



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I839331 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 04 月 21 日

(21)申請案號：107114370 (22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 04 月 27 日

(51)Int. Cl. : *A61K39/395 (2006.01)* *A61K47/18 (2006.01)*
 A61K47/26 (2006.01) *A61K9/08 (2006.01)*
 A61P19/10 (2006.01) *A61J1/00 (2023.01)*
 C07K16/28 (2006.01)

(30)優先權：2017/04/28 美國 62/492,056

(71)申請人：美商安進公司 (美國) AMGEN INC. (US)
 美國

(72)發明人：布萊奇 史提芬 羅柏特 BRYCH, STEPHEN ROBERT (US)；翁 連恩 M
 WONG, LYANNE M. (US)；費洛 傑米爾 FALLON, JAYMILLE (US)；高思 莫
 妮卡 蜜雪爾 GOSS, MONICA MICHELLE (US)；顧 建華 GU, JIAN HUA
 (CA)；吉哈特凡凱特克里西那 派瓦恩 K GHATTYVENKATAKRISHNA,
 PAVAN K. (IN)

(74)代理人：陳長文

審查人員：簡正芳

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：43 共 152 頁

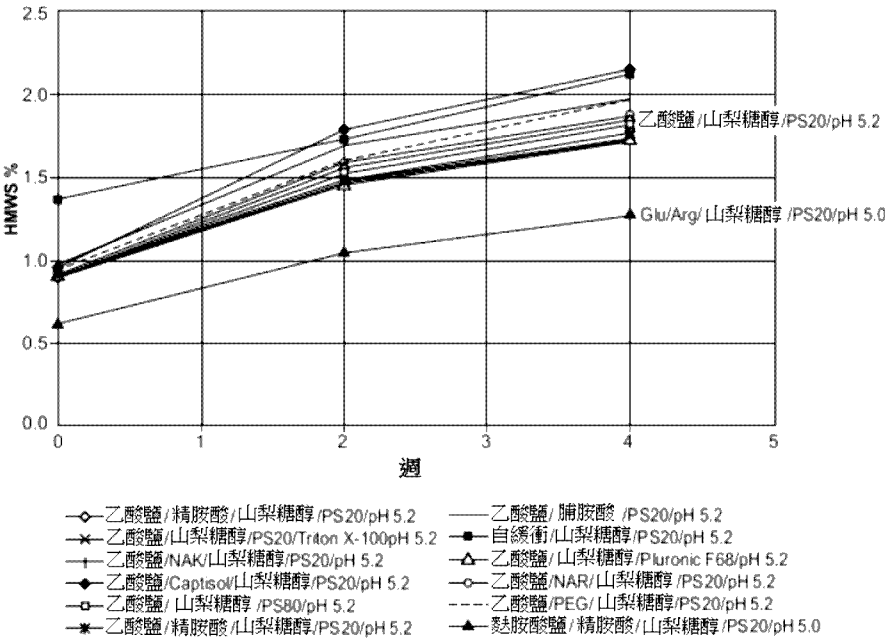
(54)名稱
人類抗 RANKL 抗體之調配物及其使用方法

(57)摘要

本文中揭示了包含地諾單抗(denosumab)或另一人類抗 RANKL 單株抗體或其部分及 pH 值特徵、緩衝系統及胺基酸聚集抑制劑之水性醫藥調配物。亦揭示了該調配物在使用時之呈現形式，例如於單次使用小瓶、單次使用注射器或玻璃容器中；使用該等調配物及製品來預防或治療疾病之方法；及相關套組。

Disclosed herein are aqueous pharmaceutical formulations comprising denosumab or another human anti-RANKL monoclonal antibody or portion thereof, and characteristics of pH, buffer systems, and amino acid aggregation inhibitors. Also disclosed are presentation of the formulation for use, e.g. in a single-use vial, single-use syringe, or glass container, methods of using the formulations and articles for preventing or treating diseases, and related kits.

指定代表圖：



【圖 1】



公告本

I839331

【發明摘要】

【中文發明名稱】

人類抗RANKL抗體之調配物及其使用方法

【英文發明名稱】

FORMULATIONS OF HUMAN ANTI-RANKL ANTIBODIES, AND
METHODS OF USING THE SAME

【中文】

本文中揭示了包含地諾單抗(denosumab)或另一人類抗RANKL單株抗體或其部分及pH值特徵、緩衝系統及胺基酸聚集抑制劑之水性醫藥調配物。亦揭示了該調配物在使用時之呈現形式，例如於單次使用小瓶、單次使用注射器或玻璃容器中；使用該等調配物及製品來預防或治療疾病之方法；及相關套組。

【英文】

Disclosed herein are aqueous pharmaceutical formulations comprising denosumab or another human anti-RANKL monoclonal antibody or portion thereof, and characteristics of pH, buffer systems, and amino acid aggregation inhibitors. Also disclosed are presentation of the formulation for use, e.g. in a single-use vial, single-use syringe, or glass container, methods of using the formulations and articles for preventing or treating diseases, and related kits.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

113年2月29日修正本

【中文發明名稱】

人類抗RANKL抗體之調配物及其使用方法

【英文發明名稱】FORMULATIONS OF HUMAN ANTI-RANKL ANTIBODIES, AND
METHODS OF USING THE SAME**【技術領域】**

【0001】 本發明係關於人類抗RANKL單株抗體，包括地諾單抗(denosumab)之高濃度水性調配物及其生物類似物。

【先前技術】

【0002】 地諾單抗可呈60 mg/mL及70 mg/mL強度之溶液形式購自市面。

【0003】 蛋白質調配物濃度增加可引起穩定性問題，例如會導致形成高分子量物質(HMWS)之聚集。在一些蛋白質調配物中，可能特別關注HMWS，尤其是保留單體對應物之大部分天然構型的彼等HMWS。聚集亦可能影響治療蛋白質之皮下生體可用率及藥物動力學性質。

【0004】 填充及加工操作以及投與可涉及使蛋白質溶液流過活塞泵、蠕動泵或注射針之步驟。此種過程可能賦予剪切應力及機械應力，由此可能致使蛋白質變性且造成聚集。在蛋白質溶液較濃時，此現象可能加重。

【發明內容】

【0005】 根據本發明提供之揭示內容首次證明向包含高濃度抗RANKL抗體之水溶液中添加胺基酸聚集抑制劑可減少一定時間內形成的

抗體聚集物的量以及減緩此種聚集物之形成速率。本揭示內容亦提供pH值對抗RANKL抗體之濃水溶液中的聚集物形成的影響，其中當該水溶液之pH值處於約5.0至低於5.2之範圍內時，觀測到聚集物形成減少。本文中所提供之揭示內容更提議藉由胺基酸聚集抑制劑與抗RANKL抗體之間的相互作用來穩定該抗體。不受任何特定理論束縛，設想胺基酸聚集抑制劑與抗RANKL抗體之間的疏水性相互作用以及其他類型分子間相互作用對濃抗體溶液具有穩定作用。因此，本發明之揭示內容係關於包含高濃度之抗RANKL抗體之穩定水性醫藥調配物，該等調配物包含低量(例如，少於約2%)聚集物。

【0006】 因此，本揭示內容之一個態樣為一種水性醫藥調配物，其包含濃度高於70 mg/mL之人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分且具有處於約5.0至低於5.2之範圍內的pH值。

【0007】 本揭示內容之另一態樣為一種水性醫藥調配物，其包含人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分與胺基酸聚集抑制劑之混合物。在例示性態樣中，該胺基酸聚集抑制劑包含有包含帶電側鏈之胺基酸、芳香族胺基酸或疏水性胺基酸。在例示性情況下，該包含帶電側鏈之胺基酸為包含帶正電側鏈之胺基酸，舉例而言，諸如精胺酸及離胺酸。在例示性態樣中，該芳香族胺基酸包含苯基或吡啶。視情況，該芳香族胺基酸更包含處於 α 碳與苯基或吡啶之間的C₁-C₆烷基鏈。胺基酸，包括例如苯丙胺酸及色胺酸，為例示性胺基酸聚集抑制劑。在例示性情況下，該胺基酸聚集抑制劑為在凱特-杜立特疏水性標度(Kyte and Doolittle hydrophobicity scale)上具有超過約2.5之評分的疏水性胺基

酸。視情況，該疏水性胺基酸為纈胺酸、白胺酸或異白胺酸。設想如本文中所描述之其他胺基酸聚集抑制劑。

【0008】 在例示性情況下，該水性醫藥調配物更包含張力改良劑、界面活性劑、緩衝劑或其任何組合。

【0009】 本揭示內容之另一態樣為供儲存或使用之調配物的呈現形式，例如，處於單次使用小瓶、單次使用注射器或者玻璃、玻璃內襯或玻璃塗覆容器中。本揭示內容之例示性態樣為包含本文中所描述之任何水性醫藥調配物的容器，視情況為小瓶、預填充注射器(PFS)或玻璃容器。在例示性情況下，該容器包含約1 mL或更少(例如約0.5 mL)之該水性醫藥調配物。

【0010】 本揭示內容之另一態樣提供製造包含人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之穩定水性醫藥調配物的方法，其包括將該抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分以高於70 mg/mL之濃度與胺基酸聚集抑制劑、緩衝劑、界面活性劑及視情況存在之張力改良劑組合。本揭示內容之態樣包括根據本文中所描述之製造穩定水性醫藥調配物之方法中的任一種製造的穩定水性醫藥調配物。

【0011】 本揭示內容之另一態樣提供使用如本文中所描述之調配物來預防或治療對人類抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分有反應之疾病的方法。在例示性態樣中，該使用涵蓋對個體進行治療性治療，該治療性治療涵蓋在個體中治療或預防骨骼相關事件(SRE)、治療或預防骨巨細胞瘤、治療或預防惡性高鈣血症、治療或預防骨質疏鬆症或者增加骨質量。舉例而言，該治療性治療涵蓋(a)治療或預防存在實體腫瘤骨轉移之個體的SRE；(b)治療或預防患有不可切除或手術切除有可能引起嚴重發病之

骨巨細胞瘤的成年或骨骼成熟青少年個體的SRE；(c)治療個體之雙膦酸鹽療法難治性惡性高鈣血症；(d)治療或預防患有多發性骨髓瘤或實體腫瘤骨轉移之個體的SRE；(e)治療處於高骨折風險下之絕經後女性的骨質疏鬆症；(f)使因乳癌而接受輔助芳香酶抑制劑療法之處於高骨折風險下之女性的骨質量增加之治療；(g)使因非轉移性前列腺癌而接受雄性素剝奪療法之處於高骨折風險下之男性的骨質量增加之治療；(h)使處於高骨折風險下之患有骨質疏鬆症之男性的骨質量增加之治療；(i)利用鈣或維生素D之療法。

【0012】 本揭示內容之其他態樣包括一種預防有需要之患者的骨骼相關事件(SRE)的方法、一種治療有需要之患者的骨巨細胞瘤的方法、一種治療有需要之患者的惡性高鈣血症的方法、一種治療有需要之患者的骨質疏鬆症的方法及一種增加有需要之患者的骨質量的方法。該等方法包括向該患者投與有效量之本文中所描述之調配物中之任一種。在例示性情況下，該調配物係經皮下遞送至該患者。

【0013】 本揭示內容之另一態樣提供地諾單抗或另一人類抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分用於製造如本文中所描述之用以治療需要人類抗RANKL單株抗體之患者的藥物的用途。

【0014】 本揭示內容之另一態樣為一種套組，其包括本文中所描述之組成物或製品，以及包裝插頁、包裝標籤、說明書或者指導或揭示本文中所揭示之任何方法或實施例的其他標記。

【0015】 本揭示內容之另一態樣為一種改良包括濃度高於70 mg/mL之人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之水性醫藥調配物之穩定性的方法，該方法包括製備

pH值處於約5.0至低於5.2之範圍內的包括該人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之水性醫藥調配物的步驟，其中與不在約5.0至低於5.2範圍內之pH值下的等效水性醫藥調配物相比，該水性醫藥調配物在約5.0至低於5.2範圍內之pH值下顯示改良之穩定性。

【0016】 本揭示內容之另一態樣為一種改良包括人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之水性醫藥調配物之穩定性的方法，該方法包括製備包含該人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分與胺基酸聚集抑制劑之混合物的水性醫藥調配物的步驟，其中與不含該胺基酸聚集抑制劑之等效水性醫藥調配物相比，該水性醫藥調配物在存在該胺基酸聚集抑制劑之情況下顯示改良之穩定性。

【0017】 本揭示內容之另一態樣為一種降低地諾單抗或另一人類抗RANKL單株抗體之溶液中的HMWS聚集物水準的方法。

【0018】 根據以下詳細描述之綜述，結合附圖，其他態樣及優勢對熟習此項技術者將顯而易知。儘管該等組成物、製品及方法容許各種形式之實施例，但在理解本揭示內容為說明性的而非意欲本發明受限於本文中所描述之特定實施例的情況下，以下描述包括諸多特定實施例。關於本文中所描述之組成物、製品及方法，設想視情況存在之特徵，包括但不限於組分、其組成範圍、取代基、條件及步驟係選自本文中所提供之各種態樣、實施例及實例。

【圖式簡單說明】

【0019】 圖1、圖2及圖8顯示各種高濃度地諾單抗調配物在37°C下

藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。圖1之圖例與具有表1中所示之縮寫的調配物一致。圖8之圖例與表5中所示之字母一致。

【0020】 圖3顯示各種高濃度地諾單抗調配物在37°C下儲存1個月後之粒徑排阻層析圖。圖3之圖例與具有表2中所示之縮寫的調配物一致。

【0021】 圖4為具有表3A中所示之對應調配物編號之各調配物的藉由SE-UHPLC監測之% HMWS隨時間而變化的圖。

【0022】 圖5A及圖5B為表3A中所列出之調配物的粒徑排阻層析圖。圖5A及圖5B各自之圖例與表3B中所提及之調配物名稱一致。

【0023】 圖6為具有表4A中所示之對應調配物編號之各調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之% HMWS隨儲存時間而變化的圖。

【0024】 圖7A顯示具有表4A中所列出之地諾單抗濃度的調配物在pH 4.8下的粒徑排阻層析圖。

【0025】 圖7B顯示具有表4A中所列出之地諾單抗濃度的調配物在pH 5.1下的粒徑排阻層析圖。

【0026】 圖9為具有表6B中所示之對應調配物編號之各調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之% HMWS隨儲存時間而變化的圖。

【0027】 圖10顯示具有表6B中所指示之名稱的調配物在37°C下儲存1個月後粒徑排阻層析圖隨調配物而變化。

【0028】 圖11A為具有表7B中所指示之字母的調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨時間而變化的圖。

【0029】 圖11B為具有表7C中所指示之字母的調配物在40°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨時間而變化的圖。

【0030】 圖12A顯示表7B之調配物的粒徑排阻層析圖。

【0031】 圖12B顯示表7C之調配物的粒徑排阻層析圖。

【0032】 圖13、圖14及圖15為具有表8A中所示之對應調配物字母的各調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨儲存時間而變化的圖。圖16、圖17及圖18為表8A中所列出之調配物在37°C下儲存1個月後的層析重疊圖。圖13及圖16係關於包含芳香族胺基酸之調配物，圖14及圖17係關於包含極性/帶電胺基酸之調配物，且圖15及圖18係關於包含疏水性胺基酸之調配物。

【0033】 圖19至圖24為調配物35至38中之每一者的輕鏈胺基酸28-33 (圖19)、輕鏈胺基酸108-116 (圖20)、輕鏈胺基酸125-132 (圖21)、重鏈胺基酸47-59 (圖22)、重鏈胺基酸243-253 (圖23)及重鏈胺基酸392-399 (圖24)在4°C下之氬併入%隨時間(log(s))而變化的圖。

【0034】 圖25至圖30為調配物35至38中之每一者的輕鏈胺基酸28-33 (圖25)、輕鏈胺基酸108-117 (圖26)、輕鏈胺基酸124-131 (圖27)、重鏈胺基酸47-59 (圖28)、重鏈胺基酸242-253 (圖29)及重鏈胺基酸392-399 (圖30)在37°C下之氬併入%隨時間(log(s))而變化的圖。

【0035】 圖31為具有表10中所指示之調配物名稱的調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化的圖。

【0036】 圖32為具有表11中所指示之調配物名稱的調配物在37°C下如藉由SE-UHPLC監測之LMWS百分比隨調配物及時間而變化的圖。

【0037】 圖33為具有表12中所指示之調配物名稱的調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化的圖。

【0038】 圖34為具有表13中所指示之調配物名稱的調配物在37°C下

如藉由SE-UHPLC監測之LMWS百分比隨調配物及時間而變化的圖。

【0039】 圖35為具有表14中所指示之調配物名稱的調配物在37℃下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化的圖。

【0040】 圖36為具有表15中所指示之調配物名稱的調配物在37℃下如藉由SE-UHPLC監測之LMWS百分比隨調配物及時間而變化的圖。

【0041】 圖37為具有表10中所指示之調配物名稱的各調配物的粒徑排阻層析圖重疊圖。

【0042】 圖38為具有表12中所指示之調配物名稱的各調配物的粒徑排阻層析圖重疊圖。

【0043】 圖39為具有表14中所指示之調配物名稱的各調配物的粒徑排阻層析圖重疊圖。

【0044】 圖40A及圖40B為含有地諾單抗在不存在精胺酸時在pH 4.5、pH 4.8及pH 5.0下之等溫化學變性曲線的圖。圖40A為變性地諾單抗分數隨變性劑濃度而變化之圖。圖40B為標繪 $dF/d[\text{變性劑}]$ 隨變性劑濃度而變化之圖。

【0045】 圖41A及圖41B為含有地諾單抗在存在75 mM精胺酸鹽酸鹽時在pH 4.5、pH 4.8及pH 5.2下之等溫化學變性曲線的圖。圖41A為變性地諾單抗分數隨變性劑濃度而變化之圖。圖41B為標繪 $dF/d[\text{變性劑}]$ 隨變性劑濃度而變化之圖。

【0046】 圖42及圖43分別為具有表17中之調配物名稱的調配物在25℃下歷經3個月及在37℃下歷經2個月時藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨時間而變化的圖。

【實施方式】

對相關申請案之交叉引用

【0047】 本文根據35 U.S.C.§119 (e)主張2017年4月28日申請之美國臨時專利申請案第62/492,056號之權益，，且其揭示內容在此以引用之方式併入本文中。

以引用之方式併入以電子形式提交之材料

【0048】 以引用之方式整體併入電腦可讀核苷酸/胺基酸序列表，該序列表係與本文同時提交並且標識如下：名為「51689A_Seqlisting.txt」之49千位元組ASCII (本文)檔案；於2018年4月20日創建。

【0049】 將會需要提供地諾單抗及其他人類抗RANKL抗體及其抗原結合部分之與稀溶液同樣穩定或比稀溶液更穩定之較濃水溶液。較濃溶液可提供患者便利性，例如藉由允許投與較小體積，諸如1 mL注射液來遞送120 mg活性劑(諸如地諾單抗)，而非較稀活性調配物之1.7 mL或2 mL注射液。此外，將允許甚至更小體積之注射溶液來遞送較低劑量之活性劑，例如0.5 mL 120 mg/mL濃度地諾單抗來遞送60 mg劑量。亦將需要提供地諾單抗及其他人類抗RANKL抗體及其抗原結合部分之比先前已知溶液更穩定之水溶液。該穩定濃調配物亦將具有其他益處，諸如允許處理及運輸更小體積之產品，以及允許更久之產品儲架壽命。

【0050】 生物產品中之聚集物可在來源、大小及類型方面不同。特別關注可能影響生物產品之效力或安全性的聚集物，例如可增強免疫反應及造成不利臨床影響之聚集物。可能特別關注高分子量聚集物，又名高分子量物質(HMWS)，尤其是保留單體對應物之大部分天然構型的彼等高分子量聚集物。聚集亦可能影響治療蛋白質之皮下生體可用率及藥物動力學性質。

【0051】 聚集体形成可能有各種誘因。一般而言，蛋白質聚集導致構型不穩定性(此為蛋白質結構變化之結果)及膠體不穩定性(受分子間力控制)。在需要臨界成核事件來誘導沈澱之情況下，蛋白質聚集動力學之特徵在於包括時滯階段。

【0052】 由於構型不穩定性所致之聚集包括解摺疊及締合步驟。蛋白質分子解摺疊曝露疏水性胺基酸殘基。解摺疊分子之疏水性殘基隨後可經歷締合，由此導致聚集(例如，呈二聚物、三聚物、其他多聚物及高級聚集体形式)。此種締合具有濃度依賴性。水性溶劑中之蛋白質濃度增加一般會增加聚集，包括熱誘導之聚集的速率及程度。因而，溶液中影響蛋白質解摺疊之自由能的添加劑可能影響構型穩定性。

【0053】 膠體不穩定性經由蛋白質-蛋白質分子內締合力而產生聚集体。此種力可受一或多種因素影響，包括離子強度、溶液pH值及緩衝劑類型。

【0054】 地諾單抗可呈60 mg/mL及70 mg/mL強度之溶液形式購自市面。試圖使用相同賦形劑來調配較高濃度地諾單抗溶液顯示該較高濃度經由HMWS之伴隨及成比例增加而影響產品之穩定性。舉例而言，120 mg/mL地諾單抗濃度具有比70 mg/mL地諾單抗高出70%之濃度，並且是60 mg/mL濃度之雙倍。

【0055】 因此，根據本發明之穩定水性調配物將在比先前已知的調配物更大的程度上抵抗聚集体形成。本發明之一個態樣為以5.0至小於5.2之pH值為特徵的穩定水性調配物。本發明之另一非排他性態樣為包括胺基酸聚集抑制劑之穩定水性調配物。亦提供相關劑量呈現形式(例如呈單次使用小瓶、注射器及玻璃容器形式)及相關治療方法。另外提供製造穩

定水性醫藥調配物之方法。

【0056】 如以下所描述，pH值及胺基酸聚集抑制劑(例如，精胺酸、精胺酸-精胺酸二肽、精胺酸-苯丙胺酸二肽)為已證明可降低地諾單抗在120 mg/mL下之HMWS水準及HMWS形成速率的兩種途徑。HMWS可描述為不可逆(例如共價)或可逆(例如非共價自締合相互作用)之分子間蛋白質相互作用。對於可能導致黏度及HMWS增加之蛋白質自締合反應，存在四種廣泛接受之原因：疏水性相互作用、帶電相互作用、極性相互作用及偶極子相互作用。調配物pH值與精胺酸(在中性至酸性pH值下高度帶電之鹼性胺基酸)可干擾帶電蛋白質分子間力。不意欲受任何特定理論束縛，可設想地諾單抗在120 mg/mL下之HMWS形成係基於蛋白質電荷，且此等配方變化正在破壞HMWS形成機制所涉及之電荷力。此外不意欲受任何特定理論束縛，可設想HMWS形成中亦可能存在疏水性蛋白質自締合相互作用，因為精胺酸在側鏈中含有短脂族烴鏈。此脂族鏈可能破壞蛋白質之間的疏水性相互作用。調配物中包括苯丙胺酸以額外降低HMWS水準進一步支持此構想。不受任何特定理論束縛，精胺酸以不同於苯丙胺酸之方式使抗RANKL抗體穩定，使得若精胺酸經由疏水性相互作用與抗體相互作用，則精胺酸可以一或多種其他方式與該抗體相互作用。

【0057】 當與精胺酸相比時，可能對降低HMWS水準及形成速率具有有可能正面影響之其他賦形劑可在中性至酸性pH值下具有類似的帶正電基團，及/或在性質上與苯丙胺酸類似，可為疏水性的。此等賦形劑之實例可包括離胺酸、N-乙醯基精胺酸、N-乙醯基離胺酸、酪胺酸、色胺酸及白胺酸。

【0058】 除非另有說明，否則設想該等調配物、劑量呈現形式及方法包括有包括以下進一步描述之其他視情況存在之要素、特徵及步驟(包括圖中所示之彼等)中之一或多個的任何組合的實施例。

【0059】 在禁止對人體實施之方法獲得專利的管轄權方面，向人類個體「投與」組成物之含義應侷限於規定人類個體將藉由任何技術(例如經口、吸入、局部投與、注射、插入等)自我投與之管制物質。意欲最廣泛之合理解釋與界定可獲得專利之標的物的法律或法規一致。在不禁止對人體實施之方法獲得專利的管轄權方面，「投與」組成物包括對人體實施之方法與上述活動二者。

【0060】 如本文中所使用，術語「包含」指示除規定物以外亦可能包括其他試劑、要素、步驟或特徵。

【0061】 應理解，貫穿本說明書提供之每個最大數值限制包括與每個對應較低數值限制形成之範圍作為替代態樣，如同明確書寫此種範圍。貫穿本說明書提供之每個最小數值限制將包括與每個較高數值限制形成之範圍作為替代態樣，如同明確書寫此種範圍。貫穿本說明書提供之每個數值範圍將包括屬於此種較寬數值範圍內之每個較窄數值範圍，如同本文中明確書寫所有此種較窄數值範圍。本文中所揭示之幅度及值應理解為包括揭示所敘述之值及對應準確數值，例如，描述為「約10 mM」之值應理解為包括「10 mM」作為替代揭示內容。

【0062】 如本文中所使用之術語「治療有效量」係指足以治療、改善或預防所鑑定之疾病或病狀，或者展現可偵測之治療、預防或抑制效果的化合物量。該效果可藉由例如臨床病狀之改良或症狀之減少加以偵測。個體之精確有效量將視該個體之體重、體型及健康狀況、病狀之性質及程

度以及選擇投與之治療劑或治療劑組合而定。在藥物已經美國食品與藥物管理局(FDA)批准之情況下，「治療有效量」係指經FDA或其境外代理機構批准用於治療所鑑定之疾病或病狀的劑量。

【0063】 本發明提供經穩定之(或穩定)水性醫藥調配物，如儲存後聚集物之量減少及/或聚集物形成速率降低所顯示。如本文中所描述，此種調配物之穩定性係由在各種時段內及在各種溫度下儲存後HMWS之量減少及/或HMWS形成速率降低來證明。一般而言，較高穩定性調配物與較高儲存溫度下相對於較低溫度下存在較低量之HMWS、較低HMWS形成速率及/或較高抗體主峰相關。如本文中所使用，術語「高分子量物質」或「HMWS」係指調配物之抗體之高級聚集物以及調配物之抗體之低級聚集物。低級聚集物包括例如二聚物。可藉由諸多技術來量測或監測聚集物量及形成速率，諸如SE-UHPLC。在一些情況下，抗體之SE-UHPLC層析圖顯示處於約5.8分鐘處表示水性醫藥調配物之HMWS之量的峰、處於約6.7分鐘處表示二聚物之峰及處於約8.0分鐘處表示抗體之完整未聚集形式之量的峰。相對於4°C儲存，37°C儲存允許穩定性分析加速，從而可在相對於4°C儲存時段較短之時段內測定特定調配物之穩定性。舉例而言，在37°C下儲存1個月、2個月或3個月可指示或預示在4°C下儲存36個月。

【0064】 在一種類型之實施例中，與由作為賦形劑之10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇、0.01% (w/v)聚山梨糖醇酯20組成且具有溶液pH值5.2之等濃度對照調配物相比，如本文中所描述之穩定調配物在37°C下儲存3個月後將顯示降低之HMWS程度及形成速率。

【0065】 在另一類型之實施例中，與不含胺基酸聚集抑制劑之等效

對照調配物相比，如本文中所描述且包括胺基酸聚集抑制劑之經穩定之調配物在37°C下儲存1個月後將顯示降低之HMWS形成程度。舉例而言，與對照調配物相比，在37°C下儲存1個月後，形成程度可降低至使得藉由SE-UPHLC獲得之HMWS之量%降低至少約0.1%或約0.2%或約0.3%、或約0.4%、或約0.5%、或約0.6%、或約0.7%，例如在約0.1%至約2%或約0.1%至約1%之範圍內。

【0066】 在另一類型之實施例中，如本文中所描述之經穩定之調配物在37°C下儲存1個月後將具有較低量之HMWS（藉由SE-UHPLC）。舉例而言，HMWS之量可不超過2%或低於2%、或者不超過1.9%或低於1.9%、或者不超過1.8%或低於1.8%、或者不超過1.7%或低於1.7%、或者不超過1.6%或低於1.6%、或者不超過1.5%或低於1.5%、或者不超過1.4%或低於1.4%、或者不超過1.3%或低於1.3%、或者不超過1.2%或低於1.2%，例如在約0.01%至約2%、或約0.01%至約1.9%、或約0.01%至約1.8%、或約0.01%至約1.7%、或約0.01%至約1.6%、或約0.01%至約1.5%、或約0.01%至約1.4%、或約0.01%至約1.3%、或約0.01%至約1.2%之範圍內。在另一類型之實施例中，在37°C下儲存1個月後藉由SE-UHPLC獲得之HMWS之量可超過2%，例如超過2%且至多3%，而由胺基酸聚集抑制劑提供之降低之聚集速率將允許適合之產品儲架壽命，例如至多三年或至多兩年。

【0067】 在另一類型之實施例中，如本文中所描述之經穩定之調配物在37°C下儲存3個月後將具有較低量之HMWS（藉由SE-UHPLC）。舉例而言，HMWS之量可不超過2%或低於2%、或者不超過1.9%或低於1.9%、或者不超過1.8%或低於1.8%、或者不超過1.7%或低於1.7%、或者

不超過1.6%或低於1.6%、或者不超過1.5%或低於1.5%、或者不超過1.4%或低於1.4%、或者不超過1.3%或低於1.3%、或者不超過1.2%或低於1.2%，例如在約0.01%至約2%、或約0.01%至約1.9%、或約0.01%至約1.8%、或約0.01%至約1.7%、或約0.01%至約1.6%、或約0.01%至約1.5%、或約0.01%至約1.4%、或約0.01%至約1.3%、或約0.01%至約1.2%之範圍內。

【0068】 在另一類型之實施例中，如本文中所描述之經穩定之調配物在4°C下儲存36個月後將具有較低量之HMWS (藉由SE-UHPLC)。舉例而言，HMWS之量可不超過2%或低於2%、或者不超過1.9%或低於1.9%、或者不超過1.8%或低於1.8%、或者不超過1.7%或低於1.7%、或者不超過1.6%或低於1.6%、或者不超過1.5%或低於1.5%、或者不超過1.4%或低於1.4%、或者不超過1.3%或低於1.3%、或者不超過1.2%或低於1.2%，例如在約0.01%至約2%、或約0.01%至約1.9%、或約0.01%至約1.8%、或約0.01%至約1.7%、或約0.01%至約1.6%、或約0.01%至約1.5%、或約0.01%至約1.4%、或約0.01%至約1.3%、或約0.01%至約1.2%之範圍內。

【0069】 在另一類型之實施例中，如本文中所描述之經穩定之調配物在37°C下儲存1個月後將具有較高量之地諾單抗或其他抗體(或其抗原結合部分)主峰(藉由SE-UHPLC)。舉例而言，主峰之量可為至少95%或超過95%、或者至少96%或超過96%、或者至少97%或超過97%、或者至少97.5%或超過97.5%、或者至少98%或超過98%、或者至少98.1%或超過98.1%、或者至少98.2%或超過98.2%、或者至少98.3%或超過98.3%、或者至少98.4%或超過98.4%、或者至少98.5%或超過98.5%、或者至少

98.6%或超過98.6%，例如在約95%至約99.9%、或約96%至約99.9%、或約97%至約99.9%、或約97.5%至約99.9%、或約98%至約99.9%、或約98.1%至約99.9%、或約98.2%至約99.9%、或約98.3%至約99.9%、或約98.4%至約99.9%、或約98.5%至約99.9%、或約98.6%至約99.9%之範圍內。

【0070】 在另一類型之實施例中，如本文中所描述之經穩定之調配物在37°C下儲存3個月後將具有較高量之地諾單抗或其他抗體(或其抗原結合部分)主峰(藉由SE-UHPLC)。舉例而言，主峰之量可為至少95%或超過95%、或者至少96%或超過96%、或者至少97%或超過97%、或者至少97.5%或超過97.5%、或者至少98%或超過98%、或者至少98.1%或超過98.1%、或者至少98.2%或超過98.2%、或者至少98.3%或超過98.3%、或者至少98.4%或超過98.4%、或者至少98.5%或超過98.5%、或者至少98.6%或超過98.6%，例如在約95%至約99.9%、或約96%至約99.9%、或約97%至約99.9%、或約97.5%至約99.9%、或約98%至約99.9%、或約98.1%至約99.9%、或約98.2%至約99.9%、或約98.3%至約99.9%、或約98.4%至約99.9%、或約98.5%至約99.9%、或約98.6%至約99.9%之範圍內。

【0071】 在另一類型之實施例中，如本文中所描述之經穩定之調配物在4°C下儲存36個月後將具有較高量之地諾單抗或其他抗體(或其抗原結合部分)主峰(藉由SE-UHPLC)。舉例而言，主峰之量可為至少95%或超過95%、或者至少96%或超過96%、或者至少97%或超過97%、或者至少97.5%或超過97.5%、或者至少98%或超過98%、或者至少98.1%或超過98.1%、或者至少98.2%或超過98.2%、或者至少98.3%或超過98.3%、或

者至少98.4%或超過98.4%、或者至少98.5%或超過98.5%、或者至少98.6%或超過98.6%，例如在約95%至約99.9%、或約96%至約99.9%、或約97%至約99.9%、或約97.5%至約99.9%、或約98%至約99.9%、或約98.1%至約99.9%、或約98.2%至約99.9%、或約98.3%至約99.9%、或約98.4%至約99.9%、或約98.5%至約99.9%、或約98.6%至約99.9%之範圍內。

【0072】 在其他實施例中，設想經穩定之調配物在根據以上所描述之規定進行儲存後將具有較低量之HMWS及較高量之主峰。

【0073】 在例示性態樣中，水性醫藥調配物在儲存後包含不超過約4%高分子量物質(HMWS)及/或包含超過約96%之抗體主峰，如藉由SE-UHPLC所量測。在例示性態樣中，水性醫藥調配物在儲存後包含不超過約3%高分子量物質(HMWS)及/或包含超過約97%之抗體主峰，如藉由SE-UHPLC所量測。在例示性態樣中，水性醫藥調配物在儲存後包含少於約2% HMWS及/或超過約98%之抗體主峰，如藉由SE-UHPLC所量測。在例示性態樣中，儲存係在約2°C至約8°C(例如，約2°C、約3°C、約4°C、約5°C、約6°C、約7°C、約8°C)之溫度下持續至少12個月、24個月或36個月(例如，至少或約12個月、至少或約16個月、至少或約20個月、至少或約24個月、至少或約28個月、至少或約32個月、至少或約36個月，視情況更久)。在例示性態樣中，儲存係在約20°C至約30°C(例如，約21°C至約30°C、約22°C至約30°C、約23°C至約30°C、約24°C至約30°C、約25°C至約30°C、約26°C至約30°C、約27°C至約30°C、約28°C至約30°C、約28°C至約30°C、約20°C至約29°C、約20°C至約28°C、約20°C至約27°C、約20°C至約26°C、約20°C至約25°C、約20°C至約24°C、約20°C至約23°C、

約20°C至約22°C)下持續約1個月(例如，約26天、約27天、約28天、約29天、約30天、約31天、約32天、約33天、約34天、約35天、約36天)。在例示性態樣中，該儲存包括第一儲存後進行第二儲存，並且該第一儲存為在約2°C至約8°C下持續至少12個月、24個月或36個月，且該第二儲存為在約20°C至約30°C下持續約1個月。在例示性情況下，該水性醫藥調配物包含不超過2% HMWS或少於2% HMWS、或者不超過1.9% HMWS或少於1.9% HMWS、或者不超過1.8% HMWS或少於1.8% HMWS、或者不超過1.7% HMWS或少於1.7% HMWS、或者不超過1.6% HMWS或少於1.6% HMWS、或者不超過1.5% HMWS或少於1.5% HMWS、或者不超過1.4% HMWS或少於1.4% HMWS、或者不超過1.3% HMWS或少於1.3% HMWS、或者不超過1.2% HMWS或少於1.2% HMWS，例如，視情況在約0.01%至約2% HMWS、或約0.01%至約1.9% HMWS、或約0.01%至約1.8% HMWS、或約0.01%至約1.7% HMWS、或約0.01%至約1.6% HMWS、或約0.01%至約1.5% HMWS、或約0.01%至約1.4% HMWS、或約0.01%至約1.3% HMWS、或約0.01%至約1.2% HMWS之範圍內，如藉由SE-UHPLC所量測。在替代或額外態樣中，該水性醫藥調配物包含超過98%之抗體主峰、或者至少95%抗體主峰或超過95%抗體主峰、或者至少96%抗體主峰或超過96%抗體主峰、或者至少97%抗體主峰或超過97%抗體主峰、或者至少97.5%抗體主峰或超過97.5%抗體主峰、或者至少98%抗體主峰或超過98%抗體主峰、或者至少98.1%抗體主峰或超過98.1%抗體主峰、或者至少98.2%抗體主峰或超過98.2%抗體主峰、或者至少98.3%抗體主峰或超過98.3%抗體主峰、或者至少98.4%抗體主峰或超過98.4%抗體主峰、或者至少98.5%抗體主峰或超過98.5%抗體主峰、或者

至少98.6%抗體主峰或超過98.6%抗體主峰，例如視情況在約95%至約99.9%抗體主峰、或約96%至約99.9%抗體主峰、或約97%至約99.9%抗體主峰、或約97.5%至約99.9%抗體主峰、或約98%至約99.9%抗體主峰、或約98.1%至約99.9%抗體主峰、或約98.2%至約99.9%抗體主峰、或約98.3%至約99.9%抗體主峰、或約98.4%至約99.9%抗體主峰、或約98.5%至約99.9%抗體主峰、或約98.6%至約99.9%抗體主峰之範圍內，如藉由SE-UHPLC所量測。

【0074】如本文中所使用，術語「抗體」係指具有習知免疫球蛋白形式、包含重鏈及輕鏈且包含可變區及恆定區之蛋白質。舉例而言，抗體可為IgG，其為具有兩對一致多肽鏈之「Y形」結構，每一對具有一個「輕」鏈(典型地具有約25 kDa之分子量)及一個「重」鏈(典型地具有約50-70 kDa之分子量)。抗體具有可變區及恆定區。在IgG形式中，可變區一般為約100-110個或更多個胺基酸，包含三個互補性決定區(CDR)，主要負責抗原識別，並且實質上與結合不同抗原的其他抗體不同。參見例如Janeway 等人，「Structure of the Antibody Molecule and the Immunoglobulin Genes」，Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 第4版. Elsevier Science Ltd./Garland Publishing, (1999)。

【0075】簡而言之，在抗體框架中，CDR嵌埋於重鏈及輕鏈可變區中之構架內，其中，其組成主要負責抗原結合及識別之區域。可變區包含至少三個重鏈CDR或輕鏈CDR (Kabat等人, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Public Health Service N.I.H., Bethesda, Md；亦參見Chothia及Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917；Chothia等

人, 1989, Nature 342: 877-883), 處於構架區(由Kabat等人, 1991命名為構架區1至4, 亦即FR1、FR2、FR3及FR4; 亦參見Chothia及Lesk, 1987)內。

【0076】 人類輕鏈分類為 κ 輕鏈及 λ 輕鏈。重鏈分類為 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ , 且抗體同型分別定義為IgM、IgD、IgG、IgA及IgE。IgG具有若干子類, 包括但不限於IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。IgM具有諸多子類, 包括但不限於IgM1及IgM2。本發明之實施例包括所有此種抗體類別或同型。輕鏈恆定區可為例如 κ 型或 λ 型輕鏈恆定區, 例如人類 κ 型或 λ 型輕鏈恆定區。重鏈恆定區可為例如 α 型、 δ 型、 ϵ 型、 γ 型或 μ 型重鏈恆定區, 例如人類 α 型、 δ 型、 ϵ 型、 γ 型或 μ 型重鏈恆定區。因此, 在例示性實施例中, 該抗體為同型IgA、IgD、IgE、IgG或IgM之抗體, 包括IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中之任一種。在例示性態樣中, 該抗RANKL抗體為IgG1、IgG2或IgG4抗體。

【0077】 在各種態樣中, 該抗體可為單株抗體或多株抗體。在一些態樣中, 該抗體包含實質上與由哺乳動物, 例如小鼠、大鼠、兔、山羊、馬、雞、倉鼠、豬、人類及其類似哺乳動物產生之天然存在抗體類似的序列。就此而言, 抗體可視為哺乳動物抗體, 例如小鼠抗體、大鼠抗體、兔抗體、山羊抗體、馬抗體、雞抗體、倉鼠抗體、豬抗體、人類抗體及其類似抗體。在某些態樣中, 抗RANKL抗體為單株人類抗體。在某些態樣中, 重組蛋白質為嵌合抗體或人類化抗體。術語「嵌合抗體」在本文中用於指含有來自一個物種之恆定域及來自第二物種之可變域, 或更一般而言, 含有來自至少兩個物種之胺基酸序列區段的抗體。術語「人類化」在關於抗體使用時係指至少具有經工程改造以具有比原始來源抗體更類似於

真人類抗體之結構及免疫學功能的非人類來源CDR區的抗體。舉例而言，人類化可包括將來自非人類抗體，諸如小鼠抗體之CDR移植至人類抗體中。人類化亦可包括選擇胺基酸取代以使非人類序列看起來更類似人類序列。

【0078】 在各種態樣中，抗體被酶，諸如木瓜蛋白酶及胃蛋白酶割裂成片段。木瓜蛋白酶割裂抗體而產生兩個Fab片段及單一Fc片段。胃蛋白酶割裂抗體從而產生F(ab')₂片段及pFc'片段。在例示性態樣中，水性醫藥調配物包含保留至少一個抗原(RANKL)結合位點之抗體片段，例如Fab、Fc、F(ab')₂或pFc'。關於本發明之水性醫藥調配物及方法，抗體可能缺乏抗體之某些部分，並且可能為結合至RANKL之抗體片段。在例示性態樣中，抗體片段為抗RANKL抗體之抗原結合部分。

【0079】 抗體蛋白產物可為基於保留完全抗原結合能力之抗體片段，例如scFv、Fab及VHH/VH的抗原結合形式。保留其完整抗原結合位點之最小抗原結合片段為Fv片段，後者完全由可變(V)區組成。使用可溶性可撓性胺基酸肽連接子將V區連接至scFv片段(可變單鏈片段)以使該分子穩定，或將恆定(C)域添加至V區以產生Fab片段[抗原結合片段]。scFv與Fab皆為廣泛使用之片段，二者皆可在宿主，例如原核宿主中容易地產生。其他抗體蛋白產物包括經二硫鍵穩定之scFv (ds-scFv)、單鏈Fab (scFab)以及二聚及多聚抗體形式，如雙功能抗體、三功能抗體及四功能抗體，或包含由與寡聚結構域連接之scFv組成的不同形式的迷你抗體(miniAb)。最小片段為駱駝重鏈Ab以及單結構域Ab (sdAb)之VHH/VH。最常用於建造新穎抗體形式之構建嵌段為單鏈可變(V)域抗體片段(scFv)，其包含由具有約15個胺基酸殘基之肽連接子連接的來自重鏈及輕

鏈之V域(VH域及VL域)。肽抗體或肽-Fc融合物為另一抗體蛋白產物。肽抗體之結構由移植至Fc結構域上之生物學活性肽組成。此項技術中已充分描述了肽抗體。參見例如Shimamoto等人, mAbs 4(5): 586-591 (2012)。

【0080】 其他抗體蛋白產物包括單鏈抗體(SCA)、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、雙特異性或三特異性抗體及其類似抗體。雙特異性抗體可分成五個主要類別：BsIgG、附加IgG、BsAb片段、雙特異性融合蛋白及BsAb綴合物。參見例如Spiess等人, Molecular Immunology 67(2) Part A: 97-106 (2015)。

【0081】 在例示性態樣中，抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含此等抗體蛋白產物(例如，scFv、Fab VHH/VH、Fv片段、ds-scFv、scFab、二聚抗體、多聚抗體(例如，雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體)、迷你抗體、駱駝重鏈抗體之肽抗體VHH/VH、sdAb、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、雙特異性或三特異性抗體、BsIgG、附加IgG、BsAb片段、雙特異性融合蛋白及BsAb綴合物)、基本上由其組成或由其組成。

【0082】 在例示性態樣中，抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含呈單體形式或者聚合、寡聚或多聚形式之抗體蛋白產物、基本上由其組成或由其組成。在抗體包含兩個或更多個獨特抗原結合區片段的某些實施例中，該抗體被視為雙特異性、三特異性或多特異性的，或者二價、三價或多價的，視該抗體所識別並結合之獨特抗原決定基的數目而定。

【0083】 用於該調配物中之人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)抗體或其抗原結合部分為特異性結合人類RANKL蛋白或人類骨保護素(OPGL)蛋白或其片段並且抑制或中和RANKL或OPGL蛋白

之活性及/或抑制RANK/RANKL信號轉導途徑的抗體或其抗原結合部分，且在本文中稱為人類抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分。舉例而言，本文中所描述之調配物可包含特異性結合人類RANKL (SEQ ID NO: 12) 或其部分之胺基酸序列的人類抗RANKL單株抗體。人類RANKL蛋白為由SEQ ID NO: 11之聚核苷酸序列編碼的跨膜或可溶性蛋白，已知其對於蝕骨細胞之形成、功能及存活而言為必需的。舉例而言，人類抗RANKL抗體抑制RANKL與其受體RANK之相互作用。

【0084】 人類抗RANKL單株抗體之實例為地諾單抗，其作為Xgeva®及Prolia®以市售形式出售。Xgeva®為處於單次使用小瓶中之120 mg劑量地諾單抗調配物之1.7 mL溶液(70 mg/mL)，其含有120 mg地諾單抗、乙酸鹽(18 mM)、山梨糖醇(4.6%)、注射用水(USP)及達至pH 5.2之氫氧化鈉。Prolia®可作為60 mg劑量地諾單抗調配物之1 mL溶液(60 mg/mL)獲得。Prolia®之各1 mL單次使用預填充注射器含有60 mg地諾單抗(60 mg/mL溶液)、4.7%山梨糖醇、17 mM乙酸鹽、0.01%聚山梨糖醇酯20、注射用水(USP)及達至pH 5.2之氫氧化鈉。特定言之，設想如本文中所描述且包括地諾單抗或其部分之調配物。地諾單抗為結合至人類RANKL之完全人類IgG2單株抗體。地諾單抗具有147 kDa之近似分子量且表現於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞株中。地諾單抗可變輕鏈(LC)及可變重鏈(HC)之胺基酸序列分別示於SEQ ID NO: 1及2中，且全長LC及HC分別示為SEQ ID NO: 3及4。在一些態樣中，包含編碼SEQ ID NO: 1 (地諾單抗可變LC)之胺基酸序列之核苷酸序列的核酸為SEQ ID NO: 19之核酸。在一些態樣中，包含編碼SEQ ID NO: 2 (地諾單抗可變HC)之胺基酸序列之核苷酸序列的核酸為SEQ ID NO: 20之核酸。在一些態樣中，包含編碼

SEQ ID NO: 3 (全長地諾單抗LC)之胺基酸序列之核苷酸序列的核酸為SEQ ID NO: 21之核酸。在一些態樣中，包含編碼SEQ ID NO: 4 (全長地諾單抗HC)之胺基酸序列之核苷酸序列的核酸為SEQ ID NO: 23之核酸。表示為全長LC之胺基酸21-235的成熟形式LC示為SEQ ID NO: 13，而表示為全長HC之胺基酸20-467的成熟形式HC示為SEQ ID NO: 14。在一些態樣中，包含編碼SEQ ID NO: 13 (成熟形式LC)之胺基酸序列之核苷酸序列的核酸為SEQ ID NO: 22之核酸。在一些態樣中，包含編碼SEQ ID NO: 14 (成熟形式HC)之胺基酸序列之核苷酸序列的核酸為SEQ ID NO: 24之核酸。另外，地諾單抗LC CDR示為SEQ ID NO: 5 (LC CDR1)、SEQ ID NO: 6 (LC CDR2)及SEQ ID NO: 7 (LC CDR3)。地諾單抗HC CDR示為SEQ ID NO: 8 (HC CDR1)、SEQ ID NO: 9 (HC CDR2)及SEQ ID NO: 10 (HC CDR3)。國際專利申請案第WO 03/002713號及美國專利第7,364,736號中已描述並主張了地諾單抗，二者之揭示內容係以引用之方式整體併入本文中。

【0085】 如本文中所使用，術語「地諾單抗」包括地諾單抗之生物類似物。如本文中所使用，(經批准之參考產品/生物藥物，諸如蛋白質治療劑、抗體等之)「生物類似物」係指基於來源於以下研究之資料與參考產品類似之生物產品：**(a)**顯示生物產品高度類似於參考產品但在臨床無活性組分方面存在微小差異的分析研究；**(b)**動物研究(包括毒性之評定)；及/或**(c)**足以及在參考產品經許可且意欲使用並且生物產品正尋求許可之一或多種適當使用條件下顯示安全性、純度及效能之臨床研究(包括免疫原性及藥物動力學性質或藥效學性質之評定)。在一個實施例中，生物類似生物產品及參考產品在提議標籤中規定、推薦或建議之使用條件下利用相

同的作用機制，但僅在已知參考產品之作用機制的程度上。在一個實施例中，提議用於生物產品之標籤中規定、推薦或建議之使用條件先前已批准用於參考產品。在一個實施例中，生物產品之投與途徑、劑型及/或強度與參考產品相同。在一個實施例中，製造、加工、包裝或容納生物產品之機構滿足確保生物產品繼續安全、純並且有效的設計標準。參考產品可能在美國、歐洲或日本中之至少一者內經批准。生物類似物可為例如與市售抗體具有相同主要胺基酸序列但可能在不同的細胞類型中或藉由不同的產生、純化或調配方法製造的抗體。

【0086】 該等調配物可包含有包含SEQ ID NO: 1-4、13、14之胺基酸序列中之至少一個或其部分的人類抗RANKL抗體。該等調配物可包含有包含如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10中所示之CDR胺基酸序列中的至少一個、或如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10中所示之CDR胺基酸序列中的至少兩個、或如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10中所示之CDR胺基酸序列中的至少三個、或如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10中所示之CDR胺基酸序列中的至少四個、或如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10中所示之CDR胺基酸序列中的至少五個、或如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9或SEQ ID NO: 10中所示之CDR胺基酸序列中的至少六個的人類抗RANKL抗體。

【0087】 該等調配物可包含有包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少80%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少85%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少90%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少91%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少92%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少93%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少94%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少95%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少96%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少97%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少

一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少98%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體，或包含至少一個與SEQ ID NO: 1-4、13及14中之任一者具有至少99%一致性且抑制RANKL與其受體RANK之間的相互作用的胺基酸序列的人類抗RANKL抗體。

【0088】在例示性實施例中，該水性醫藥調配物包含抗RANKL抗體或其抗原結合部分，包括抗體蛋白產物，如本文中所描述。在例示性態樣中，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含有包含SEQ ID NO: 5中所示之胺基酸序列的輕鏈CDR1序列。在替代或額外情況下，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含有包含SEQ ID NO: 6中所示之胺基酸序列的輕鏈CDR2序列。在替代或額外態樣中，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含重鏈可變域，該重鏈可變域包含有包含SEQ ID NO: 10中所示之胺基酸序列的重鏈CDR3序列。在一些情況下，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6及SEQ ID NO: 10。在例示性態樣中，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含(i)包含有包含SEQ ID NO: 7中所示之胺基酸序列的輕鏈CDR3序列的輕鏈可變域；(ii)包含有包含SEQ ID NO: 8、視情況SEQ ID NO: 27中所示之胺基酸序列的重鏈CDR1序列的重鏈可變域；(iii)包含有包含SEQ ID NO: 9中所示之胺基酸序列的重鏈CDR2序列的重鏈可變域；或(iv)其任何組合。在一些態樣中，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含(A)包含有包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的輕鏈CDR1的輕鏈可變域、包含有包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的輕鏈CDR2的輕鏈可變域及包含有包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的

輕鏈CDR3的輕鏈可變域；及(B)包含有包含SEQ ID NO: 8 (視情況SEQ ID N: 27)之胺基酸序列的重鏈CDR1的重鏈可變域、包含有包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈CDR2的重鏈可變域及包含有包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的重鏈CDR3的重鏈可變域。在例示性態樣中，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含：(A)輕鏈可變域，該輕鏈可變域係選自由以下組成之群：(i)包含與SEQ ID NO: 1具有至少80% (例如，至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%)一致性之胺基酸序列的輕鏈可變域；(ii)包含由包含SEQ ID NO: 19之聚核苷酸序列編碼之胺基酸序列的輕鏈可變域；及(iii)包含由在嚴格條件下與由SEQ ID NO: 19組成之聚核苷酸之互補序列雜交的聚核苷酸編碼之胺基酸序列的輕鏈可變域；或(B)重鏈可變域，該重鏈可變域係選自由以下組成之群：(i)包含與SEQ ID NO: 2具有至少80% (例如，至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%)一致性之胺基酸序列的重鏈可變域；(ii)包含由包含SEQ ID NO: 20之聚核苷酸序列編碼之胺基酸序列的重鏈可變域；及(iii)包含由在嚴格條件下與由SEQ ID NO: 20組成之聚核苷酸之互補序列雜交的聚核苷酸編碼之胺基酸序列的重鏈可變域；或(C) (A)之輕鏈可變域及(B)之重鏈可變域。在例示性態樣中，該抗RANKL抗體為完全人類抗體、人類化抗體或嵌合抗體。在例示性情況下，該抗原結合部分為Fab、Fab'、F(ab')₂或單鏈Fv。在例示性態樣中，該抗RANKL抗體為IgG₁、IgG₂或IgG₄抗體，視情況，其中該抗RANKL抗體包含SEQ ID NO: 15之序列。在一些態樣中，該抗RANKL抗體包含SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 17

或SEQ ID NO: 18之序列。在例示性態樣中，該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含：(A)輕鏈，該輕鏈係選自由以下組成之群：(i)包含與SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 13具有至少80% (例如，至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%)一致性之胺基酸序列的輕鏈；(ii)包含由SEQ ID NO: 21或23之聚核苷酸序列編碼之胺基酸序列的輕鏈；及(iii)包含由在嚴格條件下與由SEQ ID NO: 21或23組成之聚核苷酸之互補序列雜交的聚核苷酸編碼之胺基酸序列的輕鏈；或(B)重鏈，該重鏈係選自由以下組成之群：(i)包含與SEQ ID NO: 4或SEQ ID NO: 14具有至少80% (例如，至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%)一致性之胺基酸序列的重鏈；(ii)包含由SEQ ID NO: 22或24之聚核苷酸序列編碼之胺基酸序列的重鏈；及(iii)包含由在嚴格條件下與由SEQ ID NO: 22或24組成之聚核苷酸之互補序列雜交的聚核苷酸編碼之胺基酸序列的重鏈；或(C) (A)之輕鏈可變域及(B)之重鏈可變域。

【0089】 該水性調配物中之地諾單抗或其他人類抗RANKL抗體或其抗原結合部分之濃度一般可處於任何適用範圍內，例如約0.1至約200 mg/mL。隨著濃度增加，黏度增加，此可能妨礙該調配物加工成無菌劑量呈現形式以供用於醫藥用途。

【0090】 在一個態樣中，藉由胺基酸聚集抑制劑改良調配物之穩定性可存在於地諾單抗或其他人類抗RANKL抗體或其抗原結合部分之任何濃度下，包括約10 mg/mL至約200 mg/mL、或約15 mg/mL至約150 mg/mL、或約30 mg/mL至約200 mg/mL、或約60 mg/mL至約200

mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 180 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 160 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 150 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 140 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 130 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 120 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 110 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 100 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 90 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 80 mg/mL、或約 60 mg/mL 至約 70 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 200 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 180 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 160 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 150 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 140 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 130 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 120 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 110 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 100 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 90 mg/mL、或約 70 mg/mL 至約 80 mg/mL，例如 120 mg/mL。

【0091】在另一態樣中，對於具有約 5.0 至低於 5.2 之 pH 值的調配物，設想地諾單抗或其他人類抗 RANKL 抗體或其抗原結合部分之濃度包括超過 70 mg/mL、或至少 71 mg/mL、或至少約 75 mg/mL、或至少約 80 mg/mL、或至少約 85 mg/mL、或至少約 90 mg/mL、或至少約 95 mg/mL、或至少約 100 mg/mL、或至少約 105 mg/mL、或至少約 110 mg/mL、或至少約 115 mg/mL、或至少約 120 mg/mL 且至多約 200 mg/mL 之範圍。舉例而言，設想範圍包括 71 mg/mL 至約 200 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 200 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 180 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 160 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 150 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 140 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 130 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 120 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 110 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 100 mg/mL、或約 75 mg/mL 至約 90 mg/mL、或約 120 mg/mL 至約 200

mg/mL、或約120 mg/mL至約180 mg/mL、或約120 mg/mL至約160 mg/mL、或約120 mg/mL至約140 mg/mL，例如120 mg/mL。

【0092】在例示性態樣中，該水性醫藥調配物包含濃度高於70 mg/mL，例如高於80 mg/mL、高於90 mg/mL、高於100 mg/mL、高於125 mg/mL、高於150 mg/mL、高於175 mg/mL、高於200 mg/mL、高於225 mg/mL、高於250 mg/mL、高於275 mg/mL之該抗體或其抗原結合部分。在例示性態樣中，該水性醫藥調配物包含濃度低於約300 mg/mL，例如低於約275 mg/mL、低於約250 mg/mL、低於約225 mg/mL、低於約200 mg/mL、低於約175 mg/mL或低於約150 mg/mL之該抗體或其抗原結合部分。在例示性態樣中，該調配物中之抗體或其抗原結合部分之濃度處於約10 mg/mL至約300 mg/mL之範圍內，例如約25 mg/mL至約300 mg/mL、約50 mg/mL至約300 mg/mL、約75 mg/mL至約300 mg/mL、約125 mg/mL至約300 mg/mL、約150 mg/mL至約300 mg/mL、約175 mg/mL至約300 mg/mL、約200 mg/mL至約300 mg/mL、約225 mg/mL至約300 mg/mL、約250 mg/mL至約300 mg/mL、約275 mg/mL至約300 mg/mL、約10 mg/mL至約275 mg/mL、約10 mg/mL至約250 mg/mL、約10 mg/mL至約225 mg/mL、約10 mg/mL至約200 mg/mL、約10 mg/mL至約175 mg/mL、約10 mg/mL至約150 mg/mL、約10 mg/mL至約125 mg/mL、約10 mg/mL至約100 mg/mL、約10 mg/mL至約75 mg/mL、約10 mg/mL至約50 mg/mL或約10 mg/mL至約25 mg/mL。在例示性態樣中，該水性醫藥調配物包含濃度處於高於70 mg/mL至約300 mg/mL之範圍內，例如高於80 mg/mL至約300 mg/mL、高於90 mg/mL至約300 mg/mL、高於100 mg/mL至約300 mg/mL、高於125 mg/mL至約300

mg/mL、高於150 mg/mL至約300 mg/mL、高於175 mg/mL至約300 mg/mL、高於200 mg/mL至約300 mg/mL、高於70 mg/mL至約275 mg/mL、高於約70 mg/mL至約250 mg/mL、高於約70 mg/mL至約225 mg/mL、高於約70 mg/mL至約200 mg/mL、高於約70 mg/mL至約175 mg/mL、高於約70 mg/mL至約150 mg/mL、高於約70 mg/mL至約125 mg/mL、高於約70 mg/mL至約100 mg/mL之該抗體或其抗原結合部分。在例示性態樣中，該水性醫藥調配物包含濃度處於約100至約140 mg/mL之範圍內，例如約110 mg/mL、約120 mg/mL、約130 mg/mL之該抗體或其抗原結合部分。在一個態樣中，該水性醫藥調配物包含濃度為約120 mg/mL $\pm$ 12 mg/mL，例如約108 mg/mL至約132 mg/mL、約115 mg/mL至約125 mg/mL、約116 mg/mL、約117 mg/mL、約118 mg/mL、約119 mg/mL、約120 mg/mL、約121 mg/mL、約122 mg/mL、約123 mg/mL、約124 mg/mL之該抗體或其抗原結合部分。

【0093】 可根據國際專利公開案WO 2003002713 A2中所提供之描述來製備地諾單抗及其他人類抗RANKL單株抗體及其抗原結合部分。

【0094】 以下所描述之對高濃度地諾單抗溶液(例如120 mg/mL)之調配研究顯示在pH 5以下且尤其在更低pH值(例如pH 4.5)下，HMWS形成(速率及程度)大大增加。已證明隨著pH值增加，二聚物之形成增加。平衡該兩種作用，設想本文中所描述之調配物將具有處於約5.0至低於5.2、或約5.0至約5.19、或約5.0至約5.15、或約5.0至約5.10範圍內，例如約5.0、約5.05、約5.1或約5.15之pH值。

【0095】 本文中所描述之研究亦顯示藉由包括胺基酸聚集抑制劑使得有可能獲得獨立之穩定及減聚集作用。因此，設想當包括胺基酸聚集抑

制劑時，調配物pH值可處於約4.9至約5.4、或約5.0至約5.4、或約5.0至約5.2、或約5.0至低於5.2、或約5.0至5.19、或約5.0至約5.15、或約5.0至約5.10之範圍內，例如約5.0、約5.05、約5.1或約5.15、或約5.2。

【0096】 該水性調配物可經緩衝。當使用時，緩衝劑可為有機緩衝劑。緩衝系統在25°C下可例如以約pH 4至5.5或4.5至5.5或4.5至5為中心。舉例而言，該緩衝系統在25°C下可具有處於pH 5.0-5.2之一個pH值單位內的pKa。一種此種緩衝系統為在25°C下具有約4.75之pKa的乙酸/乙酸鹽。另一此種緩衝系統為在25°C下具有約4.27之pKa的麩胺酸/麩胺酸鹽。所設想之其他替代緩衝系統包括基於離子，包括琥珀酸鹽(在25°C下pKa 4.21)、丙酸鹽(在25°C下pKa 4.87)、蘋果酸鹽(在25°C下pKa 5.13)、吡啶(在25°C下pKa 5.23)及哌嗪(在25°C下pKa 5.33)之系統。設想緩衝劑可提供為鈉鹽(或二鈉鹽，視情況而定)或在替代方案中作為鉀、鎂或銨鹽。舉例而言，緩衝劑可基於乙酸鹽、檸檬酸鹽、琥珀酸鹽、磷酸鹽及羥甲基胺基甲烷(Tris)。尤其設想基於乙酸鹽、麩胺酸鹽及琥珀酸鹽，例如乙酸鹽或麩胺酸鹽之緩衝劑。

【0097】 在具有乙酸鹽或麩胺酸鹽緩衝劑但在其他方面等同之120 mg/mL地諾單抗調配物中藉由粒徑篩析超高效液相層析(SE-UHPLC)比較之HMWS形成顯示當對在37°C下儲存四週進行評估時，緩衝劑類型之間不存在差異。

【0098】 當使用時，將以足以在儲存條件下在產品儲架壽命(例如4°C下3年、或25°C下1個月、或25°C下2週、或25°C下7天)內維持該調配物之所選pH值的量包括緩衝劑。緩衝劑濃度可處於約2 mM至約40 mM、或約5 mM至約20 mM、或約10 mM至約25 mM、或約15 mM至約25 mM

之範圍內，例如10 mM、或15 mM、或18 mM、或25 mM。舉例而言，與抗RANKL單株抗體(例如地諾單抗)及苯丙胺酸一起使用之乙酸鹽緩衝劑可處於約2 mM至約30 mM、或約16 mM至約41 mM、或約25 mM至約39 mM、或約30 mM至約34 mM之範圍內。換言之，用於濃縮該抗體至高於70 mg/mL (例如120 mg/mL)之濃度的滲濾緩衝劑可處於5 mM至約30 mM或約15 mM至約25 mM之範圍內或約20 mM。亦設想提供一種自緩衝之經胺基酸穩定之調配物。在例示性態樣中，以足以在儲存條件下在產品儲架壽命(例如在約2°C至約8°C下36個月，視情況，隨後在約20°C至約30°C下約1個月)內維持該調配物之所選pH值的量包括緩衝劑。

【0099】 在一些態樣中，該水性醫藥調配物包含緩衝劑，且視情況，該緩衝劑在25°C下以約pH 4.0至約pH 5.5之範圍為中心。在一些態樣中，該緩衝劑在25°C下具有在pH 5.0-5.2之一個pH值單位內的pKa。在某些態樣中，該水性醫藥調配物包含約5 mM至約60 mM緩衝劑、約5 mM至約50 mM緩衝劑、或約9 mM至約45 mM緩衝劑(例如，約15 mM至約30 mM緩衝劑，例如，約20 mM、約25 mM緩衝劑)。在例示性態樣中，該緩衝劑為乙酸鹽或麩胺酸鹽。

【0100】 該調配物亦可包括一或多種針對蛋白質聚集之穩定劑及其他調配物賦形劑。設想此種穩定劑及賦形劑包括但不限於胺基酸聚集抑制劑、張力改良劑、界面活性劑、增溶劑(例如N-甲基-2-吡咯啉酮)、PEG綴合劑及環糊精(例如Captisol®)。

【0101】 術語「胺基酸聚集抑制劑」係指胺基酸或胺基酸之組合(例如混合物，或二肽，或具有2至10個殘基之寡肽)，其中任何指定胺基酸均呈其游離鹼形式或呈其鹽形式(例如精胺酸鹽酸鹽)或胺基酸類似物存在，

並且減少HMWS或抑制HMWS形成。設想包括鈉鹽、鉀鹽及鹽酸鹽之鹽。另外，設想精胺酸鹽與鹽酸鹽、麩胺酸鹽、丁酸鹽及乙醇酸鹽。在使用胺基酸之組合時，該等胺基酸可全部呈其游離鹼形式存在，可全部呈其鹽形式存在，或可能一部分呈其游離鹼形式存在而其他呈其鹽形式存在。除二肽及寡肽以外或作為二肽及寡肽之替代物，可使用一或多種胺基酸之混合物，例如精胺酸與苯丙胺酸之混合物。在替代實施例中，該水性醫藥調配物中存在僅一種類型之胺基酸聚集抑制劑。在例示性態樣中，該調配物中存在僅一種胺基酸，例如，存在僅L-精胺酸或僅L-苯丙胺酸。

【0102】 設想使用一或多種帶有帶電側鏈之胺基酸，例如精胺酸、離胺酸、組胺酸、天冬胺酸及麩胺酸中之一或多種。胺基酸可選自鹼性胺基酸，例如精胺酸、離胺酸、組胺酸或其組合。尤其設想精胺酸。本發明之方法或調配物中可使用特定胺基酸之任何立體異構體(亦即，L、D或DL異構體)或此等立體異構體之組合，只要該特定胺基酸呈其游離鹼形式或其鹽形式存在即可。尤其設想L-立體異構體，例如L-精胺酸。視情況，該胺基酸為具有帶正電側鏈之胺基酸，例如精胺酸。

【0103】 在另一態樣中，設想使用一或多種在其側鏈中具有芳香族環之胺基酸，例如苯丙胺酸、酪胺酸、色胺酸或其組合。尤其設想苯丙胺酸。

【0104】 在另一態樣中，設想使用一或多種疏水性胺基酸，例如丙胺酸、異白胺酸、白胺酸、苯丙胺酸、纈胺酸、脯胺酸或甘胺酸。

【0105】 在另一態樣中，設想使用一或多種脂族疏水性胺基酸，例如丙胺酸、異白胺酸、白胺酸或纈胺酸。尤其設想白胺酸。

【0106】 本發明之方法或調配物中亦可使用顯示聚集減少或抑制效

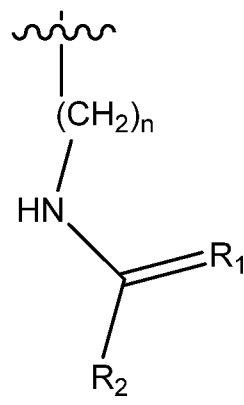
果的胺基酸類似物。術語「胺基酸類似物」係指天然存在胺基酸之衍生物。所設想之類似物包括例如胺基衍生物及N-單乙基衍生物及n-乙醯基衍生物。其他設想類似物包括二肽或具有2至10個殘基之寡肽，例如精胺酸-精胺酸及苯丙胺酸-精胺酸。在一個類型之實施例中，設想n-乙醯基精胺酸及n-乙醯基離胺酸不會單獨使用，而是可與另一胺基酸聚集抑制劑組合使用。如同胺基酸，胺基酸類似物呈其游離鹼形式或其鹽形式用於本發明之方法或調配物中。

【0107】 本發明之方法或調配物中所使用之胺基酸聚集抑制劑保護治療活性蛋白質免受各種應力影響，從而增加或/及維持蛋白質或蛋白質或含蛋白質之調配物在蛋白質壽命期間(儲存前及儲存期間、使用前)的穩定性。在本文中，術語「應力」包括但不限於來自任何來源，例如運輸之熱、冷凍、pH值、光、攪拌、氧化、脫水、表面、剪切、冷凍/解凍、壓力、重金屬、酚類化合物、變性劑等。尤其設想熱應力。術語應力涵蓋調節(亦即，降低、維持或增加)蛋白質或含蛋白質之調配物的穩定性的任何因素。利用添加胺基酸聚集抑制劑來增加及/或維持穩定性以濃度依賴性方式發生。亦即，當本發明之蛋白質或蛋白質或含蛋白質之調配物在正常情況下正常地在不存在胺基酸聚集抑制劑之情況下展現聚集物形成時，增加胺基酸聚集抑制劑之濃度增加及/或維持該蛋白質或含該蛋白質之調配物的穩定性。如以下實例中所示，調配物中包括胺基酸聚集抑制劑亦可減少已形成之HMWS的量。舉例而言，此種胺基酸聚集抑制劑包括精胺酸及精胺酸-苯丙胺酸二肽。依據本文中之揭示內容，對於地諾單抗或感興趣之任何特定人類抗RANKL單株抗體，可容易地確定用於本發明方法或調配物中以減少聚集物形成，從而增加蛋白質之整個壽命期間的蛋白質穩

定性且因而增加調配物穩定性之特定胺基酸聚集抑制劑的量的確定。

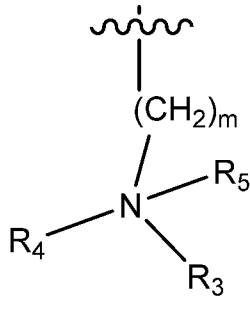
【0108】 調配物中存在胺基酸聚集抑制劑已顯示可減少二聚物之量及其動態形成速率。舉例而言，在37°C下1個月之後，當與具有pH 5.2之不含精胺酸之類似調配物相比時，具有pH 5.2之地諾單抗調配物中包括濃度75 mM之精胺酸使二聚物之量及其動態形成速率分別降低大約0.3%及25%。相比之下，發現藉由包括精胺酸未能使並非人類抗RANKL單株抗體之單株抗體穩定，而是替代地造成HMWS增加。因此，本發明之另一方法為藉由添加胺基酸聚集抑制劑，例如精胺酸或苯丙胺酸來減少地諾單抗或另一人類抗RANKL單株抗體之調配物中的HMWS的方法。

【0109】 因此，在例示性實施例中，該水性醫藥調配物包含胺基酸聚集抑制劑，後者視情況為胺基酸。在例示性態樣中，該胺基酸為L-立體異構體胺基酸(L-胺基酸)，但設想D-立體異構體胺基酸(D-胺基酸)。在一些態樣中，該胺基酸聚集抑制劑包含有包含帶電側鏈之胺基酸，在本文中亦稱為「帶電胺基酸」。術語「帶電胺基酸」係指包含在具有生理學pH值之水溶液中帶負電(亦即，去質子化)或帶正電(亦即，質子化)之側鏈的胺基酸。舉例而言，帶負電胺基酸包括例如天冬胺酸及麩胺酸，而帶正電胺基酸包括例如精胺酸、離胺酸及組胺酸。帶電胺基酸包括20個編碼胺基酸中之帶電胺基酸，以及非典型或非天然存在或非編碼胺基酸。因此，在例示性態樣中，胺基酸聚集抑制劑為包含帶正電側鏈之胺基酸。在例示性情況下，該包含帶正電側鏈之胺基酸包含式I或式II之側鏈結構：



[式I]

其中n為1至7，其中 R_1 及 R_2 中之每一者係獨立地選自由以下組成之群： H 、 C_1 - C_{18} 烷基、 $(C_1$ - C_{18} 烷基) OH 、 $(C_1$ - C_{18} 烷基) NH_2 、 NH 、 $NH_2(C_1$ - C_{18} 烷基) SH 、 $(C_0$ - C_4 烷基) $(C_3$ - $C_6)$ 環烷基、 $(C_0$ - C_4 烷基) $(C_2$ - C_5 雜環)、 $(C_0$ - C_4 烷基) $(C_6$ - C_{10} 芳基) R_7 及 $(C_1$ - C_4 烷基) $(C_3$ - C_9 雜芳基)，其中 R_7 為 H 或 OH ，其中視情況 R_1 及 R_2 之一為游離胺基($-NH_3^+$)；



[式II]

其中m為1至7，其中 R_3 及 R_4 中之每一者係獨立地選自由以下組成之群組A： H 、 C_1 - C_{18} 烷基、 $(C_1$ - C_{18} 烷基) OH 、 $(C_1$ - C_{18} 烷基) NH_2 、 $(C_1$ - C_{18} 烷基) SH 、 $(C_0$ - C_4 烷基) $(C_3$ - $C_6)$ 環烷基、 $(C_0$ - C_4 烷基) $(C_2$ - C_5 雜環)、 $(C_0$ - C_4 烷基) $(C_6$ - C_{10} 芳基) R_8 及 $(C_1$ - C_4 烷基) $(C_3$ - C_9 雜芳基)，其中 R_8 為 H 或 OH ，其中 R_5 視情況存在並且當存在時係選自群組A，視情況，其中 R_3 及 R_4 及 R_5 中之每一者為 H 。

【0110】 在例示性態樣中，該包含帶正電側鏈之胺基酸包含式I之側鏈結構，且n處於2至4之範圍內。在替代或額外態樣中， R_1 為 NH 或 NH_2 。

在例示性態樣中， R_2 為 NH_2 或 NH_3^+ 。在例示性情況下，該包含帶正電側鏈之胺基酸為精胺酸。在例示性態樣中，該包含帶正電側鏈之胺基酸包含式II之側鏈結構，且 m 處於3至5之範圍內。在一些態樣中， R_3 及 R_4 各自為H。在某些情況下， R_5 存在且視情況為H。在一些情況下，該包含帶正電側鏈之胺基酸為離胺酸。在一些態樣中，該包含帶正電側鏈之胺基酸呈鹽，視情況呈鹽酸(HCl)鹽形式存在於調配物中。因此，在例示性態樣中，該水性醫藥組成物包含L-精胺酸鹽酸鹽或L-離胺酸鹽酸鹽。

【0111】在例示性態樣中，該胺基酸聚集抑制劑為芳香族胺基酸。在一些情況下，該芳香族胺基酸包含苯基或吡啶。在例示性態樣中，該芳香族胺基酸包含處於 α 碳與苯基或吡啶之間的 C_1 - C_6 烷基鏈(例如， C_1 - C_3 烷基鏈)。在例示性情況下，該芳香族胺基酸為L-苯丙胺酸。在其他情況下，該芳香族胺基酸為L-色胺酸。

【0112】在例示性態樣中，該胺基酸聚集抑制劑為疏水性胺基酸。可根據此項技術中已知的疏水性標度中之任一種對疏水性進行量測或評分。一般而言，評分之正值愈大，則胺基酸之疏水性愈強。在一些情況下，在凱特-杜立特疏水性標度(Kyte and Doolittle hydrophobicity scale) (Kyte J, Doolittle RF (1982年5月). 「*A simple method for displaying the hydropathic character of a protein*」. J. Mol. Biol. **157** (1): 105-32)上對疏水性進行評分。在一些態樣中，該疏水性胺基酸在凱特-杜立特疏水性標度上具有超過約2.5之評分。在某些態樣中，該疏水性胺基酸包含有包含分支鏈或直鏈 C_2 - C_{12} 烷基或者 C_4 - C_8 環烷基、包含氮雜原子之 C_4 - C_8 雜環的側鏈，視情況，其中該雜環為咪唑、吡咯或吡啶。出於本文中之目的，術語「環烷基」涵蓋任何碳環，包括碳雙環或三環。

【0113】 在例示性態樣中，該疏水性胺基酸包含C₃至C₈烷基，視情況，該疏水性胺基酸包含分支鏈C₃烷基或分支鏈C₄烷基。在某些態樣中，該疏水性胺基酸為L-纈胺酸、L-白胺酸或L-異白胺酸。

【0114】 該胺基酸聚集抑制劑係以可有效提供增加之穩定性的量使用，並且可以處於約10 mM至約200 mM範圍內，例如處於約30 mM至約120 mM或約38 mM至約150 mM或約38 mM至約113 mM或約38 mM至約75 mM範圍內，例如約10 mM、約38 mM、約75 mM、約113 mM或約150 mM之濃度使用。在例示性態樣中，該水性醫藥調配物包含約5 mM至約300 mM胺基酸聚集抑制劑，視情況約25 mM至約90 mM胺基酸聚集抑制劑。在一些態樣中，當該胺基酸聚集抑制劑為包含帶正電側鏈之胺基酸，視情況為L-精胺酸時，水性醫藥調配物包含約5 mM至約150 mM (例如，約10 mM至約150 mM、約15 mM至約150 mM、約20 mM至約150 mM、約25 mM至約150 mM、約5 mM至約140 mM、約5 mM至約130 mM、約5 mM至約120 mM、約5 mM至約110 mM、約5 mM至約100 mM、約5 mM至約90 mM)胺基酸聚集抑制劑。在一些態樣中，當該胺基酸聚集抑制劑為包含帶正電側鏈之胺基酸，視情況為L-精胺酸時，該水性醫藥調配物包含約30 mM至約80 mM (例如，約35 mM、約40 mM、約45 mM、約50 mM、約55 mM、約60 mM、約65 mM、約70 mM、約75 mM)胺基酸聚集抑制劑。

【0115】 在一些態樣中，當該胺基酸聚集抑制劑為芳香族胺基酸，視情況為L-苯丙胺酸時，該水性醫藥調配物包含約5 mM至約180 mM (例如，約10 mM至約180 mM、約15 mM至約180 mM、約20 mM至約180 mM、約25 mM至約180 mM、約5 mM至約170 mM、約5 mM至約170

mM、約5 mM至約160 mM、約5 mM至約150 mM、約5 mM至約140 mM、約5 mM至約130 mM、約5mM至約120 mM、約5 mM至約110 mM)胺基酸聚集抑制劑。在例示性情況下，當該胺基酸聚集抑制劑為芳香族胺基酸，視情況為L-苯丙胺酸時，該水性醫藥調配物包含約5 mM至約100 mM (例如，約10 mM、約15 mM、約20 mM、約25 mM、約30 mM、約35 mM、約40 mM、約45 mM、約50 mM、約55 mM、約60 mM、約65 mM、約70 mM、約75 mM、約80 mM、約85 mM、約90 mM、約95 mM)胺基酸聚集抑制劑，視情況約20 mM至約50 mM胺基酸聚集抑制劑。

【0116】視情況，當該胺基酸聚集抑制劑為疏水性胺基酸，視情況為L-纈胺酸、L-異白胺酸或L-白胺酸時，該水性醫藥調配物包含約5 mM至約300 mM胺基酸聚集抑制劑。視情況，當該胺基酸聚集抑制劑為疏水性胺基酸，視情況為L-纈胺酸、L-異白胺酸或L-白胺酸時，該水性醫藥調配物包含約5 mM至約200 mM (例如，約10 mM至約200 mM、約20 mM至約200 mM、約30 mM至約200 mM、約40 mM至約200 mM、約50 mM至約200 mM、約60 mM至約200 mM、約70 mM至約200 mM、約80 mM至約200 mM、約90 mM至約200 mM、約100 mM至約200 mM、約5 mM至約290 mM、約5 mM至約280 mM、約5 mM至約270 mM、約5 mM至約260 mM、約5 mM至約250 mM、約5 mM至約240 mM、約5 mM至約230 mM、約5 mM至約220 mM、約5 mM至約210 mM)胺基酸聚集抑制劑，視情況約20 mM至約50 mM胺基酸聚集抑制劑。在例示性態樣中，該水性醫藥組成物包含：約30 mM至約80 mM L-精胺酸鹽酸鹽；約20 mM至約50 mM L-苯丙胺酸；約20 mM至約50 mM L-色胺酸；約30 mM至約

80 mM L-離胺酸鹽酸鹽；約20 mM至約50 mM L-白胺酸；約20 mM至約50 mM L-異白胺酸；約20 mM至約50 mM L-纈胺酸；或其任何組合。

【0117】 在例示性態樣中，該胺基酸聚集抑制劑之濃度為與該抗體之莫耳比。在一些態樣中，當該胺基酸聚集抑制劑為芳香族胺基酸，視情況為L-苯丙胺酸時，該胺基酸聚集抑制劑與該抗RANKL抗體之莫耳比為約10:約200（例如，約25:約150、約50:約100）。視情況，該莫耳比為約20:約90。在例示性態樣中，當該胺基酸聚集抑制劑為包含帶正電側鏈之胺基酸，視情況為L-精胺酸時，該胺基酸聚集抑制劑與該抗RANKL抗體之莫耳比為約20:300。視情況，該莫耳比為約45:約180。

【0118】 界面活性劑為兩性(具有極性頭部及疏水性尾部)界面活性劑。界面活性劑優先積聚在界面處，從而減小界面張力。該調配物中可視情況包括界面活性劑。使用界面活性劑亦可能有助於緩解大蛋白質粒子之形成。

【0119】 在一種類型之實施例中，該界面活性劑可為非離子界面活性劑。實例包括聚氧乙烯去水山梨糖醇脂肪酸酯(例如聚山梨糖醇酯20、聚山梨糖醇酯80)；烷基芳基聚醚，例如氧乙基化烷基酚(例如Triton™ X-100)；泊洛沙姆(例如Pluronic®，例如Pluronic® F68)及上述一類界面活性劑或諸類界面活性劑內之任一者的組合。尤其設想聚山梨糖醇酯20及聚山梨糖醇酯80。

【0120】 界面活性劑濃度處於約0.004% (w/v)至約0.1% (w/v)之範圍內(例如，對於聚山梨糖醇酯20或聚山梨糖醇酯80)為適合的，例如約0.004%至約0.05%或約0.004%至約0.02%或約0.01%。在例示性態樣中，該調配物包含至少約0.004 (w/v)%界面活性劑且視情況少於約0.15

(w/v)%。在例示性態樣中，該調配物中存在約0.005 (w/v)%至約0.015 (w/v)%界面活性劑，視情況約0.005 (w/v)%、約0.006 (w/v)%、約0.007 (w/v)%、約0.008 (w/v)%、約0.009 (w/v)%、約0.010 (w/v)%、約0.011 (w/v)%、約0.012 (w/v)%、約0.013 (w/v)%或約0.014 (w/v)%。

【0121】 經穩定之水性調配物可適合於藉由任何可接受之途徑，包括非經腸且特定言之經皮下投與。舉例而言，皮下投與可投與上臂、大腿或腹部。其他途徑包括例如靜脈內、皮內、肌肉內、腹膜內、結節內及脾內。皮下途徑較佳。

【0122】 若該溶液呈意欲投與個體之形式，則可使其與預定投與部位等滲透壓。舉例而言，滲透壓度可處於約270至約350 mOsm/kG或約285至約345 mOsm/kG或約300至約315 mOsm/kG之範圍內。舉例而言，若該溶液呈意欲用於經腸胃外投與之形式，則可使其與血液等滲透壓(約300 mOsm/kG滲透壓度)。在例示性態樣中，該水性醫藥調配物具有處於約200 mOsm/kg至約500 mOsm/kg或約225 mOsm/kg至約400 mOsm/kg或約250 mOsm/kg至約350 mOsm/kg之範圍內的滲透壓度。

【0123】 在例示性態樣中，該水性醫藥調配物具有處於約500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 至約5500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 範圍內之傳導率，視情況，其中該傳導率在該調配物包含有包含帶正電側鏈之胺基酸時處於約2500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 至約5500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 之範圍內，或在該調配物包含芳香族胺基酸或缺乏胺基酸聚集抑制劑時處於約500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 至約2000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 之範圍內。如前述申請專利範圍中任一項之水性醫藥調配物，其在5°C下具有不超過約6 cP之黏度，視情況，其中該黏度為約4.5 cP至約5.5 cP。在某些態樣中，該水性醫藥調配物在25°C下具有小於約13 cP，視情況為約2.0 cP至約10 cP，視情況為約2.5 cP至約4

cP之黏度。

【0124】 張力改良劑或張力調節劑在此項技術中為已知的，並且包括諸如鹽(例如，氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、磷酸鈉、磷酸鉀、碳酸氫鈉、碳酸鈣、乳酸鈉)、糖(例如，聚葡萄糖、葡萄糖、乳糖、海藻糖)及糖醇(例如，甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、甘油、丙二醇)之化合物。在某些態樣中，該張力改良劑係選自由以下組成之群：山梨糖醇、甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、甘油及其組合。在例示性情況下，該張力改良劑為山梨糖醇。山梨糖醇可例如以處於0.1% (w/v)至5% (w/v)或1.2% (w/v)至5% (w/v)之範圍內，例如3.6% (w/v)、4.6% (w/v)或4.7% (w/v)之濃度使用。視情況，該調配物包含約1.0 (w/w)%至約5.0 (w/w)%張力改良劑。舉例而言，該調配物包含約2.0 (w/w)%至約5.0 (w/w)%山梨糖醇或約3.5 (w/w)%至約5.0 (w/w)%山梨糖醇或約4.0% (w/w)至約5.0 (w/w)%山梨糖醇。在一些態樣中，該調配物不包含任何山梨糖醇或不含山梨糖醇。在例示性態樣中，該調配物不包含任何張力改良劑。

【0125】 此項技術中已知的其他賦形劑可用於該調配物中，只要其不會對穩定性造成負面影響即可。可使用糖及聚醇保護蛋白質免於聚集，包括提供冷凍/解凍穩定性。此種化合物包括山梨糖醇、甘露糖醇、甘油、赤蘚醇、辛酸鹽、色胺酸鹽、肌胺酸鹽及甘胺酸。亦可使用供製備凍乾製劑用之穩定劑，例如穩定之糖，例如二糖，諸如海藻糖及蔗糖。凍乾製劑亦可包括增積劑，如此項技術中已知的。此項技術中已知的用於蛋白質穩定之其他賦形劑包括增溶劑(例如N-甲基-2-吡咯啉酮)、聚乙二醇(PEG)及環糊精(例如Captisol®)。醫藥學上可接受之酸及鹼可用於調節溶液pH值，例如氫氧化鈉。

【0126】對於非經腸投與，該調配物可呈包含地諾單抗或另一人類抗RANKL單株抗體、含或不含其他治療劑、處於醫藥學上可接受之媒劑中的無熱原質非經腸可接受之無菌水溶液形式。在某些實施例中，供非經腸注射用之媒劑為無菌蒸餾水，其中該地諾單抗或另一人類抗RANKL單株抗體(有或無至少一種額外治療劑)調配為無菌等滲透壓溶液。該調配物將含有醫藥學上可接受之賦形劑，例如USP (美國藥典)級賦形劑。

【0127】「防腐劑」為可包括在醫藥調配物中以減少其中之細菌作用，例如因而有助於製造多用途調配物之化合物。防腐劑之實例包括八癸基二甲基苯甲基氯化銨、六甲氯銨、苯紮氯銨(烷基苯甲基二甲基氯化銨混合物，其中烷基為長鏈化合物)及氯化本索寧。其他類型之防腐劑包括芳香族醇，包括苯酚、丁醇及苯甲醇；對羥基苯甲酸烷基酯，包括對羥基苯甲酸甲酯及對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚、間甲酚、環己醇、3-戊醇及間甲酚。在替代方案中，該調配物可不含防腐劑。舉例而言，該調配物當呈單次使用劑型存在時可不含防腐劑。

【0128】儘管本文中已描述該調配物之水溶液形式，但亦可隨後凍乾該穩定調配物以製備凍乾劑。因此，除非上下文另外規定，否則設想提及調配物及其使用方法包括由該穩定水溶液獲得之凍乾劑。

【0129】用於活體內投與之醫藥調配物典型地為無菌的。在某些實施例中，此可藉由通過無菌過濾膜進行過濾來實現。在某些實施例中，一般將非經腸組成物置於具有無菌接取口之容器，例如靜脈內溶液袋，或具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶，或預填充注射器中。在某些實施例中，該調配物可呈即用形式或呈在投與前進行復原或加以稀釋之形式(例如凍乾)儲存。

【0130】 在某些實施例中，本發明針對用於產生單次劑量投與單位之套組。在某些實施例中，該等套組可各自含有具有由本文中所描述之溶液調配物製成的地諾單抗或其他人類抗RANKL單株抗體乾製劑的第一容器及具有無菌水或水溶液之第二容器。在本發明之某些實施例中，包括含有單腔室及多腔室預填充注射器(例如液體注射器及凍乾劑注射器)之套組。

【0131】 本文中所描述之穩定調配物可與一或多種其他治療劑，例如鈣及維生素D化合物一起使用。本文中所描述之穩定調配物可投與接受利用額外治療劑之療法的患者，或本文中所描述之穩定調配物可與額外治療劑共同投與。

【0132】 穩定調配物在本文中所描述之其態樣及實施例中之任一者中均可用於預防或治療任何對地諾單抗或另一人類抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分有反應之疾病。此種用途及相關方法包括但不限於以下所描述之態樣及實施例。

【0133】 在一個態樣中，該調配物可用於預防有需要之患者的骨骼相關事件(SRE)，包括投與有效量之本文中所描述之穩定調配物。舉例而言，該SRE可選自由以下組成之群：病理性骨折、針對骨之放射療法、針對骨之手術及脊髓壓迫。該患者可患有實體腫瘤骨轉移。舉例而言，該實體腫瘤可為乳癌、前列腺癌、肺癌、非小細胞肺癌及腎細胞癌中之一或多種。該調配物之量可有效減少骨更新標記物尿肌酐修正N-末端端肽(uNTx/Cr)，視情況減少至少80%。該患者可為多發性骨髓瘤患者。

【0134】 在另一態樣中，該調配物可用於治療骨巨細胞瘤患者，包括投與有效量之本文中所描述之穩定調配物。在一種類型之實施例中，該

患者患有復發性、不可切除性或手術切除有可能引起嚴重發病之骨巨細胞瘤。舉例而言，該患者可為成人或骨骼成熟之青少年。

【0135】 在另一態樣中，該調配物可用於治療骨惡性高鈣血症患者，包括投與有效量之本文中所描述之穩定調配物。在一個態樣中，該惡性病為雙膦酸鹽療法難治性的。該方法或用途可包括投與可有效減少該患者之血清鈣或將其維持在低於或等於約11.5 mg/dL之水準的量的該調配物。

【0136】 在另一態樣中，該調配物可用於治療有需要之患者的骨質疏鬆症，包括投與有效量之本文中所描述之穩定調配物。舉例而言，該患者可為處於高骨折風險下之絕經後女性。在另一類型之實施例中，該患者可為處於高骨折風險下之男性。

【0137】 在另一態樣中，該調配物用於增加有需要之患者的骨質量，包括投與有效量之本文中所描述之穩定調配物。舉例而言，所投與之調配物之量可為有效降低新的脊椎骨折及/或非脊椎骨折之發生率的量。在另一類型之實施例中，所投與之調配物之量可為有效減少骨吸收之量。在另一類型之實施例中，該調配物之量可為有效增加該患者之選自腰椎、全髖及股骨頸之至少一個區域中之骨密度的量。在另一類型之實施例中，該調配物之量可為有效增加該患者之皮質骨及/或鬆質骨中之骨質量的量。在另一類型之實施例中，該調配物之量可為有效減少骨吸收標記物血清1型C-端肽(CTX)的量。有需要之患者可視情況患有骨質疏鬆症。在另一類型之實施例中，該有需要之患者可為因乳癌而接受輔助芳香酶抑制劑療法之處於高骨折風險下之女性。在另一類型之實施例中，該有需要之患者可為因非轉移性前列腺癌而接受雄性素剝奪療法之處於高骨折風險下之

男性。在另一類型之實施例中，該有需要之患者可為處於高骨折風險下之患有骨質疏鬆症之男性。

【0138】 在另一態樣中，該調配物可作為輔助療法用於接受輔助/新輔助癌症療法之處於高疾病復發風險下之患有早期乳癌之絕經後女性。

【0139】 在另一態樣中，該調配物可與基於鉑之化學療法組合用作患有轉移性非小細胞肺癌之患者的第一線治療。

【0140】 在另一態樣中，該調配物可用於治療特發性喉下狹窄(ISS)。

【0141】 在另一態樣中，該調配物可用於BRCA-1突變健康女性之乳癌及卵巢癌預防。

【0142】 視情況，該調配物可與免疫檢查點抑制劑組合使用。視情況，該免疫檢查點抑制劑對在免疫檢查點途徑中發揮功能之蛋白質具有特異性，例如CTLA4、LAG3、PD-1、PD-L1、PD-L2、B7-H3、B7H4、BTLA、SLAM、2B4、CD160、KLRG-1或TIM3。視情況，該免疫檢查點抑制劑為對CTLA4、LAG3、PD-1、PD-L1、PD-L2、B7-H3、B7H4、BTLA、SLAM、2B4、CD160、KLRG-1或TIM3具有特異性之抗體、其抗原結合片段或抗體蛋白產物。此種免疫檢查點抑制劑包括但不限於：阿替珠單抗(atezolizumab)、阿維魯單抗(avelumab)、伊匹單抗(ipilimumab)、曲美目單抗(tremelimumab)、BMS-936558、MK3475、CT-011、AM-224、MDX-1105、IMP321、MGA271。PD-1抑制劑包括例如噴羅珠單抗(pembrolizumab)及尼沃魯單抗(nivolumab)。PD-L1抑制劑包括例如阿替珠單抗、阿維魯單抗及度伐魯單抗(durvalumab)。CTLA4包括例如伊匹單抗。在另一態樣中，該調配物可視情況與PD-1抗體(例

如，尼沃魯單抗、噴羅珠單抗)組合用於治療存在骨轉移之黑色素瘤患者。在另一態樣中，該調配物可視情況與CTLA4抑制劑，諸如伊匹單抗組合用於治療乳癌患者。

【0143】 在另一態樣中，該調配物可用於治療富巨細胞腫瘤，例如副甲狀腺機能亢進症或繼發性動脈瘤性骨囊腫。

【0144】 在另一態樣中，該調配物可用於治療漸進性轉移性去勢療法抗性前列腺癌(mCRPC)。在另一態樣中，該調配物可用於治療去勢療法敏感性前列腺癌。在另一態樣中，該調配物可用於治療激素抗性前列腺癌。

【0145】 在另一態樣中，該調配物可用於治療轉移性乳癌(mBC)。在另一態樣中，該調配物可用於治療手術前乳癌。在另一態樣中，該調配物可用於治療早期乳癌。在其他態樣中，該調配物可用於治療激素受體陰性RANK陽性或RANK陰性原發性乳癌。在另一態樣中，該調配物可用於治療絕經後HER2陰性乳癌。

【0146】 在另一態樣中，該調配物可用於治療例如老年患者之骨髓發育不良症候群。

【0147】 在另一態樣中，該調配物可用於治療癌症治療誘導之骨損失(CTIBL)。

【0148】 在另一態樣中，該調配物可用於治療子宮頸之子宮腫瘤。

【0149】 在另一態樣中，該調配物可用於在進行或未進行免疫療法之患者中誘導免疫調節作用。

【0150】 在另一態樣中，該調配物可用於預防或治療與骨質疏鬆症、柏哲德氏病(Paget's disease)、骨髓炎、高鈣血症、骨量減少、骨壞

死及類風濕性關節炎相關之骨損失。在另一態樣中，該調配物可用於預防或治療伴隨骨損失之炎症性病狀。在另一態樣中，該調配物可用於預防或治療伴隨骨損失之自體免疫性病狀。在另一態樣中，該調配物可用於預防或治療與癌症(包括乳癌、前列腺癌、甲狀腺癌、腎臟癌、肺癌、食道癌、直腸癌、膀胱癌、子宮頸癌、卵巢癌、肝臟癌及胃腸癌)、多發性骨髓瘤、淋巴瘤及霍奇金氏病(Hodgkin's Disease)相關之骨損失。

【0151】 該調配物可按任何適合之時程投與。在一個實施例中，該投與係按每四週一次之時程。視情況，該投與可包括在療法之第一個月的第8天及第15天投與。在另一類型之實施例中，該投與可按每六個月一次之方案。舉例而言，設想每六個月一次之方案用於骨質疏鬆症及增加骨質量。其他設想維持劑量為每3週、每3個月及每6週。

【0152】 在一些態樣中，該水性醫藥調配物用於治療患有多發性骨髓瘤或實體腫瘤骨轉移的患者。在某些態樣中，該調配物係以每4週約120 mg之劑量呈皮下注射形式投與上臂、大腿或腹部。

【0153】 在一些態樣中，該水性醫藥調配物用於治療患有骨巨細胞瘤之患者。在某些態樣中，該調配物係以每4週約120 mg之劑量投與，其中在療法之第一個月的第8天及第15天投與額外120 mg劑量。在一些態樣中，該調配物係經皮下投與患者之上臂、大腿或腹部。在一些情況下，向該患者投與鈣及維生素D以治療或預防低鈣血症。

【0154】 在一些態樣中，該水性醫藥調配物用於治療患有惡性高鈣血症之患者。在某些態樣中，該調配物係以每4週約120 mg之劑量投與，其中在療法之第一個月的第8天及第15天投與額外120 mg劑量。在一些態樣中，該調配物係經皮下投與上臂、大腿或腹部。

【0155】 在一些態樣中，該水性醫藥調配物用於治療處於高骨折風險下之患有骨質疏鬆症之絕經後女性，或者用於增加因非轉移性前列腺癌而接受雄性素剝奪療法之處於高骨折風險下之男性或因乳癌而接受輔助芳香酶抑制劑療法之處於高骨折風險下之女性的骨質量。在一些態樣中，該水性醫藥調配物係由保健專業人士且以每6個月60 mg之劑量呈皮下注射形式投與上臂、大腿或腹部。在一些態樣中，亦指導該患者服用每日1000 mg鈣及每日至少400 IU維生素D。

【0156】 根據本發明之一種類型調配物將含有地諾單抗、乙酸鹽及精胺酸。該精胺酸視情況為L-精胺酸。該精胺酸視情況為L-精胺酸鹽酸鹽。該調配物可視情況包括山梨糖醇。該調配物可視情況包括聚山梨糖醇酯。該聚山梨糖醇酯可視情況為聚山梨糖醇酯20。pH值可視情況為約5.0至約5.2或低於5.2。

【0157】 根據本發明之另一類型之調配物將含有地諾單抗、乙酸鹽及苯丙胺酸。該調配物可視情況包括山梨糖醇。該調配物可視情況包括聚山梨糖醇酯。該聚山梨糖醇酯可視情況為聚山梨糖醇酯20。pH值可視情況為約5.0至約5.2或低於5.2。舉例而言，該調配物可包括濃度為約108 mg/mL至約132 mg/mL之地諾單抗、約28.8 mM至約35.2 mM乙酸鹽、33.3 mM至約40.7 mM苯丙胺酸、3.51% (w/v)至約4.29% (w/v)山梨糖醇及約0.009% (w/v)至約0.011% (w/v)聚山梨糖醇酯20，處於pH 5.1下，且可視情況包括在視情況含有約1 mL或少於約1 mL (例如，約0.5 mL)調配物之PFS中。舉例而言，該調配物可包括濃度為120 mg/mL之地諾單抗、32 mM乙酸鹽、37 mM苯丙胺酸、3.9% (w/v)山梨糖醇及0.01% (w/v)聚山梨糖醇酯20，處於pH 5.1下，且可視情況包括在視情況含有約1 mL或

少於約1 mL (例如, 約0.5 mL)調配物之PFS中。可藉由使用含有20 mM 乙酸鹽、4.2% (w/v)山梨糖醇及40 mM苯丙胺酸之滲濾緩衝液pH 4.7來濃縮地諾單抗而製造該調配物。

【0158】 根據本發明之另一類型之調配物將含有地諾單抗、麩胺酸鹽及精胺酸。該精胺酸視情況為L-精胺酸。該精胺酸視情況為L-精胺酸鹽。該調配物可視情況包括山梨糖醇。該調配物可視情況包括聚山梨糖醇酯。該聚山梨糖醇酯可視情況為聚山梨糖醇酯20。pH值可視情況為約5.0至約5.2或低於5.2。

【0159】 根據本發明之另一類型之調配物將含有地諾單抗、乙酸鹽、精胺酸及苯丙胺酸。該調配物可視情況包括山梨糖醇。該調配物可視情況包括聚山梨糖醇酯。該聚山梨糖醇酯可視情況為聚山梨糖醇酯20。pH值可視情況為約5.0至約5.2或低於5.2。

【0160】 根據本發明之另一類型之調配物將含有地諾單抗、麩胺酸鹽、精胺酸及苯丙胺酸。該精胺酸視情況為L-精胺酸。該精胺酸視情況為L-精胺酸鹽。該調配物可視情況包括山梨糖醇。該調配物可視情況包括聚山梨糖醇酯。該聚山梨糖醇酯可視情況為聚山梨糖醇酯20。pH值可視情況為約5.0至約5.2或低於5.2。

【0161】 可藉由任何適合之方法來製造根據本發明之調配物。在一種類型之方法中, 可製備濃度低於70 mg/mL之含有抗RANKL單株抗體(例如地諾單抗)之溶液, 可向該溶液中添加適量的本文中所描述之胺基酸聚集抑制劑, 隨後可將該溶液濃縮至高於本文中所描述之70 mg/mL的量, 例如120 mg/mL。視情況, 可首先過度濃縮該溶液, 亦即, 達至抗RANKL單株抗體(例如地諾單抗)之濃度高於最終目標濃度, 隨後可例如

用pH值調節緩衝溶液將該過度濃縮之溶液稀釋至最終目標濃度及pH值。舉例而言，過度濃縮可獲得處於130 mg/mL至300 mg/mL或180 mg/mL至300 mg/mL之範圍內的抗RANKL單株抗體(例如地諾單抗)之量。濃縮之前的地諾單抗初始濃度不受特定限制，並且可為例如約1 mg/mL、或約2 mg/mL、或約5 mg/mL、或約8 mg/mL、或約10 mg/mL、或約20 mg/mL、或約30 mg/mL、或約40 mg/mL、或約50 mg/mL、或約60 mg/mL、或約70 mg/mL，或處於由任何此種濃度包夾之範圍內，例如約1 mg/mL至約70 mg/mL或約1 mg/mL至約10 mg/mL。

【0162】 可藉由任何適合之方法對該調配物進行濃縮。在一個態樣中，該濃縮方法可包括離心。在另一態樣中，該濃縮方法可包括超濾。

【0163】 可藉由任何適合之方法將該胺基酸聚集抑制劑引入至該調配物中。舉例而言，可經由簡單添加(摻加)至該調配物中，例如，如以下實例中所描述而將該胺基酸聚集抑制劑引入至該調配物中。在另一方法中，可經由相對於含有該胺基酸聚集抑制劑之緩衝溶液進行滲濾，例如，如以下實例中所描述而將該胺基酸聚集抑制劑引入至該調配物中。可在將該抗RANKL單株抗體濃縮至70 mg/mL以上之前或之後將該胺基酸聚集抑制劑引入至該調配物中。如以下實例中所示，在濃縮之前將該胺基酸聚集抑制劑添加至該溶液為有益的，因為其可抑制濃縮過程中的聚集。

【0164】 因此，本公開提供製造包含人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之穩定水性醫藥調配物的方法。在例示性情況下，該方法包括組合濃度高於70 mg/mL之該抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分與胺基酸聚集抑制劑、緩衝劑、界面活性劑及視情況選用之張力改良劑。該抗體或抗原結合部分可為本文中

所描述之彼等中的任一者，且該抗體或其抗原結合部分之濃度可能與本文中之教示內容一致。該胺基酸聚集抑制劑可為本文中所描述之彼等中的任一者。舉例而言，該胺基酸聚集抑制劑可為帶正電胺基酸、芳香族胺基酸或疏水性胺基酸。該胺基酸聚集抑制劑可與如本文中所描述之抗體成莫耳比。聚集抑制劑、界面活性劑、張力改良劑及緩衝劑之量及選擇如以上所描述。本發明亦提供藉由本文中所描述之製造方法製造的調配物。

【0165】 根據本文中之揭示內容的調配物可包括對本文中所描述之抗RANKL單株抗體(例如地諾單抗)之高濃度溶液，例如濃度高於70 mg/mL或120 mg/mL之溶液進行pH值調節。在另一態樣中，可藉由對抗RANKL單株抗體(例如地諾單抗)之低濃度溶液進行pH值調節，隨後將該溶液濃縮至所要較高最終濃度來製備該調配物。適合之pH值調節劑為此項技術中已知的。

實施例

【0166】 以下為特定設想實施例之清單：

1. 一種水性醫藥調配物，其包含濃度超過70 mg/mL之人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分且具有處於約5.0至低於5.2之範圍內的pH值。
2. 如實施例1之調配物，其具有處於約5.0至5.19、或約5.0至約5.15、或約5.0至約5.1之範圍內的pH值。
3. 如實施例2之調配物，其具有約5.1之pH值。
4. 如實施例1至實施例3中任一者之調配物，其進一步包含胺基酸聚集抑制劑。
5. 一種水性醫藥調配物，其包含人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位

體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分與胺基酸聚集抑制劑之混合物。

6. 如實施例5之調配物，其具有處於約5.0至約5.4、或約5.0至約5.2、或約5.0至低於5.2、或約5.0至5.19、或約5.0至約5.15、或約5.0至約5.1之範圍內的pH值。

7. 如實施例6之調配物，其具有約5.1之pH值。

8. 如前述實施例中任一者之調配物，其進一步包含pH值緩衝劑。

9. 如實施例5至實施例8中任一者之調配物，其中該抗體或其抗原結合部分之濃度處於約10 mg/mL至約200 mg/mL之範圍內。

10. 如前述實施例中任一者之調配物，其中該抗體或其抗原結合部分之濃度處於高於70 mg/mL至約200 mg/mL之範圍內。

11. 如實施例10之調配物，其中該抗體或其抗原結合部分之濃度處於約100至約140 mg/mL之範圍內。

12. 如實施例11之調配物，其中該抗體或其抗原結合部分之濃度為約120 mg/mL。

13. 如前述實施例中任一者之調配物，其中該抗體為地諾單抗或其生物類似物。

14. 如實施例13之調配物，其中該抗體為地諾單抗。

15. 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係選自一或多種胺基酸、其二肽或具有2至10個殘基之寡肽。

16. 如實施例15之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑包括至少兩種胺基酸之混合物。

17. 如實施例16之調配物，其中該胺基酸包括精胺酸及苯丙胺酸。

- 18.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係選自一或多種疏水性胺基酸、其二肽或具有2至10個殘基且含有一或多個疏水性胺基酸之寡肽。
- 19.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係選自一或多種帶有帶電側鏈之胺基酸、其二肽或具有2至10個殘基且含有一或多個帶有帶電側鏈之胺基酸的寡肽。
- 20.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係選自一或多種鹼性胺基酸、其二肽或具有2至10個殘基且含有一或多個鹼性胺基酸之寡肽。
- 21.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係選自一或多種二肽。
- 22.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係選自一或多種具有2至10個胺基酸殘基之寡肽。
- 23.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑包含精胺酸殘基，或該胺基酸聚集抑制劑包含精胺酸。
- 24.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑包含精胺酸-苯丙胺酸二肽。
- 25.** 如前述實施例中任一者之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係以處於約10 mM至約200 mM之範圍內的濃度存在於該調配物中。
- 26.** 如前述實施例中任一者之調配物，其進一步包含界面活性劑。
- 27.** 如實施例26之調配物，其中該界面活性劑係選自由以下組成之群：聚氧乙烯去水山梨糖醇脂肪酸酯(例如聚山梨糖醇酯20、聚山梨糖醇酯80)，或者一或多種烷基芳基聚醚，例如氧乙基化烷基酚(例如Triton® X-

100)，或者一或多種泊洛沙姆(例如Pluronic®，例如Pluronic® F68)及其組合。

28. 如實施例26或實施例27之調配物，其中該界面活性劑係以處於約0.004% (w/v)至約0.1% (w/v)之範圍內的濃度存在。

29. 如實施例28之調配物，其中該界面活性劑係以約0.01% (w/v)之濃度存在。

30. 如前述實施例中任一者之調配物，其進一步包含緩衝劑。

31. 如實施例30之調配物，其中該緩衝劑在25°C下以約pH 4至約pH 5.5之範圍為中心。

32. 如實施例30或實施例31之調配物，其中該緩衝劑在25°C下具有處於pH 5.0-5.2之一個pH值單位內的pKa。

33. 如實施例30至實施例32中任一者之調配物，其中該緩衝劑包含乙酸鹽。

34. 如實施例30至實施例32中任一者之調配物，其中該緩衝劑包含麩胺酸鹽。

35. 如前述實施例中任一者之調配物，其進一步包含張力改良劑。

36. 如實施例35之調配物，其中該張力改良劑係選自山梨糖醇、甘露糖醇、蔗糖、海藻糖、甘油及其組合中之一或多者。

37. 如實施例36之調配物，其中該張力改良劑包含山梨糖醇。

38. 如前述實施例中任一者之調配物，其進一步包含一或多種選自糖、聚醇、增溶劑(例如N-甲基-2-吡咯啉酮)、疏水性穩定劑(例如脯胺酸)、聚乙二醇、環糊精及其組合之其他賦形劑。

39. 如前述實施例中任一者之調配物，依據SE-UHPLC，其在37°C下儲存

三個月後包含少於2%之該人類抗RANKL單株抗體之高分子量物質。

40. 如前述實施例中任一者之調配物，依據SE-UHPLC，其在4℃下儲存36個月後包含少於2%之該人類抗RANKL單株抗體之高分子量物質。

41. 如前述實施例中任一者之調配物，依據SE-UHPLC，其在37℃下儲存三個月後包含至少98%之抗體主峰。

42. 如前述實施例中任一者之調配物，依據SE-UHPLC，其在4℃下儲存36個月後包含至少98%之抗體主峰。

43. 如前述實施例中任一者之調配物，其包含地諾單抗；胺基酸聚集抑制劑，該胺基酸聚集抑制劑係選自精胺酸、其二肽或具有2至10個殘基且包含精胺酸之寡聚物中的一或多者；乙酸鹽緩衝劑；山梨糖醇；及界面活性劑；且具有處於約5.0至低於5.2之範圍內的pH值。

44. 如實施例43之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑係選自精胺酸、精胺酸-精胺酸或精胺酸-苯丙胺酸。

45. 如實施例43之調配物，其中該胺基酸聚集抑制劑包含精胺酸與苯丙胺酸之混合物。

46. 如實施例43至實施例45中任一者之調配物，其中該乙酸鹽緩衝劑係以約5 mM至約25 mM之範圍存在。

47. 如實施例43至實施例46中任一者之調配物，其中該山梨糖醇係以0.1% (w/v)至5 % (w/v)之範圍存在。

48. 如實施例43至實施例47中任一者之調配物，其中該界面活性劑係選自聚山梨糖醇酯20及聚山梨糖醇酯80中之一或多者。

49. 如實施例43至實施例48中任一者之調配物，其中該pH值處於約5.0至約5.15之範圍內。

50. 如實施例49之調配物，其中該pH值為約5.10。
51. 如前述實施例中任一者之調配物，其中該調配物適於皮下注射。
52. 如前述實施例中任一者之調配物，其中該調配物無菌且不含防腐劑。
53. 如前述實施例中任一者之調配物，其中該人類抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分包含(1)包含SEQ ID NO: 2之重鏈可變區及包含SEQ ID NO: 1之輕鏈可變區；或(2)分別包含SEQ ID NO: 8、9及10之重鏈CDR1、CDR2及CDR3區，以及分別包含SEQ ID NO: 5、6及7之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3區。
54. 如前述實施例中任一者之調配物，其中該人類抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分為抗體。
55. 如實施例1至53中任一者之調配物，其中該人類抗RANKL單株抗體或其抗原結合部分為抗原結合部分。
56. 一種小瓶、預填充注射器或玻璃容器，其含有如實施例1至實施例55中任一者之調配物。
57. 如實施例56之小瓶、預填充注射器或玻璃容器，其含有約1 mL或更少之該調配物。
58. 一種預防有需要之患者的骨骼相關事件(SRE)的方法，其包括投與有效量之如實施例1至實施例55中任一者之調配物。
59. 如實施例58之方法，其中該SRE係選自由以下組成之群：病理性骨折、針對骨之放射療法、針對骨之手術及脊髓壓迫。
60. 如實施例58或實施例59之方法，其中該患者患有實體腫瘤骨轉移。
61. 如實施例60之方法，其中該實體腫瘤係選自乳癌、前列腺癌、肺癌、非小細胞肺癌及腎細胞癌。

- 62.** 如實施例58或實施例59之方法，其中該患者患有多發性骨髓瘤。
- 63.** 如實施例58至實施例62中任一者之方法，其包括投與可有效減少骨更新標記物尿肌酸酐修正N-末端端肽(uNTx/Cr)，視情況減少至少80%之量的該調配物。
- 64.** 一種治療有需要之患者的骨巨細胞瘤的方法，其包括投與有效量之如實施例1至實施例55中任一者之調配物。
- 65.** 如實施例64之方法，其中該患者患有復發性、不可切除性或手術切除有可能引起嚴重發病之骨巨細胞瘤。
- 66.** 一種治療有需要之患者的惡性高鈣血症的方法，其包括投與有效量之如實施例1至實施例55中任一者之調配物。
- 67.** 如實施例66之方法，其中該惡性病為雙膦酸鹽療法難治性的。
- 68.** 如實施例66或實施例67之方法，其包括投與可有效減少該患者之血清鈣或將其維持在低於或等於約11.5 mg/dL之水準的量的該調配物。
- 69.** 如實施例58至實施例68中任一者之方法，其中該調配物包含濃度為約120 mg/mL之該人類抗RANKL抗體。
- 70.** 如實施例58至實施例69中任一者之方法，其包括按每四週一次之時程投與該調配物。
- 71.** 如實施例58至實施例70中任一者之方法，其包括在療法之第一個月之第8天及第15天投與該調配物。
- 72.** 一種治療有需要之患者的骨質疏鬆症的方法，其包括投與有效量之如實施例1至實施例55中任一者之調配物。
- 73.** 如實施例72之方法，其中該患者為處於高骨折風險下之絕經後女性。
- 74.** 如實施例72之方法，其中該患者為處於高骨折風險下之男性。

- 75.** 一種增加有需要之患者的骨質量的方法，其包括投與有效量之如實施例1至實施例55中任一者之調配物。
- 76.** 如實施例75之方法，其中該患者患有骨質疏鬆症。
- 77.** 如實施例75之方法，其中該患者為因乳癌而接受輔助芳香酶抑制劑療法之處於高骨折風險下之女性。
- 78.** 如實施例75之方法，其中該患者為因非轉移性前列腺癌而接受雄性素剝奪療法之處於高骨折風險下之男性。
- 79.** 如實施例75至實施例78中任一者之方法，其包括投與可有效降低新的脊椎骨折及/或非脊椎骨折之發生率之量的該調配物。
- 80.** 如實施例75至實施例79中任一者之方法，其包括投與可有效減少骨吸收之量的該調配物。
- 81.** 如實施例75至實施例80中任一者之方法，其包括投與可有效增加該患者之選自腰椎、全髖及股骨頸之至少一個區域中之骨密度之量的該調配物。
- 82.** 如實施例75至實施例81中任一者之方法，其包括投與可有效增加該患者之皮質骨及/或鬆質骨中之骨質量之量的該調配物。
- 83.** 如實施例75至實施例82中任一者之方法，其包括投與可有效減少骨吸收標記物血清1型C-端肽(CTX)之量的該調配物。
- 84.** 如實施例75至實施例83中任一者之方法，其包括按每六個月一次之時程投與該調配物。
- 85.** 如實施例58至實施例84中任一者之方法，其包括以1 mL或更小之體積投與該調配物。。
- 86.** 如實施例58至實施例85中任一者之方法，其包括經皮下投與該調配

物。

87. 如實施例86之方法，其包括將該調配物皮下投與至上臂、大腿或腹部。。

88. 如實施例58至實施例87中任一者之方法，其中該患者接受鈣及維生素D之一或二者。

89. 一種改良包含濃度超過70 mg/mL之人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之水性醫藥調配物之穩定性的方法，其包括：

製備pH值處於約5.0至低於5.2範圍內之包含該人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之該水性醫藥調配物；

其中與不在約5.0至低於5.2範圍內之pH值下的等效水性醫藥調配物相比，該水性醫藥調配物在約5.0至低於5.2範圍內之pH值下顯示改良之穩定性。

90. 一種改良包含人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分之水性醫藥調配物之穩定性的方法，其包括：

製備包含該人類抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)單株抗體或其抗原結合部分與胺基酸聚集抑制劑之混合物的該水性醫藥調配物；

其中與不含該胺基酸聚集抑制劑之等效水性醫藥調配物相比，該水性醫藥調配物在存在該胺基酸聚集抑制劑之情況下顯示改良之穩定性。

實例

【0167】 提供以下實例用於說明而不意欲限制本發明之範疇。貫穿本文中所提供之實例，使用以下縮寫：DF，滲濾；PS20，聚山梨糖醇酯

20；HCl，鹽酸鹽；UF/DF，超濾/滲濾；F#，調配物編號；HMWS，高分子量物質；SE-UHPLC，粒徑排阻超高效液相層析。另外，貫穿此等實例，提供了用於製造包含地諾單抗之最終調配物的DF緩衝液或透析緩衝液的組成以及最終調配物之組分之估計濃度。儲存並且隨後分析穩定性之最終調配物的某些組分的最終濃度可與DF或透析緩衝液之濃度不同，視存在或不存在相對離子(例如鹽酸鹽)而定。不存在相對離子時，調配物具有低離子強度。在此種情況下，乙酸鹽與地諾單抗共濃縮，使得最終調配物包含相對於DF或透析緩衝液之濃度而言較高之乙酸鹽濃度。舉例而言，當DF緩衝液或最終調配物皆不包含相對離子(例如鹽酸鹽)且因而具有低離子強度時，使用包含10 mM乙酸鹽之DF緩衝液導致最終地諾單抗(120 mg/mL)調配物(pH 5.1)中存在約23 mM乙酸鹽。類似地，不存在相對離子(例如鹽酸鹽)時，包含20 mM乙酸鹽之DF緩衝液導致最終地諾單抗(120 mg/mL)調配物(pH 5.1)中存在約32 mM乙酸鹽。當存在相對離子(例如精胺酸鹽酸鹽之鹽酸鹽)時，乙酸鹽不與地諾單抗共濃縮，且因此DF緩衝液之乙酸鹽濃度及最終組成物之乙酸鹽濃度一般相等。另外，賦形劑可受到體積排阻，或可受到非特異性相互作用影響。舉例而言，在120 mg/mL地諾單抗調配物中，苯丙胺酸及山梨糖醇濃度比DF緩衝液中所指示之濃度低大約7%至10%，並且精胺酸濃度低大約10%至15%。根據上文，貫穿以下實例，在考慮以上所描述之賦形劑排阻及乙酸鹽共濃縮效應之情況下，提供了最終調配物之組分的濃度。

實例1

【0168】 初步評估十二種調配物減少高濃度液體地諾單抗調配物(120 mg/mL)中HMWS之量(%)及其隨時間之形成的作用。調配物替代方

案包括緩衝劑類型、穩定劑及溶液pH值方面之變化。以下表1中描述測試調配物A至L。所有列出之緩衝液值均關於滲濾抗體所針對之緩衝液濃度。緩衝液交換後向該溶液中添加各賦形劑及界面活性劑，達至該表中所指示之水準。儘管未量測本發明調配物中之乙酸鹽濃度，但針對10 mM乙酸鹽滲濾之120 mg/mL地諾單抗調配物與山梨糖醇具有介於25 mM與35 mM乙酸鹽之間的近似最終乙酸鹽值。

【0169】 將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽(pH 5.2)中相對於10 mM乙酸鹽(pH 5.2)進行UF/DF，並且濃縮物160 mg/mL。在10 mM乙酸鹽pH 5.2中製備由以下組成之儲備溶液：

35%山梨糖醇

1%聚山梨糖醇酯20

1%聚山梨糖醇酯80

30% Pluronic® F-68

3% Triton™ X-100

250 mM L-精胺酸鹽酸鹽

250 mM N-乙醯基精胺酸(NAR)

250 mM N-乙醯基離胺酸(NAK)

250 mM脯胺酸

250 mM聚乙二醇(PEG) 3350

250 mM Captisol®環糊精

【0170】 為了獲得調配物A至J，使用10 mM乙酸鹽pH 5.2將用10 mM乙酸鹽pH 5.2製備之160 mg/mL物質稀釋至120 mg/mL，繼而添加對應的山梨糖醇、賦形劑及/或界面活性劑儲備溶液達至表1中所列出之目標

最終濃度。為了獲得調配物K及L，藉由離心對來自160 mg/mL物質的兩份獨立等分試樣，分別為自緩衝調配物及麩胺酸鹽調配物，進行額外緩衝液交換。隨後使用相應的緩衝液將調配物K及L之物質稀釋至120 mg/mL，繼而添加對應的山梨糖醇及聚山梨糖醇酯20儲備溶液，達至表1中之調配物表中所列出之目標最終濃度。

表1

	縮寫	調配物組成
A	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
B	乙酸鹽/山梨糖醇/PS80/pH5.2	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯80，pH 5.2
C	乙酸鹽/山梨糖醇/Pluronic F68/pH5.2	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v) Pluronic F68，pH 5.2
D	乙酸鹽/山梨糖醇/Triton X-100/pH5.2	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v) Triton X-100，pH 5.2
E	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、10 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
F	乙酸鹽/NAR/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、10 mM NAR、3.7% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
G	乙酸鹽/NAK/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、10 mM NAK、3.7% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
H	乙酸鹽/脯胺酸/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、10 mM L-脯胺酸、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
I	乙酸鹽/PEG/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、5 mM PEG3350、5% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
J	乙酸鹽/Captisol/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、2.7 mM Captisol、5% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
K	自緩衝/山梨糖醇/PS20/pH 5.2	5% (w/v)山梨糖醇、0.01% (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.2
L	麩胺酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.0	10 mM 麩胺酸鹽、10 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、0.01 (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 5.0

【0171】 圖1顯示在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。由大約10 mM麩胺酸鹽緩衝液、10 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)作為張力改良劑之山梨糖醇、0.01% (w/v)作為界面活性劑之聚山梨糖醇酯20組成且處於5.0之pH值下的調配物L顯示在37°C

下HMWS之起始量減少(表明已形成之聚集物存在一定程度之減少)與HMWS動態形成減少。

實例2

【0172】 在37°C之溫度下評估10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸、2.4% (w/v)山梨糖醇、0.01% (w/v)聚山梨糖醇酯20賦形劑調配物及10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇、0.01% (w/v)聚山梨糖醇酯20賦形劑調配物(各自含高濃度(120 mg/mL)地諾單抗)達1個月顯示pH值及胺基酸聚集抑制劑對HMWS形成速率及程度的影響。以下表2中描述所測試之調配物。所有列出之緩衝液及賦形劑值均關於滲濾抗體所針對之緩衝液及賦形劑濃度。

【0173】 為了製備測試樣品M至Q，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2的3 mL等分試樣針對500 mL以下所描述之DF緩衝液進行透析，其中進行總計3次緩衝液更換以達成先前調配物之100萬倍稀釋，從而確保完全緩衝液交換。隨後使用離心機-濃縮器對材料進行過度濃縮，繼而稀釋至120 mg/mL，並且添加聚山梨糖醇酯20達至0.01%之最終濃度。

表2

	縮寫	DF調配物組成
M	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH4.5	10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.5
N	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH4.8	10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.8
O	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.2
P	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH5.2	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.5
Q	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH5.3	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.8

【0174】 圖2顯示在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。圖3顯示在37°C下儲存1個月後粒徑排阻層析圖隨

調配物而變化。

【0175】 隨著溶液pH值降低，大聚集物之形成增加。在低於4.8且尤其4.5之pH值下，大聚集物為主要HWMS，其中對於測試調配物而言在pH 4.5下顯著增加。如圖3中所示，調配物P及Q具有最低量之高級HWMS (滯留時間約6分鐘)，繼而為具有降低之pH值的相應調配物O、N及M。

【0176】 然而，在pH值增加時，一般引起二聚物增加。如圖3中所示，調配物N具有最低量之二聚物(滯留時間約6.8分鐘)，繼而為調配物M、O、P及Q。

【0177】 在37°C下1個月之後，調配物O中存在濃度為75 mM之精胺酸在與具有相同pH值但不含精胺酸之調配物P相比時引起二聚物之量及其動態形成速率分別降低大約0.3%及25%。

實例3

【0178】 此實例顯示pH值對高濃度地諾單抗調配物之影響。

【0179】 地諾單抗(濃度為120 mg/mL)與乙酸鹽、山梨糖醇及聚山梨糖醇酯20 (PS20)一起在有或無胺基酸聚集抑制劑之情況下調配為三個不同的pH值：4.8、5.1及5.4。在此研究中，該胺基酸聚集抑制劑為L-精胺酸鹽酸鹽。所有調配物均藉由交換含有較低濃度之地諾單抗之初始溶液的緩衝液，繼而過度濃縮該地諾單抗材料，隨後用所要量之緩衝液、賦形劑及界面活性劑稀釋該地諾單抗材料來製造。簡而言之，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2 (初始材料)的等分試樣針對如表3A中所描述之DF緩衝液進行透析，其中進行總計3次緩衝液更換以達成初始材料之100萬倍稀釋，從而確保完全緩衝液交換。隨後使用離心機-濃縮器將經緩衝液交換之地諾單抗材料濃縮至高於120 mg/mL之地諾單抗濃度，並且隨後稀

釋經濃縮之材料以達成120 mg/mL地諾單抗之濃度。添加PS20達至0.01%之最終濃度。

【0180】 基於高濃度蛋白質之電荷狀態而認為其有助於溶液pH值。增加調配物1之乙酸鹽濃度以達成目標最終pH值，且使調配物2及3之乙酸鹽濃度與調配物1之乙酸鹽濃度相匹配。調配物4至6之乙酸鹽濃度需要甚至更高量之乙酸鹽以便匹配調配物1至3之最終乙酸鹽濃度，此係由於乙酸鹽在鹽酸鹽存在下未能共濃縮。調配物7充當對照物以確保調配物4至6中增加之乙酸鹽濃度不會妨礙精胺酸鹽酸鹽調配物中之蛋白質穩定性。

【0181】 表3A中描述此研究中製造並測試之不同的地諾單抗調配物。

表3A

調配物編號	估計最終配方*	DF緩衝液組成
1	40 mM乙酸鹽/4.58% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 4.8	30 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.35
2	40 mM乙酸鹽/4.58% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	30 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.9
3	40 mM乙酸鹽/4.58% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.4	30 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 5.2
4	40 mM乙酸鹽/65 mM精胺酸/3.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 4.8	40 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 4.8
5	40 mM乙酸鹽/65 mM精胺酸/3.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.4	40 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.4
6	40 mM乙酸鹽/65 mM精胺酸/3.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	40 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
7	10 mM乙酸鹽/65 mM精胺酸/3.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1

* 最終調配物包含120 mg/mL地諾單抗及最終濃度為0.01% (w/v)之PS20，且具有所指示之pH值。山梨糖醇濃度估計比DF緩衝液之山梨糖醇

濃度低8.5%。精胺酸濃度估計比DF緩衝液之精胺酸濃度低12.5%。

【0182】 將各調配物之樣品以1 mL之填充體積填充至容器中，並且儲存在37°C之溫度下達4週。使用SE-UHPLC來評定聚集抑制及一定時間內針對聚集抑制之穩定性(如基於HMWS及二聚物之形成)。在初始條件下以及在儲存時段期間及之後比較此等調配物之聚集抑制概況。

【0183】 在37°C下藉由SE-UHPLC監測HMWS百分比隨調配物及時間之變化。圖4表示調配物1至7之HMWS百分比隨時間而變化之圖，且表3B提供該圖之資料點。

表3B				
調配物名稱		在37°C下之儲存時間		
		0週	2週	4週
1	乙酸鹽(40)/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	0.7	1.2	1.6
2	乙酸鹽(40)/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.9	1.5	2.0
3	乙酸鹽(40)/山梨糖醇/PS20/pH 5.4	1.5	2.1	2.7
4	乙酸鹽(40)/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	0.6	1.2	1.9
5	乙酸鹽(40)/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.4	0.9	1.3	1.7
6	乙酸鹽(40)/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.7	1.1	1.4
7	乙酸鹽(10)/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.8	1.1	1.4

左側縱行中所示之調配物編號與表3A之調配物編號一致。

【0184】 圖5顯示各調配物在37°C下儲存1個月後之粒徑排阻層析圖。不含精胺酸之調配物示於左圖中，而含精胺酸之調配物示於右圖中。

【0185】 如圖4中所示，含精胺酸之調配物的效能優於不含精胺酸鹽酸鹽之對照調配物，且pH 5.1調配物之效能優於pH 4.8及pH 5.4之相應調配物。對於不含精胺酸鹽酸鹽之調配物1至3，在溶液pH值增至5.4時，二聚物增加(圖5A)。對於含有精胺酸鹽酸鹽之調配物4至6，在溶液pH值降至4.8時，較大聚集物之形成增加，以及在溶液pH值增至5.4時，二聚物增加(圖5B)。與不存在精胺酸鹽酸鹽之調配物2相比，在溶液pH值為5.1

時，存在精胺酸鹽酸鹽之調配物6具有最低量之總HMWS。另外，調配物7性質顯示乙酸鹽緩衝液濃度自10 mM增至40 mM對HMWS形成具有相對較小之影響。

實例4

【0186】 此實例顯示包含不同地諾單抗濃度之不同地諾單抗調配物的pH值與HMWS形成之間的關係。

【0187】 評估15 mg/mL至150 mg/mL之地諾單抗蛋白濃度以便評定不同的蛋白質濃度下及75 mM精胺酸鹽酸鹽濃度下之HMWS形成的pH敏感度。在各測試蛋白質濃度(15、60、120及150 mg/mL)下評估兩種pH值，亦即，pH 4.8及5.1。

【0188】 此研究中評估總計8種調配物(調配物8至15；描述於表4A中)。為了製備此等調配物，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2的兩份等分試樣相對於表4A中所描述之相應DF緩衝液進行透析。第1號與第2號透析方案進行了總計3次緩衝液更換以達成先前調配物之100萬倍稀釋，從而確保完全緩衝液交換。對於調配物8、9、12及13，在透析後，移出表4A中所描述之各透析方案第1號及第2號之等分試樣以製備稀釋步驟。隨後使用離心機-濃縮器過度濃縮其餘材料，繼而稀釋至表4A中所列出之對應地諾單抗濃度並且添加PS20達至0.01%之最終濃度。

表4A

調配物 編號	估計最終配方*	DF緩衝液組成	透析方案
8	15 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 4.8	1
9	60 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 4.8	
10	120 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 4.8	
11	150 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 4.8	
12	15 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1	2
13	60 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1	
14	120 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1	
15	150 mg-mL地諾單抗/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1	

*最終調配物包含最終濃度為0.01% (w/v)之PS20，且具有所指示之pH值。乙酸鹽之估計濃度為10 mM，山梨糖醇濃度估計比DF緩衝液之山梨糖醇濃度低約8.5%。精胺酸濃度估計為65 mM。山梨糖醇濃度估計為2.2% (w/v)。

【0189】 將該等調配物以1 mL之填充體積填充至容器中，並且儲存在37°C之溫度下達1個月。使用SE-UHPLC來評定聚集抑制及一定時間內針對聚集抑制之穩定性(如基於HMWS及二聚物之形成)。在初始條件下以及在儲存時段期間及之後比較此等調配物之聚集抑制概況。

【0190】 圖6表示各調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS

百分比隨儲存時間而變化之圖，且表4B提供該圖之資料點。

表4B

調配物		HMWS百分比		
		0	2週	4週
8	15 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	0.4	0.4	0.5
9	60 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	0.4	0.8	1.1
10	120 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	0.5	1.4	1.9
11	150 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 4.8	0.6	1.7	2.4
12	15 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.4	0.3	0.4
13	60 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.5	0.7	0.9
14	120 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.6	1.2	1.5
15	150 mg-mL/乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.7	1.3	1.7

【0191】 圖7A及圖7B顯示在37°C下儲存1個月後粒徑排阻層析圖隨調配物而變化。如圖6中所示，%HMWS隨蛋白質濃度增加而增加。pH 4.8之調配物8至11與pH 5.1之對應調配物(調配物12至15)相比一致具有較高水準之HMWS。pH 4.8下之% HMWS增加係由於圖7A (上)中所示之約5.75分鐘時之大聚集物峰所致。儘管溶液pH 5.1之% HMWS隨蛋白質濃度增加而具有增加之二聚物，但總HMWS低於溶液pH 4.8之對應蛋白質濃度(圖7B (下))。

【0192】 pH 5.1相對於pH 4.8之HMWS水準差異隨地諾單抗濃度增加而變大，其中地諾單抗濃度愈高，該差異愈大。

實例5

【0193】 評估含各種濃度之精胺酸、NAR及由精胺酸-精胺酸(Arg-Arg)及精胺酸-苯丙胺酸(Arg-Phe)組成之兩種二肽的調配物對具有120 mg/mL之地諾單抗濃度的溶液的穩定作用。

【0194】 以下表5中描述所測試之調配物。所有列出之乙酸鹽及賦形劑(二肽除外)值均關於滲濾抗體所針對之緩衝液及賦形劑濃度。緩衝液交換後向該溶液中添加各二肽，達至該表中所指示之水準。藉由針對以下

列出之DF緩衝液進行UF/DF來獲得調配物R至X。藉由在單一庫中共同針對含有10 mM乙酸鹽、3.6%山梨糖醇之DF緩衝液pH 4.0進行UF/DF來獲得調配物Y及Z。UF/DF後，將調配物Y及Z之庫分成2個，隨後摻加來自含有3.6%山梨糖醇之1 M儲備溶液pH 5.1之Arg-Arg或Arg-Phe二肽。向各調配物中添加聚山梨糖醇酯20，最終目標濃度為0.01%。在不存在精胺酸之情況下進行乙酸鹽共濃縮，使得調配物S至X中之最終乙酸鹽濃度為約25 mM。濃縮過程中優先排阻山梨糖醇，使得自初始濃度降低約7%至8% (w/v)。

【0195】 將該等調配物以1.0 mL之填充體積填充至容器中。將該等調配物儲存在2°C至8°C之溫度下達12個月且在25°C、30°C及37°C下達3個月。使用SE-UHPLC來評定穩定性(基於HMWS形成)。將此等二肽調配物在37°C下一個月之後的穩定性與37°C下之精胺酸鹽酸鹽調配物相比較，如圖8中所示。

表5

	估計最終配方	DF調配物組成
R	乙酸鹽/5%山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
S	乙酸鹽/3.6%山梨糖醇/38mM Arg-HCl/PS20/pH 5.2	10 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、38 mM L-精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
T	乙酸鹽/2.4%山梨糖醇/75mM Arg-HCl/PS20/pH 5.2	10 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
U	18mM乙酸鹽/2.4%山梨糖醇/75mM Arg-HCl/PS20/pH 5.2	18 mM乙酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
V	乙酸鹽/1.2%山梨糖醇/113mM Arg-HCl/PS20/pH 5.2	10 mM乙酸鹽、1.2%山梨糖醇、113 mM L-精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
W	乙酸鹽/0%山梨糖醇/150mM Arg-HCl/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、0% (w/v)山梨糖醇、150 mM L-精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
X	乙酸鹽/150mM NAR/75mM Arg-HCl/PS20/pH 5.2	10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽，150 mM NAR，pH 5.1
Y	乙酸鹽/3.6%山梨糖醇/38mM Arg-Arg/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
Z	乙酸鹽/3.6%山梨糖醇/38mM Arg-Phe/PS20/pH 5.2	10 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0

【0196】 圖8顯示在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。結果顯示胺基酸聚集抑制劑抑制HMWS之形成。舉例而言，精胺酸-苯丙胺酸二肽顯示顯著改良，使得HMWS與其他調配物相比減少約0.3%。最低至最高HMWS之等級順序為 $Z \ll V < Y \approx T \approx W \approx X \approx U < S < R$ 。如圖中可見，與缺乏精胺酸及缺乏含精胺酸之二肽的對照調配物(調配物R)相比，含精胺酸-精胺酸(Arg-Arg) (調配物Y)及精胺酸-苯丙胺酸(Arg-Phe) (調配物Z)二肽之調配物減少HMWS形成。調配物Z含有最少量之HMWS，優於調配物Y。

實例6

【0197】 此實例顯示對地諾單抗之聚集抑制及穩定性隨精胺酸及苯丙胺酸之不同濃度以及精胺酸與苯丙胺酸之相應混合物而變化。

【0198】 如以上所描述，鑑定精胺酸鹽酸鹽(HCl)及精胺酸鹽酸鹽-苯丙胺酸二肽可減少地諾單抗之初始起始水準及HMWS形成速率。在此研究中，評估含有諸多濃度之精胺酸鹽酸鹽、諸多濃度之苯丙胺酸及精胺酸鹽酸鹽與苯丙胺酸之組合的調配物對含有地諾單抗120 mg/mL之溶液的穩定作用。

【0199】 以下表6A中描述測試調配物(調配物16至20)。為了製備此等調配物，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2的等分試樣針對如表6A中所描述之DF緩衝液進行透析，其中進行總計3次緩衝液更換以達成先前調配物之100萬倍稀釋，從而確保完全緩衝液交換。隨後使用離心機-濃縮器對材料進行過度濃縮，繼而稀釋至120 mg/mL，並且添加聚山梨糖醇酯20達至0.01%之最終濃度。調配物16被視為對照調配物。

表6A

	估計最終配方*	DF緩衝液組成
16	23 mM乙酸鹽/4.6 %(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
17	10 mM乙酸鹽/65 mM精胺酸/2.2%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1
18	23 mM乙酸鹽/35 mM苯丙胺酸/4%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM苯丙胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
19	23 mM乙酸鹽/68 mM苯丙胺酸/3.3%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM苯丙胺酸、3.6% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
20	10 mM乙酸鹽/33 mM精胺酸/35 mM苯丙胺酸/2.2%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM精胺酸鹽酸鹽、38 mM 苯丙胺酸、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1

*最終調配物包含120 mg/mL地諾單抗及最終濃度為0.01% (w/v)之PS20，且具有所指示之pH值。山梨糖醇及苯丙胺酸濃度估計比DF緩衝液之濃度低約8.5%。精胺酸濃度估計比DF緩衝液之濃度低約12.5%。

【0200】 將該等調配物以1.0 mL之填充體積填充至容器中。將該等調配物儲存在37°C之溫度下達1個月。使用SE-UHPLC來評定聚集抑制及一定時間內針對聚集抑制之穩定性(如基於HMWS及二聚物之形成)。在初始條件下以及在儲存時段期間及之後比較此等調配物之聚集抑制概況。

【0201】 圖9顯示在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。圖10顯示在37°C下儲存1個月後粒徑排阻層析圖隨調配物而變化。以下表6B顯示在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。

表6B

調配物		HMWS百分比		
		0	2週	4週
16	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.9	1.5	2.0
17	乙酸鹽/75 mM精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.7	1.1	1.5
18	乙酸鹽/38 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.5	0.9	1.3
19	乙酸鹽/75 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.5	0.8	1.2
20	乙酸鹽/38 mM精胺酸/38 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.7	1.0	1.4

【0202】 所有包含胺基酸聚集抑制劑精胺酸或苯丙胺酸(調配物17至20)之調配物均優於缺乏任何胺基酸聚集抑制劑之山梨糖醇對照調配物(調配物16)。當與對照調配物及精胺酸鹽酸鹽調配物(分別為調配物16及17)相比時，所有含苯丙胺酸之調配物(調配物18、19及20)類似地含有低水準之HMWS (圖9)。如圖9中所示，含精胺酸鹽酸鹽及苯丙胺酸之調配物(調配物17至19)的HMWS形成速率類似。包含38 mM精胺酸與38 mM苯丙胺酸之組合調配物(總計76 nM，調配物20)顯示比75 mM精胺酸調配物(調配物17)更佳(圖9)，但不比75 mM苯丙胺酸調配物(調配物19)更佳(圖9)之穩定性。

實例7

【0203】 此實例顯示對地諾單抗之聚集抑制及穩定性隨不同的苯丙胺酸濃度而變化。

【0204】 在先前研究中，鑑定精胺酸鹽酸鹽及精胺酸鹽酸鹽-苯丙胺酸二肽可降低地諾單抗之初始起始水準及HMWS形成速率。評估含有精胺酸鹽酸鹽、各種濃度之苯丙胺酸及精胺酸鹽酸鹽與苯丙胺酸之組合的調配物對含有地諾單抗120 mg/mL之溶液的穩定作用。

【0205】 以下表7A中描述所測試之調配物。為了製備測試樣品A至

E，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2的等分試樣針對以下所描述之DF緩衝液進行透析，其中進行總計3次緩衝液更換以達成先前調配物之100萬倍稀釋，從而確保完全緩衝液交換。隨後使用離心機-濃縮器將材料過度濃縮至大約130 mg/mL至150 mg/mL，繼而稀釋至120 mg/mL並且添加聚山梨糖醇酯20達至0.01%之最終濃度。調配物A被視為對照調配物。

【0206】 將該等調配物以1.0 mL之填充體積填充至容器中。將該等調配物儲存在37°C之溫度下達1個月。使用SE-UHPLC來評定穩定性(基於HMWS形成)。將此等調配物在37°C下一個月之後的穩定性概況與37°C下之山梨糖醇及精胺酸鹽酸鹽/山梨糖醇調配物相比較，如圖11A中所示。

【0207】 為了製備測試樣品F至K，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2的等分試樣針對以下所描述之DF緩衝液超濾/滲濾(UF/DF)總計12倍滲濾體積，以確保完全緩衝液交換。隨後使用超濾將材料過度濃縮至大約200 mg/mL，繼而稀釋至120 mg/mL並且添加聚山梨糖醇酯20達至0.01%之最終濃度。此等調配物中之乙酸鹽濃度為20 mM。調配物F被視為對照調配物。所有列出之乙酸鹽及賦形劑值均關於透析抗體所針對之乙酸鹽及賦形劑濃度。

【0208】 將該等調配物以1.0 mL之填充體積填充至容器中。將該等調配物儲存在40°C之溫度下達1個月。使用SE-UHPLC來評定穩定性(基於HMWS形成)。將此等調配物在40°C下一個月之後的穩定性概況與40°C下之山梨糖醇及精胺酸鹽酸鹽/山梨糖醇調配物相比較，如圖11B中所示。

表7A

調配物 編號	估計最終配方	DF緩衝液組成*
A	23 mM乙酸鹽/4.6% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
B	10 mM乙酸鹽/65 mM精胺酸/2.2% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1
C	23 mM乙酸鹽/35 mM苯丙胺酸/4.0% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM苯丙胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
D	23 mM乙酸鹽/69 mM苯丙胺酸/3.3 % (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM苯丙胺酸、3.6% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1
E	10 mM乙酸鹽/33 mM精胺酸/35 mM苯丙胺酸/2.2% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM 精胺酸鹽酸鹽、38 mM苯丙胺酸、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1
F	23 mM乙酸鹽/4.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	20 mM乙酸鹽、4.7% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
G	23 mM乙酸鹽/4.6 mM苯丙胺酸/4.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	20 mM乙酸鹽、5 mM苯丙胺酸、4.7% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
H	23 mM乙酸鹽/9 mM苯丙胺酸/4.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	20 mM乙酸鹽、10 mM苯丙胺酸、4.7% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
I	23 mM乙酸鹽/18 mM苯丙胺酸/4.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	20 mM乙酸鹽、20 mM苯丙胺酸、4.7% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
J	32 mM乙酸鹽/37 mM苯丙胺酸/4.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	20 mM乙酸鹽、40 mM苯丙胺酸、4.7% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
K	32 mM乙酸鹽/55 mM苯丙胺酸/4.3% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH5.1	20 mM乙酸鹽、60 mM苯丙胺酸、4.7% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0

* 最終調配物包含 120 mg/mL 地諾單抗及最終濃度為 0.01% (w/v) 之 PS20，且具有所指示之 pH 值。山梨糖醇及苯丙胺酸濃度估計比 DF 緩衝液之濃度低約 8.5%。精胺酸濃度估計比 DF 緩衝液之濃度低約 12.5%。

【0209】 圖 11A 及表 7B 顯示在 37°C 下藉由 SE-UHPLC 監測之 HMWS 百分比隨調配物及時間而變化。圖 11B 及表 7C 顯示在 40°C 下藉由 SE-UHPLC 監測之 HMWS 百分比隨調配物及時間而變化。圖 12A 及圖 12B 分別顯示在 37°C 及 40°C 下儲存 1 個月後粒徑排阻層析圖隨調配物而變化。

表7B

調配物		HMWS百分比		
		0	2週	4週
A	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.9	1.5	2.0
B	乙酸鹽/75 mM精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.7	1.1	1.5
C	乙酸鹽/38 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.5	0.9	1.3
D	乙酸鹽/75 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.5	0.8	1.2
E	乙酸鹽/38 mM精胺酸/38 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.7	1.0	1.4

表7C

調配物		HMWS百分比		
		0	2週	4週
F	20 mM乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.67	1.44	1.96
G	20 mM乙酸鹽/5 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.64	1.34	1.74
H	20 mM乙酸鹽/10 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.60	1.26	1.68
I	20 mM乙酸鹽/20 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.53	1.12	1.51
J	20 mM乙酸鹽/40 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.48	1.02	1.37
K	20 mM乙酸鹽/60 mM苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH5.1	0.44	0.96	1.28

【0210】 當與山梨糖醇及精胺酸鹽酸鹽/山梨糖醇調配物(分別為調配物A及B)相比時，所有苯丙胺酸調配物(調配物C、D、E、G至K)均含有較低水準之HMWS。當與精胺酸/山梨糖醇調配物(調配物B)相比時，精胺酸鹽酸鹽與苯丙胺酸組合調配物具有類似穩定性。所有調配物均優於山梨糖醇對照調配物(調配物A及F)。

實例8

【0211】 此實例顯示對不同的胺基酸聚集抑制劑之評估。

【0212】 藉由製備八種含疏水性、芳香族或極性/帶電胺基酸之調配物來對不同的胺基酸聚集抑制劑進行評估，以確定其對減少高濃度液體地諾

單抗調配物(120 mg/mL)中之HMWS之量(%)及一定時間內之HMWS形成的影響。相對於不含任何胺基酸聚集抑制劑及因等滲透壓性而存在之較高量山梨糖醇的對照調配物(調配物26)，該調配物包括八種L-胺基酸之一及少量山梨糖醇。

【0213】 將所測試之胺基酸聚集抑制劑分組至三個群組(第I組至第III組)之一中，並且含有如下量之胺基酸聚集抑制劑：

I. 芳香族胺基酸：

(a) 38 mM苯丙胺酸(調配物27)；

(b) 38 mM色胺酸(調配物28)；

II. 極性/帶電胺基酸：

(a) 75 mM精胺酸鹽酸鹽(調配物29)；

(b) 75 mM離胺酸(調配物30)；

(c) 75 mM組胺酸(調配物31)；

III. 疏水性胺基酸：

(a) 38 mM白胺酸(調配物32)；

(b) 38 mM異白胺酸(調配物33)；

(c) 38 mM纈胺酸(調配物34)。

【0214】 為了製備調配物26至34，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2的等分試樣針對如表8A中所描述之DF緩衝液進行透析，其中進行總計3次緩衝液更換以達成先前調配物之100萬倍稀釋，從而確保完全緩衝液交換。組胺酸調配物F之透析使用起始pH值為4.0之緩衝液，且預計pH值在由於杜南效應(Donnan effect)引起之蛋白質濃縮及乙酸鹽共濃縮後將變至目標pH值5.1。然而，在蛋白質濃縮至120 mg/mL之後，pH值

未變至目標pH值5.1，而是保持在pH 4.0。為了使組胺酸調配物之pH值達至pH 5.1，需要用稀(0.1 N) NaOH進行滴定。使用離心機-濃縮器單元對其餘調配物進行過度濃縮，繼而稀釋至124-128 mg/mL並且添加聚山梨糖醇酯20達至0.01 % (w/v)之最終濃度。

表8A

調配物編號	估計最終配方	透析緩衝液組成*
26 (A)	23 mM乙酸鹽/4.6%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1 (對照物)	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇、0.01% (w/v)聚山梨糖醇酯20，pH 4.0
27 (B)	23 mM乙酸鹽/35 mM苯丙胺酸/4%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM苯丙胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
28 (C)	23 mM乙酸鹽/色胺酸/4%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM色胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
29 (D)	10 mM乙酸鹽/66 mM精胺酸/2.2% (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM精胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1
30 (E)	10 mM乙酸鹽/66 mM離胺酸/2.2 % (w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM離胺酸鹽酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1
31 (F)	10 mM乙酸鹽/組胺酸/2.2%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM組胺酸、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
32 (G)	23 mM乙酸鹽/白胺酸/4%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM白胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
33 (H)	23 mM乙酸鹽/異白胺酸/4%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM異白胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
34 (I)	23 mM乙酸鹽/纈胺酸/4%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM纈胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0

* 最終調配物包含120 mg/mL地諾單抗及最終濃度為0.01% (w/v)之PS20，且具有所指示之pH值。山梨糖醇及苯丙胺酸濃度估計比DF緩衝液之山梨糖醇濃度低約8.5%。精胺酸濃度估計比DF緩衝液之精胺酸濃度低約12.5%。調配物編號之後出現之()中的字母對應於圖13至圖18。

【0215】 將該等調配物以1.0 mL之填充體積填充至容器中。將該等調配物儲存在37°C之溫度下達4週。使用SE-UHPLC來評定聚集抑制及一

定時間內針對聚集抑制之穩定性(如基於HMWS及二聚物之形成)。在初始條件下以及在儲存時段期間及之後比較此等調配物之聚集抑制概況。

【0216】 圖13至圖15表示各調配物在37°C下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨儲存時間而變化之圖，且表8B提供諸圖之資料點。圖16至圖18顯示表8A中所列出之調配物在37°C下儲存1個月後的層析重疊圖。圖13及圖16係關於包含芳香族胺基酸之調配物，圖14及圖17係關於包含極性/帶電胺基酸之調配物，且圖15及圖18係關於包含疏水性胺基酸之調配物。

表8B

調配物		HMWS百分比			
		0週	2週	4週	增加0-4週
芳族胺基酸 (圖13)					
26	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 (對照物)	0.9	1.9	2.3	1.4
27	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 (對照物)	0.5	0.9	1.2	0.7
28	乙酸鹽/色胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.5	0.7	0.9	0.4
極性/帶電胺基酸 (圖14)					
26	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 (對照物)	0.9	1.9	2.3	1.4
29	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 (對照物)	0.5	1.1	1.5	1.0
30	乙酸鹽/離胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.6	1.2	1.6	1.0
31	乙酸鹽/組胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	1.7	2.1	2.7	1.0
疏水性胺基酸 (圖15)					
26	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 (對照物)	0.9	1.9	2.3	1.4
27	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 (對照物)	0.5	0.9	1.2	0.7
32	乙酸鹽/白胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.5	1.1	1.4	0.9
33	乙酸鹽/異白胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.5	1.1	1.3	0.8
34	乙酸鹽/纈胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.5	1.0	1.3	0.8

調配物編號提供於左側縱行中且對應於表8A之調配物編號。

【0217】 如圖13至圖15中所示，相對於乙酸鹽/山梨糖醇調配物(調配物26)，所有含有胺基酸聚集抑制劑之調配物(調配物27至34)均在穩定性方面顯示一定程度之改良。含有芳香族胺基酸之調配物(調配物27及28)顯

示最大程度之%HMWS減少。相對於對照物(調配物26)，含有苯丙胺酸之調配物(調配物27)亦顯示HMWS大大減少，且含有色胺酸之調配物顯示最大程度之減少。與具有胺基酸穩定劑之其他調配物(圖16及圖18)相比，含有極性/帶電胺基酸之地諾單抗調配物(調配物29至31)一般顯示較大量之高級聚集物(圖17)，並且當與乙酸鹽/山梨糖醇調配物(調配物26)相比時，此特定組胺酸調配物總體上顯示較大量之HMWS (圖14)。組胺酸調配物之結果可能因透析過程、在pH 4.0下耗費較久持續時間以及用稀NaOH滴定該調配物而存在偏差。含有疏水性胺基酸之調配物(調配物32至34)均顯示HMWS形成之一致改良。

實例9

【0218】 此實例顯示精胺酸及苯丙胺酸在穩定地諾單抗方面之可能作用機制。氫氙交換質譜(HDX-MS)為一種用於表徵蛋白質-蛋白質/配位體/賦形劑相互作用的靈敏又穩定的技術。該方法偵測骨架醯胺氫鍵中由於與賦形劑相互作用所致的變化。

【0219】 利用含地諾單抗(3 mg/mL濃度)之10 mM乙酸鹽緩衝液(pH 5.2) (「A52」)在L-精胺酸(調配物35)、L-苯丙胺酸(調配物36)或L-甘胺酸(調配物37)存在下進行氫氙交換質譜(HDX-MS)，並且與缺乏任何胺基酸聚集抑制劑之地諾單抗調配物(調配物38)相比較。在4°C(利用75 mM濃度之L-精胺酸、L-苯丙胺酸或L-甘胺酸)及37°C(利用150 mM濃度之L-精胺酸、L-苯丙胺酸或L-甘胺酸)下進行實驗。在分析超過530種肽之後，鑑定出少量具有顯著構型變化之區域。圖19至圖30中俘獲了來自此等區域之數種代表性肽。

【0220】 圖19至圖24為調配物35至38中之每一者的輕鏈胺基酸28-

33 (圖19)、輕鏈胺基酸108-116 (圖20)、輕鏈胺基酸125-132 (圖21)、重鏈胺基酸47-59 (圖22)、重鏈胺基酸243-253 (圖23)及重鏈胺基酸392-399 (圖24)在4°C下之氬併入%隨時間(log(s))而變化的圖。

【0221】 圖25至圖30為調配物35至38中之每一者的輕鏈胺基酸28-33 (圖25)、輕鏈胺基酸108-117 (圖26)、輕鏈胺基酸124-131 (圖27)、重鏈胺基酸47-59 (圖28)、重鏈胺基酸242-253 (圖29)及重鏈胺基酸392-399 (圖30)在37°C下之氬併入%隨時間(log(s))而變化的圖。

【0222】 此等資料支持Arg及Gly對地諾單抗具有類似的相互作用效應，但Arg對地諾單抗具有稍強HDX足跡(構型變化)：在Fab LC 28-33區中具有強穩定作用；在Fab LC 108-132及HC 47-59、Fc CH3 HC 392-399區中具有微弱穩定作用；及在Fc CH2 243-253區中具有微弱去穩定作用。不意欲受任何特定理論束縛，設想精胺酸鹽酸鹽效應係由於來自地諾單抗表面及弱表面相互作用之組合優先排阻，而甘胺酸藉由優先排阻起作用。

【0223】 然而，苯丙胺酸未對地諾單抗顯示顯著結構擾動。不意欲受任何特定理論束縛，設想苯丙胺酸穩定效應可藉由一或多種以下機制來達成：側鏈相互作用，因為對肽骨架不存在作用(無HDX足跡)；及/或不影響骨架氫鍵網狀結構之與精胺酸/離胺酸側鏈之陽離子- π 相互作用。

實例10

【0224】 此實例顯示苯丙胺酸穩定地諾單抗之可能作用機制。

【0225】 為了研究Phe對地諾單抗之特定作用，進行分子動力學模擬。特定言之，在模擬盒中使地諾單抗之Fab結構域與過量Phe形成溶劑合物，並且進行兩次10 ns模擬。總而言之，選擇與Fab結合持續超過90%

之時間的Phe殘基進行進一步分析。鑑定了九個此種案例。在9個長時間滯留觀測值中的5個中，Phe殘基結合至VH/VL界面(可變重鏈/可變輕鏈)區及CH/CL (恆定重鏈/恆定輕鏈)區。在一個實例中，據信Phe側鏈在VH/VL界面處與疏水性殘基(例如，重鏈之V93、Y95及W112，以及輕鏈之A44及P45)之側鏈相互作用。在另一實例中，據信Phe之側鏈環在CH1與CL之界面處與殘基(例如，輕鏈之T165，以及重鏈之G171、V172及T174)之NH₃⁺及COO(-)基團相互作用。不意欲受任何特定理論束縛，此觀測結果產生以下觀念：Phe在緩解地諾單抗聚集方面之特定作用係由於苯基與形成重恆定1 (Hc)鏈與輕恆定(Lc)鏈之界面的疏水性殘基(例如，輕鏈CDR1之R30、G31、R32及Y33、輕鏈CDR2之A52以及重鏈CDR3之M106)的相互作用。假設此相互作用以來自Phe賦形劑之NH₃(+)及COO(-)基團之相對更帶電(因此具親水性)表面置換先前疏水性表面。

實例11

【0226】 對多種抗RANKL抗體構築體(同型IgG1、IgG2及IgG4)進行穩定性評定。如以上所描述，當與地諾單抗(其為IgG2免疫球蛋白)之乙酸鹽/山梨糖醇對照調配物相比時，精胺酸鹽酸鹽與苯丙胺酸均減少起始HMWS及一定時間內之HWMS水準。進行此評定以比較Arg-HCl及Phe減少含有不同抗RANKL抗體構築體之調配物中的HMWS的可能性。此研究中所測試之IgG1及IgG4構築體在與地諾單抗相比時含有相同的互補性決定區(CDR)，但含有不同的恆定域框架。此研究中所測試之不同的IgG2構築體相對於地諾單抗具有不同的CDR，但含有相同的恆定域框架。

【0227】 對各測試抗體構築體進行純化，並且使用離心機濃縮自8 mg/mL濃縮至70 mg/mL。將各經濃縮之體積分成三個等分試樣，隨後針

對以山梨糖醇、山梨糖醇/苯丙胺酸及山梨糖醇/精胺酸鹽酸鹽調配之乙酸鹽緩衝液進行透析，以製備如表9中所描述之調配物39至47。利用離心機濃縮將透析後樣品過度濃縮至高於120 mg/mL。用相應的緩衝液將抗體蛋白質稀釋至120 mg/mL。

表9

調配物編號	估計最終配方	DF緩衝液組成
39	23 mM乙酸鹽/4.6%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG1	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
40	10 mM乙酸鹽/66 mM精胺酸/3.3%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG1	10 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
41	23 mM乙酸鹽/35 mM苯丙胺酸/3%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG1	10 mM乙酸鹽、3.3% (w/v)山梨糖醇、38 mM苯丙胺酸，pH 4.0
42	23 mM乙酸鹽/4.6%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG2	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
43	10 mM乙酸鹽/66 mM精胺酸/3.3%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG2	10 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
44	23 mM乙酸鹽/35 mM苯丙胺酸/3%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG2	10 mM乙酸鹽、3.3% (w/v)山梨糖醇、38 mM苯丙胺酸，pH 4.0
45	23 mM乙酸鹽/4.6%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG4	10 mM乙酸鹽、5% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0
46	10 mM乙酸鹽/66 mM精胺酸/3.3%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG4	10 mM乙酸鹽、3.6% (w/v)山梨糖醇、75 mM精胺酸鹽酸鹽，pH 5.1
47	23 mM乙酸鹽/35 mM苯丙胺酸/3%(w/v)山梨糖醇/PS20/pH 5.1-IgG4	10 mM乙酸鹽、3.3% (w/v)山梨糖醇、38 mM苯丙胺酸，pH 4.0

* 最終調配物包含最終濃度為0.01% (w/v)之PS20，且具有所指示之pH值。山梨糖醇及苯丙胺酸濃度估計比DF緩衝液之濃度低約8.5%。精胺酸濃度估計比DF緩衝液之濃度低約12.5%。

【0228】 將該等調配物以1.0 mL之填充體積填充至玻璃小瓶容器中。將該等調配物儲存在37°C之溫度下達1個月。使用SE-UHPLC來評定

聚集抑制及一定時間內針對聚集抑制之穩定性(如基於HMWS之形成)。在初始條件下及在儲存時段之後比較此等調配物之聚集抑制概況。儲存之後比較該免疫球蛋白類別內之此等調配物的穩定性。

【0229】 圖31、圖33及圖35 (及以下相關表10、表12及表14)顯示在37°C下在免疫球蛋白G (分別為IgG1、IgG2及IgG4)之情況下藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。圖32、圖34及圖36 (及以下相關表11、表13及表15)顯示在37°C下在免疫球蛋白G (分別為IgG1、IgG2及IgG4)之情況下藉由SE-UHPLC監測之低分子量物質(LMWS，例如蛋白質片段)百分比隨調配物及時間而變化。圖37、圖38及圖39顯示在37°C下儲存t=4w後粒徑排阻層析圖重疊圖隨調配物而變化。

表10：在37°C下歷經4週之%HMW、IgG1 (A、B、C)比較

調配物		HMWS百分比		
		0	2週	4週
39	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG1	0.3	0.7	0.9
40	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG1	0.3	0.8	1.0
41	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG1	0.3	0.6	0.7

表11：在37°C下歷經4週之%LMWS、IgG1 (A、B、C)比較

調配物		LMWS百分比		
		0	2週	4週
39	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG1	1.2	2.4	3.1
40	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG1	1.2	2.8	4.3
41	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG1	1.2	2.1	3.0

表12：在37°C下歷經4週之%HMW、IgG2 (D、E、F)比較

調配物		HMWS百分比		
		0	2週	4週
42	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG2	0.4	1.7	2.0
43	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG2	0.4	2.8	3.1
44	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG2	0.3	1.8	2.4

表13：在37°C下歷經4週之%LMWS、IgG2 (D、E、F)比較

調配物		LMWS百分比		
		0	2週	4週
42	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG2	0.7	4.0	7.8
43	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	0.8	8.2	16.2
	-IgG2			
44	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG2	0.7	3.1	6.2

表14：在37°C下歷經4週之%HMW、IgG4 (G、H、I)比較

調配物		HMWS百分比		
		0	2週	4週
45	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG4	0.6	1.1	1.3
46	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG4	0.7	1.1	1.6
47	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG4	0.6	1.0	1.3

表15：在37°C下歷經4週之%LMWS、IgG4 (G、H、I)比較

調配物		LMWS百分比		
		0	2週	4週
45	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG4	0.7	1.6	1.9
46	乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG4	0.8	1.6	2.1
47)	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1 -IgG4	0.7	1.4	1.8

【0230】 如圖31及圖32中所示，具有與先前地諾單抗樣品類似之CDR區的IgG1分子顯示當與乙酸鹽/山梨糖醇對照調配物相比時，在添加苯丙胺酸之情況下HMWS減少大約0.2%。具有不同的CDR且如圖33及圖34中所描繪之IgG2樣品顯示當與對照乙酸鹽/山梨糖醇調配物相比時，乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇調配物中之HMWS有所增加。如圖35及圖36中所示，對於IgG4樣品類型，乙酸鹽/山梨糖醇及乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇調配物具有類似的穩定性，其中乙酸鹽/山梨糖醇/精胺酸具有較高HMWS形成。在所有利用IgG1、IgG2及IgG4樣品類型之案例中，含乙酸鹽/山梨糖醇/精胺酸之調配物顯示當與乙酸鹽/山梨糖醇(對照物)及乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇調配物相比時，HMWS降解有所增加。

【0231】 由於如圖37及圖38中所描繪之乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇調配物中的蛋白質片段大大增加，故圖32、圖34及圖36中顯示片段與抗體同功型之間的關係。文獻中已顯示單株抗體片段介導之聚集可能由在37°C下儲存抗體而產生[Perico N.等人, J.Pharm.Sci. (2009) 98, 第3031頁至第3042頁]。此機制在此評估中為有可能的，因為乙酸鹽/精胺酸/山梨糖醇調配物中之片段最大。乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇調配物中之片段較少，從而可能產生較少HMWS物質。IgG4樣品類型未加速片段化或聚集。

【0232】 根據此研究中收集之資料以及先前資料，亦即利用地諾單抗收集之分子模型化資料，可確定CDR之胺基酸序列與苯丙胺酸減少HMWS之相對效應之間的強相關性。在具有一致CDR胺基酸之地諾單抗(IgG2)及IgG1變異體中觀測到HMW物質減少，但在具有不同的CDR結構域的IgG2變異體中未觀測到HMWS減少。將發現CDR結構域內所含有之胺基酸序列易受與苯丙胺酸之相互作用及隨後聚集抑制影響。當與地諾單抗相比時，IgG4分子亦具有一致的CDR區，但在研究過程中在聚集方面偵測到極小變化。IgG4分子與IgG1及IgG2型式不同之處主要在於其鉸鏈胺基酸長度及其功能活性結構。因為IgG1及IgG2抗體同功型具有典型地描述為「Y」形之延伸結構，但IgG4 Fab CH1結構域與CH2結構域相互作用，從而形成更緊湊之結構[Aalberse R.C.等人, Immunology (2002), 105, 第9頁至第19頁]。此緊湊結構可抑制IgG1及IgG2形態下通常見到之片段化及聚集反應。

實例12

【0233】 進行研究以監測如以下及結合表16所描述加以調配之地諾單抗(調配物51至55)的穩定性。用於產生120 mg/ml地諾單抗濃度之Ph

5.1 最終調配物的滲濾緩衝液在乙酸鹽濃度及起始pH值方面不同。另外，調節山梨糖醇水準以維持最終產品之等滲透壓性(約300 mOsm/Kg)。將地諾單抗70 mg/mL針對各緩衝液滲濾不超過7倍滲濾體積，隨後超濾至約180 gm/mL，並且用滲濾緩衝液及聚山梨糖醇酯稀釋至120 mg/mL地諾單抗濃度及0.01%聚山梨糖醇酯20。在37°C下儲存之後使用SE-UHPLC評定穩定性，並且顯示此等調配物中之地諾單抗穩定性高度類似。隨著初始乙酸鹽濃度增加，初始HMW物質稍微減少。相比之下，含較低水準之乙酸鹽的調配物中的聚集速率稍微升高。

表16

調配物 編號	DF緩衝液	估計最終配方*	滲透壓 度 (mOsm/ kG)
51	5 mM乙酸鹽、40 mM苯丙胺酸、4.4%山梨糖醇，pH 4.0	16 mM乙酸鹽、37 mM苯丙胺酸、4.1%山梨糖醇	304
52	10 mM乙酸鹽、40 mM苯丙胺酸、4.2%山梨糖醇，pH 4.4	23 mM乙酸鹽、37 mM苯丙胺酸、3.9%山梨糖醇	300
53	20 mM乙酸鹽、40 mM苯丙胺酸、4.0%山梨糖醇，pH 4.7	32 mM乙酸鹽、37 mM苯丙胺酸、3.7%山梨糖醇	304
54	20 mM乙酸鹽、40 mM苯丙胺酸、4.2%山梨糖醇，pH 4.7	32 mM乙酸鹽、37 mM苯丙胺酸、3.9%山梨糖醇	315
55	30 mM乙酸鹽、40 mM苯丙胺酸、3.7%山梨糖醇，pH 4.8	41 mM乙酸鹽、37 mM苯丙胺酸、3.4%山梨糖醇	303

* 最終調配物包含120 mg/mL地諾單抗及最終濃度為0.01% (w/v)之PS20，及pH 5.1。

實例13

【0234】 實例報導精胺酸在三個不同的pH值下對地諾單抗化學變性穩定性之影響的研究結果：4.5、4.8及5 (或5.2)。

【0235】 使用具有螢光偵測器之Unchained Labs儀器HUNK進行所有化學變性實驗。激發波長為280 nm，並且記錄300與500 nm之間的發射掃描。對於各變性實驗，將蛋白質、緩衝液及變性劑(鹽酸胍)分配至36個

孔中，變性劑濃度呈線性增加，從而獲得針對各條件之36點曲線。使用由儀器製造商(Unchained Labs)提供之曲線擬合軟體來擬合資料點。使用兩態模型，因為已證明僅存在單一過渡(天然 $\leftrightarrow$ 變性)。使用含0-6 M脲之10 mM乙酸鹽5.0% w/v山梨糖醇進行實驗，並且滴定至所需pH 4.5、4.8或5 (5.2)。在所有實驗中，地諾單抗蛋白之濃度為7 mg/mL。

【0236】 圖40顯示地諾單抗在不存在精胺酸之情況下在pH 4.5、4.8及5.0下之等溫化學變性曲線。在不存在精胺酸之情況下，三種測試pH值條件下之50%解摺疊所需之化學變性劑之 $C_{1/2}$ 類似。

【0237】 圖41顯示地諾單抗在存在75 mM精胺酸鹽酸鹽之情況下在pH 4.5、4.8及5.2下之等溫化學變性曲線。當與pH 4.8及4.5相比時，在pH 5.2下，化學變性穩定性顯著增加。相對於較低pH值，在pH 5.2下，1 M變性劑鹽酸胍使 $C_{1/2}$ 增加。因而，精胺酸之保護特性令人驚訝且高度依賴於pH值。

實例14

【0238】 以下實例提供精胺酸及苯丙胺酸對注射器中之高濃度地諾單抗調配物在一定時間內之穩定性的影響的研究結果。

【0239】 在先前研究中，鑑定精胺酸鹽酸鹽及苯丙胺酸可降低地諾單抗之初始起始水準及HMWS形成速率。在此研究中，評估含有精胺酸鹽酸鹽、苯丙胺酸及精胺酸鹽酸鹽與苯丙胺酸之組合的調配物對含有地諾單抗120 mg/mL之溶液的穩定作用，並且在兩個不同的溫度下儲存於注射器中達三個月。

【0240】 以下表17中描述所測試之調配物。為了製備調配物56至59，將含地諾單抗70 mg/mL之乙酸鹽pH 5.2針對以下所描述之滲濾(DF)緩衝液滲濾8倍滲濾體積，以確保完全緩衝液交換。隨後將材料超濾至高於180 mg/mL，繼而稀釋至120 mg/mL並且添加聚山梨糖醇酯20達至

0.01%之最終濃度。調配物56被視為對照調配物。所列出之乙酸鹽、精胺酸鹽及苯丙胺酸係針對DF緩衝液，並且當不存在其他相對離子時，在考慮賦形劑排阻及乙酸鹽共濃縮之情況下提供120 mg/mL地諾單抗之最終組成物中的估計水準。使用Paar模組化緊湊型流變儀以高達1000 s⁻¹ (秒之倒數)之剪切速率量測5°C及25°C下之黏度。將該等調配物以1.0 mL之填充體積填充至玻璃預填充注射器(PFS)中。將注射器平行組分別儲存在25°C之溫度下歷經3個月及在37°C下歷經2個月。使用SE-UHPLC來評定穩定性(如基於HMWS形成)。

表17

	調配物之縮寫名稱	DF緩衝液組成*	估計最終配方*	傳導率(μS/cm)	5°C下黏度	25°C下黏度
56	乙酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH 5.0	20 mM乙酸鹽、5% (w/v) 山梨糖醇，pH 4.7	32 mM乙酸鹽、4.4 % 山梨糖醇	600	5.2	3.1
57	乙酸鹽/精胺酸鹽/山梨糖醇/PS20/pH5.1	10 mM乙酸鹽、75 mM L-精胺酸鹽、2.4% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1	10 mM乙酸鹽、66 mM 精胺酸鹽、2.2%山梨糖醇	5250	4.8	2.7
58	乙酸鹽/精胺酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM精胺酸鹽、38 mM苯丙胺酸、3.0% (w/v)山梨糖醇，pH 5.1	10 mM乙酸鹽、33 mM 精胺酸鹽、35 mM 苯丙胺酸、2.8%山梨糖醇	3070	4.8	2.8
59	乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/PS20/pH 5.1	10 mM乙酸鹽、38 mM苯丙胺酸、4.4% (w/v)山梨糖醇，pH 4.0	23 mM乙酸鹽、35 mM 苯丙胺酸、4.2 %山梨糖醇	800	4.9	2.9

* 各最終調配物包含120 mg/mL地諾單抗及0.01% PS20及縮寫調配物名稱中所指示之pH值

【0241】 圖42及圖43分別顯示在25℃下歷經3個月及在37℃下歷經2個月藉由SE-UHPLC監測之HMWS百分比隨調配物及時間而變化。

【0242】 表18至表21以表格形式顯示該等資料以及HMWS相對於初始HMWS水準之增加。

表18：在25℃下在12週內之%HMWS水準

調配物名稱	HMWS百分比					
	0	2	4	6	8	12
56 乙酸鹽/山梨糖醇/pH 5.0	0.81	0.93	1.04	1.16	1.17	1.38
57 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/山梨糖醇/pH5.1	0.72	0.85	0.93	1.02	1.07	1.21
58 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1	0.59	0.75	0.85	0.93	0.97	1.12
59 乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1	0.66	0.7	0.79	0.88	0.92	1.08

表19：在25℃下在12週內之HMWS增加

調配物	HMWS增加					
	0	2	4	6	8	12
56 乙酸鹽/山梨糖醇/pH 5.0		0.12	0.23	0.35	0.36	0.57
57 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/山梨糖醇/pH5.1		0.13	0.21	0.3	0.35	0.49
58 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1		0.16	0.26	0.34	0.38	0.53
59 乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1		0.04	0.13	0.22	0.26	0.42

表20：在37℃下在8週內之%HMWS水準

調配物	HMWS百分比				
	0	2	4	6	8
56 乙酸鹽/山梨糖醇/pH 5.0	0.81	1.3	1.66	1.94	2.49
57 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/山梨糖醇/pH5.1	0.72	1.2	1.5	1.94	2.23
58 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1	0.59	1.23	1.66	2.06	2.48
59 乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1	0.66	1.09	1.4	1.73	2.21

表21：在37℃下在8週內之HMWS增加

調配物	HMWS增加			
	2	4	6	8
56 乙酸鹽/山梨糖醇/pH 5.0	0.49	0.85	1.13	1.68
57 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/山梨糖醇/pH5.1	0.48	0.78	1.22	1.51
58 乙酸鹽/精胺酸鹽酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1	0.64	1.07	1.47	1.89
59 乙酸鹽/苯丙胺酸/山梨糖醇/pH 5.1	0.43	0.74	1.07	1.55

【0243】 此實例顯示添加精胺酸、苯丙胺酸及其組合各自降低高濃

度地諾單抗調配物中之初始HMWS ($t=0$)之水準。在25°C下，與對照調配物56相比，苯丙胺酸調配物59中之HMWS增加有所減少。在37°C下，與對照山梨糖醇調配物56相比，調配物57及59具有減少之HMWS形成。相對於其他調配物，含有精胺酸鹽酸鹽與苯丙胺酸之調配物在37°C下以較高速率形成HMWS，表明此等賦形劑之組合在此種較高溫度下使此調配物中之地諾單抗不穩定。

【0244】 提供以上描述僅為了清楚理解，而不應理解為無必要之限制，因為本發明範疇內之修改方案對一般熟習此項技術者為顯而易知的。

【0245】 貫穿本說明書及以下申請專利範圍，除非上下文另有要求，否則字組「包含」及變化形式應理解為隱含包括所陳述之整數或步驟或者整數或步驟群組，而不是排除任何其他整數或步驟或者整數或步驟群組。

【0246】 貫穿本說明書，在組成物描述為包括組分或材料時，除非另外描述，否則設想該等組成物亦可基本上由或由所敘述之組分或材料的任何組合組成。同樣，在方法描述為包括特定步驟時，除非另外描述，否則設想該等方法亦可基本上由或由所敘述之步驟的任何組合組成。本文中說明性地揭示之本發明可在不存在本文中未明確揭示之任何要素或步驟的情況下適當地實踐。

【0247】 本文中所揭示之方法及其個別步驟之實踐可人工及/或在電子設備輔助或由其提供之自動化下進行。雖然已參考特定實施例描述了諸多方法，但熟習此項技術者應容易瞭解到，可使用執行與該等方法相關之動作之其他方式。舉例而言，除非另外描述，否則可在不背離該方法之範疇或精神的情況下改變各步驟之順序。另外，一些個別步驟可組合、省略

或進一步再分成其他步驟。

【0248】 本文中所引用之所有專利、出版物及參考文獻係以引用之方式全部併入本文中。在本發明與所併入之專利、出版物及參考文獻矛盾之情況下，應以本發明為主。

【序列表】

<110> 美商安進公司
<120> 人類抗RANKL抗體之調配物及其使用方法
<130> 01017/51689A
<150> US 62/492,056
<151> 2017-04-28
<160> 27
<170> PatentIn第3.5版
<210> 1
<211> 108
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> 地諾單抗可變輕鏈

<400> 1
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly Arg
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 2
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> 地諾單抗可變重鏈

<400> 2

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 235
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> 地諾單抗全長輕鏈

<400> 3
Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15
Asp Thr Thr Gly Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser
20 25 30
Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser
35 40 45
Val Arg Gly Arg Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
50 55 60
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro
65 70 75 80
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
85 90 95

Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr
100 105 110

Gly Ser Ser Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
130 135 140

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
145 150 155 160

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
165 170 175

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
180 185 190

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
195 200 205

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
210 215 220

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230 235

<210> 4
<211> 467
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> 地諾單抗全長重鏈

<400> 4

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ser Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe
115 120 125

Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130 135 140

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
145 150 155 160

Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
165 170 175

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
180 185 190

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

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
210 215 220

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

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe
305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile

340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 5
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 輕鏈CDR 1

<400> 5

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly Arg Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 6
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 輕鏈CDR 2

<400> 6

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 7
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 輕鏈CDR 3

<400> 7

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 8
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 重鏈CDR 1

<400> 8

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 重鏈CDR 2

<400> 9

Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 10
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 重鏈CDR 3

<400> 10

Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro
1 5 10

<210>	11	
<211>	2141	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	11	
ggccaaagcc	gggctccaag tggcgcccc acgtcgaggc tccgccgcag cctccggagt	60
tggccgcaga	caagaagggg agggagcggg agagggagga gagctccgaa gcgagagggc	120
cgagcgccat	gcgccgcgcc agcagagact acaccaagta cctgcgtggc tcggaggaga	180
tgggcggcgg	ccccggagcc cgcacagagg gccccctgca cgccccgccg ccgcctgcgc	240
cgcaccagcc	ccccgccgcc tcccgtcca tgttcgtggc cctcctgggg ctggggctgg	300
gccaggttgt	ctgcagcgtc gccctgttct tctatttcag agcgcagatg gatacctaata	360
gaatatcaga	agatggcact cactgcattt atagaatttt gagactccat gaaaatgcag	420
attttcaaga	cacaactctg gagagtcaag atacaaaatt aatacctgat tcatgtagga	480
gaattaaaca	ggcctttcaa ggagctgtgc aaaaggaatt acaacatata gttggatcac	540
agcacatcag	agcagagaaa gcgatggagg atggctcatg gttagatctg gccaagagga	600
gcaagcttga	agctcagcct ttgtctcctc tcactattaa tgccaccgac atcccatctg	660
gttcccataa	agttagtctg tctcttggg accatgatcg gggttgggcc aagatctcca	720
acatgacttt	tagcaatgga aaactaatag ttaatcagga tggcttttat tacctgtatg	780
ccaacatttg	ctttcgacat catgaaactt caggagacct agctacagag tatcttcaac	840
taatggtgta	cgtcactaaa accagcatca aaatcccaag ttctcatacc ctgatgaaag	900
gaggaagcac	caagtattgg tcaggaatt ctgaattcca tttttattcc ataaacgttg	960
gtggattttt	taagttacgg tctggagagg aaatcagcat cgaggctctc aaccctcct	1020
tactggatcc	ggatcaggat gcaacatact ttggggcttt taaagtcca gatatagatt	1080
gagccccagt	ttttggagtg ttaigtattt cctggatgtt tggaacatt ttttaaaaca	1140
agccaagaaa	gatgtatata ggtgtgtgag actactaaga ggcatggccc caacgttaca	1200
cgactcagta	tccatgctct tgacctgta gagaacacgc gtatttacct gccagtggga	1260
gatgttagac	tcatgggtgt ttacacaatg gtttttaaat ttgtaatga attcctagaa	1320
ttaaaccaga	ttggagcaat tacgggttga ccttatgaga aactgcatgt gggctatggg	1380
aggggttggt	ccctggctcat gtgccccttc gcagctgaag tggagagggt gtcatttagc	1440
gcaattgaag	gatcatctga aggggcaaat tcttttgaat tgttacatca tgctggaacc	1500
tgcaaaaaat	actttttcta atgaggagag aaaatatatg tatttttata taatatctaa	1560
agttatat	ttt cagatgtaat gttttctttg caaagtattg taaattatat ttgtgctata	1620
acagacatat	ttaactgggt cactttgtaa attccctggg gaaaacttgc agctaaggag	1680
gggaaaaaaa	tggtgtttcc taatatcaaa tgcagtatat ttcttcgttc tttttaagtt	1740
aatagatttt	ttcagacttg tcaagcctgt gcaaaaaaat taaatggat gccttgaata	1800

ataagcagga tgttgccac caggcgctt tcaaatttag aaactaattg actttagaaa 1860
gctgacattg ccaaaaagga tacataatgg gccactgaaa ttigtcaaga gtagttatat 1920
aattgttgaa cagggtgttt tccacaagtg ccgcaaatig tacctttttt ttttttcaa 1980
aatagaaaag ttattagtgg tttatcagca aaaaagtcca attttaattt agtaaattgt 2040
attttatact gtacaataaa aacattgcct ttgaatgtta attttttggt acaaaaataa 2100
atttatatga aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 2141

<210> 12
<211> 317
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12

Met Arg Arg Ala Ser Arg Asp Tyr Thr Lys Tyr Leu Arg Gly Ser Glu
1 5 10 15
Glu Met Gly Gly Gly Pro Gly Ala Pro His Glu Gly Pro Leu His Ala
20 25 30
Pro Pro Pro Pro Ala Pro His Gln Pro Pro Ala Ala Ser Arg Ser Met
35 40 45
Phe Val Ala Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Gln Val Val Cys Ser Val
50 55 60
Ala Leu Phe Phe Tyr Phe Arg Ala Gln Met Asp Pro Asn Arg Ile Ser
65 70 75 80
Glu Asp Gly Thr His Cys Ile Tyr Arg Ile Leu Arg Leu His Glu Asn
85 90 95
Ala Asp Phe Gln Asp Thr Thr Leu Glu Ser Gln Asp Thr Lys Leu Ile
100 105 110
Pro Asp Ser Cys Arg Arg Ile Lys Gln Ala Phe Gln Gly Ala Val Gln
115 120 125
Lys Glu Leu Gln His Ile Val Gly Ser Gln His Ile Arg Ala Glu Lys
130 135 140
Ala Met Val Asp Gly Ser Trp Leu Asp Leu Ala Lys Arg Ser Lys Leu
145 150 155 160
Glu Ala Gln Pro Phe Ala His Leu Thr Ile Asn Ala Thr Asp Ile Pro
165 170 175
Ser Gly Ser His Lys Val Ser Leu Ser Ser Trp Tyr His Asp Arg Gly
180 185 190

Trp Ala Lys Ile Ser Asn Met Thr Phe Ser Asn Gly Lys Leu Ile Val
195 200 205

Asn Gln Asp Gly Phe Tyr Tyr Leu Tyr Ala Asn Ile Cys Phe Arg His
210 215 220

His Glu Thr Ser Gly Asp Leu Ala Thr Glu Tyr Leu Gln Leu Met Val
225 230 235 240

Tyr Val Thr Lys Thr Ser Ile Lys Ile Pro Ser Ser His Thr Leu Met
245 250 255

Lys Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Trp Ser Gly Asn Ser Glu Phe His Phe
260 265 270

Tyr Ser Ile Asn Val Gly Gly Phe Phe Lys Leu Arg Ser Gly Glu Glu
275 280 285

Ile Ser Ile Glu Val Ser Asn Pro Ser Leu Leu Asp Pro Asp Gln Asp
290 295 300

Ala Thr Tyr Phe Gly Ala Phe Lys Val Arg Asp Ile Asp
305 310 315

<210> 13
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 13

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Gly Arg
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Phe Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

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

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

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

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

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

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

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 14
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 14

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ser Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp

100	105	110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro		
115	120	125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr		
130	135	140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr		
145	150	155
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro		
165	170	175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr		
180	185	190
Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp		
195	200	205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys		
210	215	220
Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
260	265	270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
325	330	335
Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
340	345	350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
355	360	365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
385 390 395 400

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

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 15
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(14)
<223> Xaa為Cys或Ser

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Xaa為Arg或Lys

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa為Glu或Gly

<220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> Xaa為Ser或Gly

<220>
<221> misc_feature
<222> (75)..(75)
<223> Xaa為Ser或Asn

<220>
<221> misc_feature
<222> (76)..(76)
<223> Xaa為Leu或Phe

<220>
<221> misc_feature
<222> (79)..(79)
<223> Xaa為Lys或Gln

<220>
<221> misc_feature
<222> (82)..(82)

<223> Xaa為Thr或Ile
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (86)..(86)
 <223> Xaa為Asp或Asn
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (97)..(97)
 <223> Xaa為Arg、Thr或Lys
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (100)..(100)
 <223> Xaa為Ser、Arg或Pro
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (102)..(102)
 <223> Xaa為Tyr、Cys或Ser
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (103)..(103)
 <223> Xaa為Gly或Cys
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (104)..(104)
 <223> Xaa不存在或為Asp
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (105)..(105)
 <223> Xaa不存在或為Lys
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (106)..(106)
 <223> Xaa不存在或為Thr
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (107)..(107)
 <223> Xaa為Pro、Val或His
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (108)..(108)
 <223> Xaa為Pro、Glu或Thr
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (111)..(111)
 <223> Xaa為Ser或Pro
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (116)..(116)
 <223> Xaa為Glu或Pro
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (117)..(117)
 <223> Xaa為Phe、Val或Leu

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (118)..(118)
 <223> Xaa為Leu或Ala

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (120)..(120)
 <223> Xaa不存在或為Gly

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (151)..(151)
 <223> Xaa為Gln或His

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (157)..(157)
 <223> Xaa為Gln或Lys

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (179)..(179)
 <223> Xaa為Phe或Tyr

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (183)..(183)
 <223> Xaa為Tyr或Phe

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (192)..(192)
 <223> Xaa為Leu或Val

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (210)..(210)
 <223> Xaa為Gly或Ala

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (213)..(213)
 <223> Xaa為Ser或Ala

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (214)..(214)
 <223> Xaa為Ser或Pro

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (222)..(222)
 <223> Xaa為Ala或Thr

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (238)..(238)
 <223> Xaa為Gln或Arg

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (239)..(239)
 <223> Xaa為Glu或Asp

 <220>
 <221> misc_feature

<222> (241)..(241)
<223> Xaa為Met或Leu

<220>
<221> misc_feature
<222> (280)..(280)
<223> Xaa為Val或Met

<220>
<221> misc_feature
<222> (292)..(292)
<223> Xaa為Arg或Lys

<220>
<221> misc_feature
<222> (302)..(302)
<223> Xaa為Glu或Gln

<220>
<221> misc_feature
<222> (328)..(328)
<223> Xaa為Leu或Pro

<400> 15
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Xaa Ser Xaa
1 5 10 15

Ser Thr Ser Xaa Xaa Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Xaa Xaa Gly Thr Xaa Thr
65 70 75 80

Tyr Xaa Cys Asn Val Xaa His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Xaa Val Glu Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Pro Xaa Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Xaa Glu Asp Pro Glu Val Xaa Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Xaa Asn Ser Thr Xaa Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Xaa
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Xaa Leu Pro Xaa Xaa Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Xaa Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Xaa Xaa Glu
225 230 235 240

Xaa Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Xaa Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Xaa Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Xaa Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Xaa Gly Lys
325 330

<210> 16
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> IgG2恆定重鏈

<400> 16

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

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

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305

310

315

320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 17

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成多肽

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> IgG1恆定重鏈

<400> 17

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

202530

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

354045

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

505560

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65707580

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

859095

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100105110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115120125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130135140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145150155160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165170175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180

185

190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195200205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210215220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225230235240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245250255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260265270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275280285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290295300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305310315320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325330

<210> 18
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> IgG4恆定重鏈

<400> 18

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
151015

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
202530

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
354045

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr		
65	70	75
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys		
	85	90
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro		
	100	105
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys		
	115	120
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
	130	135
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp		
	145	150
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe		
	165	170
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp		
	180	185
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu		
	195	200
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg		
	210	215
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys		
	225	230
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp		
	245	250
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys		
	260	265
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser		
	275	280
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser		
	290	295
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser		
	305	310
		315
		320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 19
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> 可變輕鏈

<400> 19
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgta gggccagtca gagtggtcgc ggcaggtact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtggt gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagtatggta gttcacctcg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaa 324

<210> 20
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> 可變重鏈

<400> 20
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attactggga gtggtggttag tacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcca 300
gggactacgg tgattatgag ttggttcgac ccttggggcc agggaaacct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 21
<211> 705
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> 全長輕鏈

<400> 21
atggaaaccc cagcgagct tctcttctc ctgctactct ggctcccaga taccaccgga 60
gaaatttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 120
ctctcctgta gggccagtc gagtggtcgc ggcaggtact tagcctggta ccagcagaaa 180
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 240
gacaggttca gtggcagtg gtctgggaca gacttctc tcaccatcag cagactggag 300
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatggta gttcacctcg gacgttcggc 360
caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 420
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 480
tatccagag agggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccttccaatc gggtaactcc 540
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 600
acgtgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 660
ggcctgagct cggccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 705

<210> 22
<211> 1401
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> 全長重鏈

<400> 22
atggagtttg ggctgagctg gctttttctt gtggctatct taaaagggtg ccagtgtgag 60
gtgcagctgt tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtcct gagactctcc 120
tgtgcagcct ctggattcac ctttagcagc tatgccatga gctgggtccg ccaggctcca 180
gggaaggggc tggagtgggt ctgaggtatt actgggagtg gtggtagtag atactacgca 240
gactccgtga agggccgggt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa agatccaggg 360
actacggtga ttatgagttg gttcgacccc tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 420
tcagcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcgc cctgtccag gacacctcc 480
gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 540
tcgtggaact caggcgtct gaccagcggc gtgcacacct tcccagctgt cctacagtcc 600
tcaggactct actccctcag cagcgtgggt accgtgccct ccagcaactt cggcaccag 660

acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag 720
cgcaaattgt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcattgatct cccggacccc tgaggtcacg 840
tgcggtggtg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac 900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc 960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgttgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 1020
tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaaccaa 1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1140
aaccagggtc gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cacctccat gctggactcc 1260
gacggctcct tcttctctta cagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 1320
aacgtcttct catgctcctg gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380
ctctccctgt ctccgggtaa a 1401

<210> 23
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> misc feature
<223> 成熟輕鏈

<400> 23
gaaatttgtg tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgta gggccagtca gagtgttcgc ggcaggtact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacagggtca gtggcagttg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtcag cagtatggta gttcacctcg gacgttcggc 300
caagggacca aggtggaaat caaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaaat gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtgggaag gtggataacg ccctccaatc gggttaactc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcacctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt caccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 24
<211> 1344

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成聚核苷酸

<220>
<221> misc_feature
<223> 成熟重鏈

<400> 24	
gagggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcc ttagctgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagt ggtctcaggt attactggga gtggtggtag tacatactac	180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcca	300
gggactacgg tgattatgag ttggttcgac ccctggggcc agggaaccct ggtcaccgtc	360
tcctcagcct ccaccaaggg cccatcggtc tccccctgg cgcctgtctc caggagcacc	420
tccgagagca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg	480
gtgtcgtgga actcaggcgc tctgaccagc ggctgcaca ccttcccagc tgtcctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc	600
cagacctaca cctgcaacgt agatcacaag cccagcaaca ccaagggtga caagacagtt	660
gagcgcaaat gttgtgtcga gtgcccaccg tgcccagcac cacctgtggc aggaccgtca	720
gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac ccctgaggtc	780
acgtgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg	840
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg	900
ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgttggt caccaggact ggctgaacgg caaggagtac	960
aagtgcagg tctccaacaa aggcctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaaacc	1020
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc	1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg	1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac	1200
tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1260
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cagcagaag	1320
agcctctccc tgtctccggg taaa	1344

<210> 25
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> SEQ 3之全長輕鏈之信號肽

<400> 25
Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly
20

<210> 26
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> SEQ 4之全長重鏈之信號肽

<400> 26
Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly
1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽

<400> 27
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5 10

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種水性醫藥調配物，其包含：

抗人類核因子 κ -B受體活化因子配位體(抗RANKL)抗體或其抗原結合部分，濃度在100至140 mg/mL之範圍內；

1.0 (w/w)%至5.0 (w/w)%山梨糖醇；

至少0.004 (w/v)%且少於0.15 (w/v)%聚山梨糖醇酯20或聚山梨糖醇酯80；

5 mM至60 mM乙酸鹽或麩胺酸鹽緩衝劑；及

5 mM至180 mM L-苯丙胺酸或L-色胺酸；

其中該水性醫藥調配物具有5.0至5.4範圍內之pH，且

其中該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含(A)輕鏈可變域，其包含：包含SEQ ID NO: 5之胺基酸序列的輕鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列的輕鏈CDR2及包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的輕鏈CDR3；及(B)重鏈可變域，其包含：包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的重鏈CDR1、包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的重鏈CDR2及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的重鏈CDR3。

【請求項2】

如請求項1之水性醫藥調配物，其中該抗RANKL抗體或其抗原結合部分包含：包含SEQ ID NO: 2之重鏈可變域；及包含SEQ ID NO: 1之輕鏈可變域。

【請求項3】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其中該抗RANKL抗體或其抗原結

合部分包含：包含SEQ ID NO: 4或14的重鏈；及包含SEQ ID NO: 3或13的輕鏈。

【請求項4】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其中該抗RANKL抗體為地諾單抗(denosumab)。

【請求項5】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其中該抗RANKL抗體之濃度為120 mg/mL $\pm$ 12 mg/mL。

【請求項6】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其包含L-苯丙胺酸。

【請求項7】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其包含20 mM至50 mM L-苯丙胺酸或L-色胺酸。

【請求項8】

如請求項7之水性醫藥調配物，其包含20 mM至50 mM L-苯丙胺酸。

【請求項9】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其中該緩衝劑為乙酸鹽。

【請求項10】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其包含L-苯丙胺酸，且包含於2 mM至30 mM、或16 mM至41 mM、或25 mM至39 mM、或30 mM至34 mM範圍內之乙酸鹽緩衝劑。

【請求項11】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其包含2.0 (w/w)%至5.0 (w/w)%山梨糖醇。

【請求項12】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其中該界面活性劑為聚山梨糖醇酯20。

【請求項13】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其為具有5.0至5.2之pH之水性調配物。

【請求項14】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其具有(i)黏度為在5°C下不超過6 cP，(ii)在500 μ S/cm至2000 μ S/cm範圍內之傳導率，(iii) 200 mOsm/kg至500 mOsm/kg之滲透壓度，(iv)在2°C至8°C下儲存至少12個月後，少於2%高分子量物質(HMWS)及/或超過98%之抗體主峰，藉由SE-UHPLC所量測。

【請求項15】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其在2°C至8°C下儲存至少36個月後，包含少於2%高分子量物質(HMWS)及/或超過98%之抗體主峰，藉由SE-UHPLC所量測。

【請求項16】

如請求項1或2之水性醫藥調配物，其在2°C至8°C下進行至少36個月之第一儲存及在20°C至30°C下進行1個月之第二儲存後，包含少於2%高分子量物質(HMWS)及/或超過98%之抗體主峰，藉由SE-UHPLC所量測。

【請求項17】

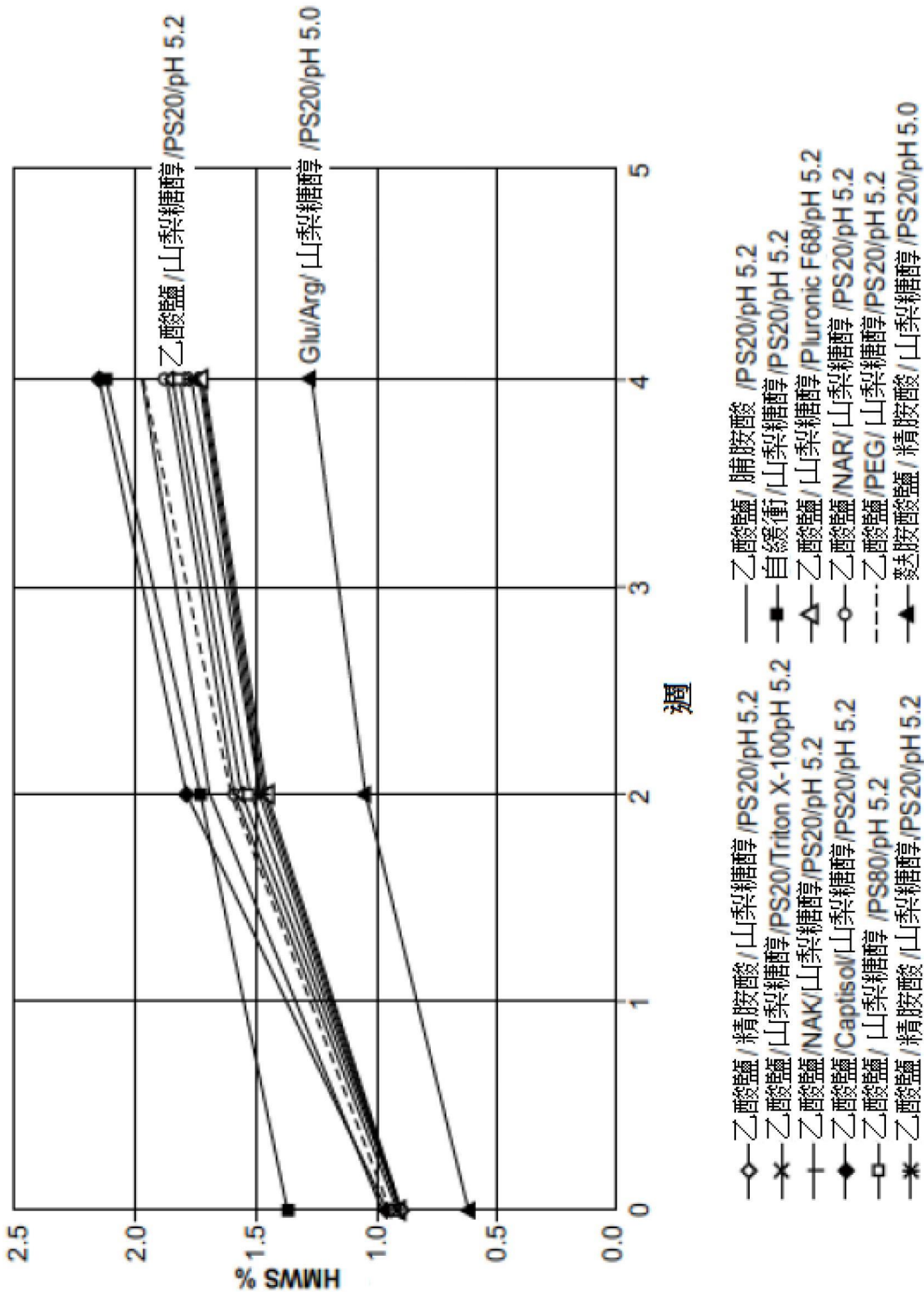
如請求項1之水性醫藥調配物，其中該調配物包含濃度為108 mg/mL至132 mg/mL之地諾單抗、28.8 mM至35.2 mM乙酸鹽、33.3 mM至40.7 mM苯丙胺酸、3.51% (w/v)至4.29% (w/v)山梨糖醇及0.009% (w/v)至0.011% (w/v)聚山梨糖醇酯20，處於pH 5.1下。

【請求項18】

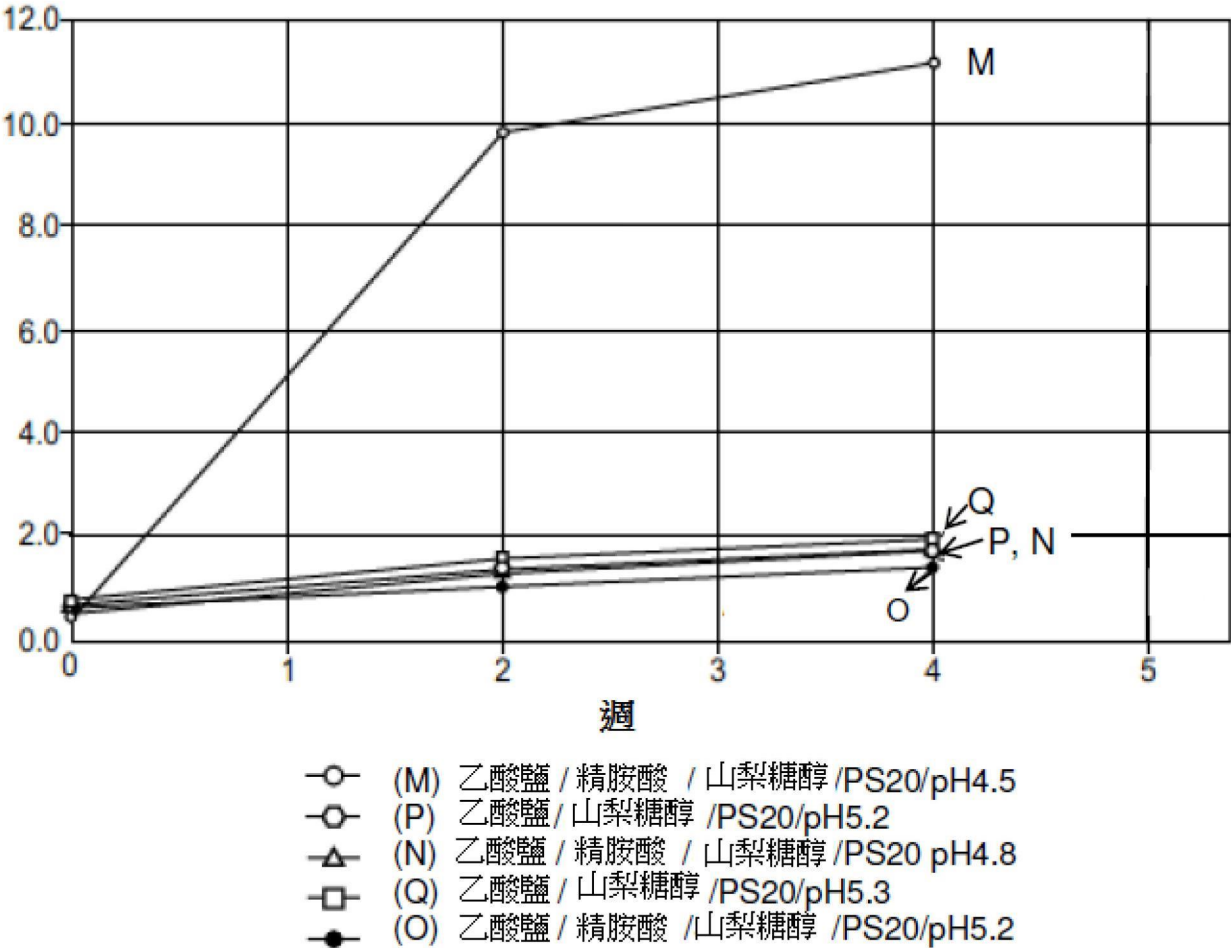
如請求項17之水性醫藥調配物，其包含濃度為120 mg/mL之地諾單抗、32 mM乙酸鹽、37 mM苯丙胺酸、3.9% (w/v)山梨糖醇及0.01% (w/v)聚山梨糖醇酯20，處於pH 5.1下。

【請求項19】

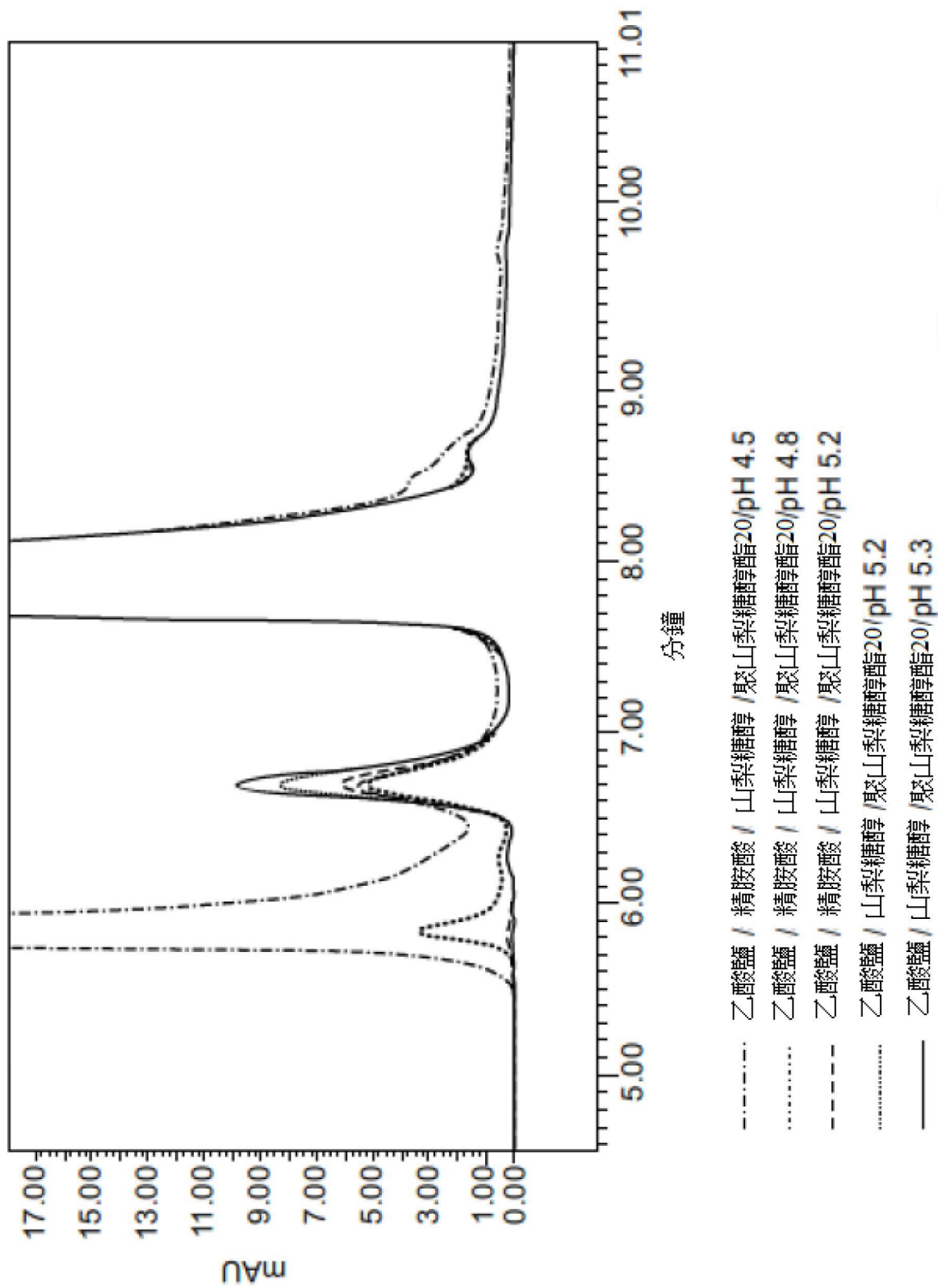
一種如請求項1至18中任一項之水性醫藥調配物之用途，其係用於製備以下之醫藥品：(a)治療或預防存在實體腫瘤骨轉移之個體的骨骼相關事件(SRE)；(b)治療或預防患有不可切除或手術切除有可能引起嚴重發病之骨巨細胞瘤的成年或骨骼成熟青少年個體的SRE；(c)治療個體之雙膦酸鹽療法難治性惡性高鈣血症；(d)治療或預防患有多發性骨髓瘤或實體腫瘤骨轉移之個體的SRE；(e)治療處於高骨折風險下之停經後女性的骨質疏鬆症；(f)使因乳癌而接受輔助芳香酶抑制劑療法之處於高骨折風險下之女性的骨質量增加之治療；(g)使因非轉移性前列腺癌而接受雄性素剝奪療法之處於高骨折風險下之男性的骨質量增加之治療；(h)使處於高骨折風險下之患有骨質疏鬆症之男性的骨質量增加之治療；(i)利用鈣或維生素D之療法；(j)治療有需要之患者之骨巨細胞瘤；(k)治療有需要之患者之惡性高鈣血症；(l)治療有需要之患者之骨質疏鬆症；或(m)增加有需要之患者之骨質量。



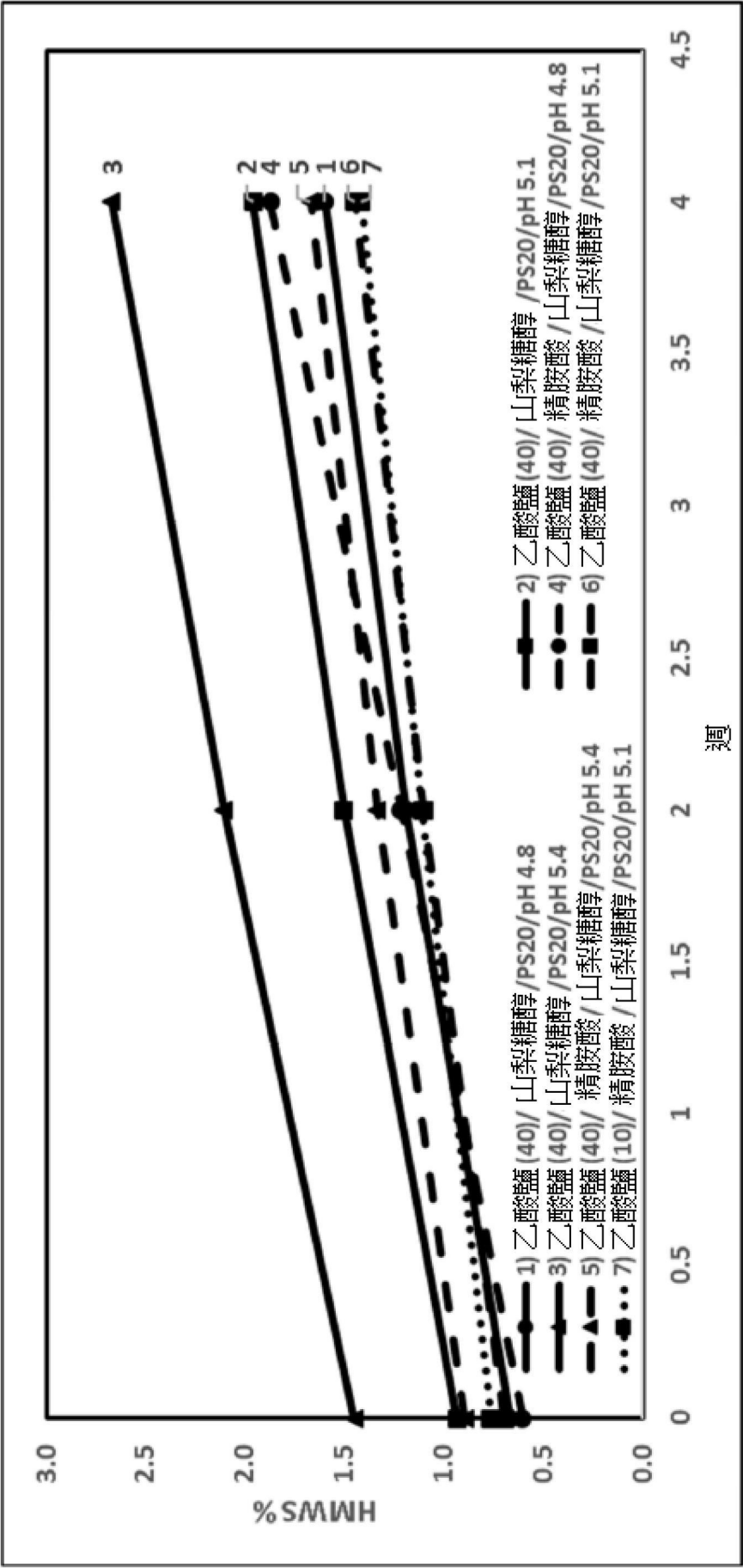
【圖 1】



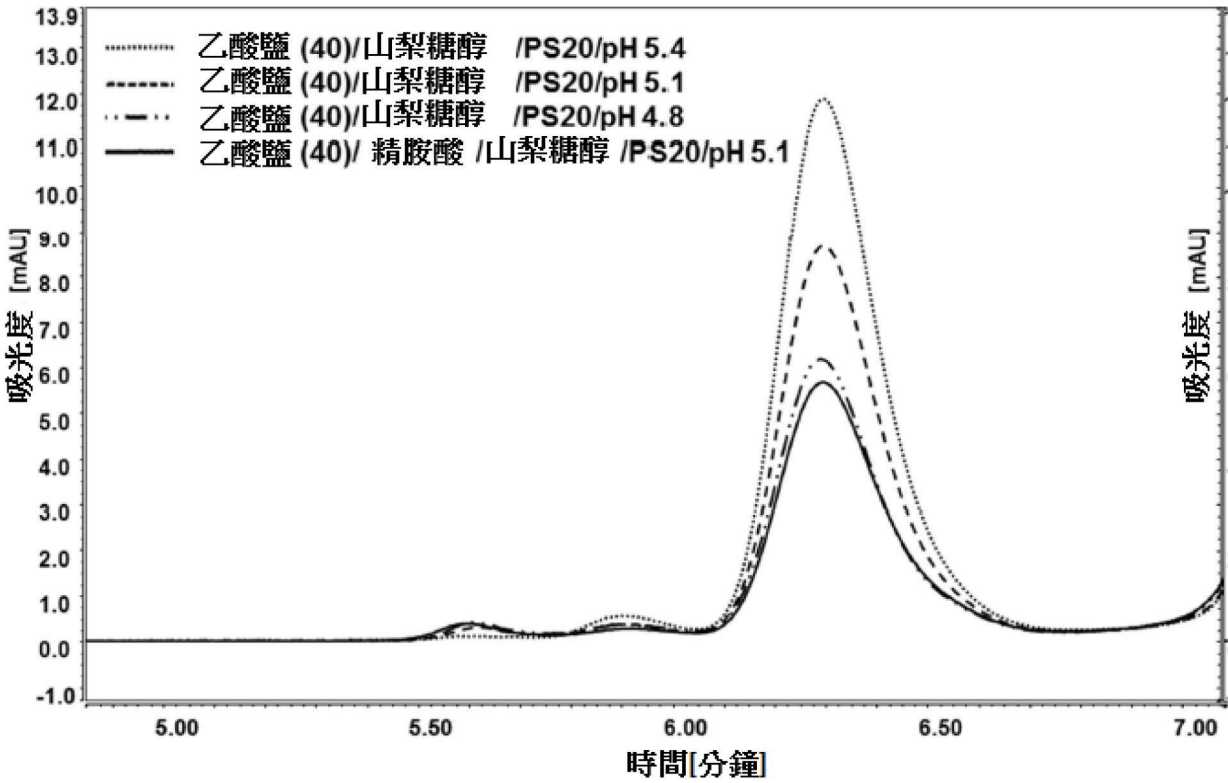
【圖 2】



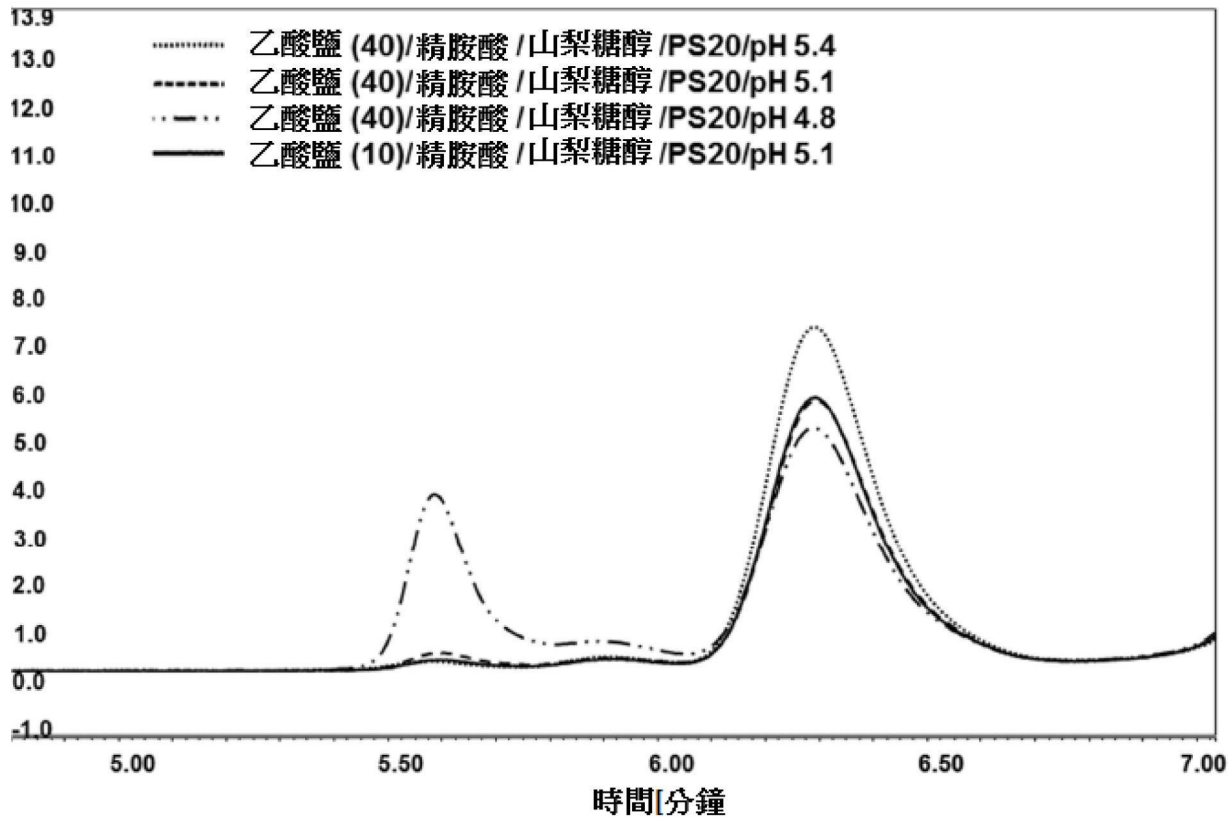
【圖 3】



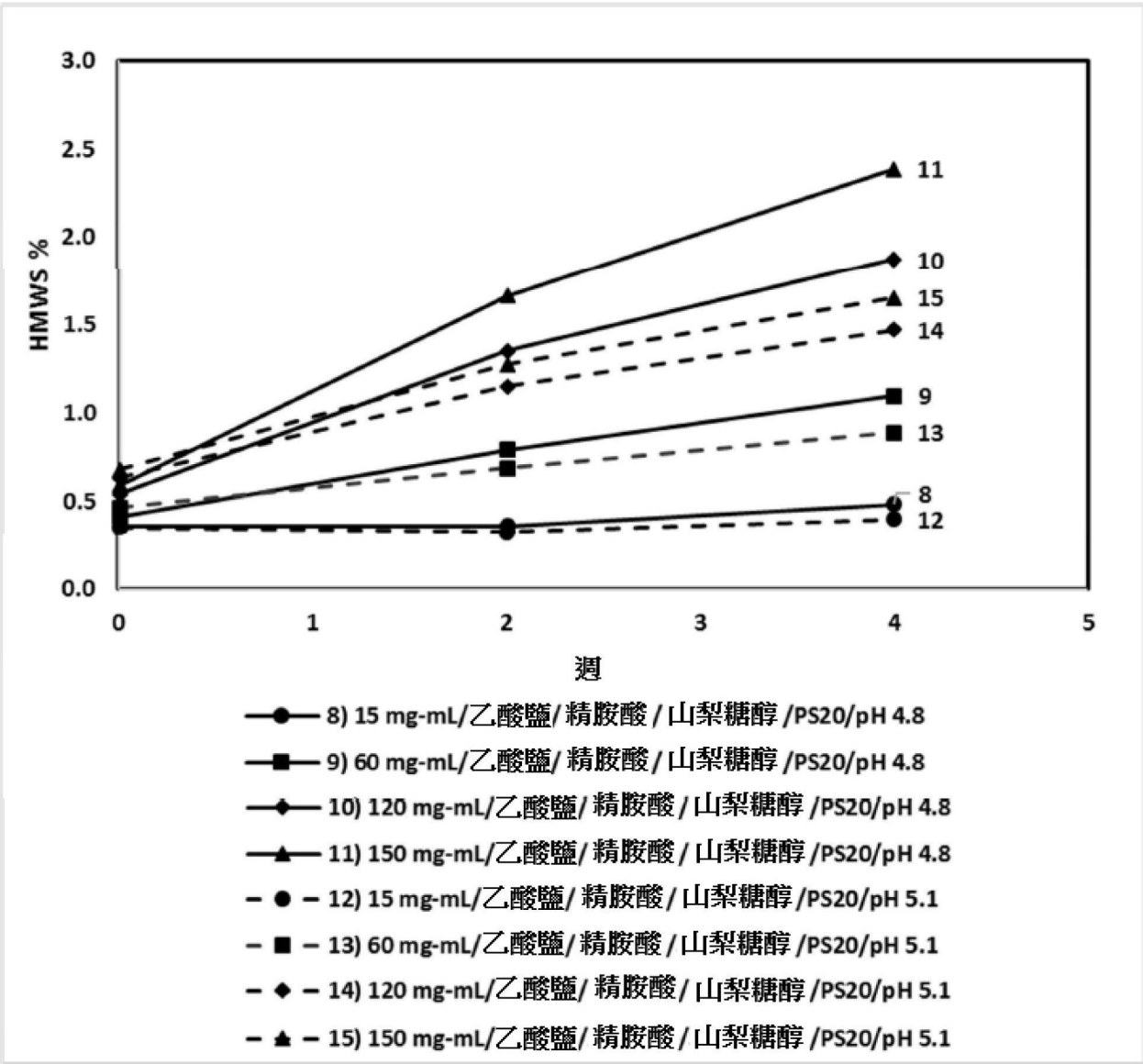
【圖 4】



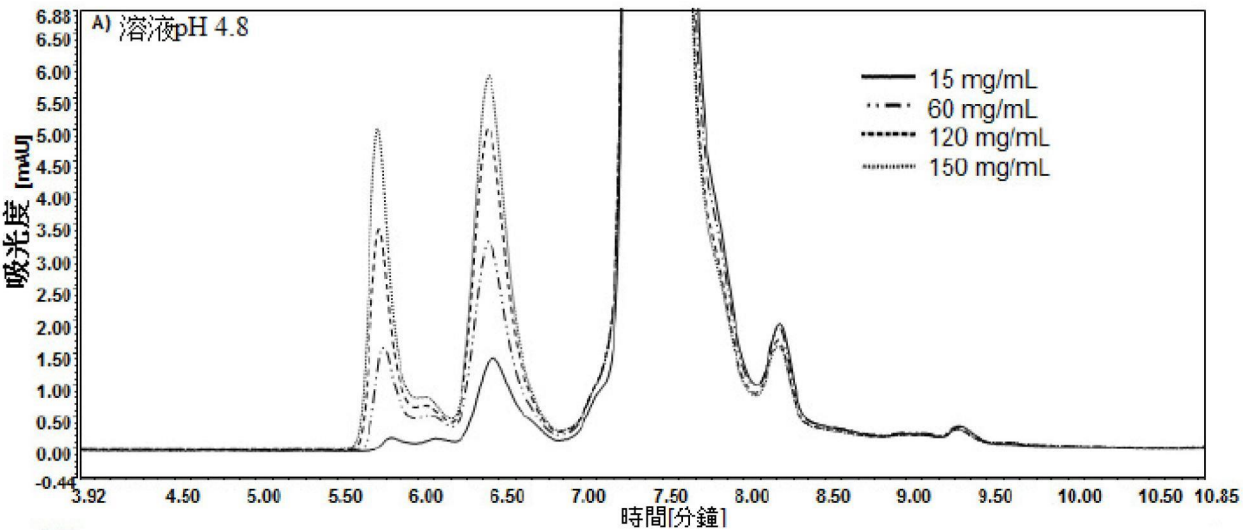
【圖 5A】



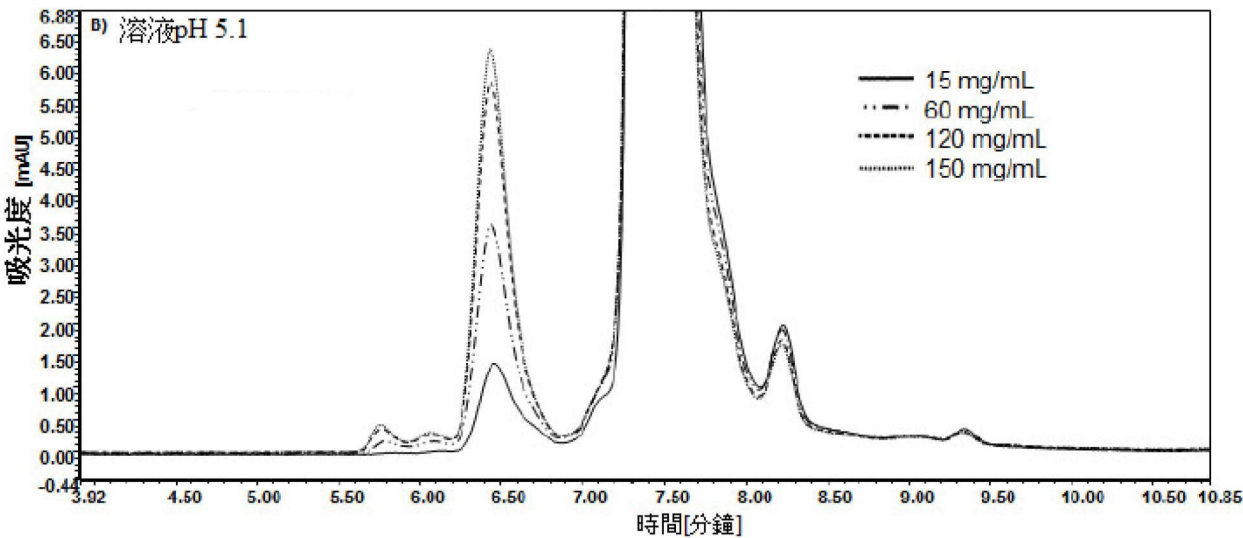
【圖 5B】



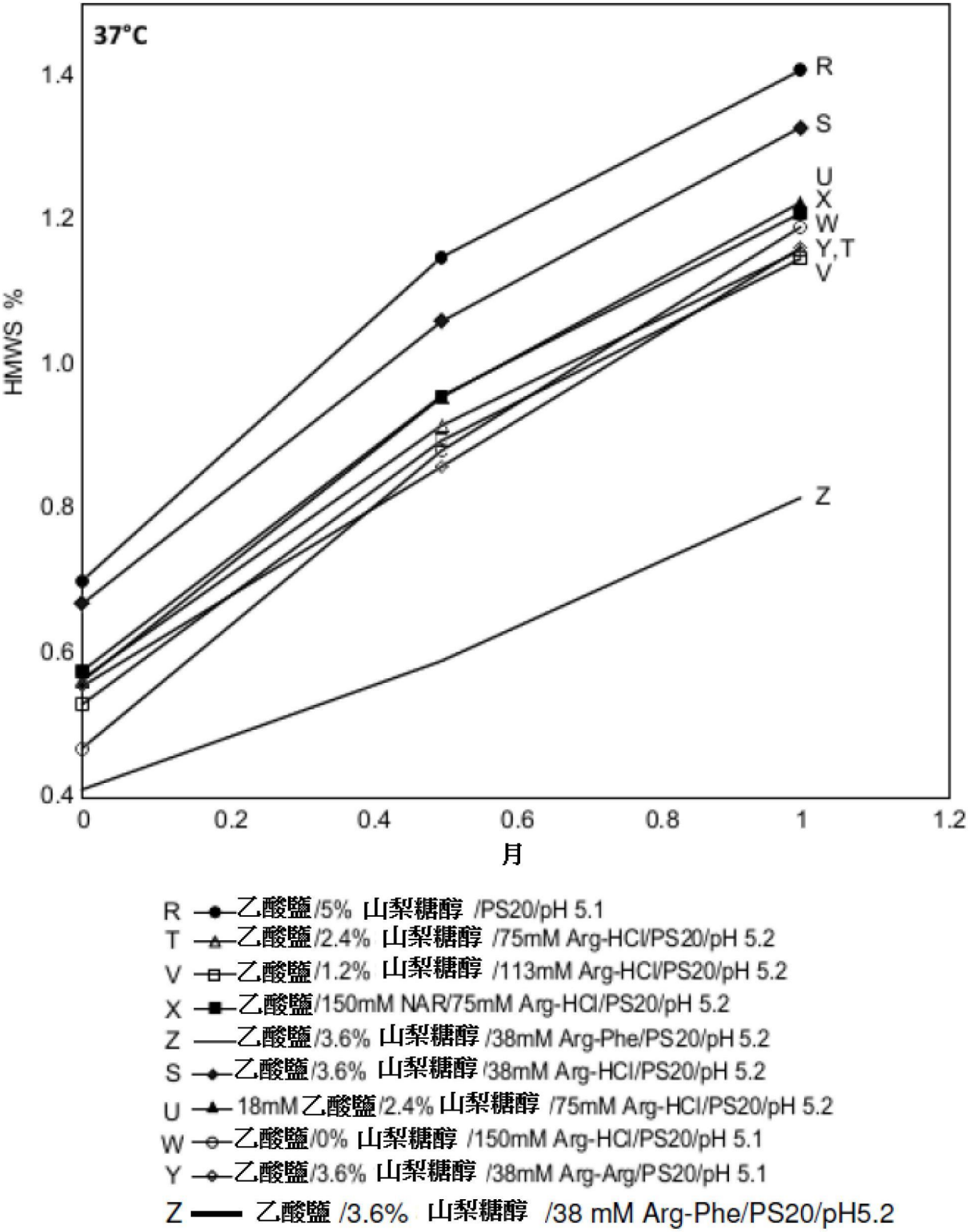
【圖 6】



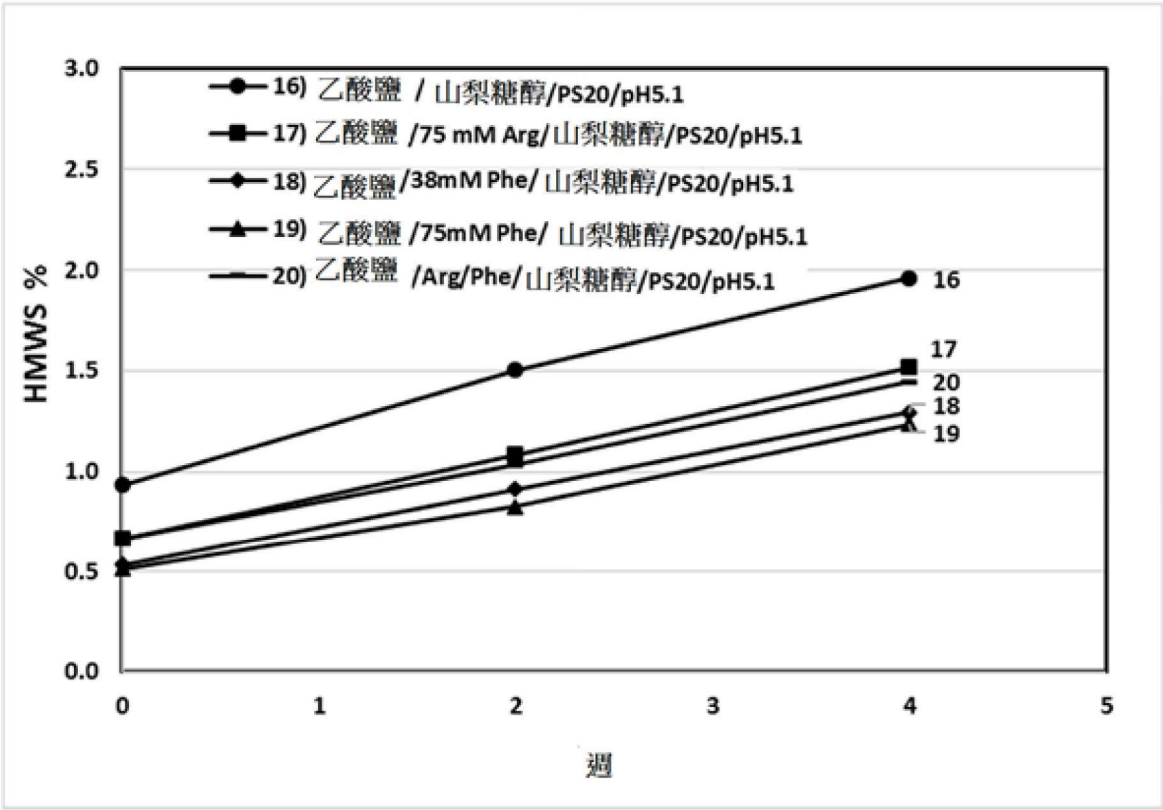
【圖7A】



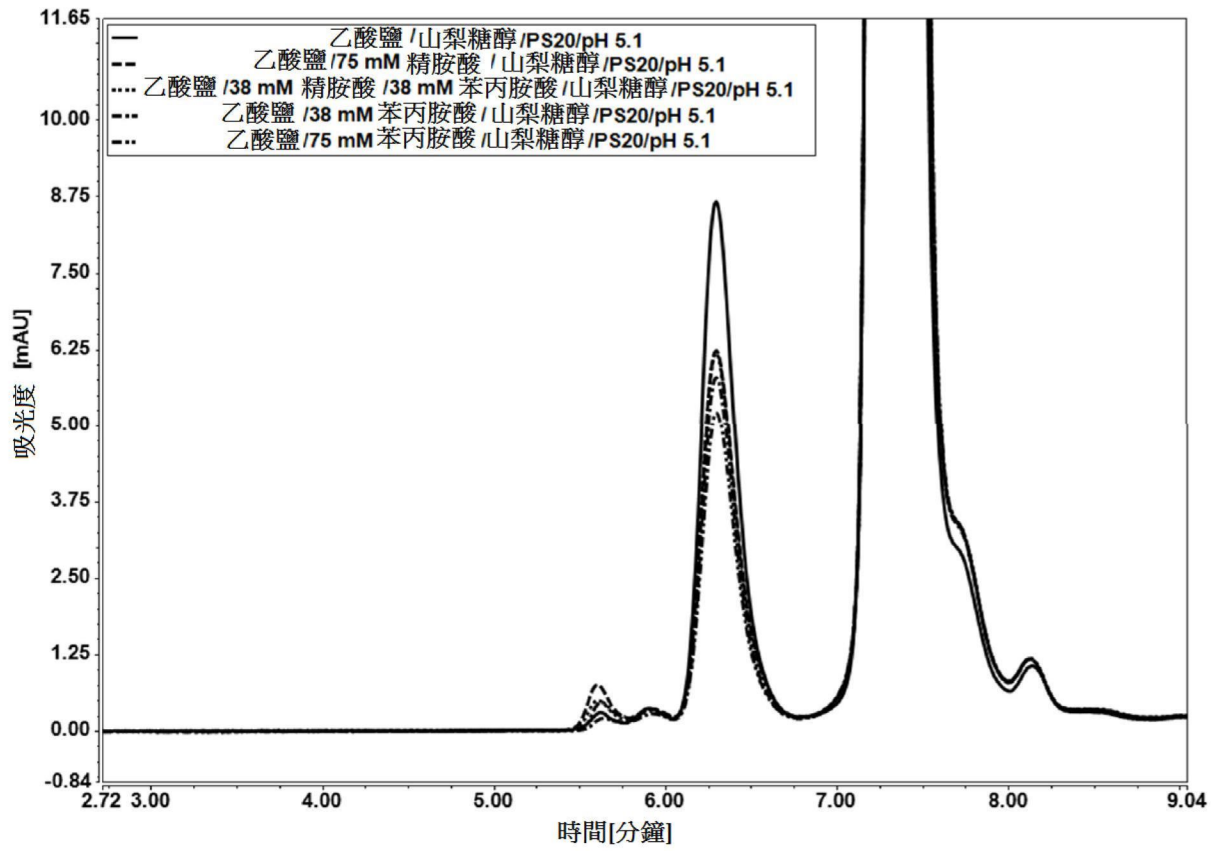
【圖7B】



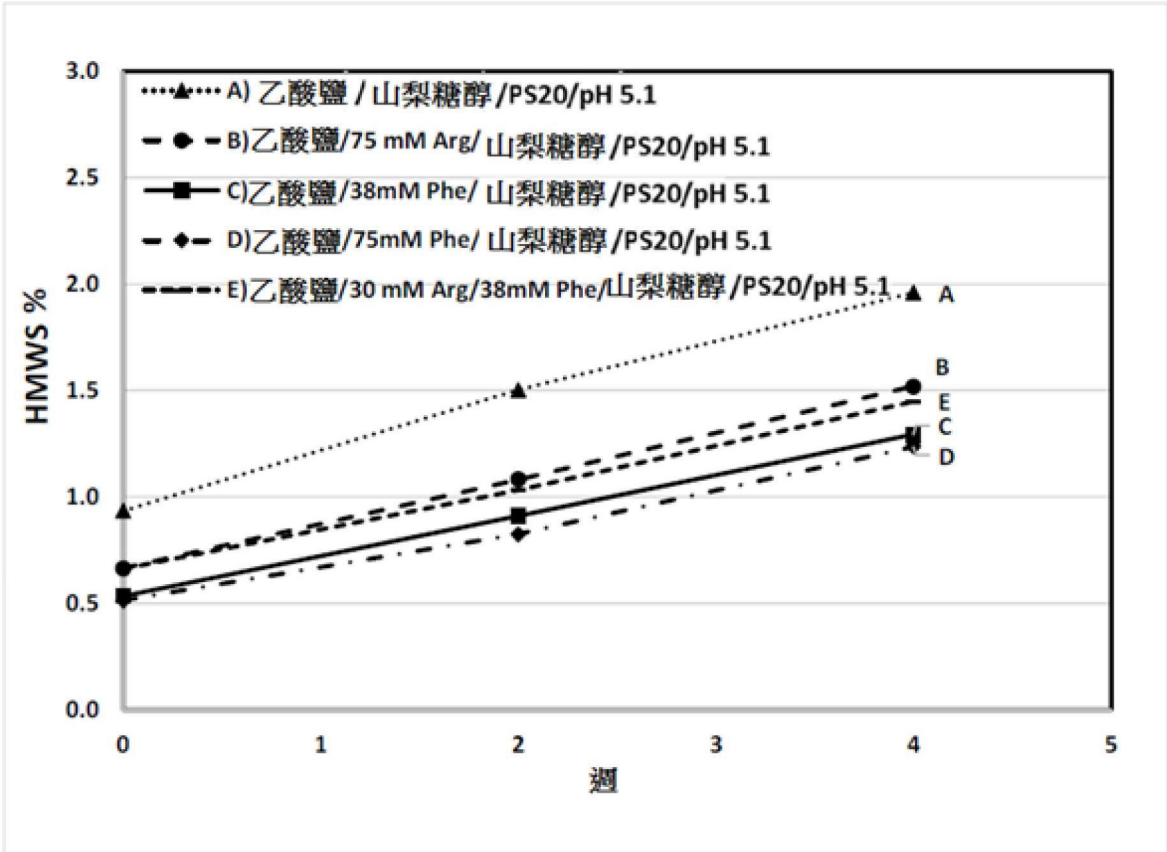
【圖 8】



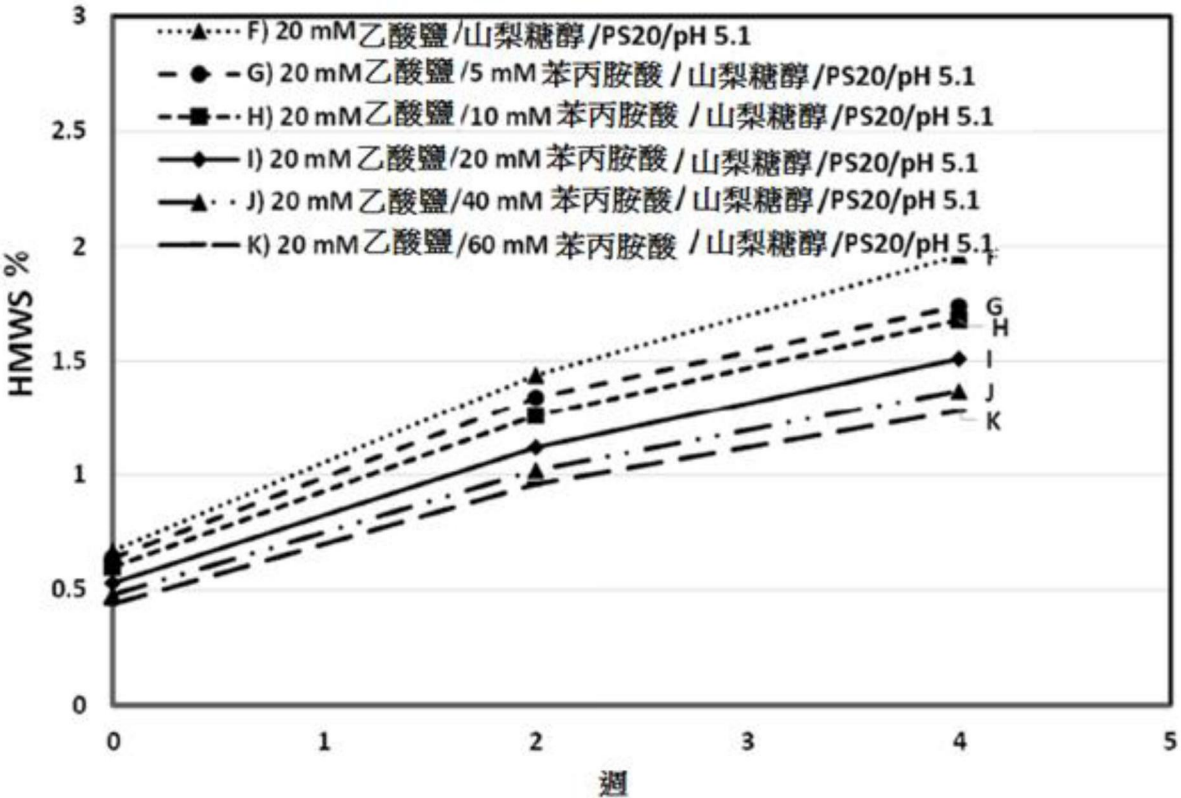
【圖 9】



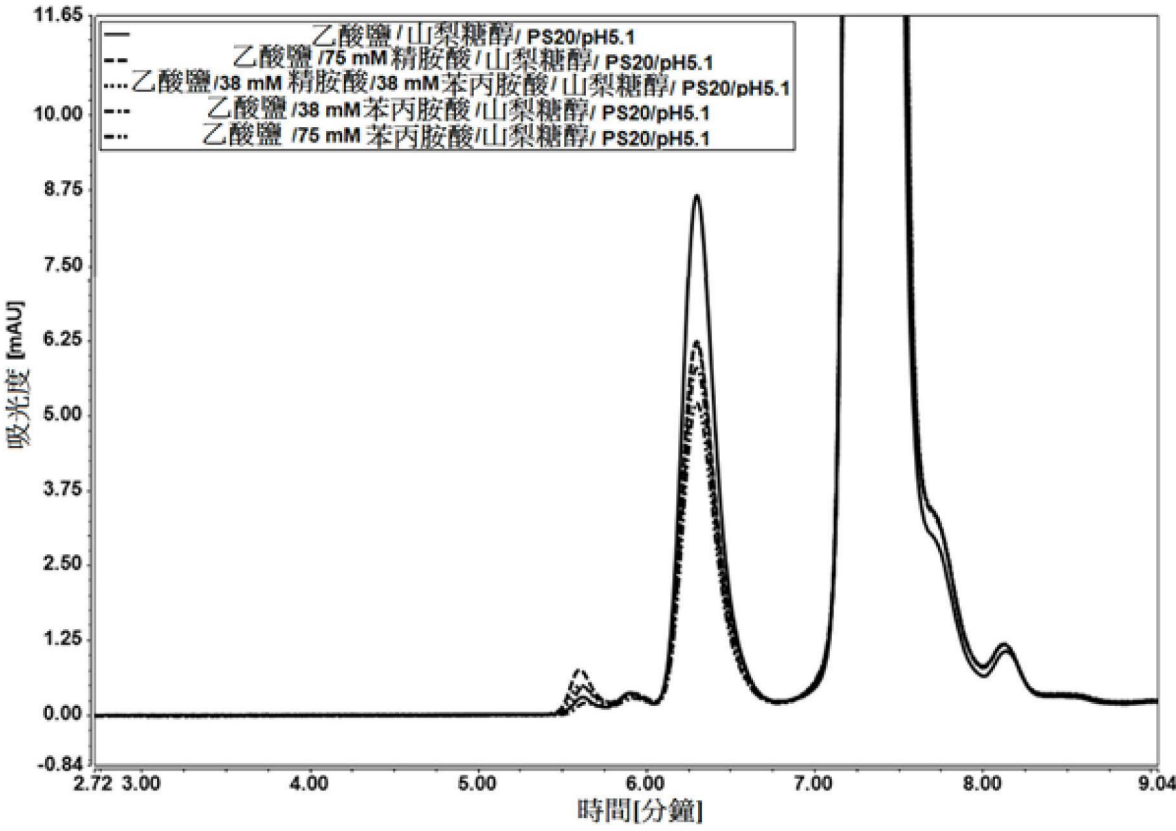
【圖 10】



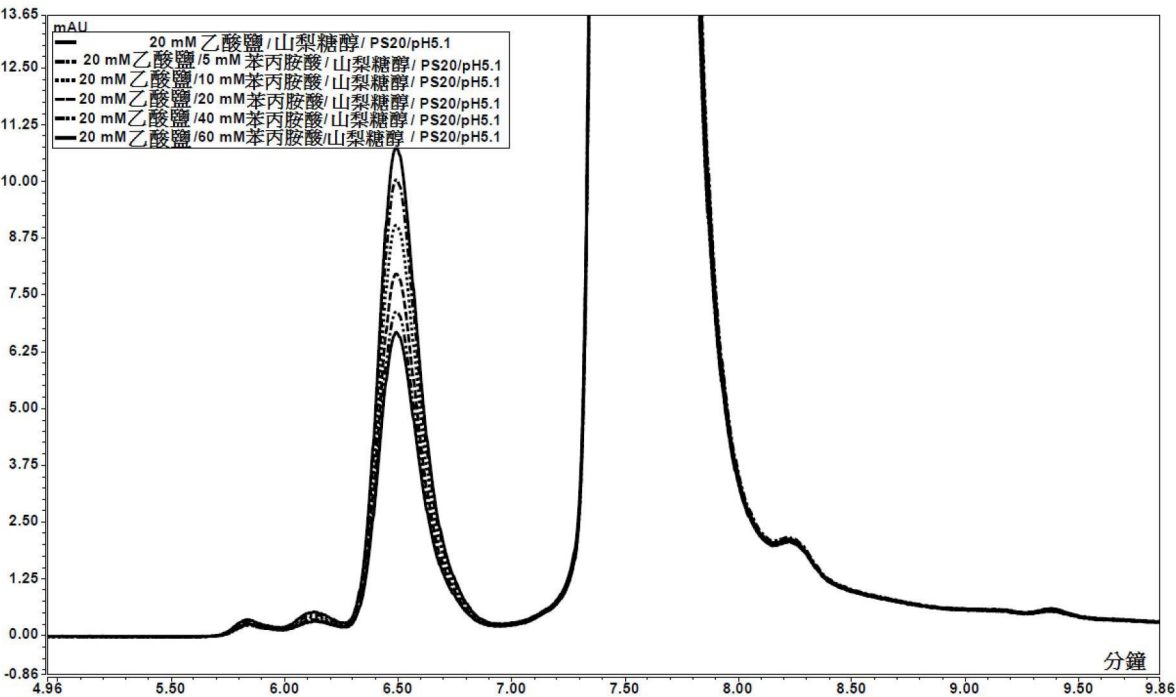
【圖 11A】



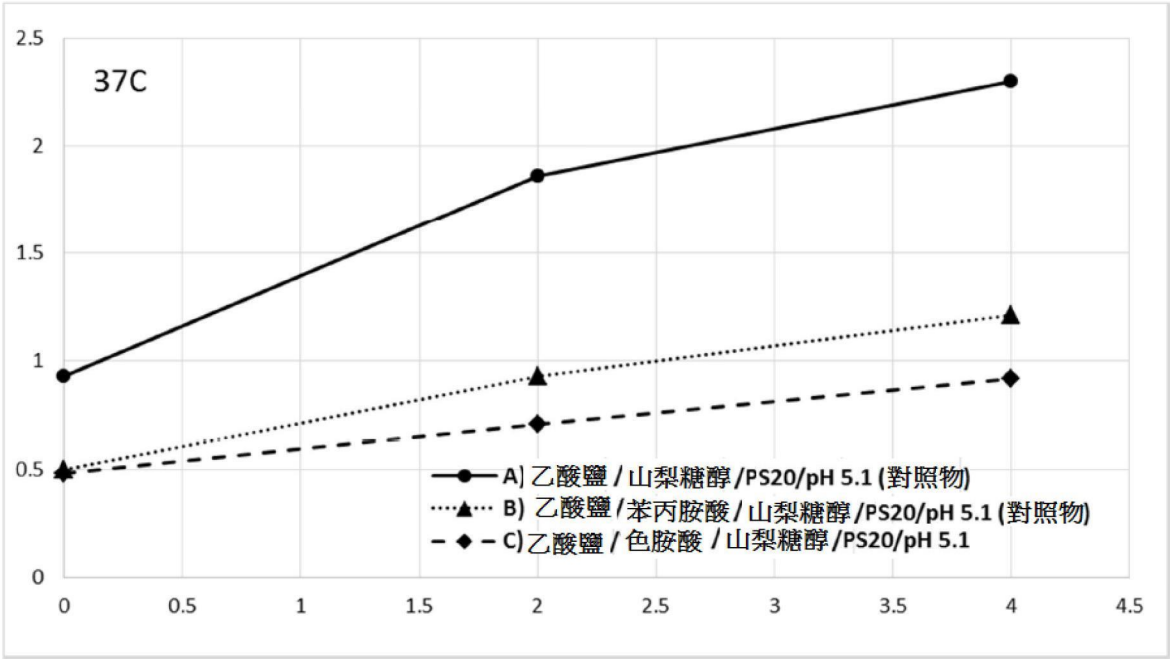
【圖 11B】



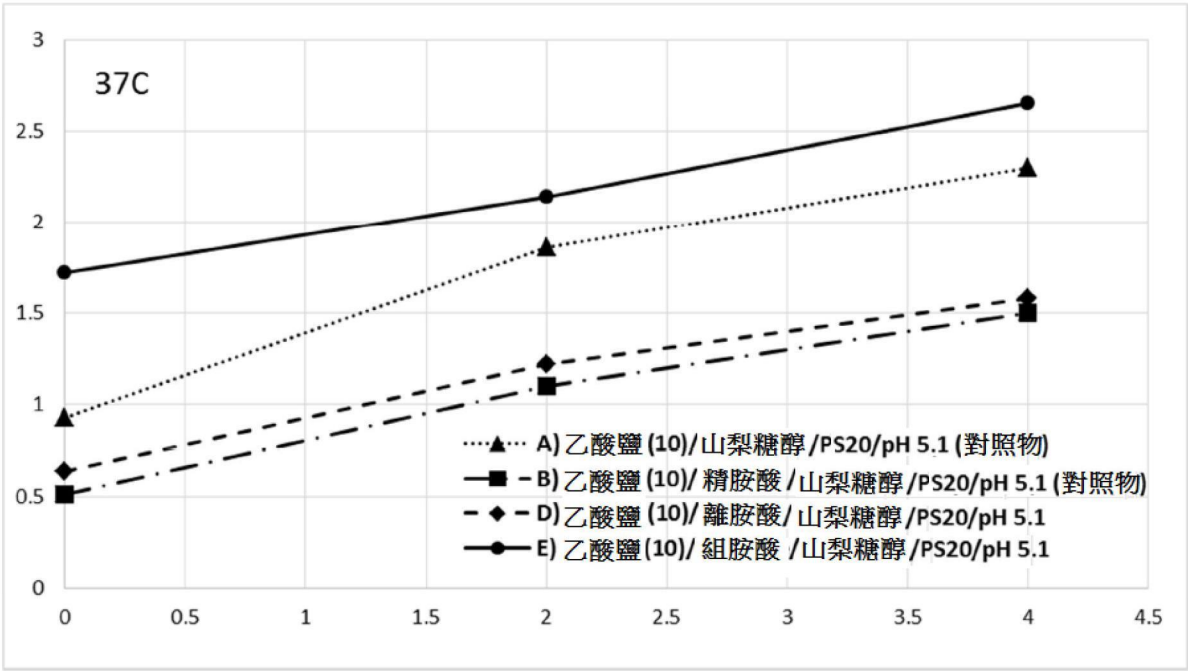
【圖 12A】



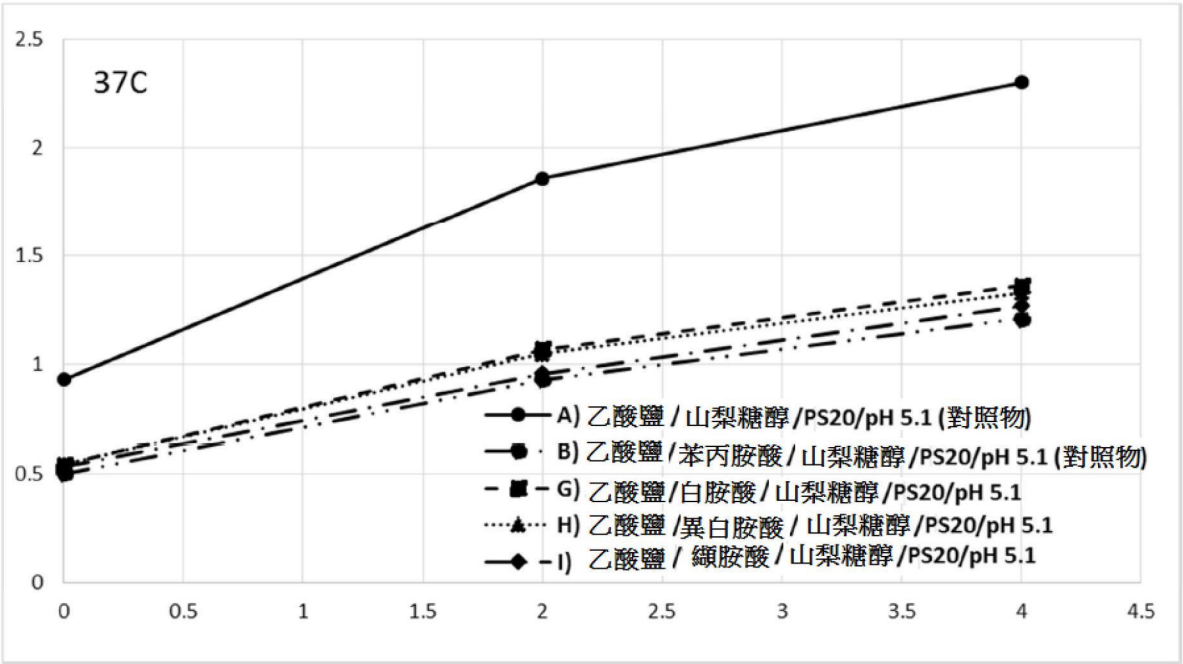
【圖 12B】



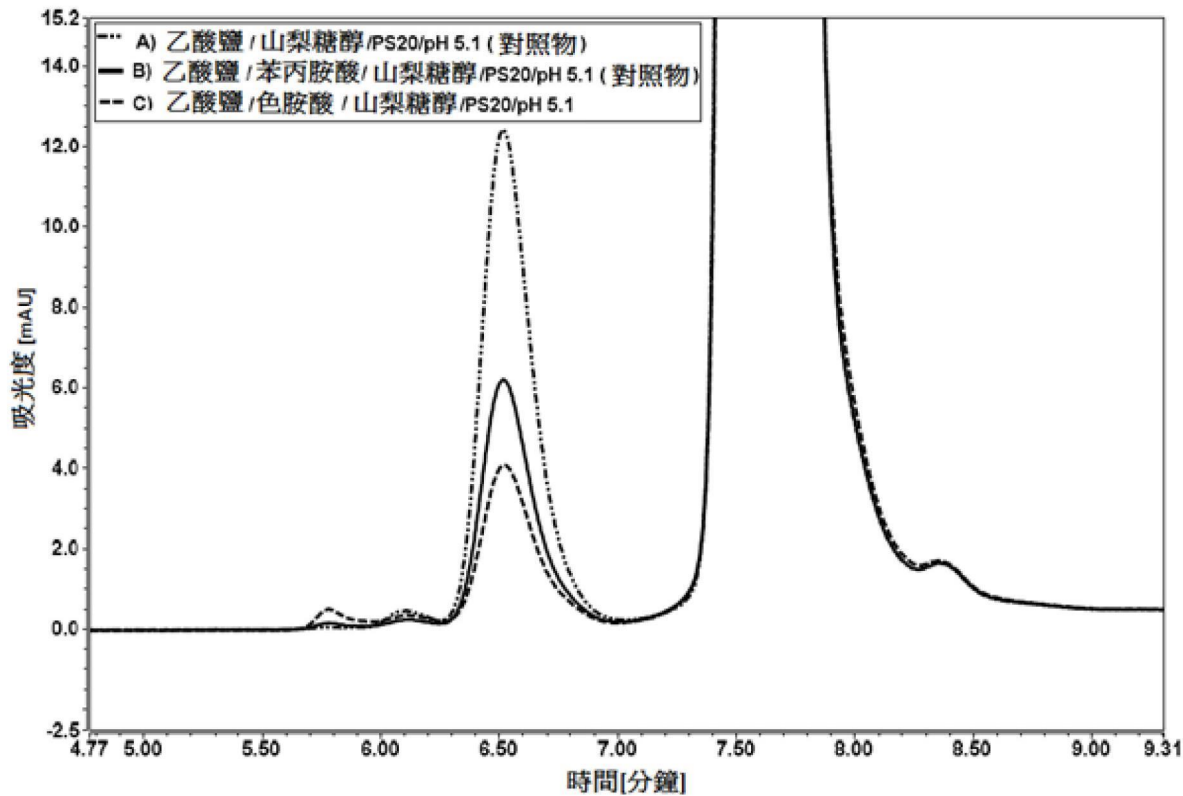
【圖 13】



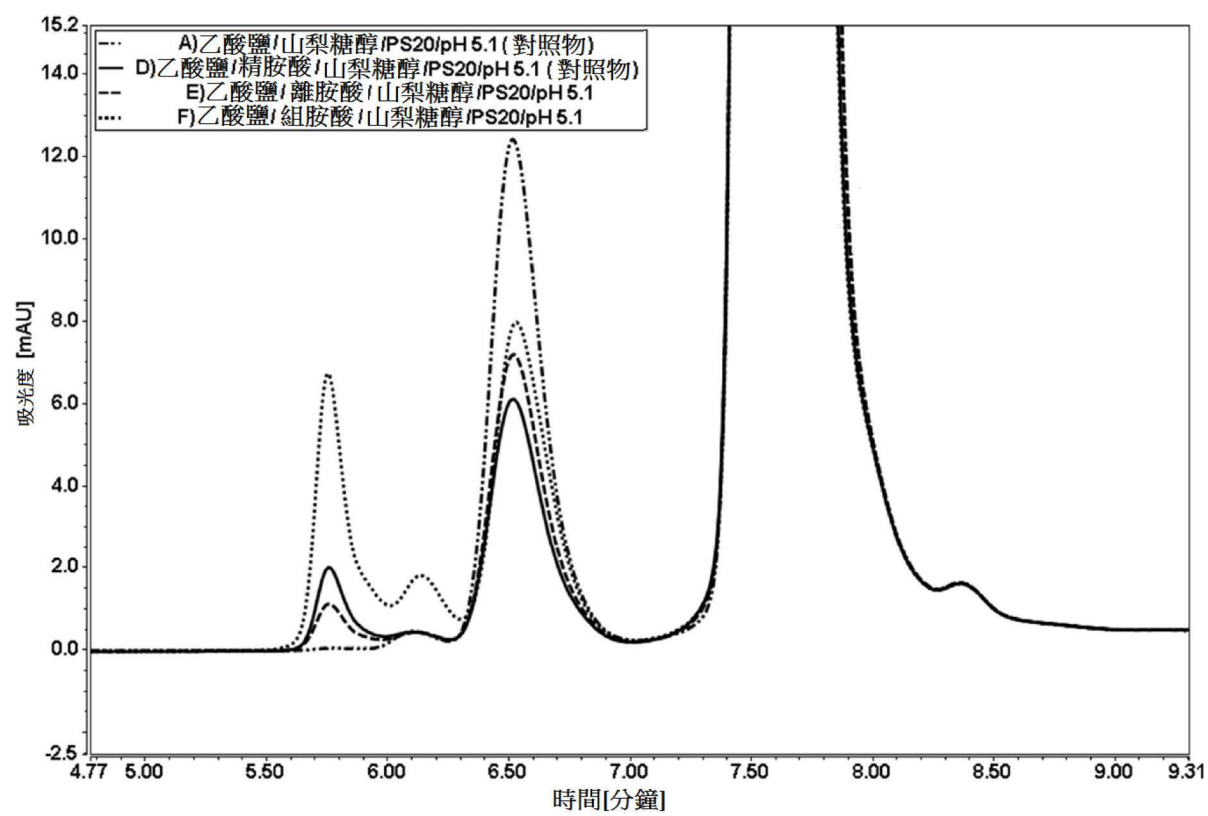
【圖 14】



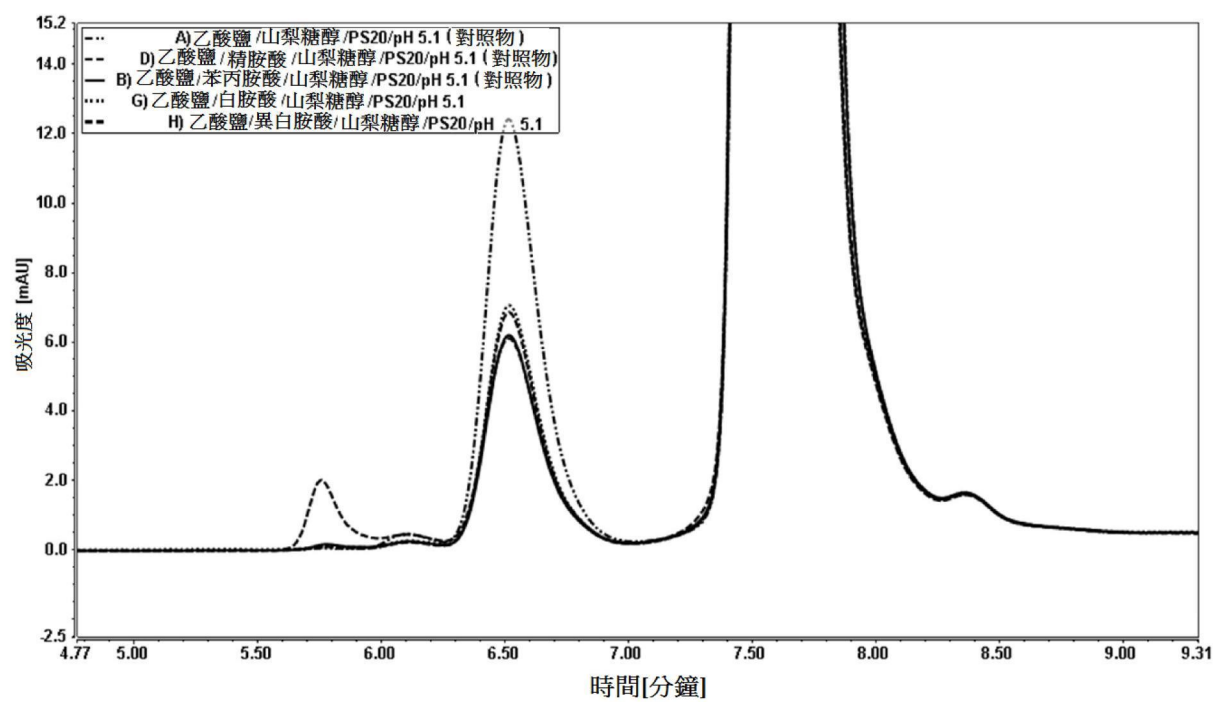
【圖 15】



【圖 16】

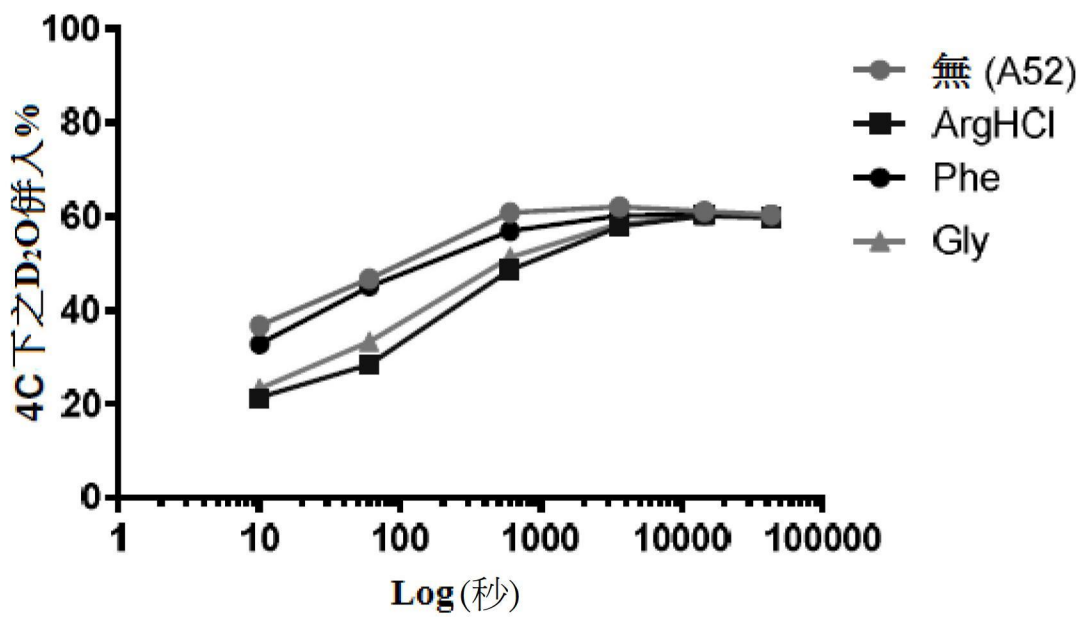


【圖 17】



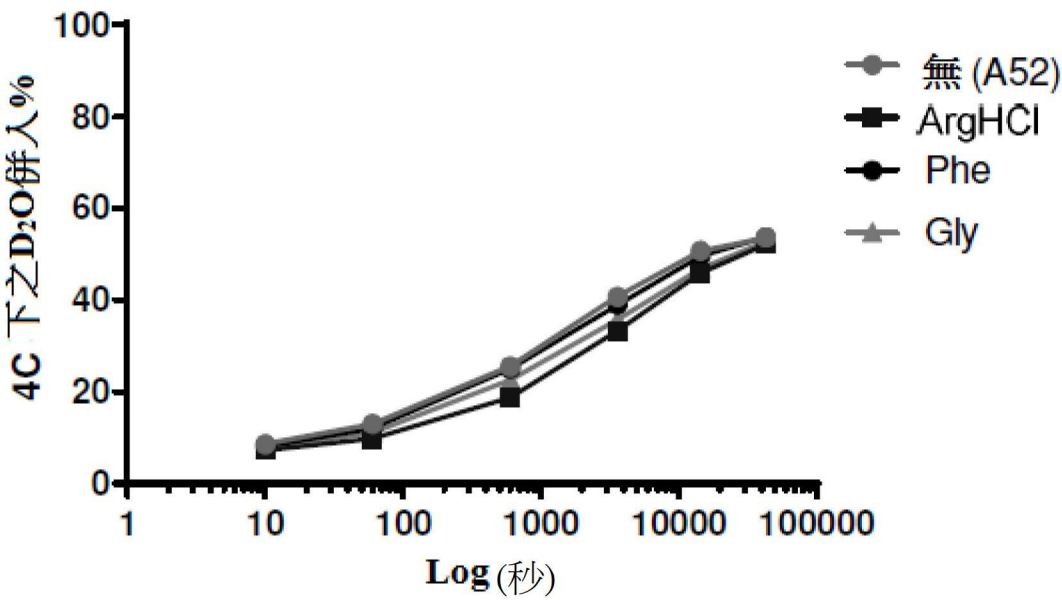
【圖 18】

LC 28-33
QSVRGRY



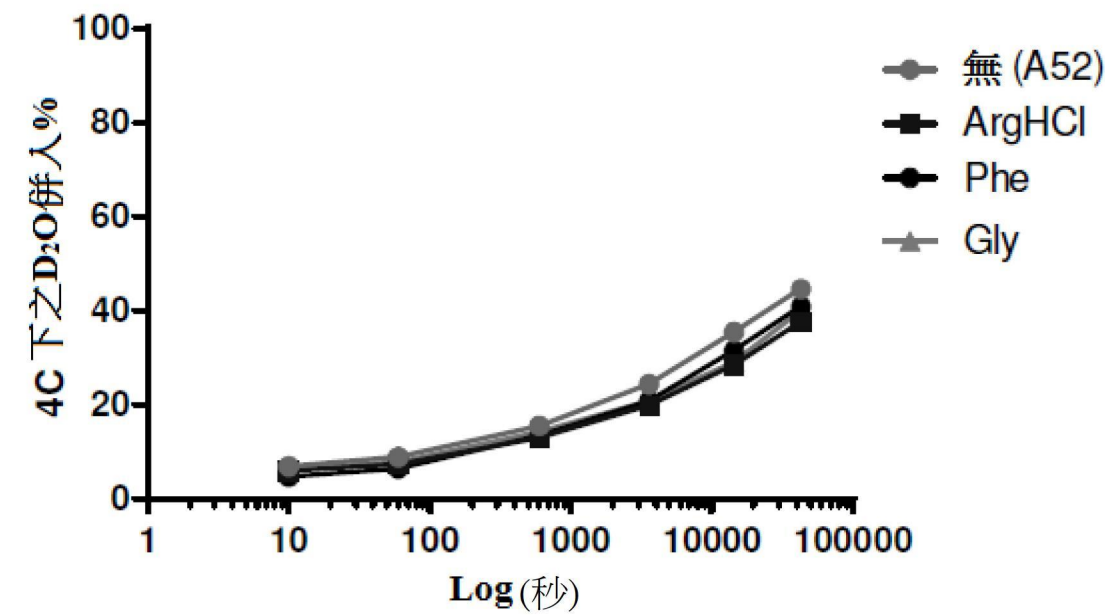
【圖 19】

LC 108-116(+2)
KRTVAAPSV



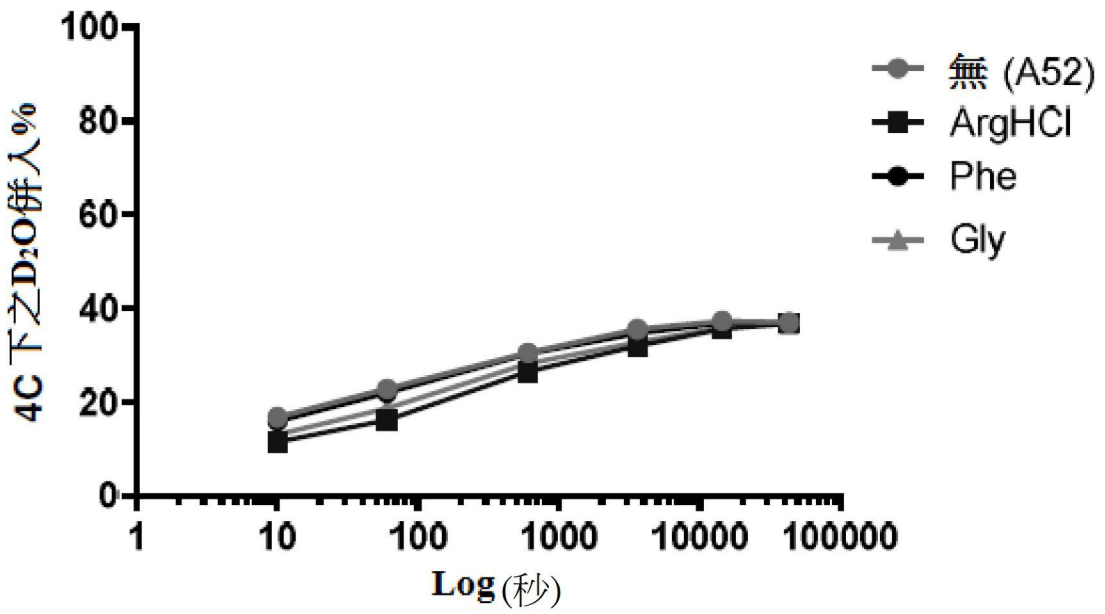
【圖 20】

LC 125-132(+2)
QLKSGTAS

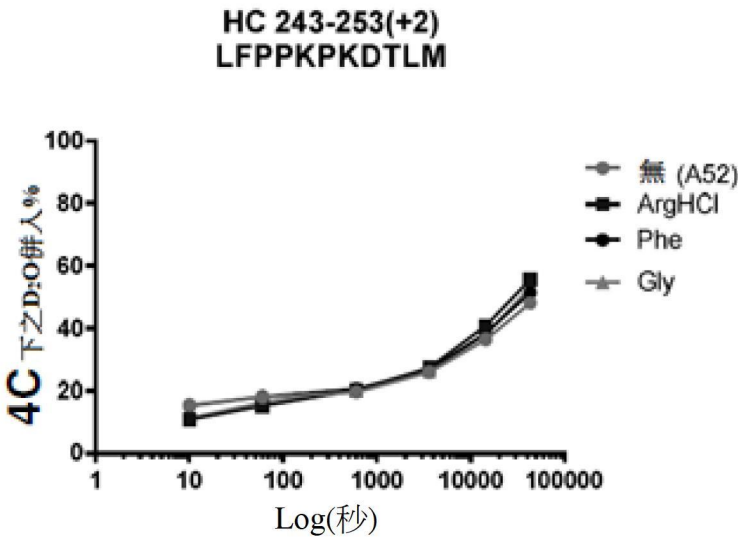


【圖 21】

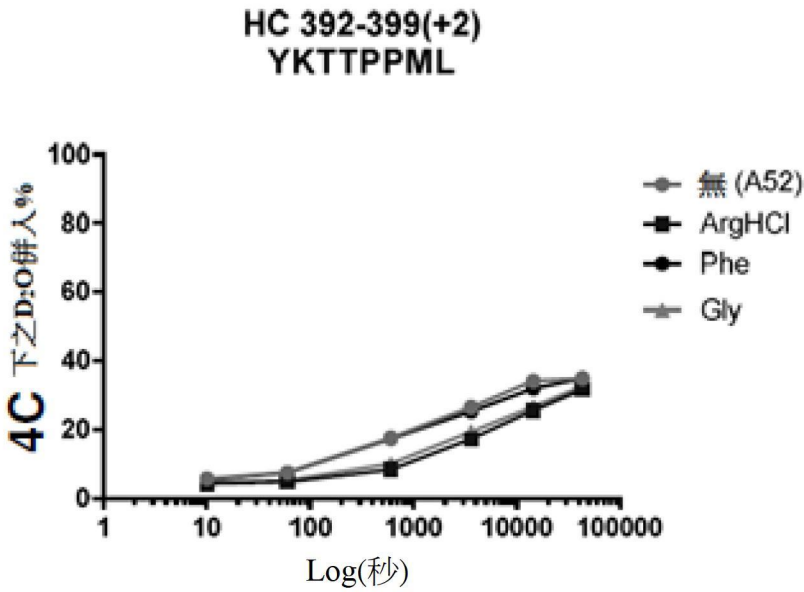
HC 47-59(+1)
WVSGITGSGGSTY



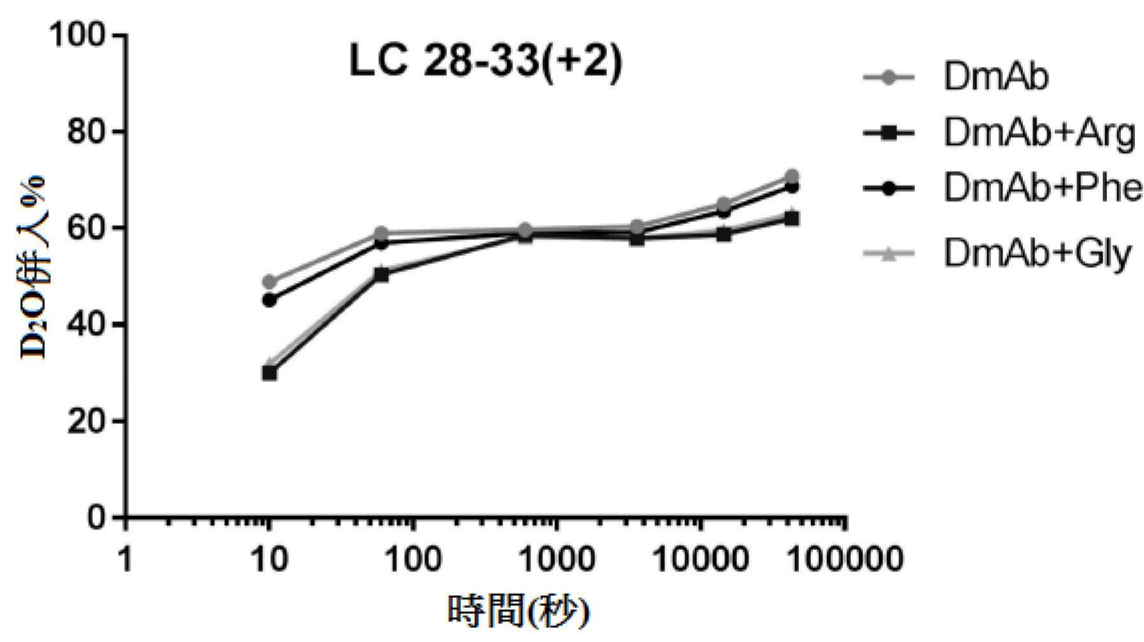
【圖 22】



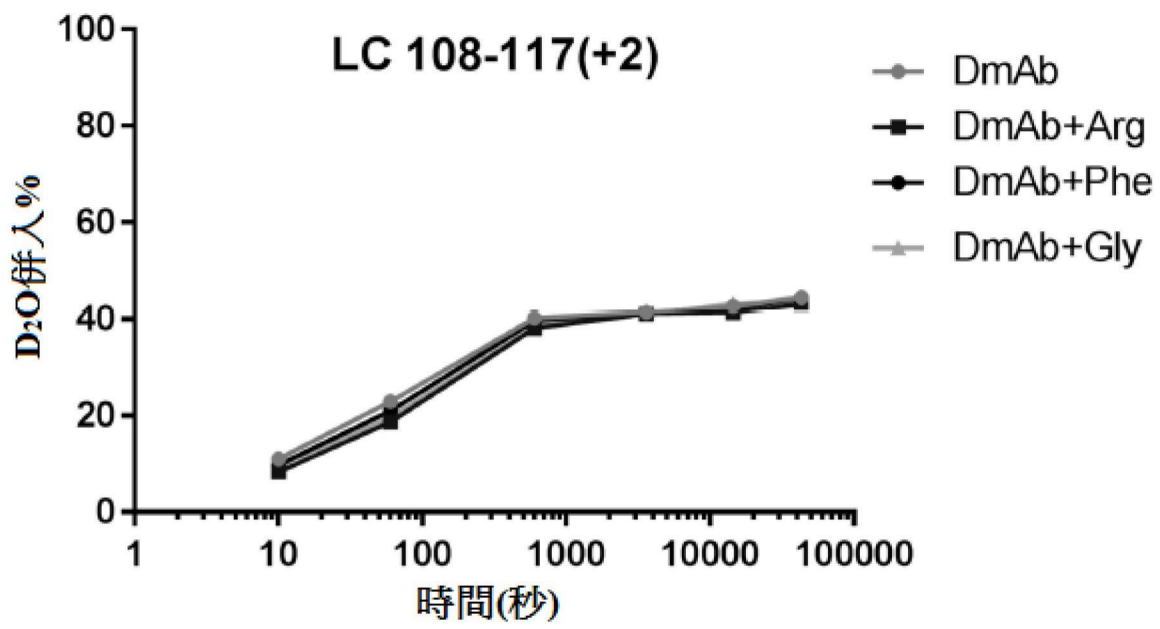
【圖 23】



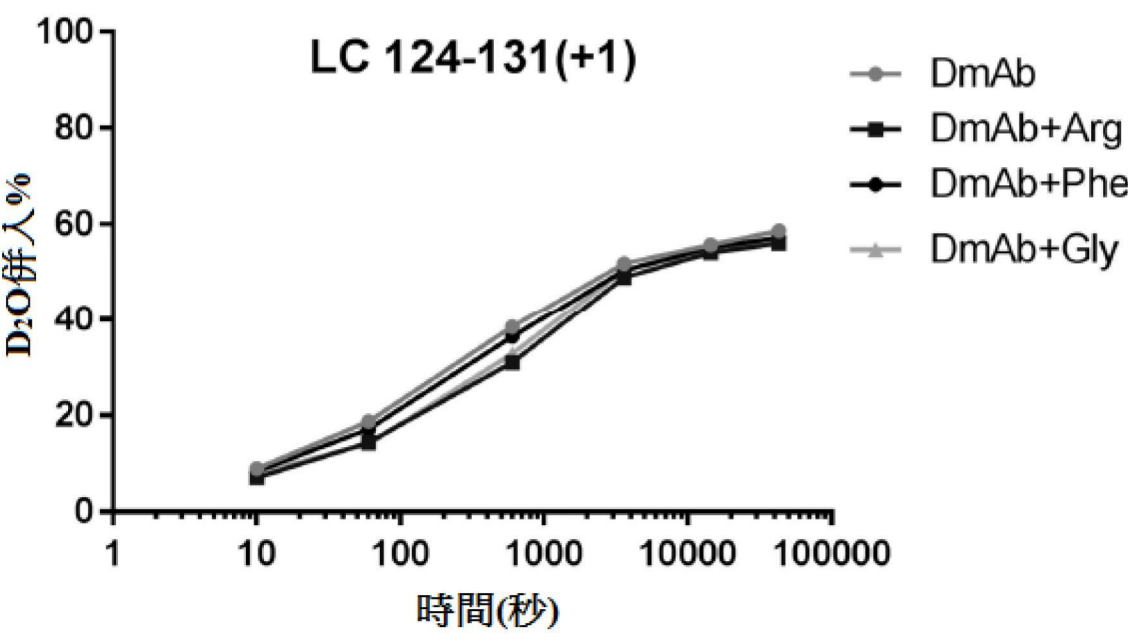
【圖 24】



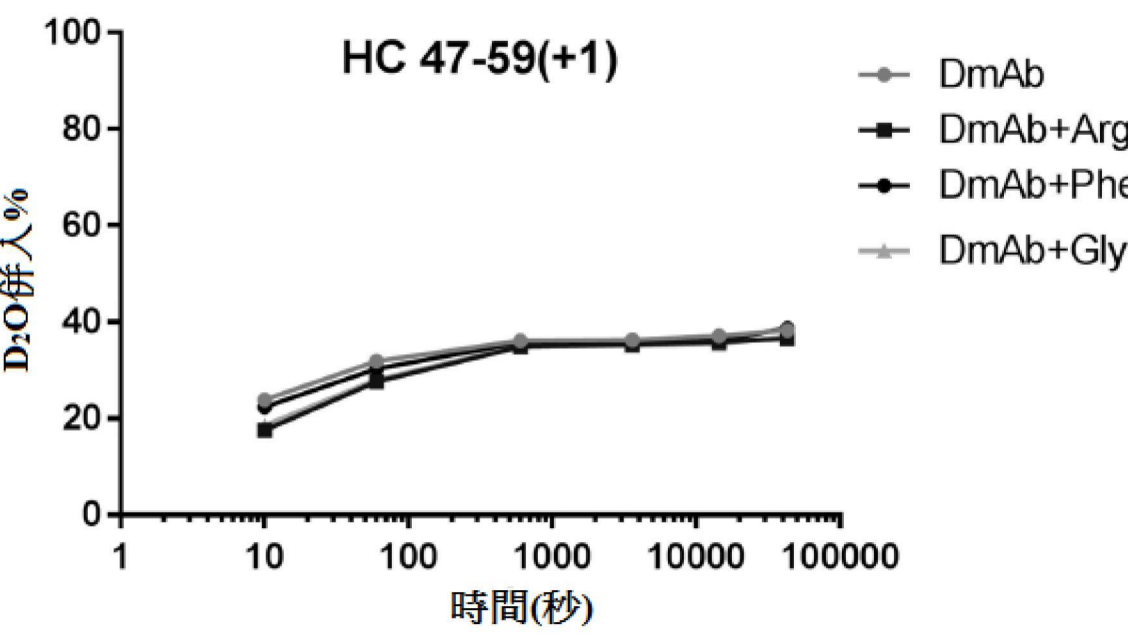
【圖 25】



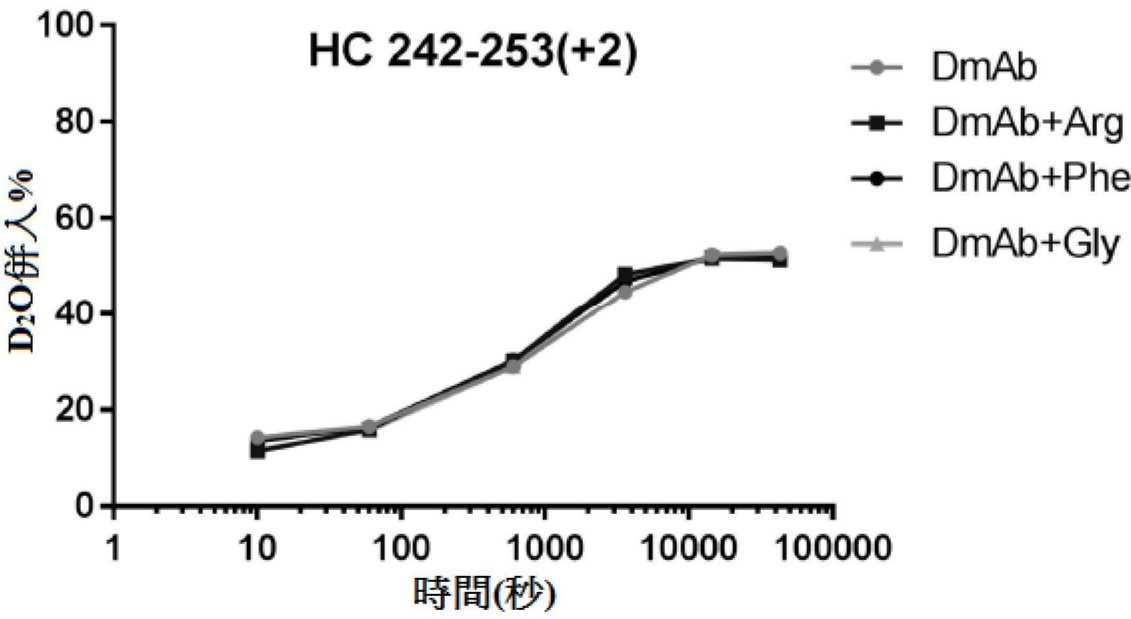
【圖 26】



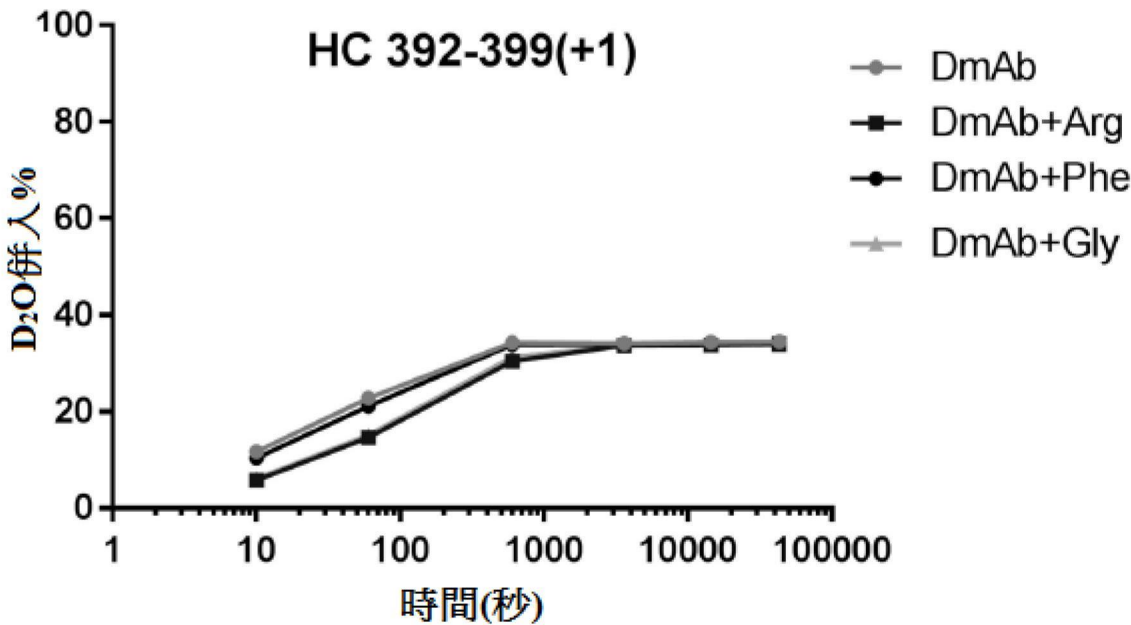
【圖 27】



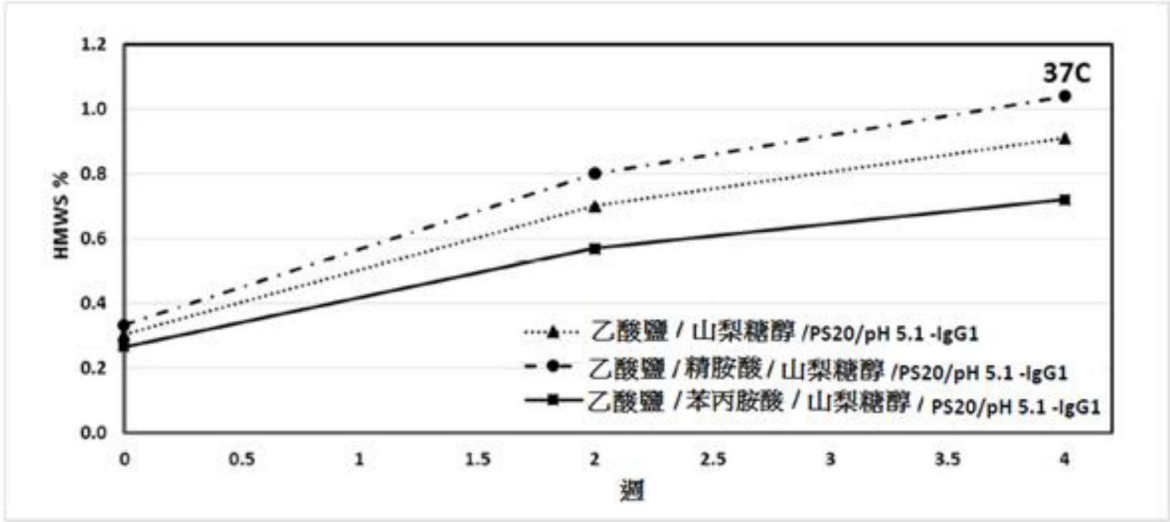
【圖 28】



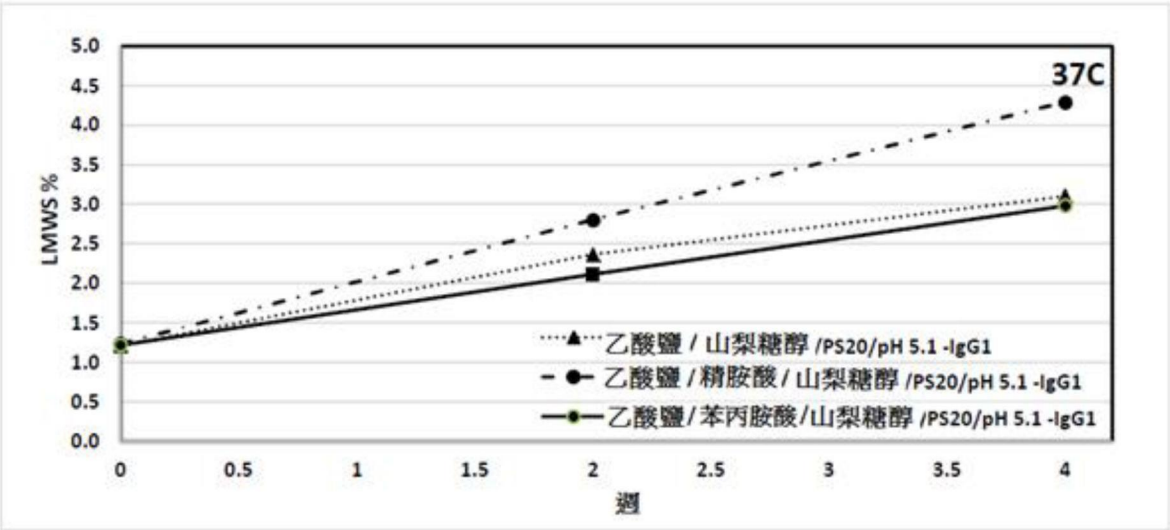
【圖 29】



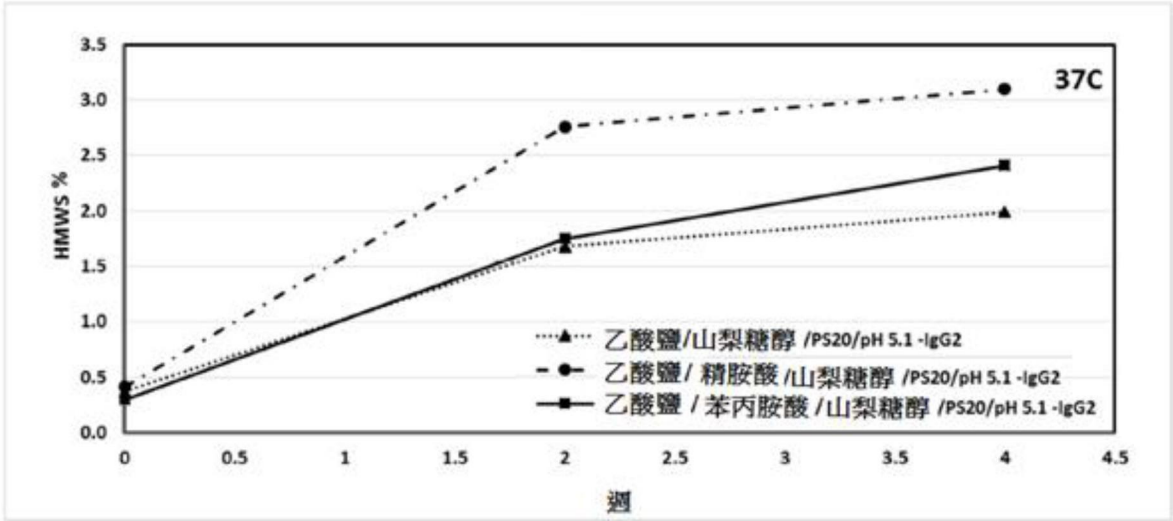
【圖 30】



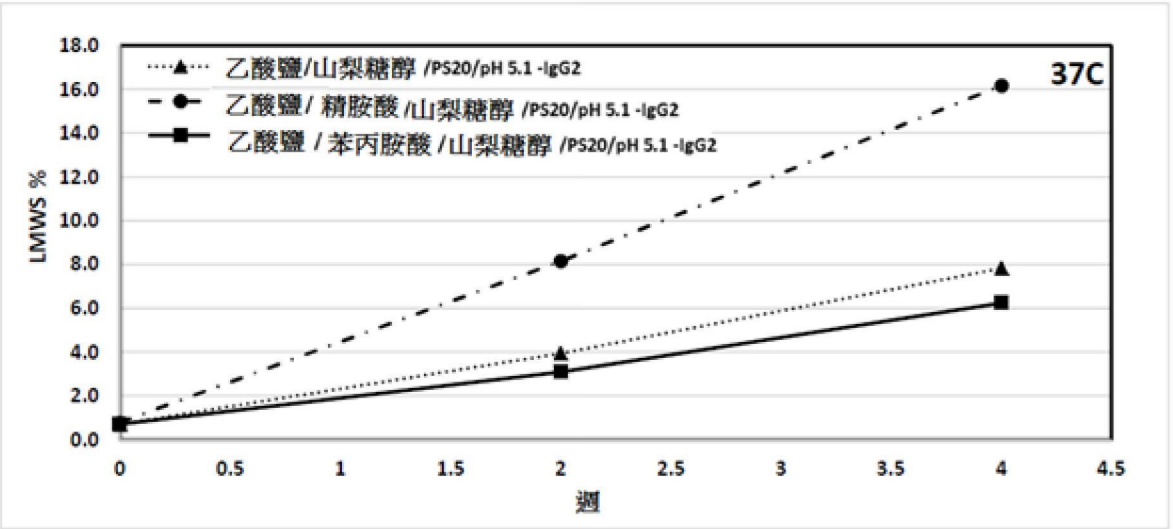
【圖 31】



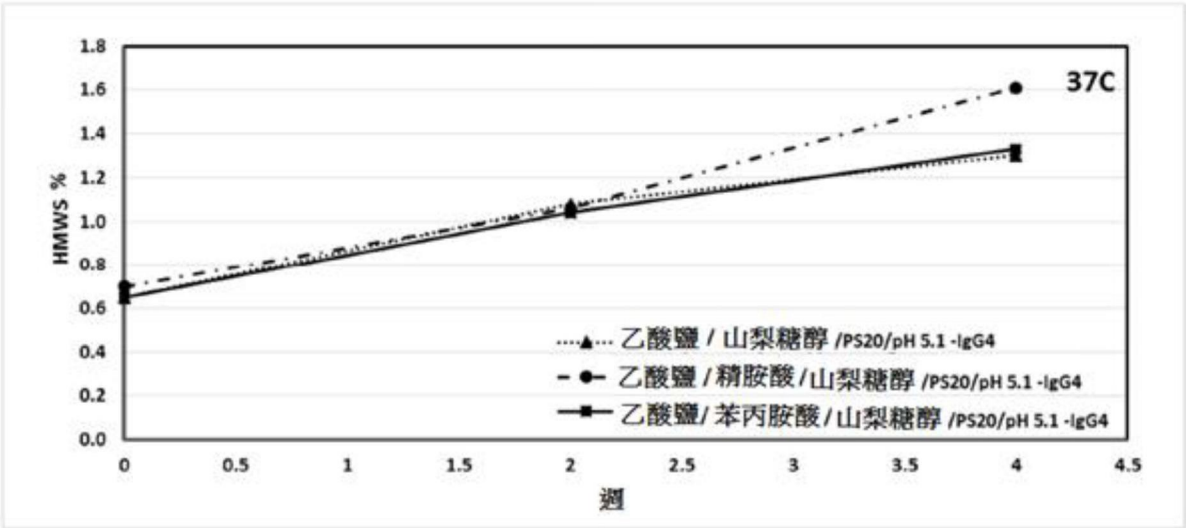
【圖 32】



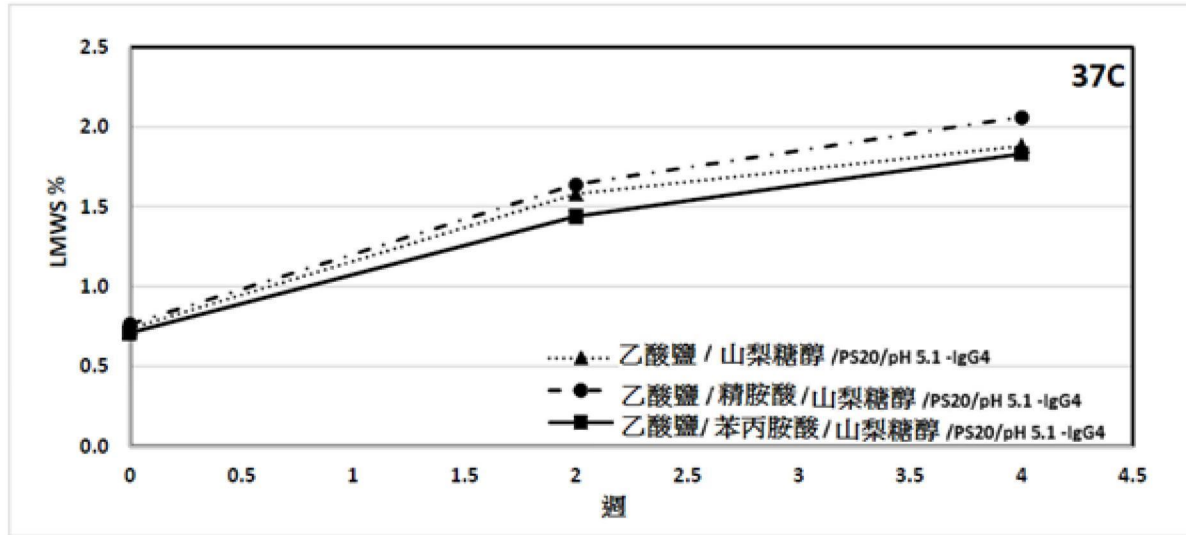
【圖 33】



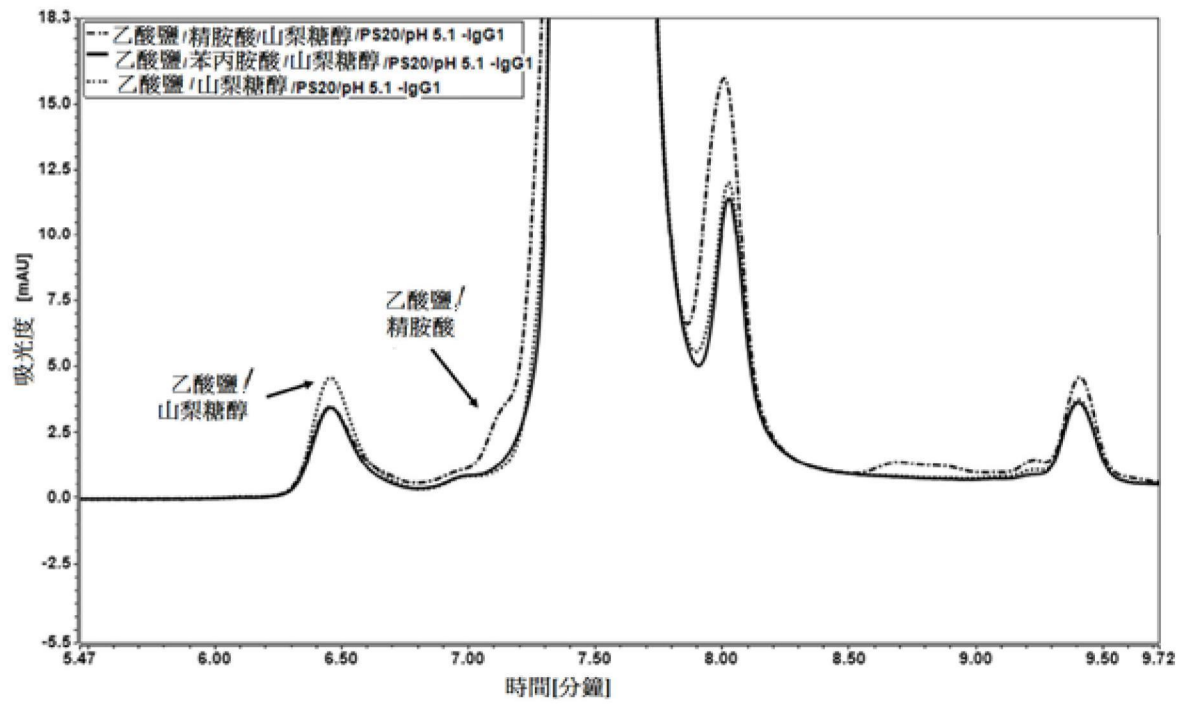
【圖 34】



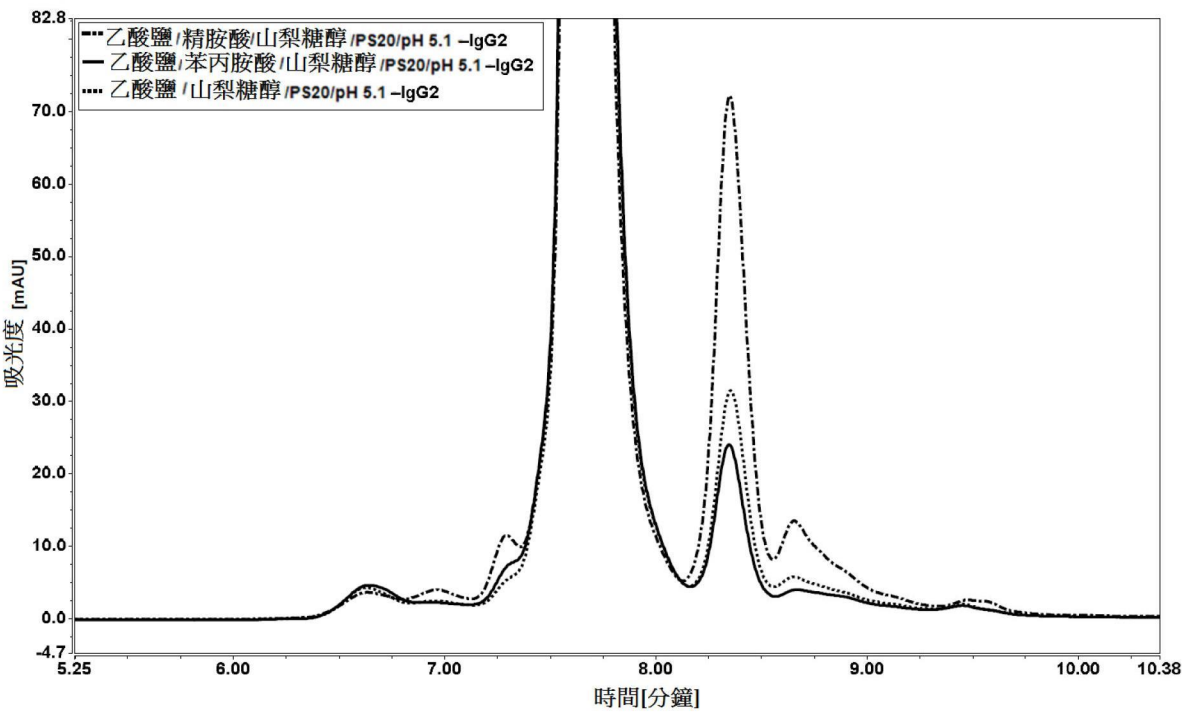
【圖 35】



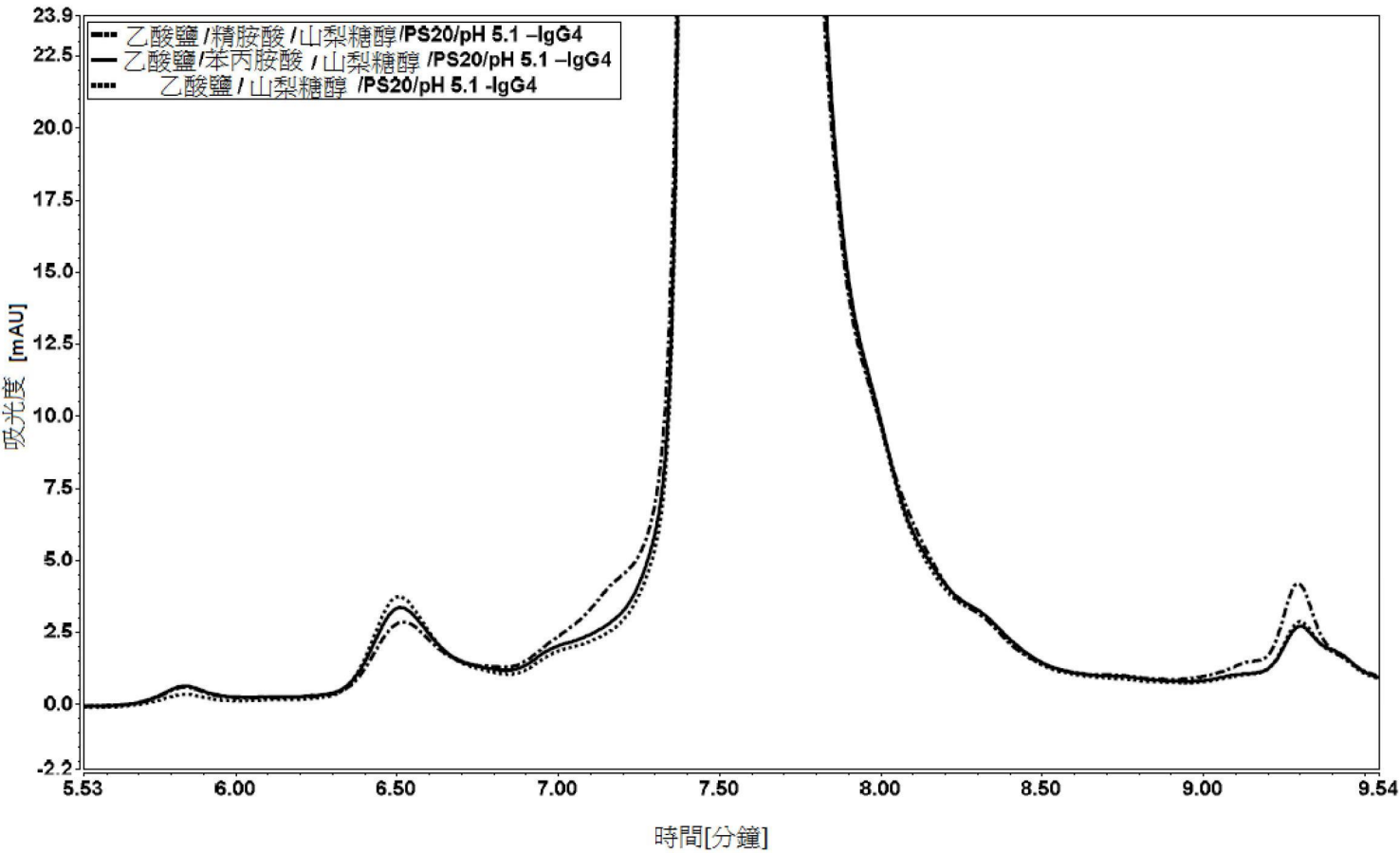
【圖 36】



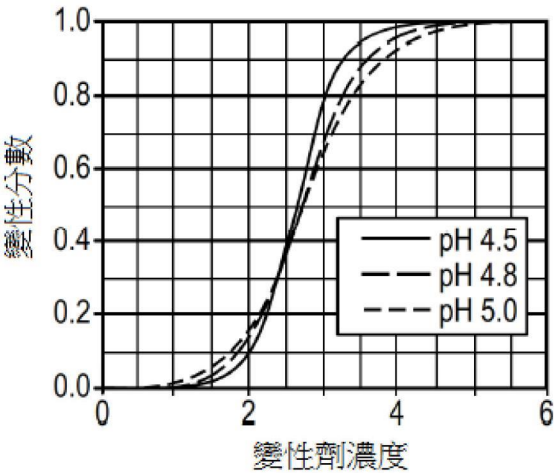
【圖 37】



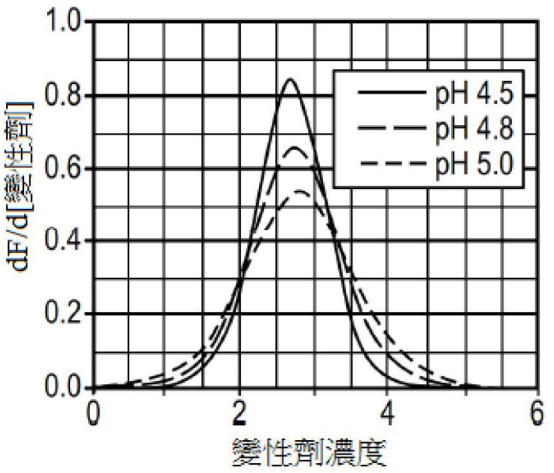
【圖 38】



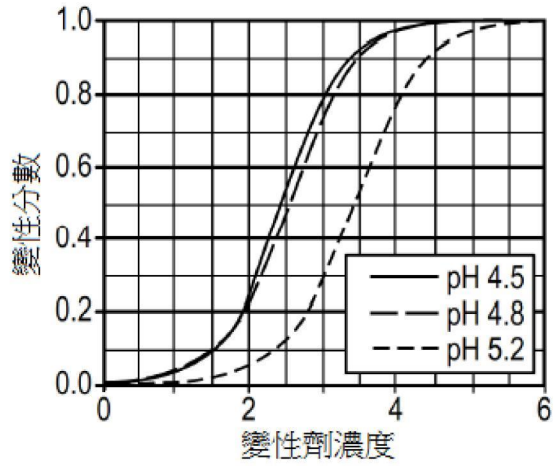
【圖 39】



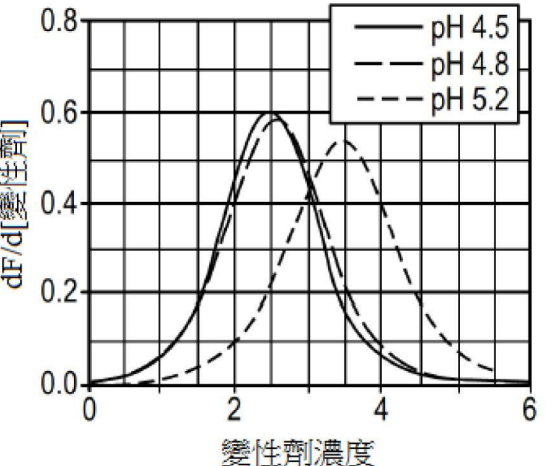
【圖40A】



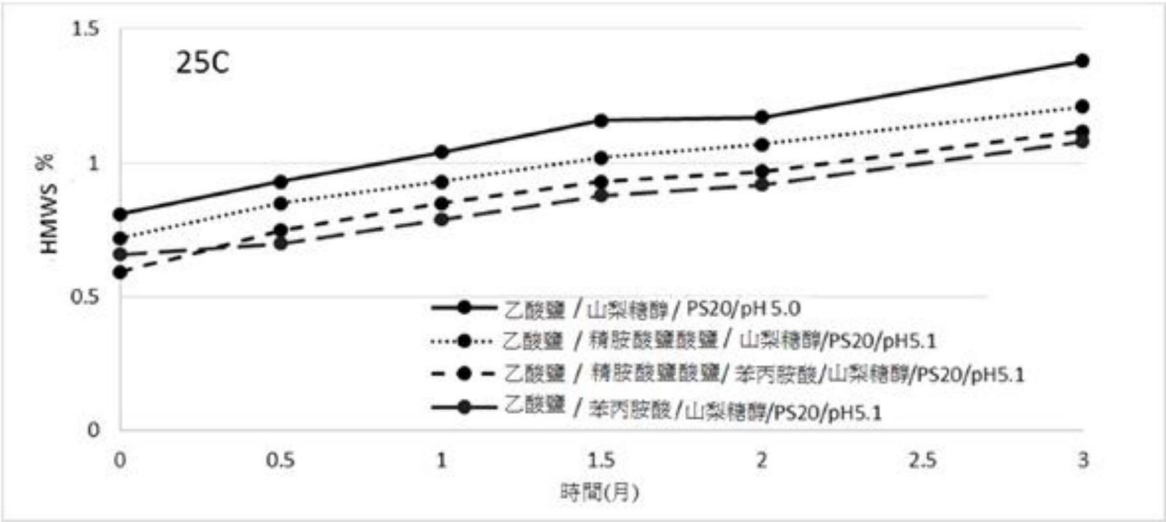
【圖40B】



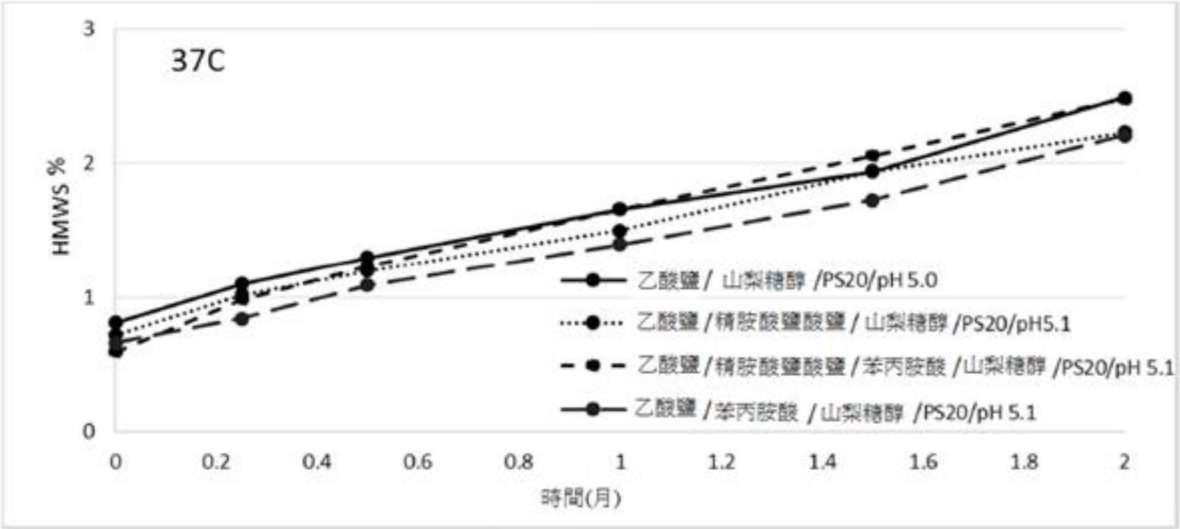
【圖41A】



【圖41B】



【圖 42】



【圖 43】