



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 201726111 A

(43) 公開日：中華民國 106 (2017) 年 08 月 01 日

(21) 申請案號：105131364

(22) 申請日：中華民國 105 (2016) 年 09 月 29 日

(51) Int. Cl. : A61K9/08 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61K47/16 (2006.01)

(30) 優先權：2015/09/30 日本

2015-193452

(71) 申請人：持田製藥股份有限公司 (日本) MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)  
日本

(72) 發明人：奧脇龍 OKUWAKI, RYO (JP)

(74) 代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：11 項 圖式數：0 共 25 頁

(54) 名稱

含高濃度抗體之液體製劑

LIQUID PHARMACEUTICAL AGENT COMPRISING HIGH CONCENTRATION ANTIBODY

(57) 摘要

本發明為一種含有 150mg/mL~200mg/mL 的重組單株抗體、與組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分，且 pH 為 5.5~6.7 的含高濃度重組單株抗體之液體製劑，能以低成本提供一種實現長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用的穩定之高濃度重組單株抗體液體製劑，且顯示可實施皮下注射之動力黏度的液體製劑。

# 發明摘要

※申請案號：105131364

※申請日：105年09月29日

※IPC分類：**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 47/16** (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

含高濃度抗體之液體製劑

Liquid pharmaceutical agent comprising high concentration antibody

【中文】

本發明為一種含有 150mg/mL~200mg/mL 的重組單株抗體、與組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分，且 pH 為 5.5~6.7 的含高濃度重組單株抗體之液體製劑，能以低成本提供一種實現長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用的穩定之高濃度重組單株抗體液體製劑，且顯示可實施皮下注射之動力黏度的液體製劑。

【英文】

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無

# 發明專利說明書

(本申請書格式、順序，請勿任意更動)

## 【發明名稱】(中文/英文)

含高濃度抗體之液體製劑

Liquid pharmaceutical agent comprising high concentration antibody

## 【技術領域】

[0001] 本發明係有關於一種含高濃度抗體之液體製劑。

## 【先前技術】

[0002] 托珠單抗等的重組單株抗體，目前係利用於作為醫藥品之有效成分等。為了獲得充分的治療效果，每1次的重組單株抗體的投與量有時要較多的量，但例如使用可實施自行注射的皮下注射用製劑時，1次的注射液量有限。因此，有時須使製劑中所含的重組單株抗體濃度為高濃度。

[0003] 迄今，作為含高濃度重組單株抗體之液體製劑，已知有含有特定量的精胺酸、甲硫胺酸、聚山梨醇酯的製劑配方(專利文獻 1)、及含有特定量的精胺酸鹽酸鹽、組胺酸、聚山梨醇酯的製劑配方(專利文獻 2)等。

此外，在這些製劑配方中，當重組單株抗體含量為150mg/mL 以上時，精胺酸等的胺基酸成分的含量均為100mM 以上。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

[0004]

[專利文獻 1] 國際公開第 2009/084659 號

[專利文獻 2] 國際公開第 2004/091658 號

**【發明內容】**

[發明所欲解決之課題]

[0005] 以往，為了調製含有高濃度之重組單株抗體的液體製劑，一般認為需要添加 100mM 以上之高濃度的胺基酸成分。因此，為了以低成本提供一種實現長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用，且顯示可實施皮下注射之動力黏度的含高濃度重組單株抗體之液體製劑，則需要進一步之技術開發。

[0006] 本發明係以低成本提供一種實現長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用的穩定之高濃度重組單株抗體液體製劑，且顯示可實施皮下注射之動力黏度的含高濃度重組單株抗體之液體製劑為課題。

[解決課題之手段]

[0007] 本發明如下。

< 1 > 一種含高濃度重組單株抗體之液體製劑，其係含有 150mg/mL~200mg/mL 的重組單株抗體、與組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分，且 pH 為

5.5 ~ 6.7。

< 2 > 如 < 1 > 之液體製劑，其中組胺酸成分以外的胺基酸成分為選自由精胺酸、精胺酸鹽酸鹽及甲硫胺酸所成之群中的至少 1 種。

< 3 > 如 < 1 > 或 < 2 > 之液體製劑，其中組胺酸成分為選自由組胺酸及組胺酸鹽酸鹽所成之群中的至少 1 種。

< 4 > 如 < 1 > 至 < 3 > 中任一項之液體製劑，其係含有 75mM ~ 93mM 的胺基酸成分。

< 5 > 如 < 1 > 至 < 4 > 中任一項之液體製劑，其係含有 90mM 的胺基酸成分。

< 6 > 如 < 1 > 至 < 5 > 中任一項之液體製劑，其 pH 為 5.8 ~ 6.4。

< 7 > 如 < 1 > 至 < 6 > 中任一項之液體製劑，其 pH 為 6.0 ~ 6.2。

< 8 > 如 < 1 > 至 < 7 > 中任一項之液體製劑，其係含有 170mg/mL ~ 190mg/mL 的重組單株抗體。

< 9 > 如 < 1 > 至 < 8 > 中任一項之液體製劑，其係含有 180mg/mL 的重組單株抗體。

< 10 > 如 < 1 > 至 < 9 > 中任一項之液體製劑，其係進一步含有多元醇。

< 11 > 如 < 10 > 之液體製劑，其中重組單株抗體為選自由托珠單抗(Tocilizumab)、曲妥珠單抗(Trastuzumab)、利妥昔單抗(Rituximab)、帕利珠單抗(Palivizumab)、英夫利昔單抗(Infliximab)、巴利昔單抗(Basiliximab)、吉妥珠

單抗奧唑米星 (Gemtuzumab ozogamicin)、貝伐單抗 (Bevacizumab)、替伊莫單抗替昔坦 (Ibritumomab tiuxetan)、阿達木單抗 (Adalimumab)、西妥昔單抗 (Cetuximab)、雷珠單抗 (Ranibizumab)、奧馬珠單抗 (Omalizumab)、艾庫組單抗 (Eculizumab)、帕尼單抗 (Panitumumab)、優特克單抗 (Ustekinumab)、戈立木單抗 (Golimumab)、卡那單抗 (Canakinumab)、地諾單抗 (Denosumab)、莫加木珠單抗 (Mogamulizumab)、奧法木單抗 (Ofatumumab)、帕妥珠單抗 (Pertuzumab)、曲妥珠單抗伊坦新 (Trastuzumab emtansine)、貝倫妥單抗維多汀 (Brentuximab vedotin)、那他珠單抗 (Natalizumab)、納武單抗 (Nivolumab)、阿侖單抗 (Alemtuzumab)、蘇金單抗 (Secukinumab)、雷莫蘆單抗 (Ramucirumab)及伊匹木單抗 (Ipilimumab)所成之群中的至少一者。

#### [發明之效果]

[0008] 根據本發明，能以低成本提供一種實現長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用的穩定之高濃度重組單株抗體液體製劑，且顯示可實施皮下注射之動力黏度的含高濃度重組單株抗體之液體製劑。

#### 【實施方式】

#### [實施發明之形態]

[0009] 以下，就本發明詳細加以說明。

本發明之含高濃度重組單株抗體之液體製劑(以下亦稱「液體製劑」)係含有 150mg/mL~200mg/mL 的重組單株抗體、與組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分(合計)，且 pH 為 5.5~6.7。又，液體製劑亦可含有其他成分。

本發明之液體製劑，透過含有組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分，並將 pH 調整於 5.5~6.7 的範圍，即使含有濃度高達 150mg/mL~200mg/mL 的重組單株抗體，仍可實現在液體製劑中長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用者，而且，可發揮所謂顯示可實施皮下注射之動力黏度的效果。再者，本發明之液體製劑，由於含有 45mM~94mM 的胺基酸成分之低用量的胺基酸成分，比起以往的含高濃度重組單株抗體之液體製劑能以更低成本提供。

此外，本說明書中使用「~」所示之數值範圍係表示包含「~」的前後所記載之數值分別作為最小值及最大值的範圍。

又，莫耳濃度的單位，以 M(體積莫耳)表示，mM 為  $10^{-3}$ mol/L。

本說明書中，所稱「長期保存」，可舉出例如在 2°C~8°C 保存 1 年以上，較佳可舉出在 2°C~8°C 保存 2 年以上，更佳可舉出在 2°C~8°C 保存 2 年~3 年。

[0010]

(重組單株抗體)

重組單株抗體係指由應用重組 DNA 技術經轉形而成之細胞所生產的抗體。重組單株抗體只要是以動物細胞表現或分泌者則較佳，惟重組單株抗體的種類不特別限制。較佳為例如可作為醫藥品使用的重組單株抗體。

[0011] 此外，本發明之液體製劑可含有的重組單株抗體非僅為來自人類、小鼠、大鼠等動物的重組單株抗體，亦包含嵌合抗體、擬人化抗體等的重組單株抗體。又，抗體的免疫球蛋白類型不特別限定，可為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 等的 IgG、IgA、IgD、IgE、IgM 等任一種類型。

[0012] 又，重組單株抗體中亦包含使 Fv、Fab、F(ab)<sub>2</sub> 等的抗體片段、或抗體的可變區以胜肽連結子等的連結子結合而成之一價或二價以上的單股 Fv(scFv、sc(Fv)<sub>2</sub> 或 scFv 二聚物等的 Diabody 等)等的低分子化抗體等。

此等重組單株抗體可依據國際公開第 92/019759 號及國際公開第 2005/090405 號所記載的方法來調製。

[0013] 作為重組單株抗體，例如，其種類不限，可舉出例如曲妥珠單抗 (Trastuzumab)、利妥昔單抗 (Rituximab)、帕利珠單抗 (Palivizumab)、英夫利昔單抗 (Infliximab)、巴利昔單抗 (Basiliximab)、吉妥珠單抗奧唑米星 (Gemtuzumab ozogamicin)、貝伐單抗 (Bevacizumab)、替伊莫單抗替昔坦 (Ibritumomab tiuxetan)、托珠單抗 (Tocilizumab)、阿達木單抗

(Adalimumab)、西妥昔單抗(Cetuximab)、雷珠單抗(Ranibizumab)、奧馬珠單抗(Omalizumab)、艾庫組單抗(Eculizumab)、帕尼單抗(Panitumumab)、優特克單抗(Ustekinumab)、戈立木單抗(Golimumab)、卡那單抗(Canakinumab)、地諾單抗(Denosumab)、莫加木珠單抗(Mogamulizumab)、奧法木單抗(Ofatumumab)、帕妥珠單抗(Pertuzumab)、曲妥珠單抗伊坦新(Trastuzumab emtansine)、貝倫妥單抗維多汀(Brentuximab vedotin)、那他珠單抗(Natalizumab)、納武單抗(Nivolumab)、阿侖單抗(Alemtuzumab)、蘇金單抗(Secukinumab)、雷莫蘆單抗(Ramucirumab)及伊匹木單抗(Ipilimumab)。

[0014] 又，以重組單株抗體而言，較佳為托珠單抗(Tocilizumab)、曲妥珠單抗(Trastuzumab)、利妥昔單抗(Rituximab)、帕利珠單抗(Palivizumab)、英夫利昔單抗(Infliximab)、巴利昔單抗(Basiliximab)、貝伐單抗(Bevacizumab)、阿達木單抗(Adalimumab)、西妥昔單抗(Cetuximab)、雷珠單抗(Ranibizumab)、奧馬珠單抗(Omalizumab)、艾庫組單抗(Eculizumab)、帕尼單抗(Panitumumab)、優特克單抗(Ustekinumab)、戈立木單抗(Golimumab)、卡那單抗(Canakinumab)、地諾單抗(Denosumab)、莫加木珠單抗(Mogamulizumab)、奧法木單抗(Ofatumumab)、帕妥珠單抗(Pertuzumab)、那他珠單抗(Natalizumab)、納武單抗(Nivolumab)、阿侖單抗(Alemtuzumab)、蘇金單抗(Secukinumab)、雷莫蘆單抗

(Ramucirumab)或伊匹木單抗(Ipilimumab)，較佳為曲妥珠單抗(Trastuzumab)、托珠單抗(Tocilizumab)、英夫利昔單抗(Infliximab)、貝伐單抗(Bevacizumab)、阿達木單抗(Adalimumab)、優特克單抗(Ustekinumab)、戈立木單抗(Golimimumab)或地諾單抗(Denosumab)，更佳為托珠單抗(Tocilizumab)、英夫利昔單抗(Infliximab)、貝伐單抗(Bevacizumab)、阿達木單抗(Adalimumab)或地諾單抗(Denosumab)。

[0015] 再者，就重組單株抗體而言最佳為托珠單抗。

托珠單抗只要是具有一般市售之 ACTEMRA(註冊商標)之重鏈的胺基酸序列(Gln1-Gly448)及輕鏈的胺基酸序列(Asp1-Cys214)、與同一種胺基酸序列者即可。此外，ACTEMRA 之重鏈的胺基酸序列(Glu1-Gly448)及輕鏈的胺基酸序列(Asp1-Cys214)係記載於國際公開第 2005/090405 號隨附之序列表。

又，重鏈的 N 末端殘基亦可為焦麩胺酸(Pyroglutamic acid; pGlu)，以取代麩胺酸。重鏈的 C 末端殘基亦可為 447 之脯胺酸(Pro)、或對第 448 號甘胺酸(Gly)附加離胺酸(Lys)而成的 449 胺基酸殘基，以取代 448 胺基酸殘基。

[0016] 本發明之液體製劑係含有 150mg/mL ~ 200mg/mL 的重組單株抗體。又，基於可充分發揮本發明之效果的觀點，較佳含有 170mg/mL ~ 190mg/mL 的重組單株抗體，更佳含有 180mg/mL 的重組單株抗體。本發明所

使用的重組單株抗體，較佳為於其製造方法中未進行冷凍乾燥、再構成。

[0017]

(胺基酸成分)

本發明之液體製劑係含有組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分。

作為組胺酸成分以外的胺基酸成分，其種類不限，可舉出例如精胺酸、精胺酸鹽酸鹽、甲硫胺酸、甘胺酸、苯丙胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、離胺酸、天冬醯胺、色胺酸、半胱胺酸及半胱胺酸鹽酸鹽。又，基於長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用之觀點，就組胺酸成分以外的胺基酸成分而言，較佳為選自由精胺酸、精胺酸鹽酸鹽及甲硫胺酸所成之群中的至少 1 種。再者，就組胺酸成分以外的胺基酸成分而言，較佳含有精胺酸、精胺酸鹽酸鹽及甲硫胺酸，更佳含有精胺酸鹽酸鹽及甲硫胺酸。

[0018] 就組胺酸成分而言，較佳為選自由組胺酸及組胺酸鹽酸鹽所成之群中的至少 1 種，更佳為組胺酸及組胺酸鹽酸鹽。

本發明之液體製劑只要是在液體製劑中含有未達 5mM 的組胺酸者即可，而基於可將 pH 調整於較佳範圍之觀點，較佳含有 1mM 以上 4mM 以下的組胺酸成分，更佳含有 2mM 以上 4mM 以下的組胺酸成分。

[0019] 就胺基酸成分而言，較佳為在液體製劑中含有組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分。

又，較佳含有 75mM ~ 93mM 的胺基酸成分，更佳含有 90mM 的胺基酸成分。

#### [0020]

(多元醇)

液體製劑亦可進一步含有多元醇。

作為多元醇，可舉出例如丙二醇、甘油(丙三醇)、蘇糖、蘇糖醇、赤蘚糖、赤蘚醇、核糖、阿拉伯糖、阿拉伯糖醇、來蘇糖、麥芽糖醇、山梨糖醇、山梨糖、葡萄糖、甘露糖、甘露糖醇、左旋糖、右旋糖、麥芽糖、海藻糖、果糖、木糖醇、肌醇、半乳糖、木糖、果糖、蔗糖、1,2,6-己三醇。其中，多元醇較佳為蔗糖、海藻糖等，最佳為蔗糖。

液體製劑可組合含有此等多元醇的 1 種或 2 種以上。

又，要使胺基酸成分的含量未達 70mM 時，基於抑制二聚物生成之觀點，較佳為組合使用多元醇。

[0021] 多元醇的含量不特別限定，基於液體製劑等滲壓之觀點，只要適宜決定即可。例如，只要為 30mg/mL ~ 80mg/mL、40mg/mL ~ 70mg/mL、50mg/mL ~ 60mg/mL 即可。

#### [0022]

(其他成分)

液體製劑中，除重組單株抗體及胺基酸成分外，亦可含有液體製劑之製劑化所需的其他成分。作為其他成分，亦可含有例如增溶劑、等滲壓劑、保存劑、抗吸附劑、含

硫還原劑、抗氧化劑，較佳為增溶劑。

[0023] 作為增溶劑，可舉出例如界面活性劑，尤為非離子性界面活性劑，具體而言為聚氧乙烯硬化蓖麻油、聚山梨醇酯(聚山梨醇酯 80、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 20 等)、聚氧乙烯山梨醇酐單月桂酸酯、蓖麻油脂肪酸乙酯、及菸鹼酸醯胺等。

[0024] 作為等滲壓劑，例如，除多元醇外，尚可舉出氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣等的鹽類。

[0025] 作為保存劑，可舉出例如對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸乙酯、對羥基苯甲酸丙酯、山梨酸、苯酚、甲酚、間甲酚、氯甲酚。

[0026] 作為抗吸附劑，可舉出例如人血清白蛋白、卵磷脂、葡聚糖、羥丙基纖維素、甲基纖維素、聚乙二醇。

[0027] 作為含硫還原劑，可舉出例如 N-乙醯基半胱胺酸、N-乙醯基同胱胺酸、硫辛酸、硫二甘醇、硫代乙醇胺、硫代丙三醇、硫代山梨糖醇、硫代乙醇酸及其鹽、硫代硫酸鈉、穀胱甘肽。

[0028] 作為抗氧化劑，可舉出例如異抗壞血酸、二丁基羥基甲苯、丁基羥基苯甲醚、 $\alpha$ -生育酚、乙酸生育酚、L-抗壞血酸及其鹽、L-抗壞血酸棕櫚酸酯、L-抗壞血酸硬脂酸酯、亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉、沒食子酸三戊酯、沒食子酸丙酯、乙二胺四乙酸二鈉(EDTA·2Na)、焦磷酸鈉、偏磷酸鈉。

[0029] 此外，在調製含有 150mg/mL 以下，例如 100mg/mL 之重組單株抗體的含重組單株抗體之液體製劑時，亦可調製含有組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分，且 pH 為 5.5~6.7 的含重組單株抗體之液體製劑。

[0030]

(pH)

液體製劑的 pH 為 5.5~6.7。又，於可實施皮下注射的範圍，基於調整液體製劑的動力黏度之觀點，pH 較佳為 5.8~6.4，更佳為 6.0~6.2。pH 的測定可例如藉由 pH 計(型號：HM-30G，DKK-TOA(股)製)來進行。又，pH 的測定只要依循第 16 次修訂日本藥典所記載的方法進行測定，在例如常溫(15°C~25°C)進行測定即可。

液體製劑的 pH，可藉由液體製劑所含的組胺酸成分來調整，惟亦可視需求，使用其他的緩衝劑來調整液體製劑的 pH。作為其他的緩衝劑，可舉出例如磷酸鹽(鈉或鉀)、碳酸氫鈉、檸檬酸鹽(鈉或鉀)、乙酸鈉、琥珀酸鈉、磷酸、碳酸、檸檬酸、琥珀酸、蘋果酸、葡萄糖酸、甘胺酸。

[0031] 本發明之液體製劑能以例如注射劑(皮下注射、靜脈注射、肌肉注射等)、經皮、經黏膜、經鼻、經肺來進行投與。

進行皮下注射時，每 1 次的重組單株抗體投與量要 150mg/mL~200mg/mL 等較多的量，但注射液量有限。本

發明之液體製劑，即使含有 150mg/mL~200mg/mL 之高濃度的重組單株抗體，仍顯示可實施皮下注射的動力黏度。因此，由所謂可發揮本發明之效果的觀點而言，本發明之液體製劑較佳為使用於作為皮下注射用。就皮下注射而言，不僅有屬以醫師為首的醫護人員之專家來進行的情形，也有患者本人來進行之自行注射的情形，隨民族、地域不同，對自行注射抱持不安的患者亦在所多有，從而，較佳的是動力黏度低，且其隨時間經過的穩定性優異者。

[0032] 本發明之液體製劑的動力黏度，例如，在液體製劑剛調製後，較佳為  $6\text{mm}^2/\text{s} \sim 15\text{mm}^2/\text{s}$ ，更佳為  $7\text{mm}^2/\text{s} \sim 14\text{mm}^2/\text{s}$ ，更佳為  $8\text{mm}^2/\text{s} \sim 12\text{mm}^2/\text{s}$ 。

動力黏度只要以烏伯羅德式黏度計(第 16 次修訂日本藥典 一般試驗法 2.53 黏度測定法 第 1 法)來測定即可。

二聚物生成物及低分子量分解物可利用例如高效液相層析系統(Prominence，島津製作所股份有限公司製)，藉由尺寸排除層析法來測定。

脫醯胺體可利用例如高效液相層析系統(Prominence，島津製作所股份有限公司製)，藉由離子交換層析法來測定。

[0033] 根據以下實施例進一步詳細敘述本發明，惟本發明不應理解為受此等實施例所限定。於本說明書中，若未特別記載，%之表記為質量%。

## [實施例]

[0034]

## (實施例 1)

## 液體製劑的穩定化效果之確認

針對含有高濃度之重組單株抗體(以托珠單抗計為 180mg/mL)的液體製劑，評估對含有 94mM 的胺基酸成分，且 pH 為 5.5~6.7 的本發明之製劑的穩定化所造成的影響。

於本研究中，為確認液體製劑的穩定化效果，而調製 No.1~No.5 之評定試料。各評定試料的配方如下。此外，表 1 及表 5 中之組成中的「-」係表示未摻混。又，實施例中所使用之托珠單抗可依循國際公開第 92/019759 號、國際公開第 2005/090405 號、國際公開第 99/063058 號及國際公開第 2002/072615 號所記載的方法來調製。

[0035]

【表1】

評定試料 Nb.	精胺酸 mM	精胺酸 鹽酸鹽 mM	甲硫胺酸 mM	組胺酸 mM	組胺酸 鹽酸鹽 mM	聚山梨 醇酯 80 mg/mL	pH
1	0.84	99.2	30	10	10	0.20	6.0
2	60		30	4		0.20	5.0
3	64		30	-		0.20	6.8
4	60		30	4		0.20	6.8
5	60		30	4		0.20	6.0

[0036] 為評定液體製劑的穩定性，而將各評定試料以 0.5mL 填充於 2mL 玻璃管瓶，進行各評定試料的熱加速試驗(以 60°C -2 週、50°C -2 週及 40°C -4 週保存)。其後，以尺寸排除層析法(SEC)及離子交換層析法(IEX)確認

在熱加速前後之重組單株抗體的純度。又，根據動力黏度來評定液體製劑的使用性。尺寸排除層析法(SEC)、離子交換層析法(IEX)及動力黏度的分析條件如下。

[0037]

[ 尺寸排除層析法 ]

將評定試料以移動相稀釋成蛋白質濃度為 1mg/mL 而調製成評定試料溶液。

對評定試料溶液 20 $\mu$ L，依以下條件根據液相層析法進行試驗，藉由自動分析法測定高分子區分、主區分、低分子區分的峰面積，求出其量(%)。

[0038]

分析條件

管柱：TSKgel G3000SWxl 7.8mm I.D.×30 cm (TOSOH 製)

保護管柱：TSKgel guard column SW<sub>XL</sub> 6.0mm I.D.×4cm (TOSOH 製)

移動相：pH6.8 的磷酸緩衝液(含 300mmol/L 氯化鈉之 pH6.8 的 20mmol/L 磷酸緩衝液)

評定試料注入量：以重組單株抗體計約 20 $\mu$ g

流量：0.5mL/min

檢測波長：280nm

[0039]

計算式

各峰的合計面積=主區分的峰面積+高分子區分的峰面

積+低分子區分的峰面積

高分子區分(%)=(高分子區分之各峰面積的合計/各峰的合計面積)×100

低分子區分(%)=(低分子區分之各峰面積的合計/各峰的合計面積)×100

[0040]

[動力黏度測定法]

將評定試料直接調成評定試料溶液。

茲測定在注射針裝接於玻璃注射筒的狀態下吸取評定試料溶液時推桿所產生的張力。將所得張力擬合於由對動力黏度  $2\text{mm}^2/\text{s} \sim 20\text{mm}^2/\text{s}$  的黏度計校正用標準溶液(NIPPON GREASE)同樣地進行測定而得之張力與動力黏度所作成的檢量線，求出動力黏度。動力黏度的測定溫度係設為  $20^\circ\text{C}$ 。

[0041] 將本實施例中所得之尺寸排除層析法的評定結果示於表 2、離子交換層析法的評定結果示於表 3、動力黏度的評定結果示於表 4。

[0042]

【表2】

評定試料 No.		1(對照)	2(對照)	3(對照)	4(對照)	5
開始時	高分子區分(%)	0.8	0.7	1.4	1.2	0.9
	低分子區分(%)	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
40°C4週	高分子區分(%)	1.5	1.0	2.5	2.7	1.6
	低分子區分(%)	3.1	2.8	3.1	3.8	2.5
50°C2週	高分子區分(%)	2.0	2.4	3.4	3.8	2.2
	低分子區分(%)	3.9	4.4	5.8	6.3	4.0
60°C2週	高分子區分(%)	17.3	58.7	13.3	15.2	18.9
	低分子區分(%)	10.1	8.6	13.9	14.4	9.3

[0043]

【表3】

評定試料 No.		1(對照)	2(對照)	3(對照)	4(對照)	5
開始時	酸性區分 (%)	22.2	22.2	22.2	23.2	22.3
	鹼性區分 (%)	9.8	10.2	10.0	10.1	10.5
40°C4週	酸性區分 (%)	38.7	33.4	40.5	45.4	34.6
	鹼性區分 (%)	14.3	20.1	14.1	13.2	15.1
50°C2週	酸性區分 (%)	46.2	41.5	49.8	53.3	43.9
	鹼性區分 (%)	15.5	22.8	15.5	14.9	16.7
60°C2週	酸性區分 (%)	56.7	16.2	61.4	61.0	51.7
	鹼性區分 (%)	32.1	80.4	27.9	30.0	37.9

[0044]

【表4】

評定試料 No.	1(對照) (mm <sup>2</sup> /s)	2(對照) (mm <sup>2</sup> /s)	3(對照) (mm <sup>2</sup> /s)	4(對照) (mm <sup>2</sup> /s)	5 (mm <sup>2</sup> /s)
開始時	8.27	5.95	7.72	6.38	7.33
40°C4週	8.71	6.04	7.79	6.81	7.11
50°C2週	8.73	6.60	8.29	7.69	6.96
60°C2週	9.21	11.70	8.56	8.12	7.44

[0045] 含有 94mM 的胺基酸成分，且將 pH 調整為 6 的配方(評定試料 No.5)，儘管胺基酸量的合計量及組胺酸成分的含量均較少，但在以 60°C 保存 2 週、以 50°C 保存 2 週及以 40°C 保存 4 週的熱加速試驗中，高分子區分及低分子區分的量，與胺基酸的合計量及組胺酸成分的含量均使用較多的評定試料 No.1 相比為同等程度。

再者，評定試料 No.5，經確認離子交換層析法中包含脫醯胺體之酸性區分的增加經抑制至與評定試料 No.1 同等程度。

又，將 pH 調整為 5 的配方(評定試料 No.2)及將 pH 調整為 6.8 的配方(評定試料 No.3 及 4)，與包含二聚物之高分子區分的評定試料 No.5 相比可看出增加傾向，且包

含脫醯胺體之酸性區分亦可看出增加傾向，因此，顯然 pH 的範圍為重要的控管項目。

由比較有無添加組胺酸之配方(評定試料 No.3 及 4)的評定結果，基於將液體製劑的 pH 調整於期望的 pH 範圍之觀點，顯然組胺酸成分為重要的成分。

又，評定試料 No.5 的動力黏度，比起評定試料 No.1 的動力黏度係較低，且其變化亦較小，因此，可提升進行皮下注射時的使用性。

如此，可知即使使胺基酸成分的含量成為 94mM 以下，藉由將 pH 調整於 5.5~6.7 的範圍內，仍可調製顯示可實施皮下注射之動力黏度的液體製劑。

[0046]

(實施例 2)

進一步降低胺基酸成分的含量時的穩定性效果的確認  
針對使胺基酸成分的含量進一步低於 94mM 時之包含重組單株抗體(以 Tocilizumab 計為 180mg/mL)的液體製劑，評定穩定化效果。

於本研究中，為了評定使胺基酸成分濃度進一步降低的可能性，而調製評定試料 No.6-1~No.8。各評定試料的配方如下。

[0047]

【表5】

評定試料 No.	精胺酸鹽酸鹽 mM	甲硫胺酸 mM	組胺酸 mM	組胺酸鹽酸鹽 mM	聚山梨醇酯 80 mg/mL	精製白糖 mg/mL	pH
6-1	56	30	4		0.20	—	6.2
6-2	56	30			0.20	—	6.0
6-3	56	30			0.20	—	6.5
7	45	22.5			0.20	—	6.3
8	30	15			0.20	55.66	6.3

[0048] 為評定液體製劑的穩定性，而將各評定試料以 0.5mL 填充於 2mL 玻璃管瓶，進行各評定試料的熱加速試驗(以 60°C -1 週、50°C -2 週、40°C -8 週及 25°C -4 個月保存)。藉由尺寸排除層析法及離子交換層析法評定在熱加速前後之重組單株抗體的純度；又，根據動力黏度評定其使用性。分析條件係如同實施例 1 所示。

[0049] 將本實施例中所得之尺寸排除層析法的評定結果示於表 6、離子交換層析法的評定結果示於表 7、動力黏度的評定結果示於表 8。

[0050]

【表6】

評定試料 No.		6-1	6-2	6-3	7	8
開始時	高分子區分(%)	1.0	1.0	1.1	1.1	1.2
	低分子區分(%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
25°C4個月	高分子區分(%)	1.1	1.1	1.3	1.4	1.3
	低分子區分(%)	1.5	1.4	1.5	1.5	1.4
40°C8週	高分子區分(%)	1.7	1.7	2.0	2.0	1.9
	低分子區分(%)	3.3	3.4	3.3	3.2	3.1
50°C2週	高分子區分(%)	2.1	2.2	2.3	2.4	2.2
	低分子區分(%)	3.2	3.2	3.0	2.8	2.6
60°C1週	高分子區分(%)	4.1	5.0	4.7	5.3	4.6
	低分子區分(%)	4.9	5.0	4.8	4.6	4.4

[0051]

【表7】

評定試料 No.		6-1	6-2	6-3	7	8
開始時	酸性區分 (%)	21.0	20.8	21.3	21.5	21.7
	鹼性區分 (%)	9.5	9.7	9.6	9.6	9.8
25°C4個月	酸性區分 (%)	28.5	27.9	30.2	28.9	28.8
	鹼性區分 (%)	12.2	12.7	12.3	12.3	12.7
40°C8週	酸性區分 (%)	44.3	44.2	45.8	44.7	44.3
	鹼性區分 (%)	15.2	16.8	16.1	16.5	17.3
50°C2週	酸性區分 (%)	45.3	45.5	46.3	45.9	45.9
	鹼性區分 (%)	12.9	14.1	12.1	12.5	12.4
60°C1週	酸性區分 (%)	57.0	52.9	58.1	56.5	58.3
	鹼性區分 (%)	15.3	20.8	14.1	16.4	14.3

[0052]

【表8】

評定試料 No.	6-1 (mm <sup>2</sup> /s)	6-2 (mm <sup>2</sup> /s)	6-3 (mm <sup>2</sup> /s)	7 (mm <sup>2</sup> /s)	8 (mm <sup>2</sup> /s)
開始時	6.84	7.49	7.44	9.33	9.01
25°C4個月	6.93	7.13	7.25	9.56	8.53
40°C8週	7.21	7.37	8.00	9.06	8.37
50°C2週	6.41	7.27	6.72	9.12	9.72
60°C1週	7.64	8.25	7.44	10.59	8.96

[0053] 任一配方皆如表 6 所示，與胺基酸含量多於實施例 1 所示之胺基酸成分濃度為 94mM 者的評定試料 (評定試料 No.1) 相比，在尺寸排除層析法的評定中，由熱穩定性為同一條件之試驗的 50°C -2 週的評定而言，確認高分子區分的增加獲抑制。

由此結果可知，藉由使胺基酸成分的含量為 93mM 以下，可抑制液體製劑中的二聚物生成。

又，如表 7 所示，與評定試料 No.1 相比，包含脫醯胺體之酸性區分的生成抑制效果，由熱穩定性為同一條件之試驗的 50°C -2 週的評定而言，可確認進一步獲改善。此外，就動力黏度而言，任一評定試料均未看出顯著的增

加，確認顯示出在進行皮下注射方面毫無問題的使用性。

由使胺基酸成分濃度由 90mM 進一步降低之配方(評定試料 No.7 及 8)的評定結果，藉由將胺基酸成分濃度由 90mM 進一步降低，在加速條件下，雖可看出在尺寸排除層析法之評定中包含二聚物之高分子區分增加的傾向，但藉由添加蔗糖(精製白糖)，確認可抑制增加效果。

再者，即使添加 55.66mg/mL 的蔗糖，亦未看出動力黏度顯著增加，確認顯示出在進行皮下注射方面毫無問題的使用性。顯然藉由組合胺基酸成分與蔗糖，可揮發可抑制二聚物生成的效果。

#### [產業上可利用性]

[0054] 本發明之製劑，由於能以低成本提供一種實現長期保存時抑制二聚物生成及抑制脫醯胺作用的穩定之高濃度重組單株抗體液體製劑，且顯示可實施皮下注射之動力黏度的含高濃度重組單株抗體之液體製劑，故產業上有用性極高。

## 申請專利範圍

1.一種含高濃度重組單株抗體之液體製劑，其係含有 150mg/mL~200mg/mL 的重組單株抗體、與組胺酸成分未達 5mM 之 45mM~94mM 的胺基酸成分，且 pH 為 5.5~6.7。

2.如請求項 1 之液體製劑，其中組胺酸成分以外的胺基酸成分為選自由精胺酸、精胺酸鹽酸鹽及甲硫胺酸所成之群中的至少 1 種。

3.如請求項 1 或請求項 2 之液體製劑，其中組胺酸成分為選自由組胺酸及組胺酸鹽酸鹽所成之群中的至少 1 種。

4.如請求項 1 至請求項 3 中任一項之液體製劑，其係含有 75mM~93mM 的胺基酸成分。

5.如請求項 1 至請求項 4 中任一項之液體製劑，其係含有 90mM 的胺基酸成分。

6.如請求項 1 至請求項 5 中任一項之液體製劑，其 pH 為 5.8~6.4。

7.如請求項 1 至請求項 6 中任一項之液體製劑，其 pH 為 6.0~6.2。

8.如請求項 1 至請求項 7 中任一項之液體製劑，其係含有 170mg/mL~190mg/mL 的重組單株抗體。

9.如請求項 1 至請求項 8 中任一項之液體製劑，其係含有 180mg/mL 的重組單株抗體。

10.如請求項 1 至請求項 9 中任一項之液體製劑，其

係進一步含有多元醇。

11.如請求項 10 之液體製劑，其中重組單株抗體為選自由托珠單抗(Tocilizumab)、曲妥珠單抗(Trastuzumab)、利妥昔單抗(Rituximab)、帕利珠單抗(Palivizumab)、英夫利昔單抗(Infliximab)、巴利昔單抗(Basiliximab)、吉妥珠單抗奧唑米星(Gemtuzumab ozogamicin)、貝伐單抗(Bevacizumab)、替伊莫單抗替昔坦(Ibritumomab tiuxetan)、阿達木單抗(Adalimumab)、西妥昔單抗(Cetuximab)、雷珠單抗(Ranibizumab)、奧馬珠單抗(Omalizumab)、艾庫組單抗(Eculizumab)、帕尼單抗(Panitumumab)、優特克單抗(Ustekinumab)、戈立木單抗(Golimumab)、卡那單抗(Canakinumab)、地諾單抗(Denosumab)、莫加木珠單抗(Mogamulizumab)、奧法木單抗(Ofatumumab)、帕妥珠單抗(Pertuzumab)、曲妥珠單抗伊坦新(Trastuzumab emtansine)、貝倫妥單抗維多汀(Brentuximab vedotin)、那他珠單抗(Natalizumab)、納武單抗(Nivolumab)、阿侖單抗(Alemtuzumab)、蘇金單抗(Secukinumab)、雷莫蘆單抗(Ramucirumab)及伊匹木單抗(Ipilimumab)所成之群中的至少一者。