

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

國 (地區) 申請專利，申請日期： 案號： ， 有 無主張優先權
 歐洲 1996 年 11 月 19 日 96 118 489.2 無主張優先權

有關微生物已寄存於： ，寄存日期： ，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

本發明有關一種單株抗體或多株抗體之冷凍乾燥藥學製劑，其含有糖或胺基糖、胺基酸及界面活性劑以充作安定劑。本發明另外有關一種製造該安定之冷凍乾燥物之方法及糖或胺基糖、胺基酸及界面活性劑於含有抗生素之治療或診斷藥劑中充作安定劑之用途。

免疫球蛋白，尤其是用於治療及診斷之單株及多株抗體之製造近來愈趨重要。

抗體充作藥劑之用途係長久來已知者，包括數種應用。因此抗體已成功地用於例如預防破傷風、對抗致病性微生物、或中和其毒素，亦用於蛇毒中毒。

若疾病機構中所涉及之病原已被確認，例如數種感染及用於抗體治療之某些腫瘤指標，則治療中可利用抗體之特異性。

臨床及臨床前研究中，抗體目前用以降低膽固醇濃度、影響血管收縮素／腎造素系統及用於自體免疫性疾病，諸如例如狼瘡、自體免疫性腦膜炎、多發性硬化、多關節炎及自體免疫性重症肌無力。

其他主要治療重點係為當其用於毛地黃素或強心毛地黃毒甘及烏本甘中毒中時，可藉諸如例如抗毛地黃抗體之 F a b 碎片而用於解毒。而且抗體於診斷範圍內用以確認、純化及決定蛋白質含量。

於 70 年代及 80 年代之後半世紀中，基因工程以細胞培養製造單株抗體之革命使抗體之製備向前邁進了一大步。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(2)

爲了符合各式各樣之應用，需使單株抗體及多株抗體之藥學製劑具有儲存安定性。有數份有關特定抗體之液體調配物或冷凍乾燥物之刊物。

例如液抗體之體調配物係描述於

E P 2 8 0 3 5 8 , E P 1 7 0 9 8 3 ,
W O 8 9 / 1 1 2 9 8 , E P 3 5 2 5 0 0 及
J 6 3 0 8 8 1 9 7 .

根據 E P 2 8 0 3 5 8 , 將葡聚糖添加於抗體溶液中使其對某些激素具安定性，如此可得到超過九個月之安定性。根據 E P 1 7 0 9 8 3 , 添加經水解之卵清蛋白，以使加熱中之熱變性單株抗體安定化，故該抗體於 4 5 °C 儲存 7 日後仍可使用。多元醇（例如甘油、肌醇、聚乙烯醇）或糖類（例如蔗糖及葡萄糖）或甘糖醇（例如山梨糖醇、甘露糖醇）自 J P 6 3 , 0 8 8 , 1 9 7 得知爲液體調配物之其他安定劑。W O 8 9 / 1 1 2 9 8 說明麥芽糖於含有氯化鈉之磷酸鹽緩衝劑中之用途，及一種將單株抗體液體安定化之方法。E P 3 5 2 5 0 0 描述一種用以使單株抗體液體安定化之聚乙二醇 4 0 0 0 及 3 - 丙內酯。

然而，液體調配物通常因儲存安定性而並非最佳溶液，因蛋白質或其凝集物可能析出，使該溶液之蛋白質含量降低且變混濁。

相對於冷凍乾燥調配物，移除水可使降解產物之形成（例如脫胺及水解）及凝集物之形成減至最少。殘留水可

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(3)

產生安定性，尤其是含有糖時（Hsu等人, Dev. Biol. Stand. 1991,74,255-267. 及 Pikal等人, Dev. Biol. Stand. 1991,74,21-27）。

含有特定抗體以充作活性物質之冷凍乾燥調配物亦自文獻得知，但其未告知有關安定性之問題。因此，於W O 9 3 / 0 0 8 0 7 中描述生物物質之安定化，諸如人類蛋白質、生長激素、間白素、干擾素、酵素及單株抗體及多株抗體，其係使用可雙成份系統，由低溫保護劑（例如聚乙二醇）及與蛋白質形成氫鍵之化合物所組成。此等製劑之缺點為添加諸如聚乙二醇之高分子量化合物，若其係生物無法降解，則於體內累積具有潛在毒性之副產物。此外已知聚合物視其分子量而可成為抗原。

在冷凍時極易改變之單株抗體冷凍乾燥物根據J 6 0 1 4 5 8 3 3 藉著添加清蛋白（人類或馬或牛蛋白）而安定化。人類血清蛋白亦描述於E P 3 0 3 0 8 8，與醣類（例如葡萄糖、蔗糖或麥芽糖）結合以使單株抗體安定化，而治療綠膿桿菌感染。

人類血清蛋白（與糖或胺基酸結合）亦為E P 4 1 3 1 8 8 將單株抗體安定化的主成份。於J 0 1 0 7 5 4 3 3 中，人類血清蛋白、甘露糖醇及聚乙二醇之混合物係用以使冷凍乾燥物形式之人類單株抗體安定化。使用諸如例如聚乙二醇之巨分子及諸如人類血清蛋白之保護性蛋白質使冷凍乾燥期間之 γ -球蛋白安定化之其他實例係描述於W O 8 4 / 0 0 8 9 0。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明(4)

Hagiwara 於 W O 9 3 / 0 1 8 3 5 中描述一種藉著於含有氯化鈉及磷酸鹽緩衝劑之溶液中與甘露糖醇及甘胺酸一起冷凍乾燥而使人類單株抗體安定化。可針對冷凍、冷凍乾燥及重組而得到安定製劑。

Draber 等人 (J . Immun . Meyhods, 181 1995,37043) 可於 4 °C 下藉著單添加獨添加海藻糖及與聚乙二醇 8 , 0 0 0 結合而自老鼠製備安定之單株 I g M 抗體調配物。然而, 該抗體僅於 5 0 °C 下安定化 1 4 日。僅使用單醣或雙醣, 諸如例如蔗糖、麥芽糖、乳糖或半乳糖, 無法使此等抗體安定化。

來自老鼠之單株抗體於 W O 9 8 / 1 1 2 9 7 中係使用糖類 - 即麥芽糖 - 及於酸範圍內之緩衝劑 (乙酸緩衝劑) 轉化成安定之冷凍乾燥物。此情況下, 缺點係為限於酸範圍內緩衝。於冷凍乾燥物中充作冷凍保護劑及安定劑之聚合明膠係使用於 W O 9 2 / 1 5 3 3 1 中。該安定化亦可藉著與羧酸 (例如檸檬酸) 或其鹽及一級、二級或三級醇或胺基酸一起於 6 . 8 至 8 . 1 之 P H 範圍內達到安定化。

所有前述公告皆提供醫學上所無法接受之醫學添加劑或輔助物質充作安定劑。而聚合物 (諸如 P E G 或明膠) 及蛋白質 (諸如血清蛋白) 因其來源及物化性質而具有某些危險, 會造成過敏性反應, 甚至造成過敏性休克。人類或動物來源之蛋白質及來自細胞培養之蛋白質皆具有殘留病毒污染之危險。然而, 其他難以分析偵測之類蛋白質污

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(5)

染可因其性質而造成免疫反應。

添加諸如例如聚乙二醇(P E G)或明膠之聚合化合物，若其無法生物降解，則會累積於體內，造成潛在毒性之副作用。聚合物亦視其分子量而具有抗原性質。而且因為聚合物製造中使用催化劑或存有單體及其他聚合物碎片，難以確定聚合物純度。於醫學形式用藥下使用聚合物時，尤其是可經皮下用藥之藥物形式，若有其他安定化形式，則應避免此種方式。

相對地，單獨使用糖類而無其他添加劑時，無法於抗體冷凍乾燥時確保適當之保護效果。

因此本發明之目的係提供一種安定之單株抗體及多株抗體藥學製劑，尤其是對冷凍敏感之抗體者。該製劑應不含任何毒性上不可接受之聚合物或類蛋白質輔助物質，應為生理上可耐受，具有簡單之組成且應可實際用藥，對冷凍及解凍過程及於冷凍乾燥物形式下長期保存及高溫具有安定性。

本發明之目的可藉一種單株抗體及多株抗體之藥學製劑達成，其含有添加劑形式之糖或胺基糖、胺基酸或界面活性劑。此種添加劑組合物意外地可對抗冷凍，使冷凍乾燥物處於低達 -45°C 之溫度下而不損及抗體之安定性。此外本發明含有添加劑組合物之冷凍乾燥物即使於相當高溫下儲存亦可保持長期安定性。尤其是與習用調配物比較時，其以水復原時不形成粒子。

本發明製劑之另一項優點為實質上不含可能造成醫學

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(6)

上之問題之類蛋白質或聚合物輔助物質。因此，含有抗體而 P H 值約 5 至 8，P H 值 6.0 - 7.4 較佳（血液 P H 值 7.2 - 7.4）之液體治療或診斷製劑現在可藉溶解冷凍乾燥物而製備，另一項優點為耐受性高，且實質上可於無痛苦下用藥。最重要的為皮下用藥，因為此種情況較靜脈內用藥容易發展耐受性。

本發明調配物通常可於高達 20 mg / ml，較佳高達 10 mg / ml 之臨床有關之抗體濃度範圍下製造。較佳濃度範圍係高於 0.01 mg / ml，尤其是高於 0.05 及 0.1 mg / ml 之濃度。尤其是使用 0.05 - 10 mg / ml 或 0.1 - 5 mg / ml 之濃度範圍，例如約 5、8 或 10 mg / ml。若為皮下或為靜脈輸液，則所用溶液之輸液體積低於 2 ml，以約 1 ml 較佳。對皮下輸液而言，以少量輸液特佳，因其僅對皮下組織造成輕微之機械性刺激。基本上該溶液亦適用於直接充作輸液溶液之添加劑或充作輸液溶液。若其充作輸液溶液之添加劑，則抗體濃度例如高於 10 mg / ml。此等抗體濃縮溶液隨後添加於習用輸液溶液中，使用藥之輸液溶液中之抗體濃度介於治療相關範圍內。此範圍一般係為 0.001 - 0.5 mg / ml。

用藥之醫學單一形式可為即可使用之輸液溶液或注射溶液或冷凍乾燥物形式。若使用冷凍乾燥物，則單劑容器，例如體積 10 ml 之安瓿，視抗體之個別治療相關劑量而含有 0.1 - 500 mg 之抗體含量，以 10 - 100

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明(7)

m g 為佳。該冷凍乾燥物選擇性地含有其他習用醫學輔助物質。該冷凍乾燥物使用適量之復原溶液溶解，之後直接用為注射溶液或輸液溶液之添加劑。若其用為輸液溶液之添加劑，則冷凍乾燥物通常使用約 10 m l 復原溶液溶解，並添加 250 m l 生理食鹽水 (0.9% NaCl) 中。形成之輸液溶液通常於約 30 分鐘內用藥於患者。

本發明所用之糖可為單醣、雙醣或三醣。葡萄糖、甘露糖、半乳糖、果糖或山梨糖係為單醣，蔗糖、乳糖、麥芽糖及海藻糖係為雙醣，植物蜜糖係為較佳三醣。本發明使用蔗糖、乳糖、麥芽糖、植物蜜糖或海藻糖特佳。亦可使用立體異構雙醣纖維二糖、龍膽二糖或異麥芽糖取代麥芽糖。

彼等單醣通常稱為或用為胺基糖，具有胺基或醯化胺基而非羥基。就此等葡糖胺而言，N-甲基葡糖胺、半乳糖胺、及神經胺酸特別有利於本發明。糖含量或胺基糖含量為例如每單一用藥形式高達 2000 m g，以高達 1000 m g 為佳，尤其是高達 800 或高達 500 m g。糖含量下限考慮例如高於 10、50、或 100 m g。較佳範圍為 200 - 1000 m g，尤其是 400 - 800 m g。每單一用藥形式所用之量意指以冷凍乾燥物形式販售之單一用藥形式。該冷凍乾燥物較佳填入體積 10 m l 之注射瓶中。以 10 m l 復原溶液溶解該冷凍乾燥物後，得到可直接用藥之液體用藥形式。此等注射形式中之糖濃度高達 200 m g / m l，以高達 100 m g /

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(8)

m l 為佳，其係以所用之糖量計。

本發明所用之胺基酸可為鹼性胺基酸，諸如精胺酸、賴胺酸、組織胺酸、鳥胺酸等，其亦可用為胺基酸磷酸鹽較佳。此外亦可使用酸性胺基酸，諸如谷胺酸及天冬胺酸，或天然胺基酸，諸如例如異白胺酸、白胺酸、及丙胺酸或芳族胺基酸，諸如例如苯基丙胺酸、酪胺酸或色胺酸。本發明含水配製劑中胺基酸含量高達 100 mg / m l，以高達 50 mg / m l 或高達 30 mg / m l 為佳。下限可為例如高於 1、5 或 10 mg / m l 之濃度。若對應之用藥形式係以冷凍乾燥物形式販售，則此等冷凍乾燥物以注射形式存在為佳（體積例如 10 m l）。該單一用藥形式含有高達 1000 mg 之胺基酸，以高達 500 mg 或高達 300 mg 為佳。

可考慮之界面活性劑係所有通常用於藥學製劑之界面活性劑，以聚山梨酸酯及聚氧化乙烯-聚氧化丙烯為佳。低量 0.05 至 0.5 mg / m l 之界面活性劑即足以使抗體安定化，以 0.1 mg / m l 較佳。於前述單一用藥形式中，當冷凍乾燥物充填於 10 m l 注射瓶中時，界面活性劑用量為 0.5 - 5 mg。該添加劑所達成之抗體安定化效果主要係針對於所有已知之單株抗體及多株抗體及其 F a b 碎片。抗體之分子量係每個單體單元 50 d D a - 200 d D a，尤其是該分子量約 80 d D a - 150 d D a。特別是針對 B 型肝炎病毒、A I D S 病毒、巨細胞病毒、腦膜腦炎病毒（F S M E）、風疹病毒、麻疹病

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明(9)

毒、狂犬病病毒、綠膿桿菌、水痘一帶疹病毒、破傷風病原或白喉病原之抗體，可根據本發明而安定化。抗體濃度以高達 $8 \text{ mg} / \text{ml}$ 為佳。較佳例如 $0.05 - 2 \text{ mg} / \text{ml}$ 。單一用藥形式—例如於 10 ml 注射瓶中之冷凍乾燥物—中抗體用量高達 50 mg ，以高達 20 mg 或 10 mg 為佳。

除前述添加劑糖、胺基酸及界面活性劑外，本發明冷凍乾燥物可含有輔助物質，選自包括酸、鹼、緩衝劑或等張劑，以將 PH 值調整至 5 至 8，以 6.0 至 7.4 為佳。該製劑之緩衝劑容量調整至當使用諸如例如注射用水之標準復原溶液溶解該冷凍乾燥物時，緩衝劑濃度介於 $10 - 20 \text{ mmol} / \text{l}$ 之間，以約 $15 \text{ mmol} / \text{l}$ 為佳。

各種輔助物質或抗體之添加順序與製法有極大關係，而由熟習此技藝者判斷。溶液所需之 PH 值藉著添加諸如例如鹼金屬氫氧化物、鹼土金屬氫氧化物、或氫氧化鉀之鹼而調整。以使用氫氧化鉀為佳。所需之 PH 值主藉著添加鹼溶液而調整。此時通常考慮強鹼與弱酸所形成之鹽，諸如乙酸鈉、檸檬酸鈉、磷酸氫二鈉或二鉀或碳酸鈉。若輔助物質之藥學溶液具有鹼性 PH 值，則可藉酸滴定至達到所需之 PH 範圍而調整。考慮使用生理上可耐受之酸充作酸，諸如例如鹽酸、磷酸、乙酸、檸檬酸或習用具有酸性 PH 值之物質之溶液。此時較佳物質為強酸與弱鹼之鹽，諸如例如磷酸二氫鈉或磷酸二氫鉀。溶液 PH 以磷酸或氫氧化鉀水溶液調整為佳。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(10)

製造可充分耐受之非經腸藥劑形式時，若無法藉抗體及用於安定化之添加劑之滲透性達到等張性，則習慣添加等張性輔助物質。尤其使用非離子性而充分耐受之輔助物質。然而僅少量添加之鹽類，諸如 NaCl ，於最終用藥之注射或輸液溶液中之值特別為 30 mmol/l ，應不超過。

該藥學製劑可另外含有其他輔助物質或添加劑。可添加抗氧劑殼胱甘朮或抗壞血酸或其他類似物質。

製造冷凍乾燥物時，先製造含有抗體之藥學水溶液。以製備含有氯化鈉之經緩衝抗體溶液為佳。該抗體溶液與含有添加劑糖、胺基酸、及界面活性劑之水溶液混合，其間 PH 值使用酸或鹼調至 5 至 8。添加磷酸或磷酸鹽及氯化鈉，以得到先前定義之濃度。隨後藉過濾滅菌，將所製之溶液冷凍乾燥。

本發明亦可藉著冷凍乾燥將得到含有抗體而對冷凍敏感之不安定水溶液轉化成在高溫下亦安定之製劑，而不損及其品質。

本發明冷凍乾燥物之另一項優點是除了避免抗體於冷凍過程中受損外，亦不降低抗體含量，且即使於 50°C 下長時間儲存，仍不形成凝集物或絮凝物。因此抗體含量及純度安定。使用注射用水復原該冷凍乾燥物後，防止粒子形成，故濁度值低。

以下根據應用實例詳細說明本發明。不加輔助物質或僅使用蔗糖或使用甘露糖取代糖成份或僅使用胺基酸成份

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (11)

或僅使用糖或胺基酸成份而不使用界面活性劑之對照例顯示本發明添加劑組合物之選擇係為達到安定調配物所必要。僅使用蔗糖、僅使用胺基酸或僅使用此兩者而無界面活性劑時，產生不安定之調配物。

本發明調配物對冷凍不敏感，故可完全避免被視為毒素之聚合物及蛋白質，諸如聚乙二醇、明膠、血清蛋白。就界面活性劑而言，僅存有極少量之生理上可充分耐受之界面活性劑。

以下應用實例使用之針對於 H B V 之抗體係為自老鼠細胞重組之人類單株抗體 (M A B)。若分子量約 1 4 7 k D a，則係針對於 B 型肝炎病毒之 B 型肝炎表面抗原 (H B s A g)。該單株抗體 H B s A g 之 α 功能部位，其幾乎存於所有已知之病毒變種中。該抗體可用於例如以下醫療用途中：治療先前無令人滿意之治療方法之慢性肝炎；於 H B s A g 陽性肝移植患者體內治療被動免疫預防。於中歐及北歐及 U S A，有高達 2 % 之人口帶有肝炎病毒，南歐高達 3 %，非洲及遠東地區高達 1 0 - 1 5 %。此種慢性感染之結果係肝細胞癌瘤之發展增加 1 0 0 倍，有 4 0 % 病毒帶原者死於此種感染。

實施例 1 顯示針對於 B 型肝炎之單株抗體 (M A B H B V) 之含有磷酸鹽緩衝劑及氯化鈉而 P H = 5、P H = 6.5 及 P H = 8 之水溶液於冷凍及解凍後之性質。顯示冷凍及解凍損害單株抗體。

實施例 2 證明本發明配製劑使用蔗糖或麥芽糖或胺基

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(12)

糖 (N - 甲基糖胺或半乳糖胺) 及精胺酸磷酸鹽及 Tween 20 安定化之可能性，抗體濃度為 2 m g / m l ，即於冷凍乾燥物中有 2 m g 。

實施例 2 a 顯示如同實施例 2 之配製劑，不同處係抗體濃度為 8 m g / m l 。由實施例 2 及 2 a 發現該輔助物質之組合物不僅避免抗體於冷凍期間受損，亦對長期儲存安定性具有正面影響。

實施例 3 證明胺基酸及界面活性劑對本發明配製劑之必要性。單獨使用蔗糖充作組份時，產生不安定之冷凍乾燥物。

實施例 4 描述胺基酸成份之變化。使用精胺酸或鳥胺酸形式之鹼性胺基酸及以中性胺基酸諸如例如賴胺酸或酸性胺基酸諸如天冬胺酸取代該鹼性胺基酸時，產生具有儲存安定性之配製劑。

於實施例 5 中，含有蔗糖、精胺酸及 Tween 20 和磷酸鉀緩衝劑及氯化鈉之調配物之冷凍乾燥物於各種 P H 值下比較 (P H 5 、 P H 6 . 5 及 P H 8) 。所得之數據顯示可於此 P H 範圍內冷凍乾燥而不損及安定性。

若該界面活性劑 Tween 20 被如同實施例 6 之界面活性化合物聚氧化乙烯 - 聚氧化丙烯聚合物 (市售名稱 Pluronic®) 取代時，亦使本發明配製劑產生適當之安定性。

實施例 7 證明含有甘露糖醇取代蔗糖、麥芽糖或胺基糖充作組份之調配物的不安定性 (參照實施例 2) 。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (13)

若調配物中省略糖及界面活性劑，則配製劑變成不安定，如實施例 8 所示。

雖然實施例 9 不含界面活性劑之糖（例如蔗糖）與胺基酸之組合物對參數含量及凝集體仍產生良好結果，但其濁度實質高於含有糖、胺基酸及界面活性劑之調配物。

實施例 10 顯示其他單株抗體亦可使用糖、胺基酸及界面活性劑之組合物安定化。例如抗 L - 選擇素抗體於冷凍乾燥物中 7 m g 濃度下保持安定。使用 1 m l 體積之水溶液開始冷凍乾燥。

測定安定性之評估方法

經冷凍乾燥之配製劑於無光線下儲存於特儲存條件下，隨後進行分析。分析時使用以下試驗方法。

O D 2 8 0：於 2 8 0 n m 下之光學密度。蛋白質含量之光學測定值，U V 吸光值係來自側鏈發色基，諸如色胺酸、酪胺酸及苯基丙胺酸殘基。規格：9 5 - 1 0 5 %。

S E - H P L C：尺寸排斥型高效層析，測定凝集體。規格：最大 2 %。

濁度測定：使冷凍乾燥物復原後，於適當濁度光度計中測定未經稀釋之抗體溶液。規格：最高 6 個濁度單位。

實施例 1：

製備含有酸鹽緩衝劑及氯化鈉之針對 H B V 之 M A B

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明 (14)

之儲存水溶液並檢測。M A B 之濃度約 1 5 m g / m l 。

表 1 a 一方面顯示單株抗體水溶液於不同 P H 值下於 - 2 0 ° C 下冷凍時之變化，蛋白質含量於 4 週後降至 9 2 . 1 及 9 4 . 2 及 9 4 . 0 % 。亦於 2 5 ° C 下儲存以觀察蛋白質含量之降低性。於 4 - 8 ° C 之冷藏器儲存條件下，抗體於 9 個月內保持安定性。

表 1 b - 1 d 顯示於 P H 值 5 、 6 . 5 及 8 下於 - 2 0 ° C 、 4 - 8 ° C 及 2 5 ° C 下製備之單株抗體溶液之安定性數據。亦顯示僅可於 4 - 8 ° C 下儲存。

表 1 a : 活性物質溶液中抗體含量之變化 (1 0 m M 磷酸鉀緩衝劑， 3 0 m M 氯化鈉，注射用水)

		PH5		
時間	-20 °C	4-8 °C	25 °C	
開始		>99		
4 週	92.1	>99	>99	
13 週	78.9	>99	97.2	
6 月	61.2	>99	94.1	
9 月	47.8	>99	88.7	

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(15)

PH6.5			
時間	-20 °C	4-8 °C	25 °C
開始		>99	
4 週	94.2	>99	>99
13 週	81.2	>99	98.1
6 月	69.9	>99	94.4
9 月	55.6	>99	90.2

PH8			
時間	-20 °C	4-8 °C	25 °C
開始		>99	
4 週	94.0	>99	>99
13 週	77.8	>99	96.1
6 月	65.8	>99	91.9
9 月	51.0	>99	84.3

所有數據皆以%表示。藉測定280nm之吸光值而測定蛋白質(OD 280)。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(16)

表 1 B : 抗體之活性物質溶液之凝集體形成及濁度值, P

H = 5

時間	-20 °C 凝集體濁度	4-8 °C 凝集體濁度	25 °C 凝集體濁度
開始	n.d. 1.5	n.d. 1.5	n.d. 1.5
4 週	凝集體絮凝物	n.d. 1.5	0.7% 1.5
13 週	凝集體絮凝物	0.2% 1.8	1.9% 1.8
6 月	凝集體絮凝物	0.3% 1.9	凝集體 9.9
9 月	凝集體絮凝物	0.6% 2.1	凝集體 10.9

n.d. 未測定

表 1 c) : 抗體之活性物質溶液之凝集體形成及濁度值, P H = 6 . 5

時間	-20 °C 凝集體濁度	4-8 °C 凝集體濁度	25 °C 凝集體濁度
開始	n.d. 1.2	n.d. 1.2	n.d. 1.2
4 週	凝集體絮凝物	n.d. 1.3	0.5% 1.4
13 週	凝集體絮凝物	0.2% 1.4	1.8% 1.7
6 月	凝集體絮凝物	0.3% 1.9	4.9% 絮凝物
9 月	凝集體絮凝物	0.6% 2.1	9.3% 絮凝物

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(17)

表 1 d) : 抗體之活性物質溶液之凝集體形成及濁度值, P H = 8

時間	-20 °C 凝集體濁度	4-8 °C 凝集體濁度	25 °C 凝集體濁度
開始	n.d. 1.5	n.d. 1.4	n.d. 1.4
4 週	2.0% 絮凝物	0.3% 1.5	0.5% 1.7
13 週	2.8% 絮凝物	0.5% 1.8	1.95% 2.1
6 月	3.7% 絮凝物	0.6% 1.9	3.0% 絮凝物
9 月	5.4% 絮凝物	0.8% 2.1	4.3% 絮凝物

凝集體使用以 % 表示, 濁度使用濁度光度計以濁度單元 (濁度) 表示。

實施例 2 :

實施例 1 針對於於 H B V 之單株抗體之溶液添加於下列糖或胺基糖之水溶液中: 蔗糖 (調配物 1), 麥芽糖 (調配物 2) 及 N - 甲基糖胺 (調配物 3), 含有精胺酸磷酸鹽緩衝劑及 Tween 以充作界面活性劑。調配物列於實施例 2 a 中。M A B 之最終濃度係為 2 m g / m l 。

使用磷酸將 p H 值調至 6 . 5 後, 溶液藉過濾 (0 . 2 2 微米膜濾器) 滅菌並填入經滅菌且去熱原之玻璃 (水解類 I) 注射瓶 (充填體積 1 m l) 中並冷凍乾燥。冷凍乾燥後, 注射瓶中充入氮氣, 於冷凍乾燥槽中自動加塞密封並加上外套。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(18)

裝有外套之注射瓶儲存於各種溫度下之無光處歷經 4 至 13 週。之後使用前述檢測方法測定冷凍乾燥物之安定性。

表 2 a : 於 25 °C 下儲存

	儲存 4 週, 於 25 °C			儲存 13 週, 於 25 °C		
	I	II	III	I	II	III
調配物 1 蔗糖	100	n.d.	1.7	100	n.d.	1.6
調配物 2 甘露糖	100	n.d.	1.6	100	n.d.	1.8
調配物 3 N-甲基穀 胺酸	100	n.d.	1.8	100	n.d.	1.5

表 2 b : 於 50 °C 下儲存

	儲存 4 週, 於 25 °C			儲存 13 週, 於 25 °C		
	I	II	III	I	II	III
調配物 1 蔗糖	>99	n.d.	2.0	>99	n.d.	2.0
調配物 2 甘露糖	>99	n.d.	1.9	>99	n.d.	2.1
調配物 3 N-甲基穀 胺酸	>99	n.d.	1.7	>99	n.d.	2.0

說明：

I 蛋白質含量以 OD 280 之%表示

II 凝集物以 SE-HPLC 之%表示

III 復原溶液之濁度以濁度單元表示(無因次數目)

n.d 無法測定(所有其他表格皆同)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(19)

實施例 2 a

於實施例 2 a 中，使用 8 mg / ml 抗體製備實施例 2 之調配物 1 (= 調配物 1 a)。證明高達 8 mg / ml 之較高濃度抗體於此調配物中適當地安定化。

調配物 1 及 1 a 之組成：

	調配物 1	調配物 2
MAB HBV	2.0mg	8.0mg
磷酸鉀緩衝劑	15Mm	15mM
氯化鈉	30mM	30mM
蔗糖	68.0mg	58.0mg
精胺酸	10.0mg	10.0mg
磷酸	調至 PH6.5	調至 PH6.5
Tween 20	0.1mg	0.1mg
注射用水	調至 1.0ml	調至 1.0ml

表 3 a : 調配物 1 及調配物 1 a 於 25 °C 之安定性數據

	於 25 °C 下儲存 4 週			於 25 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	週 I	II	III
調配物 1:2mg/1ml	100	n.d.	1.7	100	n.d.	1.6
調配物 1a:8mg/1ml	>99	n.d.	4.8	>99	n.d.	4.7

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(20)

表 3 b : 調配物 1 及調配物 1 a 於 5 0 °C 之安定性數據

	於 25 °C 下儲存 4 週			於 25 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	週 I	II	III
調配物 1:2mg/1ml	>99	n.d.	2.0	>99	n.d.	2.0
調配物 1a:8mg/1ml	>99	n.d.	4.7	>99	n.d.	5.5

I 蛋白質含量以 OD 280 之%表示

II 凝集物以 SE-HPLC 之%表示

III 復原溶液之濁度以濁度單元表示(無因次數目)

實施例 3

調配物 1 及 4 比較，調配物 4 僅含蔗糖組份，而無精胺酸磷酸鹽且不含 Tween 20。調配物 4 不安定。

	調配物 1	調配物 1a
MAB HBV	2.0mg	2.0mg
磷酸鉀緩衝劑	15mM	15mM
氯化鈉	30mM	30mM
蔗糖	68.0mg	68.0mg
精胺酸	10.0mg	--
磷酸或 KOH	調至 Ph6.5	調至 Ph6.5
Tween 20	0.1mg	--
注射用水	調至 1.0ml	調至 1.0ml

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(21)

表 4 a : 於 25 °C 下儲存

	於 25 °C 下儲存 4 週			於 25 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	週 I	II	III
調配物 1: 蔗糖與精 胺酸, 磷酸及 Tween 20	100	n.d.	1.7	>99	n.d.	1.6
調配物 4: 蔗糖, 無 精胺酸, 磷酸及 Tween 20	98	1.6	6.1	96.0	4.3	9.5

表 4 b : 於 50 °C 下儲存

	於 25 °C 下儲存 4 週			於 25 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	週 I	II	III
調配物 1: 蔗糖與精 胺酸, 磷酸及 Tween 20	100	n.d.	2.0	>99	n.d.	2.0
調配物 4: 蔗糖, 無 精胺酸, 磷酸及 Tween 20	96.0	4.2	8.5	89.8	10.1	10.9

說明 :

I 蛋白質含量以 OD 280 之 % 表示

I I 凝集物以 SE-HPLC 之 % 表示

I I I 復原溶液之濁度以濁度單元表示 (無因次數目)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (22)

實施例 4

調配物之胺基酸成份變化。含有鹼性、酸性及中性胺基酸之調配物安定。

調配物之組成：

MAB HBV	2 . 0 mg
磷酸鹽緩衝劑	15 . mM
氯化鈉	30 mM
蔗糖	35-70 mg
胺基酸	變量
磷酸或 KOH	加至 PH 6 . 5
Tween 20	0 . 1 mg
注射用水	調至 1 . 0 ml

表 5

	胺基酸
調配物 1	精胺酸 (鹼性)
調配物 5	烏胺酸 (鹼性)
調配物 6	白胺酸 (中性)
調配物 7	天冬胺酸 (酸性)

藉磷酸或氫氧化鉀溶液調整 P H 值。

表 6 a - d

調配物 1、5、6、7 於儲存 4 及 13 週後之檢驗結

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(23)

果。

a) 表 6 a, 調配物 1 (精胺酸) :

	儲存周期 4 週		儲存周期 13 週	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	100	>99	100	>99
凝集體 % (SE-HPLC)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
濁度	1.7	2.0	1.6	2.0

b) 表 6 b, 調配物 5 (鳥胺酸) :

	儲存周期 4 週		儲存周期 13 週	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	>99	>98	>98	>98
凝集體 % (SE-HPLC)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
濁度	1.9	1.9	2.0	2.1

c) 表 6 c, 調配物 6 (白胺酸) :

	儲存周期 4 週		儲存周期 13 週	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	>98	>98	>98	>98
凝集體 % (SE-HPLC)	n.d.	n.d.	0.1.	0.1.
濁度	2.2	2.4	2.8	2.7

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(24)

d) 表 6 d, 調配物 7 (天冬胺酸) :

	儲存周期 4 週		儲存周期 13 週	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	>98	>98	>98	>98
凝集體 % (SE-HPLC)	n.d.	n.d.	0.1.	0.1.
濁度	2.7	2.7	3.4	4.0

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

實施例 5

實施例 5 含有不同 P H 值之調配物，如實施例 2 所述一般地製備冷凍乾燥物，輔助物質及產物溶液之 P H 及產物溶液者係於冷凍乾燥之前以 8 5 % 磷酸調整。

調配物：

MAB HBV	2 . 0 mg
磷酸鉀緩衝劑	15 mM
氯化鈉	30 mM
蔗糖	68mg
精胺酸	10 mg
磷酸	加至 PH 5;6 . 5;8
Tween 20	0 . 1 mg
注射用水	調至 1 . 0 ml

該冷凍乾燥物係使用表 7 所列之值製備。

五、發明說明(25)

於注射瓶上加上外套後，無不照光下儲存於特定溫度條件下。儲存4週及13週後，分析該試樣（蛋白質含量%：OD 280、凝集體%：SE-HPLC、濁度）。該調配物於所有PH值下皆安定。

表 7：

	p H
調配物 8	5
調配物 9(同 1)	6.5
調配物 10	8

表 8 a：儲存於 25 °C

	於 25 °C 下儲存 4 週			於 25 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	I	II	III
調配物 8	100	n.d.	1.9	>99	n.d.	2.3
調配物 9(=1)	100	n.d.	1.7	100	n.d.	1.6
調配物 10	>99	n.d.	2.3	>99	n.d.	2.6

表 8 b：儲存於 50 °C

	於 50 °C 下儲存 4 週			於 50 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	I	II	III
調配物 8	>99	n.d.	2.2	>99	n.d.	2.3
調配物 9(=1)	>99	n.d.	2.0	>99	n.d.	2.0
調配物 10	>99	n.d.	2.5	>98	n.d.	2.6

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (26)

- I 蛋白質含量以 OD 280 之 % 表示
 I I 凝集物以 SE-HPLC 之 % 表示
 I I I 復原溶液之濁度以濁度單元表示 (無因次數目)

實施例 6

如下文所述般地製備以下調配物，其含有界面活性劑 Pluronic F 68 而非 Tween 20。

儲存及安定性檢驗如其他實施例。

調配物 1 1 :

MAB HBV	2 . 0 mg
磷酸鉀緩衝劑	15 mM
氯化鈉	30 mM
蔗糖	48 . 0 mg
精胺酸	10 . 0 mg
磷酸	加至 PH 6 . 5
Pluronic F 68	0 . 1 mg
注射用水	調至 1 . 0 ml

選擇調配物 1 為對照例，因其除以 Tween 取代 Pluronic F 68 之外皆與調配物 1 1 相同。兩調配物皆極安定。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(27)

表 9：含有界面活性劑 Pluronic F 68 及 Tween 20 之調配物之安定性數據

	調配物 11				調配物 1			
	儲存時間		儲存時間		儲存時間		儲存時間	
	4 週	13 週	4 週	13 週	4 週	13 週	4 週	13 週
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	>98	>98	>98	>98	100	>99	100	>99
凝集體 % (SE-HPLC)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
濁度	1.9	1.9	2.5	2.2	1.7	2.0	1.6	2.0

實施例 7：

此實施例所描述之調配物 1 2實質上對應於調配物 1，不同處係使用甘露糖醇取代蔗糖充作組份。發現甘露醇調配物不安定。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(28)

調配物 1 3 :

MAB HBV	2 . 0 mg
磷酸鉀緩衝劑	15 mM
氯化鈉	30 mM
甘露糖醇	25 mg
精胺酸	10 . 0 mg
磷酸	加至 PH 6 . 5
Tween 20	0 . 1 mg
注射用水	調至 1 . 0 ml

表 1 0 : 含有組份甘露糖醇 (調配物 1 2) 及蔗糖 (調配物 1) 之調配物之安定性數據

	調配物 12				調配物 1			
	儲存時間		儲存時間		儲存時間		儲存時間	
	4 週		13 週		4 週		13 週	
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	96.2	91.8	94.0	84.5	100	>99	100	>99
凝集體 % (SE-HPLC)	3.6	8.4	5.8	15.9.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
濁度	3.2	6.9	4.9	13.2	1.7	2.0	1.6	2.0

實施例 8

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(29)

有關糖、胺基酸及界面活性劑之組合物之必要性之其他證據係由含有所有下列成份之調配物 1 與包含抗體、磷酸鉀緩衝劑、氯化鈉及精胺酸鹽酸鹽之調配物 1 3 比較而得到。無糖及界面活性劑時，凝集體之形成增加且濁度值變差。

調配物 1 4 :

MAB HBV	2 . 0 mg
磷酸鉀緩衝劑	15 mM
氯化鈉	30 mM
精胺酸	35 . 0 mg
磷酸	加至 PH 6 . 5
注射用水	調至 1 . 0 ml

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 (30)

表 1 1 : 調配物 1 3 (無蔗糖及 Tween 20 , 僅有精胺酸組份) 及調配物 1 之安定性數據

	調配物 14				調配物 1			
	儲存時間		儲存時間		儲存時間		儲存時間	
	4 週	13 週	4 週	13 週	4 週	13 週	4 週	13 週
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	97.6	94.9	95.8	89.0	100	>99	100	>99
凝集體 % (SE-HPLC)	2.6	4.5	4.0	10.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
濁度	2.9	4.5	3.8	12.3	1.7	2.0	1.6	2.0

實施例 9

雖然不使用界面活性劑 (Tween 20) 而僅使用蔗糖及精胺酸可得到安定之調配物 , 血濁度值較差 (調配物 1 4) 。

調配物 1 4 :

MAB HBV	2 . 0 mg
磷酸鉀緩衝劑	15 mM
氯化鈉	30 mM
蔗糖	68 mg
精胺酸	10 . 0 mg
磷酸	加至 PH 6 . 5

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(31)

注射用水

調至 1.0 ml

表 1 2 : 調配物 1 4 及調配物 1

	調配物 14				調配物 1			
	儲存時間		儲存時間		儲存時間		儲存時間	
	4 週	13 週	4 週	13 週	4 週	13 週	4 週	13 週
	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C	25 °C	50 °C
蛋白質含量 % (OD 280)	>99	>98	>98	>98	100	>99	100	>99
凝集體 % (SE-HPLC)	0.2	0.3	0.5	1.3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
濁度	3.4	4.8	8.8	13.3	1.7	2.0	1.6	2.0

實施例 1 0

下表顯示調配物 1 5 之成份。所用之抗體為抗 L - 選擇素。表 1 3 a 中檢驗安定性之數據顯示所用之調配物可適當地安定化。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明(32)

調配物 1 5 之組成：

	調配物 1
抗-L-選擇素	7.0mg
磷酸鉀緩衝劑	15mM
氯化鈉	30mM
蔗糖	68.0mg
精胺酸	10.0mg
磷酸	調至 pH 6.5
Tween 20	0.1mg
注射用水	調至 0.1mg

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表 1 3 a : 調配物 1 5 於 2 5 °C 下之安定性數據

	於 25 °C 儲存 4 週			於 25 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	I	II	III
調配物 15:7mg/1ml	>99	n.d.	2.5	>99	n.d.	2.9

表 1 3 b : 調配物 1 5 於 5 0 °C 下之安定性數據

	於 50 °C 儲存 4 週			於 50 °C 下儲存 13 週		
	I	II	III	I	II	III
調配物 15:7mg/1ml	99	n.d.	4.1	99	n.d.	5.2

I 蛋白質含量以 OD 280 之%表示

I I 凝集物以 SE-HPLC 之%表示

I I I 復原溶液之濁度以濁度單元表示(無因次數目)

公告本

附件：第 86117416 號專利申請案

中文說明書修正頁 民國 88 年 8 月修正

申請日期	86 年 11 月 19 日
案號	86117416
類別	A61k47/26, 47/42

修正
補充
88年8月25日
A4
C4

520291

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 名稱	中 文	單株抗體或多株抗體之安定的冷凍乾燥藥學製劑
	英 文	Stable lyophilized pharmaceutical preparations of monoclonal or polyclonal antibodies
二、發明 創作人	姓 名	(1) 裘格·柯麥爾 Kallmeyer, Georg (2) 傑哈德·溫特 Winter, Gerhard (3) 克莉思汀·克萊森 Klessen, Christian
	國 籍	(1) 德國 (2) 德國 (3) 德國
	住、居所	(1) 德國曼汗布屈納路七十一號 Buchener Str. 71, D-68259 Mannheim, Germany (2) 德國多森漢姜斯街二十E號 Jahnstr. 20E, D-69221 Dossenheim, Germany (3) 德國勞德瑞肯D六七七四二賀普街二十六號 Hauptstr. 26, D-67742 Lauterecken, Germany
三、申請人	姓 名 (名稱)	(1) 羅氏診斷法有限公司 Roche Diagnostics GmbH
	國 籍	(1) 德國
	住、居所 (事務所)	(1) 德國曼罕市善厚佛街一一六號 Sandhofer StraBe 116, D-68305 Mannheim, Germany
	代 表 人 姓 名	(1) 曼福德·韋伯 Weber, Manfred 麥可·榮格 Jung, Michael

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

修正
本88年8月25日
補充

申請日期	86 年 11 月 19 日
案 號	86117416
類 別	

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 新型名稱	中 文	
	英 文	
二、發明 創作人	姓 名	(4) 漢瑞克·巫格 Woog, Heinrich
	國 籍	(4) 德國 (4) 德國勞登貝克林登街六號 Lindenstr. 6, D-69514 Laudenbach, Germany
三、申請人	住、居所	
	姓 名 (名稱)	
	國 籍	
	住、居所 (事務所)	
	代 表 人 姓 名	

裝

訂

線

四、中文發明摘要 (發明之名稱: 單株抗體或多株抗體之安定的冷凍乾燥藥學製劑)

本發明有關一種單株抗體或多株抗體之冷凍乾燥藥學製劑，其含有糖或胺基糖、胺基酸及界面活性劑以充作安定劑。本發明另外有關一種製造該安定之冷凍乾燥物之方法及糖或胺基糖、胺基酸及界面活性劑於含有抗體之治療或診斷藥劑中充作安定劑之用途。

英文發明摘要 (發明之名稱: Stable lyophilized pharmaceutical preparations of monoclonal or polyclonal antibodies)

The invention concerns lyophilized pharmaceutical preparations of monoclonal or polyclonal antibodies which contain a sugar or an amino sugar, an amino acid and a surfactant as stabilizers. In addition the invention concerns a process for the production of this stable lyophilisate as well as the use of a sugar or amino sugar, an amino acid and a surfactant as stabilizers for therapeutic or diagnostic agents containing antibodies.

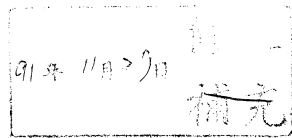
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

六、申請專利範圍



附件 (A):

第 86117416 號專利申請案

中文申請專利範圍修正本

民國 91 年 11 月 27 日修正

1 . 一種單株抗體或多株抗體之安定之冷凍乾燥藥學製劑，其含有以 1 m g 之該單株抗體或多株抗體為基礎計，1 0 - 2 0 0 0 m g 之胺基糖、1 - 1 0 0 0 m g 之胺基酸及 0 . 0 1 - 1 0 m g 之界面活性劑，其中該製劑實質上不含聚乙二醇及 / 或類蛋白質之標準藥學輔助物質。

2 . 如申請專利範圍第 1 項之製劑，其中該胺基糖係為葡糖胺、N - 甲基葡糖胺、半乳糖胺或神經胺酸。

3 . 如申請專利範圍第 1 或 2 項之製劑，其中該胺基酸係為鹼性、酸性或中性胺基酸，適宜地係精胺酸、賴胺酸、組織胺酸、鳥胺酸、異白胺酸、白胺酸、丙胺酸、殼胺酸或天冬胺酸。

4 . 如申請專利範圍第 1 或 2 項之製劑，其中該界面活性劑係為聚山梨酸酯或聚氧化乙烯 - 聚氧化丙烯聚合物。

5 . 如申請專利範圍第 1 或 2 項之製劑，其含有生理上可耐受之輔助物質，其選自包括酸、鹼、緩衝劑及 / 或等張劑。

6 . 一種單株抗體或多株抗體之水溶性藥學製劑，其係令如申請專利範圍第 1 或 2 項之冷凍乾燥物再溶解而製得。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

六、申請專利範圍

7. 如申請專利範圍第6項之水溶性製劑，其中該溶液之pH值為5-8，適宜地係6-7.4。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線