(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115869395 A
(43)申请公布日 2023.03.31

(21)申请号 202111132166.5

(22)申请日 2021.09.26

(71)申请人 泰州迈博太科药业有限公司
地址 225300 江苏省泰州市健康大道803号

(72)发明人 王皓 李继阳 张大鹏 陶静 李晶 张浔敏 郭清城 李伟 龚慧

(51)Int.Cl.
*A61K 39/395*(2006.01)
*A61K 47/26*(2006.01)
*A61K 47/02*(2006.01)
*A61K 47/12*(2006.01)
*A61K 47/59*(2017.01)
*A61P 35/00*(2006.01)
*A61P 35/04*(2006.01)

权利要求书1页 说明书32页

(54)发明名称

一种抗体-缓冲液体系

(57)摘要

本发明提供了一种抗体-缓冲液体系，由抗EGFR抗体和适用于该抗体的缓冲液构成，主要包含醋酸/醋酸钠、海藻糖二水合物、氯化钠、聚山梨酯80等组分。本发明提供的抗体-缓冲液体系，在现有技术的EGFR抗体制剂的基础上进一步优化了配方，增强了制剂中抗体的稳定性，经历冻融、光照、高温、震荡后，聚体形成得到控制，抗体稳定性下降不明显。

CN 115869395 A

1.一种抗体-缓冲液体系,其特征在于,由抗体和以下组分构成,

酸/盐水合物,海藻糖二水合物,聚山梨酯80;

所述抗体-缓冲液体系的pH值为4.7～6.2;

所述抗体是EGFR抗体;

所述酸/盐水合物为醋酸/醋酸钠三水合物或组氨酸/盐酸组氨酸一水合物。

2.如权利要求1所述的抗体-缓冲液体系,其特征在于,

所述抗体的浓度是20g/L。

3.如权利要求1所述的抗体-缓冲液体系,其特征在于,

所述酸/盐水合物为醋酸/醋酸钠三水合物时,其浓度为50mmol/L;

所述抗体-缓冲液体系的pH值为4.7～5.5。

4.如权利要求1所述的抗体-缓冲液体系,其特征在于,

所述酸/盐水合物为组氨酸/盐酸组氨酸一水合物时,其浓度为20mmol/L;

所述抗体-缓冲液体系的pH值为5.8～6.2。

5.如权利要求1所述的抗体-缓冲液体系,其特征在于,

所述海藻糖二水合物的浓度为40g/L～60g/L。

6.如权利要求1所述的抗体-缓冲液体系,其特征在于,

所述聚山梨酯80的浓度为0～1g/L。

7.如权利要求1所述的抗体-缓冲液体系,其特征在于,

所述抗体-缓冲液体系还包含氯化钠,其浓度为0～100mmol/L。

8.如权利要求1所述的抗体-缓冲液体系,其特征在于,由EGFR抗体和以下组分构成:

2.79g/L醋酸,4.5g/L醋酸钠三水合物,60g/L海藻糖二水合物,5.84g/L氯化钠,1.0g/L聚山梨酯80;

所述抗体-缓冲液体系的pH为4.9。

# 一种抗体-缓冲液体系

## 技术领域

[0001] 本发明属于药物制剂领域，具体地说，涉及一种抗体-缓冲液体系。

## 背景技术

[0002] 表皮生长因子受体(EGFR)是一种跨膜受体酪氨酸激酶，在肿瘤进展中有着重要作用。过度的EGFR激活和肿瘤的发生及转移相关。据报道，60％-80％的结肠癌有EGFR的过度表达。另外，EGFR也是预测结直肠癌和乳腺癌的重要标志物。更重要的是EGFR位于癌细胞表面，因此是开发靶向抗体的理想靶点。抗体可以特定地结合到EGFR的胞外区III结构域，不仅阻止了配体的结合，而且阻止了在结构域II上延伸结构域的二聚体化。经FDA批准的靶向EGFR的抗体包括西妥昔单抗和帕妥木单抗。它们被用于在临床上治疗KRAS野生型的进展性结肠癌。

[0003] EGFR在调节肿瘤细胞的生长、修复和生存、新生血管生成、侵袭和转移中具有重要的作用，同时在相当一部分的人类肿瘤中都有表达。在很多恶性肿瘤中，EGFR的表达往与较差的预后和较低的生存率相关。由此可知，如果有药物能阻断EGFR的活性，将会抑制其磷酸化和信号传导，从而起到多重途径的抗肿瘤作用，同时也能增加化疗和放疗的抗肿瘤疗效。在一些研究中，EGFR抑制剂与多种化疗药物和放疗药物联合作用于一些肿瘤细胞株时，表现出累加和协同作用。

[0004] 抗体、与其他蛋白质治疗剂一样都是复杂的分子，并且由于在哺乳动物特别是人类中的治疗有效剂量，通常不得在药物制剂中使用大量的抗体。蛋白质治疗剂的液体制剂应当保留蛋白质治疗剂的完整生物活性并保护蛋白质治疗剂的官能团在生产和贮存期限免于降解，蛋白质的降解途径可以涉及化学不稳定性或物理不稳定性。抗体药物与其他的化学药物相比，其分子量更大，结构更复杂，容易降解、聚合或发生不希望发生的化学修饰等而变得不稳定。为了使抗体分子适合于给药，并且在储存及随后使用过程中能保持稳定性，发挥更好的效果，抗体药物的制剂研究显得尤为重要。虽然现有技术中已经公开了若干EGFR抗体，但追求临床效果更优的新抗体一直是肿瘤免疫领域的热点。不同的EGFR抗体的氨基酸序列组成不同，导致其理化性质和高级构象也存在差异，因此，现有技术已有的剂型组成难以适用于所有的EGFR抗体。为了使得特定序列结构的EGFR抗体能够适于临床应用，有必要针对特定的抗体进行制剂的开发研究。同时，还需要根据特定的EGFR抗体制剂研究其与其他治疗剂组合进行联合用药的技术效果。制剂中药物的含量、药物的物理性质、化学性质等因素都会影响制剂的有效性，需要合适的缓冲体系来确保药物治疗性能的同时，提高高浓度抗体制剂的稳定性。

## 发明内容

[0005] 为了克服现有技术的不足，在制剂中实现特定抗体的稳定性最大化，本发明提供了一种抗体-缓冲液体系，由抗EGFR抗体和酸/盐水合物，海藻糖二水合物，和聚山梨酯80构成；所述抗体-缓冲液体系的pH值为4.7～6.2。其中酸/盐水合物将缓冲液的pH值控制在保

持蛋白质性质稳定的范围内，于本发明的EGFR抗体而言，合适的pH范围为4.7～6.2。海藻糖二水合物为糖类辅料，对抗体的稳定性影响大。近年来，研究人员对海藻糖的研究逐渐增多，由于海藻糖的大规模生产和纯化技术的发展以及海藻糖在热稳定性等方面都优于蔗糖，海藻糖成为各制药企业最常用到的用于稳定蛋白的糖类辅料。聚山梨酯80(PS80)为两亲性非离子表面活性剂，作为抗体的稳定剂而存在于缓冲液中。缓冲液中加入聚山梨酯80或聚山梨酯20，可防止蛋白质在融化过程中变性、聚集、表面吸附和絮凝剂制剂，具有生物相容性高、毒性低、且即使在低浓度下，也能因为其亲水亲脂平衡(HLB)值高和临界胶束浓度(CMC)低，为蛋白质提供足够的稳定性。治疗性蛋白质如抗体，可能会通过其疏水斑块合并形成聚集体。聚山梨酸酯可通过疏水相互作用与蛋白质表面上的疏水补丁相互作用，从而防止蛋白质聚集形成聚体影响抗体性能。

[0006] 在本发明一些实施例中，所述抗体的浓度是20g/L。

[0007] 在本发明一些实施例中，当缓冲液中的酸/盐水合物选择醋酸/醋酸钠三水合物时，醋酸/醋酸钠三水合物的浓度选择50mmol/L；抗体-缓冲液体系的pH值为4.7～5.5。

[0008] 在本发明另一些实施例中，当缓冲液中的酸/盐水合物选择组氨酸/盐酸组氨酸一水合物时，组氨酸/盐酸组氨酸一水合物的浓度选择20mmol/L；抗体-缓冲液体系的pH值为5.8～6.2。

[0009] 在本发明一些实施例中，进一步优化确定了糖类辅料的用量，将海藻糖二水合物的浓度限定在40g/L～60g/L。

[0010] 在本发明一些实施例中，进一步优化确定了表面活化剂的用量，将聚山梨酯80的浓度限定在0～1g/L。

[0011] 在本发明一些实施例中，所述抗体-缓冲液体系还包含氯化钠，其浓度为0～100mmol/L。加入氯化钠的目的是，在高温条件下降低体系中酸性变异体的比例。

[0012] 在本发明一些优选的实施例中，本发明所述抗体-缓冲液体系由EGFR抗体和以下组分构成：2.79g/L醋酸，4.5g/L醋酸钠三水合物，60g/L海藻糖二水合物，5.84g/L氯化钠，1.0g/L聚山梨酯80；所述抗体-缓冲液体系的pH为4.9。

[0013] 本发明的有益效果在于，在现有技术的EGFR抗体制剂的基础上进一步优化了配方，增强了抗体的稳定性，经历冻融、光照、高温、震荡后，聚体形成得到控制，抗体稳定性下降不明显。

## 具体实施方式

[0014] 以下结合具体实施方式进一步阐述本发明的技术方案。

[0015] 本发明实施例的主要试剂和耗材来源如下：

[0016] 醋酸和醋酸钠三水合物购自成都华邑，海藻糖二水合物购自Pfanstiehl.Inc，聚山梨酯80(PS80)购自南京威尔化工，氯化钠购自江苏勤奋药业，组氨酸和盐酸组氨酸一水合物购自上海协和，30～50KD超滤膜包购自Millipore。

[0017] 实施例1

[0018] 1.实验设计

[0019] 抗体的浓度选取20g/L和30g/L。

[0020] 制剂处方的筛选条件如表1和表2所示所示。其中表1的基础缓冲体系为50mmol/L

醋酸/醋酸钠三水合物;表2的基础缓冲体系为20mmol/L组氨酸/盐酸组氨酸一水合物。

[0021] 表1

[0022]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5.0 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 2 | 5.0 | 40 | 0 | 20 | 0 |
| 3 | 5.0 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 4 | 5.5 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 5 | 5.5 | 40 | 0 | 20 | 0 |
| 6 | 5.5 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 7 | 6.0 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 8 | 6.0 | 40 | 0 | 20 | 0 |
| 9 | 6.0 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 10 | 6.5 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 11 | 6.5 | 40 | 0 | 20 | 0 |
| 12 | 6.5 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 13 | 5.0 | 0 | 0 | 30 | 0 |

[0023]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 14 | 5.0 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 15 | 5.0 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 16 | 5.5 | 0 | 0 | 30 | 0 |
| 17 | 5.5 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 18 | 5.5 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 19 | 6.0 | 0 | 0 | 30 | 0 |
| 20 | 6.0 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 21 | 6.0 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 22 | 6.5 | 0 | 0 | 30 | 0 |
| 23 | 6.5 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 24 | 6.5 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 25 | 5.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |
| 26 | 5.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 27 | 5.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 28 | 5.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |
| 29 | 5.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 30 | 5.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 31 | 6.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |
| 32 | 6.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 33 | 6.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 34 | 6.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |
| 35 | 6.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 36 | 6.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 37 | 5.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 38 | 5.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 39 | 5.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |
| 40 | 5.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 41 | 5.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 42 | 5.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |

[0024]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 43 | 6.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 44 | 6.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 45 | 6.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |
| 46 | 6.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 47 | 6.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 48 | 6.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |
| 49 | 5.0 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 50 | 5.0 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 51 | 5.0 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 52 | 5.5 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 53 | 5.5 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 54 | 5.5 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 55 | 6.0 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 56 | 6.0 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 57 | 6.0 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 58 | 6.5 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 59 | 6.5 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 60 | 6.5 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 61 | 5.0 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 62 | 5.0 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |
| 63 | 5.0 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 64 | 5.5 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 65 | 5.5 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |
| 66 | 5.5 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 67 | 6.0 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 68 | 6.0 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |
| 69 | 6.0 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 70 | 6.5 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 71 | 6.5 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |

[0025]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 72 | 6.5 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 73 | 5.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 74 | 5.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 75 | 5.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 76 | 5.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 77 | 5.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 78 | 5.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 79 | 6.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 80 | 6.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 81 | 6.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 82 | 6.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 83 | 6.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 84 | 6.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 85 | 5.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 86 | 5.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 87 | 5.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 88 | 5.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 89 | 5.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 90 | 5.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 91 | 6.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 92 | 6.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 93 | 6.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 94 | 6.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 95 | 6.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 96 | 6.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |

[0026] 表2

[0027]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80（%） |
|---|---|---|---|---|---|
| 97 | 5.0 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 98 | 5.0 | 40 | 0 | 20 | 0 |

[0028]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80 (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 99 | 5.0 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 100 | 5.5 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 101 | 5.5 | 40 | 0 | 20 | 0 |
| 102 | 5.5 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 103 | 6.0 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 104 | 6.0 | 40 | 0 | 20 | 0 |
| 105 | 6.0 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 106 | 6.5 | 0 | 0 | 20 | 0 |
| 107 | 6.5 | 40 | 0 | 20 | 0 |
| 108 | 6.5 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 109 | 5.0 | 0 | 0 | 30 | 0 |
| 110 | 5.0 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 111 | 5.0 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 112 | 5.5 | 0 | 0 | 30 | 0 |
| 113 | 5.5 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 114 | 5.5 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 115 | 6.0 | 0 | 0 | 30 | 0 |
| 116 | 6.0 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 117 | 6.0 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 118 | 6.5 | 0 | 0 | 30 | 0 |
| 119 | 6.5 | 40 | 0 | 30 | 0 |
| 120 | 6.5 | 80 | 0 | 30 | 0 |
| 121 | 5.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |
| 122 | 5.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 123 | 5.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 124 | 5.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |
| 125 | 5.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 126 | 5.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 127 | 6.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |

[0029]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80 (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 128 | 6.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 129 | 6.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 130 | 6.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0 |
| 131 | 6.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0 |
| 132 | 6.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 133 | 5.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 134 | 5.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 135 | 5.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |
| 136 | 5.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 137 | 5.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 138 | 5.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |
| 139 | 6.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 140 | 6.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 141 | 6.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |
| 142 | 6.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0 |
| 143 | 6.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0 |
| 144 | 6.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0 |
| 145 | 5.0 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 146 | 5.0 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 147 | 5.0 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 148 | 5.5 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 149 | 5.5 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 150 | 5.5 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 151 | 6.0 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 152 | 6.0 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 153 | 6.0 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 154 | 6.5 | 0 | 0 | 20 | 0.1 |
| 155 | 6.5 | 40 | 0 | 20 | 0.1 |
| 156 | 6.5 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |

[0030]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80 (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 157 | 5.0 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 158 | 5.0 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |
| 159 | 5.0 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 160 | 5.5 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 161 | 5.5 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |
| 162 | 5.5 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 163 | 6.0 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 164 | 6.0 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |
| 165 | 6.0 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 166 | 6.5 | 0 | 0 | 30 | 0.1 |
| 167 | 6.5 | 40 | 0 | 30 | 0.1 |
| 168 | 6.5 | 80 | 0 | 30 | 0.1 |
| 169 | 5.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 170 | 5.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 171 | 5.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 172 | 5.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 173 | 5.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 174 | 5.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 175 | 6.0 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 176 | 6.0 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 177 | 6.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 178 | 6.5 | 0 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 179 | 6.5 | 40 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 180 | 6.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 181 | 5.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 182 | 5.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 183 | 5.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 184 | 5.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 185 | 5.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |

[0031]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80（%） |
|---|---|---|---|---|---|
| 186 | 5.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 187 | 6.0 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 188 | 6.0 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 189 | 6.0 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 190 | 6.5 | 0 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 191 | 6.5 | 40 | 0.1 | 30 | 0.1 |
| 192 | 6.5 | 80 | 0.1 | 30 | 0.1 |

[0032] 2.样品制备

[0033] 使用50KD超滤膜包将抗体原液分别置换至pH为5.8的50mmol/L醋酸/醋酸钠三水合物缓冲体系，和pH为5.8的20mmol/L组氨酸/盐酸组氨酸一水合物缓冲体系中。之后根据表1和表2向置换后的浓缩原液中分别加入不同浓度的海藻糖二水合物、PS80和氯化钠等母液，以配制成不同的处方。每种处方的样品继续分装至1.5ml离心管中后实施影响因素试验，以确定本发明抗体的最终处方。

[0034] 3.影响因素试验及处方评估

[0035] 对以上192组样品分别实施冻融、高温以及光照的影响因素试验，以考察不同处方样品在不同条件下的稳定性情况。

[0036] 3.1冻融试验

[0037] 3.1.1包装及放置条件

[0038] 包装及放置条件如表3所示。

[0039] 表3

[0040]

| 样品 | 包装 | 影响因素 | 放置条件 |
|---|---|---|---|
| | 1.5ml 离心管 | 冻融 | T5 |

[0041] 3.1.2冻融试验项目

[0042] 冻融试验样品检测项目和条件如表4所示。

[0043] 表4

[0044]

| 项目 | 检测样品 | 冻融0c | 冻融10c |
|---|---|---|---|
| SEC-UPLC | 1-192 | + | + |

[0045] 3.1.3冻融试验结果

[0046] 冻融试验结果如表5所示。

[0047] 表5

[0048]

| | 冻融 0c | | 冻融 10c | | | 冻融 0c | | 冻融 10c | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） |
| 1 | 98.5 | 0.3 | 98.5 | 0.6 | 97 | 97.6 | 1.0 | 97.2 | 1.6 |
| 2 | 98.6 | 0.3 | 98.4 | 0.7 | 98 | 97.1 | 1.7 | 97.8 | 1.6 |
| 3 | 98.4 | 0.3 | 98.3 | 0.7 | 99 | 97.0 | 1.7 | 97.3 | 1.6 |
| 4 | 98.4 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 100 | 97.7 | 1.0 | 98.0 | 1.0 |
| 5 | 98.5 | 0.4 | 98.2 | 1.0 | 101 | 97.7 | 1.0 | 98.1 | 1.2 |
| 6 | 98.4 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 102 | 97.6 | 1.0 | 98.3 | 1.1 |
| 7 | 98.2 | 0.6 | 98.1 | 0.8 | 103 | 98.5 | 0.3 | 99.0 | 0.4 |
| 8 | 98.2 | 0.6 | 98.0 | 0.7 | 104 | 98.5 | 0.3 | 99.0 | 0.4 |
| 9 | 98.2 | 0.6 | 98.1 | 0.8 | 105 | 98.3 | 0.4 | 99.0 | 0.4 |
| 10 | 97.8 | 1.0 | 97.7 | 1.0 | 106 | 97.8 | 0.9 | 97.7 | 1.3 |
| 11 | 97.7 | 1.0 | 97.7 | 0.7 | 107 | 97.6 | 1.1 | 97.9 | 1.4 |
| 12 | 97.8 | 1.0 | 97.6 | 0.7 | 108 | 97.8 | 0.9 | 98.0 | 1.1 |
| 13 | 98.5 | 0.3 | 98.2 | 0.7 | 109 | 97.1 | 1.7 | 97.0 | 2.2 |
| 14 | 98.5 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 110 | 97.0 | 1.7 | 97.7 | 1.7 |
| 15 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.9 | 111 | 97.0 | 1.7 | 97.4 | 2.0 |
| 16 | 98.4 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 112 | 97.7 | 1.1 | 97.8 | 1.4 |
| 17 | 98.4 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 113 | 97.6 | 1.1 | 98.2 | 1.2 |
| 18 | 98.4 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 114 | 97.7 | 1.0 | 98.0 | 1.3 |
| 19 | 98.4 | 0.5 | 98.0 | 0.7 | 115 | 98.4 | 0.4 | 98.8 | 0.5 |
| 20 | 98.2 | 0.6 | 98.0 | 0.8 | 116 | 98.4 | 0.3 | 98.7 | 0.4 |
| 21 | 98.4 | 0.5 | 98.0 | 0.7 | 117 | 98.5 | 0.3 | 98.9 | 0.4 |
| 22 | 97.8 | 1.0 | 97.6 | 0.7 | 118 | 97.8 | 1.0 | 97.6 | 1.4 |
| 23 | 97.7 | 1.0 | 97.6 | 0.7 | 119 | 97.8 | 1.0 | 97.6 | 1.4 |
| 24 | 97.7 | 1.0 | 97.7 | 0.7 | 120 | 97.7 | 1.0 | 98.0 | 1.2 |
| 25 | 98.4 | 0.3 | 98.3 | 1.2 | 121 | 97.1 | 1.7 | 97.6 | 1.7 |

[0049]

| | 冻融 0c | | 冻融 10c | | | 冻融 0c | | 冻融 10c | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） |
| 26 | 98.5 | 0.3 | 98.4 | 0.7 | 122 | 97.1 | 1.7 | 97.4 | 1.9 |
| 27 | 98.4 | 0.3 | 98.4 | 0.7 | 123 | 97.1 | 1.7 | 97.3 | 1.9 |
| 28 | 98.5 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 124 | 97.7 | 1.0 | 97.8 | 1.4 |
| 29 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.7 | 125 | 97.7 | 1.0 | 98.2 | 1.1 |
| 30 | 98.3 | 0.4 | 98.4 | 2.0 | 126 | 97.7 | 1.0 | 98.1 | 1.2 |
| 31 | 98.2 | 0.6 | 98.2 | 0.7 | 127 | 98.4 | 0.3 | 98.6 | 0.7 |
| 32 | 98.4 | 0.4 | 98.1 | 0.7 | 128 | 98.3 | 0.4 | 99.0 | 0.3 |
| 33 | 97.8 | 0.4 | 98.2 | 0.7 | 129 | 98.3 | 0.4 | 98.9 | 0.4 |
| 34 | 97.8 | 1.0 | 97.8 | 0.7 | 130 | 97.8 | 0.9 | 97.0 | 1.7 |
| 35 | 97.8 | 1.0 | 97.7 | 2.5 | 131 | 97.7 | 0.9 | 97.9 | 1.2 |
| 36 | 97.8 | 1.0 | 97.9 | 0.7 | 132 | 97.6 | 1.0 | 97.9 | 1.2 |
| 37 | 98.5 | 0.3 | 98.3 | 0.7 | 133 | 97.1 | 1.6 | 97.4 | 1.8 |
| 38 | 98.6 | 0.3 | 98.4 | 0.7 | 134 | 97.1 | 1.7 | 97.3 | 1.9 |
| 39 | 98.4 | 0.4 | 98.4 | 0.4 | 135 | 97.0 | 1.7 | 97.4 | 1.8 |
| 40 | 98.4 | 0.4 | 98.6 | 0.4 | 136 | 97.7 | 1.0 | 98.1 | 1.1 |
| 41 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.3 | 137 | 97.8 | 1.0 | 98.1 | 1.1 |
| 42 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.5 | 138 | 97.8 | 1.0 | 98.1 | 1.1 |
| 43 | 98.4 | 0.5 | 98.1 | 0.5 | 139 | 98.4 | 0.3 | 98.8 | 0.5 |
| 44 | 98.4 | 0.5 | 98.1 | 0.2 | 140 | 98.5 | 0.3 | 98.9 | 0.4 |
| 45 | 98.1 | 0.6 | 98.1 | 0.7 | 141 | 98.5 | 0.3 | 98.9 | 0.4 |
| 46 | 97.8 | 1.1 | 97.6 | 0.7 | 142 | 97.7 | 1.0 | 98.1 | 1.0 |
| 47 | 97.7 | 1.0 | 97.7 | 0.6 | 143 | 97.8 | 1.0 | 98.0 | 1.1 |
| 48 | 97.7 | 1.0 | 97.7 | 1.1 | 144 | 97.5 | 1.0 | 97.8 | 1.2 |
| 49 | 98.4 | 0.3 | 98.4 | 1.0 | 145 | 97.1 | 1.6 | 97.5 | 1.6 |
| 50 | 98.4 | 0.4 | 98.4 | 1.0 | 146 | 97.1 | 1.7 | 97.0 | 2.2 |
| 51 | 98.5 | 0.3 | 98.4 | 0.4 | 147 | 97.0 | 1.7 | 97.3 | 2.0 |
| 52 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.4 | 148 | 97.8 | 1.0 | 98.0 | 1.3 |
| 53 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.4 | 149 | 97.6 | 1.0 | 98.1 | 1.2 |

[0050]

| | 冻融 0c | | 冻融 10c | | | 冻融 0c | | 冻融 10c | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） |
| 54 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.6 | 150 | 97.7 | 1.0 | 98.2 | 1.2 |
| 55 | 98.2 | 0.6 | 98.1 | 0.5 | 151 | 98.5 | 0.3 | 98.8 | 0.4 |
| 56 | 98.2 | 0.6 | 98.2 | 0.5 | 152 | 98.5 | 0.3 | 98.7 | 0.4 |
| 57 | 98.2 | 0.6 | 98.1 | 0.8 | 153 | 98.4 | 0.3 | 98.9 | 0.4 |
| 58 | 97.8 | 1.0 | 97.8 | 0.7 | 154 | 97.8 | 1.0 | 98.0 | 0.1 |
| 59 | 97.8 | 1.0 | 97.8 | 0.7 | 155 | 97.8 | 1.0 | 98.0 | 1.2 |
| 60 | 97.8 | 1.0 | 97.8 | 1.1 | 156 | 97.7 | 1.0 | 98.0 | 1.2 |
| 61 | 98.4 | 0.4 | 98.4 | 1.1 | 157 | 97.0 | 1.7 | 97.4 | 1.8 |
| 62 | 98.5 | 0.3 | 98.5 | 1.0 | 158 | 97.0 | 1.7 | 97.6 | 1.7 |
| 63 | 98.5 | 0.3 | 98.4 | 0.4 | 159 | 97.0 | 1.7 | 97.4 | 1.8 |
| 64 | 98.3 | 0.4 | 98.3 | 0.4 | 160 | 97.5 | 1.0 | 97.9 | 1.3 |
| 65 | 98.3 | 0.4 | 98.3 | 0.3 | 161 | 97.6 | 1.0 | 97.7 | 1.4 |
| 66 | 98.3 | 0.4 | 98.3 | 0.6 | 162 | 97.6 | 1.0 | 98.0 | 1.2 |
| 67 | 98.1 | 0.6 | 98.2 | 0.4 | 163 | 98.4 | 0.3 | 98.7 | 0.5 |
| 68 | 98.2 | 0.6 | 98.1 | 0.4 | 164 | 98.4 | 0.3 | 98.9 | 0.4 |
| 69 | 98.1 | 0.6 | 98.1 | 0.6 | 165 | 98.4 | 0.3 | 98.9 | 0.4 |
| 70 | 97.7 | 1.1 | 97.6 | 0.6 | 166 | 97.7 | 1.0 | 75.7 | 1.3 |
| 71 | 97.7 | 1.1 | 97.6 | 0.6 | 167 | 97.6 | 1.0 | 97.9 | 1.3 |
| 72 | 97.6 | 1.1 | 97.7 | 1.0 | 168 | 97.6 | 1.0 | 97.9 | 1.3 |
| 73 | 98.5 | 0.3 | 98.4 | 1.0 | 169 | 97.0 | 1.7 | 97.3 | 1.9 |
| 74 | 98.5 | 0.3 | 98.5 | 1.0 | 170 | 97.0 | 1.7 | 97.1 | 2.1 |
| 75 | 98.4 | 0.3 | 98.5 | 0.5 | 171 | 97.0 | 1.7 | 97.2 | 2.0 |
| 76 | 98.4 | 0.4 | 98.4 | 0.4 | 172 | 97.6 | 1.0 | 98.1 | 1.1 |
| 77 | 98.4 | 0.4 | 98.4 | 0.4 | 173 | 97.6 | 1.0 | 98.1 | 1.1 |
| 78 | 98.3 | 0.4 | 98.5 | 0.6 | 174 | 97.6 | 1.0 | 98.0 | 1.2 |
| 79 | 98.4 | 0.5 | 98.2 | 0.4 | 175 | 98.5 | 0.3 | 98.7 | 0.5 |
| 80 | 98.2 | 0.6 | 98.2 | 0.4 | 176 | 98.5 | 0.3 | 98.7 | 0.5 |
| 81 | 98.4 | 0.5 | 98.1 | 0.7 | 177 | 98.4 | 0.3 | 98.8 | 0.4 |

[0051]

| | 冻融 0c | | 冻融 10c | | | 冻融 0c | | 冻融 10c | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | 序号 | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC聚体峰（%） |
| 82 | 97.7 | 1.1 | 98.1 | 0.6 | 178 | 97.7 | 1.0 | 98.2 | 1.0 |
| 83 | 97.7 | 1.1 | 98.1 | 0.6 | 179 | 97.6 | 1.0 | 98.0 | 1.1 |
| 84 | 97.6 | 1.1 | 98.2 | 1.2 | 180 | 97.7 | 1.0 | 98.0 | 1.1 |
| 85 | 98.4 | 0.4 | 99.0 | 1.0 | 181 | 97.1 | 1.6 | 97.4 | 1.8 |
| 86 | 98.5 | 0.3 | 99.2 | 1.0 | 182 | 97.0 | 1.6 | 97.3 | 1.9 |
| 87 | 98.3 | 0.4 | 98.6 | 0.4 | 183 | 97.0 | 1.7 | 97.3 | 1.9 |
| 88 | 98.4 | 0.4 | 98.3 | 0.4 | 184 | 97.7 | 1.0 | 98.1 | 1.2 |
| 89 | 98.4 | 0.4 | 98.5 | 0.3 | 185 | 97.8 | 1.0 | 98.1 | 1.2 |
| 90 | 98.3 | 0.4 | 98.4 | 0.5 | 186 | 97.6 | 1.0 | 98.0 | 1.2 |
| 91 | 98.4 | 0.5 | 98.2 | 0.5 | 187 | 98.4 | 0.3 | 98.8 | 0.4 |
| 92 | 98.1 | 0.6 | 98.1 | 0.4 | 188 | 98.1 | 0.3 | 98.8 | 0.4 |
| 93 | 98.1 | 0.6 | 98.2 | 0.7 | 189 | 98.3 | 0.3 | 98.8 | 0.4 |
| 94 | 97.7 | 1.1 | 97.9 | 0.6 | 190 | 97.6 | 1.0 | 98.1 | 1.2 |
| 95 | 97.7 | 1.1 | 97.8 | 0.6 | 191 | 97.7 | 1.0 | 98.0 | 1.1 |
| 96 | 97.7 | 1.1 | 97.8 | 1.1 | 192 | 97.8 | 1.0 | 98.1 | 1.1 |

[0052] 3.1.4冻融试验结果分析

[0053] 通过分析表5中的数据可知，醋酸/醋酸盐为缓冲体系的各种处方中，pH对处方的稳定性有较大影响，pH6.5的处方条件其SEC主峰纯度的结果均低于其他低pH范围的处方，故在样品编号为1-96的醋酸盐缓冲体系处方中去除pH为6.5的处方，剩下的72个样品继续进行后续的处方试验研究。组氨酸盐缓冲体系的处方条件中，其pH同样对蛋白的稳定性有较大影响，pH为6.0的处方其SEC主峰的结果均高于其他几种pH的处方，故在样品编号为97-192的组氨酸盐处方中，选用pH6.0的处方进行后续的处方试验研究。

[0054] 3.2高温和光照试验

[0055] 3.2.1包装及放置条件

[0056] 包装及放置条件如表6所示。

[0057] 表6

[0058]

| 样品 | 包装 | 影响因素 | 放置条件 |
|---|---|---|---|

[0059]

| | | | |
|---|---|---|---|
| | 1.5ml 离心管 | 高温、光照 | T4、L1 |

[0060] 3.2.2高温及光照试验项目

[0061] 高温及光照检测项目和条件如表7所示。

[0062] 表7

[0063]

| 项目 | 检测样品 | 高温 10d | 光照 10d |
|---|---|---|---|
| SEC-UPLC | 冻融实验筛选出的样品 | + | + |
| CE NR/CE R | SEC-UPLC 检测高温和光照结果均好的样品 | + | + |
| IEX | SEC-UPLC 检测高温和光照结果均好的样品 | + | + |

[0064] 3.2.3高温及光照试验结果

[0065] 高温及光照试验结果如表8所示。

[0066] 表8

[0067]

| | 高温 10d | | | | | | | 光照 10d | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) |
| 1 | 15.6 | 41.7 | 42.7 | 0.4 | 98.0 | 1.4 | 99.5 | 18.1 | 19.2 | 62.7 | 0.4 | 98.3 | 3.8 | 98.7 |
| 2 | 16.1 | 40.2 | 43.7 | 0.3 | 98.0 | 9.3 | 99.5 | 19.0 | 20.2 | 60.9 | 0.4 | 98.2 | 3.7 | 98.7 |
| 3 | 16.9 | 37.5 | 45.6 | 0.3 | 98.0 | 8.9 | 99.5 | 17.8 | 19.3 | 62.9 | 0.4 | 98.1 | 3.9 | 98.6 |
| 4 | 15.5 | 40.9 | 43.7 | 0.5 | 98.2 | 18.0 | 99.5 | 18.3 | 20.4 | 61.2 | 0.5 | 98.2 | 4.4 | 98.2 |
| 6 | 15.0 | 40.9 | 44.2 | 0.4 | 98.2 | 17.8 | 99.5 | 18.4 | 19.8 | 61.8 | 0.5 | 98.0 | 4.7 | 98.6 |
| 7 | 13.0 | 42.2 | 44.9 | 0.4 | 98.1 | N/A | N/A | 18.8 | 21.3 | 59.9 | 0.5 | 98.1 | N/A | N/A |
| 8 | 13.2 | 45.7 | 41.1 | 0.7 | 98.0 | N/A | N/A | 17.8 | 21.8 | 60.4 | 1.0 | 97.8 | N/A | N/A |
| 9 | 11.2 | 48.1 | 40.7 | 0.6 | 98.0 | N/A | N/A | 18.1 | 21.9 | 60.0 | 0.9 | 97.7 | N/A | N/A |
| 13 | 16.0 | 40.1 | 43.9 | 0.5 | 97.5 | 2.0 | 99.7 | 18.4 | 19.6 | 62.1 | 0.4 | 98.3 | 4.2 | 99.2 |
| 14 | 17.0 | 37.5 | 45.5 | 0.5 | 97.6 | 2.0 | 99.9 | 17.8 | 19.1 | 63.2 | 0.6 | 97.9 | 4.9 | 99.0 |
| 15 | 15.7 | 34.9 | 49.4 | 0.5 | 97.7 | 1.8 | 99.7 | 17.4 | 19.0 | 63.6 | 0.6 | 98.0 | 4.9 | 99.1 |
| 16 | 14.9 | 41.5 | 43.5 | 0.6 | 97.8 | 1.8 | 99.8 | 17.3 | 20.3 | 62.4 | 0.8 | 97.8 | 5.1 | 99.1 |

[0068]

| | 高温 10d | | | | | | | 光照 10d | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) |
| 17 | 15.2 | 40.6 | 44.2 | 0.6 | 97.9 | 1.7 | 99.5 | 17.7 | 20.4 | 61.9 | 0.8 | 97.8 | 4.7 | 98.6 |
| 18 | 15.1 | 40.1 | 44.8 | 0.5 | 97.9 | 1.8 | 99.5 | 17.2 | 20.3 | 62.5 | 0.7 | 97.8 | 6.6 | 98.9 |
| 19 | 11.3 | 49.0 | 39.8 | 0.9 | 97.5 | N/A | N/A | 17.2 | 22.4 | 60.4 | 1.6 | 97.2 | N/A | N/A |
| 20 | 11.4 | 48.0 | 40.6 | 0.8 | 97.6 | N/A | N/A | 16.8 | 22.7 | 60.5 | 1.7 | 97.0 | N/A | N/A |
| 21 | 11.5 | 47.2 | 41.3 | 0.8 | 97.6 | N/A | N/A | 16.7 | 22.7 | 60.6 | 1.8 | 96.8 | N/A | N/A |
| 25 | 17.3 | 35.3 | 47.3 | 0.4 | 97.7 | 4.5 | 99.4 | 18.3 | 19.1 | 62.6 | 0.9 | 97.6 | 3.4 | 98.9 |
| 26 | 16.6 | 35.8 | 47.7 | 0.4 | 97.7 | 5.6 | 99.5 | 17.8 | 18.6 | 63.6 | 0.8 | 97.6 | 4.6 | 98.8 |
| 27 | 17.2 | 33.2 | 49.7 | 0.4 | 97.6 | 11.8 | 99.5 | 17.6 | 20.4 | 62.1 | 0.8 | 98.0 | 5.1 | 98.8 |
| 28 | 14.8 | 39.3 | 46.0 | 0.5 | 98.1 | 9.9 | 99.4 | 17.5 | 20.1 | 62.4 | 1.0 | 97.9 | 5.3 | 98.8 |
| 29 | 14.0 | 40.7 | 45.3 | 0.4 | 98.1 | 9.5 | 99.4 | 18.1 | 19.8 | 62.1 | 0.9 | 98.0 | 5.7 | 98.6 |
| 30 | 15.3 | 36.9 | 47.8 | 0.4 | 98.0 | 17.3 | 99.5 | 17.7 | 20.6 | 61.7 | 0.8 | 98.0 | 5.9 | 98.9 |
| 31 | 11.2 | 45.9 | 43.0 | 0.6 | 98.0 | N/A | N/A | 17.7 | 21.7 | 60.6 | 1.4 | 97.6 | N/A | N/A |
| 32 | 12.1 | 42.9 | 45.0 | 0.6 | 98.0 | N/A | N/A | 17.6 | 21.3 | 61.1 | 1.3 | 97.6 | N/A | N/A |
| 33 | 12.2 | 42.2 | 45.7 | 0.6 | 97.9 | N/A | N/A | 17.3 | 21.7 | 61.0 | 1.3 | 97.6 | N/A | N/A |
| 37 | 16.8 | 35.1 | 48.1 | 0.6 | 97.3 | 1.8 | 99.5 | 18.2 | 19.0 | 62.8 | 0.8 | 97.8 | 6.6 | 99.0 |
| 38 | 16.9 | 34.4 | 48.6 | 0.5 | 97.4 | 1.9 | 99.5 | 17.3 | 17.8 | 64.9 | 0.8 | 97.7 | 7.4 | 98.9 |
| 39 | 16.0 | 35.7 | 48.3 | 0.4 | 97.3 | 1.9 | 99.5 | 18.5 | 19.2 | 62.4 | 0.8 | 97.8 | 7.9 | 99.0 |
| 40 | 14.6 | 37.3 | 48.1 | 0.5 | 97.6 | 5.2 | 99.6 | 16.7 | 18.9 | 64.4 | 1.0 | 97.5 | 7.9 | 98.7 |
| 41 | 13.8 | 40.9 | 45.3 | 0.5 | 97.7 | 2.1 | 99.7 | 17.3 | 19.5 | 63.2 | 1.0 | 97.5 | 6.3 | 98.6 |
| 42 | 13.8 | 40.3 | 45.9 | 0.5 | 97.7 | 7.1 | 99.7 | 17.3 | 19.4 | 63.2 | 1.0 | 97.5 | 6.6 | 98.7 |
| 43 | 11.2 | 46.3 | 42.5 | 0.8 | 97.6 | N/A | N/A | 16.6 | 21.8 | 61.6 | 2.1 | 96.5 | N/A | N/A |
| 44 | 11.3 | 45.6 | 43.1 | 0.7 | 97.6 | N/A | N/A | 17.4 | 21.7 | 60.9 | 1.9 | 96.8 | N/A | N/A |
| 45 | 12.5 | 44.3 | 43.3 | 0.8 | 97.6 | N/A | N/A | 17.4 | 22.6 | 60.1 | 2.0 | 96.6 | N/A | N/A |
| 48 | 16.7 | 39.1 | 44.2 | 0.4 | 98.0 | 1.3 | 99.6 | 18.2 | 19.6 | 62.2 | 0.9 | 97.7 | 5.8 | 98.0 |
| 49 | 17.3 | 38.4 | 44.3 | 0.4 | 98.0 | 4.6 | 99.6 | 18.7 | 19.6 | 61.7 | 0.7 | 97.8 | 6.3 | 98.2 |
| 50 | 16.6 | 38.5 | 45. | 0.4 | 97.7 | 1.6 | 99.6 | 17.9 | 19.4 | 62.8 | 0.8 | 97.6 | 9.0 | 98.5 |
| 51 | 14.6 | 42.4 | 43.0 | 0.4 | 98.1 | 1.6 | 99.5 | 18.1 | 20.6 | 61.3 | 0.8 | 97.8 | 8.8 | 98.6 |

[0069]

| | 高温 10d | | | | | | | 光照 10d | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) |
| 52 | 13.9 | 43.6 | 42.5 | 0.4 | 98.1 | 1.7 | 99.6 | 18.2 | 20.5 | 61.3 | 0.7 | 97.9 | 8.8 | 98.7 |
| 53 | 14.8 | 41.3 | 43.9 | 0.4 | 98.1 | 1.5 | 93.5 | 17.4 | 20.5 | 62.1 | 0.6 | 97.8 | 8.3 | 98.4 |
| 54 | 11.0 | 49.0 | 40.1 | 0.7 | 98.0 | 1.3 | 99.6 | 17.2 | 22.2 | 60.7 | 1.4 | 97.2 | 5.8 | 98.0 |
| 55 | 12.2 | 45.2 | 42.6 | 0.7 | 98.0 | N/A | N/A | 17.4 | 22.6 | 60.1 | 1.5 | 97.1 | N/A | N/A |
| 56 | 11.3 | 47.1 | 41.4 | 0.7 | 97.8 | N/A | N/A | 16.9 | 23.0 | 60.1 | 1.5 | 97.0 | N/A | N/A |
| 57 | 16.7 | 39.1 | 44.2 | 0.4 | 98.0 | N/A | N/A | 18.2 | 19.6 | 62.2 | 0.9 | 97.7 | N/A | N/A |
| 61 | 16.8 | 38.7 | 44.5 | 0.5 | 97.6 | 1.4 | 99.9 | 18.0 | 20.3 | 61.8 | 0.8 | 97.7 | 1.4 | 98.2 |
| 62 | 17.0 | 38.0 | 45.0 | 0.4 | 97.6 | 1.5 | 99.7 | 18.0 | 19.3 | 62.8 | 0.7 | 97.8 | 6.4 | 99.2 |
| 63 | 16.3 | 39.5 | 44.2 | 0.4 | 97.6 | 1.7 | 99.9 | 18.1 | 19.1 | 62.8 | 0.6 | 97.9 | 7.3 | 98.8 |
| 64 | 13.9 | 44.4 | 41.8 | 0.6 | 97.8 | 1.2 | 99.8 | 17.9 | 20.7 | 61.4 | 0.9 | 97.7 | 1.5 | 99.1 |
| 65 | 14.0 | 44.0 | 42.0 | 0.5 | 97.7 | 1.4 | 99.7 | 17.6 | 20.6 | 61.8 | 0.8 | 97.7 | 1.1 | 99.3 |
| 66 | 15.5 | 40.1 | 44.5 | 0.5 | 97.8 | 1.3 | 99.8 | 17.5 | 20.7 | 61.8 | 0.7 | 97.8 | 6.1 | 99.3 |
| 67 | 11.2 | 49.6 | 39.2 | 0.9 | 97.5 | N/A | N/A | 16.1 | 22.3 | 61.6 | 1.9 | 96.8 | N/A | N/A |
| 68 | 12.3 | 45.7 | 42.0 | 0.8 | 97.5 | N/A | N/A | 16.9 | 22.7 | 60.4 | 1.8 | 96.9 | N/A | N/A |
| 69 | 12.4 | 44.6 | 42.9 | 0.8 | 97.6 | N/A | N/A | 17.6 | 22.9 | 59.5 | 1.5 | 97.1 | N/A | N/A |
| 73 | 17.3 | 35.7 | 47.0 | 0.5 | 97.2 | 0.7 | 99.7 | 17.7 | 18.9 | 63.4 | 1.0 | 97.6 | 6.3 | 98.3 |
| 74 | 16.6 | 35.5 | 48.0 | 0.5 | 97.4 | 0.7 | 99.7 | 18.2 | 19.1 | 62.7 | 0.9 | 97.6 | 7.7 | 98.3 |
| 75 | 17.3 | 34.3 | 48.4 | 0.4 | 97.4 | 0.8 | 99.8 | 18.0 | 19.0 | 62.9 | 0.8 | 97.5 | 8.1 | 98.0 |
| 76 | 15.4 | 39.1 | 45.6 | 0.5 | 97.8 | 4.7 | 99.8 | 17.6 | 20.2 | 62.1 | 1.0 | 97.6 | 8.0 | 97.9 |
| 77 | 15.5 | 38.5 | 46.0 | 0.5 | 97.8 | 8.7 | 99.8 | 18.1 | 20.1 | 61.9 | 0.9 | 97.6 | 8.8 | 97.8 |
| 78 | 15.5 | 37.5 | 47.0 | 0.5 | 97.8 | 12.5 | 99.9 | 17.9 | 20.2 | 61.9 | 0.8 | 97.7 | 7.3 | 98.9 |
| 79 | 11.0 | 47.0 | 42.0 | 0.7 | 97.7 | N/A | N/A | 17.3 | 22.2 | 60.6 | 1.2 | 97.5 | N/A | N/A |
| 80 | 13.8 | 28.4 | 57.9 | 0.7 | 97.8 | N/A | N/A | 17.7 | 21.6 | 60.7 | 1.2 | 97.4 | N/A | N/A |
| 81 | 11.2 | 45.2 | 43.6 | 0.7 | 97.8 | N/A | N/A | 18.2 | 21.6 | 60.2 | 1.1 | 97.5 | N/A | N/A |
| 85 | 16.2 | 37.5 | 46.3 | 0.5 | 97.1 | 0.9 | 99.7 | 17.5 | 19.0 | 63.5 | 0.9 | 97.6 | 7.8 | 98.7 |
| 86 | 16.3 | 36.6 | 47.1 | 0.5 | 97.2 | 0.9 | 99.7 | 18.1 | 19.3 | 62.6 | 0.9 | 97.6 | 8.5 | 98.8 |
| 87 | 16.3 | 35.9 | 47.8 | 0.4 | 97.2 | 0.9 | 99.7 | 17.7 | 18.4 | 63.9 | 0.9 | 97.6 | 9.3 | 98.5 |

[0070]

| | 高温 10d | | | | | | | 光照 10d | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) |
| 88 | 13.9 | 41.9 | 44.2 | 0.6 | 97.6 | 5.5 | 99.7 | 17.7 | 19.7 | 62.6 | 1.0 | 97.5 | 8.8 | 98.7 |
| 89 | 13.6 | 41.3 | 45.0 | 0.5 | 97.7 | 5.6 | 99.8 | 17.0 | 19.8 | 63.2 | 1.0 | 97.6 | 8.3 | 98.7 |
| 90 | 14.5 | 39.8 | 45.7 | 0.5 | 97.6 | 5.7 | 99.8 | 17.2 | 19.6 | 63.2 | 0.8 | 97.8 | 8.9 | 98.2 |
| 91 | 11.1 | 46.7 | 42.2 | 0.9 | 97.4 | N/A | N/A | 16.8 | 21.8 | 61.4 | 2.0 | 96.6 | N/A | N/A |
| 92 | 11.2 | 45.9 | 42.9 | 0.8 | 97.8 | N/A | N/A | 17.2 | 21.9 | 60.9 | 2.0 | 96.6 | N/A | N/A |
| 93 | 11.3 | 45.1 | 43.6 | 0.8 | 97.5 | N/A | N/A | 18.2 | 21.6 | 60.3 | 1.3 | 97.4 | N/A | N/A |
| 103 | 12.2 | 42.2 | 45.6 | 0.3 | 98.1 | 2.3 | 99.8 | 17.3 | 26.5 | 56.2 | 0.5 | 98.1 | 5.1 | 98.7 |
| 104 | 12.2 | 41.3 | 46.5 | 0.3 | 98.1 | 2.3 | 99.8 | 17.4 | 26.5 | 56.1 | 0.5 | 98.0 | 1.5 | 98.6 |
| 105 | 12.3 | 40.3 | 47.4 | 0.3 | 98.0 | 2.2 | 99.9 | 16.7 | 27.0 | 56.2 | 0.5 | 98.0 | 1.1 | 98.0 |
| 115 | 12.0 | 42.4 | 45.6 | 0.3 | 98.0 | 2.3 | 99.8 | 17.3 | 26.5 | 56.2 | 0.6 | 98.1 | 1.4 | 98.4 |
| 116 | 12.2 | 41.2 | 46.6 | 0.4 | 98.2 | 2.3 | 99.8 | 17.4 | 26.0 | 56.5 | 0.5 | 98.2 | 5.1 | 98.6 |
| 117 | 12.2 | 40.5 | 17.4 | 0.3 | 98.2 | 2.2 | 99.9 | 17.2 | 26.5 | 56.3 | 0.5 | 98.1 | 1.6 | 98.0 |
| 127 | 12.7 | 39.3 | 48.0 | 0.3 | 98.1 | 0.9 | 99.9 | 17.8 | 24.7 | 57.5 | 0.6 | 98.3 | 4.5 | 98.5 |
| 128 | 12.1 | 40.6 | 47.3 | 0.3 | 98.1 | 1.7 | 99.9 | 17.6 | 24.9 | 57.4 | 0.5 | 98.2 | 4.7 | 98.2 |
| 129 | 11.7 | 40.3 | 47.9 | 0.3 | 98.2 | 2.4 | 99.9 | 18.0 | 24.5 | 57.6 | 0.5 | 98.1 | 5.2 | 98.3 |
| 139 | 11.7 | 42.8 | 45.5 | 0.4 | 98.1 | 0.9 | 99.9 | 17.5 | 25.7 | 56.8 | 0.7 | 97.9 | 5.9 | 98.1 |
| 140 | 11.8 | 41.9 | 46.4 | 0.3 | 98.1 | 1.6 | 99.9 | 16.8 | 26.3 | 57.0 | 0.7 | 97.9 | 5.6 | 99.3 |
| 141 | 11.8 | 41.1 | 47.1 | 0.4 | 98.1 | 1.9 | 99.9 | 17.1 | 25.5 | 57.4 | 0.7 | 97.8 | 6.0 | 98.6 |
| 151 | 12.2 | 41.2 | 46.6 | 0.3 | 98.1 | 2.1 | 99.8 | 17.7 | 25.6 | 56.7 | 0.5 | 98.2 | 7.0 | 92.9 |
| 152 | 11.9 | 40.0 | 48.2 | 0.3 | 98.1 | 2.8 | 99.2 | 17.9 | 25.2 | 56.9 | 0.4 | 98.3 | 5.8 | 95.7 |
| 153 | 12.2 | 41.8 | 46.1 | 0.3 | 98.1 | 2.3 | 99.8 | 17.7 | 25.6 | 56.7 | 0.5 | 98.1 | 2.4 | 95.1 |
| 163 | 12.1 | 42.6 | 45.3 | 0.4 | 98.0 | 1.6 | 99.9 | 16.7 | 27.4 | 55.9 | 0.6 | 97.9 | 1.9 | 96.3 |
| 164 | 12.1 | 41.7 | 46.2 | 0.3 | 98.1 | 2.0 | 99.9 | 16.3 | 27.7 | 56.1 | 0.6 | 98.0 | 1.5 | 95.8 |
| 165 | 13.0 | 38.2 | 48.8 | 0.3 | 98.1 | 1.7 | 99.9 | 16.3 | 28.3 | 55.5 | 0.6 | 97.9 | 7.1 | 95.6 |
| 175 | 12.6 | 39.2 | 48.2 | 0.3 | 98.0 | 1.1 | 99.8 | 18.0 | 24.5 | 57.5 | 0.5 | 98.4 | 5.4 | 95.9 |
| 176 | 12.6 | 38.5 | 48.9 | 0.3 | 98.1 | 2.0 | 99.9 | 18.5 | 23.6 | 57.9 | 0.5 | 98.2 | 6.4 | 95.0 |
| 177 | 11.6 | 40.4 | 48.0 | 0.3 | 98.0 | 2.6 | 99.9 | 17.5 | 25.1 | 57.3 | 0.5 | 98.0 | 5.9 | 96.7 |

[0071]

| | 高温 10d | | | | | | | 光照 10d | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) | IEX 主峰(%) | IEX 酸性变异体(%) | IEX 碱性变异体(%) | SEC 聚体峰(%) | SEC 单体峰(%) | NR-CE-chip-SDS(%) | R-CE-chip-SDS(%) |
| 187 | 12.7 | 40.0 | 47.3 | 0.4 | 98.1 | 0.9 | 99.9 | 16.2 | 27.5 | 56.3 | 0.6 | 98.0 | 6.4 | 95.8 |
| 188 | 12.6 | 39.4 | 48.0 | 0.4 | 98.1 | 1.6 | 99.9 | 16.2 | 27.4 | 56.5 | 0.6 | 98.0 | 6.5 | 93.0 |
| 189 | 11.8 | 40.8 | 47.3 | 0.4 | 98.1 | 2.2 | 99.9 | 17.0 | 25.5 | 57.6 | 0.6 | 97.9 | 6.9 | 97.3 |

[0072] 3.1.4高温及光照试验结果分析

[0073] 通过分析表8中的数据可知,以醋酸/醋酸盐为缓冲体系的处方中,样品在经历影响因素光照和高温后,与冻融实验有相同趋势,即pH越高,样品稳定性越差,聚合体及酸性变异体均有增加趋势,所以排除pH6.0～6.5的处方条件;在高温条件下加入氯化钠的缓冲体系,其酸性变异体比例明显低于未加入氯化钠的样品;说明氯化钠对酸性变异体的产生可以起到一定的抑制作用,结合pH范围和氯化钠的作用可筛选出序号25～30、37～42、73～78、85～90的处方条件较佳。

[0074] 以组氨酸/盐酸组氨酸盐为缓冲体系的处方中,样品在经历光照和高温后,各处方之间SEC、IEX的检测结果差异较小,但NR-CE/R-CE检测结果数据波动幅度较大,难以明示优化规律,故在实施例2中进一步探索。

[0075] 实施例2

[0076] 1.实验设计

[0077] 根据实施例1中冻融、高温和光照等影响因素试验结果对处方条件的筛选,发现pH对于蛋白原液的稳定性影响较为显著,故本实施例将选取上轮筛选出较佳的pH范围,并在该区间继续缩小范围,仍以影响因素试验为筛选依据,对敏感指标进行检测。

[0078] 抗体的浓度选择20g/L。制剂处方的筛选条件如表9和表10所示所示。其中表9的基础缓冲体系为50mmol/L醋酸/醋酸钠三水合物;表10的基础缓冲体系为20mmol/L组氨酸/盐酸组氨酸一水合物。

[0079] 表9

[0080]

| 序号 | pH | 海藻糖(g/L) | 氯化钠(mol/L) | 蛋白浓度(g/L) | PS80(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 193 | 4.8 | 60 | 0 | 20 | 0 |
| 194 | 4.8 | 80 | 0 | 20 | 0 |

[0081]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80（%） |
|---|---|---|---|---|---|
| 195 | 5.0 | 60 | 0 | 20 | 0 |
| 196 | 5.0 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 197 | 5.2 | 60 | 0 | 20 | 0 |
| 198 | 5.2 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 199 | 5.5 | 60 | 0 | 20 | 0 |
| 200 | 5.5 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 201 | 4.8 | 60 | 0.1 | 20 | 0 |
| 202 | 4.8 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 203 | 5.0 | 60 | 0.1 | 20 | 0 |
| 204 | 5.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 205 | 5.2 | 60 | 0.1 | 20 | 0 |
| 206 | 5.2 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 207 | 5.5 | 60 | 0.1 | 20 | 0 |
| 208 | 5.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 209 | 4.8 | 60 | 0 | 20 | 0.1 |
| 210 | 4.8 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 211 | 5.0 | 60 | 0 | 20 | 0.1 |
| 212 | 5.0 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 213 | 5.2 | 60 | 0 | 20 | 0.1 |
| 214 | 5.2 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 215 | 5.5 | 60 | 0 | 20 | 0.1 |
| 216 | 5.5 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 217 | 4.8 | 60 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 218 | 4.8 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 219 | 5.0 | 60 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 220 | 5.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 221 | 5.2 | 60 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 222 | 5.2 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 223 | 5.5 | 60 | 0.1 | 20 | 0.1 |

[0082]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80（%） |
|---|---|---|---|---|---|
| 224 | 5.5 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |

[0083] 表10

[0084]

| 序号 | pH | 海藻糖（g/L） | 氯化钠（mol/L） | 蛋白浓度(g/L) | PS80（%） |
|---|---|---|---|---|---|
| 225 | 5.8 | 60 | 0 | 20 | 0 |
| 226 | 5.8 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 227 | 6.0 | 60 | 0 | 20 | 0 |
| 228 | 6.0 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 229 | 6.2 | 60 | 0 | 20 | 0 |
| 230 | 6.2 | 80 | 0 | 20 | 0 |
| 231 | 5.8 | 60 | 0.1 | 20 | 0 |
| 232 | 5.8 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 233 | 6.0 | 60 | 0.1 | 20 | 0 |
| 234 | 6.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 235 | 6.2 | 60 | 0.1 | 20 | 0 |
| 236 | 6.2 | 80 | 0.1 | 20 | 0 |
| 237 | 5.8 | 60 | 0 | 20 | 0.1 |
| 238 | 5.8 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 239 | 6.0 | 60 | 0 | 20 | 0.1 |
| 240 | 6.0 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 241 | 6.2 | 60 | 0 | 20 | 0.1 |
| 242 | 6.2 | 80 | 0 | 20 | 0.1 |
| 243 | 5.8 | 60 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 244 | 5.8 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 245 | 6.0 | 60 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 246 | 6.0 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 247 | 6.2 | 60 | 0.1 | 20 | 0.1 |
| 248 | 6.2 | 80 | 0.1 | 20 | 0.1 |

[0085] 2.样品制备

[0086] 使用50KD超滤膜包将抗体原液分别置换至pH为5.8的50mmol/L醋酸/醋酸钠三水

合物缓冲体系，和pH为5.8的20mmol/L组氨酸/盐酸组氨酸一水合物缓冲体系中。之后根据表9和表10向置换后的浓缩原液中分别加入不同浓度的海藻糖二水合物、PS80和氯化钠等母液，以配制成不同的处方。每种处方的样品继续分装至1.5ml离心管中后实施影响因素试验，以确定本发明抗体的最终处方。

[0087] 3.冻融、光照和高温试验及处方评估

[0088] 对以上各组样品分别实施冻融、高温以及光照的影响因素试验，以考察不同处方样品在不同条件下的稳定性情况。

[0089] 3.1包装及放置条件

[0090] 包装及放置条件如表11所示。

[0091] 表11

[0092]

| 样品 | 包装 | 影响因素 | 放置条件 |
|---|---|---|---|
| | 1.5ml 离心管 | 高温、光照、冻融 | T4、L1、T5 |

[0093] 3.2冻融、光照及高温试验检测项目

[0094] 冻融、光照及高温试验检测项目如表12所示。

[0095] 表12

[0096]

| 项目 | 检测样品 | 0 点 | 冻融 20C | 高温 10d | 光照 10d |
|---|---|---|---|---|---|
| SEC-UPLC | 193-248 | + | + | + | + |
| CE NR/CE R | 部分样品 | - | + | + | + |
| IEX-UPLC | 高温和光照的样品 | - | - | + | + |
| 粒径 | 选测 | - | - | + | + |
| 质谱-亚单位 | 选测 | - | - | + | + |

[0097] 3.3冻融试验检测结果

[0098] 冻融试验检测结果如表13所示。

[0099] 表13

[0100]

| | 冻融 0c | | 冻融 20c | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） |
| 193 | 0.3 | 98.7 | 0.3 | 99.1 | 0.1 | 99.9 |

[0101]

| | 冻融 0c | | 冻融 20c | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） |
| 194 | 0.3 | 98.7 | 0.3 | 99.1 | 0.1 | 99.9 |
| 195 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 99.1 | 1.0 | 99.9 |
| 196 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 98.9 | 0.1 | 99.9 |
| 197 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.1 | 0.2 | 99.9 |
| 198 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.1 | 0.2 | 99.8 |
| 199 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.0 | 1.6 | 99.9 |
| 200 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.0 | 2.1 | 99.9 |
| 201 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 99.0 | 0.1 | 99.9 |
| 202 | 0.3 | 98.6 | 0.3 | 99.1 | 0.1 | 99.9 |
| 203 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.1 | 1.2 | 99.9 |
| 204 | 0.3 | 98.5 | 0.4 | 99.1 | 0.1 | 99.9 |
| 205 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.1 | 1.2 | 99.9 |
| 206 | 0.3 | 98.5 | 0.4 | 99.1 | 3.0 | 99.9 |
| 207 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.1 | 4.2 | 99.7 |
| 208 | 0.3 | 98.5 | 0.5 | 98.9 | 4.5 | 99.8 |
| 209 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 99.0 | 0.1 | 99.9 |
| 210 | 0.3 | 98.7 | 0.3 | 99.2 | 0.1 | 99.9 |
| 211 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.9 | 0.1 | 99.9 |
| 212 | 0.3 | 98.6 | 0.3 | 99.2 | 0.3 | 99.9 |
| 213 | 0.3 | 98.6 | 0.3 | 99.2 | 3.6 | 99.9 |
| 214 | 0.3 | 98.5 | 0.3 | 99.2 | 4.0 | 99.9 |
| 215 | 0.4 | 98.2 | 0.4 | 99.2 | 5.4 | 99.9 |
| 216 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 99.2 | 4.4 | 99.9 |
| 217 | 0.5 | 98.9 | 0.3 | 99.2 | 0.1 | 99.9 |
| 218 | 0.5 | 98.8 | 0.3 | 99.3 | 0.2 | 99.9 |
| 219 | 0.4 | 99.2 | 0.3 | 99.2 | 4.2 | 99.9 |
| 220 | 0.5 | 98.8 | 0.3 | 99.2 | 4.9 | 99.9 |
| 221 | 0.5 | 98.8 | 0.3 | 99.2 | 6.3 | 99.8 |

[0102]

| | 冻融 0c | | 冻融 20c | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） |
| 222 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 98.9 | 5.7 | 99.8 |
| 223 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 99.2 | 2.1 | 99.8 |
| 224 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 99.2 | 0.1 | 99.8 |
| 225 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 99.1 | N/A | N/A |
| 226 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 99.1 | N/A | N/A |
| 227 | 0.4 | 98.9 | 0.3 | 99.1 | 1.5 | 99.8 |
| 228 | 0.3 | 99.2 | 0.3 | 99.1 | 2.0 | 99.8 |
| 229 | 0.5 | 98.9 | 0.6 | 98.8 | N/A | N/A |
| 230 | 0.5 | 99.0 | 0.6 | 98.9 | N/A | N/A |
| 231 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 99.0 | N/A | N/A |
| 232 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 99.0 | N/A | N/A |
| 233 | 0.3 | 99.1 | 0.3 | 99.1 | 6.2 | 99.8 |
| 234 | 0.3 | 99.1 | 0.3 | 99.1 | 6.2 | 99.7 |
| 235 | 0.6 | 98.9 | 0.5 | 98.9 | N/A | N/A |
| 236 | 0.6 | 98.9 | 0.6 | 98.8 | N/A | N/A |
| 237 | 0.4 | 98.9 | 0.4 | 99.0 | N/A | N/A |
| 238 | 0.4 | 98.9 | 0.4 | 98.9 | N/A | N/A |
| 239 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 99.8 |
| 240 | 0.4 | 99.0 | 0.3 | 99.2 | 1.2 | 99.8 |
| 241 | 0.7 | 98.7 | 0.6 | 98.8 | N/A | N/A |
| 242 | 0.6 | 98.7 | 0.6 | 98.8 | N/A | N/A |
| 243 | 0.4 | 99.0 | 0.5 | 98.9 | N/A | N/A |
| 244 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 99.0 | N/A | N/A |
| 245 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 99.0 | 5.8 | 99.8 |
| 246 | 0.7 | 98.8 | 0.3 | 99.2 | 7.2 | 99.8 |
| 247 | 0.4 | 99.0 | 0.6 | 98.8 | N/A | N/A |
| 248 | 0.6 | 98.8 | 0.6 | 98.8 | N/A | N/A |

[0103] 3.4光照试验检测结果

[0104] 光照试验检测结果如表14所示。

[0105] 表14

| | 光照 0d | | 光照 10d | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） | IEX 主峰（%） | IEX 酸性变异体（%） | IEX 碱性变异体（%） | 粒径（d.nm） |
| 193 | 0.3 | 98.7 | 0.8 | 98.3 | 0.1 | 99.9 | 18.5 | 23.3 | 58.2 | N/A |
| 194 | 0.3 | 98.7 | 0.8 | 98.2 | 0.1 | 99.8 | 18.4 | 23.4 | 58.2 | N/A |
| 195 | 0.3 | 98.7 | 0.9 | 98.2 | 1.3 | 99.8 | 18.3 | 23.6 | 58.1 | 12.39 |
| 196 | 0.3 | 98.6 | 0.9 | 98.1 | 0.2 | 99.8 | 17.9 | 23.4 | 58.7 | 13.78 |
| 197 | 0.3 | 98.6 | 0.9 | 98.1 | 0.3 | 99.8 | 18.1 | 23.7 | 58.2 | N/A |
| 198 | 0.3 | 98.6 | 0.9 | 98.2 | 1.6 | 99.8 | 17.9 | 23.7 | 58.4 | N/A |
| 199 | 0.3 | 98.6 | 1.2 | 97.8 | 1.5 | 99.8 | 17.4 | 24.5 | 58.1 | N/A |
| 200 | 0.3 | 98.6 | 1.2 | 97.7 | 1.7 | 99.9 | 17.4 | 25.3 | 57.4 | N/A |
| 201 | 0.3 | 98.7 | 1.5 | 97.4 | 0.2 | 99.8 | 17.6 | 22.4 | 60.0 | 12.73 |
| 202 | 0.3 | 98.6 | 1.5 | 97.3 | 0.2 | 99.8 | 18.0 | 22.1 | 60.0 | 13.46 |
| [0106] 203 | 0.3 | 98.6 | 1.5 | 97.3 | 1.5 | 99.8 | 17.7 | 22.8 | 59.5 | N/A |
| 204 | 0.3 | 98.5 | 1.6 | 97.3 | 0.2 | 99.9 | 17.7 | 22.5 | 59.8 | N/A |
| 205 | 0.3 | 98.6 | 1.5 | 97.4 | 1.8 | 99.8 | 17.7 | 23.2 | 59.1 | N/A |
| 206 | 0.3 | 98.5 | 1.6 | 97.3 | 2.3 | 99.8 | 17.7 | 22.8 | 59.5 | N/A |
| 207 | 0.3 | 98.6 | 1.7 | 97.1 | 3.1 | 99.8 | 17.4 | 23.5 | 59.0 | N/A |
| 208 | 0.3 | 98.5 | 1.6 | 97.3 | 2.7 | 99.9 | 16.9 | 24.0 | 59.1 | N/A |
| 209 | 0.3 | 98.6 | 1.2 | 97.7 | 0.2 | 99.8 | 17.7 | 23.0 | 59.3 | 13.49 |
| 210 | 0.3 | 98.7 | 1.1 | 97.8 | 0.2 | 99.8 | 17.8 | 23.3 | 58.9 | 12.82 |
| 211 | 0.3 | 98.7 | 1.3 | 97.6 | 0.3 | 99.8 | 17.8 | 23.8 | 58.5 | 12.79 |
| 212 | 0.3 | 98.6 | 1.1 | 97.6 | 0.4 | 99.8 | 17.6 | 23.5 | 58.9 | 13.75 |
| 213 | 0.3 | 98.6 | 1.2 | 97.7 | 0.5 | 99.8 | 17.5 | 24.1 | 58.4 | N/A |
| 214 | 0.3 | 98.5 | 1.1 | 97.8 | 0.6 | 99.8 | 17.9 | 23.8 | 58.3 | N/A |
| 215 | 0.4 | 98.2 | 1.3 | 97.6 | 3.1 | 99.8 | 17.4 | 24.8 | 57.8 | N/A |
| 216 | 0.4 | 99.0 | 1.2 | 97.8 | 0.8 | 99.6 | 17.4 | 24.4 | 58.3 | N/A |
| 217 | 0.5 | 98.9 | 1.0 | 97.9 | 0.3 | 99.7 | 18.0 | 23.2 | 58.7 | 12.66 |

[0107]

| | 光照 0d | | 光照 10d | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） | IEX 主峰（%） | IEX 酸性变异体（%） | IEX 碱性变异体（%） | 粒径（d.nm） |
| 218 | 0.5 | 98.8 | 1.3 | 97.6 | 0.6 | 99.8 | 17.8 | 22.6 | 59.7 | 13.15 |
| 219 | 0.4 | 99.2 | 1.6 | 97.3 | 1.2 | 99.7 | 17.7 | 22.7 | 59.6 | N/A |
| 220 | 0.5 | 98.8 | 1.1 | 97.9 | 4.3 | 99.8 | 18.0 | 22.8 | 59.2 | N/A |
| 221 | 0.5 | 98.8 | 1.3 | 97.6 | 6.2 | 99.8 | 17.6 | 23.3 | 59.1 | N/A |
| 222 | 0.4 | 99.0 | 1.4 | 97.6 | 5.8 | 99.8 | 17.6 | 23.2 | 59.2 | N/A |
| 223 | 0.4 | 99.1 | 1.6 | 97.3 | 3.0 | 99.8 | 17.4 | 23.5 | 59.1 | N/A |
| 224 | 0.4 | 99.1 | 1.6 | 97.3 | 5.4 | 99.7 | 17.3 | 23.9 | 58.9 | N/A |
| 225 | 0.4 | 99.1 | 0.6 | 98.3 | 1.1 | 99.7 | 16.9 | 28.8 | 54.4 | 12.03 |
| 226 | 0.4 | 99.0 | 0.6 | 98.4 | 1.4 | 99.6 | 16.4 | 28.8 | 54.8 | 12.94 |
| 227 | 0.4 | 98.9 | 0.7 | 98.1 | 1.6 | 99.6 | 16.5 | 30.1 | 53.5 | N/A |
| 228 | 0.3 | 99.2 | 0.6 | 98.2 | 1.7 | 99.6 | 16.3 | 30.4 | 53.4 | N/A |
| 229 | 0.5 | 98.9 | 0.8 | 98.1 | 0.4 | 99.6 | 15.4 | 32.2 | 52.5 | N/A |
| 230 | 0.5 | 99.0 | 0.8 | 98.1 | 1.4 | 99.6 | 15.5 | 31.7 | 52.9 | N/A |
| 231 | 0.4 | 99.0 | 0.7 | 98.3 | 5.1 | 99.6 | 16.9 | 27.3 | 55.8 | N/A |
| 232 | 0.4 | 99.1 | 0.7 | 98.2 | 4.5 | 99.7 | 17.2 | 26.4 | 56.4 | N/A |
| 233 | 0.3 | 99.1 | 0.5 | 98.5 | 5.9 | 99.6 | 16.9 | 27.2 | 55.9 | N/A |
| 234 | 0.3 | 99.1 | 0.7 | 98.2 | 6.6 | 99.5 | 16.5 | 28.4 | 55.1 | N/A |
| 235 | 0.6 | 98.9 | 0.8 | 98.1 | 3.1 | 99.6 | 16.7 | 29.4 | 53.9 | N/A |
| 236 | 0.6 | 98.9 | 0.9 | 98.1 | 3.8 | 99.6 | 15.9 | 29.6 | 54.5 | N/A |
| 237 | 0.4 | 98.9 | 0.7 | 98.2 | 0.8 | 99.6 | 16.6 | 28.1 | 55.3 | 11.7 |
| 238 | 0.4 | 98.9 | 0.7 | 98.3 | 0.9 | 99.6 | 16.6 | 28.3 | 55.1 | 12.78 |
| 239 | 0.4 | 99.1 | 0.7 | 98.1 | 0.8 | 99.6 | 16.4 | 30.2 | 53.3 | 12.07 |
| 240 | 0.4 | 99.0 | 0.6 | 98.2 | 0.9 | 99.7 | 16.6 | 29.4 | 54.0 | 13.09 |
| 241 | 0.7 | 98.7 | 0.9 | 98.1 | 2.5 | 99.5 | 16.9 | 29.7 | 53.4 | N/A |
| 242 | 0.6 | 98.7 | 0.9 | 98.0 | 2.5 | 99.5 | 16.1 | 30.1 | 53.8 | N/A |
| 243 | 0.4 | 99.0 | 0.8 | 98.2 | 2.1 | 99.6 | 16.7 | 27.1 | 56.2 | N/A |
| 244 | 0.4 | 99.0 | 0.8 | 98.1 | 2.0 | 99.6 | 16.6 | 27.5 | 55.9 | N/A |

[0108]

| | 光照 0d | | 光照 10d | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） | IEX 主峰（%） | IEX 酸性变异体（%） | IEX 碱性变异体（%） | 粒径（d.nm） |
| 245 | 0.4 | 99.1 | 0.7 | 98.0 | 2.4 | 99.6 | 16.6 | 28.7 | 54.7 | N/A |
| 246 | 0.7 | 98.8 | 0.7 | 98.1 | 2.2 | 99.6 | 16.5 | 28.6 | 54.9 | N/A |
| 247 | 0.4 | 99.0 | 0.9 | 97.9 | 2.1 | 99.7 | 16.4 | 29.0 | 54.6 | N/A |
| 248 | 0.6 | 98.8 | 0.9 | 98.0 | 2.4 | 99.7 | 16.4 | 29.1 | 54.5 | N/A |

[0109] 3.5高温试验检测结果

[0110] 高温试验检测结果如表15所示。

[0111] 表15

[0112]

| | 高温 0d | | 高温 10d | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） | IEX 主峰（%） | IEX 酸性变异体（%） | IEX 碱性变异体（%） | 粒径（d.nm） |
| 193 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 97.8 | 2.0 | 99.5 | 17.2 | 35.1 | 47.8 | N/A |
| 194 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 97.8 | 2.3 | 95.2 | 16.5 | 34.9 | 48.4 | N/A |
| 195 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.0 | 3.3 | 95.0 | 16.0 | 37.7 | 46.3 | 12.5 |
| 196 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 97.9 | 0.9 | 99.6 | 16.5 | 36.6 | 46.9 | 13.02 |
| 197 | 0.3 | 98.6 | 0.5 | 98.0 | 3.3 | 99.7 | 15.5 | 38.5 | 46.0 | N/A |
| 198 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 98.1 | 4.6 | 99.7 | 15.3 | 38.9 | 45.9 | N/A |
| 199 | 0.3 | 98.6 | 0.5 | 98.1 | 3.5 | 99.7 | 13.7 | 40.3 | 46.0 | N/A |
| 200 | 0.3 | 98.6 | 0.5 | 98.1 | 5.1 | 99.4 | 13.4 | 41.0 | 45.6 | N/A |
| 201 | 0.3 | 98.7 | 0.5 | 97.2 | 0.7 | 99.6 | 14.2 | 40.6 | 45.2 | 13.25 |
| 202 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 97.3 | 2.8 | 99.6 | 13.9 | 40.3 | 45.8 | 13.29 |
| 203 | 0.3 | 98.6 | 0.5 | 97.6 | 3.5 | 99.7 | 13.3 | 41.4 | 45.3 | N/A |
| 204 | 0.3 | 98.5 | 0.4 | 97.6 | 4.0 | 99.7 | 13.6 | 41.4 | 45.0 | N/A |
| 205 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 97.9 | 2.4 | 99.6 | 13.1 | 43.1 | 43.8 | N/A |
| 206 | 0.3 | 98.5 | 0.4 | 97.8 | 5.2 | 99.7 | 13.2 | 42.5 | 44.2 | N/A |
| 207 | 0.3 | 98.6 | 0.5 | 98.0 | 6.9 | 99.7 | 11.7 | 46.0 | 42.3 | N/A |
| 208 | 0.3 | 98.5 | 0.5 | 98.0 | 8.0 | 99.7 | 14.2 | 38.7 | 47.0 | N/A |

[0113]

| | 高温 0d | | 高温 10d | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） | IEX 主峰（%） | IEX 酸性变异体（%） | IEX 碱性变异体（%） | 粒径（d.nm） |
| 209 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 97.8 | 0.2 | 99.7 | 17.3 | 36.7 | 46.1 | 12.58 |
| 210 | 0.3 | 98.7 | 0.5 | 97.7 | 0.2 | 99.8 | 13.6 | 43.1 | 43.4 | 12.82 |
| 211 | 0.3 | 98.7 | 0.5 | 97.9 | 0.4 | 99.9 | 13.5 | 44.5 | 42.0 | 12.38 |
| 212 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 98.0 | 0.5 | 99.8 | 13.4 | 44.5 | 42.1 | 13.11 |
| 213 | 0.3 | 98.6 | 0.5 | 97.9 | 0.6 | 99.5 | 13.1 | 45.2 | 41.8 | N/A |
| 214 | 0.3 | 98.5 | 0.5 | 98.0 | 0.4 | 100.0 | 13.1 | 44.6 | 42.4 | N/A |
| 215 | 0.4 | 98.2 | 0.5 | 98.1 | 7.4 | 99.8 | 12.3 | 46.0 | 41.7 | N/A |
| 216 | 0.4 | 99.0 | 0.5 | 98.2 | 6.2 | 100.0 | 12.5 | 45.8 | 41.7 | N/A |
| 217 | 0.5 | 98.9 | 0.5 | 97.2 | 0.5 | 99.5 | 13.9 | 38.9 | 47.2 | 12.64 |
| 218 | 0.5 | 98.8 | 0.5 | 97.3 | 0.7 | 99.9 | 14.2 | 38.1 | 47.8 | 13.07 |
| 219 | 0.4 | 99.2 | 0.5 | 97.6 | 2.9 | 99.5 | 13.8 | 39.7 | 46.4 | N/A |
| 220 | 0.5 | 98.8 | 0.5 | 97.6 | 1.8 | 99.9 | 13.6 | 39.1 | 47.2 | N/A |
| 221 | 0.5 | 98.8 | 0.5 | 97.8 | 4.9 | 99.9 | 13.4 | 40.7 | 45.9 | N/A |
| 222 | 0.4 | 99.0 | 0.5 | 97.8 | 5.1 | 99.7 | 13.5 | 40.3 | 46.2 | N/A |
| 223 | 0.4 | 99.1 | 0.6 | 98.0 | 6.5 | 98.0 | 12.6 | 42.5 | 44.9 | N/A |
| 224 | 0.4 | 99.1 | 0.5 | 98.0 | 5.7 | 99.7 | 12.9 | 41.4 | 45.6 | N/A |
| 225 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 98.4 | 0.8 | 99.9 | 12.5 | 40.0 | 47.5 | 12.26 |
| 226 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 98.2 | 0.3 | 99.9 | 12.7 | 39.8 | 47.5 | 12.32 |
| 227 | 0.4 | 98.9 | 0.3 | 98.3 | 1.9 | 99.8 | 12.1 | 41.7 | 46.3 | N/A |
| 228 | 0.3 | 99.2 | 0.3 | 98.3 | 2.0 | 99.9 | 12.3 | 41.4 | 46.4 | N/A |
| 229 | 0.5 | 98.9 | 0.6 | 98.2 | 4.9 | 99.8 | 10.0 | 45.1 | 45.0 | N/A |
| 230 | 0.5 | 99.0 | 0.6 | 98.1 | 1.9 | 99.6 | 11.3 | 43.6 | 45.1 | N/A |
| 231 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 98.3 | 4.2 | 99.8 | 12.4 | 39.5 | 48.1 | N/A |
| 232 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 98.2 | 2.3 | 99.6 | 12.6 | 38.4 | 49.0 | N/A |
| 233 | 0.3 | 99.1 | 0.3 | 98.4 | 2.9 | 99.8 | 12.2 | 40.0 | 47.9 | N/A |
| 234 | 0.3 | 99.1 | 0.4 | 98.3 | 2.9 | 99.8 | 12.0 | 40.3 | 47.8 | N/A |
| 235 | 0.6 | 98.9 | 0.6 | 98.1 | 3.1 | 99.8 | 11.0 | 42.2 | 46.9 | N/A |

[0114]

| | 高温 0d | | 高温 10d | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 序号 | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | NR-CE-chip-SDS（%） | R-CE-chip-SDS（%） | IEX 主峰（%） | IEX 酸性变异体（%） | IEX 碱性变异体（%） | 粒径（d.nm） |
| 236 | 0.6 | 98.9 | 0.6 | 98.1 | 3.0 | 99.8 | 11.2 | 42.0 | 46.9 | N/A |
| 237 | 0.4 | 98.9 | 0.4 | 98.1 | 2.5 | 99.8 | 12.6 | 38.6 | 48.8 | 12.99 |
| 238 | 0.4 | 98.9 | 0.4 | 98.2 | 0.3 | 99.8 | 12.6 | 38.3 | 49.2 | 12.47 |
| 239 | 0.4 | 99.1 | 0.4 | 98.2 | 0.5 | 99.8 | 14.2 | 37.8 | 48.0 | 11.78 |
| 240 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 98.2 | 0.5 | 99.8 | 14.2 | 37.9 | 47.9 | 12.74 |
| 241 | 0.7 | 98.7 | 0.6 | 98.0 | 0.6 | 99.8 | 13.6 | 41.0 | 45.3 | N/A |
| 242 | 0.6 | 98.7 | 0.6 | 98.0 | 2.9 | 99.8 | 12.1 | 41.5 | 46.4 | N/A |
| 243 | 0.4 | 99.0 | 0.5 | 98.1 | 2.4 | 99.8 | 14.2 | 36.2 | 49.6 | N/A |
| 244 | 0.4 | 99.0 | 0.4 | 98.1 | 1.5 | 99.7 | 14.4 | 36.2 | 49.5 | N/A |
| 245 | 0.4 | 99.1 | 0.3 | 98.3 | 2.1 | 99.8 | 12.5 | 39.0 | 48.5 | N/A |
| 246 | 0.7 | 98.8 | 0.3 | 98.3 | 2.2 | 99.8 | 12.4 | 39.0 | 48.6 | N/A |
| 247 | 0.4 | 99.0 | 0.6 | 97.9 | 2.1 | 99.7 | 11.5 | 41.9 | 46.6 | N/A |
| 248 | 0.6 | 98.8 | 0.6 | 98.0 | 2.1 | 99.7 | 11.6 | 41.3 | 47.2 | N/A |

[0115] 3.6震荡试验

[0116] 根据冻融、光照、高温试验结果，以醋酸缓冲体系pH4.8、5.0等16组条件进行震荡试验，进一步优化本发明抗体的缓冲体系。

[0117] 3.6.1包装及放置条件

[0118] 包装及放置条件如表16所示。

[0119] 表16

[0120]

| 样品 | 包装 | 影响因素 | 放置条件 |
|---|---|---|---|
| | 15ml 离心管 | 震荡 | S1、T2 |

[0121] 3.6.2检测项目

[0122] 震荡试验的检测项目和条件如表17所示。

[0123] 表17

[0124]

| 项目 | 检测样品 | 0 点 | 震荡 10d |
|---|---|---|---|

[0125]

| | | | |
|---|---|---|---|
| SEC-UPLC | 193-196、201-204、209-212、217-220 | + | + |
| 不溶性微粒 | 193-196、201-204、209-212、217-220 | - | + |

[0126] 3.6.3震荡试验结果

[0127] 震荡试验结果如表18所示。

[0128] 表18

[0129]

| 序号 | 震荡 0d | | 震荡 10d | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | SEC 聚体峰（%） | SEC 单体峰（%） | 不溶性微粒 | |
| | | | | | ≥10μm | ≥25μm |
| 193 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.8 | 772 | 7 |
| 194 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.8 | 824 | 1 |
| 195 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.8 | 689 | 2 |
| 196 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 98.7 | 801 | 2 |
| 201 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.8 | 1456 | 11 |
| 202 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 98.7 | 2472 | 29 |
| 203 | 0.3 | 98.6 | 0.3 | 98.9 | 3931 | 5 |
| 204 | 0.3 | 98.5 | 0.3 | 99 | 3398 | 11 |
| 209 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 98.8 | 74 | 4 |
| 210 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.8 | 66 | 1 |
| 211 | 0.3 | 98.7 | 0.4 | 98.7 | 44 | 2 |
| 212 | 0.3 | 98.6 | 0.4 | 98.8 | 61 | 1 |
| 217 | 0.5 | 98.9 | 0.4 | 98.8 | 56 | 2 |
| 218 | 0.5 | 98.8 | 0.4 | 98.8 | 77 | 4 |
| 219 | 0.4 | 99.2 | 0.4 | 98.8 | 143 | 1 |
| 220 | 0.5 | 98.8 | 0.4 | 98.8 | 67 | 2 |

[0130] 3.7 Tm值及质谱检测

[0131] 根据震荡试验的结果，以样品序号为209、210、211、212、217和218的六组条件进行高温和光照条件下Tm值及质谱的氧化和糖基化检测，进一步优化本发明抗体的缓冲体系。高温和光照条件下Tm值及质谱的检测结果分别如表19和表20所示。

[0132] 表19

[0133]

| | 高温10d | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 氧化比例 | | | 糖基化比例 | | |
| 序号 | Tm值（℃） | LC | HC（PyrQ，-K，G0F） | HC（PyrQ，-K，G1F） | G0F（PyrQ，-K） | G1F（PyrQ，-K） | G0F/G1F（PyrQ，-K） |
| 209 | N/A | 7.04 | N/A | N/A | 77.28 | 20.71 | 3.73 |
| 210 | 64.92 | 6.01 | N/A | N/A | 76.88 | 20.7 | 3.71 |
| 211 | 69.66 | 5.71 | N/A | N/A | 75.77 | 21.04 | 3.19 |
| 212 | 70.11 | 5.99 | N/A | N/A | 76.03 | 21.36 | 2.62 |
| 217 | 71.49 | 6.03 | N/A | N/A | 77.37 | 20.81 | 3.72 |
| 218 | 68.94 | 6.02 | N/A | N/A | 77.24 | 20.72 | 3.73 |

[0134] 表20

[0135]

| | 光照10d | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 氧化比例 | | | 糖基化比例 | | |
| 序号 | Tm值（℃） | LC | HC（PyrQ，-K，G0F） | HC（PyrQ，-K，G1F） | G0F（PyrQ，-K） | G1F（PyrQ，-K） | G0F/G1F（PyrQ，-K） |
| 209 | N/A | 11.96 | N/A | N/A | 73.8 | 22.81 | 3.24 |
| 210 | N/A | 10.52 | N/A | N/A | 73.81 | 22.98 | 3.21 |
| 211 | 69.81 | 13.21 | N/A | N/A | 63.82 | 24.18 | 5.10 |
| 212 | 69.96 | 11.92 | N/A | N/A | 72.03 | 23.65 | 4.32 |
| 217 | 72.08 | 11.67 | N/A | N/A | 72.39 | 22.31 | 3.24 |
| 218 | 67.26 | 12.75 | N/A | N/A | 72.02 | 21.5 | 3.35 |

[0136] 3.8影响因素试验结果分析

[0137] 由表13中SEC、CE以及IEX的检测结果可知，醋酸盐及组氨酸盐两种缓冲体系下的样品，其在冻融20次后SEC的结果基本无变化趋势，且样品间的差异都较小；

[0138] 由表14中SEC、CE以及IEX的检测结果可知，光照10天对样品SEC聚合体均有一定影响，醋酸盐缓冲体系下的样品相较于组氨酸体系其SEC聚合体增长更多，在pH 4.8条件下(序号193～196)聚合体增长趋势与组氨酸缓冲体系持平，在IEX检测结果中，醋酸盐缓冲体系下酸性变异体的增加明显低于组氨酸体系；

[0139] 由表15中SEC、CE以及IEX的检测结果可知，高温10天后，所有样品产生的聚合体基本与0点一致，单体略降低1.0％，纵向比较IEX结果，可以发现醋酸缓冲体系中酸性变异体增加的幅度整体略低于组氨酸缓冲体系，在pH4.8时达到最佳(序号193～196、209、210、

217、218)；不同筛选条件中糖浓度、聚山梨酯浓度对于样品纯度的影响程度不大，加入氯化钠可以对酸性变异体的产生起到抑制作用。

[0140] 由表18中的震荡试验结果数据可知，样品在震荡10天后其SEC基本无较大变化趋势，样品间的差异也并不显著。从不溶性微粒的检测结果可知，不含聚山梨酯80的样品在经历震荡后其不溶性微粒明显增多，可确定聚山梨酯80的加入对保持蛋白稳定性起到关键性的作用。故选用含有聚山梨酯80的制剂处方继续进行了后续Tm值以及质谱的检测。

[0141] 由表19、20中Tm值以及质谱的检测结果可知，序号为217的样品，其热稳定性(Tm值)比其他处方条件下高，在氧化和糖基化比例中，各处方条件差异较小，序号为217和218的样品测试结果相对最好。

[0142] 3.9总结

[0143] 综合上述各项检测和分析，最终确定本发明抗体的制剂组分及含量如下：

[0144] 基础缓冲体系：醋酸：2.79g/L，醋酸钠三水合物：4.5g/L；

[0145] 辅料1：海藻糖二水合物：60g/L；

[0146] 辅料2：氯化钠：5.84g/L；

[0147] 辅料3：聚山梨酯80：1.0g/L；

[0148] 缓冲体系的pH：4.9。