等樣品進行分析。

於 8 週時間點，以 VCAM 溶胞物及 Jurkat 細胞檢定分析於 5°C 及 40°C 下儲存之調配物 3976-4K 的效能。結果在下表中展示。

表 4：效能檢定結果

樣品/檢定	VCAM溶胞物	Jurkat
3976-4K - 5°C	126%	98.2

用於開發那他珠單抗之高濃度冷凍乾燥之調配物的形成篩選研究。

3976-4K - 40°C	124.3%	104%
----------------	--------	------

## 結論

### 預冷凍乾燥之塊狀調配物

於 5°C 下歷時多達 6 個月，在高濃度液體調配物中不存在單體損失，然而存在可能由脫醯胺引起之酸性物質之增

加。於30°C下6個月及於40°C下3個月，此調配物顯示經由高分子量及低分子量降解物質之形成而造成之單體損失。當前調配物中之高蛋白質濃度液體可能不展現足以適合作為商業調配物而無需進一步最優化之長期穩定性。

預冷凍乾燥之調配物均顯示於5°C下儲存3至6個月時無任何顯著單體損失。此等調配物之脫醯胺量之變化與高濃度液體中之所見可相當。於30°C下儲存之調配物顯示歷時多達3個月，二聚物及高分子量聚集體極少增加或未增加，然而存在所形成之低分子量斷裂物質之量的增加。於40°C下，低分子量物質之增加比高分子量物質之增加更快。低分子量物質之增加速率似乎與蛋白質濃度有關。

一般而言，含有50 mg/mL或更少之蛋白質濃度及組胺酸、蔗糖及PS80之調配物似乎證明預冷凍乾燥之塊狀物具有足夠穩定性。

#### 冷凍乾燥之調配物

自50 mg/mL或更少冷凍乾燥且重組至100至200 mg/mL之調配物顯示於所有溫度下及於所有時間點之良好餅狀物形成及可接受之重組時間。含有組胺酸、蔗糖及PS80之調配物於5°C下歷時多達一年無單體損失。此等調配物中的一些顯示儲存一年後鹼性物質略有增加；然而，此增加難以在假定檢定變異性之情況下定量。於高溫下蛋白質之主要降解路徑為二聚物及較高分子量聚集體之形成。添加NaCl降低黏度，但導致溶液之混濁度增加。用PS20取代PS80似乎對穩定性無影響，而用海藻糖取代蔗糖增加聚集

體之形成速率。

含有蔗糖、組胺酸及聚山梨醇酯80及那他珠單抗之冷凍乾燥之調配物證明足以納入臨床前及早期臨床研究中之穩定性。將執行其他研究以最優化起始蛋白質濃度、蔗糖與蛋白質之比率、重組蛋白質濃度及冷凍乾燥循環。另外，將檢驗重組樣品之穩定性。

表 5

7預冷凍乾燥		經製造： 20 mg/mL那他珠單抗、20 mg/mL蔗糖、6 mM組胺酸、0.02% PS-80						測試起始日期：		0.5 mL填充量		
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度(mg/mL)	於360 nm 下之 混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰%	主峰%	鹼性峰%
0	1	N/A	21.0	0.041	98.29	1.01	0.63	0.06	RS007-001 3448	18.1	69.6	12.4
	2	N/A	21.0		1.02	0.63	0.06	18.6		70.6	10.9	
4週， 5°C	1	澄清，v. sl opal， 無色	N/A	0.035	98.43	0.99	0.49	0.09	RS007-001 33690	N/A		
	2	澄清，v. sl opal， 無色		0.037	98.44	0.98	0.49	0.09		N/A		
8週， 5°C	1	澄清，無色	N/A	0.021	98.43	0.98	0.47	0.11	RS007-001 33245	N/A		
	2	澄清，無色		0.020	98.50	0.97	0.45	0.07		N/A		
12週， 5°C	1	澄清，無色	20.7	0.025	98.48	1.01	0.42	0.09	RS007-001 33881	N/A		
	2	澄清，無色	20.9	0.027	98.48	1.01	0.43	0.08		N/A		
6個月， 5°C	1	澄清，無色	20.5	0.035	98.49	1.01	0.36	0.14	REF025 (RS007-001) 33759	24.0	63.9	63.9
	2	澄清，無色	20.5	0.033	98.47	1.01	0.37	0.15		23.9	63.9	12.2

30°C

時間點/溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	21.0	0.041	98.29	1.01	0.63	0.06	RS007-001 3448	18.1
	2	N/A	21.0		98.30	1.02	0.63	0.06		18.6
3週, 30°C	1	澄清, v. sl opal, 無色	N/A	0.029	98.46	0.93	0.48	0.13	RS007-001 33707	N/A
	2	澄清, v. sl opal, 無色		0.044	98.48	0.93	0.48	0.12		
6週, 30°C	1	澄清, 無色	N/A	0.028	98.40	0.94	0.49	0.17	RS007-001 33758	N/A
	2	澄清, 無色		0.027	98.42	0.95	0.48	0.16		
9週, 30°C	1	澄清, 無色	N/A	0.034	98.45	0.93	0.43	0.19	RS007-001 33757	N/A
	2	澄清, 無色		0.031	98.45	0.93	0.43	0.19		
12週, 30°C	1	澄清, 無色	21.0	0.018	98.37	0.99	0.39	0.24	RS007-001 33897	N/A
	2	澄清, 無色	20.8	0.024	98.38	0.99	0.40	0.23		

## 40°C

時間點/溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	21.0	0.041	98.29	1.01	0.63	0.06	RS007-001 3448	18.1
	2	21.0	98.30		0.63	0.06	21.0	98.30		18.6 70.6 10.9
2週, 40°C	1	澄清, v. sl opal, 無色	N/A	0.060	98.33	0.96	0.49	0.22	RS007-001 33834	N/A
	2	澄清, v. sl opal, 無色		0.045	98.34	0.95	0.49	0.22		
4週, 40°C	1	澄清, v. sl opal, 無色	N/A	0.040	98.20	1.00	0.45	0.35	RS007-001 33690	N/A
	2	澄清, v. sl opal, 無色		0.043	98.03	1.04	0.49	0.44		
8週, 40°C	1	澄清, 無色	N/A	0.060	93.93	1.61	0.65	3.81	33693	N/A
	2	澄清, 無色		0.057	94.15	1.57	0.64	3.63		
12週, 40°C	1	澄清, 無色	20.8	0.068	91.12	2.01	1.04	5.83	RS007-001 33891	63.6 20.7 15.8
	2	澄清, 無色	20.5	0.055	92.00	1.76	1.03	5.22		64.7 19.2 16.1

表 6

預冷凍乾燥 40 mg/mL 那他珠單抗、40 mg/mL 蔗糖、6 mM 組胺酸、0.02% PS-80										經製造： 測試起始日期：		
時間點/溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	0.5 mL 填充量		
0	1	N/A	40.1	0.053	98.26	1.02	0.65	0.07	RS007-001 3448	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%		
	2	N/A	40.1		98.26	1.02	0.64	0.07		19.0 70.9 10.0		
4週, 5°C	1	澄清, sl opal, 無色	N/A	0.054	98.38	0.99	0.52	0.10	RS007-001 33690	N/A		
	2	澄清, sl opal, 無色		0.054	98.37	0.99	0.53	0.11				
8週, 5°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.050	98.42	1.01	0.48	0.09	RS007-001 33245	N/A		
	2	sl opal, 無色		0.038	98.44	0.98	0.46	0.11				
12週, 5°C	1	v. sl opal, 無色	39.3	0.059	98.43	1.05	0.42	0.10	RS007-001 33881	21.4 69.1 9.4		
	2	v. sl opal, 無色	39.5	0.043	98.45	1.02	0.44	0.09		21.5 70.0 8.4		
6個月, 5°C	1	v. sl opal, 無色	39.1	0.055	98.47	1.01	0.37	0.15	REF025 (RS007-001) 33759	25.2 62.8 11.9		
	2	v. sl opal, 無色	39.5	0.052	98.71	0.95	0.34	--		25.5 63.0 11.5		

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	40.1	0.053	98.26	1.02	0.65	0.07	RS007-001 3448	19.0
	2	N/A	40.1		98.26	1.02	0.64	0.07		18.5
3週, 30°C	1	澄清, v. sl opal, 無色	N/A	0.042	98.45	0.95	0.46	0.13	RS007-001 33707	N/A
	2	澄清, v. sl opal, 無色		0.055	98.45	0.95	0.46	0.13		N/A
6週, 30°C	1	澄清, 無色	N/A	0.056	98.41	0.96	0.47	0.17	RS007-001 33758	N/A
	2	澄清, 無色		0.053	98.42	0.96	0.46	0.16		N/A
9週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.058	98.38	0.99	0.41	0.22	RS007-001 33757	N/A
	2	sl opal, 無色		0.060	98.40	0.98	0.40	0.22		N/A
12週, 30°C	1	v. sl opal, 無色	39.6	0.042	98.33	1.04	0.36	0.26	RS007-001 33897	46.3
	2	v. sl opal, 無色	40.7	0.042	98.33	1.03	0.37	0.26		8.0
										45.7
										45.8
										46.5
										7.7

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	40.1	0.053	98.26	1.02	0.65	0.07	RS007-001 3448	19.0
	2	N/A	40.1		98.26	1.02	0.64	0.07		18.5
2週， 40°C	1	澄清，v. sl opal，無色	N/A	0.071	98.30	0.97	0.48	0.25	RS007-001 33834	N/A
	2	澄清，v. sl opal，無色		0.062	98.30	0.97	0.48	0.25		
4週， 40°C	1	澄清，sl opal，無色	N/A	0.065	97.92	1.04	0.47	0.58	RS007-001 33690	N/A
	2	澄清，sl opal，無色		0.065	97.90	1.05	0.47	0.58		
8週， 40°C	1	sl opal，無色	N/A	0.084	93.68	1.41	0.68	4.22	RS007-001 33693	N/A
	2	sl opal，無色		0.080	93.56	1.36	0.72	4.36		
12週， 40°C	1	v. sl opal，無色	38.8	0.100	89.97	1.76	1.20	7.07	RS007-001 33891	69.2
	2	v. sl opal，無色	39.1	0.103	90.02	1.83	1.47	6.69		16.5
										14.4
										69.2
										17.2
										13.6

表 7

預冷凍乾燥 40 mg/mL 那他珠單抗、40 mg/mL 蔗糖、6 mM 組胺酸、0.02% PS-80										經製造： 測試起始日期：			0.5 mL 填充量	
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%				
0	1	N/A	52.1	0.074	98.19	1.03	0.71	0.07	RS007-001 3448	18.6				
	2	N/A	51.5		98.18	1.03	0.71	0.08		18.4	71.0	10.4		
4週， 5°C	1	澄清，sl opal，無色	N/A	0.070	98.31	1.01	0.57	0.10	RS007-001 33690	N/A				
	2	澄清，sl opal，無色			98.33	1.01	0.56	0.10						
8週， 5°C	1	sl opal，無色	N/A	0.062	98.40	1.00	0.50	0.09	RS007-001 33245	N/A				
	2	sl opal，無色			98.37	1.01	0.52	0.10			21.9	66.2	11.9	
12週， 5°C	1	sl opal，無色	50.3	0.054	98.42	1.04	0.45	0.09	RS007-001 33881	22.2				
	2	sl opal，無色	50.6	0.057	98.41	1.04	0.46	0.09			68.2	9.6		
6個月， 5°C	1	sl opal，無色	51.9	0.064	98.44	1.03	0.38	0.14	REF025 (RS007-001) 33759	26.1				
	2	sl opal，無色	50.6	0.060	98.44	1.03	0.38	0.15			62.2	11.7	26.1	61.9

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	52.1	0.074	98.19	1.03	0.71	0.07	RS007-001 3448	18.6
	2	N/A	51.5		98.18	1.03	0.71	0.08		18.4
3週, 30°C	1	澄清, sl opal, 無色	N/A	0.057	98.42	0.96	0.49	0.13	RS007-001 33707	71.0
	2	澄清, sl opal, 無色		0.058	98.40	0.98	0.49	0.14		10.4
6週, 30°C	1	澄清, 無色	N/A	0.059	98.55	0.93	0.44	0.08	RS007-001 33758	N/A
	2	澄清, 無色		0.067	98.37	0.99	0.46	0.17		N/A
9週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.064	98.34	0.99	0.41	0.26	RS007-001 33757	N/A
	2	sl opal, 無色		0.063	98.35	0.99	0.41	0.25		N/A
12週, 30°C	1	sl opal, 無色	52.6	0.052	98.21	1.05	0.37	0.36	RS007-001 33897	48.5
	2	sl opal, 無色	50.1	0.055	98.21	1.06	0.37	0.36		44.4
										7.1
										48.2
										44.2
										7.6

40 °C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	52.1	0.074	98.19	1.03	0.71	0.07	RS007-001 3448	18.6
	2	N/A	51.5		98.18	1.03	0.71	0.08		71.0
2週， 40°C	1	澄清，sl opal，無色	N/A	0.081	98.16	1.01	0.48	0.35	RS007-001 33834	N/A
	2	澄清，sl opal，無色		0.080	98.18	0.99	0.48	0.35		
4週， 40°C	1	澄清，sl opal，無色	N/A	0.071	95.11	1.08	0.47	3.34	RS007-001 33690	N/A
	2	澄清，sl opal，無色		0.080	95.33	1.08	0.48	3.11		
8週， 40°C	1	sl opal，無色	N/A	0.095	91.46	1.36	0.89	6.29	RS007-001 33693	N/A
	2	sl opal，無色		0.095	91.44	1.35	0.89	6.33		
12週， 40°C	1	sl opal，無色	49.8	0.116	86.90	1.64	1.86	9.60	RS007-001 33891	73.7 14.8 11.5

(v.=極其，sl=輕微，opal=乳白色)

表 8

預冷凍乾燥		經製造： 測試起始日期：0.5 mL填充量									
75 mg/mL 那他珠單抗、40 mg/mL 蔗糖、6 mM 組胺酸、0.02% PS-80		單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準及平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%				
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準及平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%	
0	1	N/A	77.2	0.097	97.23	1.53	1.15	0.09	RS007-001 3448	18.5	
	2	N/A	77.6		97.23	1.53	1.14	0.09		17.9	
4週， 5°C	1	澄清，sl opal， 無色	N/A	0.089	97.46	1.51	0.90	0.13	RS007-001 33690	N/A	
	2	澄清，sl opal， 無色			97.47	1.51	0.89	0.12			
8週， 5°C	1	sl opal，無色	N/A	0.071	97.54	1.51	0.83	0.13	RS007-001 33245	N/A	
	2	sl opal，無色			97.55	1.51	0.81	0.12			
12週， 5°C	1	sl opal，無色	73.1	0.072	97.58	1.56	0.75	0.11	RS007-001 33881	N/A	
	2	sl opal，無色	75.4	0.070	97.58	1.56	0.75	0.11			
6個月， 5°C	1	sl opal，無色	75.9	0.081	97.72	1.53	0.59	0.15	REF025 (RS007-001) 33759	26.2	
	2	sl opal，無色	75.9	0.078	97.73	1.53	0.59	0.15		62.0	
										11.8	
										25.9	
										62.4	
										11.7	

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	77.2	0.097	97.23	1.53	1.15	0.09	RS007-001 3448	18.5
	2	N/A	77.6		97.23	1.53	1.14	0.09		17.9
3週， 30°C	1	澄清，sl opal， 無色	N/A	0.071	97.65	1.44	0.73	0.17	RS007-001 33707	N/A
	2	澄清，sl opal， 無色		0.089	97.67	1.44	0.73	0.17		
6週， 30°C	1	v. sl opal，無色	N/A	0.077	97.64	1.45	0.70	0.21	RS007-001 33758	N/A
	2	v. sl opal，無色		0.070	97.63	1.45	0.70	0.21		
9週， 30°C	1	sl opal，無色	N/A	0.084	97.90	1.36	0.56	0.18	RS007-001 33757	N/A
	2	sl opal，無色		0.083	97.91	1.36	0.56	0.17		
12週， 30°C	1	sl opal，無色	79.7	0.072	97.42	1.53	0.55	0.51	RS007-001 33897	N/A
	2	sl opal，無色	75.6	0.081	97.41	1.53	0.54	0.52		

## 40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	N/A	77.2	0.097	97.23	1.53	1.15	0.09	RS007-001 3448	18.5
	2	N/A	77.6		97.23	1.53	1.14	0.09		17.9
2週, 40°C	1	澄清, sl opal, 無色	N/A	0.092	97.31	1.46	0.73	0.51	RS007-001 33834	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色		0.111	97.33	1.46	0.72	0.50		
4週, 40°C	1	澄清, sl opal, 無色	N/A	0.104	93.12	1.53	0.70	4.66	RS007-001 33690	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色		0.098	93.00	1.51	0.71	4.79		
8週, 40°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.136	88.74	1.83	1.37	8.06	RS007-001 33498	N/A
	2	sl opal, 無色		0.135	88.57	1.80	1.33	8.29		
12週, 40°C	1	sl opal, 無色	79.4	0.165	83.49	2.09	2.85	11.57	RS007-001 33891	68.2
	2	sl opal, 無色	84.1	0.174	86.55	1.26	1.78	10.41		17.1
										14.6
										68.6
										13.7
										17.7

表 9

經重組 100 mg/mL 那他珠單抗、100 mg/mL 蔗糖、30 mM 組胺酸、0.1% PS-80		製造： 測試起始日期：0.5 mL 填充量										
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC 參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清，sl opal	4.0	4.7	95.7	0.111	98.24	0.97	0.78	--	RS007-001 3448	19.1
	2	澄清，sl opal	3.5		96.7	0.100	98.23	0.98	0.79	--		19.3
4週， 5°C	1	澄清，sl opal	5.1	N/A	N/A	0.146	98.41	0.90	0.70	--	RS007-001 33720	N/A
	2	澄清，sl opal	5.2		0.164	98.41	0.89	0.69	--	N/A		
8週， 5°C	1	opal，無 色	4.4	N/A	N/A	0.136	98.40	0.91	0.69	--	RS007-001 33245	N/A
	2	opal，無 色	6.1		0.138	98.41	0.91	0.68	--	N/A		
12週， 5°C	1	opal，無 色	3.2	N/A	94.2	0.135	98.04	1.10	0.77	0.09	RS007-001 33881	N/A
	2	opal，無 色	5.0		96.1	0.134	98.07	1.08	0.76	0.08		N/A
6個 月， 5°C	1	opal，無 色	6.9	N/A	96.3	0.150	98.35	1.01	0.64	--	REF025 (RS007-001) 33759	21.1
	2	opal，無 色	6.2		96.2	0.153	98.33	1.02	0.66	--		66.8
												12.1
												21.2
												66.6
												12.2

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	4.0	4.7	95.7	0.111	98.24	0.97	0.78	--	RS007-001 3448	19.1
	2	澄清, sl opal	3.5		96.7	0.100	98.23	0.98	0.79	--		
3週, 30°C	1	澄清, sl opal, 無色	3.5	N/A	N/A	0.143	98.35	0.98	0.53	--	RS007-001 33707	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色	6.0			0.151	98.36	0.98	0.51	--		
6週, 30°C	1	sl opal, 無色	3.2	N/A	N/A	0.148	98.44	1.03	0.54	--	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無色	4.0			0.132	98.42	1.04	0.54	--		
9週, 30°C	1	opal, 無色	5.1	N/A	N/A	0.156	98.22	1.12	0.65	--	RS007-001 33757	N/A
	2	opal, 無色	6.3			0.161	98.24	1.10	0.66	--		
12週, 30°C	1	opal, 無色	4.5	N/A	97.6	0.142	97.85	1.36	0.73	0.07	RS007-001 33897	N/A
	2	opal, 無色	3.3		98.6	0.140	97.86	1.35	0.72	0.07		
6個 月, 30°C	1	opal, 無色	4.2	N/A	96.0	0.169	97.86	1.87	0.27	--	REF025 (RS007- 001) 33774	21.6
	2	opal, 無色	3.6		97.3	0.175	97.83	1.53	0.64	--		
												14.4
												21.6
												64.4
												14.0

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	4.0	4.7	95.7	0.111	98.24	0.97	0.78	--	RS007-001 3448	19.1
	2	澄清, sl opal	3.5									0.98
2週, 40°C	1	澄清	3.8	N/A	N/A	0.153	97.83	1.33	0.79	0.06	RS007-001 33791	N/A
	2	澄清	3.1									1.34
4週, 40°C	1	澄清, sl opal	3.5	N/A	N/A	0.160	98.07	1.28	0.65	--	RS007-001 33720	N/A
	2	澄清, sl opal	4.2									1.30
8週, 40°C	1	opal, 無色	3.2	N/A	N/A	0.168	97.86	1.48	0.65	--	RS007-001 33693	N/A
	2	opal, 無色	4.9									1.57
12週, 40°C	1	opal, 無色	5.7	N/A	95.5	0.230	97.19	2.43	0.26	0.11	RS007-001 33891	N/A
	2	opal, 無色	3.7									2.45

(v.=極其, sl=輕微, opal=乳白色)

表 10

經重組 100 mg/mL 那他珠單抗、100 mg/mL 蔗糖、15 mM 組胺酸、0.05% PS-80 時間點/ 溫度	小 瓶	外觀	重組時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	製造： 測試起始日期：0.5 mL 填充量				酸性峰% 主峰% 驗性峰%
								二聚 物%	聚集體 %	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	
0	1	澄清，sl opal	3.8	5.9	96.0	0.095	98.10	1.04	0.79	0.08	RS007-001 3448	18.9
	2	澄清，sl opal	3.3		95.9	0.109	98.10	1.07	0.75	0.08		71.0
4週， 5°C	1	澄清，sl opal	5.8	N/A	N/A	0.139	98.44	0.93	0.63	--	RS007-001 33720	N/A
	2	澄清，sl opal	2.2			0.133	98.46	0.91	0.64	--		19.5
8週， 5°C	1	opal，無色	7.9	N/A	N/A	0.126	98.46	0.92	0.62	--	RS007-001 33245	N/A
	2	opal，無色	6.2			0.114	98.46	0.92	0.63	--		68.9
12週， 5°C	1	opal，無色	5.9	N/A	93.1	0.115	98.13	1.07	0.71	0.08	RS007-001 33881	19.4
	2	opal，無色	2.7			0.138	98.01	1.24	0.67	0.09		11.8
6個月， 5°C	1	opal，無色	6.2	N/A	93.5	0.127	98.39	1.01	0.60	--	REF025 (RS007- 001) 33759	21.3
	2	opal，無色	6.1			0.132	98.40	1.01	0.60	--		66.7
12個 月，5°C	1	opal，無色	7.5	N/A	93.3	0.125	98.34	1.00	0.67	--	REF025 (RS007- 001) 36185	12.0
	2	opal，無色	8.1			0.126	98.33	0.99	0.68	--		21.1

## 30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分鐘)	水分之 Kf%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚 集 體 %	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	3.8	5.9	96.0	0.095	98.10	1.04	0.79	0.08	RS007-001 3448	18.9
	2	澄清, sl opal	3.3		95.9	0.109	98.10	1.07	0.75	0.08		19.5
3週, 30°C	1	澄清, sl opal, 無色	5.0	N/A	N/A	0.137	98.37	1.01	0.62	--	RS007-001 33707	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色	8.4		0.123	98.33	1.05	0.62	--	N/A		
6週, 30°C	1	sl opal, 無 色	4.6	N/A	N/A	0.121	98.13	1.35	0.52	--	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無 色	6.8		0.123	98.14	1.36	0.50	--	N/A		
9週, 30°C	1	opal, 無色	2.3	N/A	N/A	0.160	98.08	1.34	0.58	--	RS007-001 33757	N/A
	2	opal, 無色	4.5		0.147	97.99	1.42	0.58	--	N/A		
12週, 30°C	1	opal, 無色	8.2	N/A	89.7	0.159	96.62	3.04	0.24	0.10	RS007-001 33897	23.5
	2	opal, 無色	7.5		90.4	0.126	97.58	1.69	0.65	0.08		66.3
6個 月, 30°C	1	opal, 無色	7.2	N/A	95.7	0.188	97.45	2.14	0.25	0.16	REF025 (RS007-001) 33774	15.1
	2	opal, 無色	6.2		94.0	0.195	97.33	2.25	0.25	0.16		23.0
12個 月, 30°C	1	opal, 輕微 黃色	7.6	N/A	93.0	0.230	96.82	2.27	0.76	0.15	REF025 (RS007-001) 36185	22.9
	2	opal, 輕微 黃色	7.8		93.9	0.226	96.90	2.24	0.73	0.14		58.1
												19.0
												22.9
												58.4
												18.7

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體 %	二聚物 %	聚集體 %	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	3.8	5.9	96.0	0.095	98.10	1.04	0.79	0.08	RS007-001 3448	18.9
	2	澄清, sl opal	3.3		95.9	0.109	98.10	1.07	0.75	0.08		19.5
2週, 40°C	1	澄清	5.4	N/A	N/A	0.142	96.96	2.77	0.20	0.07	RS007-001 33791	N/A
	2	澄清	7.3		0.149	97.53	1.73	0.69	0.06			
4週, 40°C	1	澄清, sl opal	6.8	N/A	N/A	0.189	97.14	1.95	0.70	0.2	RS007-001 33720	N/A
	2	澄清, sl opal	5.3		0.195	97.33	1.82	0.67	0.18			
8週, 40°C	1	opal, 無色	6.5	N/A	N/A	0.227	96.94	2.76	0.11	0.20	RS007-001 33693	N/A
	2	opal, 無色	6.0		0.226	97.07	2.16	0.57	0.20			
12週, 40°C	1	opal, 無色	3.9	N/A	94.2	0.161	96.80	2.87	0.23	0.10	RS007-001 33891	21.0
	2	opal, 無色	4.1		91.9	0.173	96.96	2.69	0.24	0.10		55.1
												24.0
												21.8
												55.8
												22.4

(v.=極其, sl=輕微, opal=乳白色)

表 11

經製造： 測試起始日期：0.5 mL填充量												
經重組 200 mg/mL那他珠單抗、100 mg/mL蔗糖、24 mM組胺酸、0.08% PS-80												
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考 標準及平 均面積計 數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	9.5	5.8	172.0	0.095	97.96	1.10	0.86	0.08	RS007- 001 3448	19.7
	2	澄清, sl opal	10.5		173.2	0.106	97.96	1.10	0.86	0.08		19.1
4週, 5°C	1	澄清, sl opal	4.8	N/A	N/A	0.157	97.91	1.16	0.79	0.13	RS007- 001 33720	N/A
	2	澄清, sl opal	5.8			0.153	97.89	1.18	0.80	0.13		
8週, 5°C	1	opal, 無色	6.5	N/A	N/A	0.141	98.18	1.10	0.72	--	RS007- 001 33245	N/A
	2	opal, 無色	7.5			0.152	98.21	1.13	0.66	--		
12週, 5°C	1	opal, 無色	6.0	N/A	154.5	0.154	97.90	1.25	0.76	0.08	RS007- 001 33881	18.6
	2	opal, 無色	5.6		170.6	0.150	97.88	1.27	0.77	0.09		63.8
6個月, 5°C	1	opal, 無色	7.3	N/A	174.9	0.167	98.07	1.28	0.66	--	REF025 (RS007- 001) 33759	21.2
	2	opal, 無色	6.6		175.3	0.167	98.08	1.26	0.66	--		66.4
12個 月, 5°C	1	opal, 無色	6.7	N/A	178.1	0.156	97.86	1.40	0.73	--	REF025 (RS007- 001) 36185	20.0
	2	opal, 無色	3.8		172.2	0.152	97.93	1.33	0.74	--		65.5

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰 % 主峰% 酸性峰 %
0	1	澄清, sl opal	9.5	5.8	172.0	0.095	97.96	1.10	0.86	0.08	RS007-001 3448	19.7
	2	澄清, sl opal	10.5		173.2	0.106	97.96	1.10	0.86	0.08		71.8
3週, 30°C	1	澄清, sl opal, 無色	4.2	N/A	N/A	0.165	97.79	1.48	0.73	--	RS007-001 33707	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色	4.3			0.169	97.77	1.50	0.73	--		
6週, 30°C	1	v. sl opal, 無 色	7.1	N/A	N/A	0.157	97.74	1.68	0.58	--	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無色	5.9			0.163	97.77	1.65	0.59	--		
9週, 30°C	1	opal, 無色	4.0	N/A	N/A	0.186	97.52	1.78	0.70	--	RS007-001 33757	N/A
	2	opal, 無色	3.8			0.185	97.41	1.89	0.70	--		
12週, 30°C	1	opal, 無色	4.9	N/A	174.5	0.178	96.88	2.23	0.80	0.09	RS007-001 33897	20.0
	2	opal, 無色	5.4			0.183	96.93	2.20	0.79	0.08		59.0
6個月, 30°C	1	opal, 無色	6.0	N/A	173.2	0.237	96.16	3.45	0.39	--	REF025 (RS007- 001) 33774	19.9
	2	opal, 無色	4.9			0.227	96.13	3.47	0.40	--		58.1
12個月, 30°C	1	opal, 輕微黃 色	7.0	N/A	171.2	0.221	95.35	3.56	1.09	--	REF025 (RS007- 001) 36185	21.8
	2	opal, 輕微黃 色	6.5			0.220	95.26	3.60	1.14	--		63.3
					174.1							21.8
												63.3
												15.0
												21.8
												63.3
												15.0
												20.9
												61.1
												17.9
												20.8
												61.2
												18.0

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考 標準及平 均面積計 數	酸性 峰% 主峰% 鹼性 峰%
0	1	澄清, sl opal	9.5	5.8	172.0	0.095	97.96	1.10	0.86	0.08	RS007-001 3448	19.7
	2	澄清, sl opal	10.5		173.2	0.106	97.96	1.10	0.86	0.08		19.1
2週, 40°C	1	澄清	8.3	N/A	N/A	0.180	96.93	2.17	0.84	0.06	RS007-001 33791	N/A
	2	澄清	3.9			0.166	96.89	2.20	0.85	0.07		
4週, 40°C	1	澄清, sl opal	3.6	N/A	N/A	0.196	96.37	2.62	0.88	0.14	RS007-001 33720	N/A
	2	澄清, sl opal	2.4			0.203	96.34	2.62	0.89	0.15		
8週, 40°C	1	opal, 無色	4.6	N/A	N/A	0.214	95.68	3.27	0.93	0.12	RS007-001 33693	N/A
	2	opal, 無色	6.2			0.208	95.98	3.18	0.84	--		
12週, 40°C	1	opal, 無色	7.6	N/A	167.6	0.229	94.92	3.94	1.05	0.10	RS007-001 33891	19.9
	2	opal, 無色	4.8									167.0
												26.6
												20.5
												54.6
												24.9

表 12

經重組		經製造：										
225 mg/mL 那他珠單抗，120 mg/mL 蔗糖，18 mM 組胺酸，0.06% PS-80		測試起始日期：0.5 mL 填充量										
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC 參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清，sl opal	6.2	19.0	194.7	0.093	96.90	1.63	1.39	0.08	RS007-001 3448	19.7
	2	澄清，sl opal		20.5	184.1	0.097	96.88	1.64	1.39	0.09		17.8 73.3 8.9
4週， 5°C	1	澄清，sl opal	14.3	N/A	N/A	0.136	96.82	1.72	1.32	0.14	RS007-001 33720	N/A
	2	澄清，sl opal	18.0	N/A	N/A	0.143	96.87	1.67	1.33	0.13		
8週， 5°C	1	opal，無色	16.3	N/A	N/A	0.143	96.94	1.69	1.25	0.12	RS007-001 33245	N/A
	2	opal，無色	18.8	N/A	N/A	0.142	96.91	1.69	1.28	0.11		
12週， 5°C	1	opal，無色	15.3	N/A	224.7	0.145	96.82	1.85	1.23	0.10	RS007-001 33881	N/A
	2	opal，無色	27.0	N/A	222.3	0.134	96.88	1.80	1.24	0.08		
6個月， 5°C	1	opal，無色	15.5	N/A	196.9	0.149	97.10	1.81	1.09	--	REF025 (RS007- 001) 33759	20.9 66.6 12.5
	2	opal，無色	17.1	N/A	197.1	0.152	97.13	1.79	1.08	--		20.8 66.7 12.5

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分 鐘)	水分 之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	19.0	6.2	194.7	0.093	96.90	1.63	1.39	0.08	RS007-001 3448	19.7
	2	澄清, sl opal	20.5		184.1	0.097	96.88	1.64	1.39	0.09		0.09
3週, 30°C	1	澄清, sl opal, 無色	8.3	N/A	N/A	0.173	96.48	2.12	1.29	--	RS007-001 33707	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色	12.9			0.168	96.49	2.11	1.28	--		
6週, 30°C	1	sl opal, 無 色	11.9	N/A	N/A	0.143	96.41	2.28	1.16	0.14	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無 色	27.6			0.166	96.04	2.67	1.15	0.14		
9週, 30°C	1	opal, 無色	21.6	N/A	N/A	0.178	95.91	2.84	1.25	--	RS007-001 33757	N/A
	2	opal, 無色	22.4			0.170	96.39	2.40	1.21	--		
12週, 30°C	1	opal, 無色	19.3	N/A	211.6	0.174	95.81	2.83	1.26	0.09	RS007-001 33897	N/A
	2	opal, 無色	16.8		223.5	0.173	95.86	2.80	1.26	0.09		
6個月, 30°C	1	opal, 無色	24.4	N/A	181.3	0.238	95.10	3.57	1.33	--	REF025 (RS007- 001) 33774	21.6
	2	opal, 無色	22.9		183.7	0.225	95.16	3.57	1.27	--		63.3
												15.2
												21.6
												63.4
												15.0

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體 %	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	19.0	6.2	194.7	0.093	96.90	1.63	1.39	0.08	RS007-001 3448	19.7
	2	澄清, sl opal	20.5		184.1	0.097	96.88	1.64	1.39	0.09		17.8 73.3 8.9
2週, 40°C	1	澄清	14.5	N/A	N/A	0.161	95.17	3.40	1.36	0.07	RS007-001 33791	N/A
	2	澄清	15.0		0.153	95.87	2.74	1.33	0.06			
4週, 40°C	1	澄清, sl opal	13.4	N/A	N/A	0.180	95.26	3.19	1.39	0.16	RS007-001 33720	N/A
	2	澄清, sl opal	19.0		0.179	95.23	3.22	1.40	0.15			
8週, 40°C	1	opal, 無色	18.3	N/A	N/A	0.210	94.86	3.77	1.37	--	RS007-001 33693	N/A
	2	opal, 無色	15.9		0.211	94.10	4.34	1.41	0.15			
12週, 40°C	1	opal, 無色	20.8	N/A	194.2	0.248	93.87	4.54	1.52	0.07	RS007-001 33891	N/A
	2	opal, 無色	16.4		215.4	0.235	94.12	4.31	1.47	0.10		

表 13

預冷凍乾燥		製備： 測試起始日期： 0.5 mL填充量									
時間點/ 溫度	小瓶	外觀，pH值	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%	
0	1	澄清，sl opal，無色	50.0	0.181	98.31	1.04	0.57	0.07	RS007-001 33834	20.8 68.0 11.3	
			50.7								
4週，5°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.105	98.31	1.04	0.54	0.11	RS007-001 33626	N/A	
	2	sl opal， 無色		0.093							
8週，5°C	1	sl opal， 無色	50.0	0.103	98.59	0.96	0.45	--	RS007-001 33670	N/A	
	2	sl opal， 無色	50.0	0.098	98.60	0.96	0.44	--			
12週， 5°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.098	98.36	1.07	0.47	0.10	REF025 (RS007- 001) 33608	N/A	
	2	sl opal， 無色		0.107	98.35	1.07	0.47	0.11			

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體 %	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal, 無色	50.0	0.181	98.31	1.04	0.57	0.07	RS007-001 33834	20.8 68.0 11.3
			50.7							
3週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.038	98.54	0.95	0.15	0.06	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無色		0.034	98.38	0.99	0.45	0.14		
6週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.109	98.54	0.95	0.41	0.10	RS007-001 33506	N/A
	2	sl opal, 無色		0.108	98.53	0.95	0.42	0.10		
9週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.104	98.50	0.99	0.35	0.16	RS007-001 33775	N/A
	2	sl opal, 無色		0.102	98.50	0.99	0.35	0.16		
12週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.102	98.04	1.12	0.37	0.47	REF025 (RS007- 001) 33586	N/A
	2	sl opal, 無色		0.106	98.05	1.10	0.38	0.47		

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體 %	LMW%	SEC參考標準 及平均面積計 數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal, 無色	50.0	0.181	98.31	1.04	0.57	0.07	RS007-001 33834	20.8 68.0 11.3
			50.7							
2週, 40°C	1	澄清, sl opal, 無色	N/A	0.105	98.05	1.01	0.46	0.48	RS007-001 33732	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色		0.109						
4週, 40°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.147	95.23	1.08	0.43	3.25	RS007-001 34124	N/A
	2	sl opal, 無色		0.106						
8週, 40°C	1	sl opal, 無色	52.0	0.121	89.74	1.34	0.62	8.29	RS007-001 33852	N/A
	2	sl opal, 無色	54.0	0.116						
12週, 40°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.128	86.74	1.47	1.39	10.41	REF025 (RS007-001) 33590	N/A
	2	sl opal, 無色		0.131						

表 14

預冷凍乾燥		50 mg/mL 那他珠單抗、25 mg/mL 蔗糖、6 mM 組胺酸、0.02% PS-20				經製備： 測試起始日期：0.5 mL 填充量				
時間點/ 溫度	小瓶	外觀，pH 值	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下 之混濁度	單體 %	二聚 物 %	聚集體 %	LMW %	SEC 參考標 準及平均面 積計數	酸性峰 % 主峰 % 鹼性峰 %
0	1	澄清，sl	53.7	0.050	98.22	1.06	0.65	0.07	RS007-001 33834	21.0 67.9 11.1
		opal，無 色，6.11	51.7							
4週， 5°C	1	v. sl opal， 無色	N/A	0.058	98.38	1.00	0.59	0.03	RS007-001 33626	N/A
	2	v. sl opal， 無色								
8週， 5°C	1	sl opal， 無色	50.1	0.060	98.59	0.95	0.46	--	RS007-001 33670	N/A
	2	sl opal， 無色	49.8	0.068	98.59	0.96	0.45	--		
12週， 5°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.066	98.31	1.08	0.50	0.12	REF025 (RS007-001) 33608	N/A
	2	sl opal， 無色		0.065	98.31	1.08	0.49	0.12		

30°C

時間點/ 溫度	小 瓶	外觀,	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及平 均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal, 無色, 6.11	53.7	0.050	98.22	1.06	0.65	0.07	RS007-001 33834	21.0 67.9 11.1
			51.7							
3週, 30°C	1	v. sl opal, 無色	N/A	0.029	98.31	1.01	0.49	0.16	RS007-001 33758	N/A
	2	v. sl opal, 無色	N/A	0.019	98.31	1.02	0.52	0.16		
6週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.063	98.51	0.95	0.44	0.10	RS007-001 33506	N/A
	2	sl opal, 無色		0.061	98.33	1.00	0.47	0.21		
9週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.054	98.24	1.05	0.39	0.32	RS007-001 33775	N/A
	2	sl opal, 無色		0.046	98.25	1.05	0.39	0.32		
12週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.061	98.14	1.07	0.39	0.40	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
	2	sl opal, 無色		0.060	98.13	1.07	0.39	0.41		

## 40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal, 無色, 6.11	53.7	0.050	98.22	1.06	0.65	0.07	RS007-001 33834	21.0
			51.7							67.9
2週, 30°C	1	v. sl opal, 無色	N/A	0.102	98.06	1.03	0.48	0.43	RS007-001 33732	N/A
	2	v. sl opal, 無色	N/A	0.098	98.08	1.02	0.47	0.43		
4週, 40°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.099	95.41	1.09	0.47	0.10	RS007-001 34124	N/A
	2	sl opal, 無色		0.081	95.25	1.11	0.45	3.18		
8週, 40°C	1	sl opal, 無色	53.5	0.104	90.07	1.37	0.80	7.76	RS007-001 33852	N/A
	2	sl opal, 無色	53.9	0.097	89.83	1.29	0.73	8.15		
12週, 40°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.101	89.27	0.82	1.02	8.89	REF025 (RS007-001) 33590	N/A
	2	sl opal, 無色		0.097	89.09	0.80	0.98	9.12		

表 15

預冷凍乾燥		經製備：						測試起始日期：0.5 mL填充量		
時間點/ 溫度	小瓶	外觀， pH值	濃度 (mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準及平均面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清，sl opal， 無色， 6.13	51.0	0.035	98.19	1.06	0.68	0.07	RS007-001 33834	19.7 69.3 11.0
			51.5							
4週， 5°C	1	v. sl opal，無色	N/A	0.056	98.26	1.05	0.60	0.10	RS007-001 33626	N/A
	2	v. sl opal，無色		0.050	98.44	0.99	0.53	0.03		
8週， 5°C	1	sl opal，無色	52.7	0.076	98.59	0.96	0.45	--	RS007-001 33670	N/A
	2	sl opal，無色	50.1	0.093	98.58	0.97	0.46	--		
12週， 5°C	1	sl opal，無色	N/A	0.063	98.35	1.08	0.48	0.10	REF025 (RS007-001) 33608	N/A
	2	sl opal，無色		0.057	98.34	1.08	0.48	0.11		

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl	51.0	0.035	98.19	1.06	0.68	0.07	RS007-001 33834	19.7 69.3 11.0
		opal, 無色, 6.13	51.5							
3週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.006	98.33	1.00	0.51	0.15	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無色		0.010	98.33	1.01	0.51	0.15		
6週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.061	98.32	1.00	0.47	0.21	RS007-001 33506	N/A
	2	sl opal, 無色	N/A	0.060	98.51	0.95	0.44	0.11		
9週, 30°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.059	98.21	1.08	0.38	0.32	RS007-001 33775	N/A
		sl opal, 無色		0.056	98.23	1.05	0.40	0.32		
12週, 30°C	2	sl opal, 無色		0.069	98.12	1.08	0.39	0.41	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
		sl opal, 無色		0.067	98.06	1.15	0.38	0.42		

## 40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚 集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal, 無色, 6.13	51.0	0.035	98.19	1.06	0.68	0.07	RS0007-001 33834	19.7 69.3 11.0
			51.5							
2週, 40°C	1	澄清, sl opal, 無色	N/A	0.065	98.07	1.03	0.48	0.42	RS0007-001 33732	N/A
	2	澄清, sl opal, 無色		0.069	98.08	1.02	0.48	0.42		
4週, 40°C	1	sl opal, 無色	N/A	0.061	95.49	1.09	0.48	2.94	RS0007-001 34124	N/A
	2	v. sl opal, 無色		0.060	95.37	1.09	0.46	3.08		
8週, 40°C	1	sl opal, 無色	52.9 (效能 =78.1%)	0.085	89.95	1.32	0.82	7.91	RS0007-001 33852	N/A
	2	sl opal, 無色		0.081	89.89	1.27	0.81	8.04		
12週, 40°C	1	sl opal, 無色	53.4	0.099	87.14	1.56	1.51	9.78	REF025 (RS007-001) 33590	N/A
	2	sl opal, 無色		0.110	86.16	1.63	1.49	10.72		

表 16

預冷凍乾燥 40 mg/mL 那他珠單抗、25 mg/mL 蔗糖、6mM 組胺酸、0.02% PS-80		經製備： 測試起始日期：0.5 mL 填充量																																																																										
時間點/ 溫度	小瓶	外觀， pH 值	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單體 %	二聚物 %	聚集體 %	LMW %	SEC 參考標準及 平均面積計數	酸性峰 % 主峰 % 鹼性峰 %																																																																		
0	1	澄清，sl opal， 無色， 6.11	41.8	0.035	98.41	0.98	0.60	--	RS007-001 33834	19.4 69.1 11.5																																																																		
			41.8								4週， 5°C	1	v. sl opal， 無色	N/A	0.049	98.45	0.98	0.53	0.03	RS007-001 33626	N/A	2	v. sl opal， 無色	0.049	98.45	0.99	0.53	0.03	8週， 5°C	1	sl opal，無色		0.051	98.61	0.95	0.44	--	RS007-001 33670	N/A	2	sl opal，無色		0.057	98.59	0.96	0.45	--	12週， 5°C	1	sl opal，無色		0.054	98.37	1.06	0.46	0.11	REF025 (RS007-001) 33608	N/A	2	sl opal，無色		0.052	98.39	1.06	0.46	0.10	6個月， 5°C	1	sl opal，無色		0.065	98.39	1.07	0.39	0.16	REF025 (RS007-001) 33633
4週， 5°C	1	v. sl opal， 無色	N/A	0.049	98.45	0.98	0.53	0.03	RS007-001 33626	N/A																																																																		
	2	v. sl opal， 無色		0.049	98.45	0.99	0.53	0.03			8週， 5°C	1	sl opal，無色		0.051	98.61	0.95	0.44	--	RS007-001 33670	N/A	2	sl opal，無色		0.057	98.59	0.96	0.45	--	12週， 5°C	1	sl opal，無色		0.054	98.37	1.06	0.46	0.11	REF025 (RS007-001) 33608	N/A	2	sl opal，無色		0.052	98.39	1.06	0.46	0.10	6個月， 5°C	1	sl opal，無色		0.065	98.39	1.07	0.39	0.16	REF025 (RS007-001) 33633	26.4	2	sl opal，無色		0.076	98.39	1.05	0.40	0.16	62.5 11.0 26.3 62.8 11.0								
8週， 5°C	1	sl opal，無色		0.051	98.61	0.95	0.44	--	RS007-001 33670	N/A																																																																		
	2	sl opal，無色		0.057	98.59	0.96	0.45	--			12週， 5°C	1	sl opal，無色		0.054	98.37	1.06	0.46	0.11	REF025 (RS007-001) 33608	N/A	2	sl opal，無色		0.052	98.39	1.06	0.46	0.10	6個月， 5°C	1	sl opal，無色		0.065	98.39	1.07	0.39	0.16	REF025 (RS007-001) 33633	26.4	2	sl opal，無色		0.076	98.39	1.05	0.40	0.16	62.5 11.0 26.3 62.8 11.0																											
12週， 5°C	1	sl opal，無色		0.054	98.37	1.06	0.46	0.11	REF025 (RS007-001) 33608	N/A																																																																		
	2	sl opal，無色		0.052	98.39	1.06	0.46	0.10			6個月， 5°C	1	sl opal，無色		0.065	98.39	1.07	0.39	0.16	REF025 (RS007-001) 33633	26.4	2	sl opal，無色		0.076	98.39	1.05	0.40	0.16	62.5 11.0 26.3 62.8 11.0																																														
6個月， 5°C	1	sl opal，無色		0.065	98.39	1.07	0.39	0.16	REF025 (RS007-001) 33633	26.4																																																																		
	2	sl opal，無色		0.076	98.39	1.05	0.40	0.16		62.5 11.0 26.3 62.8 11.0																																																																		

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀， pH值	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清，sl opal， 無色， 6.11	41.8	0.035	98.41	0.98	0.60	--	RS007-001 33834	19.4 69.1 11.5
			41.8							
3週， 30°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.018	98.39	0.99	0.51	0.14	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal， 無色		0.013	98.37	0.99	0.49	0.14		
6週， 5°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.060	98.54	0.93	0.43	0.10	RS007-001 33506	N/A
	2	sl opal， 無色		0.067	98.55	0.93	0.42	0.10		
9週， 5°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.047	98.28	1.03	0.40	0.29	RS007-001 33775	N/A
	2	sl opal， 無色		0.054	98.25	1.07	0.38	0.30		
12週， 30°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.074	98.13	1.12	0.37	0.38	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
	2	sl opal， 無色	N/A	0.063	98.16	1.09	0.38	0.37		

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀， pH值	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清，sl opal， 無色， 6.11	41.8	0.035	98.41	0.98	0.60	--	RS007-001 33834	19.4 69.1 11.5
			41.8							
2週， 40°C	1	澄清，sl opal， 無色	N/A	0.058	98.14	1.00	0.48	0.38	RS007-001 33732	N/A
	2	澄清，sl opal， 無色		0.054	98.39	0.93	0.45	0.24		
4週， 40°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.054	96.06	1.07	0.47	2.40	RS007-001 34124	N/A
	2	v. sl opal， 無色		0.055	95.90	1.06	.044	2.60		
8週， 40°C	1	sl opal， 無色	41.3 (效能 =80.0%)	0.065	91.64	1.23	0.72	6.41	RS007-001 33852	N/A
	2	sl opal， 無色	43.1	0.064	91.75	1.26	0.70	6.30		
12週， 40°C	1	sl opal， 無色	N/A	0.081	89.51	1.58	1.35	7.55	REF025 (RS007-001) 33590	N/A
	2	sl opal， 無色		0.083	89.66	1.61	1.38	7.35		

表 17

經製備： 200 mg/mL 那他珠單抗、100 mg/mL 蔗糖、24 mM 組胺酸、0.08% PS-80 用 0.45 mL DI 水重組以得到 0.5 mL 總體積		冷凍乾燥完成日期： 測試起始日期：										
時間點/ 溫度	小瓶	外觀，pH 值	重組時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
預冷凍乾 燥	1	澄清，sl opal， 6.08	N/A	N/A	50.0 51.5	0.028	98.28	1.04	0.60	0.07	RS007-001 33834	20.7 68.1 11.3
	1	澄清	13.5	4.0	183.2	0.160	98.14	1.11	0.69	0.06	RS007-001 33791	20.4 69.0 10.7
0	2	澄清	4.7		169.8	0.134	98.14	1.10	0.69	0.07		
4週，5°C	1	sl opal， 無色	8.5	N/A	N/A	0.131	98.03	1.16	0.69	0.12	RS007-001 33626	N/A
	2	sl opal， 無色	8.3			0.140	98.03	1.16	0.69	0.12		
8週，5°C	1	opal，無色	6.0	N/A	180.0	0.131	98.32	1.10	0.58	--	RS007-001 33670	22.1 63.9 14.0
	2	opal，無色	4.1		185.4	0.135	98.33	1.09	0.58	--		
12週， 5°C	1	opal，無色	4.7	N/A	N/A	0.144	97.99	1.28	0.64	0.10	REF025 (RS007-001) 33608	N/A
	2	opal，無色	5.5			0.147	97.99	1.28	0.64	0.10		
6個月， 5°C	1	opal，無色	9.8	N/A	176.0	0.133	98.24	1.25	0.51	--	REF025 (RS007-001) 33633	21.8 66.2 12.0
	2	opal，無色	7.8		172.6	0.157	98.19	1.28	0.53	--		
*12個月， 5°C	1	opal，輕微黃色	13.2	N/A	222.8	0.113	97.76	1.46	0.68	0.10	REF025 (RS007-001) 36188	20.5 65.3 14.2

\* 於 12 個月之時間點，僅 1 個小瓶可用於分析。又，餅狀物似乎尺寸加倍，因此用兩倍稀釋劑重組。

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	13.5	4.0	183.2	0.160	98.14	1.11	0.69	0.06	RS007-001 33791	20.4
	2	澄清, sl opal	4.7		169.8	0.134	98.14	1.10	0.69	0.07		20.1
3週, 30°C	1	sl opal, 無色	3.3	N/A	N/A	0.165	97.50	1.68	0.68	0.14	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無色	4.2			0.169	97.53	1.64	0.69	0.14		
6週, 30°C	1	opal, 無色	4.4	N/A	N/A	0.175	97.31	1.88	0.68	0.13	RS007-001 33506	N/A
	2	opal, 無色	5.8			0.168	97.31	1.89	0.67	0.13		
9週, 30°C	1	opal, 無色	6.5	N/A	N/A	0.181	96.94	2.71	0.24	0.11	RS007-001 33775	N/A
	2	opal, 無色	4.1			0.169	96.91	2.75	0.25	0.10		
12週, 30°C	1	opal, 無色	6.8	N/A	N/A	0.175	96.68	2.49	0.73	0.11	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
	2	opal, 無色	5.6			0.184	96.71	2.47	0.72	0.09		

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清, sl opal	13.5	4.0	183.2	0.160	98.14	1.11	0.69	0.06	RS007-001 33791	20.4
	2	澄清, sl opal	4.7		169.8	0.134	98.14	1.10	0.69	0.07		20.1
2週, 40°C	1	澄清, sl opal	3.3	N/A	N/A	0.179	96.83	2.30	0.71	0.16	RS007-001 33732	N/A
	2	澄清, sl opal	3.2		0.165	96.88	2.27	0.70	0.15	0.15		N/A
4週, 40°C	1	sl opal, 無色	9.5	N/A	168.0	0.172	96.21	2.80	0.85	0.15	RS007-001 34124	N/A
	2	sl opal, 無色	9.4		162.6	0.184	96.17	2.84	0.84	0.15		N/A
8週, 40°C	1	opal, 無色	9.5	N/A	179.0	0.203	95.82	3.94	0.25	--	RS007-001 33852	24.6
	2	opal, 無色	5.1		179.4	0.214	95.80	3.38	0.82	--		26.5
												58.8
												14.7

表 18

經重組		製備： 200 mg/mL 那他珠單抗、100 mg/mL 蔗糖、24 mM 組胺酸、60 mM NaCl、0.08% PS-80 用 0.45 mL DI 水重組以得到 0.5 mL 總體積										冷凍乾燥完成： 測試起始日期：		
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準及 平均面積計數	酸性峰%	主峰%	鹼性峰%
0	1	澄清	4.6	3.3	184.2	0.269	98.21	1.10	0.61	0.08	RS007-001 33791	18.1	65.7	16.2
	2		7.0											
4週, 5°C	1	sl opal, 無色	8.6	N/A	N/A	0.291	98.16	1.13	0.61	0.10	RS007-001 33626	N/A	N/A	N/A
	2		8.2											
8週, 5°C	1	v. opal, 無色	3.2	N/A	183.7	0.287	98.37	1.09	0.54	--	RS007-001 33670	22.0	64.0	14.0
	2		6.8											
12週, 5°C	1	v. opal, 無色	5.7	N/A	N/A	0.471	98.06	1.26	0.58	0.10	REF025 (RS007-001) 33608	N/A	N/A	N/A
	2		4.8											
12個月, 5°C	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	97.86	1.45	0.60	0.10	REF025 (RS007-001) 36412	N/A	N/A	N/A
	2													

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	4.6	3.3	184.2	0.269	98.21	1.10	0.61	0.08	RS007-001 33791	18.1
	2		7.0									62.4
3週， 30°C	1	opal，無色	6.6	N/A	N/A	0.376	97.65	1.61	0.62	0.12	RS007-001 33758	N/A
	2		5.8									62.4
6週， 30°C	1	v. opal，無色	6.0	N/A	N/A	0.436	97.24	2.00	0.65	0.10	RS007-001 33506	N/A
	2		7.2									16.8
9週， 30°C	1	v. opal，無色	6.2	N/A	N/A	0.443	97.07	2.20	0.59	0.14	RS007-001 33775	N/A
	2		12.4									16.8
12週， 30°C	1	v. opal，無色	6.2	N/A	N/A	0.401	96.91	2.34	0.64	0.11	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
	2		8.1									16.2
12 mo 30°C	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	94.99	3.98	0.90	0.13	REF025 (RS007-001) 36412	N/A
	2											3.74

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	4.6	3.3	184.2	0.269	98.21	1.10	0.61	0.08	RS007-001 33791	18.1
	2	澄清	7.0		182.0	0.273	98.20	1.11	0.61	0.08		20.7
2週， 40°C	1	澄清，sl opal	5.2	N/A	N/A	0.322	96.97	2.23	0.66	0.13	RS007-001 33732	N/A
	2	澄清，sl opal	7.3		0.328	97.06	2.17	0.64	0.13	0.13		N/A
4週， 40°C	1	sl opal，無色	8.9	N/A	169.0	0.428	96.32	2.75	0.79	0.15	RS007-001 34124	N/A
	2	sl opal，無色	4.4		174.2	0.332	96.53	2.62	0.73	0.12		N/A
8週， 40°C	1	v. opal，無色	9.8	N/A	164.6	0.339	96.21	3.09	0.70	--	RS007-001 33852	22.6
	2	v. opal，無色	12.2		180.0	0.364	95.55	3.62	0.83	--		59.3
12 wk 40°C	1	opal，無色	6.5	N/A	N/A	0.359	94.92	4.03	0.93	0.12	REF025 (RS007-001) 33590	18.1
	2	opal，無色	11.2		0.397	94.31	4.51	1.08	0.11	0.11		N/A

表 19

經重組 200 mg/mL 那他珠單抗、100 mg/mL 蔗糖、24 mM 組胺酸、0.08% PS-20 用 0.45 mL DI 水重組以得到 0.5 mL 總體積												經製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期：		
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%		
0	1	澄清	5.1	4.3	173.3	0.169	98.04	1.12	0.78	0.07	RS007-001 33791	19.4		
	2	澄清	5.8									0.77	0.06	20.7
4週, 5°C	1	v. sl opal, 無色	8.2	N/A	N/A	0.143	97.95	1.16	0.78	0.11	RS007-001 33626	N/A		
	2	v. sl opal, 無色	11.4									0.79	0.13	62.9
8週, 5°C	1	opal, 無色	6.0	N/A	180.0	0.160	98.25	1.11	0.64	--	RS007-001 33670	24.2		
	2	opal, 無色	6.7									0.65	--	61.1
12週, 5°C	1	opal, 無色	5.5	N/A	N/A	0.154	97.89	1.29	0.73	0.09	REF025 (RS007-001) 33608	N/A		
	2	opal, 無色	4.6									0.72	0.10	62.3
12個月, 5°C	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	97.69	1.47	0.74	0.10	REF025 (RS007-001) 36412	N/A		
	2											97.68	1.45	0.77

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	5.1	4.3	173.3	0.169	98.04	1.12	0.78	0.07	RS007-001 33791	19.4
	2	澄清	5.8	N/A	165.4	0.161	98.05	1.12	0.77	0.06	RS007-001 33758	20.7
3週， 30°C	1	sl opal，無色	>10*	N/A	N/A	0.162	97.65	1.40	0.81	0.14	RS007-001 33756	N/A
	2		5.3									0.175
6週， 30°C	1	opal，無色	8.5	N/A	N/A	0.176	97.18	1.91	0.78	0.12	RS007-001 33506	N/A
	2		6.9									0.202
9週， 30°C	1	opal，無色	4.7	N/A	N/A	0.196	97.15	2.14	0.71	--	RS007-001 33775	N/A
	2		3.8									0.195
12週， 30°C	1	opal，無色	5.9	N/A	N/A	0.203	96.55	2.54	0.82	0.09	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
	2		6.1									0.195
12個月， 30°C	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	94.62	3.99	1.26	0.13	REF025 (RS007-001) 36412	N/A
	2											94.67

\*小瓶有裂縫。

40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	5.1	4.3	173.3	0.169	98.04	1.12	0.78	0.07	RS007-001 33791	19.4
	2	澄清	5.8		165.4	0.161	98.05	1.12	0.77	0.06		20.7
2週， 40°C	1	澄清，sl opal	6.6	N/A	N/A	0.185	96.80	2.25	0.81	0.14	RS007-001 33732	N/A
	2	澄清，sl opal	4.5		0.184	96.82	2.24	0.81	0.13	N/A		
4週， 40°C	1	v. sl opal，無 色	5.1	N/A	165.6	0.187	96.12	2.76	0.97	0.15	RS007-001 34124	N/A
	2	v. sl opal，無 色	6.1		151.5	0.189	96.13	2.76	0.97	0.14		
8週， 40°C	1	opal，無色	5.9	N/A	177.3	0.228	95.83	3.28	0.89	--	RS007-001 33852	23.2
	2	opal，無色	7.1		175.2	0.217	95.84	3.28	0.88	--		57.7
12週， 40°C	1	opal，無色	6.5	N/A	N/A	0.257	94.71	4.06	1.14	0.10	REF025 (RS007-001) 33590	19.2
	2	opal，無色	6.5		0.255	94.77	4.01	1.12	0.10	0.10		22.8
												58.8
												18.5
												N/A

表 20

經重組 200 mg/mL 那他珠單抗、100 mg/mL 海藻糖、24 mM 組胺酸、0.08% PS-80 用 0.45 mL DI 水重組以得到 0.5 mL 總體積										製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期：				
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準及 平均面積計數	酸性峰%	主峰%	鹼性峰%
0	1	澄清	6.5	5.4	167.2	0.152	98.03	1.14	0.77	0.07	RS007-001 33791	20.8	63.5	15.6
	2		8.9				98.05	1.14	0.76	0.06		20.5	64.4	15.2
4週, 5°C	1	v. sl opal, 無 色	7.9	N/A	N/A	0.142	97.86	1.25	0.79	0.11	RS007-001 33626	N/A	N/A	N/A
	2		9.7				97.89	1.23	0.77	0.11				
8週, 5°C	1	opal, 無色	6.4	N/A	180.0	0.156	98.17	1.20	0.64	--	RS007-001 33670	22.4	63.3	14.3
	2		5.5				98.16	1.21	0.63	--		23.2	62.2	14.5
12週, 5°C	1	opal, 無色	6.5	N/A	N/A	0.160	97.80	1.39	0.70	0.10	REF025 (RS007-001) 33608	N/A	N/A	N/A
	2		3.5			0.171	97.82	1.38	0.70	0.10				
12個月, 5°C	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	97.39	1.75	0.73	0.13	REF025 (RS007-001) 36412	N/A	N/A	N/A
	2						97.38	1.75	0.76	0.11				

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	6.5	5.4	167.2	0.152	98.03	1.14	0.77	0.07	RS007-001 33791	20.8
	2		8.9									157.4
3週， 30°C	1	sl opal，無色	10.2	N/A	N/A	0.177	96.87	2.19	0.82	0.13	RS007-001 33758	N/A
	2		6.3									0.173
6週， 30°C	1	opal，無色	8.9	N/A	N/A	0.219	96.44	2.62	0.81	0.13	RS007-001 33506	N/A
	2		7.6									0.200
9週， 30°C	1	opal，無色	8.5	N/A	N/A	0.227	95.79	3.22	0.87	0.12	RS007-001 33775	N/A
	2		10.4									0.240
12週， 30°C	1	opal，無色	9.5	N/A	N/A	0.255	95.21	3.74	0.95	0.10	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
	2		7.7									0.268
12個月， 30°C	1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	91.45	6.75	1.69	0.11	REF025 (RS007-001) 36412	N/A
	2						91.53					6.74

## 40°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	6.5	5.4	167.2	0.152	98.03	1.14	0.77	0.07	RS007-001 33791	20.8
	2		8.9									157.4
2週， 40°C	1	澄清，sl opal	10.1	N/A	N/A	0.239	95.50	3.45	0.89	0.15	RS007-001 33732	N/A
	2	澄清，sl opal	12.2									0.245
4週， 40°C	1	sl opal，無色	7.5	N/A	164.1	0.295	93.80	4.85	1.19	0.15	RS007-001 34124	N/A
	2	sl opal，無色	7.2									0.301
8週， 40°C	1	opal，無色	6.7	N/A	173.2 (效 能 =122.4%)	0.424	92.75	5.95	1.30	--	RS007-001 33852	28.9
	2											opal，無色
12週， 40°C	1	v. opal，無色	7.9	N/A	N/A	0.546	90.63	7.44	1.82	0.11	REF025 (RS007-001) 33590	N/A
	2	v. opal，無色	9.7									0.580

表 21

經重組 160 mg/mL 那他珠單抗、100 mg/mL 蔗糖、24 mM 組胺酸、0.08% PS-80 用 0.45 mL DI 水重組以得到 0.5 mL 總體積		製備： 冷凍乾燥完成日期： 測試起始日期：									
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體% LMW%	SEC 參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	2.8	3.7	119.3	0.186	98.11	1.08	0.73	RS007-001 33791	19.2
	2	澄清	3.6		124.5	0.153	98.11	1.08	0.74		0.08
4週, 5°C	1	v. sl opal, 無 色	2.7	N/A	N/A	0.138	98.00	1.12	0.74	RS007-001 33626	N/A
	2	v. sl opal, 無 色	2.4			0.149	98.00	1.12	0.74		0.14
8週, 5°C	1	opal, 無色	3.0	N/A	154.7 (效能 =133%)	0.146	98.38	1.03	0.59	RS007-001 33670	22.1
	2	opal, 無色	4.7			0.163	98.39	1.03	0.58		--
12週, 5°C	1	opal, 無色	3.3	N/A	N/A	0.160	98.04	1.20	0.67	REF025 (RS007-001) 33608	22.6
	2	opal, 無色	2.9			0.158	98.02	1.21	0.68		0.09
6個月, 5°C	1	opal, 無色	3.9	N/A	147.9	0.168	98.21	1.19	0.59	REF025 (RS007-001) 33633	N/A
	2	opal, 無色	3.1			0.164	98.20	1.21	0.59		--
12個月, 5°C	1	opal, 無色	3.4	N/A	145.6	0.155	98.13	1.23	0.64	REF025 (RS007-001) 36188	66.2
	2	opal, 無色	2.7			0.154	98.09	1.25	0.65		--

30°C

時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	2.8	3.7	119.3	0.186	98.11	1.08	0.73	0.08	RS007-001 33791	19.2
	2	澄清	3.6		124.5	0.153	98.11	1.08	0.74	0.08		21.0
3週, 30°C	1	sl opal, 無色	2.1	N/A	N/A	0.176	97.97	1.38	0.65	--	RS007-001 33758	N/A
	2	sl opal, 無色	1.6									
6週, 30°C	1	opal, 無色	3.1	N/A	N/A	0.195	97.80	1.56	0.64	--	RS007-001 33506	N/A
	2	opal, 無色	2.9									
9週, 30°C	1	opal, 無色	3.3	N/A	N/A	0.188	97.23	1.94	0.71	0.12	RS007-001 33775	N/A
	2	opal, 無色	3.8									
12週, 30°C	1	opal, 無色	3.9	N/A	N/A	0.188	97.33	2.41	0.27	--	REF025 (RS007-001) 33586	N/A
	2	opal, 無色	3.5									
6個月, 30°C	1	opal, 輕微黃色	2.6	N/A	144.6	0.252	96.63	3.03	0.35	--	REF025 (RS007-001) 33633	22.1
	2	opal, 輕微黃色	3.2		143.9	0.259	96.60	3.01	0.39	--		63.7
12個月, 30°C	1	opal, 輕微黃色	6.0	N/A	140.8	0.218	96.07	2.99	0.94	--	REF025 (RS007-001) 36188	14.2
	2	opal, 輕微黃色	4.5		145.0	0.203	96.08	2.98	0.94	--		22.2
												63.6
												14.2
												21.0
												62.6
												16.5
												21.0
												61.7
												17.4

時間點/ 溫度	40°C	小瓶	外觀	重組時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚物%	聚集體% LMW%	SEC參考標準及 平均面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	澄清	2.8	3.7	119.3	0.186	98.11	1.08	0.73	0.08	RS007-001 33791	19.2
	2	澄清	3.6		124.5	0.153	98.11	1.08	0.74	0.08		21.0
2週， 40°C	1	澄清，sl opal，	1.6	N/A	N/A	0.198	97.29	1.88	0.71	0.12	RS007-001 33732	N/A
	2	澄清，sl opal	2.3			0.171	97.32	1.87	0.70	0.12		
4週， 40°C	1	sl opal， 無色	3.1	N/A	149.7	0.195	96.70	2.30	0.82	0.18	RS007-001 34124	N/A
	2	sl opal， 無色	1.8		146.5	0.185	96.72	2.30	0.81	0.17		
8週， 40°C	1	opal，無色	3.9	N/A	145.5	0.228	96.63	3.12	0.25	--	RS007-001 33852	23.6
	2	opal，無色	2.1		148.0	0.202	96.66	3.12	0.23	--		58.7
12週， 40°C	1	opal，無色	3.4	N/A	N/A	0.225	95.69	3.27	0.94	0.10	REF025 (RS007-001) 33590	N/A
	2	opal，無色	2.5			0.220	95.70	3.27	0.94	0.09		

## 實例 3

如下文所證明，成功地冷凍乾燥具有稍有不同之初始蛋白質濃度之三種調配物且於5°C下儲存6個月時顯示優良穩定性。於40°C下儲存8週時，此等調配物之穩定性與先前所見之穩定性可相當。於5°C下儲存6個月之預冷凍乾燥之調配物及於5°C或25°C下儲存一週之重組溶液的穩定性亦為優良的。40 mg/mL之起始濃度顯示比其他調配物略佳之穩定性及較佳之重組特徵。然而，此調配物之重組允許於150 mg/mL下存在1 mL之可傳遞劑量。

## 材料

下表列出材料及其來源。

表 22

物品	製造商
塊狀那他珠單抗 (77.4 mg/mL)	Elan
蔗糖(96 mg/mL)	Elan
1% PS80	Elan
60 mM組胺酸	Elan
6 mM組胺酸	Elan
0.22微米乙酸纖維素濾紙	Corning
5 cc小瓶	Kimble
Grey Butyl, 20 mm; 凍乾塞子, 2槽	Kimble
20 mm拉開鋁蓋	Wheaton

表 23

設備
HPLC
HPLC
Uv-Vis光譜光度計
Karl Fischer庫侖滴定器(Coulometric Titrator)
pH計

## 那他珠單抗

用於此研究之那他珠單抗與用於研究3A及研究3B之那

他珠單抗相同(AQS-2190)。用於此等研究之那他珠單抗自由BiogenIdec供應之那他珠單抗製備。在用於此調配物研究之前，移除已經調配且裝入小瓶之此材料中所包括之聚山梨醇酯80。簡言之，使材料經受透濾至低離子強度、高pH值(10 mM tris、10 mM NaCl, pH=8.5)緩衝劑中。在此等條件下將材料結合於DEAE-瓊脂糖管柱上且接著使用10 mM磷酸鈉、140 mM NaCl(pH 6)溶離。接著，將管柱溶離液透濾至6 mM組胺酸(pH 6)中且濃縮至70 mg/mL與100 mg/mL之間，隨後進行進一步調配。

### 化學品及試劑

所有用於此研究之化學品及試劑(除有註釋外)均購自VWR且為ACS級或更佳等級。當可得到USP級試劑時，將其用作賦形劑。聚山梨醇酯80係購自Sigma(目錄號P6474)；且源自植物並具有低過氧化值。

### 調配物

下列調配物係藉由將賦形劑及活性物質之儲備溶液稀釋至所需濃度來製備。所有調配物均為pH 6。

表 24：研究4調配物參數

調配物ID	預冷凍乾燥濃度	目標重組濃度
4089-1L	40 mg/mL Ab、24 mg/mL蔗糖、6 mM his、0.02% PS80	150 mg/mL Ab、90 mg/mL蔗糖、24 mM his、0.08% PS80
4089-1M	45 mg/mL Ab、24 mg/mL蔗糖、6 mM his、0.02% PS80	
4089-1N	50 mg/mL Ab、24 mg/mL蔗糖、6 mM his、0.02% PS80	

縮寫：Ab=抗體，his=組胺酸，PS80=聚山梨醇酯80。

## 方法

### 調配物之製備

將樣品調配物無菌過濾且如所指示填充至無菌玻璃小瓶中。將用於預冷凍乾燥之分析之所有樣品以0.5 mL填充至3 cc小瓶中，用塞子塞住且蓋上蓋子。將待冷凍乾燥之配方以4.0 mL填充至5 cc Kimble小瓶中。

### 冷凍乾燥循環

在冷凍階段期間，首先將含有樣品之小瓶冷卻至5°C且保持30分鐘。接著，經20分鐘使溫度勻變至-5°C且於-5°C下保持60分鐘。對於冷凍之最後階段而言，經45分鐘使小瓶勻變至-40°C，於此溫度下保持2小時，其中最後20分鐘施加100 mTorr真空。接著，當於100 mTorr之真空下經20 min使溫度達到-25°C時執行第一乾燥且於彼溫度下保持34小時。經10小時使存放溫度緩慢勻變至20°C以於100 mTorr下開始第二乾燥且接著於20°C下保持6小時。

### 研究設置

將預冷凍乾燥之液體及冷凍乾燥之餅狀物的小瓶置於5°C及40°C下。於2、4及8週時檢定於40°C下儲存之樣品。於4週及6個月時檢定於5°C下儲存之樣品。於4週時間點，使來自各儲存溫度之4個小瓶重組，之後將2個小瓶置於5°C下且將2個小瓶置於25°C下，歷時1週之重組穩定性。在預冷凍乾燥及冷凍乾燥後之零時間檢定所有調配物。

### 檢定

藉由下列方法檢定樣品且結果呈現於表27-30中。並非

所有檢定均在所有時間點執行。除用於預冷凍乾燥及冷凍乾燥後之樣品之零時間點外，各檢定對相同兩個小瓶進行取樣。

#### 根據目視檢查獲得之外觀

對所有樣品進行目視檢查且記錄其外觀。檢查冷凍乾燥之餅狀物之顏色、均勻性、穩固性及回熔證據。檢查液體及重組樣品之顏色、澄清度及微粒之存在。

#### 殘餘水分及重組時間

於零時間點，使用Karl Fischer庫侖滴定器檢定冷凍乾燥之餅狀物之殘餘水分。藉由添加適當體積之DI水，接著平緩旋轉來量測重組時間。記錄餅狀物完全溶解之時間。

#### 濃度

使用那他珠單抗安慰劑將樣品稀釋至1 mg/mL，藉此來量測所有樣品之濃度。使用Varian Cary 300Bio及10 mm光程比色管，以200 nm/min自400 nm至250 nm掃描UV吸光度。記錄極大值時之吸光度且藉由將該值除以1.498(那他珠單抗之吸光係數)並經適當稀釋進行調節來測定濃度。

#### 混濁度

使用10 mm小容積比色管(Starna Cells Inc.，目錄號16.160-Q-10\Z20)量測純樣品自300 nm至400 nm之吸收。報導於360 nm下記錄之值。

#### 尺寸排阻層析

藉由尺寸排阻層析測定樣品中單體、高分子量聚集體、二聚物及低分子量物質之量。簡言之，將樣品以純形式負

載於管柱上且調節負載體積以允許管柱上質量為約400  $\mu\text{g}$ 。亦將參考材料負載之質量調節至可相當。於215 nm及280 nm下記錄偵測，然而主峰於215 nm下超出量表，因此使用280 nm迹線進行計算。結果呈現於表27-30中。

## 結果

### 預冷凍乾燥之調配物

表27-30含有對於所有調配物所記錄之結果。目視檢查後，所有調配物均呈現無色及輕微乳白色，而無任何可見微粒。於5°C或40°C下，外觀並不隨時間變化。無樣品在分析變化中顯示蛋白質濃度之變化且未觀察到傾向。如藉由於360 nm下之吸光度所量測，所有調配物的混濁度均顯示於5°C下6個月後略有增加。40°C預冷凍乾燥之樣品顯示對於所有三種調配物而言，混濁度均隨時間增加。

監測所有調配物之二聚物、高分子量(聚集體)及低分子量物質之形成。結果在表格及圖17-19中展示。

圖17展示於40°C下高分子量物質之形成。預冷凍乾燥之調配物中，高分子量物質之形成似乎直至儲存4週後才開始。於8週時，高分子量物質之少量增加較明顯。

於5°C下，在儲存6個月之任何調配物中高分子量物質之含量均無變化。此資料在附錄中展示，但並不在此處用圖表表示。

圖18展示於40°C下低分子量物質之形成。在於40°C下儲存期間，存在形成低分子量物質之明確傾向。又，低分子量物質之形成似乎以比高分子量物質之形成快之速率進

行，使此成為液體樣品中之重要降解路徑。

對於5°C下儲存之樣品而言，經6個月時期低分子量物質之百分比存在極小變化。此資料在附錄中展示，但並不在此處用圖表表示。所有預冷凍乾燥之調配物均自約0.11%之初始含量達到6個月時之0.18%。BiogenIdec已顯示用於此檢定之量化下限為0.2%。關於傾向資訊，僅報導低於彼含量之值。

圖19展示於40°C下由高分子量物質及低分子量物質之形成引起之總單體損失。於5°C下，單體百分比基本上無變化。此將表明此等調配物中之任一者均將以預冷凍乾燥之調配物形式於2-8°C下適當地穩定儲存多達6個月。

藉由陽離子交換層析分析所選樣品。在所有情況下，結果均顯示向更具酸性物質(脫醯胺)位移，其中基於時間及溫度進行儲存。各種預冷凍乾燥之調配物不存在差異。因為脫醯胺一般受pH值、離子強度及某些緩衝劑物質影響，所以此結果將為吾人所預期。此資料在以下表格中展示。

所有三種預冷凍乾燥之調配物均顯示類似於研究3A及3B中預冷凍乾燥之調配物的結果。

#### 冷凍乾燥之調配物

下表25展示經測試以達到150 mg/mL之蛋白質濃度之重組體積。接著，對於研究之其餘部分使用經測定最接近目標濃度之重組體積。在各樣品完全溶解後，檢查濃度。用於4089-1L、4089-1M及4089-1N之重組體積分別為0.85 mL、1.0 mL及1.1 mL。

表 25：重組體積

調配物	小瓶	重組體積(mL)	濃度(mg/mL)
4089-1L	1	0.8	156.7
	2	0.9	143.9
	3	0.85	151.8
4089-1M	1	0.8	168.2
	2	0.9	162.5
	3	1.0	158.5
4089-1N	1	0.9	179.4
			146.1
			159.9
	2	1.1	154.4
			153.5
			160.9
3	1.1	156.8	

下表 26 展示自重組樣品中移除 1 mL 劑量之能力。此僅對於 4089-1N 有可能，其係用 1.1 mL 重組。此等資料表明為於 150 mg/mL 下產生 1 mL 之最終可傳遞體積，4 mL 之填充體積以及 50 mg/mL 之蛋白質濃度將為必需的。

表 26：1 mL 劑量之評估

調配物	重組體積(mL)	針號	小瓶	移除之體積(mL)
4089-1L	0.85	21 標準規格，1½吋	1	0.75
			2	0.75
			3	0.85
4089-1M	1.0	21 標準規格，1½吋	1	0.9
			2	0.8
			3	0.85
4089-1N	1.1	20 標準規格，1½吋	1	1.0
			2	1.0
			3	1.0

### 穩定性

目視檢查後，所有調配物似乎均具有可接受之冷凍乾燥之餅狀物，從而驗證 4 mL 體積可成功地冷凍乾燥於 5 mL 小瓶中。重組後，所有調配物均呈現無色及輕微乳白色，而

無任何可見微粒。於5°C或40°C下，外觀並不隨時間變化。無樣品在分析變化中顯示蛋白質濃度之變化且未觀察到傾向。如藉由於360 nm下之吸光度所量測，所有調配物之混濁度均顯示於5°C下6個月後自約0.099-0.104至0.111-0.116略有增加。40°C預冷凍乾燥之樣品顯示所有調配物之混濁度均隨時間增加。

如藉由Karl Fischer庫倫滴定器所量測，冷凍乾燥之餅狀物之水分百分比在4.3至5.6之範圍內。4089-1L、4089-1M及4089-1N之平均水分百分比分別為4.5、5.2及4.9。此等樣品中之水分相對較高。

此研究之重組時間均低於17分鐘。圖4展示於40°C下之重組時間。似乎於40°C下儲存時有略增加重組時間之傾向。具有較高起始蛋白質濃度之樣品亦顯示較長重組時間之傾向。此亦在早期研究(研究A及B)中表明。

監測所有調配物之二聚物、高分子量聚集體及低分子量物質之形成。表格結果在下列表格中展示。

圖5展示於40°C下高分子量物質之形成。在於此溫度下儲存期間，存在形成高分子量物質之明確傾向。聚集體之形成速率似乎在調配物4089-1L中略微較慢。在不希望受理論束縛之情況下，此可歸因於起始調配物之較低蛋白質濃度或略微較高之蔗糖與蛋白質之比率。

於5°C下，在儲存6個月之任何調配物中高分子量物質之含量均無變化，此顯示各種時間之HMW%。

圖6展示於40°C下低分子量物質之形成。與展現低分子

量物質之形成快速增加之預冷凍乾燥的樣品相反，冷凍乾燥之樣品經8週未顯示任何變化。對於5°C下儲存之樣品而言，經6個月時期沒有任何低分子量物質之百分比變化。此資料在附錄中展示，但並不在此處用圖表表示。

圖7展示於40°C下由高分子量物質及低分子量物質之形成引起之總單體損失。於5°C下，單體百分比基本上無變化。此將表明此等調配物中之任一者均會以冷凍乾燥之調配物形式於2-8°C下適當地穩定儲存多達6個月及更長時間。

樣品亦藉由陽離子交換層析分析。在所有情況下，結果均顯示於40°C下8週後向更具鹼性物質位移。在檢定變異性內有極小的電荷分布變化。所選樣品亦顯示於該時間點略向更具酸性物質位移。此資料在以下表格中展示，在最後一欄中以酸性峰%、主峰%及鹼性峰%表示。

### 重組之穩定性

於5°C或40°C下儲存4週後，使樣品重組且接著置於5°C及25°C下經1週之重組穩定性。於初始時間點及於1週時執行測試。附錄中之表格包括對所有調配物所記錄之所有結果。經目視檢查，所有調配物均呈現無色及輕微乳白色。所有樣品均呈現不含微粒，但有兩種並非如此。含有"蓬鬆"白色微粒之兩個小瓶在重組之前於40°C下儲存且接著於25°C下儲存1週。分析員可能在打開此等小瓶進行初始時間點測試時污染小瓶。無樣品顯示在分析變異性內的蛋白質濃度變化且未觀察到有任何傾向。於5°C或25°C下1週

後，所有調配物的混濁度均未顯示在分析變異範圍內的變化，其係藉由於360 nm下之吸光度所量測。

監測所有調配物之二聚物、高分子量(聚集體)及低分子量物質之形成。結果展示於以下表格中。經重組且於5°C或25°C下放置1週後，任何調配物中的高分子量物質之含量均無變化。低分子量物質之含量似乎在重組後於25°C下儲存時略有增加，並於5°C重組儲存後基本上仍舊相同。此等結果顯示所有調配物若經重組且接著於5°C或25°C下放置1週時會保持穩定。

於5°C下儲存之樣品的重組穩定性亦藉由陽離子交換層析分析。所有三種調配物之結果顯示1週後更具酸性物質略有增加，無關乎其在重組前之儲存溫度。在重組之前已於5°C下儲存之樣品亦顯示儲存1週後略向更具鹼性物質位移。在重組之前於40°C下儲存之樣品顯示於5°C下儲存1週後較少向更具鹼性物質位移。此等變化極小且檢定變異性的跡象更勝於蛋白質之實際變化。

## 結論

上述研究4已顯示4 mL體積可成功地冷凍乾燥於5 mL Kimble小瓶中且具有可接受之餅狀物結構。

經測定以給出150 mg/mL之目標蛋白質濃度之重組體積對於4089-1L為0.85 mL(40 mg/mL預冷凍乾燥之濃度)、對於4089-1M為1.0 mL(45 mg/mL預冷凍乾燥之濃度)且對於4089-1N為1.1 mL(50 mg/mL預冷凍乾燥之濃度)。4089-1N為能夠傳遞1 mL劑量之唯一調配物，顯示1.1 mL水為所需

之最小重組體積。此等結果可用於指導關於填充體積、總固體量及重組體積所發展之最終說明。一般而言，具有較低初始蛋白質濃度及較高蔗糖與蛋白質之比率之樣品顯示較短之重組時間及關於單體損失略佳之穩定性。根據填充體積及重組體積，此表明較低最終蛋白質濃度可產生較理想產物。

重組穩定性顯示所有調配物於5°C及25°C下儲存1週後為穩定的，而無單體損失。

所有三種預冷凍乾燥之調配物均於5°C下經6個月保持穩定。然而，於40°C下儲存後，所有調配物均顯示增加低分子量物質之量之傾向。低分子量物質之形成似乎在假定其快速形成速率之情況下成為液體樣品中之重要降解路徑。

冷凍乾燥之調配物亦證明於5°C下穩定多達6個月。於40°C下儲存後，存在增加高分子量物質之量之明確傾向，而低分子量物質之量仍舊相同。此顯示高分子量物質之形成在冷凍乾燥之樣品中為較重要降解路徑。殘餘水分含量及蔗糖與蛋白質之比率之其他最優化應改良穩定性。

表 27

經製備： 測試起始日期：0.5 mL填充量											
預冷凍乾燥 40 mg/mL那他珠單抗、24 mg/mL蔗糖、6 mM組胺酸及0.02% PS-80											
時間點/ 溫度	小瓶	外觀/pH值	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標 準(平均面積 計數)	酸性峰% 主峰%	鹼性峰%
0	1	sl opal, 無色/6.07	40.9	0.036	98.03	1.23	0.63	0.11	REF025 (33849)	20.9 67.9 11.2	
2週, 40°C	1	極其sl opal, 無色	42.2	0.047	97.75	1.16	0.45	0.64	REF025 (33582)	39.7 51.5 8.8	
	2	極其sl opal, 無色	40.4	0.051	97.75	1.15	0.44	0.66		42.1 49.4 8.5	
4週, 40°C	1	極其sl opal, 無色	43.0	0.070	93.84	1.19	0.45	4.52	REF025 (33610)	N/A	
	2	極其sl opal, 無色	43.4	0.072	94.19	1.21	0.47	4.12			
8週, 40°C	1	極其sl opal, 無色	42.3	0.091	90.31	1.36	0.82	7.51	REF025 (33838)	N/A	
	2	極其sl opal, 無色	41.4	0.091	90.33	1.36	0.91	7.40			
6個月, 5°C	1	極其sl opal, 無色	41.1	0.057	98.11	1.25	0.47	0.18	REF025 (33851)	25.9 60.5 13.6	
	2	極其sl opal, 無色	40.9	0.058	98.10	1.25	0.47	0.18		26.1 61.2 12.8	

表 28

預冷凍乾燥 40 mg/mL 那他珠單抗、24 mg/mL 蔗糖、6 mM 組胺酸及 0.02% PS-80		經製備： 測試起始日期：0.5 mL 填充量									
時間點/ 溫度	小 瓶	外觀/pH值	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準 (平均面積計 數)	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%	
0	1	sl opal, 無色 /6.07	48.3	0.041	98.02	1.23	0.63	0.11	REF025 (33849)	22.6	
	2	極其sl opal, 無 色	48.6	0.058	97.66	1.16	0.44	0.74		41.5	
2週, 40°C	1	極其sl opal, 無 色	48.6	0.058	97.66	1.16	0.44	0.74	REF025 (33582)	44.2	
	2	極其sl opal, 無 色	45.5	0.063	97.67	1.18	0.43	0.73		14.3	
4週, 40°C	1	極其sl opal, 無 色	49.0	0.081	93.41	1.22	0.48	4.89	REF025 (33610)	41.3	
	2	極其sl opal, 無 色	49.2	0.079	93.64	1.22	0.47	4.67		50.1	
8週, 40°C	1	極其sl opal, 無 色	48.2	0.108	90.14	1.43	1.11	7.32	REF025 (33838)	8.5	
	2	極其sl opal, 無 色	50.0	0.161	90.46	1.43	1.11	7.00		N/A	
6個月, 5°C	1	極其sl opal, 無 色	46.1	0.066	98.09	1.25	0.48	0.18	REF025 (33851)	26.2	
	2	極其sl opal, 無 色	46.0	0.068	98.11	1.25	0.47	0.16		60.8	
										13.0	
										26.3	
										60.6	
										13.1	

表 29

預冷凍乾燥 50 mg/mL 那他珠單抗、24 mg/mL 蔗糖、6 mM 組胺酸及 0.02% PS-80											製備： 測試起始日期：0.5 mL 填充量		
時間點/ 溫度	小瓶	外觀/pH值	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準 (平均面積計 數)	酸性峰%	主峰%	鹼性峰%	
0	1	sl opal, 無色/6.08	52.6	0.053	98.01	1.24	0.63	0.12	REF025 (33849)	21.7	67.6	10.8	
	2	極其sl opal, 無色	54.5	0.062	97.60	1.17	0.43	0.80	REF025 (33582)	44.3	47.9	7.8	
2週, 40°C	1	極其sl opal, 無色	55.9	0.062	97.60	1.17	0.43	0.80	REF025 (33582)	44.0	48.4	7.5	
	2	極其sl opal, 無色	54.5	0.062	97.60	1.17	0.43	0.80	REF025 (33582)	44.0	48.4	7.5	
4週, 40°C	1	極其sl opal, 無色	55.8	0.087	93.60	1.25	0.55	4.60	REF025 (33610)	N/A	N/A	N/A	
	2	極其sl opal, 無色	55.9	0.084	93.04	1.22	0.48	5.27	REF025 (33610)	N/A	N/A	N/A	
8週, 40°C	1	極其sl opal, 無色	55.3	0.118	89.19	1.42	1.13	8.26	REF025 (33838)	N/A	N/A	N/A	
	2	極其sl opal, 無色	53.9	0.128	88.61	1.40	1.14	8.86	REF025 (33838)	N/A	N/A	N/A	
6個月, 5°C	1	極其sl opal, 無色	51.9	0.072	98.08	1.26	0.48	0.19	REF025 (33851)	26.5	60.6	13.0	
	2	極其sl opal, 無色	52.3	0.067	98.08	1.25	0.48	0.19	REF025 (33851)	26.6	61.1	12.4	

表 30

製備： 冷凍乾燥完成日期： 測試起始日期：												
經冷凍乾燥 150 mg/mL 那他珠單抗、90 mg/mL 蔗糖、24 mM 組胺酸及 0.08% PS-80，pH 6 用 0.85 mL DI 水重組以得到 0.75-0.85 mL 總體積												
時間點/ 溫度	小瓶	外觀	重組時 間(分 鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC 參考 標準(平 均面積 計數)	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	sl opal, 無色	2.2	4.5	164.8	0.102	97.87	1.38	0.61	0.14	REF025 (33709)	21.1
	2	sl opal, 無色	2.2	4.6	164.5	0.099	97.87	1.38	0.61	0.13		65.1
	3	sl opal, 無色	3.4	4.3	153.7	0.103	97.89	1.37	0.61	0.13		13.8/
2週, 40°C	1	sl opal, 無色	4.4	N/A	161.9	0.109	96.99	2.19	0.60	0.21	REF025 (33582)	21.4
	2	sl opal, 無色	3.7		157.2	0.111	97.00	2.18	0.60	0.23		65.0
4週, 40°C	1	sl opal, 無色	3.9	N/A	159.2	0.136	96.50	2.63	0.63	0.24	REF025 (33610)	13.6
	2	sl opal, 無色	5.7		159.1	0.135	96.56	2.60	0.63	0.20		19.7
8週, 40°C	1	sl opal, 無色	3.8	N/A	166.4	0.156	95.76	3.39	0.69	0.16	REF025 (33838)	63.5
	2	sl opal, 無色	2.9		164.1	0.155	95.78	3.37	0.67	0.17		16.9
6個月, 5°C	1	sl opal, 無色	9.3	N/A	153.7	0.113	97.83	1.47	0.59	0.15	REF025 (33851)	20.1
	2	sl opal, 無色	7.4		152.3	0.113	97.83	1.47	0.59	0.16		68.3

表 31

重組穩定性：在重組之前於40°C下儲存4週之樣品。

重組後之儲存	時間點	小瓶	外觀	重組時間(分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準(平均面積計數)	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
5°C	初始	1	sl opal, 無色	3.9	159.2	0.136	96.50	2.63	0.63	0.24	REF025 (33610)	20.2
		2	sl opal, 無色	5.7	159.1	0.135	96.56	2.60	0.63	0.20		67.4
	1週	1	sl opal, 無色	N/A	154.6	0.132	96.57	2.60	0.60	0.23	REF025 (33604)	12.5
		2	sl opal, 無色		159.2	0.132	96.61	2.56	0.60	0.24		23.0
25°C	初始	3	sl opal, 無色	4.9	N/A	0.137	96.55	2.61	0.63	0.20	REF025 (33610)	66.4
		4	sl opal, 無色	4.4		0.135	96.52	2.64	0.63	0.21		10.6
	1週	3	sl opal, 無色, "蓬鬆"白色微粒	N/A	150.1	0.150	96.72	2.44	0.56	0.29	REF025 (33604)	22.4
		4	sl opal, 無色		153.6	0.125	96.70	2.47	0.56	0.27		69.0
												8.6
												N/A
												20.6
												69.6
												9.8
												20.3
												70.2
												9.5

表 32

重組穩定性：在重組之前於5°C下儲存4週之樣品。

重組後之儲存	時間點	小瓶	外觀	重組時間(分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC Ref Std (平均面積計數)	%Acidic 主峰% 鹼性峰%	
5°C	初始	1	sl opal , 無色	6.0	160.9	0.106	97.78	1.40	0.63	0.19	REF025 (33620)	20.2	
		2	sl opal , 無色	3.8	161.7	0.106	97.77	1.39	0.63	0.21		19.8	
	1週	1	sl opal , 無色	N/A	150.6	0.107	97.80	1.39	0.60	0.22	REF025 (33604)	22.6	
		2	sl opal , 無色		157.6	0.109	97.79	1.39	0.60	0.23		60.2	
25°C	初始	3	sl opal , 無色	4.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	
		4	sl opal , 無色	7.4									
	1週	3	sl opal , 無色	N/A	162.8	0.109	97.83	1.36	0.55	0.25	REF025 (33604)	20.8	
		4	sl opal , 無色		153.9	0.112	97.80	1.38	0.55	0.27		60.5	
												18.7	
													20.1
													62.0
													18.0

表 32

經冷凍乾燥 150 mg/mL 那他珠單抗、90 mg/mL 蔗糖、24 mM 組胺酸及 0.08% PS-80, pH 6 用 1.0 mL DI 水重組以得到 0.8-0.9 mL 總體積												製備： 冷凍乾燥完成日期： 測試起始日期：		
時間 點/溫度	小 瓶	外觀	重組 時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單體 %	二聚 物 %	聚 集體 %	LMW %	SEC 參考 標準 (平 均面積 計數)	酸性峰 % 主峰 % 鹼性峰 %		
0	1	sl opal, 無色	2.6	4.8	162.5	0.099	97.85	1.39	0.61	0.14	REF025 (33709)	21.0 65.0 14.0		
	2	sl opal, 無色	6.5	5.3	152.0	0.102	97.86	1.39	0.61	0.14		21.1 65.1 13.8		
	3	sl opal, 無色	3.7	5.6	159.7	0.104	97.85	1.40	0.61	0.14		21.7 68.1 10.2		
2週, 40°C	1	sl opal, 無色	4.7	N/A	151.4	0.109	96.76	2.43	0.60	0.21	REF025 (33582)	19.9 67.9 12.2		
	2	sl opal, 無色	4.8		155.2	0.112	96.74	2.41	0.60	0.24		20.1 67.7 12.2		
4週, 40°C	1	sl opal, 無色	5.4	N/A	160.8	0.137	96.12	3.03	0.66	0.19	REF025 (33610)	19.8 63.2 17.0		
	2	sl opal, 無色	3.8		159.6	0.132	96.22	2.94	0.66	0.19		20.2 67.4 12.4		
8週, 40°C	1	sl opal, 無色	5.5	N/A	160.7	0.154	95.19	3.92	0.73	0.16	REF025 (33838)	23.7 57.2 19.1		
	2	sl opal, 無色	7.3		160.2	0.155	95.18	3.91	0.73	0.17		21.7 58.9 19.4		
6個 月, 5°C	1	sl opal, 無色	5.8	N/A	146.3	0.111	97.78	1.52	0.60	0.15	REF025 (33851)	21.1 65.6 13.3		
	2	sl opal, 無色	7.0		147.3	0.116	97.77	1.53	0.59	0.16		21.1 65.0 14.0		

表 33

重組穩定性：在重組之前於 40°C 下儲存 4 週之樣品。

重組後 之儲存	時間 點	小瓶	外觀	重 組 時 間 (分 鐘)	濃 度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁 度	單 體 %	二 聚 物 %	聚 集 體 %	LMW%	SEC 參 考 標 準 (平 均 面 積 計 數)	酸 性 峰 % 主 峰 % 鹼 性 峰 %
5°C	初 始	1	sl opal, 無色	5.4	160.8	0.137	96.12	3.03	0.66	0.19	REF025 (33610)	19.8
		2	sl opal, 無色	3.8	159.6	0.132	96.22	2.94	0.66	0.19		20.2
	1 週	1	sl opal, 無色	N/A	153.7	0.131	96.16	2.97	0.62	0.24	REF025 (33604)	22.5
		2	sl opal, 無色		152.2	0.131	96.27	2.88	0.62	0.24		22.7
25°C	初 始	3	sl opal, 無色	4.0	N/A	0.136	96.11	3.02	0.67	0.19	REF025 (33610)	N/A
		4	sl opal, 無色	4.1		0.138	96.17	2.96	0.66	0.21		
	1 週	3	sl opal, 無 色, "蓬鬆" 白色微粒	N/A	148.9	0.132	96.30	2.84	0.58	0.2	REF025 (33604)	20.1
		4	sl opal, 無色		147.5	0.130	96.37	2.78	0.57	0.28		70.5
												9.4
												19.8
												70.4
												9.8

表 34

重組穩定性：在重組之前於 5°C 下儲存 4 週之樣品。

重組後之儲存	時間點	小瓶	外觀	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC 參考標準 (平均面積計數)	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
5°C	初始	1	sl opal, 無色	4.5	150.1	0.108	97.79	1.40	0.62	0.18	REF025 (33620)	20.3
		2	sl opal, 無色	4.8	149.2	0.106	97.78	1.41	0.62	0.19		19.9
	1週	1	sl opal, 無色	N/A	145.2	0.112	97.80	1.40	0.59	0.21	REF025 (33604)	23.8
		2	sl opal, 無色		145.8	0.111	97.79	1.40	0.59	0.22		22.6
25°C	初始	3	sl opal, 無色	3.3	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		4	sl opal, 無色	3.1								
	1週	3	sl opal, 無色	N/A	141.8	0.112	97.84	1.37	0.55	0.25	REF025 (33604)	20.8
		4	sl opal, 無色		140.0	0.111	97.84	1.37	0.54	0.25		20.2

表 35

經冷凍乾燥 150 mg/mL 那他珠單抗、90 mg/mL 蔗糖、24 mM 組胺酸及 0.08% PS-80, pH 6 用 1.1 mL DI 水重組以得到 1.0 mL 總體積		經製備 冷凍乾燥完成 測試起始日期										
時間 點/溫度	小瓶	外觀	重組 時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於 360 nm 下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC 參 考標準 (平均面 積計數)	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	1	sl opal, 無色	6.6	4.7	161.3	0.099	97.84	1.41	0.62	0.14	REF025 (33709)	21.3
	2	sl opal, 無色	5.8	4.7	168.6	0.100	97.84	1.41	0.62	0.14		21.3
	3	sl opal, 無色	3.3	5.3	170.3	0.099	97.84	1.41	0.61	0.14		64.8
2週, 40°C	1	sl opal, 無色	11.6	N/A	164.0	0.116	96.56	2.62	0.62	0.21	REF025 (33582)	13.9
	2	sl opal, 無色	6.9		159.3	0.115	96.54	2.63	0.62	0.21		68.1
4週, 40°C	1	sl opal, 無色	5.6	N/A	163.3	0.135	95.87	3.25	0.69	0.19	REF025 (33610)	12.1
	2	sl opal, 無色	7.2		159.6	0.135	95.90	3.21	0.69	0.20		20.0
8週, 40°C	1	sl opal, 無色	7.9	N/A	162.7	0.157	94.79	4.26	0.78	0.17	REF025 (33838)	63.7
	2	sl opal, 無色	16.1		166.5	0.155	94.79	4.25	0.78	0.18		16.2
6個月, 5°C	1	sl opal, 無色	6.0	N/A	149.1	0.115	97.75	1.56	0.60	0.15	REF025 (33851)	20.8
	2	sl opal, 無色	9.7		149.1	0.114	97.76	1.55	0.60	0.15		62.2

表 36

重組穩定性：在重組之前於40°C下儲存4週之樣品。

重組後之儲存	時間點	小瓶	外觀	重組時間(分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC參考標準(平均面積計數)	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%	
5°C	初始	1	sl opal , 無色	5.6	163.3	0.135	95.87	3.25	0.69	0.19	REF025 (33610)	20.8	
		2	sl opal , 無色	7.2	159.6	0.135	95.90	3.21	0.69	0.20		20.1	
	1週	1	sl opal , 無色	N/A	159.1	0.133	95.92	3.19	0.64	0.24	REF025 (33604)	22.8	
		2	sl opal , 無色		155.9	0.132	95.97	3.16	0.64	0.23		23.2	
	25°C	初始	3	sl opal , 無色	8.6	N/A	0.136	95.86	3.23	0.69	0.22	REF025 (33610)	N/A
			4	sl opal , 無色	6.7		0.136	95.87	3.25	0.69	0.19		
1週		3	sl opal , 無色	N/A	150.5	0.131	96.06	3.05	0.59	0.31	REF025 (33604)	20.4	
		4	sl opal , 無色		149.9	0.128	96.07	3.05	0.59	0.29		20.1	
												70.0	
												9.6	
												20.1	
												70.5	
												9.4	

表 37

重組穩定性：在重組之前於 5°C 下儲存 4 週之樣品。

重組後 之儲存	時間 點	小 瓶	外觀	重組 時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC參考 標準(平 均面積計 數)	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%	
5°C	初始	1	sl opal , 無色	7.1	162.0	0.107	97.72	1.43	0.62	0.22	REF025 (33620)	20.3	
		2	sl opal , 無色	6.1	164.7	0.105	97.74	1.44	0.63	0.19		20.4	
	1週	1	sl opal , 無色	N/A	162.3	0.114	97.75	1.42	0.59	0.23	REF025 (33604)	23.6	
		2	sl opal , 無色									161.8	0.109
	25°C	初始	3	sl opal , 無色	4.6	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
			4	sl opal , 無色	5.1								
1週		3	sl opal , 無色	N/A	155.0	0.111	97.80	1.40	0.55	0.26	REF025 (33604)	21.2	
		4	sl opal , 無色									153.4	0.109
												16.9	
												20.4	
												62.5	
												17.2	

## 那他珠單抗重新調配開發

表 37

名稱	預冷凍乾燥量			
	Antegren(mg/mL)	蔗糖(mg/mL)	組胺酸(mM)	PS-80(%)
A	40	27.7	6	0.04
B	40	46.2	6	0.04
C	40	9.2	6	0.04

表 38

名稱	目標冷凍乾燥後之量			
	Antegren(mg/mL)	蔗糖(mg/mL)	組胺酸(mM)	PS-80(%)
A1	160	110.8	24	0.16
A2	100	69.3	15	0.1
B3	160	184.8	24	0.16
B4	40	46.2	6	0.04
AS	100	69.3	15	0.1
A6	40	27.7	6	0.04
C7	100	23.0	15	0.1
C8	40	9.2	6	0.04
C9	160	36.8	24	0.16
A10	100	69.3	15	0.1
B11	100	115.5	15	0.1

## 實例 4

此研究之目的在於使用實驗設計來測定最終蛋白質濃度及最優蛋白質與蔗糖之比率對冷凍乾燥那他珠單抗之效應以防止聚集體形成且將其減至最少。

## 實驗設計參數

在 1:100 至 1:500 之蛋白質與蔗糖之比率下，檢驗 40

mg/mL至160 mg/mL之最終蛋白質濃度。聚山梨醇酯80含量以每10 mg/mL蛋白質0.01%之量保持恆定，且組胺酸將以每40 mg/mL蛋白質10 mM保持恆定。起始蛋白質濃度(預冷凍乾燥)將為40 mg/mL。以2 mL填充量填充小瓶，且接著重組至所需最終蛋白質濃度。

於0、2、4及6週時，於攝氏40度下檢驗短期穩定性。

程序：

1. 針對下列緩衝劑之一透濾當前調配物。接著超濾至蛋白質濃度大於40 mg/mL。量測蛋白質濃度且稀釋至40 mg/mL。
  - a. 調配物 SA：100:1蔗糖:蛋白質之比率-最終調配物7、8、9；
  - b. 調配物 SB：300:1蔗糖:蛋白質之比率-最終調配物1、2、5、6、10；
  - c. 調配物 SC：500:1蔗糖:蛋白質之比率-最終調配物3、4、11。
2. 以2毫升/小瓶填充各調配物之20個小瓶。此允許10個小瓶用於40度下之穩定性且其他小瓶用於Tg、水分、FTIR分析、滲透壓度等。需要如下量：
  - a. 調配物 SA：120 mL；
  - b. 調配物 SB：200 mL；
  - c. 調配物 SC：120 mL。
3. 使用守恆循環冷凍乾燥小瓶以減少水分且重組至所需蛋白質濃度。

- a. 調配物 4、6、8-用 2 mL 重組為 40 mg/mL 之最終濃度；
  - b. 調配物 1、2、5、6、10-用 0.8 mL 重組以產生 100 mg/mL 之最終濃度；
  - c. 調配物 1、3、9-用 0.5 mL 重組以產生 160 mg/mL 之最終濃度。
4. 在 2、4 及 6 週時，於 40 度下藉由混濁度、濃度、外觀、SEC 檢驗穩定性。其他檢定可於零時間及 6 週時進行，諸如 IEX、非還原性 SDS-PAGE 及氧化作用。

表 39

## 調配物編號

最終	初始	最終蛋白質	蛋白質:蔗糖	重組體積
1	A	160	300	1
2	A	100	300	1.6
3	B	160	500	1
4	B	40	500	4
5	A	100	300	1.6
6	A	40	300	4
7	C	100	100	1.6
8	C	40	100	4
9	C	160	100	1
10	A	100	300	1.6
11	B	100	500	1.6

調配物 A：40 mg/mL 蛋白質、6 mM 組胺酸、0.04% PS80，27.7 mg/mL 用於 5 種調配物。

調配物 B：40 mg/mL 蛋白質、6 mM 組胺酸、0.04% PS80，46.2 mg/mL 用於 3 種調配物。

調配物 C：40 mg/mL 蛋白質、6 mM 組胺酸、0.04% PS80，9.2 mg/mL 用於3種調配物。

以4 ml填充各小瓶=160毫克/小瓶 如上重組至所需體積。

總共所用之蛋白質=4 mL \* 40 mg/mL \* 11種調配物 \* 30個小瓶 350個小瓶。

52800

調配物A	600 mL	80個小瓶	DF vs 3 It
調配物B	360	48個小瓶	DF vs 2 It
調配物C	360	48個小瓶	DF vs 2 It

超濾至約1/2體積。

表 40

160 mg/mL Antegren、110.8 mg/mL蔗糖、24 mM組胺酸、0.16% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成 測試起始日期： 於T=0時用1.0 mL重組，所有其他時間點用0.8 mL重組。
---	---

2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	水分之KF%	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	IV，無色	3.8	3.4	126.9	0.126	99.50	0.50	--	--	33274	15.8 66.7 17.6
4週	III，無色	4.5	N/A	150.3	0.101	99.27	0.55	0.10	0.07	39516	13.6 71.2 15.2
8週	IV，BY7 6.37	4.7	N/A	159.5	0.110	99.22	0.68	--	0.10	41343	14.9 70.5 14.7
12週	IV，BY7	6.3	N/A	141.4	0.108	99.21	0.71	--	0.08	40153	15.2 70.5 14.3

25 °C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm 下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	IV，無色	4.7	151.7	0.111	98.89	1.03	--	0.07	39584	14.5 70.3 15.2
6週	IV，BY7	2.8	152.4	0.132	98.79	1.13	--	0.08	39933	14.6 69.6 15.8
8週	IV，BY6 6.27	3.7	153.3	0.116	98.64	1.25	--	0.11	39826	15.0 69.9 15.1
12週	IV，BY7	4.4	142.8	0.119	98.52	1.40	--	0.08	39447	15.2 68.9 15.9

40 °C

時間點	外觀	重組時間(分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm 下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	IV，無色	4.1	1543	0.124	98.52	1.48	--	--	39011	15.1 66.4 185
4週	IV，BY7	4.1	130.7	0.113	97.81	2.10	--	0.09	34892	14.9 63.9 21.1
6週	IV，BY7	4.1	151.8	0.113	97.28	2.41	0.21	0.10	39626	14.8 65.9 19.3

表 41

100 mg/mL Antegen、69.3 mg/mL 蔗糖、15 mM 組胺酸、0.1% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期： 於T=0時用1.6 mL重組，所有其他時間點用1.3 mL重組。
--	--

2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	水分KF%	濃度(mg/mL)	於360 nm 下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	IV，無色	2.7	2.7	85.8	0.095	99.49	0.51	--	--	36736	15.7 67.6 16.8
4週	III，無色	2.4	N/A	106.6	0.111	99.28	0.55	0.10	0.06	35806	14.0 71.0 15.0
8週	III，BY7 6.36	2.7	N/A	104.1	0.107	99.25	0.67	--	0.08	35381	15.3 70.7 14.0
12週	III，BY7	4.2	N/A	97.1	0.107	99.21	0.72	--	0.07	35037	15.3 70.4 14.2

25 °C

時間點	外觀，pH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	III，無色	3.0	106.2	0.101	98.90	1.02	--	0.08	35825	14.7 70.8 14.5
6週	IV，BY7	4.8	103.8	0.106	98.81	1.12	--	0.07	35581	14.7 69.8 15.5
8週	III，BY7 6.34	4.2	102.3	0.101	98.67	1.23	--	0.09	35055	14.9 69.3 15.8
12週	III，BY7	3.9	96.9	0.105	98.55	1.38	--	0.08	34771	15.4 68.9 15.6

40 °C

時間點	外觀	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	III，無色	3.3	105.0	0.106	98.53	1.47	--	--	35468	15.5 66.5 18.0
4週	III，BY7	2.8	104.7	0.110	97.76	2.16	--	0.08	35751	15.3 64.2 20.5
6週	IV，BY7	2.7	104.5	0.111	97.32	2.38	0.21	0.09	35788	15.1 66.5 18.4

表 42

160 mg/mL Antegren、184.8 mg/mL蔗糖、24 mM組胺酸、0.16% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期： 於T=0時用1.0 mL重組，所有其他時間點用0.8 mL重組。
---	--

2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	水分之KF%	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	IV，無色	3.4	2.3	121.4	0.112	99.55	0.45	--	--	31624	15.3 67.2 17.5
4週	III，無色	5.4	N/A	148.1	0.124	99.37	0.46	0.10	0.07	37676	13.7 71.3 15.0
8週	III，BY7 6.36	4.1	N/A	145.3	0.105	99.34	0.57	--	0.10	37764	14.9 70.8 14.3
12週	III，BY7	7.3	N/A	138.2	0.116	99.32	0.60	--	0.09	37653	15.1 70.6 14.3

25 °C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	III，無色	4.0	144.2	0.093	99.22	0.70	--	0.07	37807	14.7 70.9 14.4
6週	III，BY7	6.7	142.6	0.109	99.18	0.75	--	0.07	37627	14.7 70.6 14.7
8週	III，BY6 6.37	6.0	140.8	0.099	99.11	0.80	--	0.09	37563	15.2 70.1 14.8
12週	IV，BY7	6.9	123.4	0.118	99.10	0.82	--	0.08	36746	15.4 69.9 14.6

40 °C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	IV，無色	5.2	143.7	0.107	99.23	0.77	--	--	37128	15.6 66.6 17.9
4週	III，BY7	4.0	141.1	0.102	98.84	1.08	--	0.08	37428	15.4 65.9 18.8
6週	III，BY7	3.5	141.0	0.114	98.65	1.27	--	0.08	37649	15.1 68.9 16.0

表 43

40 mg/mL Antegren、46.2 mg/mL 蔗糖、6 mM 組胺酸、0.04% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期： 於T=0時用4.0 mL重組，所有其他時間點用3.9 mL重組。
--	--

2-8°C

於 360 nm 下

時間點	外觀，pH值	重組時間 (分鐘)	KF 水分%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC總 峰面積 計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	III，無色	1.9	2.5	36.8	0.054	99.56	0.44	--	--	33960	15.9 67.5 16.6
4週	II，無色	2.7	N/A	38.0	0.041	99.35	0.46	0.13	0.06	34758	14.0 71.1 14.9
8週	II，BY7 6.37	3.9	N/A	38.2	0.046	99.34	0.58	--	0.07	35571	15.2 70.5 14.3
12週	II，無色	1.9	N/A	40.0	0.051	99.35	0.46	0.12	0.07	34456	15.3 70.6

## 25 °C

時間點	外觀, pH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	II, 無色	2.2	38.1	0.040	99.22	0.72	--	0.06	34667	14.8 71.1 14.1
6週	II, 無色	2.8	38.6	0.044	99.19	0.75	--	0.06	35075	14.9 70.6 14.5
8週	II, BY7 6.35	3.0	38.3	0.053	99.12	0.80	--	0.08	34925	15.4 70.2 14.4
12週	II, 無色	2.6	38.8	0.052	99.10	0.83	--	0.07	35107	15.5 70.0 14.5

## 40 °C

時間點	外觀	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	II, 無色	2.8	37.4	0.046	99.22	0.78	--	--	34308	15.5 66.9 17.6
4週	II, 無色	1.9	37.7	0.052	98.82	1.11	--	0.07	35035	15.3 66.2 18.5
6週	II, 無色	5.9	38.5	0.043	98.68	1.25	--	0.07	34997	15.3 68.9 15.8

表 44

100 mg/mL Antegren、69.3 mg/mL蔗糖、15 mM組胺酸、0.1% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成：測試起始日期： 於T=0時用1.6 mL重組，所有其他時間點用1.3 mL重組
---	---

2-8°C

時間點	外觀，pH 值	重組 時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm下之 混濁度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰 面積計數	酸性峰 % 主峰% 鹼性峰 %
0	IV，無色	2.5	N/A	85.2	0.100	99.49	0.51	--	--	36262	15.9 67.0 17.1
4週	III，無色	3.6	N/A	107.5	0.112	99.27	0.55	0.11	0.07	36429	14.2 71.2 14.6
8週	IV，BY7 6.36	3.7	N/A	104.0	0.107	99.24	0.67	--	0.08	35154	15.3 70.6 14.1
12週	III，BY7	4.1	N/A	100.4	0.105	99.22	0.72	--	0.06	35247	15.5 70.4 14.1

25 °C

時間點	外觀, pH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	III, 無色	2.1	105.3	0.106	98.91	0.91	0.11	0.07	35903	14.9 70.7 14.4
6週	III, BY7	4.4	105.9	0.104	98.80	1.12	--	0.07	35374	14.9 69.8 15.4
8週	III, BY6 6.33	5.6	103.3	0.108	98.67	1.24	--	0.10	35697	15.3 69.7 15.0
12週	III, BY7	5.5	95.2	0.123	98.53	1.39	--	0.08	34222	15.4 69.1 15.5

40 °C

時間點	外觀	重組時間 (分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度,	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	III, 無色	3.0	105.5	0.112	98.55	1.45	--	--	35690	15.4 66.8 17.8
4週	III, BY7	2.7	105.3	0.123	97.79	2.13	--	0.08	35694	15.4 64.5 20.1
6週	IV, BY7	3.4	105.0	0.115	97.29	2.61	--	0.09	35504	15.0 66.6 18.3

表 45

40 mg/mL Antegren、27.7 mg/mL蔗糖、6 mM組胺酸、0.04% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期： 於T=0時用4.0 mL重組，所有其他時間點用3.9 mL重組。
--	--

2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	水分之KF%	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	III，無色	1.8	2.6	37.6	0.047	99.32	0.58	--	0.09	35322	16.0 67.5 16.5
4週	II，無色	3.5	N/A	39.1	0.042	99.28	0.54	0.11	0.06	35887	14.1 71.3 14.6
8週	II，BY7 6.34	2.6	N/A	39.6	0.064	99.28	0.54	0.11	0.06	36694	15.0 70.1 14.9
12週	II，無色	2.0	N/A	40.2	0.045	99.24	0.69	--	0.07	35619	15.3 70.5 14.2

## 25 °C

時間點	外觀，PH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	II，無色	2.3	38.9	0.040	98.90	0.92	--	0.07	35695	14.8 70.8 14.4
6週	II，無色	3.6	39.5	0.046	98.79	1.14	--	0.07	35977	14.8 69.8 15.3
8週	II，BY7 6.35	2.8	40.1	0.054	98.79	1.14	--	0.07	36710	15.6 69.4 15.0
12週	II，無色	2.7	37.9	0.046	98.54	1.39	--	0.07	35784	15.5 69.1 15.4

## 40 °C

時間點	外觀，PH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	III，無色	2.1	39.0	0.046	98.16	1.45	--	0.11	35830	15.5 66.3 18.2
4週	II，無色	2.6	38.3	0.048	97.77	2.14	--	0.08	35603	15.3 64.2 20.6
6週	II，無色	2.6	38.8	0.046	97.35	2.36	0.20	0.09	35888	15.0 66.7 18.3

表 46

100 mg/mL Antegren、23.0 mg/mL蔗糖、15 mM組胺酸、0.1% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期： 於T=0時用1.6 mL重組，所有其他時間點用1.3 mL重組。
---	--

2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組時間(分鐘)	水分之KF%	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	IV，無色	4.9	5.7	85.8	0.109	99.22	0.76	0.03	--	36747	15.5 67.2 17.2
4週	III，無色	2.6	N/A	107.9	0.120	98.94	0.99	--	0.07	36245	14.4 70.8 14.8
8週	IV，BY7 6.42	4.9	N/A	102.9	0.134	98.83	1.10	--	0.08	35153	15.1 69.4 15.4
12週	IV，BY7	6.7	N/A	103.3	0.201	98.78	1.17	--	0.05	35780	15.5 69.6 14.9

25 °C

時間點	外觀, PH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	IV, 無色	2.3	106.8	0.129	97.57	2.17	0.17	0.09	35755	15.1 68.9 16.0
6週	IV, BY7	5.1	107.5	0.148	97.20	252	0.19	0.09	35963	14.8 67.2 18.0
8週	IV, BY6 6.33	3.8	106.5	0.124	96.71	-2.95	0.25	0.09	35546	15.7 65.7 18.6
12週	III, BY7	5.9	99.7	0.122	96.22	3.39	0.28	0.10	35334	15.4 65.9 18.7

40 °C

時間點	外觀	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	IV, 無色	2.5	105.9	0.133	95.76	3.93	0.30	-	35826	15.5 59.6 24.9
4週	IV, BY7	3.8	106.1	0.132	93.46	5.80	0.63	0.10	36136	145 55.0 30.5
6週	IV, 無色	5.6	108.3	0.139	91.91	7.09	0.89	0.11	36007	14.7 57.8 27.4

表 47

40 mg/mL Antegren、9.2 mg/mL蔗糖、6 mM組胺酸、0.04% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備： 冷凍乾燥完成： 測試起始日期： 於T=0時用4.0 mL重組，所有其他時間點用3.9 mL重組。
---	--

2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組時間 (分鐘)	水分之 KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	III，無色	2.2	5.0	36.6	0.082	99.24	0.76	--	--	34010	15.8 67.4 16.9
4週	II，無色	2.8	N/A	38.8	0.053	98.92	1.01	-	0.07	35211	14.4 71.1 14.5
8週	II，無色 6.38	2.6	N/A	39.3	0.052	98.84	1.09	--	0.07	36176	15.1 69.9 15.0
12週	II，無色	1.9	N/A	40.8	0.069	98.75	1.18	--	0.07	35825	15.4 69.7 14.9

25 °C

時間點	外觀, pH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	II, 無色	2.1	38.5	0.046	97.58	2.14	0.19	0.08	35236	15.0 68.9 16.1
6週	II, 無色	3.4	38.6	0.053	97.22	2.48	0.21	0.09	34993	14.8 67.4 17.8
8週	III, BY7 6.30	3.0	39.0	0.063	96.73	2.91	0.25	0.11	35998	15.1 66.9 18.0
12週	II, 無色	2.1	39.1	0.049	96.25	3.37	0.29	0.10	35465	15.5 65.9 18.6

40 °C

時間點	外觀	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚 物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	II, 無色	2.1	38.5	0.052	95.52	3.99	0.32	0.17	35285	15.3 59.3 25.3
4週	II, 無色	3.3	38.4	0.047	93.58	5.71	0.61	0.10	35716	14.7 58.6 26.7
6週	III, 無色	43	38.7	0.055	92.17	6.90	0.84	0.10	35585	14.8 58.9 26.3

表 48

160 mg/mL Antegren、36.8 mg/mL蔗糖、24 mM組胺酸、0.16% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備 冷凍乾燥完成 測試起始日期： 於T=0時用1.0 mL重組，所有其他時間點用0.8 mL重組。
--	--

2-8°C

時間點	外觀，PH值	重組時間(分鐘)	水分之KF%	濃度(mg/mL)	於360 nm下之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積計數	酸性峰主峰% 鹼性峰%
0	IV，無色	6.0	5.5	128.8	0.162	99.23	0.77	--	--	33210	16.0 66.5 17.5
4週	IV，無色	7.8	N/A	153.4	0.140	98.90	1.02	--	0.08	40638	14.5 70.6 14.9
8週	IV，BY7 6.43	8.0	N/A	153.4	0.150	98.79	1.14	--	0.08	40900	15.6 69.4 15.0
12週	IV，BY7	6.4	N/A	143.9	0.163	98.72	1.21	--	0.07	40819	15.4 69.7 14.9

## 25 °C

時間點	外觀, PH值	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	IV, 無色	5.6	153.1	0.144	97.53	2.20	0.18	0.09	40260	15.2 69.0 15.8
6週	IV, BY7	7.6	156.6	0.179	97.15	2.56	0.20	0.09	40334	14.9 67.3 17.8
8週	IV, BY6 6.35	5.7	153.3	0.155	96.67	2.96	0.26	0.11	40584	15.3 67.6 17.1
12週	IV, BY7	9.8	131.7	0.136	96.16	3.44	0.29	0.10	40606	15.4 66.0 18.6

## 40 °C

時間點	外觀	重組時間 (分鐘)	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物 %	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	IV, 無色	8.7	156.8	0.163	95.67	4.02	0.30	--	40618	15.0 59.8 25.2
4週	IV, BY7	7.9	151.2	0.157	93.42	5.82	0.65	0.11	40641	14.5 55.1 30.4
6週	IV, BY7	9.1	156.0	0.152	91.75	7.21	0.93	0.11	40735	14.9 57.7 27.4

100 mg/mL Antegen、69.3 mg/mL 蔗糖、15 mM 組胺酸、0.1% PS-80。

表 49

100 mg/mL Antegren、69.3 mg/mL蔗糖、15 mM組胺酸、0.1% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備 冷凍乾燥完成 測試起始日期： 於T=0時用1.6 mL重組，所有其他時間點用1.3 mL重組。
---	--

## 2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組時間 (分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	III，無色	3.0	106.1	0.098	98.91	1.02	--	0.07	35758	15.2 70.7 14.1
6週	III，無色	5.2	103.3	0.100	98.80	1.14	--	0.07	35025	15.2 69.9 14.9
8週	IV，BY6 6.35	4.0	103.5	0.108	98.67	1.24	--	0.09	34972	14.9 69.9 15.2
12週	III，BY7	4.5	100.9	0.101	98.55	1.37	--	0.08	35358	15.6 69.1 15.2

40°C

時間點	外觀，pH值	重組時間 (分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	III，無色	2.7	105.0	0.102	98.54	1.46	--	--	35940	15.6 66.7 17.7
4週	III，BY7	2.6	85.4	0.097	97.82	2.10	--	0.08	29414	15.3 64.0 20.8
6週	III，無色	2.9	106.3	0.100	97.33	2.36	0.21	0.09	35794	15.4 66.4 18.2

表 50

100 mg/mL Antegren、115.5 mg/mL 蔗糖、15 mM 組胺酸、0.1% PS-80 每個時間點測試1個小瓶。	經製備 冷凍乾燥完成 測試起始日期： 於T=0時用1.6 mL重組，所有其他時間點用1.3 mL重組。
--	--

## 2-8°C

時間點	外觀，pH值	重組 時間 (分鐘)	水分之KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積 計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	IV，無色	2.9	N/A	72.6	0.089	99.48	0.52	--	--	36877	15.5 67.1 17.4
4週	III，無色	3.4	N/A	104.7	0.100	99.28	0.55	0.11	0.06	35319	14.8 71.3 13.9
8週	III，BY7 6.42	4.7	N/A	102.3	0.106	99.23	0.68	--	0.08	34784	15.6 70.1 14.2
12週	III，BY7	5.8	N/A	100.5	0.104	99.21	0.72	--	0.07	35667	15.6 70.6 13.8

時間點	外觀, pH值	重組時間 (分鐘)	水分之KF%	濃度 (mg/mL)	於360 nm 下之混濁 度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積 計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
0	IV, 無色	6.7	2.0	82.0	0.090	99.54	0.46	--	--	35236	15.4 67.6 17.0
4週	III, 無色	3.9	N/A	100.6	0.085	99.37	0.46	0.11	0.06	34035	14.8 71.5 13.7
8週	III, BY7 6.44	6.7	N/A	97.3	0.096	99.33	0.58	--	0.09	33404	15.5 70.9 13.6
12週	III, BY7	8.7	N/A	100.5	0.092	99.34	0.58	--	0.08	34370	15.7 70.7 13.6

## 25°C

時間點	外觀, pH值	重組時間 (分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面積 計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
4週	III, 無色	3.6	100.9	0.096	99.22	0.71	--	0.06	34149	15.3 71.2 13.5
6週	III, 無色	3.4	100.1	0.088	99.18	0.75	--	0.06	34039	15.3 70.6 14.1
8週	III, BY6 6.37	4.9	99.0	0.097	99.14	0.76	--	0.07	33713	15.8 70.1 14.2
12週	III, BY7	4.4	94.5	0.100	99.09	0.83	--	0.07	33713	15.8 70.1 14.2

40 °C

時間點	外觀，pH值	重組時間 (分鐘)	濃度(mg/mL)	於360 nm下 之混濁度	單體%	二聚物%	聚集體%	LMW%	SEC總峰面 積計數	酸性峰% 主峰% 鹼性峰%
2週	III，無色	3.8	98.1	0.089	99.22	0.78	--	--	33705	15.8 67.1 17.0
4週	III，BY7	3.1	97.5	0.092	98.81	1.11	--	0.08	34307	15.5 66.3 18.2
6週	III，無色	7.4	102.4	0.091	98.68	1.25	--	0.07	34449	15.6 69.1 15.3

表 51

	HMW%		
	A	B	C
0	0.49	0.39	0.43
8	0.5	0.49	0.51
12	0.5	0.49	0.50

	LMW%		
	A	B	C
0	0.09	0	0.00
8	0.08	0.08	0.07
12	0.07	0.07	0.06

	單體%		
	A	B	C
0	99.42	99.61	99.57
8	99.43	99.43	99.42
12	99.43	99.44	99.43

表 52

冷凍  
乾燥  
40°C

	HMW%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.50	0.51	0.45	0.44	0.51	0.58	0.79	0.76	0.77	0.52	0.46
2	1.48	1.47	0.77	0.78	1.45	1.45	4.23	4.31	4.32	1.46	0.78
4	2.10	2.16	1.08	1.11	2.13	2.14	6.43	6.32	6.47	2.10	1.11
6	2.62	2.59	1.27	1.25	2.61	2.56	7.98	7.74	8.14	2.57	1.25

	LMW%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.00	0.17	0.00	0.00	0.00
4	0.09	0.08	0.08	0.07	0.08	0.08	0.10	0.10	0.11	0.08	0.08
6	0.10	0.09	0.08	0.07	0.09	0.09	0.11	0.10	0.11	0.09	0.07

	單體%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	99.50	99.49	99.55	99.56	99.49	99.32	99.22	99.24	99.23	99.48	99.54
2	98.52	98.53	99.23	99.22	98.55	98.16	95.76	95.52	95.67	98.54	99.22
4	97.81	97.76	98.84	98.82	97.79	97.77	93.46	93.58	93.42	97.82	98.81
6	97.28	97.32	98.65	98.68	97.29	97.35	91.91	92.17	91.75	97.33	98.68

表 53

冷凍

乾燥

25°C

	HMW%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.50	0.51	0.45	0.44	0.51	0.58	0.79	0.76	0.77	0.52	0.46
4	1.03	1.02	0.70	0.72	1.02	0.92	2.34	2.33	2.38	1.02	0.71
6	1.13	1.12	0.75	0.75	1.12	1.14	2.71	2.69	2.76	1.14	0.75
8	1.25	1.23	0.80	0.80	1.24	1.27	3.20	3.16	3.22	1.24	0.76
12	1.40	1.38	0.82	0.83	1.39	1.39	3.67	3.66	3.73	1.37	0.83

	LMW%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.07	0.08	0.07	0.06	0.07	0.07	0.09	0.08	0.09	0.07	0.06
6	0.08	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	0.09	0.09	0.09	0.07	0.06
8	0.11	0.09	0.09	0.08	0.10	0.08	0.09	0.11	0.11	0.09	0.10
12	0.08	0.08	0.08	0.07	0.08	0.07	0.10	0.10	0.10	0.08	0.07

	單體%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	99.50	99.49	99.55	99.56	99.49	99.32	99.22	99.24	99.23	99.48	99.54
4	98.89	98.90	99.22	99.22	98.91	98.90	97.57	97.58	97.53	98.91	99.22
6	98.79	98.81	99.18	99.19	98.80	98.79	97.20	97.22	97.15	98.80	99.18
8	98.64	98.67	99.11	99.12	98.67	98.65	96.71	96.73	96.67	98.67	99.14
12	98.52	98.55	99.10	99.10	98.53	98.54	96.22	96.25	96.16	98.55	99.09

表 54

冷凍乾

燥

25°C

	HMW%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.50	0.51	0.45	0.44	0.51	0.58	0.79	0.76	0.77	0.52	0.46
4	0.65	0.65	0.56	0.59	0.66	0.65	0.99	1.01	1.02	0.66	0.57
8	0.68	0.67	0.57	0.58	0.67	0.67	1.10	1.09	1.14	0.68	0.58
12	0.71	0.72	0.60	0.58	0.72	0.69	1.17	1.18	1.21	0.72	0.58

	LMW%										
	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.07	0.06	0.07	0.06	0.07	0.06	0.07	0.07	0.08	0.06	0.06
8	0.10	0.08	0.10	0.07	0.08	0.07	0.08	0.07	0.08	0.08	0.09
12	0.08	0.07	0.09	0.07	0.06	0.07	0.05	0.07	0.07	0.07	0.08

單體%		A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	99.50	99.49	99.55	99.56	99.49	99.32	99.22	99.24	99.23	99.48	99.54	
4	99.27	99.28	99.37	99.35	99.27	99.28	98.94	98.92	98.90	99.28	99.37	
8	99.22	99.25	99.34	99.34	99.24	99.25	98.83	98.84	98.79	99.23	99.33	
12	99.21	99.21	99.32	99.35	99.22	99.24	98.78	98.75	98.72	99.21	99.34	

表 55

5°C	預冷凍乾燥之A	5°C	A6
		25°C	
5°C	預冷凍乾燥之B	40°C	
			C7
5°C	預冷凍乾燥之C	5°C	
		25°C	
		40°C	
	A1		
5°C	停滯於IV，於8週時變為BY7		C8
25°C	停滯於IV，於6週時變為BY7	5°C	
40°C	停滯於IV，於4週時變為BY7	25°C	
		40°C	
	A2		
5°C	停滯於III，於8週時變為BY7		C9
25°C	停滯於III，於6週時變為BY7	5°C	
40°C	於6週時變為IV，於4週時變為BY7	25°C	
		40°C	
	B3		
5°C	停滯於III，於8週時變為BY7		A10
25°C	於12週時變為IV，於6週時變為BY7	5°C	
40°C	停滯於III，於4週時變為BY7	25°C	
		40°C	
	B4		
5°C	無主要變化，均停滯於II，無色		B11
25°C		5°C	
40°C		25°C	
		40°C	
	A5		
5°C			
25°C			
40°C			

表 56

於任何溫度下，混濁度均無主要變化。

40°C

	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.126	0.095	0.112	0.054	0.100	0.047	0.109	0.082	0.162	0.089	0.090
2	0.124	0.106	0.107	0.046	0.112	0.046	0.133	0.052	0.163	0.102	0.089
4	0.113	0.110	0.102	0.052	0.123	0.048	0.132	0.047	0.157	0.097	0.092
6	0.113	0.111	0.114	0.043	0.115	0.046	0.139	0.055	0.152	0.100	0.091

25°C

	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.126	0.095	0.112	0.054	0.100	0.047	0.109	0.082	0.162	0.089	0.090
4	0.111	0.101	0.093	0.040	0.106	0.040	0.129	0.046	0.144	0.098	0.096
6	0.132	0.106	0.109	0.044	0.104	0.046	0.148	0.053	0.179	0.100	0.088
8	0.116	0.101	0.099	0.053	0.108	0.054	0.124	0.063	0.155	0.108	0.097
12	0.119	0.105	0.118	0.052	0.123	0.046	0.122	0.049	0.136	0.101	0.100

5°C

	A1	A2	B3	B4	A5	A6	C7	C8	C9	A10	B11
0	0.126	0.095	0.112	0.054	0.100	0.047	0.109	0.082	0.162	0.089	0.090
4	0.101	0.111	0.124	0.041	0.112	0.042	0.120	0.053	0.140	0.100	0.085
8	0.110	0.107	0.105	0.046	0.107	0.064	0.134	0.052	0.150	0.106	0.096
12	0.108	0.107	0.116	0.051	0.105	0.045	0.201	0.069	0.163	0.104	0.092

預冷凍乾燥

5°C

	A	B	C
0	0.044	0.041	0.041
8	0.053	0.040	0.041
12	0.041	0.044	0.043

亦參考實例 25A、B、C 及 D。

表 57

## 重組穩定性

於40°C下4週			於5°C下4週		
4089-1L單體%			4089-1L單體%		
5°C	0	96.5	5°C	0	97.78
	0	96.56		0	97.77
	1	96.57		1	97.8
	1	96.61		1	97.79
25°C	0	96.55	25°C	0	
	0	96.52		0	
	1	96.72		1	
	1	96.7		1	

於40°C下4週		
4089-1N單體%		
5°C	0	95.87
	0	95.90
	1	95.92
	1	95.97
25°C	0	95.86
	0	95.87
	1	96.06
	1	96.07

## 實例 5

本文所述之調配物為含有那他珠單抗、蔗糖、組胺酸及聚山梨醇酯 80 之冷凍乾燥之餅狀物。預冷凍乾燥之塊狀藥物物質含有 40 mg/mL 抗體、41 mg/mL 蔗糖、0.04% 聚山梨醇酯 80 及 6 mM 組胺酸鹽酸鹽 (pH 6.0)。將此物質以每小瓶 4 mL 填充，冷凍乾燥，用 1.0 mL 水重組至 120 mg/mL、123 mg/mL 蔗糖、0.12% 聚山梨醇酯 80 及 18 mM 組胺酸鹽酸鹽 (pH 6.0)。

預冷凍乾燥之那他珠單抗組合物係由 BiogenIddec 提供。

將其調配於磷酸鹽緩衝生理食鹽水中且處理於硫酸銨溶液中。接著，將此材料透濾至調配物緩衝劑(無聚山梨醇酯)中且濃縮至40 mg/mL。接著添加適量聚山梨醇酯80，將材料無菌過濾至聚丙烯瓶子中且於2-8°C下儲存4週，隨後填充及冷凍乾燥。使用書面批次記錄，在非GMP組中執行填充及冷凍乾燥。在填充之前，將該組消毒且所有填充操作均於層流淨化罩下執行。使用Virtis Gensis 25 EL冷凍乾燥器執行冷凍乾燥。

穩定性研究由三個部分組成，一個部分檢驗預冷凍乾燥之那他珠單抗組合物於推薦儲存溫度(2-8°C)下歷時多達一年及於25°C之加速溫度下歷時多達6個月之穩定性。將冷凍乾燥之組合物小瓶於推薦儲存溫度(2-8°C)下儲存12個月、於25°C下儲存6個月及於40°C下儲存3個月。在各種時間點，使來自2-8°C部分之小瓶重組且於2-8°C(推薦溫度)及25°C(加速)下儲存1週。

關於外觀、A280、pH值、非還原性及還原性SDS-PAGE、陽離子交換層析及尺寸排阻層析，執行品質控制穩定性測試。

材料、方法及測試時間點

將測試下列樣品。

表 58. 樣品配置

批號/貨號	描述
預冷凍乾燥之 BiogenIdec 貨號： LYO121504	2 mL填充至聚丙烯小瓶中
含有160 mg活性物質/小瓶之冷凍乾燥之 小瓶貨號K65001	5 mL小瓶含有冷凍乾燥之餅狀物以及丁基橡膠塞子及易拉蓋。用1 mL WFI或其他純水使小瓶重組。

表 59. 研究方法

方法編號	標題	所需體積
EOP 000-01291	冷凍乾燥之小瓶之外觀的測定	2個小瓶*
EOP 000-01291	水分	2個小瓶
EOP 000-01292	重組時間之測定	2個小瓶*
AAM 001-00141	Antegren 及匹配安慰劑最終容器之外觀之測定**	2個小瓶*
AAM 001-00143	Antegren 藥物物質、最終容器及用於Antegren之安慰劑之pH值的測定	1 mL*
AAM 001-00380	非還原性 SDS-Page 及還原性 SDS-PAGE**	50 $\mu$ L
EOP 001-01198	藉由弱陽離子交換層析測定Antegren 藥物物質及最終容器之電荷分布**	50 $\mu$ L
EOP 001-01205	尺寸排阻層析**	50 $\mu$ L
AAM 001-00025	根據A280之藥物物質、最終容器及用於Antegren之安慰劑的濃度**	200 $\mu$ L

\*無損壞，使用小瓶進行後續測試。 \*\*需要對方法進行修正，參見下文第3.3節。

表 60. 研究方法

方法編號	標題	所需體積
160a.213	VCAM溶胞物	1個小瓶**
22d.530	還原性凝膠晶片CE	1個小瓶**
22d.596	非還原性凝膠晶片CE	1個小瓶**
22d.544b及22d.552a	甲硫胺酸氧化作用	1個小瓶**
22d.84	少量非經腸藥中之微粒	1個小瓶**

\*\*所有5種檢定均使用一個小瓶。

表 61. 預冷凍乾燥之塊狀物之穩定性測試及時間點

測試方法	初始	1個月		2個月		3個月		6個月		12個月 或EOS
		2-8	25	2-8	25	2-8	25	2-8	25	2-8
外觀(AAM 001-00141)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
根據A280之蛋白質濃度	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
尺寸排阻層析(SEC)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
陽離子交換層析(CEX)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：還原性	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：非還原性	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
pH值	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
VCAM溶胞物*	X					X	X			X
還原性凝膠晶片*	X					X	X			X
非還原性凝膠晶片CE*	X					X	X			X
甲硫胺酸氧化作用*	X					X	X			X
於Elan下，每時間點每條件取出之樣品數目	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

表 6.2. 冷凍乾燥之小瓶之穩定性測試及時間點

測試方法	初始	1個月			2個月			3個月			6個月		12個月或 EOS
		2-8	25	40	2-8	25	40	2-8	25	40	2-8	25	2-8
餅狀物之外觀	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
重組時間	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
水分	X												
重組溶液之外觀	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
根據A280之蛋白質濃度	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
尺寸排阻層析(SEC)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
陽離子交換層析(CEX)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：還原性	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：非還原性	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
pH值	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
VCAM溶胞物*	X												
還原性凝膠晶片*	X												
非還原性凝膠晶片*	X												
甲硫胺酸氧化作用*	X												
SVP微粒*	X												
於Elan下，每時間點每 條件取出之小瓶數目	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

### 重組穩定性

於下列時間點，自 2-8°C 取出 4 個小瓶，重組且接著置於 2-8°C 及 25°C 下歷時一週以檢驗重組材料之穩定性。為了便於使用分析設備及時間，在預定時間點之前一週取出此等樣品，重組，置於所需溫度下且接著與其他樣品一起檢定。

表 63. 重組小瓶之穩定性測試及時間點

測試方法	初始	3個月		6個月		12個月或EOS
		2-8	25	2-8	25	2-8
外觀(AAM 001-00141)	X	X	X	X	X	X
根據A280之蛋白質濃度	X	X	X	X	X	X
尺寸排阻層析(SEC)	X	X	X	X	X	X
陽離子交換層析(CEX)	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：還原性	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：非還原性	X	X	X	X	X	X
pH值	X	X	X	X	X	X
VCAM溶胞物*		X	X			X
還原性凝膠晶片*		X	X			X
非還原性凝膠晶片CE*		X	X			X
甲硫胺酸氧化作用*		X	X			X
於Elan下，每時間點每條件取出之樣品數目	2	2	2	2	2	2

注意：在所列時間點將小瓶自 2-8°C 取出，重組且接著於 2-8°C 或 25°C 下儲存一週，且如上檢定。

### 資料

附錄 A：置於各條件下之小瓶之總數。注意：2-8° 數目包括根據需要之初始時間點測試

表 64

## 預冷凍乾燥之塊狀樣品要求

溫度	Elan測試所需之 小瓶數目	過多小瓶	所需總數
5°C	6	5	11個小瓶
25°C/60% RH	4	4	8個小瓶
總計5°C及25°C/60% RH研究			19個小瓶

表 65

## 冷凍乾燥之樣品要求(包括用於重組)

溫度	Elan測試所需之 小瓶數目	過多小瓶	所需總數
5°C	24	12	36個小瓶
25°C/60% RH	8	5	13個小瓶
40°C/75% RH	6	4	10個小瓶
總計5°C及25°C/60% RH研究			59個小瓶

## 材料、方法及測試時間點

表 66. 研究方法

方法編號	標題	所需體積
EOP 000-01291	冷凍乾燥之小瓶之外觀的測定	2個小瓶*
EOP 000-01290 <sup>+</sup> 或 EOP 03201299**	水分	2個小瓶
EOP 000-01292	重組時間之測定	2個小瓶*
AAM 001-00141	Antegren及匹配安慰劑最終容器之外 觀之測定**	2個小瓶*
AAM 001-00143	Antegren藥物物質、最終容器及用於 Antegren之安慰劑之pH值的測定	1 mL*
AAM 001-00380	非還原性SDS-PAGE及還原性SDS- PAGE**	50 µL
EOP 001-01198	藉由弱陽離子交換層析測定Antegren 藥物物質及最終容器之電荷分布**	50 µL
EOP 001-01205	尺寸排阻層析**	50 µL
AAM 001-00025	根據A280之藥物物質、最終容器及 用於Antegren之安慰劑的濃度**	200 µL

\*無損壞，使用小瓶進行後續測試。 \*\*需要對方法進行修正，參見下文第3.3節。 <sup>+</sup>測定適當SOP，參見正文。

表 67. 研究方法

方法編號	標題	所需體積
22d.394 <sup>+</sup>	Karl Fischer	2個小瓶
160a.213	VCAM溶胞物	1個小瓶**
22d.530	還原性凝膠晶片CE	1個小瓶**
22d.596	非還原性凝膠晶片CE	1個小瓶**
22d.544b及22d.552a	甲硫胺酸氧化作用	1個小瓶**
22d.84	少量非經腸藥中之微粒	1個小瓶**

\*\*所有5種檢定均使用一個小瓶。+測定適當SOP，參見正文。

### 檢定之所需修正

對尺寸排阻層析進行修正以包括應於A280 nm波長下進行資料收集。

說明：管柱上約40 µg至400 µg之增加的質量要求使用較小敏感性波長。

第3.5節表5：對該表進行修正以表明於3個月時及於12個月時或研究結束時，初始時間點測試需要總共4個小瓶。

說明：此表忽略考慮水分測試於此等時間點所需之其他2個小瓶。此測試具破壞性且因此，小瓶內含物不能回收用於其他用途。

表 68. 冷凍乾燥之小瓶之穩定性測試及時間點

測試方法	初始	1個月			2個月			3個月			6個月		12個月或 EOS 2-8
		2-8	25	40	2-8	25	40	2-8	25	40	2-8	25	
餅狀物之外觀	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
重組時間	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
水分	X												X
重組溶液之外觀	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
根據A280之蛋白質濃度	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
尺寸排阻層析(SEC)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
陽離子交換層析(CEX)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：還原性	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SDS-PAGE：非還原性	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
pH值	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
VCAM溶胞物*	X												X
還原性凝膠晶片*	X												X
非還原性凝膠晶片*	X												X
甲硫胺酸氧化化作用*	X												X
SVP微粒*	X												X
於Elan下，每時間點每條 件取出之小瓶數目	4	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	4

表 69

那他珠單抗，預冷凍乾燥之塊狀物穩定性結果

產物： 那他珠單抗，冷凍乾燥，160毫克/小瓶 製造之塊狀物 貨N/A 對照組編號： K65001 AQS: 2071  
 號：

預冷凍乾燥之塊狀物

製造日期： 濃度： 40 mg/mL 穩定性初始日期： LY0121504  
 製造貨號：

儲存條件： 5°C ± 3°C，直立 描述： 於聚丙烯小瓶中之5 mL填充量

所執行之測試											
時間點 (月)	外觀 報導觀察結果	濃度 報導值 (mg/mL)	pH值 報導值	陽離子交換層析(CEX)			SDS-PAGE			尺寸排阻層析	
				較低同 功異型 物%	較高同 功異型 物%	第4峰 %	還原性 IgG%	非還原性	報導值	報導值	報導值
								與參考標 準可相當 之MW	半抗體 %	寡聚物 %	LMW2%
0	無色，輕微乳 白色。顆粒： 1	41	6.0	17.0	13.4	69.6	99.5	相符	11.0	0.2	0.1
1	無色，輕微乳 白色。顆粒： 1	41	6.1	15.8	14.8	69.4	99.2	相符	9.6	0.2	0.1

所執行之測試												
時間點 (月)	外觀	濃度	pH值	陽離子交換層析(CEX)				SDS-PAGE			尺寸排阻層析	
				17.2	12.1	70.8	99.5	相符	9.1	99.7	0.2	0.1
2	無色，輕微乳 白色。顆粒： 0	41	6.1	17.2	12.1	70.8	99.5	相符	9.1	99.7	0.2	0.1
3	無色，輕微乳 白色。顆粒： 0	40	6.2	18.2	12.4	69.4	99.4	相符	8.3	99.7	0.2	0.1
6	無色，輕微乳 白色。顆粒： 0	41	6.1	16.9	14.2	68.9	99.4	相符	8.3	99.7	0.3	0.0
12	無色，輕微乳 白色。顆粒： 0	41	6.1	17.9	11.9	70.2	100.0	相符	9.7	99.7	0.3	0.1

表 70

那他珠單抗，預冷凍乾燥之塊狀物穩定性結果

產物： 那他珠單抗，冷凍乾燥，160毫克/小瓶  
 製造之塊狀物貨號： N/A  
 對照組編號： K65001 AQS: 2071  
 預冷凍乾燥之塊狀物  
 濃度： 40 mg/mL  
 穩定性初始日期： LY0121504  
 製造貨號：  
 儲存條件： 25°C ± 2°C/60% RH + 5% RH，直立  
 描述： 於聚丙烯小瓶中之5 mL填充量

時間點 (月)	外觀 報導觀察 結果	濃度 報導值 (mg/mL)	pH值 報導值	陽離子交換層析(CEX)				SDS-PAGE			尺寸排阻層析		
				報導值		還原性 IgG%	報導值		純度 %	報導值			
				較低同 功異型 物%	較高同功 異型物%		第4 峰 %	與參 考標 準可 相當 之MW		非還原性 半抗體 %	寡聚物%	雜質%	LMW2%
0	無微色粒， 輕白顆 色乳。	41	6.0	17.0	13.4	69.9	99.5	11.0	11.0	99.7	0.2	0.1	
1	無微色粒， 輕白顆 色乳。	41	6.1	17.3	14.1	68.6	99.1	9.1	9.1	99.6	0.3	0.1	
2	無微色粒， 輕白顆 色乳。	41	6.1	20.5	10.4	69.2	99.5	9.9	9.9	99.6	0.3	0.1	
3	無微色粒， 輕白顆 色乳。	41	6.1	23.6	10.2	66.2	99.1	8.6	8.6	99.6	0.3	0.1	
6	無微色粒， 輕白顆 色乳。	42	6.1	27.7	11.3	61.0	98.8	8.6	8.6	99.6	0.4		

表 71

那他珠單抗，冷凍乾燥穩定性結果

產物： 那他珠單抗，冷凍乾燥，製造之塊狀物貨 N/A 對照組編號： K65001 AQS:2071  
 160毫克/小瓶 號：

製造日期： 濃度： 120 mg/mL 穩定性初始日期： LY0121504  
 製造貨號：  
 儲存條件： 5°C±3°C，直立 描述： 5 mL小瓶含有冷凍乾燥之餅狀物以及丁基橡膠塞子及易拉蓋。用1 mL WFI或其他純水使小瓶重組。

所執行之測試															
時間點 (月)	外觀	濃度	水分	pH值	重組時間	陽離子交換層析(CEX)				SDS-PAGE			尺寸排阻層析		
						報導值	報導值	報導值	報導值	還原性IgG%	非還原性IgG%	與參考標準可相當之MW	抗半體%	Purity %	雜質%
0	白色餅狀物	無色，輕微乳白色顆粒	0.3%	6.0	11m29s 7m38s	17.2	13.4	69.4	99.52	10.7	99.6	0.3	0.1		
1	白色餅狀物	無色，輕微乳白色顆粒	NR	6.1	7m18s 6m41s	16.1	14.5	69.4	99.9	8.1	99.5	0.3	0.1		

所執行之測試														
時間點 (月)	外觀	濃度	水分	pH值	重組時間	陽離子交換層析(CEX)			SDS-PAGE		尺寸排阻層析			
2	白色 1 餅狀 物 無色， 輕微乳 白色。 顆粒：	135	NR	6.1	6m47s 7m08s	17.2	12.3	70.5	99.5	相符	10.6	99.5	0.3	0.1
3	白色 1 餅狀 物1 無色， 輕微乳 白色。 顆粒 1及0	127	NR	6.2	5m22s 4m16s	17.8	12.7	69.5	99.7	相符	9.0	99.3	0.3	0.3
6	白色 1 餅狀 物 無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 0、1、 0、03	126	0.2	6.1	4m57s 4m40s 4m15s	15.9	15.2	68.8	99.7	相符	7.8	99.5	0.4	0.1
12	白色 1 餅狀 物 無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 0、0	132	0.8	6.2	6m36s 8m17s	16.9	12.6	70.5	100.0	相符	8.5	99.5	0.4	0.1

- 1.對於更詳細描述，請參考分析概述。
- 2.初始OOT結果測定為實驗室誤差(更多資訊請參見LIR# 05-007)。NR=根據實驗方案於時間點不需要之測試。
- 3.參見QIR# G1-05-033。

表 72

那他珠單抗，冷凍乾燥穩定性結果

產物： 那他珠單抗，冷凍乾燥，製造之塊狀物 N/A 對照組編號： K65001 AQS: 2071  
 160毫克/小瓶 貨號：

製造日期： 濃度： 120 mg/mL 穩定性初始日期：

製造貨號： LY0121504

儲存條件 25°C ± 2°C/60% RH ± 5% 5 mL小瓶含有冷凍乾燥之餅狀物以及丁基橡膠塞子及易拉蓋。用1 mL  
 件： RH，直立 WFI或其他純水使小瓶重組。

所執行之測試

時間點 (月)	外觀		濃度	水分	pH值	重組時間	陽離子交換層析 (CEX)			SDS-PAGE				尺寸排阻層析	
	報導觀察結果	餅狀物	報導值 (mg/mL)	報導值	報導值	重組時間	較低同 功異型 物%	較高同 功異型 物%	第4峰 %	還原性 IgG%	與參考標準可 相當之MW	非還原性 半抗體 %	純度 %	寡聚物 %	雜質% LMW2%
0	無色， 輕微乳 白色。 顆粒 1、	白色 1 餅狀物	136	0.3%	6.0	11m29s 7m38s	17.2	13.4	69.4	99.52 <sup>2</sup>	相符 <sup>2</sup>	10.7	99.6	0.3	0.1
1	無色， 輕微乳 白色。 顆粒 1	白色 1 餅狀物	126	NR	6.1	7m18s 6m41s	16.1	14.7	69.2	99.8	相符	9.1	99.3	0.6	0.1

2	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 1	140	NR	6.1	6m32s 6m09s	17.0	12.5	70.6	99.5	相符	10.3	99.2	0.7	0.1
3	白色 1 餅狀物1	無色， 輕微乳 白色。 顆粒 0	117	NR	6.2	6m17s 5m41s	17.9	12.6	69.5	99.7	相符	8.2	99.1	0.8	
6	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 0、0、 1、0 <sup>3</sup>	135	0.5	6.1	4m37s 4m45s 6m27s <sup>3</sup>	16.7	15.0	68.3	99.6	相符	8.4	98.8	1.0	0.1

1.對於更詳細描述，請參考分析概述。

2.初始OOT結果測定為實驗室誤差(更多資訊請參見LIR# 05-007)。NR=根據實驗方案於時間點不需要之測試。

3.參見QIR# G1-05-033。

表 73

那他珠單抗，冷凍乾燥穩定性結果

產物： 那他珠單抗，冷凍乾燥，160毫克/小瓶  
 製造之塊狀物 N/A  
 對照組編號： K65001 AQS: 2071

製造日期： 穩定性初始日期：  
 濃度： 120 mg/mL  
 製造貨號： LY0121504  
 儲存條件： 40°C ± 2°C/75% RH ± 5% RH, 直立  
 5 mL 小瓶含有冷凍乾燥之餅狀物以及丁基橡膠塞子及易拉蓋。用 1 mL WFI 或其他純水使小瓶重組。

時間點 (月)	外觀		濃度	水分	pH值	重組時間	陽離子交換層析(CEX)			SDS-PAGE				尺寸排阻層析		
	餅狀物	溶液	報導值 (mg/mL)	報導值	報導值	重組時間	較低同 功異型 物%	較高同 功異型 物%	第4峰 %	還原性 IgG%	與參考標準可 相當之MW	非還原性 半抗 體%	純度 %	寡聚物 %	雜質 LMW2%	報導值
0	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒 1	136	0.3%	6.0	11m29s 7m38s	17.2	13.4	69.4	99.5 <sup>2</sup>	相符 <sup>2</sup>	10.7	99.6	0.3	0.1	
1	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 1	125	NR	6.1	5m30s 4m40s	16.2	15.0	68.8	99.6	相符	9.6	98.7	1.2	0.1	

所執行之測試

2	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 1	131	NR	6.1	5m40s 5m38s	17.2	13.2	69.5	99.5	相符	9.8	98.3	1.6	0.2
3	白色 1 餅狀物1	無色， 輕微乳 白色。 顆粒 0	129	NR	6.2	4m38s 6m30s	18.4	12.9	68.6	99.4	相符	8.2	97.7	2.0	

1.對於更詳細描述，請參考分析概述。

2.初始OOT結果測定為實驗室誤差(更多資訊請參見LIR# 05-007)。

NR=根據實驗方案於時間點不需要之測試。

表 74

## 那他珠單抗，重組小瓶穩定性結果

產物： 那他珠單抗，冷凍乾燥，製造之塊狀物貨  
160毫克/小瓶  
重組小瓶

對照組編號： K65001 AQS: 2071  
N/A

製造日期：

濃度： 120 mg/mL

穩定性初始日期：  
製造貨號： LY0121504

儲存條件： 5°C±3°C，直立

描述： 5 mL，I型玻璃小瓶

時間點 (月)	外觀		濃度	pH值	重組時間	陽離子交換層析(CEX)			SDS-PAGE			尺寸排阻層析		
	報導觀察結果 餅狀物	溶液	報導值 (mg/mL)	報導 值	重組時間	報導值			報導值			純度 %	報導值	
						較低同 功異型 物%	較高同 功異型 物%	第4峰 %	還原性 IgG%	與參考標準可 相當之MW	非還原性 半抗體%		寡聚物 %	雜質%
0	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒 1`	132	6.0	NR	16.9	13.7	69.4	99.5	相符	11.5	99.6	0.3	0.1
3	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 0	134	6.1	5m17s 4m27s	18.1	12.4	69.5	99.7	相符	8.1	99.3	0.3	0.4
6	白色	無色， 輕微乳	133	6.1	4m13s 6m03s	16.9	14.1	69.0	99.7	相符	8.4	99.5	0.4	0.1

所執行之測試



表 75

## 那他珠單抗，重組小瓶穩定性結果

產物： 那他珠單抗，冷凍乾燥，製造之塊狀物貨 N/A 對照組編號： K65001 AQS: 2071  
 160毫克/小瓶 號：  
 重組小瓶

製造日期： 穩定性初始日期： LY0121504  
 濃度： 120 mg/mL 製造貨號：

儲存條件： 25°C ± 2°C/60% RH ± 5%  
 RH，直立 描述： 5 mL，I型玻璃小瓶

時間點 (月)	外觀	濃度	pH值	重組時間	所執行之測試						尺寸排阻層析		
					陽離子交換層析(CEX)		SDS-PAGE			純度 %	報導值		
					較低同功 異型物%	較高同功 異型物%	第4峰 %	還原性 IgG %	與參考標 準可相當 之MW		非還原性 半抗體 %	寡聚物 %	雜質%
0	NR	132	6.0	NR	16.9	13.7	69.4	99.5	相符	11.5	99.6	0.3	0.1
3	白色 1 餅狀物	141	6.1	7m16s 5m05s	18.7	11.9	69.5	99.5	相符	7.9	99.2	0.4	0.4

6	白色 1 餅狀物	無色， 輕微乳 白色。 顆粒： 0、1	137	6.1	4m12s 5m57s	17.4	13.9	69.5	99.5	相符	7.9	99.2	0.4	0.1
---	----------------	---------------------------------	-----	-----	----------------	------	------	------	------	----	-----	------	-----	-----

1.對於更詳細描述，請參考分析概述。

NR=根據實驗方案於時間點不需要之測試。

【圖式簡單說明】

圖 1 展示於 30°C 下高分子量物質之形成。

圖 2 展示於 40°C 下高分子量物質之形成。

圖 3 展示於 30°C 下於預冷凍乾燥之溶液中低分子量物質之形成。

圖 4 展示於 40°C 下於預冷凍乾燥之溶液中低分子量物質之形成。

圖 5 展示於 5°C 下由高分子量物質及低分子量物質之形成引起之總單體損失。

圖 6 展示於 30°C 下由高分子量物質及低分子量物質之形成引起之總單體損失。

圖 7 展示於 40°C 下由高分子量物質及低分子量物質之形成引起之總單體損失。

圖 8 展示於 5°C 下冷凍乾燥之調配物中隨時間之單體損失。

圖 9 展示於 30°C 下冷凍乾燥之調配物中隨時間之單體損失。

圖 10 展示於 40°C 下冷凍乾燥之調配物中隨時間之單體損失。

圖 11 展示於 30°C 下各調配物之低分子量物質之形成。

圖 12 展示於 40°C 下各調配物之低分子量物質之形成。

圖 13 展示於 40°C 下於預冷凍乾燥之調配物中高分子量物質之形成。

圖 14 展示於 5°C 下由聚集體之形成引起之單體損失。

圖 15 展示於 30°C 下由聚集體之形成引起之單體損失。

圖 16 展示於 40°C 下由聚集體之形成引起之單體損失。

圖 17 展示於 40°C 下於預冷凍乾燥之樣品中高分子量物質之形成。

圖 18 展示於 40°C 下於預冷凍乾燥之樣品中低分子量物質之形成。

圖 19 展示於 40°C 下由高分子量物質及低分子量物質之形成引起之總單體損失。

圖 20 展示於 40°C 下之重組時間。

圖 21 展示於 40°C 下於冷凍乾燥之樣品中高分子量物質之形成。

圖 22 展示於 40°C 下於冷凍乾燥之樣品中低分子量物質之形成。

圖 23 展示於 40°C 下由高分子量物質及低分子量物質之形成引起之總單體損失。

圖 24A 展示於 5°C 下於預冷凍乾燥之樣品中高分子量物質之形成。圖 24B 展示於 5°C 下於預冷凍乾燥之樣品中低分子量物質之形成。圖 24C 展示於 5°C 下於預冷凍乾燥之樣品中之單體損失。

圖 25 展示於 40°C 下於冷凍乾燥之樣品中高分子量物質之形成。

圖 26A 展示於 40°C 下於重組樣品中高分子量物質之形成。圖 26B 展示於 40°C 下於重組樣品中低分子量物質之形成。圖 26C 展示於 40°C 下重組樣品中之單體損失。圖 26D 展示重組時間。

## 五、中文發明摘要：

本發明概括地關於免疫球蛋白之醫藥調配領域。具體言之，本發明係關於穩定、冷凍乾燥之高濃度免疫球蛋白調配物。本發明係藉由重組之人類化抗- $\alpha$ -4整合素抗體那他珠單抗(natalizumab)的穩定型冷凍乾燥之調配物例示。

## 六、英文發明摘要：

The present invention relates generally to the field of pharmaceutical formulation of immunoglobulins. Specifically, the present invention relates to stable, lyophilized, high concentration immunoglobulin formulations. This invention is exemplified by a stabilized lyophilized formulation of the recombinant humanized anti-alpha-4 integrin antibody natalizumab.

## 十、申請專利範圍：

1. 一種藉由冷凍乾燥水性調配物所製備之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物包含：
  - (a)約20 mg/ml至約80 mg/ml之那他珠單抗(natalizumab)；
  - (b)具有約5.5至約6.5之pH值的緩衝劑；
  - (c)約20 mg/ml至約80 mg/ml之蔗糖；及
  - (d)約0.02%至約0.08%之聚山梨醇酯。
2. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物包含約30 mg/ml至約80 mg/ml之那他珠單抗。
3. 如請求項2之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物包含約40 mg/ml那他珠單抗。
4. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該緩衝劑具有約6.0之pH值。
5. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該緩衝劑為組胺酸。
6. 如請求項5之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該組胺酸係以約1 mM至約12 mM之濃度存在於該水性調配物中。
7. 如請求項6之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該組胺酸係以約6 mM之濃度存在於該水性調配物中。
8. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該蔗糖係以約20 mg/ml至約80 mg/ml之濃度存在於該水性調配物中。
9. 如請求項8之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該蔗糖係以約41 mg/ml之濃度存在於該水性調配物中。

10. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該聚山梨醇酯為聚山梨醇酯80。
11. 如請求項10之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該聚山梨醇酯80係以約0.02%至約0.08%之濃度存在於該水性調配物中。
12. 如請求項11之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該聚山梨醇酯80係以約0.04%之濃度存在於該水性調配物中。
13. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物中之那他珠單抗對蔗糖之重量比為約0.5:1至約2:1。
14. 如請求項13之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物中之那他珠單抗對蔗糖之重量比為約1:1。
15. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物中之蔗糖對那他珠單抗之莫耳比率為約300:1至約500:1。
16. 如請求項15之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物中之蔗糖對那他珠單抗之莫耳比率為約400:1至約500:1。
17. 如請求項16之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物中之蔗糖對那他珠單抗之莫耳比率為約450:1。
18. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物進一步包含膨化劑。
19. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配物進一步包含張力調節劑。
20. 如請求項1之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該水性調配

物包含：

- (a)約 40 mg/ml 那他珠單抗；
- (b)約 6 mM 組胺酸，pH 值為約 6.0；
- (c)約 41 mg/ml 蔗糖；及
- (d)約 0.04% 聚山梨醇酯 80。

21. 一種穩定重組調配物，其包含：

- (i)約 80 mg/ml 至約 160 mg/ml 之那他珠單抗；
- (ii)pH 值為約 6.0 之約 18 mM 組胺酸；
- (iii)約 123 mg/ml 蔗糖；及
- (iv)約 0.12% 聚山梨醇酯 80；其中：

該重組調配物係從藉由冷凍乾燥水性調配物所製備之穩定冷凍乾燥之調配物來製備，該水性調配物包含：

- (a)約 40 mg/ml 那他珠單抗；
- (b)約 6 mM 組胺酸，pH 值為約 6.0；
- (c)約 41 mg/ml 蔗糖；及
- (d)約 0.04% 聚山梨醇酯 80。

22. 如請求項 21 之穩定重組調配物，其中該穩定重組調配物包含約 120 mg/ml 那他珠單抗。

23. 一種製備穩定重組調配物之方法，其包含使藉由冷凍乾燥水性調配物所製備之冷凍乾燥之調配物重組，該水性調配物包含：

- (a)約 30 mg/ml 至約 60 mg/ml 之那他珠單抗；
- (b)具有約 5.5 至約 6.5 之 pH 值的緩衝劑；
- (c)約 20 mg/ml 至約 50 mg/ml 之蔗糖；及

- (d)約0.02%至約0.08%聚山梨醇酯。
24. 如請求項24之方法，其中該水性調配物包含約40 mg/ml至約50 mg/ml之那他珠單抗。
  25. 如請求項25之方法，其中該水性調配物包含約40 mg/ml那他珠單抗。
  26. 如請求項23之方法，其中該緩衝劑具有約6.0之pH值。
  27. 如請求項23之方法，其中該緩衝劑為組胺酸。
  28. 如請求項28之方法，其中該組胺酸係以約1 mM至約12 mM之濃度存在於該水性調配物中。
  29. 如請求項29之方法，其中該組胺酸係以約6 mM之濃度存在於該水性調配物中。
  30. 如請求項23之方法，其中該蔗糖係以約20 mg/ml至約50 mg/ml之濃度存在於該水性調配物中。
  31. 如請求項31之穩定冷凍乾燥之調配物，其中該蔗糖係以約40 mg/ml之濃度存在於該水性調配物中。
  32. 如請求項23之方法，其中該聚山梨醇酯為聚山梨醇酯80。
  33. 如請求項32之方法，其中該聚山梨醇酯80係以約0.02%至約0.08%之濃度存在於該水性調配物中。
  34. 如請求項33之方法，其中該聚山梨醇酯80係以約0.04%之濃度存在於該水性調配物中。
  35. 如請求項23之方法，其中該水性調配物中之那他珠單抗對蔗糖之重量比為約0.5:1至約2:1。
  36. 如請求項35之方法，其中該水性調配物中之那他珠單抗

對蔗糖之重量比為約1:1。

37. 如請求項23之方法，其中該水性調配物中之蔗糖對那他珠單抗之莫耳比率為約300:1至約500:1。
38. 如請求項37之方法，其中該水性調配物中之蔗糖對那他珠單抗之莫耳比率為約400:1至約500:1。
39. 如請求項38之方法，其中該水性調配物中之蔗糖對那他珠單抗之莫耳比率為約450:1。
40. 如請求項23之方法，其中該水性調配物進一步包含膨化劑。
41. 如請求項23之方法，其中該水性調配物進一步包含張力調節劑。
42. 如請求項23之方法，其中該水性調配物包含：
  - (a)約40 mg/ml那他珠單抗；
  - (b)約6 mM組胺酸，pH值為約6.0；
  - (c)約41 mg/ml蔗糖；及
  - (d)約0.04%聚山梨醇酯80。
43. 一種治療個體之方法，其包含向該個體投與治療有效量之如請求項23之穩定重組調配物，其中該個體具有可藉由投與那他珠單抗來治療之病症。

十一、圖式：

在30°C下，於預冷凍乾燥之調配物及液體調配物中高分子物質之形成

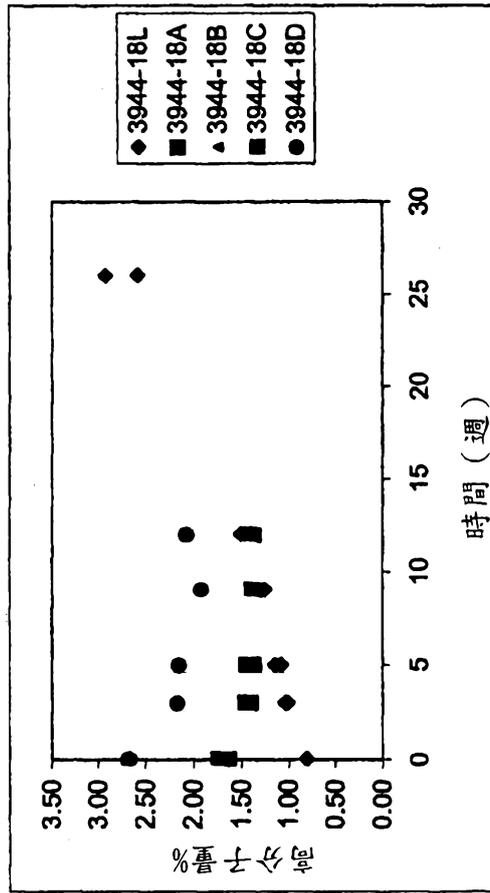


圖1

在40°C下，於預冷凍乾燥之調配物及液體調配物中高分子量物質之形成

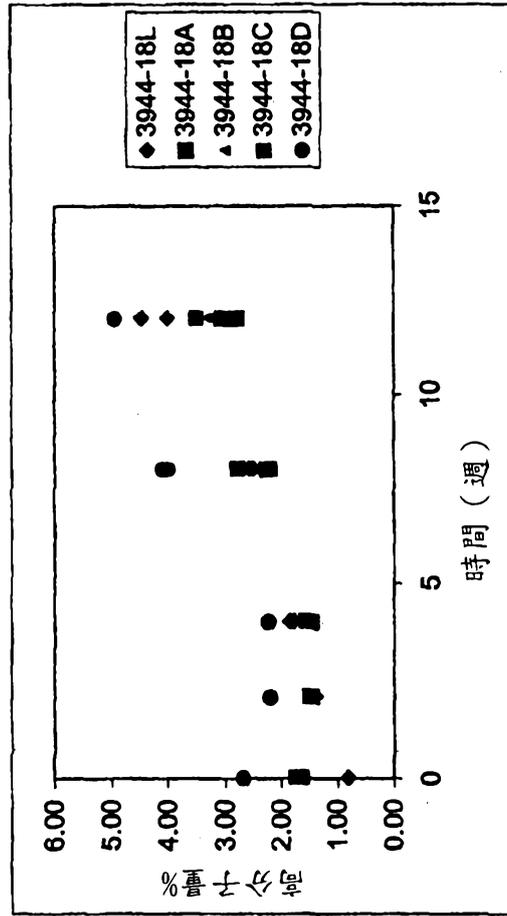


圖2

在30°C下，於預冷凍乾燥之調配物及液體調配物中低分子量物質之形成

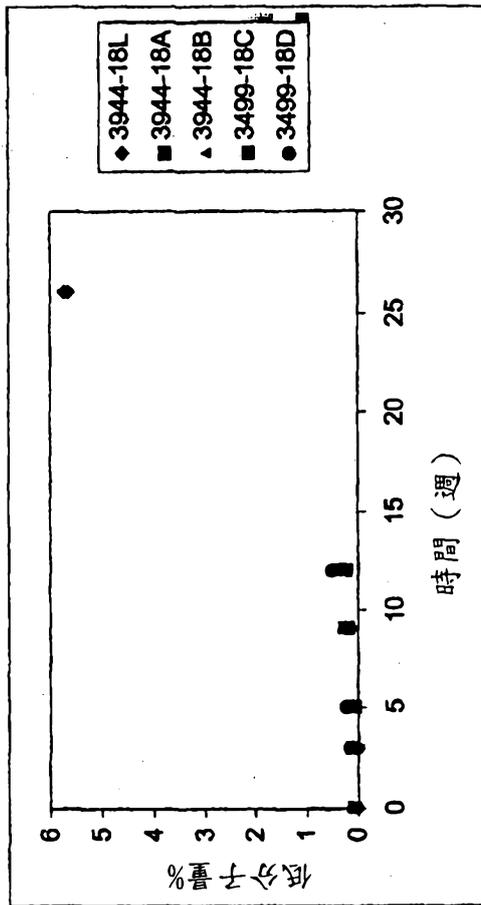


圖3

在40°C下，於預冷凍乾燥之調配物及液體調配物中低分子量物質之形成

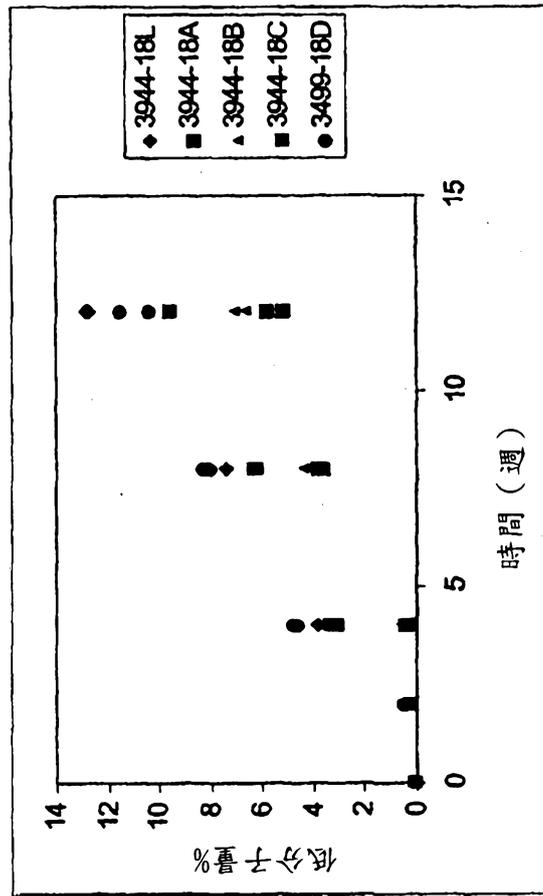


圖4

在5°C下，預冷凍乾燥之調配物及液體調配物中之單體損失

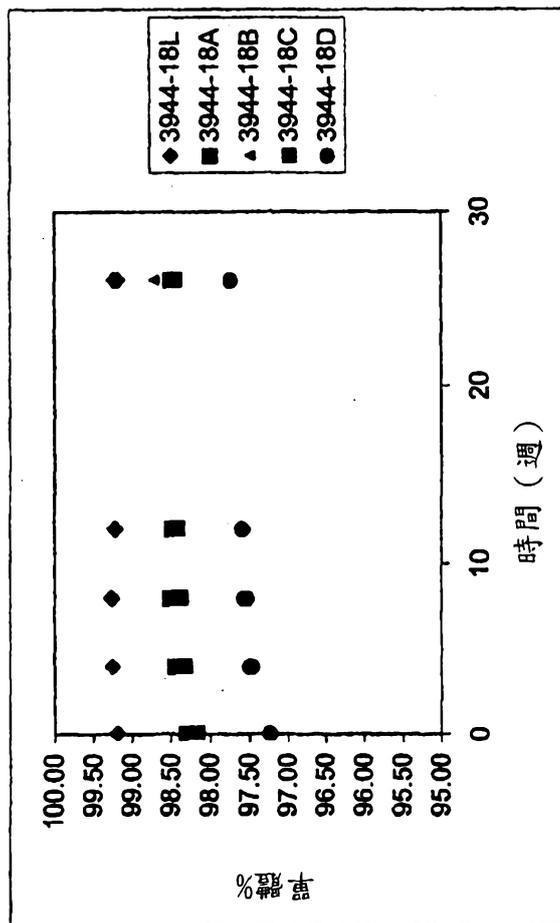


圖5

在30°C下，預冷凍乾燥之調配物及液體調配物中之單體損失

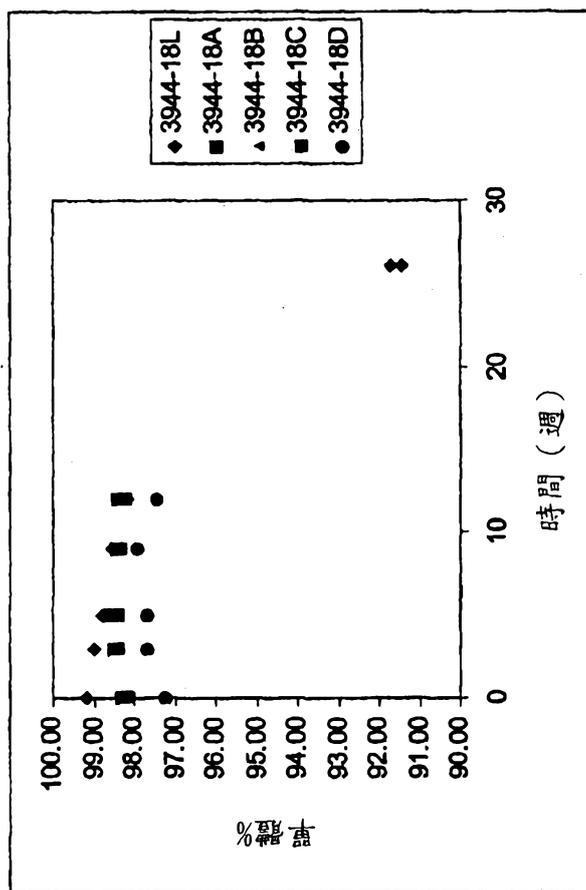


圖6

在40°C下，預冷凍乾燥之調配物及液體調配物中之單體損失

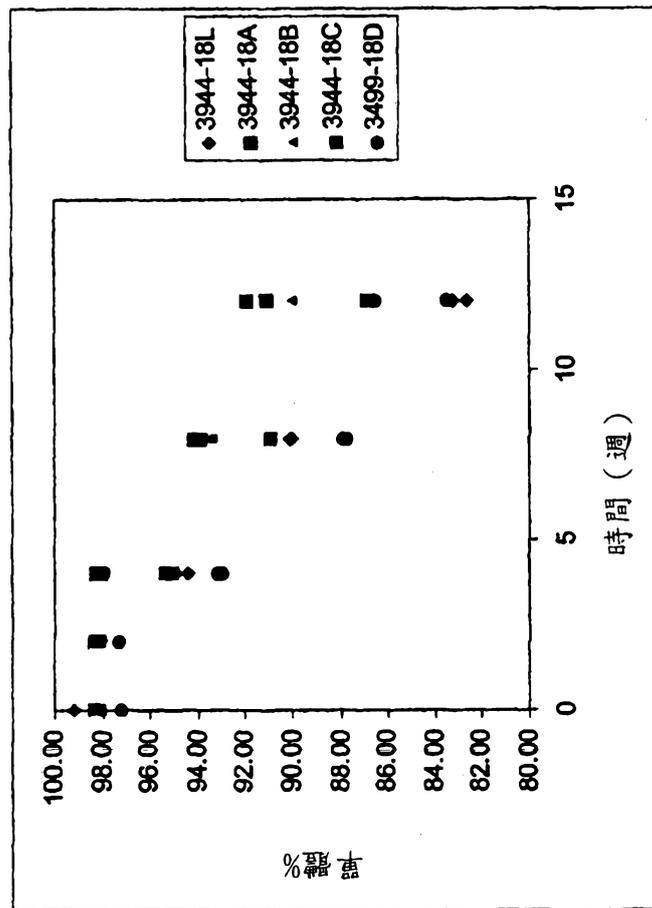


圖7

在5°C下，冷凍乾燥之調配物中之單體損失

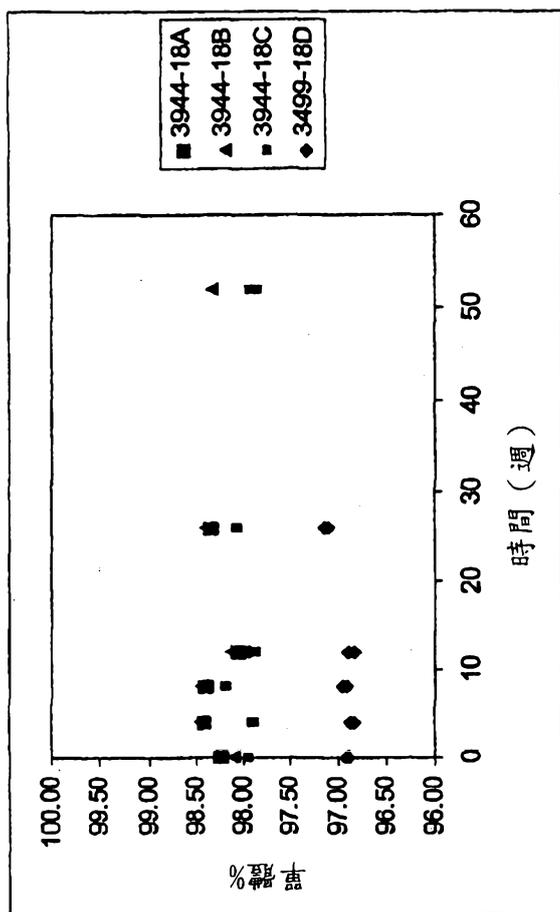


圖8

在30°C下，冷凍乾燥之調配物中之單體損失

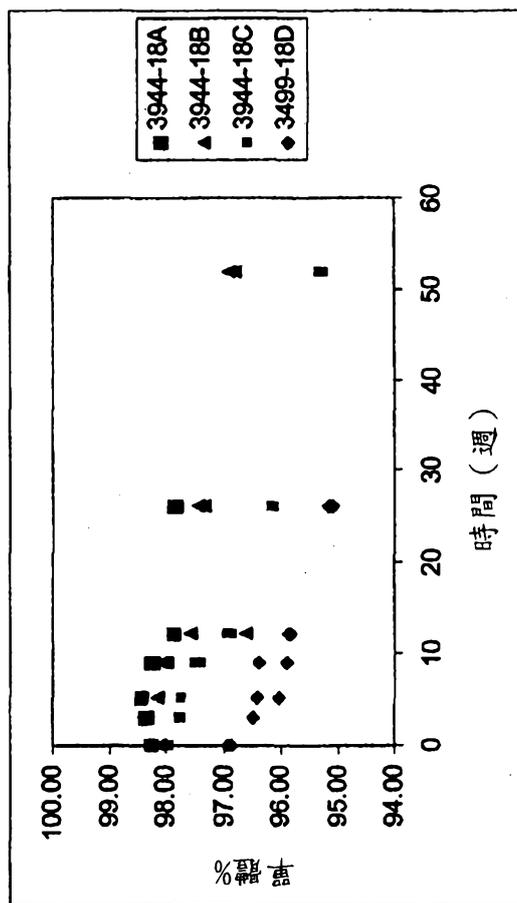


圖9

在40°C下，冷凍乾燥之調配物中之單體損失

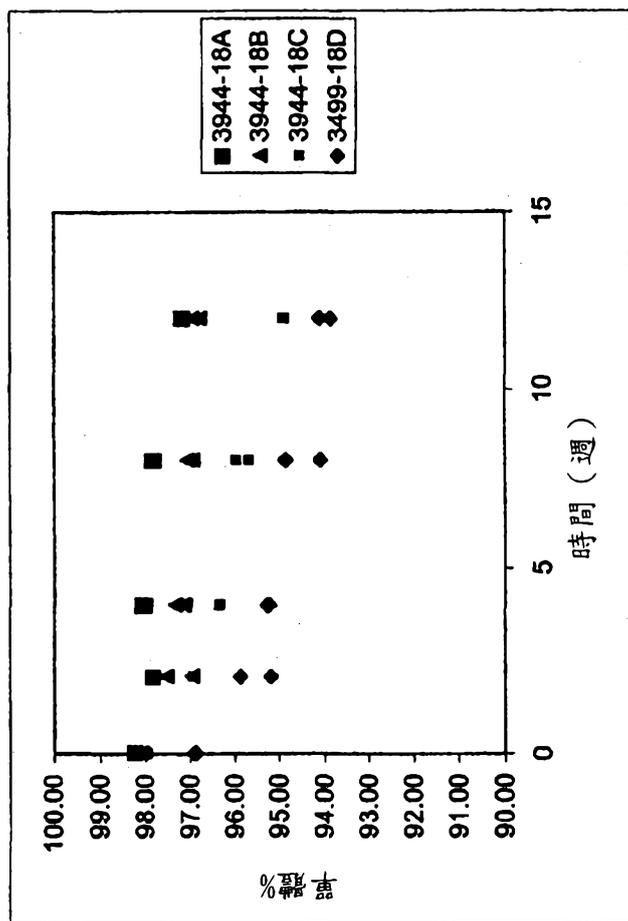


圖10

在30°C下，於預冷凍乾燥之調配物中低分子量物質之形成

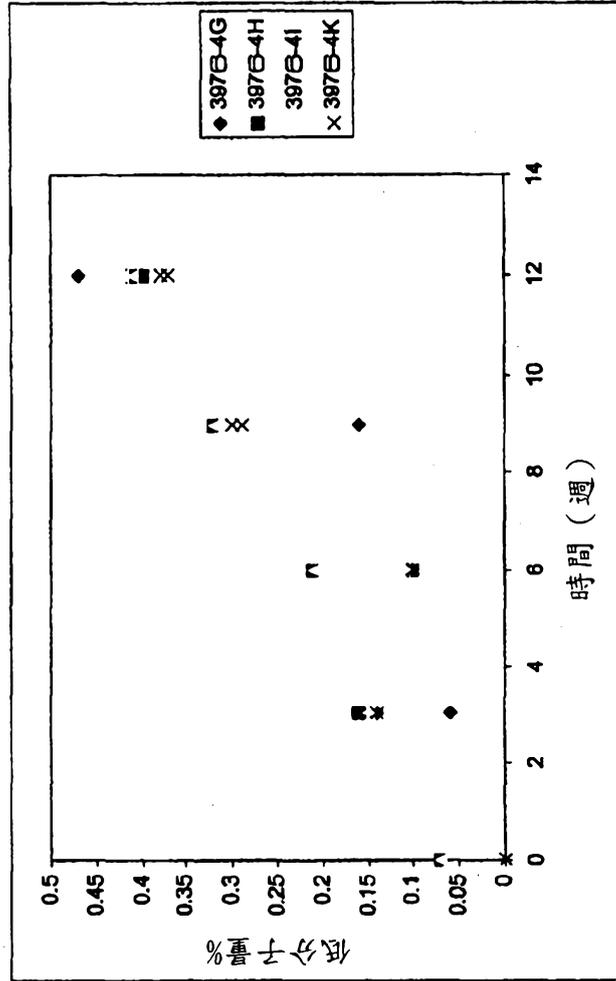


圖11

在40°C下，於預冷凍乾燥之調配物中低分子量物質之形成

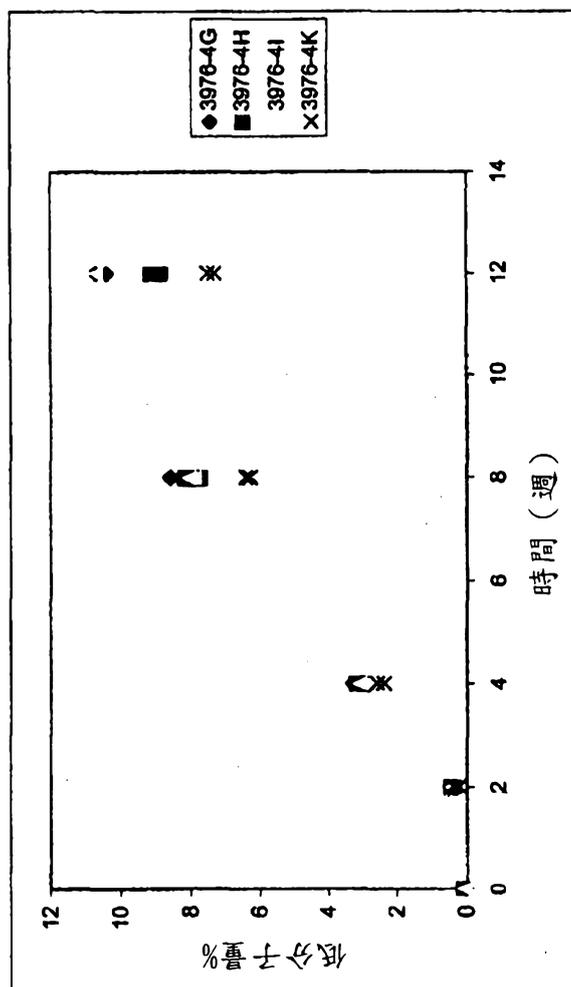


圖12

在40°C下，於預冷凍乾燥之調配物中高分子量物質之形成

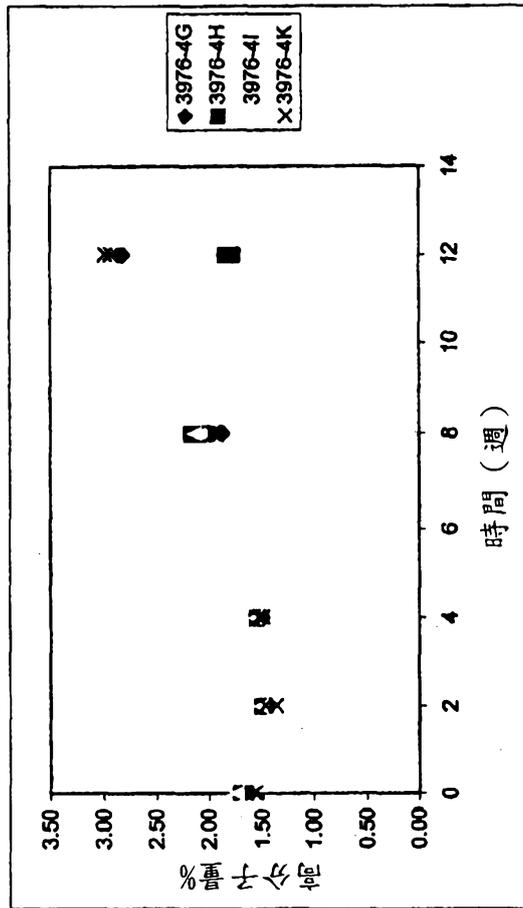


圖13

在5°C下，冷凍乾燥之調配物之單體損失

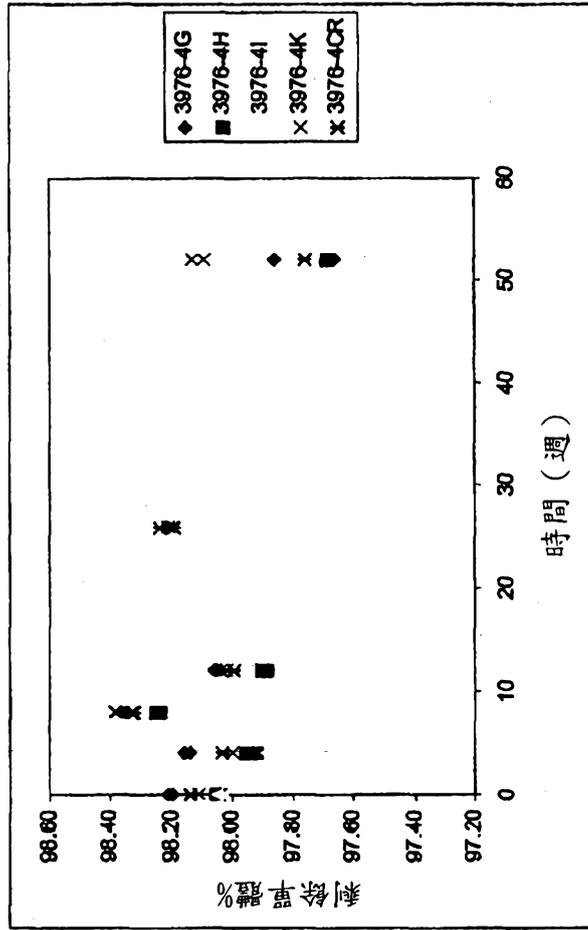


圖14

在30°C下，冷凍乾燥之調配物之單體損失

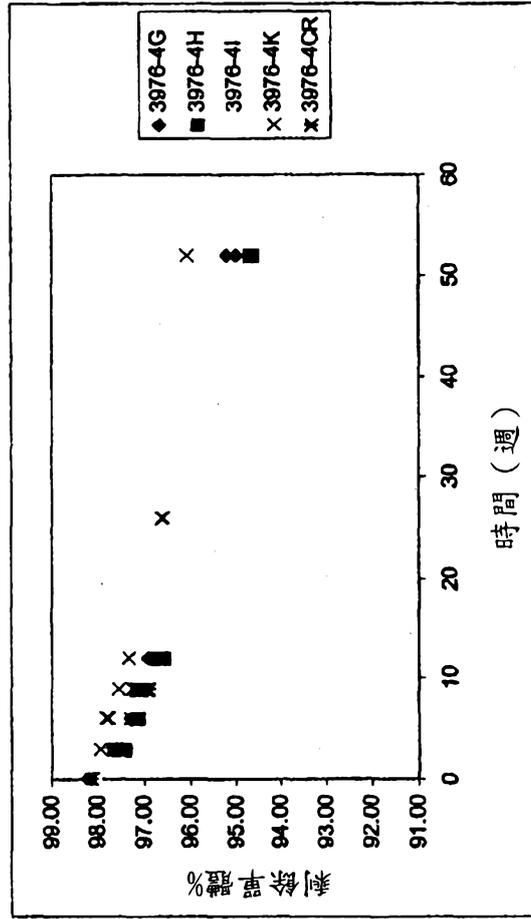


圖15

在40°C下，冷凍乾燥之調配物之單體損失

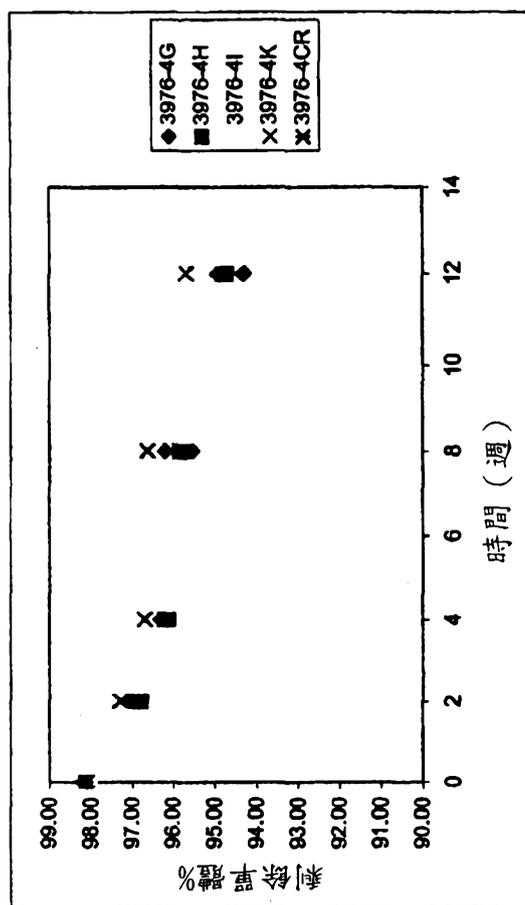


圖16

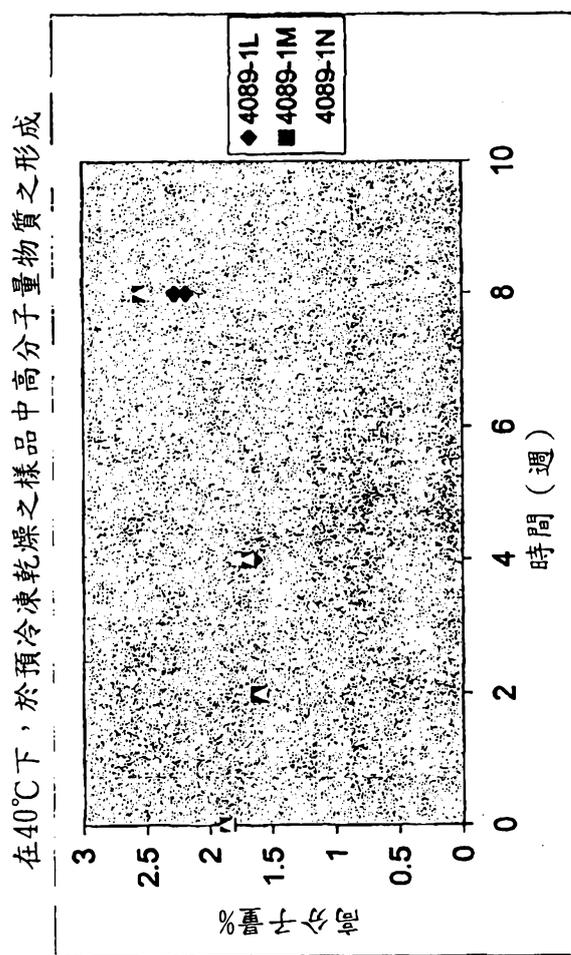


圖17

在40°C下，於預冷凍乾燥之樣品中低分子量物質之形成

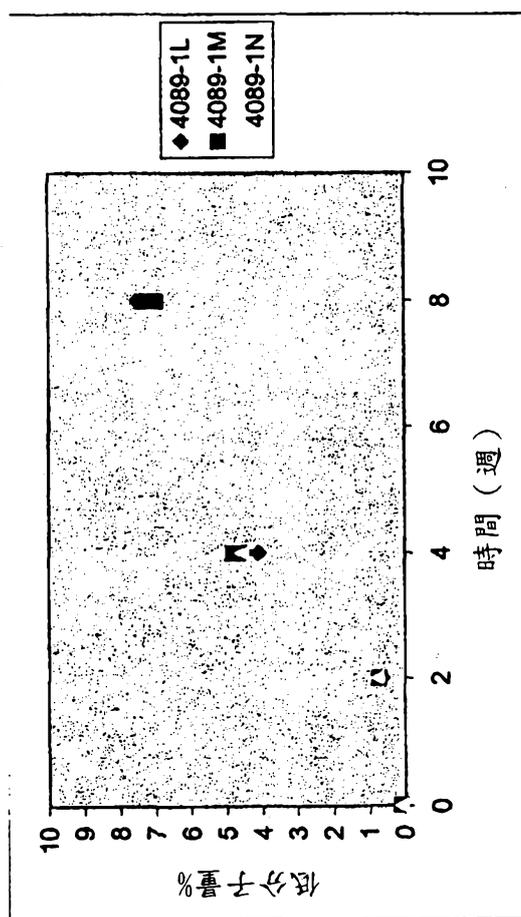


圖18

在40°C下，預冷凍乾燥之樣品中之單體損失

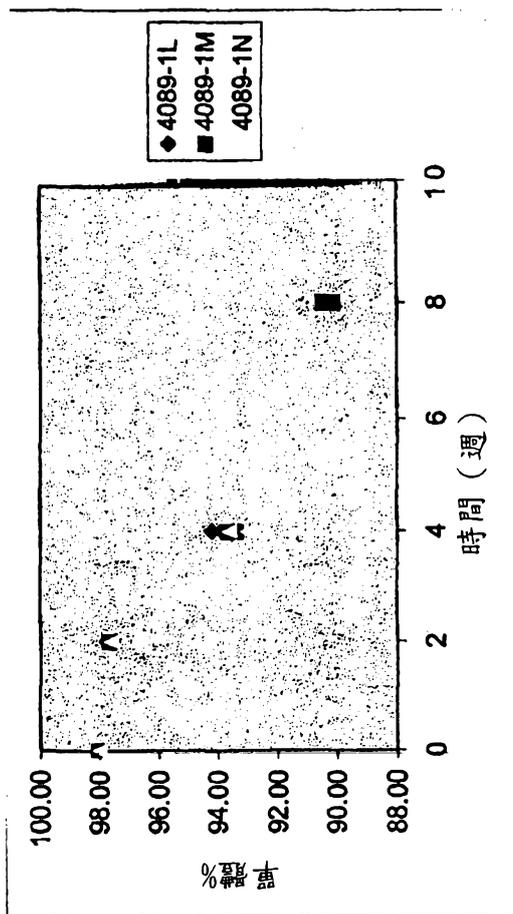


圖19

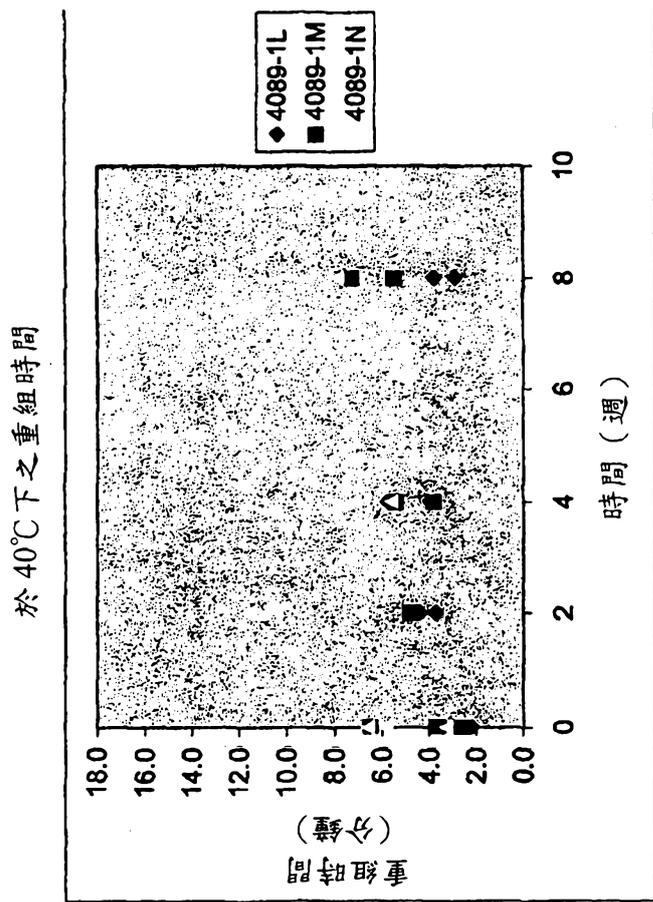


圖20

在40°C下，於冷凍乾燥之樣品中高分子量物質之形成

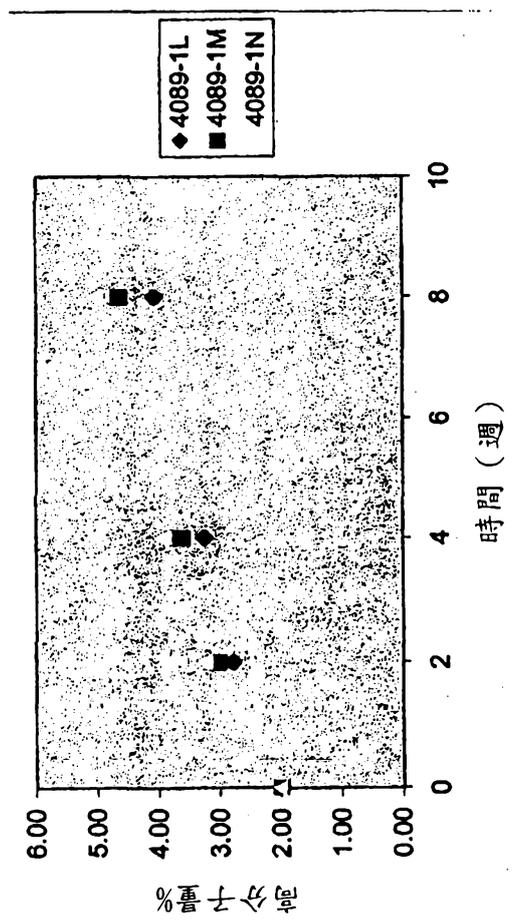


圖21

在40°C下，於冷凍乾燥之樣品中低分子量物質之形成

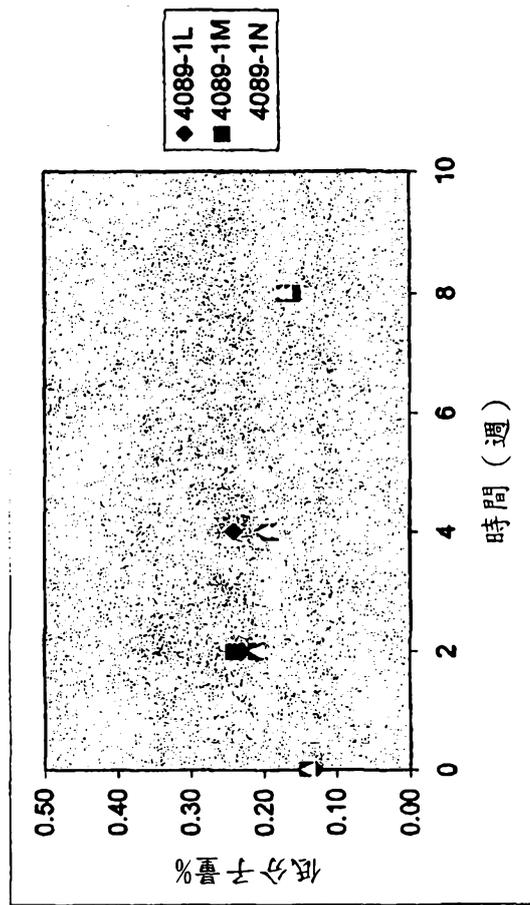


圖22

在40°C下，冷凍乾燥之樣品中之單體損失

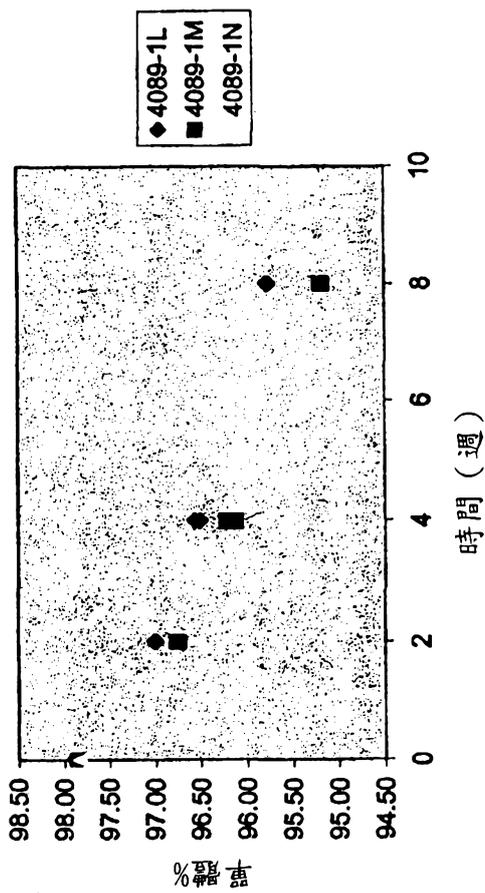


圖23

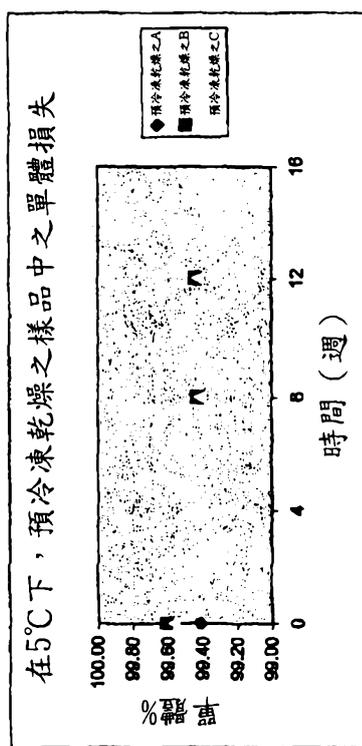
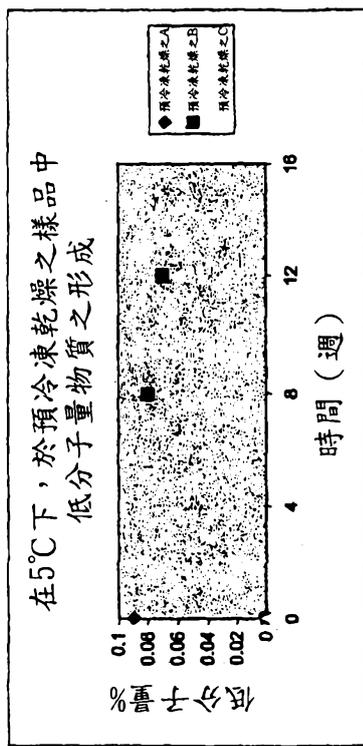
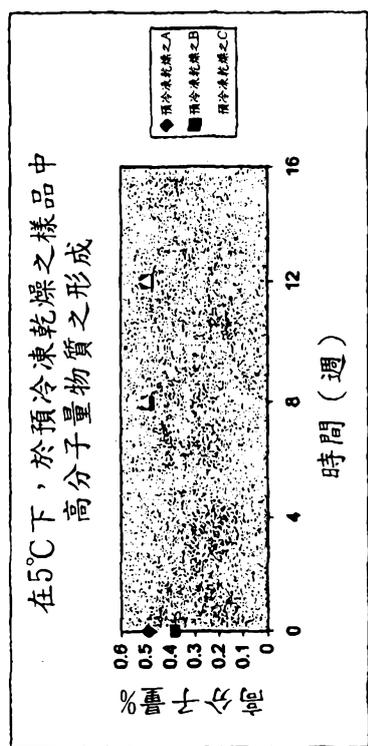


圖24

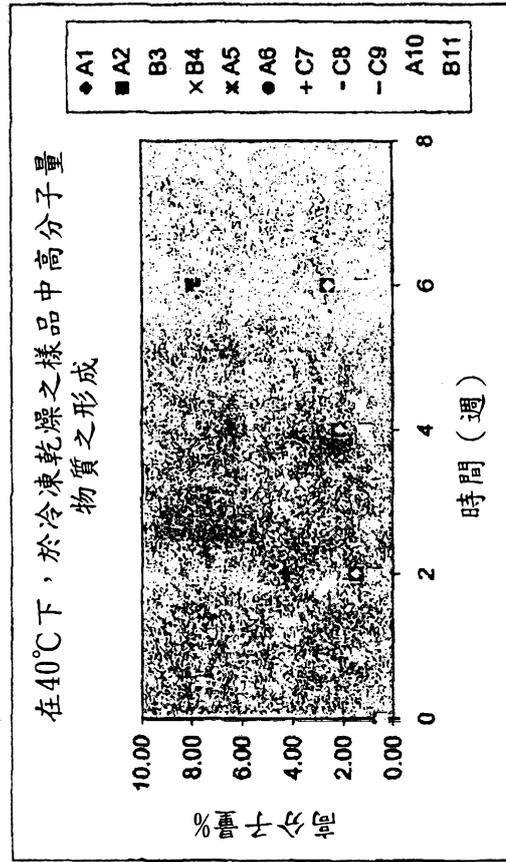


圖25

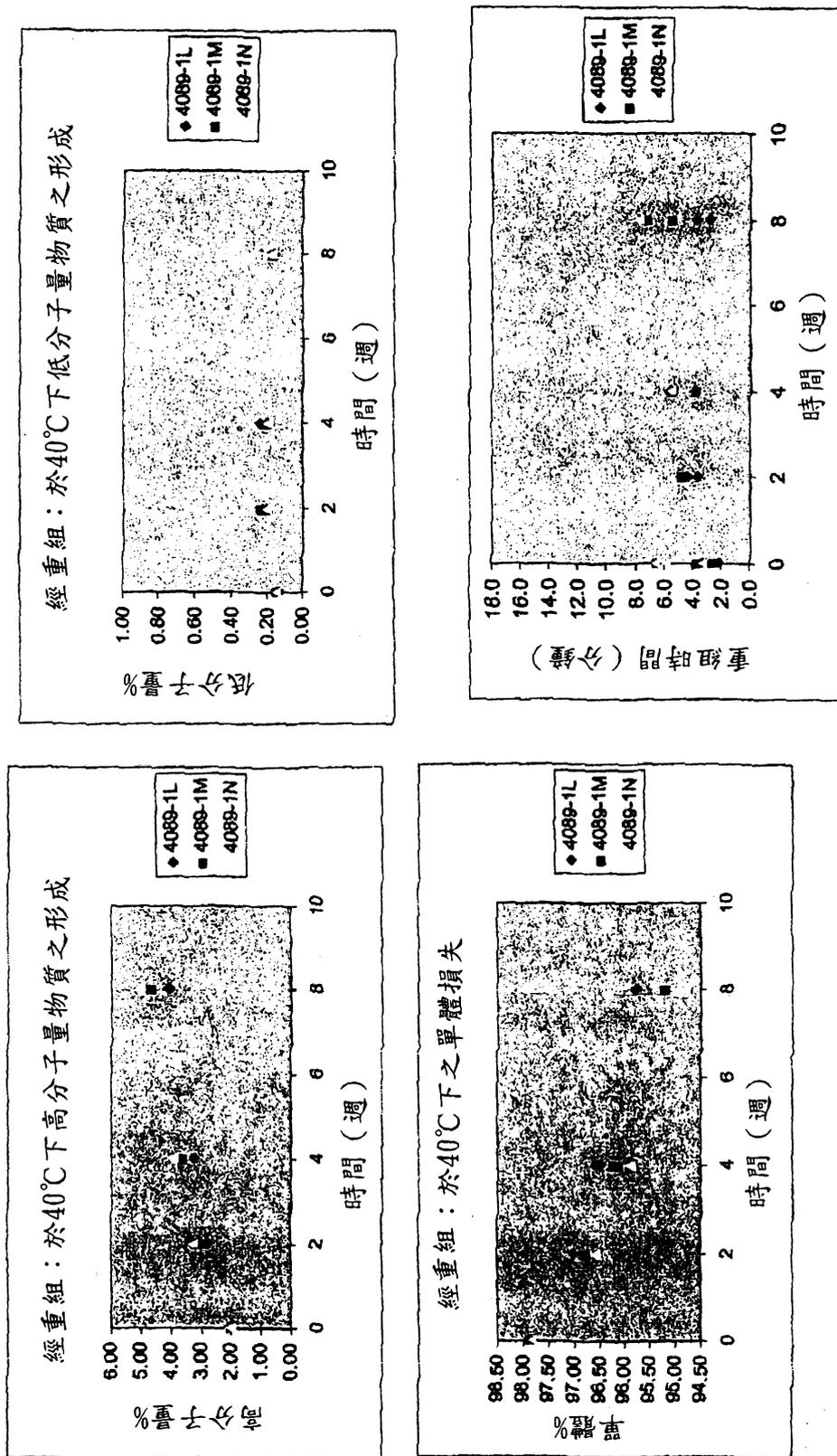


圖26A, B, C, D

**七、指定代表圖：**

(一)本案指定代表圖為：第 ( 1 ) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

**八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：**

(無)