I530295

(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 I530295 B**

(45)公告日： 中華民國 105 (2016) 年 04 月 21 日

(21)申請案號：100149158 (22)申請日： 中華民國 100 (2011) 年 12 月 28 日

(51)Int. Cl.： ***A61K47/12 (2006.01)*** ***A61K47/26 (2006.01)***

A61K39/395 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

A61P37/02 (2006.01)

(30)優先權：2010/12/28 歐洲專利局 10197122.4

(71)申請人：赫素製藥公司 (德國) HEXAL AG (DE)
德國

(72)發明人：丹尼克 布里思 馬汀納 DANEK-BULIUS, MARTINA (AT)；道投 布力塔 DEUTEL, BRITTA (AT)；夫丁杰 莎賓 (AT)；柏拉卓 柏特 PRAGL, BERNT (AT)；庫茲曼 達哥 KUZMAN, DRAGO (SI)

(74)代理人：陳翠華

(56)參考文獻：

TW 200640486 WO 2009/155723

1#Gokarn, Y.R., et al.," Self-Buffering Antibody Formulations", J. Pharm. Sci., 2008, Vol.97, No.8, P.3051-3066.###第 3052 頁右欄第 2 段；第 3061 頁左欄第 2 段

審查人員：黃文延

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：4 共 56 頁

(54)名稱

包含生物醫藥藥物之醫藥配方

PHARMACEUTICAL FORMULATION COMPRISING A BIOPHARMACEUTICAL DRUG

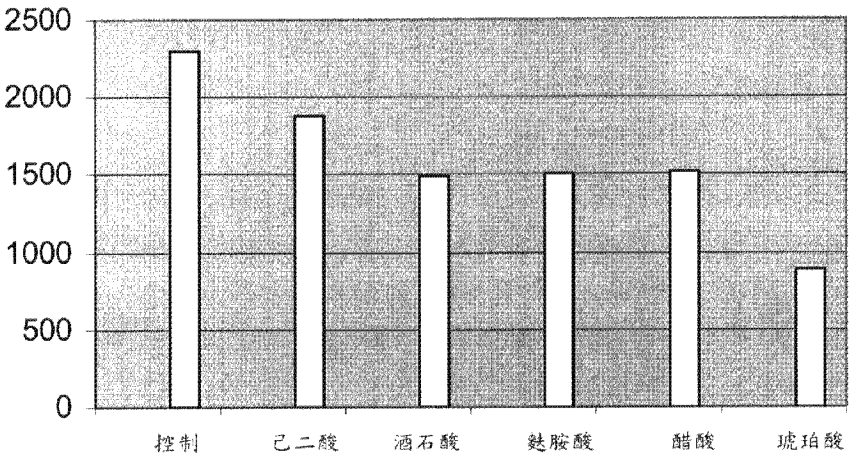
(57)摘要

本發明係關於一種醫藥配方，包含一生物醫藥藥物，該組合物更包含至少一具有一 2 至 6 個碳原子之主鏈的單或二羧酸或至少一其鹽(第 4a 圖)。

The present invention is related to a pharmaceutical formulation comprising a biopharmaceutical drug, said composition further comprising at least one mono- or dicarboxylic acid with a backbone of 2 - 6 C-Atoms, or at least one salt thereof (Fig. 4a).

指定代表圖：

流量顯微鏡（微流量影像儀，MFI）測定之肉眼不可見的顆粒–5 至 10 微米–[計數/毫升]（於 40°C）



第 4a 圖

可用作先前技術中之習知配方的替代物。

本發明之另一目的在於提供用於生物醫藥藥物的醫藥配方，相較於先前技術中的習知配方，其是有利的。

本發明之又一目的在於提供用於生物醫藥藥物的醫藥配方，相較於先前技術中的習知配方，其造成較少的藥物聚集。

該等目的係符合根據本發明之獨立請求項的方法及手段。附屬請求項係關於較佳之實施態樣。亦應理解，由數值所界定的數值範圍應理解為包含所述界定數值。

【實施方式】

在詳細描述本發明之前，應理解本發明並不限於所描述之裝置的特定組成部件或所描述之方法的加工步驟，因該等裝置及方法可變化。亦應理解本說明書所使用的辭彙是僅用於描述特定實施態樣的目的，而不應視為限制。應注意當用於本發明書及申請專利範圍時，單數形式的「一」及「該」包含單數及/或複數者，除非上下文另有清楚說明。亦應理解在參數範圍係以數值界定的情況中，其範圍應視為包含該等限定數值。

根據本發明的第一方面，提供一種包含一生物醫藥藥物的醫藥配方，該配方更包含至少一具有一2至6個碳原子之主鏈的單或二羧酸或至少一其鹽。該具有一2至6個碳原子之主鏈的單或二羧酸或其鹽在本發明之說明書中亦被稱為「緩衝物」。

根據先前技術，醫藥配方係包含生物醫藥藥物、非有機緩衝物或其鹽(如磷酸鹽緩衝物)或三羧酸或其鹽(如檸檬酸/檸檬酸鹽)。後者為三羧酸，其當然提供有效的緩衝功能。然而，本案發明人

發現此緩衝物可造成因藥物聚集所引起的問題。

在本案發明人的研究中，本案發明人驚訝地發現，相較於包含單或二羧酸或其鹽的配方，一包含檸檬酸（2-羥基丙基-1,2,3-三羧酸；$C_6H_8O_7$）或檸檬酸鹽的配方具有與聚集形成有關的缺點（參見結果）。檸檬酸為一具有5個碳原子之主鏈的分支三羧酸。於不受任何理論限制下，檸檬酸之不良性能的原因可能為潛在的螯合影響了這種在帶電荷蛋白質（如單株抗體）上之三羧酸的三個羧酸基團。

「2至6個碳原子」乙詞應理解為揭露所有具有2、3、4、5、或6個碳原子之主鏈的化合物。

當用於本說明書，「生物醫藥藥物」乙詞應包含任何衍生自一生物或生物技術來源、或經化學合成以與所述來源之產物相等之治療的化合物，例如，蛋白質、胜肽、疫苗、核酸、免疫球蛋白、多醣、細胞產物、植物萃取物、動物萃取物、重組蛋白質、或前述之組合。一般而言，生物醫藥藥物為一生物醫藥的活性成分。

當用於本說明書，「安定劑」乙詞意指一試劑，其幫助維持生物醫藥藥物的結構完整性，尤其在冷凍及/或冷凍乾燥及/或儲存期間。在本發明之說明書中，這種試劑亦稱作「低溫保護劑」或「冷凍乾燥保護劑」。

當用於本說明書，「具有n個碳原子之主鏈的單或二羧酸」乙詞意指具有n個碳原子之直鏈烷基或伸烷基（alkylene）主鏈的單或二羧酸。所述主鏈可當然具有側鏈（例如甲基基團），然而，包含於該等鏈中的碳原子並不視為主鏈的碳原子。根據此定義，環狀

糖酸（例如抗壞血酸）不能作為「具有 n 個碳原子之主鏈的單或二羧酸」，因為它們不具有直鏈烷基或伸烷基主鏈。

在本發明一較佳實施態樣中，該配方係呈一選自以下群組之形式：

a) 含水形式；

b) 冷凍乾燥形式；及/或

c) 懸浮。

在含水形式中，該配方可為可立即投藥，但在冷凍乾燥形式中，該配方可在投藥前轉變成液體形式，例如，經由添加包含或不包含防腐劑（如苯甲醇）、抗氧化劑（如維他命 A、維他命 E、維他命 C、軟脂酸視網酯、硒、胺基酸（半胱氨酸、甲硫胺酸）、檸檬酸、及檸檬酸鈉）、合成防腐劑（如對羥基苯甲酸酯（對羥苯甲酸甲酯及對羥苯甲酸丙酯））的注射用水。

在本發明之第一方面的一較佳實施態樣中，相較於先前技術中習知的配方，該配方係使該生物醫藥藥物在一含水溶液中之聚集減少。

當用於本說明書，「蛋白質聚集」乙詞意指較高分子量之蛋白質種類的形成，如寡聚物或集合體（multimers），而非生物醫藥藥物之所欲的、經界定的種類（例如，單體）。因此蛋白質聚集為一通用詞彙，其係指所有未經進一步界定之經由共價鍵或非共價交互作用所形成之集合體種類的形成。

為了測定蛋白質聚集，例如可藉由下述的動態光散射儀（DLS）方法而測量多分散性指數（PdI）及平均蛋白質半徑（Z-Ave）。亦

- 酒石酸或酒石酸鹽；及/或
- 琥珀酸或琥珀酸鹽。

其中，醋酸或醋酸鹽為尤佳的羧酸或鹽。較佳地，使用其作為根據本發明之醫藥配方中唯一的羧酸或鹽，或甚至作為唯一的緩衝物。己二酸或己二酸鹽係另一尤佳的羧酸或鹽。較佳地，使用其作為根據本發明之醫藥配方中唯一的羧酸或鹽，或甚至作為唯一的緩衝物。

該單或二羧酸尤佳係以醫藥配方的含水形式存在，其濃度為≥1毫莫耳濃度且≤100毫莫耳濃度，較佳為≥2毫莫耳濃度且≤50毫莫耳濃度，更佳為≥5毫莫耳濃度且≤25毫莫耳濃度。

除了該單或二羧酸，該醫藥配方更佳為亦包含磷酸鈉（於此亦稱為『NaP』）及/或檸檬酸或檸檬酸鹽。「磷酸鈉」乙詞應理解為包括磷酸二氫鈉及磷酸氫二鈉，及其所有可想到的鹽及/或其水合物。

該醫藥配方之含水形式的pH較佳為≥3且≤9，較佳為≥4且≤8，更佳為≥5且≤7。

在另一較佳的實施態樣中，該蛋白質聚集是由震盪攪拌、剪應力、多次冷凍-解凍循環、及/或長期儲存、及/或儲存於高溫所引起。

當用於本說明書，「高溫」乙詞意指一高於-18°C的儲存溫度。較佳地，該高溫係高於選自以下群組的溫度：0°C、1°C、2°C、3°C、4°C、5°C、6°C、7°C、8°C、9°C、10°C、11°C、12°C、13°C、14°C、15°C、16°C、17°C、18°C、19°C、20°C、21°C、22°C、23°C、24°C、

25°C、26°C、27°C、28°C、29°C、30°C、31°C、32°C、33°C、34°C、35°C、36°C、37°C、38°C、39°C、40°C、41°C、42°C、43°C、44°C、45°C、46°C、47°C、48°C、49°C、50°C、或甚至更高。然而，儲存溫度的一個限制為變性溫度，其為 45°C 至 80°C，取決於個別蛋白質的本質及介質情況。

當用於本說明書，「長期儲存」乙詞意指儲存一包含醫藥配方的組合物超過 1 個月，較佳為超過 2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、或甚至 24 個月。

在本發明另一較佳實施態樣中，該生物醫藥藥物為一蛋白質。該蛋白質可為自然發生的蛋白質、經修飾的蛋白質（即，其係一相對於天然對應物（亦稱作支架（scaffold）或模板）之經修飾的蛋白質）、或一完全合成蛋白質（即，一不具有天然對應物的蛋白質）。

該蛋白質可自一天然有機體中分離，或可經由一經培養之有機體的發酵而得。

此外，該蛋白質可為得自該有機體之蛋白質的同源性或異源性蛋白質。

該蛋白質尤佳係以醫藥配方的含水形式存在，其濃度為≥ 0.1 且≤ 500 毫克/毫升，較佳為≥ 20 且≤ 200 毫克/毫升。

該蛋白質尤佳為一單株抗體或其片段或衍生物。

當用於本說明書，「單株抗體（mAb）」乙詞意指一具有一同源性抗體群體（即，一由整個免疫球蛋白或其片段或衍生物組成的

同源性群體）的抗體組合物。尤佳地，此抗體係選自以下群組：IgG、IgD、IgE、IgA 及/或 IgM、或其片段或衍生物。

當用於本說明書，「片段」乙詞意指此抗體的片段，在某些情況，其保留了目標結合能力，例如：

- CDR（互補決定區域）；
- 高可變區域；
- 可變域（Fv）；
- IgG 重鏈（由 VH、CH1、絞鏈（hinge）、CH2、及 CH3 區域所組成）；
- IgG 輕鏈（由 VL 及 CL 區域所組成）；及/或
- Fab 及/或 $F(ab)_2$。

當用於本說明書，「衍生物」乙詞意指與一般的抗體概念有結構性不同、但仍具有一些結構關聯性的蛋白質構造（constructs），例如，scFv、Fab、及/或 $F(ab)_2$，以及二、三、或更高的特異性抗體構造。以下解釋所有這些項目。

本技術領域中的專業人士知悉的其他抗體衍生物為二體（Diabodies）、駱駝抗體（Camelid Antibodies）、域抗體（Domain Antibodies）、具有由 scFvs、IgAs（經由一 J 鏈及一分泌組分連結的二 IgG 結構）所組成之二鏈的二價同二聚體、鯊魚抗體（shark antibodies）、由新世界靈長類（primate）架構加上非新世界靈長類 CDR 所組成的抗體、二聚體化（dimerised）之包含 CH3+VL+VH 的構造、及抗體共軛物（例如抗體或片段或連接至毒素、細胞因子、放射性同位素、或標記的衍生物）。

用於製造及/或篩選嵌合、人源化、及/或人類單株抗體（human mAbs）的方法為已為本技術領域中所知。例如，US6331415（Genentech)描述生產嵌合抗體；而 US6548640(Medical Research Council）描述 CDR 移植技術；以及 US5859205（Celltech）描述生產人源化抗體。此外，活體外抗體資料庫係揭露於 US6300064（MorphoSys）以及 US6248516（MRC/Scripps/Stratagene)。噬菌體展示技術（Phage Display techniques）係揭露於例如 US5223409（Dyax）。基因轉殖哺乳類動物平台係例如描述於 US200302048621（TaconicArtemis)。

IgG、scFv、Fab、及/或 $F(ab)_2$ 為本技術領域中的專業人士所熟知的抗體形式。可由個別教科書獲得相關的促成技術。

當用於本說明書，「Fab」乙詞係關於一包含抗原結合區域的 IgG 片段，該片段是由抗體的每一重鏈及輕鏈的一恆定域及一可變域所組成。

當用於本說明書，「$F(ab)_2$」乙詞係關於一 IgG 片段，其係由二個經由雙硫鍵彼此連接的 Fab 片段所組成。

當用於本說明書，「scFv」乙詞係關於一單鏈可變片段，其為免疫球蛋白之重鏈及輕鏈之可變區域的融合物，係以一短連接物（通常為絲胺酸（S）或甘胺酸（G））而連接在一起。此嵌合分子保持原始免疫球蛋白之特異性，然而去除恆定區域以及引入連接物胜肽（linker peptide)。

經修飾抗體形式為例如二或三特異抗體構造、以抗體為基質的融合蛋白、免疫共軛物等。

在本發明一尤佳的實施態樣中，該蛋白質係至少一選自以下群組之抗體或其片段或衍生物：

- 融合瘤衍生之抗體；
- 嵌合抗體；
- 人源化抗體；及/或
- 人類抗體。

在本發明另一較佳實施態樣中，該抗體或其片段或衍生物為一抗 TNFα 之抗體。

一抗 TNFα 之抗體的實例係由本申請案所附之序列表而定義。其中，SEQ ID No 1 定義了 IgG 重鏈的編碼核酸序列；SEQ ID No 2 定義了 IgG 輕鏈的編碼核酸序列；以及 SEQ ID Nos 3 及 4 分別定義了重鏈及輕鏈的胺基酸序列。

SEQ ID Nos 5、7、及 9 定義該輕鏈（即，LC CDR 3、LC CDR 2、LC CDR 1）之互補決定區域（CDR）的胺基酸序列。SEQ ID Nos 6、8、及 10 定義該重鏈（即，HC CDR 3、HC CDR 2、及 HC CDR 1）之互補決定區域的胺基酸序列。

應注意 SEQ ID Nos 1 及 2 或其部分可以下列方式進行相等替換：

- 編碼相同蛋白質的核酸序列，或由 SEQ ID Nos 1 及 2 所編碼、具有在基因密碼之簡併性（degeneracy）下可承受之核苷酸取代的蛋白質鏈；
- 編碼該蛋白質之碎片、變異體、同源體、或衍生物的序列，或由 SEQ ID Nos 1 及 2 所編碼之蛋白質鏈。

- 對於一給定的表現宿主（expression host）之編碼最佳化的核酸序列；及/或
- 與 SEQ ID No 1 或 2 具有至少 70%、較佳為 95%之序列一致性的核酸分子。

應注意 SEQ ID Nos 3 至 10 或其部分可以下列方式進行相等替換：帶有一或多個保留性胺基酸取代（即，一或多個不影響顯著蛋白質特性（如目標結合親合性、致免疫性、ADCC 反應、血清半衰期、及溶解度等）的取代）的胺基酸序列。

其他較佳的抗體為辨識任一蛋白質或蛋白質之組合（包含但不限於任何上述的蛋白質及/或以下抗原）的抗體：CD2；CD3；CD4；CD8；CD11a；CD14；CD18；CD20；CD22；CD23；CD25；CD33；CD40；CD44；CD52；CD80（B7.1）；CD86（B7.2）；CD147；IL-la；IL-1；IL-2；IL-3；IL-7；IL-4；IL-5；IL-8；IL-10；IL-2 受體；IL-4 受體；IL-6 受體；IL-13 受體；IL-18 受體次單元；PDGF-ß；前述之類似物；PLGF；VEGF；TGF；TGF-ß2；TGF-p1；EGF 受體；PLGF 受體；VEGF 受體；肝細胞生長因子；護骨素配體；γ 干擾素；B 淋巴細胞刺激因子；C5 補體；IgE；腫瘤抗原 CA125；腫瘤抗原 MUC1；PEM 抗原；ErbB2/HER-2；在病患的血清中濃度上升的腫瘤相關抗原決定基；表現於乳房、結腸、鱗狀細胞、前列腺、胰臟、肺臟、及/或腎臟癌細胞、及/或黑色素瘤、神經膠質瘤、神經母細胞瘤細胞的癌症相關抗原決定基或蛋白質；腫瘤壞死核心；整合蛋白 α4β7；整合蛋白 VLA-4；B2 整合蛋白；TRAIL 受體 1、2、3、及 4；RANK；RANK 配體；TNF-α；黏附分子 VAP-1；

上皮細胞黏附分子（EpCAM）；細胞間黏附分子-3（ICAM-3）；白細胞整合蛋白黏著素；血小板醣蛋白 gp IIb/IIIa；心臟肌凝蛋白重鏈；副甲狀腺荷爾蒙；MHC I；癌胚胎抗原（CEA）；α-胎蛋白（AFP）；腫瘤壞死因子（TNF）；Fc-γ-1 受體；HLA-DR 10β；HLA-DR 抗原；L-選擇素；及 IFN-γ。

該抗體尤佳為 IgG。

或者，該生物醫藥藥物為一抗體模擬物（antibody mimetic），即，一非以免疫球蛋白為基質的目標結合蛋白質分子。許多以上所述的技術亦可適用於這些分子。此抗體模擬物例如衍生自錨蛋白重覆蛋白質、C 型凝集素、金黃色葡萄球菌的 A 域蛋白質、運鐵蛋白、脂籠蛋白（Lipocalins）、纖連蛋白（Fibronectins）、Kunitz 域蛋白酶抑制因子、泛蛋白、半胱胺酸結（knots）或折疊（knottins）、及硫氧還蛋白 A 等，且為本技術領域中的專業人士可由個別文獻中所知悉者。

再或者，該生物醫藥藥物為一重組融合蛋白質，包含任何上述蛋白質或實質上相似的蛋白質。例如，包含上述其中一種蛋白質加上一多聚結合域（如一白胺酸鏈區（leucine zipper）、一螺旋狀螺旋（coiled coil）、一抗體的 Fc 部分、或一實質上相似的蛋白質）的重組融合蛋白質可為一由本發明配方包含的生物醫藥藥物。此重組融合蛋白質具體包含至少一部份 TNFR 或 RANK 係融合至一抗體的 Fc 部分的蛋白質。尤佳地，該重組融合蛋白質係包含一目標結合域及 IgG Fc 域（稱作 cept 分子）

在本發明又一較佳的實施態樣中，該配方更包含至少一選自以

濃度，更佳為≥5毫莫耳濃度且≤150毫莫耳濃度。

在本發明又一較佳的實施態樣中，該配方為一適用於腸胃外投藥的配方，較佳為適用於靜脈、肌肉、及/或皮下投藥。

在本發明又一較佳的實施態樣中，該配方更包含至少一選自以下群組的試劑：

- 表面活性劑；
- 等滲透試劑；及/或
- 金屬離子螯合劑。

該表面活性劑增加組分的濕潤性以及支持其溶解度。這是特別重要的，因為生物醫藥藥物通常係以高濃度配製（例如，在1至10毫升中>100毫克）。

適宜的表面活性劑為例如卵磷脂及其他非離子表面活性劑，如聚山梨醇酯（『妥文』），或泊洛沙姆（Poloxameres）。較佳的表面活性劑為聚山梨醇酯80（『妥文80』）或泊洛沙姆188。

該等滲透試劑係用以調整根據本發明之配方的滲透壓至生理上可接受的數值，例如調整至血液的容積滲透濃度。

等滲透試劑為一生理上可接受的組分，且並無特定限制。等滲透試劑的典型例子例如為一無機鹽，如氯化鈉、氯化鉀、或氯化鈣等。可單獨使用，或以其混合物之形式使用。

該金屬離子螯合劑係用於重金屬的複合物形成，否則該等重金屬可能會使包含於根據本發明的配方中的生物醫藥藥物失去活性。該金屬離子螯合劑較佳係EDTA及/或EGTA。

本發明的第二方面係提供一種生物醫藥藥物，該藥物係配製成

根據本發明之第一方面的配方中。

在本發明的另一（第三）方面係提供一種初級包裝，如一預充注射器或筆或藥瓶或注射液袋，其包含根據本發明之第一方面的配方及/或根據本發明之第二方面的生物醫藥藥物。

預充注射器或筆可包含呈冷凍乾燥形式（其可接著在投藥之前溶解（例如，溶於注射用水））或含水形式的配方。注射器或筆通常為僅用於單次使用的可拋棄物件，且具有 0.1 至 20 毫升的容量。然而，注射器或筆亦可為多次使用或多劑量的注射器或筆。

藥瓶亦可包含呈冷凍乾燥形式或含水形式的配方，且可作為單一或多次使用裝置。作為多次使用裝置，該藥瓶可具有較大的容量。

注射液袋通常包含呈含水形式的配方，且具有 20 至 5000 毫升的容量。

本發明的又一（第四）方面係分別根據本發明之第一、第二、及第三方面之該醫藥配方、及/或該生物醫藥藥物、及/或該初級包裝用於治療選自以下群組之病理症狀之至少一者的用途：

- 自體免疫疾病；
- 感染疾病；
- 腫瘤及/或惡性疾病（癌症）；及/或
- 神經系統的疾病。

適宜的自體免疫疾病為關節炎及風溼性疾病，如乾癬、克隆氏症（morbus crohn）、或風濕性關節炎。適宜的感染疾病為病毒及/或細菌感染。適宜的腫瘤及/或惡性疾病為肉瘤、惡性腫瘤、淋巴

瘤及白血病，較佳為肺癌、乳癌、卵巢癌、結腸癌、前列腺癌、及子宮頸癌等。適宜的神經系統的疾病尤指神經退化性疾病，如帕金森氏病疾病、阿茲海默氏疾病、多發性硬化症、亨汀頓氏疾病、或肌萎縮性側索硬化。

圖式及實驗

本發明目的之其餘詳細敘述、特點、特性及優點係揭露於附屬請求項、以及以下所描述之各別圖式及實施例，其以例示性方式顯示本發明的較佳實施態樣。然而，該等圖式不應理解為用以限制本發明之範圍。

在以下所述的實驗中，根據本發明的配方受到適合促使聚集的特定的壓力條件。因此該等實驗係關於證明因根據本發明之配方所造成之有效的避免聚集。

2. 實驗

在詳細描述該等實驗及其結果之前，提到該等實驗係以活性成分為抗-TNF-α之抗體（人源化 IgG，分子量為約 150 千道爾吞）的醫藥配方而進行。由於共享 IgG 概念之抗體的結構相似性，本技術領中的專業人士可理解此處所得的結果可直接轉移至包含鼠類、兔子、嵌合、人源化、及/或以人類 IgG 為基質之抗體的醫藥配方，及/或轉移至直接辨識其他目標的抗體，例如，抗-EGFR、抗-ErbB2、抗-CD 20、抗-VEGF 等（參見以上列示的可能目標）。此外，本技術領域中的專業人士亦可理解此概念亦可轉移至如上定義之抗體模擬物、抗體衍生物、經修飾抗體形式、或重組融合蛋白質。

此外，雖然一些尤佳的緩衝物/安定劑組合係明確地以字面揭露於本說明書，但本技術領域中的專業人士可理解在不同的圖式及表中，可發現相較於個別的控制緩衝物，特定的緩衝物/安定劑組合可有更佳或相等的表現。該等組合（雖然未明確地以字面揭露於本說明書中）因此可視為明白揭露為特定組合，且因此可作為本專利申請案之整體申請或個別分割或連續申請案的後備位置。

3. 材料

為了篩選配方，一具有抗-TNF-α 活性之單株抗體係用作一例示性抗體。該抗體係表現於一衍生自 SSF3 細胞株（CHO 衍生物）的殖株，且經由蛋白質 A 親合性層析、陽離子交換層析（CEX）、及陰離子交換層析（AEX）純化步驟純化。於所欲的緩衝物中將該抗體濃縮至約 50 毫克/毫升，並以 1 毫升之等份量（aliquot）儲存於低於-60°C 下。

4. 製備用於篩選研究之配方

在本研究中，測試不同羧酸/鹽及安定劑的組合（分別為表 3a 及 3b）。在一些例子中，使用二種不同的羧酸的混合物或一羧酸與磷酸鈉（NaP）的混合物。

大多數配方係根據本發明，即，關於一包含至少一具有一 2 至 6 個碳原子之主鏈的單或二羧酸或至少一其鹽的組合物。

一些配方包含檸檬酸，因此係代表先前技術。於此，該等配方係作為控制及/或比較。

所有經測試的配方係含有 105 毫莫耳濃度 NaCl、0.1%妥文 80，且係配製為約 pH 5.2。最終配方係由儲備溶液而製備。首先，988

「嚴苛」情況如下：

- 10×FT（於-20°C下冷凍，並於室溫下解凍）
- 於600 RPM、40°C下震盪7天

5.2 混濁度（乳白光）—340奈米之吸光值

清晰度或混濁度（乳白光）測量係基於以下事實：入射光束因光散射而減弱。均勻懸浮顆粒（如不溶性蛋白質聚集及沉澱）的存在造成所有波長之UV吸光值因散射效果而明顯地增加。因此，配方之混濁度係以Tecan Infinite 200盤讀取機，在340奈米（於此蛋白質配方中無已知的內在發色團可吸光）下測定光度吸光值。

在MTP盤震盪30秒後，於280奈米、340奈米、900奈米、及999奈米下測量吸光值。經由乘上因數((A999至A900)/0.147)，使每一孔的吸光值A280及A340進行路徑長度修正（path-length corrected）。此外，蛋白質溶液之吸光值係經由減去安慰劑樣本之個別吸光值而進行背景修正。將經路徑長度修正及背景減去之A280除以抗-TNF-α抗體吸光值因子1.39，從而得到以毫克/毫升表示之蛋白質濃度。以經背景減去之A340及A280之數值間的比率表示混濁度

5.3 動態光散射儀（DLS）

以Malvern APS系統於25°C之溫度下，以一半導體雷射儀（波長830奈米；90°散射角度）進行DLS分析。此方法係基於測量總散射光強度（其係與蛋白質濃度以及散射顆粒的分子尺寸成正比）。散射光強度波動之時間尺度係經由使用Malvern DLS軟體進行自動相關（autocorrelation）而分析。在每一測量之前，溫和地

震盪 MTP 盤以避免不溶性顆粒的沉降。根據盤排程器（plate scheduler），20 微升之樣本係自動轉移至測量吸光座（cell），並在測量之後回到原位。在每一測量中，以 5 秒之間格時間紀錄 13 次散射強度之波動，以測定強度自動相關功能。經由施用多峰分佈模式而得到如平均流體動力蛋白質半徑 Z-平均（奈米）、多分散性指數 PdI、前三個訊號峰的流體動力半徑、及三個訊號峰的強度區域等參數。以單分散尺寸分布描述未聚集的蛋白質。蛋白質聚集造成尺寸分布中的多個多分散訊號峰。聚集程度傳統上係以多分散性指數（PdI）之增加及平均蛋白質半徑（Z-Ave）之增加而評估。

5.4 熱力學穩定性

使用購自 MicroCal, LLC（Northampton，麻薩諸塞州，美國）之 Auto Cap-DSC 熱卡計進行示差掃瞄熱卡計法（DSC）測量。在每一測量中，將 400 微升之樣本（含有蛋白質之配方）及參考樣本（安慰劑配方）轉移至 96 孔微量滴定盤。在 60°C/小時掃描之前與掃描之間以 Auto Cap-DSC 儀器進行 15 分鐘平衡。在掃描之間快速冷卻，以 30°C 至 95°C 掃描樣本。DSC 數據係進行儀器基準線校正以及掃描速率與蛋白質濃度之常規化。多餘的熱容量（Cp）係表示為千卡•絕對溫度$^{-1}$ 莫耳$^{-1}$（kcal•K^{-1}mol^{-1}），其中 1.000 卡=4.184 焦耳。以 Origin 軟體（OriginLab 公司，Northampton，麻薩諸塞州，美國）進行數據轉變及分析。由於單株抗體之不可逆的熱轉移是常見的，因此以第一訊號峰之熔化溫度的移位評估穩定性。

5.5 微流量影像儀

微流量影像儀（MFI）為一影像技術，其係用以偵測及測量溶液中之在肉眼不可見的（subvisible）與可見的粒狀物質。該技術在顆粒流過感應區時擷取懸浮於流體中之顆粒的數位影像，其經由自動分析以提供顆粒參數長寬比及強度的數位檔案。此外，該等結果係描述成顆粒的尺寸及計量。

在使用 MFI 系統之前，以 0.9 毫升樣本緩衝物沖洗 MFI 系統。之後，以 MFI 系統分析 1 毫升樣本溶液。丟棄前端的 0.2 至 0.3 毫升。至少分析 25 個影像以評估顆粒濃度。分析 2000 個顆粒後，停止該測量。以 MFI 應用軟體進行進一步的數據評估。可分析關於樣本之尺寸分布或進行形狀分析，以取得進一步資訊，如長寬比率。

5.6 尺寸篩除層析

使用尺寸篩除層析（SE-HPLC 或 SEC）以分離較低與較高分子質量之蛋白質變異體，以及任何不純物與配方成分。其結果係描述為聚集訊號峰（APs）的總和及分解訊號峰（DPs）的總和。在 SEC 中，經由比較主要訊號峰之層析滯留時間與參考標準品之主要訊號峰的滯留時間而測定測試樣本的一致性。

使用一 Tosoh Bioscience TSK-Gel G3000SWXL 管柱（5 微米，250Å，7.8 毫米內徑 x 300 毫米長度）（Tosoh Bioscience，斯圖加特，德國）及一含有 150 毫莫耳濃度磷酸鉀（pH 6.5）的移動相進行 SEC。流速設定為 0.4 毫升/分鐘，管柱溫度為 30°C。將樣本以移動相稀釋至 0.75 毫克/毫升之濃度；注射體積為 10 微升。

6.確認研究

建立一穩定性研究以確認由上述配方篩選研究所得的結果。如上說明製備抗體，並額外透析至不同緩衝物系統。配製之配方包含 105 毫莫耳濃度 NaCl、0.1%妥文 80、及 66 毫莫耳濃度甘露醇，pH 保持在 5.2。抗體濃度為 50 毫克/毫升。將樣本儲存於不同溫度（5°C、25°C、及 40°C），並藉由尺寸篩除層析（SE-HPLC）分析，以測定純度與聚集程度，以及藉由微流量影像儀（MFI）偵測肉眼不可見的顆粒。同時，藉由 SE-HPLC 尤其可偵測個別抗體之二聚合、三聚合、四聚合、及五聚合聚集（即，分子量最高達 800 千道爾吞之聚集）；微流量影像儀（MFI）係用以偵測尺寸為 5 至 30 微米之肉眼不可見的顆粒，即，較可由 SE-HPLC 所測得者大約 1000 倍的聚集。

7. 結果

為了鑑定配方組合物保護抗-TNF-α 抗體免於聚集的程度係與控制配方的程度相同，在兩輪試驗中篩選各種不同配方（表 3）。在第一輪中，在「溫和」情況（3×FT）下使含有抗-TNF-α 抗體的配方暴露於二種壓力試驗下，並在 400 轉/分鐘、40°C 下震盪 5 天。在第一壓力實驗後，使用 DLS 經由測量尺寸分布，測定每一樣本中之聚集程度。

除了評估聚集保護潛力，測量經篩選之配方對於抗-TNF-α 抗體之熱力學穩定性的影響，以進一步顯示本發明配方對於維持儲存於其中之生物醫藥藥物之結構完整性的合宜性。由 30 至 90°C 掃描 DSC 溫譜圖。經篩選之根據本發明配方中的抗-TNF-α 抗體的熔

化溫度（Tm；第一訊號峰的溫度）為約 70°C 至約 72°C，這相當於控制配方中的個別熔化溫度（Tm=71.46 ± 0.06°C（N=11））。詳細 Tm 數值係顯示於表 5。在表 5 中，僅包含三羧酸烏頭酸或檸檬酸作為羧酸/鹽的配方係作為控制，且係以斜體表示，並以星號（*）標記。

基於 DLS 與 DSC，分別選擇以「溫和」條件篩選以下包含併含及不含安定劑（甘胺酸、甘露醇、山梨醇、蔗糖或海藻糖）之己二酸、己二酸+檸檬酸、己二酸+NaP、蘋果酸、蘋果酸+檸檬酸、酒石酸或酒石酸+檸檬酸的配方所得之數據，以在「嚴苛」情況下進一步評估。

此選擇是基於其 PdI、Z-Ave、及 Tm 相較於控制配方之個別數值的相似性（直接說明其用於人類醫藥用途的合宜性）。樣本在「嚴苛」情況（10 x FT 以及在 600 轉/分鐘、40°C 下震盪 7 天）進一步篩選，以偵測測試配方相較於控制配方之任何較佳的作用。

以 DLS 偵測誘導聚集（表 6、第 1 圖及第 2 圖）。混濁度測試並未顯示任何聚集。驚人地，相較於根據本發明之配方（例如，包含一單或二羧酸），以控制配方配製之抗-TNF-α 抗體的聚集顯著地較明顯（第 1 圖及第 2 圖）。

在 40°C 下以 600 轉/分鐘震盪 7 天後，以 Z-Ave（第 1a 圖）及 PdI（第 1b 圖）評估之聚集顯示所有根據本發明之緩衝物/安定劑組合（例如己二酸+甘露醇）皆證實相較於控制緩衝物（檸檬酸/NaP+甘露醇）之較佳的性能（即較小的 Z-Ave 或 PdI），除了一些包含酒石酸（Z-Ave：酒石酸+甘露醇或山梨醇；酒石酸/檸檬酸+

甘露醇或山梨醇或海藻糖；PdI：酒石酸+甘露醇或山梨醇；酒石酸/檸檬酸+甘露醇或山梨醇）的組合。

注意到所得之由誤差條（error bar）所指出的標準差通常很小，因此顯示在控制（由水平條（horizontal bar）指出之 Z-Ave 數值或 PdI，即，9.58 奈米，或 0.31）與個別緩衝物之間統計上顯著的性能差異。與之相反的，對於含有酒石酸的組合，其性能較控制緩衝物差，觀察到大的標準差，顯示個別的實驗可能受到特定人為因素干擾。

關於冷凍/解凍實驗，結果係顯示於第 2a 圖及第 2b 圖。該等實驗顯示在個別情況下，所有測試配方皆證實相似的作用（由第 2b 圖中之 PdI 實驗之大的誤差條所指出），然而一些主張之配方（例如己二酸+甘露醇、山梨醇或蔗糖）之性能較控制配方明顯優異。

確認研究之結果（其中不同緩衝物係配製於包含甘露醇之溶液（參見上述））係顯示於表 8 及 9、及第 3 圖及第 4 圖。在 5、25、及 40°C（表 7）下之 3 個月穩定性研究後的尺寸篩除層析（SE-HPLC）實驗顯示由於活性化合物（抗-TNF-α 抗體）之聚集及分解，純度下降至約 98%（儲存於 5°C）至 87%（儲存於 40°C）之間。在此實驗中，所有比較的緩衝物間之性能皆相似。參見第 3a 圖之圖形表示。所有測試配方在實驗開始之起始純度為 99.2 至 93%。

然而，聚集訊號峰的總和亦以 SE-HPLC 偵測，其相較於大多數根據本發明主張的緩衝物（例如，1.2%（琥珀酸）或 1.5%（醋酸）），磷酸/檸檬酸鹽緩衝物（控制）顯著較高（儲存於 40°C 為 1.8%）。

參見第 3b 圖之圖形表示。

微流量影像儀（MFI）實驗，其中係在一給定的樣本體積中計量給定尺寸範圍之顆粒，以用以偵測在儲存於 40°C 下 3 個月之後於 5 至 30 微米範圍內之巨聚集（macroaggregations）的形成。顯然在 5 至 10 微米之尺寸範圍中，相較於控制緩衝物（即，檸檬酸+NaP），所有主張之緩衝物之性能較佳。參見第 4a 圖之圖形表示。己二酸+甘露醇及醋酸+甘露醇在該等情況下之性能尤佳。

在> 10 微米之尺寸範圍中，所有緩衝物性能係符合以下方式：顆粒/毫升之數量低於 260，其係約低於歐洲藥典（6.0）所制訂之個別限制的 30 倍，根據歐洲藥典，對於> 10 微米之顆粒，注射液與輸液之微粒污染限制在 7500 顆粒/毫升。參見第 4a 圖之圖形表示。由於所有緩衝物之優良性能，顆粒計量很少，意指在統計上，由於小的顆粒計量，此結果受到較大的相對標準差，顯示平均顆粒計數之明顯差異並不顯著，例如，在控制與己二酸之間。

	酸/鹽	安定劑	融化溫度（°C）
1	控制（磷酸鈉+檸檬酸鹽）	甘露醇	71.45
2	烏頭酸*	甘露醇	70.47
3	烏頭酸*	無	70.04
4	己二酸	甘胺酸	71.03
5	己二酸	甘露醇	70.95
6	己二酸	無	70.8
7	己二酸	山梨醇	71.06
8	己二酸	蔗糖	71.1
9	己二酸	海藻糖	71.02
10	己二酸檸檬酸	甘胺酸	71.21
11	己二酸檸檬酸	甘露醇	70.96
12	己二酸檸	山梨醇	71.12

	酸/鹽	安定劑	融化溫度（°C）
38	麩胺NaP	蔗糖	72.01
39	麩胺NaP	海藻糖	71.9
40	蘋果酸	甘胺酸	71.19
41	蘋果酸	甘露醇	70.79
42	蘋果酸	無	70.99
43	蘋果酸	山梨醇	71.19
44	蘋果酸	蔗糖	71.19
45	蘋果酸	海藻糖	71.31
46	蘋果酸檸檬酸	甘胺酸	71.38
47	蘋果酸檸檬酸	甘露醇	71.28
48	蘋果酸檸檬酸	山梨醇	71.33
49	蘋果酸	蔗糖	71.4

	檸檬酸		
13	己二酸檸檬酸	蔗糖	71.24
14	己二酸檸檬酸	海藻糖	71.23
15	己二酸NaP	甘胺酸	71.47
16	己二酸NaP	甘露醇	71.56
17	己二酸NaP	山梨醇	71.49
18	己二酸NaP	蔗糖	71.58
19	己二酸NaP	海藻糖	71.74
20	抗壞血酸	甘露醇	70.94
21	抗壞血酸	無	70.56
22	檸檬酸*	甘露醇	70.53
23	檸檬酸*	無	70.49
24	麩胺	甘胺酸	71.92
25	麩胺	甘露醇	71.51
26	麩胺	無	70.89
27	麩胺	山梨醇	71.92

	檸檬酸		
50	蘋果酸檸檬酸	海藻糖	71.4
51	蘋果酸NaP	甘胺酸	71.41
52	蘋果酸NaP	甘露醇	71.66
53	蘋果酸NaP	山梨醇	71.8
54	蘋果酸NaP	蔗糖	71.98
55	蘋果酸NaP	海藻糖	71.73
56	NaP	甘露醇	71.28
57	NaP	無	70.89
58	酒石酸	甘胺酸	71.4
59	酒石酸	甘露醇	71.1
60	酒石酸	無	70.94
61	酒石酸	山梨醇	71.46
62	酒石酸	蔗糖	71.29
63	酒石酸	海藻糖	71.28
64	酒石酸	甘胺酸	71.71

					檸檬酸		
28	麩胺	蔗糖	71.82	65	酒石酸 檸檬酸	甘露醇	71.45
29	麩胺	海藻糖	71.91	66	酒石酸 檸檬酸	山梨醇	71.53
30	麩胺 檸檬酸	甘胺酸	71.88	67	酒石酸 檸檬酸	蔗糖	71.74
31	麩胺 檸檬酸	甘露醇	71.86	68	酒石酸 檸檬酸	海藻糖	71.72
32	麩胺 檸檬酸	山梨醇	71.88	69	酒石酸 NaP	甘胺酸	71.6
33	麩胺 檸檬酸	蔗糖	71.9	70	酒石酸 NaP	甘露醇	71.65
34	麩胺 檸檬酸	海藻糖	71.9	71	酒石酸 NaP	山梨醇	71.77
35	麩胺 NaP	甘胺酸	71.82	72	酒石酸 NaP	蔗糖	71.92
36	麩胺 NaP	甘露醇	71.76	73	酒石酸 NaP	海藻糖	71.91
37	麩胺 NaP	山梨醇	71.71				

表 5：以 DSC 測量之酸/鹽組合物及安定劑對融化溫度的影響

		10 x FT				600 轉/分鐘震盪 7 天（40°C）			
		Z-Ave（奈米）		PdI		Z-Ave（奈米）		PdI	
酸/鹽	安定劑	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差	平均	標準差
控制（磷酸鈉+檸檬酸鹽）	甘露醇	**7.26**	0.96	**0.27**	0.04	**9.58**	3.87	**0.31**	0.15
己二酸	甘胺酸	7.13	0.25	0.29	0.02	6.00	0.17	0.18	0.01
己二酸	甘露醇	6.22	0.32	0.17	0.09	5.82	0.12	0.09	0.01
己二酸	無	6.74	0.40	0.31	0.06	5.85	0.17	0.10	0.04
己二酸	山梨醇	6.12	0.09	0.17	0.03	6.09	0.02	0.19	0.02
己二酸	蔗糖	5.98	0.17	0.14	0.03	6.06	0.23	0.16	0.04
己二酸	海藻糖	6.37	0.22	0.23	0.01	7.61	2.33	0.17	0.00
己二酸+檸檬酸	甘胺酸	6.37	0.02	0.27	0.03	6.03	0.01	0.21	0.02
己二酸+檸檬酸	甘露醇	6.14	0.07	0.18	0.02	5.87	0.13	0.09	0.02
己二酸+檸檬酸	無	6.69	0.59	0.30	0.08	5.88	0.09	0.10	0.04
己二酸+檸檬酸	山梨醇	6.35	0.07	0.22	0.02	5.99	0.13	0.15	0.00

己二酸+檸檬酸	蔗糖	6.27	0.08	0.22	0.02	6.23	0.02	0.21	0.01
己二酸+檸檬酸	海藻糖	6.67	0.25	0.26	0.05	6.51	0.06	0.25	0.00
己二酸+NaP	甘胺酸	6.44	0.06	0.30	0.01	5.95	0.11	0.18	0.01
己二酸+NaP	甘露醇	6.63	0.13	0.28	0.03	6.02	0.21	0.11	0.00
己二酸+NaP	無	6.07	0.01	0.21	0.00	6.01	0.48	0.13	0.11
己二酸+NaP	山梨醇	6.74	0.15	0.30	0.04	5.80	0.20	0.08	0.03
己二酸+NaP	蔗糖	7.72	2.26	0.30	0.15	5.85	0.20	0.10	0.04
己二酸+NaP	海藻糖	8.59	2.47	0.30	0.02	5.81	0.04	0.10	0.03
蘋果酸	甘胺酸	6.60	0.07	0.31	0.01	6.05	0.24	0.22	0.01
蘋果酸	甘露醇	6.48	0.21	0.26	0.06	6.16	0.24	0.17	0.06
蘋果酸	無	5.95	0.16	0.18	0.03	5.90	0.19	0.15	0.04
蘋果酸	山梨醇	6.36	0.08	0.25	0.01	6.10	0.33	0.17	0.08
蘋果酸	蔗糖	7.74	1.99	0.29	0.07	6.82	1.21	0.15	0.01
蘋果酸	海藻糖	6.93	0.02	0.32	0.00	6.20	0.19	0.24	0.06
蘋果酸+檸檬酸	甘胺酸	6.35	0.18	0.25	0.02	5.79	0.08	0.11	0.02

蘋果酸+檸檬酸	甘露醇	6.49	0.28	0.26	0.04	7.68	1.72	0.31	0.12
蘋果酸+檸檬酸	無	6.12	0.38	0.20	0.09	5.75	0.23	0.09	0.06
蘋果酸+檸檬酸	山梨醇	6.19	0.14	0.23	0.05	5.91	0.01	0.11	0.00
蘋果酸+檸檬酸	蔗糖	6.16	0.33	0.19	0.07	5.94	0.01	0.14	0.05
蘋果酸+檸檬酸	海藻糖	6.61	0.25	0.26	0.05	8.14	3.05	0.16	0.00
酒石酸	甘胺酸	6.39	0.46	0.24	0.06	5.95	0.16	0.15	0.04
酒石酸	甘露醇	6.20	0.09	0.20	0.01	24.62	20.25	0.43	0.14
酒石酸	無	6.05	0.18	0.18	0.06	6.27	0.47	0.23	0.03
酒石酸	山梨醇	6.39	0.08	0.24	0.01	32.57	12.48	0.39	0.08
酒石酸	蔗糖	6.29	0.32	0.23	0.05	8.22	2.79	0.20	0.10
酒石酸	海藻糖	6.55	0.25	0.26	0.05	6.57	0.01	0.27	0.01
酒石酸+檸檬酸	甘胺酸	6.32	0.19	0.24	0.03	5.86	0.03	0.11	0.02
酒石酸+檸檬酸	甘露醇	6.36	0.31	0.24	0.06	12.89	0.96	0.45	0.33
酒石酸+檸檬酸	無	6.17	0.07	0.22	0.01	6.71	1.18	0.20	0.04

酒石酸+檸檬酸	山梨醇	6.53	0.18	0.28	0.02	12.41	6.32	0.31	0.08
酒石酸+檸檬酸	蔗糖	6.22	0.16	0.21	0.05	5.98	0.10	0.16	0.01
酒石酸+檸檬酸	海藻糖	6.12	0.13	0.19	0.02	13.61	10.30	0.25	0.01

表 6：以 DLS 測量之在「嚴苛」情況下經剪應力或冷凍/解凍誘導的聚集（PdI-多分散性；Z-Ave-平均半徑；N=2，除了控制配方，其 N=12）

緩衝物	控制（NaP/檸檬酸鹽）	己二酸	酒石酸	麩胺酸	醋酸	琥珀酸

測試參數	SE-HPLC 測定之純度及相關物質–純度–[區域-%]					
溫度	5°C	5°C	5°C	5°C	5°C	5°C
起始	99.3	99.2	99.3	99.3	99.3	99.2
6 周	99.2	99.2	99.2	99.0	99.1	99.0
3 個月	99.2	99.3	99.2	99.3	99.3	99.2
溫度	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C
起始	99.3	99.2	99.3	99.3	99.3	99.2
6 周	97.7	97.7	97.7	97.8	97.8	97.8
3 個月	97.1	97.2	97.1	97.2	97.2	97.1
溫度	40°C	40°C	40°C	40°C	40°C	40°C
起始	99.3	99.2	99.3	99.3	99.3	99.2
3 周	95.9	96.2	95.7	96.0	95.9	95.9
6 周	93.6	94.3	93.5	93.9	93.7	93.8

緩衝物	控制（NaP/檸檬酸鹽）	己二酸	酒石酸	麩胺酸	醋酸	琥珀酸
3個月	89.4	90.5	89.3	90.0	89.9	90.0
測試參數	SE-HPLC測定之純度及相關物質－AP's總和－SEC測定之可溶性聚集－[區域-%]					
溫度	5°C	5°C	5°C	5°C	5°C	5°C
起始	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
6周	0.6	0.6	0.6	0.7	0.5	0.5
3個月	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7
溫度	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C
起始	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
6周	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
3個月	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8
溫度	40°C	40°C	40°C	40°C	40°C	40°C
起始	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
3周	1.0	0.9	0.9	0.9	1.0	0.9
測試參數	SE-HPLC測定之純度及相關物質－純度－[區域-%]					
6周	1.5	1.4	1.5	1.4	1.6	1.5
3個月	1.8	1.6	1.8	1.6	1.5	1.2

表7：穩定性研究，SE-HPLC結果－純度與聚集訊號峰的總和（AP）

控制（NaP/檸檬酸鹽）	己二酸	酒石酸	麩胺酸	醋酸	琥珀酸
流量顯微鏡（微流量影像儀，MFI）測定之肉眼不可見的顆粒–5 至 10 微米–[計數/毫升]					
2296	1874	1483	1507	1520	881
流量顯微鏡（微流量影像儀，MFI）測定之肉眼不可見的顆粒–大於 10 微米–[計數/毫升]					
127	257	86	98	107	139

表 8：穩定性研究，MFI 結果–5 至 10 微米及> 10 微米之顆粒的總量（儲存於 40°C 下 3 個月後的數據）

化合物	[毫克/毫升]
嵌合、人源化或人類 IgG	50.00
NaCl	5.0 至 7.0
甘露醇	10.0 至 14.0
己二酸	1.5 至 4.0
妥文 80	0.5 至 1.5
NaOH（調整 pH）	適量
pH	5.20

化合物	[毫克/毫升]
嵌合、人源化人類 IgG	50.00
NaCl	5.0 至 7.0
甘露醇	10.0 至 14.0
醋酸	0,.5 至 1.5

妥文 80	0.5 至 1.5
NaOH（調整 pH）	適量
pH	5.20

表 9：二個根據本發明之較佳配方的實施例

表 10 顯示含有己二酸或醋酸（醋酸鹽）之尤其較佳配方。將該等配方與包含磷酸鈉+檸檬酸鹽（14.1 毫莫耳濃度磷酸鈉、7.2 毫莫耳濃度檸檬酸鹽、105.5 毫莫耳濃度 NaCl、0.1%妥文 80、及 65.9 毫莫耳濃度甘露醇，參見以上進一步之詳細敘述）之控制緩衝物比較。所有顯示的配方在聚集作用方面皆較控制緩衝物優異。

研究編號	001		007		
	己二酸配方	醋酸配方	己二酸配方	己二酸/檸檬酸鹽配方	醋酸配方
NaCl [毫莫耳濃度]	105	105	105	105	105
甘露醇[毫莫耳濃度]	66	66	66	66	66
己二酸[毫莫耳濃度]	23	-	23	23	<0.2
醋酸[毫莫耳濃度]	-	20	-	-	20
妥文 80 [毫莫耳濃度]	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
檸檬酸[毫莫耳濃度]	1.4	2.4	-	1.4	2.4
磷酸鹽[毫莫耳	2.8	2.8	-	-	-

濃度]					

表 10：包含己二酸或醋酸鹽之較佳配方。

【圖式簡單說明】

第 1 圖：以動態光散射儀（DLS）測量在「嚴苛」情況下由剪應力引發的聚集，並表現為平均蛋白質半徑（Z-Ave；第 1a 圖）及多分散係數（PdI；第 1b 圖）。包含檸檬酸及 NaP 之控制配方的個別平均數值係以水平線表示。聚集程度與 PdI 及平均蛋白質半徑（Z-Ave）之增加直接成正比，這意指具有 Z-Ave 及/或低於該水平線之 PdI 的組合物相較於控制配方展現增進的（即，減少的）聚集作用。第 1 圖之圖式中的數據係顯示於表 6。

第 2 圖：以 DLS 測量在「嚴苛」情況下由冷凍-解凍（FT）引發之聚集，並表示為 Z-Ave（第 2a 圖）及 PdI（第 2b 圖）。控制配方之個別平均數值係以水平線表示。聚集程度與 PdI 及平均蛋白質半徑（Z-Ave）之增加直接成正比，這意指具有 Z-Ave 及/或低於該水平線之 PdI 的組合物相較於控制配方展現增進的（即，減少的）聚集作用。第 2 圖之圖式中的數據係顯示於表 6。

第 3 圖：在具有不同緩衝物之含有 105 毫莫耳濃度 NaCl、0.1% 妥文 80、及 66 毫莫耳濃度甘露醇之配方（pH 保持在 5.2）中進行穩定性研究。抗體濃度為 50 毫克/毫升。該等樣本係儲存於不同溫度（5°C、25°C、及 40°C），並藉由尺寸篩除層析分析，以測定純度（第 3a 圖）及聚集程度（AP=聚集訊號峰，第 3b 圖）。第 3 圖之圖式中的數據係顯示於表 7。

第 4 圖：以與第 3 圖所描繪者相同的條件，基於微流量影像儀

（MFI）進行進一步穩定性研究，以偵側肉眼不可見之顆粒。以不同顆粒尺寸（5-10 微米（第 4a 圖）相對於> 10 微米（第 4b 圖））顯示四個不同的試驗。第 4 圖之圖式中的數據係顯示於表 8。

【主要元件符號說明】

（無）。

公告本

序列表

<110> Hexal AG

<120> 包含生物醫藥藥物之醫藥配方

<130> LD40322

<160> 10

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1413
<212> DNA
<213> 人造序列
<220>
<223> 抗TNFα IgG 重鏈CDR 3編碼序列

<400> 1
atggcctggg tctggaccct gcctttcctg atggccgctg cccagtccgt gcaggccgag 60

gtgcagctgg tcgagtctgg cggcggactg gtgcagcctg gccggtccct gcggctgtcc 120

tgcgccgcct ccggcttcac cttcgacgac tacgccatgc actgggtccg ccaggccccc 180

ggcaaaggcc tcgagtgggt gtccgccatc acctggaact ccggccacat cgactacgcc 240

gactccgtgg agggccggtt caccatctcc cgggacaacg ccaagaactc cctgtacctg 300

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgcgccaa ggtgtcctac 360

ctgtccaccg cctcctccct ggactactgg ggccagggca ccctggtcac cgtgtcctcc 420

gcctccacca agggcccctc cgtgttccct ctggcccctt cctccaagtc cacctccggc 480

ggcaccgccg ctctgggctg cctggtcaag gactacttcc ctgagcctgt gacagtgtcc 540

tggaactctg gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc 600

ggcctgtact ccctgtcctc cgtcgtcaca gtgccttcct ccagcctggg cacccagacc 660

tacatctgca acgtgaacca caagccttcc aacaccaagg tggacaagaa ggtggagcct 720

aagtcctgcg acaagaccca cacctgccct ccctgccctg cccctgagct gctgggcgga 780

ccttccgtgt tcctgttccc tcctaagcct aaggacaccc tgatgatctc ccggacccct 840

gaggtcacct gcgtggtggt ggacgtgtcc cacgaggatc ctgaggtcaa gttcaattgg 900

tacgtggacg gcgtggaggt gcacaacgct aagaccaagc ctcgggaaga gcagtacaac 960

tccacctacc gggtggtgtc cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacggcaaa 1020

gaatacaagt gcaaggtctc caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaggccaagg gccagcctcg cgagcctcag gtgtacaccc tgcctccctc ccgggacgag 1140

ctgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctggtcaagg gcttctaccc ttccgatatc 1200

gccgtggagt gggagtccaa cggccagcct gagaacaact acaagaccac ccctcctgtg 1260

ctggactccg acggctcctt cttcctgtac tccaagctga ccgtggacaa gtcccggtgg 1320

cagcagggca acgtgttctc ctgctccgtg atgcacgagg ccctgcacaa ccactacacc 1380

cagaagtccc tgtccctgag ccctggcaag tga 1413

<210> 2
<211> 705
<212> DNA
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 輕鏈CDR 3編碼序列

<400> 2
atgtccgtgc tgacccaggt gctggccctg ctgctgctgt ggctgaccgg caccagatgc 60

gacatccaga tgacccagtc ccccteetcc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 120

atcacctgcc gggcctccca gggcatccgg aactacctgg cctggtatca gcagaagcct 180

ggcaaggccc ctaagctgct gatctacgcc gcctccaccc tgcagtccgg cgtgccttcc 240

cggttctccg gctccggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatctcctc cctgcagcct 300

gaggacgtgg ccacctacta ctgccagcgg tacaacagag ccccttacac cttcggccag 360

ggcaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gccgctcctt ccgtgttcat cttccctccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc agcgtcgtct gcctgctgaa caacttctac 480

cctcgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caactcccag 540

gaatccgtca ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtccag caccctgacc 600

ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtcac ccaccagggc 660

ctgtcctccc ccgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gctga 705

<210> 3
<211> 470
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 重鏈胺基酸序列

<400> 3

Met Ala Trp Val Trp Thr Leu Pro Phe Leu Met Ala Ala Ala Gln Ser
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
245 250 255

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

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

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
290 295 300

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
305 310 315 320

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

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
340 345 350

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

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

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

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

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

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

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

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

465 470

<210> 4
<211> 234
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 輕鏈胺基酸序列

<400> 4

Met Ser Val Leu Thr Gln Val Leu Ala Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15

Gly Thr Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 5
<211> 9
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 輕鏈CDR 3胺基酸序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Xaa 可爲任何自然發生之胺基酸

<400> 5

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Xaa
1 5

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 重鏈CDR 3胺基酸序列

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa 可爲任何自然發生之胺基酸

<400> 6

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Xaa
1 5 10

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα 輕鏈CDR 2胺基酸序列

<400> 7

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 8
<211> 17
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 重鏈CDR 2胺基酸序列

<400> 8

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 輕鏈CDR 1胺基酸序列

<400> 9

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 10
<211> 5
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 抗TNFα IgG 重鏈CDR 1胺基酸序列

<400> 10

Asp Tyr Ala Met His
1 5

I530295

公告本

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：100149158

※ 申請日：100 年 12 月 28 日　　※IPC 分類：A61K47/12 (2006.01)
A61K47/26 (2006.01)
A61K39/395 (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)
A61P37/02 (2006.01)

一、發明名稱：（中文/英文）

包含生物醫藥藥物之醫藥配方 /

PHARMACEUTICAL FORMULATION COMPRISING A BIOPHARMACEUTICAL DRUG

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種醫藥配方，包含一生物醫藥藥物，該組合物更包含至少一具有一 2 至 6 個碳原子之主鏈的單或二羧酸或至少一其鹽（第 4a 圖）。

三、英文發明摘要：

The present invention is related to a pharmaceutical formulation comprising a biopharmaceutical drug, said composition further comprising at least one mono- or dicarboxylic acid with a backbone of 2 - 6 C-Atoms, or at least one salt thereof (Fig. 4a).

四、指定代表圖：

（一）本案指定代表圖為：第（4a）圖。

（二）本代表圖之元件符號簡單說明：

（無）。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

（無）。

公告本

七、 申請專利範圍

1. 一種醫藥配方，包含至少一選自以下群組之抗體或其片段或衍生物：融合瘤衍生之抗體、嵌合抗體、人源化抗體、及/或人類抗體，該配方更包含己二酸或己二酸鹽。

2. 如請求項 1 之配方，其中該配方更包含至少一選自以下群組之安定劑：胺基酸、糖聚醇、雙醣、及/或多醣。

3. 如請求項 2 之配方，其中該雙醣係一選自由蔗糖及/或海藻糖所組成群組之試劑。

4. 如請求項 2 之配方，其中該糖聚醇係一選自由甘露醇及/或山梨醇所組成群組之試劑。

5. 如請求項 1 或 2 之配方，其中該配方係使該抗體或其片段或衍生物於一含水溶液中之聚集減少。

6. 如請求項 1 或 2 之配方，其中該體或其片段或衍生物係一單株抗體或其片段或衍生物。

7. 如請求項 6 之配方，其中該抗體或其片段或衍生物係一抗 TNFα 之抗體。

8. 如請求項 6 之配方，其中該抗體係 IgG。

9. 一種預充注射器或筆或藥瓶或注射液袋，該預充注射器或筆或藥瓶或注射液袋係包含如請求項 1 至 8 中任一項之配方。

10. 一種用於治療一病理症狀之如請求項 1 至 8 中任一項之醫藥配方、及/或如請求項 9 之初級包裝，該病理病症係選自以下所組成群組之至少一者：

自體免疫疾病；

感染疾病；

腫瘤及/或惡性疾病（癌症）；及/或

神經系統的疾病。