



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102665691 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 27

(21) 申请号 201080052050. 4

(22) 申请日 2010. 11. 17

(30) 优先权数据

61/261, 859 2009. 11. 17 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 05. 17

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2010/006996 2010. 11. 17

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/060922 EN 2011. 05. 26

(73) 专利权人 益普生制药股份有限公司

地址 法国布洛涅 - 比扬古

(72) 发明人 E·戈皮纳特 S·帕克 荒川务

J·理查德 F·费斯

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 黄革生 林柏楠

(56) 对比文件

US 5597802 A, 1997. 01. 28,

CN 101505789 A, 2009. 08. 12, 说明书第3页  
第4段 - 第4页第5段.

US 6767892 B1, 2004. 07. 27, 实施例5-7.

EP 0955062 A1, 1999. 11. 10, 全文.

WO 9621460 A1, 1996. 07. 18, 实施例, 权利要求  
1-17.

US 5763394 A, 1998. 06. 09, 实施例, 第4栏  
7-28行.

WO 0103741 A1, 2001. 01. 18, 权利要求  
1-27, 实施例.

EP 1369125 A1, 2003. 12. 10, 第11页  
[0081]-[0083].

CA 2491478 A1, 2004. 01. 15, 全文.

审查员 徐寅

(51) Int. Cl.

A61K 9/19(2006. 01)

A61K 47/18(2006. 01)

A61K 9/00(2006. 01)

A61K 38/27(2006. 01)

A61K 38/30(2006. 01)

权利要求书2页 说明书28页 附图2页

(54) 发明名称

hGH 和 rhIGF-1 组合的制剂

(57) 摘要

本发明涉及药物组合物。更具体地, 本发明涉及生长激素 (GH) 和胰岛素样生长因子 (IGF-1) 组合组合物的制剂, 其在所希望的 pH 值下提供稳定的药物组合物而不形成聚集, 本发明还涉及其制备方法。

1. 药物组合物,该药物组合物包含 IGF-1 和 GH 以及
  - 非聚集剂;
  - 缓冲液;
  - 表面活性剂;
  - 防腐剂;和
  - 张力修饰剂,其中非聚集剂为组合物中存在的浓度范围为 80mM 至 200mM 的精氨酸, IGF-1:GH 重量比 (w/w) 范围为 1:1 至 9:1, 缓冲液选自组氨酸或柠檬酸盐,浓度范围为 1 至 50mM, 并且张力修饰剂是浓度为 1 至 50mM 的氯化钠。
2. 权利要求 1 的药物组合物,其中非聚集剂浓度范围为 100mM 至 150mM。
3. 权利要求 1 的药物组合物,所述缓冲液浓度范围为 10 至 20mM。
4. 权利要求 1 的药物组合物,其中表面活性剂是非离子型表面活性剂。
5. 权利要求 4 的药物组合物,其中非离子型表面活性剂是聚山梨酯 20,浓度范围为 0.1 至 0.3% (w/w)。
6. 权利要求 5 的药物组合物,其中非离子型表面活性剂是聚山梨酯 20,浓度为 0.2% (w/w)。
7. 权利要求 4 的药物组合物,其中非离子型表面活性剂是泊洛沙姆 188,浓度范围为 0.1 至 0.5% (w/w)。
8. 权利要求 7 的药物组合物,其中非离子型表面活性剂是泊洛沙姆 188,浓度为 0.3% (w/w)。
9. 权利要求 1 的药物组合物,其中防腐剂是苯甲醇或苯酚。
10. 权利要求 9 的药物组合物,其中防腐剂是苯甲醇,浓度范围为 0.2 至 2% (w/w)。
11. 权利要求 10 的药物组合物,其中防腐剂是苯甲醇,浓度为 1% (w/w)。
12. 权利要求 1 的药物组合物,其中 IGF-1:GH 重量比 (w/w) 范围为 1:1(w/w) 至 7:1(w/w)。
13. 权利要求 12 的药物组合物,其中 IGF-1:GH 重量比 (w/w) 范围为 1.1:1(w/w)、2.2:1(w/w)、3.3:1(w/w) 或 6.6:1(w/w) 的值。
14. 权利要求 1 的药物组合物,其中药物组合物的 pH 范围为 5.0 至 6.5。
15. 权利要求 14 的药物组合物,其中药物组合物的 pH 范围为 5.4 至 6.2。
16. 权利要求 14 的药物组合物,其中药物组合物的 pH 范围为 5.8 至 6.2。
17. 权利要求 1 的药物组合物,其为在预填充注射器或在注射器装置中所用的注射筒中的即用制剂。
18. 制备根据权利要求 1 的药物组合物的方法,该方法包括:
  - a) 在包含非聚集剂和张力修饰剂的 pH 5 至 6.5 的缓冲液中制备 hGH 溶液;
  - b) 通过将 IGF-1 制备物渗析到步骤 (a) 中所用的包含所述非聚集剂和所述张力修饰剂的缓冲液中制备 IGF-1 溶液;
  - c) 将表面活性剂和防腐剂加入至两种储备溶液中;以及
  - d) 将 hGH 溶液和 IGF-1 溶液混合在一起。

19. 制备根据权利要求 1 的药物组合物的方法,该方法包括:

- a) 通过混合缓冲液、非聚集剂、表面活性剂、防腐剂,以及任选用水调节体积来制备溶液 I,该溶液 I 具有或被调节至 pH 为 5.8;
- b) 在步骤 a) 中所用的缓冲液和非聚集剂中制备 IGF-1 溶液,得到溶液 II;
- c) 将溶液 II 加入至溶液 I 中,得到溶液 III;
- d) 通过混合缓冲液、非聚集剂、表面活性剂、防腐剂,以及任选用水调节体积来制备溶液 IV,该溶液 IV 具有或被调节至 pH 为 5.8;
- e) 在步骤 d) 中所用的缓冲液和非聚集剂中制备 GH 溶液,该 GH 任选包含碳酸氢钠缓冲液,以得到溶液 V;
- f) 将溶液 V 加入至溶液 IV 中,得到溶液 VI;
- g) 任选地,独立地过滤溶液 III 和 VI;
- h) 以 IGF-1:GH(w/w) 为 1:1 至 7:1(w/w) 的比例混合过滤的溶液 III 和 VI,得到溶液 VII;以及
- i) 任选地,过滤溶液 VII。

20. 根据权利要求 19 的方法,其中缓冲液是组氨酸,非聚集剂是精氨酸,表面活性剂是聚山梨酯 20,防腐剂是苯甲醇。

21. 权利要求 19 的方法,其中液体 GH 药物物质直接与溶液 IV 混合而不进行步骤 (e)。

22. 权利要求 19 的方法,其中 GH 药物物质包含碳酸氢钠缓冲液。

23. 权利要求 19 的方法,其中过滤步骤在 PVDF(聚偏氟乙烯)过滤器上进行。

24. 权利要求 19 的方法,其中非聚集剂是精氨酸,浓度范围为 100mM 至 150mM。

## hGH 和 rhIGF-1 组合的制剂

[0001] 本发明涉及药物组合物。更具体地,本发明涉及生长激素 (GH) 和胰岛素样生长因子 (IGF-1) 组合组合物的制剂。这些组合组合物在所希望的 pH 值下提供稳定的液体药物组合物而不形成可见的不溶性聚集物。

[0002] 本发明进一步提供了胰岛素样生长因子 1 (IGF-1) 和生长激素 (GH) 的制剂,其中蛋白质可以一起配制成可注射形式,或者分别配制并且在施用之前混合成单位剂量的可注射形式。

[0003] 胰岛素样生长激素属于称为生长调节素的多肽家族,并且是一种天然存在于人体体液中的多肽。大多数组织并且特别是肝脏产生 IGF-1 与特异性 IGF- 结合蛋白。IGF-1 刺激多种细胞类型的生长和分裂,特别是在发育过程中,因此,例如骨骼生长和细胞复制的过程均受 IGF-1 水平的影响。这些分子均受控于生长激素 (GH)。

[0004] IGF-1 是介导 GH 对骨的生长促进作用的主要蛋白质激素。IGF-1 是响应于 GH 而产生的,然后诱导随后的细胞响应,包括骨中的细胞响应。IGF-1 是由 70 个氨基酸组成的单链,具有 3 个分子内二硫键。IGF-1 的分子量为 7649 道尔顿,并且主要由肝脏作为一种内分泌激素产生,并且在靶组织中以旁分泌 / 自分泌方式产生。IGF-1 已经利用酵母和大肠杆菌 (*E. coli*) 大规模重组生产 (rhIGF-1)。

[0005] 生长激素或人生长激素 (hGH) 是由 191 个氨基酸组成的单链多肽。二硫键链接在第 53 位和第 165 位以及第 182 位和第 189 位。人 GH 是一种强效的合成代谢剂 (anabolic agent)。其中在垂体机能减退 (GH 缺乏) 的个体中最引人注目的作用在于加速导致身高增长的骨生长板软骨的线性增长。

[0006] 国际专利申请 W09118621 描述了两种蛋白质的组合的优点和协同作用。将 IGF-1 和 GH 共施用给哺乳动物导致生长增长超过单独使用 IGF-1 或 GH 实现的生长。增长等于当施用 IGF-1 时所观察到的生长和当施用 GH 时所观察到的生长的总和。

[0007] 国际专利申请 WO 2006/130769 中还公开了提高生长速度的方法和组合物。该研究主要涉及治疗方法和集中于患者反应的结果。描述了药物组合物,并且特别是在甘露醇、甘氨酸和 / 或在 pH 7.4 磷酸盐中配制的 IGF-1 和 GH 的混合物。如果要储存混合物,将其配制在缓冲液中,例如 pH 值为约 6 的含有在该 pH 值下增加 GH 溶解度的表面活性剂例如聚山梨酯 20 或泊洛沙姆 188 的柠檬酸盐。它还描述了添加无机盐和稳定剂的可行性。WO 2006/130769 中公开的制剂中没有使用非聚集剂。

[0008] 当将两种蛋白质合并并在溶液中时经常出现的问题是由于蛋白质 - 蛋白质相互作用形成复合物。这种复合物的形成特别受含蛋白质的溶液中浓度、温度、pH 值和缓冲液的变化影响。然后,该蛋白复合物可以形成引起蛋白质效力和活性损失的不溶性聚集物。

[0009] 此外,在药物制剂中,治疗性蛋白质的剂量是重要的,并且必须在可控范围内长期保存。往往需要使用增溶剂来获得并维持溶液中蛋白质的适合浓度,并且特别是溶解大量的蛋白质。美国专利 6,767,892 公开了含增溶化合物例如精氨酸、N-乙酰基精氨酸或盐酸胍 IGF-1 的 IGF-1 及其类似物的药物组合物。对组合物进行了测试,比较数据表明 IGF-1 在大于 5.0 的 pH 值下并且在冷藏温度下的溶解度增加。然而,该文献没有公开包含 IGF-1

与进一步的治疗性蛋白质组合的组合物。

[0010] 本发明的一个目的是制备包含 IGF-1 和生长激素 (GH) 的液体制剂,其在 4°C 下稳定至少 30 天,通过溶液的视觉澄清度证明没有显著的聚集。本发明的进一步的目的是用于制备包含 IGF-1 和 GH 的液体制剂的方法。

### 附图说明

[0011] 图 1 :显示通过分析性超速离心 IGF-1 溶液、GH 溶液和这两种溶液的 1:1 混合物获得的重叠沉降速度曲线。第一组曲线 (图 1) 是利用在 pH 6 时配制在 25mM 柠檬酸盐缓冲液中的蛋白质获得的,并且显示蛋白质之间的实质性关联的证据。

[0012] 图 2 :显示包含 100mM 精氨酸离子 (精氨酸) 的溶液的沉降曲线。该曲线显示精氨酸的存在产生指示溶液中高分子量聚集物的量减少的变化。

[0013] 阐明下述定义以举例说明和定义用来描述本发明各术语的含义和范围。

[0014] 根据本发明,术语“非聚集剂”涉及当将蛋白质置于溶液中时防止或减少不溶性蛋白质聚集物形成的化合物。

[0015] 术语“IGF-1”指胰岛素样生长因子 -1,其来自任何物种,包括但不限于牛科动物、羊、猪科动物、鸟类并且优选人的天然序列或变体形式以及来自天然合成或重组的任何来源。

[0016] 优选地,IGF-1 是如例如 US 6,331,414 所述重组产生的。更优选地,IGF-1 是市售产品 INCRELEX™ 中的活性药物成分。

[0017] 术语“rhIGF-1”指重组人 IGF-1。

[0018] 术语“GH”指生长激素,其来自任何物种,包括但不限于牛科动物、羊、猪科动物、鸟类并且优选人的天然序列或变体形式以及来自天然合成或重组的任何来源。

[0019] 术语“人生长激素”和“hGH”涉及通过包括天然来源的提取和纯化的方法和由重组细胞培养体系所产生的人生长激素,例如科学出版物“Direct expression in Escherichia coli of a DNA sequence coding for human growth hormone (编码人生长激素的 DNA 序列在大肠杆菌中的直接表达)”Goeddel & al, Nature 第 281 卷,1979 年 10 月中公开的。hGH 的序列在例如 Hormone Drugs, Gueriguian 等人,USP convention, Rockville, MD (1982) 中已阐明。该术语还包括生物活性的人激素等价物,例如包括整个序列中一个或多个不同的氨基酸。此外,本申请中所用的术语旨在包括替换、删除和插入 hGH 的氨基酸变体,即经翻译后修饰的一种或多种 hGH 的类似物和 / 或同系物。通常使用的两个物种是 191 个氨基酸的天然物种 (生长激素) 和 192 个氨基酸的 N- 末端甲硫氨酸物种,都是重组获得的。

[0020] 优选使用在大肠杆菌中产生的甲硫氨酰基人生长激素 (met-hGH),由 Genentech, Inc. 以商标 **PROTROPIN**® 出售,并且除了存在 N- 末端甲硫氨酸残基之外其与天然多肽相同。还优选的是可从 Genentech, Inc. 获得的商标为 **NUTROPIN**® 的重组 hGH。更优选的是可从 Genentech, Inc. 获得的商标为 **NUTROPIN AQ**® 的重组 rhGH 注射用液体。

[0021] 本文所用的术语“缓冲液”指 pH 优选为 5-6.5 的可药用缓冲液。适合的缓冲液包括但不限于醋酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、琥珀酸盐缓冲液和氨基酸缓冲

液,例如组氨酸缓冲液及其所有盐。

[0022] 本文所用的术语“防腐剂”意指防止通过微生物生长或不期望的化学变化引起分解的可药用物质。

[0023] 本文所用的术语“表面活性剂”意指通过降低溶剂(例如水)的表面张力或两种不互溶液体之间的界面张力从而实现分散或混悬的可药用物质。适合表面活性剂例如为非离子型表面活性剂,例如聚山梨酯或泊洛沙姆。

[0024] 本文所用的术语“填充剂”意指用于增加固体的量的可药用物质,并且例如蔗糖、海藻糖和甘露醇,但不限于所列举的那些。

[0025] 术语“张力修饰剂”指给缓冲溶液提供重量克分子渗透浓度的等渗修饰剂或渗透压调节剂或渗透调节物质。重量克分子渗透浓度指由离子和非离子化分子提供给溶液的总渗透活性,所述溶液包括无机盐例如氯化钠和氯化钾、聚乙二醇(PEG)、聚丙烯、二元醇、甘氨酸、甘油。

[0026] 本文所用的术语“冻干”指经历本领域中已知的称为冻干的方法的制剂,所述冻干包括将制剂冷冻并且随后将冷冻内容物中的冰除掉。

[0027] 本文所用的术语“氨基酸”表示氨基酸(游离氨基酸,即不是多肽或蛋白质序列中的氨基酸)。本文所用的氨基酸包括但不限于例如精氨酸、甘氨酸、赖氨酸、组氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、丝氨酸、甲硫氨酸和脯氨酸。

[0028] 术语“IRF”或“立即释放制剂”指药物组合物或药物组合物的混合物,优选是液体形式,其中不存在于患者体内的药物施用部位调节药物活性物质在组织中的生物利用度的载体。

[0029] 本文所用的术语“非聚集剂”指当蛋白质在溶液中混合在一起时防止它们相互作用形成复合物和/或聚集物的产品。

[0030] 根据本发明,该药物组合物包含 rhIGF-1 和 rhGH 以及

[0031] • 非聚集剂;

[0032] • 缓冲液;

[0033] • 表面活性剂;

[0034] • 任选的防腐剂;以及

[0035] • 任选的张力修饰剂或填充剂。

[0036] 其中组合物中存在的非聚集剂的浓度为至少 80mM。

[0037] 本发明的药物组合物的特征在于两种活性成分 IGF-1 和 GH 存在于单一制剂中。本文所用的“单一制剂”还称为“共制剂(co-formulation)”或“共混合物(co-mix)”。术语共制剂或共混合物在本文中可互换使用。

[0038] 优选地,两种活性成分是人 IGF-1 和 GH,在本文中还称为 hIGF-1 和 hGH。进一步优选的是两种活性成分通过重组方法产生。

[0039] 在优选的实施方案中,本发明的药物组合物是液体组合物。进一步优选的是它是多剂量组合物。在多剂量组合物的实施方案中,优选存在防腐剂。

[0040] 在进一步的方面中,本发明涉及用于制备包含 IGF-1 和 GH 的药物组合物的方法。用于制备药物组合物的本发明的一种方法可如下进行:

[0041] a) 在包含非聚集剂、张力修饰剂或填充剂的 pH 5 至 6.5 的缓冲液中制备 hGH 溶

液；

[0042] b) 通过将 IGF-1 制备物渗析到步骤 (a) 中所用的包含所述非聚集剂和所述张力修饰剂或填充剂的缓冲液中制备 IGF-1 溶液；

[0043] c) 将表面活性剂和任选的防腐剂加入至两种储备溶液中；以及

[0044] d) 将 hGH 溶液和 IGF-1 溶液混合在一起。

[0045] 在该方法的实施方案中，在步骤 (a) 中，将冻干的 hGH 溶解在缓冲液中，或者将液体 hGH (例如在碳酸氢盐缓冲液中的约 20mg/mL 溶液) 缓冲交换至适合 pH、优选约 5 至 6.5 的另一种缓冲液中，优选柠檬酸盐、琥珀酸盐或组氨酸缓冲液，该缓冲液包含浓度范围为 80 至 200mM、优选范围为约 100mM 至约 150mM 的非聚集剂。任选地，步骤 (a)、(b)、(c) 或 (d) 中的任何步骤制备的至少一种溶液包含防腐剂，优选苯酚或苯甲醇。

[0046] 在本文存在的成分的量的情形中，术语“约”意指该量的变化可以小于  $\pm 20\%$  或小于  $\pm 15\%$  或小于  $\pm 10\%$  或小于  $\pm 5\%$ 。

[0047] 在步骤 (b) 中，将冻干的 IGF-1 溶解在缓冲液中，或者将液体 IGF-1 (例如在柠檬酸盐缓冲液中的约 20-35mg/mL 溶液) 缓冲交换至适合 pH、优选约 5 至 6.5 的另一种缓冲液中，优选柠檬酸盐、琥珀酸盐或组氨酸，该缓冲液包含浓度范围为约 80 至约 200mM 的非聚集剂。

[0048] 然后，将独立制备的两种溶液混合在一起。

[0049] 用于制备药物组合物的可替代方法也包括在本发明中。

[0050] 根据本发明，用于制备本发明药物组合物的可替代方法包括：

[0051] a) 通过混合缓冲液、优选组氨酸缓冲液，非聚集剂、优选精氨酸，表面活性剂、优选聚山梨酯 20，任选的防腐剂、优选苯甲醇，以及任选用水调节体积来制备溶液 I，该溶液 I 具有或被调节至 pH 为约 5.8；

[0052] b) 在步骤 a) 中所用的缓冲液和非聚集剂中制备 IGF-1 溶液，得到溶液 II；

[0053] c) 将溶液 II 加入至溶液 I 中，得到溶液 III；

[0054] d) 通过混合缓冲液、优选组氨酸，非聚集剂、优选精氨酸，表面活性剂、优选聚山梨酯 20，任选的防腐剂、优选苯甲醇，以及任选用水调节体积来制备溶液 IV，该溶液 IV 具有或被调节至 pH 为约 5.8；

[0055] e) 在步骤 d) 中所用的缓冲液和非聚集剂中制备 GH 溶液，该 GH 任选包含碳酸氢钠缓冲液，以得到溶液 V；

[0056] f) 将溶液 V 加入至溶液 IV 中，得到溶液 VI；

[0057] g) 任选地，独立地过滤溶液 III 和 VI；

[0058] h) 以 IGF-1:GH(w/w) 的比例为约 1:1 至 7:1(w/w)、优选 1.1:1(w/w)、3.3:1(w/w) 和 6.6:1 混合过滤的溶液 III 和 VI，得到溶液 VII；以及

[0059] i) 任选地，过滤溶液 VII。

[0060] 步骤 (b) 和 (e) 可以例如通过以下进行：将包含 IGF-1 或 GH 的溶液渗滤到适合的缓冲液和非聚集剂中或任何其它适合的溶液中，得到溶液 II 和 IV。

[0061] 在一个实施方案中，溶液 I 和溶液 IV 相同。在该实施方案中，步骤 (d) 不存在，即未制备溶液 IV。将溶液 V 与溶液 I 简单混合，得到溶液 VI。

[0062] 在一个实施方案中，溶液 II 和 IV 可以包含填充剂，例如蔗糖或甘露醇。

[0063] 在一个实施方案中,液体 GH 药物物质(即包含 GH、优选 hGH 并且更优选 rhGH 的溶液)与溶液 IV 直接混合,不需要任何预先缓冲液更换或根据步骤 e) 渗透到缓冲液和非聚集剂中,即不需要进行上文所述的步骤 e)。

[0064] 因此,在该实施方案中,该方法包括下述步骤:

[0065] a) 通过混合缓冲液、优选组氨酸缓冲液,非聚集剂、优选精氨酸,表面活性剂、优选聚山梨酯 20,任选的防腐剂、优选苯甲醇,以及任选用水调节体积来制备溶液 I,该溶液 I 具有或被调节至 pH 为约 5.8;

[0066] b) 在步骤 a) 中所用的缓冲液和非聚集剂中制备 IGF-1 溶液,得到溶液 II;

[0067] c) 将溶液 II 加入至溶液 I 中,得到溶液 III;

[0068] d) 通过混合缓冲液、优选组氨酸,非聚集剂、优选精氨酸,表面活性剂、优选聚山梨酯 20,任选的防腐剂、优选苯甲醇,以及任选用水调节体积来制备溶液 IV,该溶液 IV 具有或被调节至 pH 为约 5.8;

[0069] e)-变通实施方案:将任选包含碳酸氢钠缓冲液的 GH 药物物质加入至溶液 IV 中,得到溶液 VI;

[0070] f) 任选地,独立地过滤溶液 III 和 VI;

[0071] g) 以 IGF-1:GH(w/w) 的比例为约 1:1 至 7:1(w/w)、优选 1.1:1(w/w)、3.3:1(w/w) 和 6.6:1 混合过滤的溶液 III 和 VI,得到溶液 VII;以及

[0072] h) 任选地,过滤溶液 VII。

[0073] 在该变通方法的实施方案中,溶液 I 和溶液 IV 是相同的。在该实施方案中,步骤(d) 不存在,即未制备溶液 IV,并且将 GH 药物物质与溶液 I 简单混合,得到溶液 VI。

[0074] 优选地,液体 hGH 药物物质是在浓度为约 6-10mM、优选 7.5mM 的碳酸氢盐缓冲液中的约 20mg/mL hGH 溶液,并且未经初步渗滤而稀释到适合 pH、优选约 5 至 6.2 的缓冲液中,该缓冲液优选为柠檬酸盐、琥珀酸盐或组氨酸,并且任选包含浓度范围为约 80 至 200mM、优选约 100mM 或约 150mM 的非聚集剂。

[0075] 在另一个实施方案中,将液体 IGF-1(例如在 200mM 柠檬酸盐缓冲液中的约 20-35mg/mL 溶液)缓冲交换至适合 pH、优选约 5 至 6.5 的另一种缓冲液中,优选柠檬酸盐、琥珀酸盐或组氨酸缓冲液,该缓冲液任选包含浓度范围为约 80 至约 200mM、优选约 100mM 至约 150mM 的非聚集剂。然后,将两种独立制备的溶液混合在一起。

[0076] 过滤可以通过任何适合的方法进行,例如基于纤维素的过滤器或 PES(聚醚砜)过滤器。在优选的实施方案中,所有溶液的过滤(混合溶液之前和之后)可以利用对蛋白质的亲和力低的 0.22 微米的过滤器例如聚偏二氟乙烯(PVDF)过滤器来进行。过滤器的膜的分子量限度优选为约 5kDa 或约 3kDa。

[0077] 有利地,本发明的药物组合物稳定至少 1 个月、3 个月、6 个月、9 个月、1 年或长达 2 年。

[0078] 在进一步的方面中,本发明包括精氨酸作为包含 IGF-1 和 GH、优选 hIGF-1 和 hGH、更优选 rhIGF-1 和 rhGH 的液体药物组合物中的非聚集剂的用途,其中精氨酸的浓度范围为约 80mM 至约 200mM,即例如约 80mM、约 90mM、约 100mM、约 110mM、约 120mM、约 130mM、约 140mM、约 150mM、约 160mM、约 170mM、约 180mM、约 190mM 或 200mM。

[0079] 已经发现将氨基酸包含在药物组合物中能够使 IGF-1 和 GH 的混合物一起配制成

澄清的溶液制剂,在随后于 2 至 8°C 冷藏至少 30 天、优选至少 6 个月、更优选至少 12 个月的过程中,混合物的视觉澄清晰度未损失。

[0080] 在本发明的优选实施方案中,当储存在 -20°C 或者 2°C 至 8°C 的温度下时,制剂稳定至少 18 个月。

[0081] 在一个实施方案中,本发明包括活性成分人胰岛素样生长因子 1 (hIGF-1) 和人生长激素 (hGH) 的稳定的共互溶制剂。在优选的实施方案中,活性成分是通过重组方法产生的并且命名为 rhIGF-1 和 rhGH。

[0082] 该制剂包含 rhIGF-1 和 rhGH、非聚集剂和缓冲液。所述制剂可以包含表面活性剂,优选非离子型表面活性剂,任选的防腐剂以及任选的张力修饰剂和 / 或填充剂。

[0083] 优选地,能够使 IGF-1 和 GH 的混合物一起配制成澄清的溶液制剂的氨基酸是精氨酸或赖氨酸、更优选精氨酸(例如精氨酸离子)。

[0084] 优选地,在一起混合在澄清的溶液制剂中之前,将用作非聚集剂的氨基酸分别加入到每种溶液中。更优选地,非聚集剂在澄清溶液中的最终浓度的浓度范围为约 80mM 至约 200mM,或者浓度范围为约 100mM 至约 180mM,或者浓度范围为约 120 至约 160mM,或者浓度为约 150mM。

[0085] 将 pH 调节到值的范围为约 5 至约 7、优选约 5.5 至约 6.5、更优选约 5.8 至 6.2。在 pH 值的情形中,术语“约”意指 pH 值可变化  $\pm 0.2$  或  $\pm 0.1$ 。溶液的 pH 可以通过任何适合的方法调节,例如,加入适当量的酸性溶液,例如柠檬酸盐,或者优选 HCl。

[0086] 根据在本发明,应用的 pH 可以例如为 5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5,优选为 5.8、6.2 或约 6.5。

[0087] 在另外的实施方案中,渗透修饰剂或张力修饰剂可以是无机盐。如果包括的话,无机盐可以是例如氯化钠或氯化钾,优选氯化钠,在组合物中的存在浓度为 0 至 150mM,优选浓度为 1 至 50mM。

[0088] 此外,任选的防腐剂可以选自以下列举:苯酚、苯甲醇、间甲酚、氯丁醇。优选的防腐剂是苯酚或苯甲醇。防腐剂在组合物中的存在浓度可以是约 0.1 至 5%(w/w)、优选约 0.2 至 2%(w/w) 或者更优选约 1%。

[0089] 本发明中公开的组合物表面活性剂例如选自以下列举:聚山梨酯(吐温)或泊洛沙姆,例如聚山梨酯 80、聚山梨酯 20 或泊洛沙姆 188。优选地,表面活性剂是非离子型的,更优选聚山梨酯(吐温),例如聚山梨酯 80、聚山梨酯 20,或泊洛沙姆,例如泊洛沙姆 188,更优选聚山梨酯 20 或泊洛沙姆 188,浓度范围为约 0.01 至 3%(w/w),优选约 0.03 至 0.50%(w/w),更优选约 0.2%(w/w)。

[0090] 此外,缓冲液可以选自适合的 pH 为 5 至 6.5 的可药用缓冲液,例如柠檬酸钠或组氨酸或二者,优选醋酸盐缓冲液、柠檬酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液;氨基酸,例如组氨酸及其所有盐,优选的缓冲液是柠檬酸盐或组氨酸。优选地,最终组合物中存在的缓冲液的浓度为 1 至 100mM、优选 1 至 50mM 并且最优选约 10mM 或约 20mM。

[0091] 根据本发明,IGF-1 和 GH 的量分别为约 2 至 40mg/mL (IGF-1) 和约 1 至 12mg/mL (hGH),优选的量为约 5 至 20mg/mL (IGF-1) 和约 2 至 8mg/mL (hGH)。进一步优选的量为约 10mg/mL 的 IGF-1 和约 3mg/mL 的 hGH,或者约 13.2mg/mL 的 IGF-1 和 2mg/mL 的 GH。

[0092] IGF-1:GH 的重量比 (w/w) 范围优选为 1:1 至 9:1,或者可选择地为约 1:9 至 1:1。

更优选地, IGF-1:GH 的重量比 (w/w) 选自以下列举:9:1(w/w);6:1(w/w);3:1(w/w);2:1;3:7(w/w);1:1(w/w);1:2(w/w);1:5(w/w);7:3(w/w);9:1(w/w)。

[0093] IGF-1:GH 的更优选的重量比 (w/w) 选自 1.1:1、2.2:1、3.3:1 和 6.6:1。在一个实施方案中,该组合物包含 rhIGF-1 和 rhGH 的组合,浓度分别为约 10 至 30mg/mL (IGF-1) 和约 1 至 12mg/mL (rhGH),并且 IGF-1:GH 的重量比为约 9:1 至 1:9(w/w),约 0.01 至 3%(w/w) 的表面活性剂,任选的约为 0.1 至 5%(w/w) 的防腐剂,约 1 至 150mM 的缓冲液,优选柠檬酸盐或组氨酸,浓度范围为 80 至 200mM 的非聚集剂,例如精氨酸或赖氨酸。任选地,该组合物还可以包含一种或两种张力修饰剂,例如 NaCl、KCl, NaCl 和 KCl 的浓度为约 0 至 150mM 和 / 或填充剂,例如海藻糖、甘露醇、山梨醇或蔗糖,甘露醇、山梨醇、海藻糖或蔗糖为 1 至 10%(w/w)。

[0094] 此外,本发明涉及用于制备包含 IGF-1 和 GH 的组的药物组合物的方法。

[0095] 在本发明的药物制剂中,人生长激素和胰岛素样生长因子优选通过重组方法产生。

[0096] 在进一步的实施方案中,优选在本发明的组合物中,IGF-1 和 GH 可以各自以有效量或各自以次优的但合用时有有效的量施用给患者。优选地,这样的量为约 25 至 250 微克 IGF-1/kg 体重 / 天和约 0.05-0.5mg GH/kg 体重 / 周。

[0097] 优选地,药物制剂通过注射施用,该注射优选是非肠道的,例如通过皮下、肌肉、静脉内或输注途径,药物组合物将最优选作为每日推注使用,并且优选为立即释放制剂 (IRF)。

[0098] 待治疗患者优选为哺乳动物,特别是人,但其也可以是动物。

[0099] 在进一步的实施方案中,本发明提供了该组合物在制备用于治疗特征在于增加或控制血浆中生长激素的量的疾病的药物中的用途。

[0100] 特别地,本发明提供了用于治疗生长激素缺乏 (GDH);特纳综合征;普-威综合征 (PWS);出生体重极低的儿童身材矮小 (VLBW),成人 GDH 的方法和组合物。还比如内分泌紊乱,例如包括给患有特征在于部分内源性生长激素活性或信号传导的代谢紊乱的患者施用一定量的胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 和一定量的生长激素 (GH),其在联合治疗中有效改善患者的代谢异常。其中患者患有成人特发性身材矮小 (ISS) 综合征,其中该患者每天接受单次施用 IGF-1 并且每天接受单次施用 GH,并且其中该患者接受同时施用 IGF-1 和 GH。

[0101] 本发明还提供了用于患有特征在于部分内源性生长激素活性或信号传导病症的生长障碍的儿童的方法和组合物。这些引起儿童期障碍的生长持续到成年期,并且受影响的成年人可以患有多种代谢紊乱。

[0102] 根据本发明,hGH 和 hIGF-1 用作药物或药物组合物。

[0103] 本发明的一个有价值的优点是提供可用作预填充到容器、例如注射器或即用制剂中的组合物。

[0104] 下面的实施例用于举例说明本发明,但不限制本发明。

[0105] 实施例 1

[0106] 溶解度试验

[0107] 以 9:1 至 1:9 的体积比范围制备 **Increlex**<sup>®</sup> (10mg/mL 溶液,配制在 pH5.4 的 50mM 醋酸盐缓冲液中) 和 **Nutropin AQ**<sup>®</sup> (5mg/mL 溶液,配制在 pH6 的 10mM 柠檬酸盐

缓冲液中)的混合物。该混合物立即或在混合的几小时内表现出不同程度的可见沉淀。**Nutropin AQ<sup>®</sup>**和**Increlex<sup>®</sup>**混合物中形成的沉淀物的质谱分析显示沉淀物中存在两种蛋白质。表1中总结了关于由市售产品 IGF-1 (**Increlex<sup>®</sup>**)和 GH (**Nutropin AQ<sup>®</sup>**)制备的共混合物的澄清度的观察和结果。

[0108] 表1

[0109]

比例 (v:v)	Increlex (mL)	Nutropin AQ (mL)	观察		
			初始 (08年3月20日)	24小时 (08年3月21日)	1周 (08年3月27日)
9:1	3.6	0.4	极少量的自由漂浮沉淀物 pH=5.42	极少量的自由漂浮沉淀物	极少量的自由漂浮沉淀物

[0110]

5:1	3.6	0.72	少量的自由漂浮沉淀物 pH=5.51	少量的自由漂浮沉淀物	少量的自由漂浮沉淀物
2:1	3.6	1.8	自由漂浮沉淀物 pH=5.57	自由漂浮沉淀物	自由漂浮沉淀物
1:1	2.0	2.0	自由漂浮沉淀物 pH=5.64	自由漂浮沉淀物	澄清并且玻璃上有凝胶状膜
1:2	1.8	3.6	混浊、大量沉淀物 pH=5.74	澄清并且玻璃上有凝胶状膜	澄清并且玻璃上有凝胶状膜
1:5	0.72	3.6	自由漂浮沉淀物 pH=5.85	大量、厚实的沉淀物	澄清并且玻璃上有凝胶状膜
1:9	0.40	3.6	自由漂浮沉淀物 pH=5.94	自由漂浮沉淀物	自由漂浮沉淀物

[0111] 已证实 IGF-1 的溶解度在混合物的整个 pH 范围 (5.4-5.9) 内均大于 20mg/mL, 这表明 IGF-1 的溶解度不是造成所观察沉淀物的原因, 也不是 IGF-1。已发现 GH 在柠檬酸盐、醋酸盐或组氨酸缓冲液中在所述 pH 范围内的溶解度是缓冲液依赖性的。该结果表明 GH 在低于 5.6 的 pH 值下在醋酸盐缓冲溶液中的溶解度急剧下降, 这可能是造成得到溶液的混合

物中所观察的沉淀物的原因。

[0112] 然而,相比较而言,**Nutropin AQ<sup>®</sup>**和**Increlex<sup>®</sup>**安慰剂(不含 IGF-1,但其它组成与**Increlex<sup>®</sup>**相同)的混合物,或者**Increlex<sup>®</sup>**和**Nutropin AQ<sup>®</sup>**安慰剂(不含 GH,但其它组成与 **Nutropin AQ<sup>®</sup>**相同)的混合物保持澄清,这表明蛋白质的溶解度降低也可能与两种蛋白质之间的相互作用有关。此外,**Increlex<sup>®</sup>**用**Increlex<sup>®</sup>**安慰剂稀释到终浓度为 2.5mg/mL 可以与 **Nutropin AQ<sup>®</sup>**以 IGF-1 : hGH 为 2.2 : 1 或更大的比例混合而无沉淀,这表明蛋白质之间的相互作用是可逆的。

[0113] 实施例 2

[0114] 在不同 pH 的柠檬酸盐中缓冲的共混合组合物的比较和制备

[0115] 将冻干的 hGH 溶解在含 150mM 氯化钠和 0.2% 聚山梨酯 20 的 pH 为 6 的 10mM 柠檬酸盐缓冲液中至终浓度为 5mg/mL。表 1 第 1 栏中所示的不同制剂缓冲液中的 IGF-1 溶液是通过将 IGF-1 渗析到各自缓冲液中或将冻干的 IGF-1 重新构建在缓冲液中制得的。在与 GH 溶液混合之前,IGF-1 溶液的终浓度为 10mg/mL。将 GH 溶液和 IGF-1 溶液以表 2 中所示的多种比例混合在一起。

[0116] 由在柠檬酸盐缓冲液中的 GH 和在 pH 为 5.4 和 6 的多种缓冲液中的 IGF-1 制备的共混合物的视觉外观总结在表 2 中。

[0117] 表 2

[0118]

IGF-1 制剂	混合比例 hGH:IGF-1	在 5℃ 下 1-2 周后混合物的 视觉外观
10 mM 柠檬酸盐, pH 5.4	1:9	澄清
	3:7	澄清
	1:1	一些颗粒
	7:3	颗粒
	9:1	混浊溶液
20 mM 柠檬酸盐, pH 6	1:9	澄清
	3:7	少量颗粒
	1:1	少量颗粒
	7:3	少量颗粒
	9:1	混合时少量颗粒
50 mM 柠檬酸盐, pH 5.4	1:9	澄清
	3:7	澄清
	1:1	少量颗粒
	7:3	一些颗粒
	9:1	混浊溶液
10 mM 醋酸盐, pH 5.4	1:9	澄清
	3:7	轻微混浊, 混合后澄清

[0119]

	<b>1:1</b>	轻微混浊的溶液
	<b>7:3</b>	混浊溶液
	<b>9:1</b>	混浊溶液
<b>50 mM 醋酸盐, pH 5.4</b>	<b>1:9</b>	澄清
	<b>3:7</b>	极少的颗粒
	<b>1:1</b>	颗粒
	<b>7:3</b>	混浊混悬液
	<b>9:1</b>	混浊混悬液
<b>10 mM 磷酸盐, pH 6</b>	<b>1:9</b>	混合后澄清
	<b>3:7</b>	混浊溶液
	<b>1:1</b>	混浊溶液
	<b>7:3</b>	混浊溶液
	<b>9:1</b>	混浊溶液
<b>50 mM 磷酸盐, pH 6</b>	<b>1:9</b>	轻微混浊, 混合后澄清
	<b>3:7</b>	混合后混浊
	<b>1:1</b>	颗粒
	<b>7:3</b>	混浊混悬液
	<b>9:1</b>	混浊混悬液
<b>10 mM 组氨酸, pH 5.4</b>	<b>1:9</b>	澄清
	<b>3:7</b>	混合后轻微混浊
	<b>1:1</b>	混合后轻微混浊
	<b>7:3</b>	混浊溶液
	<b>9:1</b>	混浊溶液
<b>50 mM 组氨酸, pH 5.4</b>	<b>1:9</b>	澄清
	<b>3:7</b>	混合时大部分澄清
	<b>1:1</b>	颗粒
	<b>7:3</b>	混浊混悬液
	<b>9:1</b>	混浊混悬液

[0120]

<b>10 mM 组氨酸, pH 6</b>	<b>1:9</b>	<b>澄清</b>
	<b>3:7</b>	<b>澄清</b>
	<b>1:1</b>	<b>轻微混浊</b>
	<b>7:3</b>	<b>混合后轻微混浊</b>
	<b>9:1</b>	<b>混浊溶液</b>
<b>50 mM 组氨酸, pH 6</b>	<b>1:9</b>	<b>澄清</b>
	<b>3:7</b>	<b>混浊溶液</b>
	<b>1:1</b>	<b>混浊溶液</b>
	<b>7:3</b>	<b>混浊溶液</b>
	<b>9:1</b>	<b>混浊溶液</b>

[0121] 表 2 中记录观察表明当在多种缓冲液中的 IGF-1 溶液与在 pH 为 6 的柠檬酸盐缓冲液中配制的 GH 混合时产生沉淀物。

[0122] 实施例 3

[0123] 组合物的制备和柠檬酸盐缓冲的组合物的澄清度试验

[0124] 将各蛋白质 (IGF-1 和 hGH) 的约 19mg/mL 溶液分别渗析在含 10mM 精氨酸的 pH 6.0 的 10mM 柠檬酸盐缓冲液中。过夜渗析后,通过测量 280nm 处的紫外 (UV) 吸收来测定溶液的浓度。IGF-1 溶液和 hGH 溶液的最终浓度分别为 14 和 21mg/mL。将各等份的各溶液用表 3 所示的其余赋形剂构建并且稀释到最终蛋白质浓度为 10mg/mL。将每对单独配制的蛋白质溶液 (IGF-1 和 hGH) 以 1:1 比例混合以制备含 5mg/mL 的各蛋白质的混合物。制备两种蛋白质混合物后,将两种表面活性剂之一加入至各蛋白质制剂和共混合物中得到最终浓度。冷藏 72 小时后,对溶液进行检查。将此时保持澄清的两种混合物 (表 3 中标记为 A2 和 A10 的制剂组合物) 储存在冰箱中并且再次检查以证明它们在储存 70 天后仍保持澄清。表 3 中总结了在 5°C 下 72 小时后的柠檬酸盐制剂的外观试验结果。

[0125] 表 3

[0126]

样品 ID	赋形剂	IGF-1 (10 mg/mL)	hGH (10 mg/mL)	共混合物 (5 mg/mL IGF-1 + 5 mg/mL hGH)
		72 小时后溶液的澄清度		
A1	10 mM 精氨酸、0.2% 聚山梨酯 20、150 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否
A2	100 mM 精氨酸、0.2% 聚山梨酯 20、50 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	是	是
A3	10 mM 精氨酸、0.2% 聚山梨酯 20、150 mM NaCl、0.25% 苯酚、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否
A4	10 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、150 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否
A5	100 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、150 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否
A6	10 mM 精氨酸、0.03% 泊洛沙姆 188、150 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否

[0127]

A7	100 mM 精氨酸、 0.03%泊洛沙姆 188、 150 mM NaCl、 1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否
A8	10 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、75 mM NaCl、2.5%甘露醇、 1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否
A9	10 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、5%甘露醇、 1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	否	否
A10	100 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、5%甘露醇、 1%BzOH、10 mM 柠檬酸盐, pH 6.0	是	是	是

[0128] 两种澄清制剂 (A2 和 A10) 均包含 100mM 加入的精氨酸离子, 并且很少或未加入氯化钠。表 3 中以 A1 和 A9 标出的两种制剂的组成分别与 A2 和 A10 几乎相同, 但包含更少量的加入的精氨酸离子 (10mM), 未能保持澄清。

[0129] 实施例 4

[0130] 组氨酸缓冲的组合物的制备和比较澄清度试验

[0131] 将 IGF-1 的 19mg/mL 溶液渗析至包含 10mM 精氨酸的 pH 5.6 的 10mM 组氨酸缓冲液中。渗析后, 通过测量 280nm 处的紫外 (UV) 吸收来测定溶液的浓度为 18mg/mL。将溶液用适量的另外的精氨酸、苯甲醇、表面活性剂 (聚山梨酯 20 或泊洛沙姆 188)、氯化钠和甘露醇构建以制备表 4 中标记为 B1 至 B8 的制剂组合物。将等份的仅含 IGF-1 的制剂用于重建冻干的生长激素以制备包含 5mg/mL 各蛋白质的相应制剂。在 5°C 下冷藏 24 小时后观察溶液的外观。除了表 4 中标记为 B3、B4 和 B8 的三种制剂之外, 此时所有制剂均出现一些沉淀物。将这些制剂在冰箱中再储存 65 天, 并且在该时间结束时保持澄清。表 4 中总结了在 5°C 下 24 小时后组氨酸缓冲的 pH 5.6 的制剂。

[0132] 表 4

[0133]

样品 ID	赋形剂	IGF-1 (5 mg/mL)	共混合物 (5 mg/mL IGF-1 + 5 mg/mL hGH)
		72 小时后溶液的澄清度	
B1	10 mM 精氨酸、0.2% 聚山梨酯 20、 150 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	否
B2	10 mM 精氨酸、0.02% 聚山梨酯 20、150 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	否
B3	100 mM 精氨酸、0.02% 聚山梨酯 20、50 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	是
B4	100 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、50 mM NaCl、1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	是
B5	10 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、150 mM NaCl、1%BzOH、 10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	否
B6	10 mM 精氨酸、0.03% 泊洛沙姆 188、150 mM NaCl、1%BzOH、 10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	否

[0134]

B7	0.3% 泊洛沙姆 188、5% 甘露醇、 1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	否
B8	100 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、5% 甘露醇、1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 5.6	是	是

[0135] 保持澄清的所有三种制剂混合物均含有 100mM 精氨酸离子。当冷藏 24 小时后观察时, 正好相当于表 4 中 B8 制剂的组合物但未加入精氨酸的标记为 B7 的制剂混合物出现

沉淀物,而 B8 制剂保持澄清。类似地,表 4 中标记为 B4 的制剂混合物在长期冷藏后保持澄清,而仅含 10mM 精氨酸和加入的氯化钠的 B2 制剂未能保持澄清。

[0136] 实施例 5

[0137] 组氨酸缓冲的 pH 6 的组合物的制备

[0138] 将各蛋白质 (IGF-1 和 hGH) 的约 19mg/mL 溶液分别渗析在包含 10mM 精氨酸的 pH 6.0 的 10mM 组氨酸缓冲液中。过夜渗析后,通过测量 280nm 处的紫外 (UV) 吸收来测定溶液的浓度。渗析后 IGF-1 溶液和 hGH 溶液的最终浓度分别为 11 和 21mg/mL。将溶液分别用适量的另外的精氨酸、苯甲醇、表面活性剂 (聚山梨酯 20 或泊洛沙姆 188)、氯化钠和甘露醇构建以制备表 5 中标记为 C1 和 C2 的两种制剂组合物。将各蛋白质制剂以 1:1 比例混合以制备共混合物,并且观察在 5°C 下冷藏 72 小时后所有 6 种溶液的外观。两组生长激素制剂和共混合物均出现一些沉淀物,可能由于这些制剂中盐浓度高 (150mM) 造成的。表 5 中总结了在 5°C 下 72 小时后 pH 6.0 的组氨酸缓冲制剂。

[0139] 表 5

[0140]

样品 ID	赋形剂	IGF-1 (10 mg/mL)	hGH (10 mg/mL)	共混合物 (5 mg/mL IGF-1 + 5 mg/mL hGH)
				72 小时后溶液的澄清度

[0141]

C1	100 mM 精氨酸、 0.3% 泊洛沙姆 188、 150 mM NaCl、 1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 6.0	是	否	否
C2	0.3% 泊洛沙姆 188、 150 mM NaCl、 1%BzOH、10 mM 组氨酸, pH 6.0	是	否	否

[0142] 实施例 6

[0143] 柠檬酸盐和组氨酸缓冲的组合物的制备和比较

[0144] 用每种蛋白质 (IGF-1 和 GH) 制备两种制剂,最终蛋白质浓度分别为 20mg/mL (IGF-1) 和 6mg/mL (GH) :

[0145] 制剂 1 :10mM 柠檬酸盐、0.2% 聚山梨酯 20、1% 苯甲醇、100mM 精氨酸、50mM NaCl, pH 6.2

[0146] 制剂 2 :10mM 组氨酸、100mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、1% 苯甲醇、50mM NaCl, pH 5.8

[0147] 该制剂通过切向流过滤将每种蛋白质经缓冲液交换到两种缓冲液（缓冲液 1 和缓冲液 2）的每一种中来制备，以制备表 6 中所示浓度的四种储备溶液。表 6 中总结了制剂储备溶液的制备。

[0148] 表 6

[0149]

缓冲液体系	缓冲液交换后的蛋白质浓度(mg/mL)	
	IGF-1	GH
<b>缓冲液 1: 10 mM 柠檬酸盐、50 mM NaCl、100 mM 精氨酸, pH 6.0</b>	<b>38 mg/mL</b>	<b>15 mg/mL</b>
<b>缓冲液 2: 10 mM 组氨酸、50 mM NaCl、100 mM 精氨酸, pH 5.6</b>	<b>29 mg/mL</b>	<b>14 mg/mL</b>

[0150] 在温和混合下，将另外的缓冲液和表面活性剂储备溶液加入至每种储备溶液中，然后加入适量的纯 BzOH（苯甲醇以得到含每种蛋白质的制剂 1 和 2 的最终组合物）。IGF-1 和 hGH 制剂的蛋白质浓度分别为 20mg/mL 和 6mg/mL，然后，将四种制剂（两种 IGF-1 制剂和两种 hGH 制剂）稀释和 / 或混合，得到表 7 中的最终制剂和共混合物。然后，将溶液储存在 2-8°C，直到进一步稀释 / 装瓶。使用 PES 膜将所有蛋白质溶液过滤除菌，然后等份分装在 3mL 玻璃小瓶中。将小瓶加塞，压封并且在冰箱中储存长达 8 周。8 周内，以 2 周间隔评价每种溶液的外观。在 8 周结束时，所有 14 种溶液仍然澄清并且无色。表 7 中总结了含 100mM 精氨酸的柠檬酸盐和组氨酸制剂的视觉外观的结果。

[0151] 表 7

[0152]

柠檬酸盐制剂: 10 mM 柠檬酸盐、0.2% 聚山梨酯 20、1% 苯甲醇、100 mM 精氨酸、50 mM NaCl, pH 6.2

ID	比例	hGH	IGF-1	溶液外观	
	GH:IGF-1	(mg/mL)	(mg/mL)	混合后立即	在 5°C 下 8 周后
CA1	1:1.1	3	3.3	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
CA2	1:4	2.5	10	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
CA3	仅 GH	3	-	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
CA4	仅 IGF-1		10	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
CC1	1:1.1	4.5	5	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
CC2	仅 GH	6	-	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
CC3	仅 IGF-1	-	20	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液

组氨酸制剂: 10 mM 组氨酸、100 mM 精氨酸、0.3% 泊洛沙姆 188、1% 苯甲醇、50 mM NaCl, pH 5.8

ID	比例	hGH	IGF-1	溶液外观	
	GH:IGF-1	(mg/mL)	(mg/mL)	混合后立即	在 5°C 下 8 周后
HB1	1:1.1	3	3.3	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
HB2	1:4	2.5	10	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
HB3	仅 GH	3	-	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
HB4	仅 IGF-1		10	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液

[0153]

HD1	1:1.1	4.5	5	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
HD2	仅 GH	6	-	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液
HD3	仅 IGF-1	-	20	澄清、无色溶液	澄清、无色溶液

[0154] 通过对制剂和共混合物进行定期分析来验证组合物历经 8 周的化学稳定性。将它们冷藏储存在 5°C 和 25°C 下以检测 IGF-1 (des-Gly, Pro-IGF-1) 和 GH (脱酰胺基 GH) 的最初的稳定性限制的降解产物, 并且将降解速率和注册的长期稳定的 **Increlex**<sup>®</sup> (IGF-1, 注射液) 和 **Nutropin AQ**<sup>®</sup> (GH, 注射液) 对照的降解速率进行比较。降解速率显示在表 8 和表 9 中。制剂显示 IGF-1 在 5°C 下历经 8 周的时间段内没有显示出缓慢降解的趋势, 然而, 新的制剂和共混合物储存在 25°C 下显示出与所观察的 **Increlex**<sup>®</sup> 的典型的加速降解速率具有可比性的稳定性。在 5°C 和 25°C 下, 新的制剂和共混合物中 GH 的脱酰胺显示与

**Nutropin AQ<sup>®</sup>**对照具有可比性的速率。

[0155] 表 8

[0156]

制剂	hGH (mg/mL)	IGF-1 (mg/mL)	赋形剂	在 25°C 下的降解 速率 (%DGP-IGF-1 每周增加)
CA1	3	3.3	10 mM 柠檬酸盐、	1.04E-01
CA2	2.5	10	0.2% 聚山梨酯 20、	1.05E-01
CA4		10	1% 苯甲醇、100 mM	9.02E-02
CC1	4.5	5	精氨酸、50 mM	8.49E-02
CC3		20	NaCl, pH 6.2	8.96E-02
HB1	3	3.3	10 mM 组氨酸、100	8.17E-02
HB2	2.5	10	mM 精氨酸、0.3% 泊	8.72E-02
HB4		10	洛沙姆 188、1% 苯甲	7.31E-02
HD1	4.5	5	醇、50 mM NaCl, pH	7.96E-02
HD3		20	5.8	6.78E-02

[0157]

Increlex <sup>*</sup>		10	50 mM 醋酸盐、0.2% 聚山梨酯 20、0.9% 苯 甲醇、100 mM NaCl, pH 5.4	1.19E-01
-----------------------	--	----	---	----------

[0158] \*15 批的平均降解速率

[0159] 表 9

[0160]

制剂	hGH (mg/mL)	IGF-1 (mg/mL)	赋形剂	脱酰胺速率 (%每周增加)	
				5°C	25°C
CA1	3	3.3	10 mM 柠檬酸盐、	1.91E-02	2.85E-01
CA2	2.5	10	0.2%聚山梨酯 20、	2.09E-02	3.25E-01
CA3	3		1% 苯甲醇、 100	1.56E-02	2.71E-01
CC1	4.5	5	mM 精氨酸、 50	2.48E-02	3.04E-01
CC2	6		mM NaCl, pH 6.2	2.36E-02	3.00E-01
HB1	3	3.3	10 mM 组氨酸、100	1.53E-02	1.33E-01
HB2	2.5	10	mM 精氨酸, 0.3%	2.01E-02	1.62E-01
HB3	3		泊洛沙姆 188、 1%	1.43E-02	1.22E-01
HD1	4.5	5	苯甲醇、 50 mM	1.66E-02	1.51E-01
HD2	6		NaCl, pH 5.8	1.99E-02	1.44E-01
Nutropin AQ	5		10 mM 柠檬酸盐、 0.2%聚山梨酯 20、 0.25% 苯酚、 150 mM NaCl, pH 6.0	2.12E-02	2.99E-01

[0161] 实施例 7

[0162] 组氨酸缓冲的 IGF-1 组合物的制备和比较

[0163] 用 IGF-1 制备最终蛋白质浓度为 20mg/mL (IGF-1) 的两种制剂：

[0164] 制剂 1 : 20mM 组氨酸、0.2% 聚山梨酯 20、1% 苯甲醇、150mM 精氨酸, pH 5.8

[0165] 制剂 2 : 50mM 组氨酸、0.2% 聚山梨酯 20、1% 苯甲醇、150mM 精氨酸, pH 5.8

[0166] 该制剂是通过将蛋白质经缓冲液交换到两种缓冲液的每一种中, 加入表面活性剂和防腐剂配制而制备的, 并且与 **Increlex**<sup>®</sup> 对照相对比评价了稳定性。表 10 中给出了在 5°C、25°C 和 40°C 下的稳定性数据。

[0167] 表 10

[0168]

峰/组别	样品	降解速率(天数 <sup>-1</sup> )		
		5℃	25℃	40℃
%活性剂 1	50 mM 组氨酸制剂	1.43E-02	4.00E-02	1.30E-01
	Increlex 对照	1.86E-02	3.71E-02	1.43E-01
%主峰	50 mM 组氨酸制剂	-2.14E-02	-5.90E-02	-2.43E-01
	Increlex 对照	-2.90E-03	-3.29E-02	-2.10E-01
%活性剂 1	20 mM 组氨酸制剂	1.72E-04	1.87E-02	1.46E-01
	Increlex 对照	2.67E-03	1.66E-02	1.39E-01
%主峰	20 mM 组氨酸制剂	-1.36E-02	-5.87E-02	-3.03E-01
	Increlex 对照	4.39E-03	-1.75E-02	-2.12E-01

[0169] 实施例 8

[0170] Combo 制剂的稳定性数据

[0171] 表 11

[0172]

温度	月数	测试/取出日期 <sup>1</sup>	实际月数	Increlex (%单体)		仅 rhIGF-1 (%单体)		Nutropin (%单体)		仅 rhGH (%单体)		1:2.2 共形式 (%单体)		1:6.6 共形式 (%单体)	
				IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH
n/a	0	09 年 10 月 22 日	0.000	99.5	--	99.7	--	--	99.9	--	100.0	99.5	100.0	99.6	100.0
5℃	3	10 年 1 月 27 日	3.189	99.3	--	99.5	--	--	99.6	--	99.9	99.5	100.0	99.6	100.0
	6	10 年 5 月 03 日	6.345	99.9	--	99.9	--	--	99.5	--	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
15℃	1	09 年 11 月 18 日	0.888	99.6	--	NT	NT	--	99.5	NT	NT	99.4	100.0	99.5	100.0
	3	10 年 1 月 18 日	2.893	99.4	--	NT	NT	--	99.4	--	99.8	99.4	99.9	99.4	100.0

[0173]

	6	10年4月16日	5.786	99.9	--	NT	NT	--	99.1	--	99.9	100.0	100.0	100.0	100.0
25°C	1	09年11月18日	0.888	99.5	--	99.5	--	--	99.7	NT	NT	99.2	100.0	99.3	100.0
	3	10年1月18日	2.893	98.9	--	98.8	--	--	98.5	--	98.8	99.0	99.4	99.2	100.0
	6	10年4月16日	5.786	99.2	--	98.4	--	--	99.7	NT	NT	97.9	98.0	98.6	98.9
40°C	1	09年11月18日	0.888	97.7	--	95.0	--	--	98.0	--		98.0	93.3	97.6	94.5
	3	10年1月18日	2.893	92.3	--	83.2	--	--	91.9	--		94.3	92.9	93.9	88.3

[0174] <sup>1</sup>由于将样品储存在5°C下直至测试,所以测试数据用于5°C下的数据,并且取出日期用于最大精确度的加速稳定性数据。

[0175] NT:该样品未测试

[0176] 这些数据是通过尺寸排阻色谱产生的并且提供了1、3和6个月的稳定性。

[0177] 实施例9

[0178] 可替代的 rhIGF-1 和 rhGH 共制剂方法的建立

[0179] 1. 材料和方法

[0180] 1.1 原材料

[0181] 下述原材料用在研究中并且描述在表12中:

[0182] 12- 原材料

[0183]

材料	供应商
rhGH	Genentech
rhIGF-1	Lonza
柠檬酸	Sigma
精氨酸-HCl	Merck
苯酚	Merck
泊洛沙姆 188	BASF
蔗糖	Beghin Say
氢氧化钠	Merck

[0184]

WFI	Cooper
小瓶 5mL VB 型 Iyo	Schott
塞子 13mm	West-CTSU
Crimps alu 13mm	West

## [0185] 1. 2设备

[0186] 下述设备用于研究中：

- [0187] - 高压灭菌锅 FEDEGARI,
- [0188] - 瓶子无菌聚乙烯 (PE) Nalgene ref. 2019,
- [0189] - 盒 BIOMAX PES ref. :PXB005A50 用于渗滤,
- [0190] - 洁净室, 层流罩,
- [0191] - Cogent  $\mu$  Scale MILLIPORE 切向流过滤装置,
- [0192] - 过滤器 MILLEX (33mm) PES 0.22  $\mu$  m (MILLIPORE),
- [0193] - 过滤器 MILLEX (33mm) PVDF 0.22  $\mu$  m (MILLIPORE),
- [0194] - 玻璃烧杯,
- [0195] - 刻度量筒,
- [0196] - 磁力搅拌器,
- [0197] - 微量吸管 P1000,
- [0198] - 烘箱 FEDEGARI,
- [0199] - 符合药典的小瓶观察装置,
- [0200] - 泵 FLEXICON PF6n° 212118,
- [0201] - 注射器 PE 50mL,
- [0202] - 试管 Eppendorf 1.5mL,
- [0203] - 试管 Falcon 50mL 和 15mL,
- [0204] - Tygon 管 ((1.6mm+ 专用针头)),
- [0205] - 清洗机 CORIMA。

## [0206] 2. 方法和配方组分优化

[0207] 进行方法和制剂优化试验研究。制剂组分如下文表 13 所述：

[0208] 13- 原型 (prototype) 制剂 A3-c 的组分

[0209]

比例	2.2:1	2.2:1
名称	A3	A3-c
方法策略	A	A
rhIGF-1 [mg/mL]	7.9	7.9

rhGH [mg/mL]	3.6	3.6
pH	6.0	6.0
填充剂 [mM]	蔗糖 200	蔗糖 140
精氨酸 HCl [mM]	150	150
组氨酸 [mM]	-	-
柠檬酸盐 [mM]	20	20
琥珀酸盐 [mM]	-	-
泊洛沙姆 188 [mg/mL]	2	2
聚山梨酯 20 [mg/mL]	-	-
苯甲醇 [mg/mL]	-	-
苯酚 [mg/mL]	3.7	3.7
抗氧化剂 [mM]	-	-

[0210] 2. 1 rhIGF-1 切向流过滤 (TFF) 方法

[0211] rhIGF-1 TFF 方法利用下文所述参数进行：

[0212] - 将 IGF-1 定量至预定：80mL rhIGF-1, 25mg/mL,

[0213] - 渗滤浓度 25mg/mL,

[0214] - 交换缓冲液：20mM 柠檬酸盐, 150mM 精氨酸, pH 6.0,

[0215] - Pellicon XL 盒：再生纤维素膜, 5kDa kDa 截留分子量,

[0216] - TMP 18-22atm,

[0217] - 泵设置在 12% 功率,

[0218] - 6diavolume,

[0219] - rhIGF-1 最终浓度 30mg/mL。

[0220] 2. 2 蛋白质制剂：

[0221] 1. 在该可替代方法中, 首先将所有赋形剂混合在一起, 然后将蛋白质加入至赋形剂中。

[0222] 2. 在 pH 低于 6.0 时制备赋形剂溶液, 使加入 GH DS (pH 约 7.5-8) 将最终得到 pH 低于 7 的溶液。

[0223] 2. 2. 1 IGF-1 制剂

[0224] 1. 在玻璃烧杯中称量 8.44% 最终体积的柠檬酸盐 80mM/ 精氨酸 600, pH 5.5。

[0225] 2. 加入 10% 最终体积的苯酚 3.7%。

[0226] 3. 加入 10% 最终体积的泊洛沙姆 1882%。

- [0227] 4. 混合均匀。
- [0228] 5. 加入 3.84g 蔗糖。
- [0229] 6. 混合溶解并均匀。
- [0230] 7. 所测量的 pH 值 :5.86。
- [0231] 8. 在轻轻搅拌溶液的同时,加入体积相当于 1.6g 的渗滤 rhIGF-1。体积计算如下:
- [0232] 9.  $52.7(\text{mL})(\text{渗滤 IGF-1 的体积})=1600[\text{mg}](\text{所需 rhIGF-1 的量})/30.36[\text{mg/mL}](\text{IGF-1 浓度})$ 。
- [0233] 10. 混合均匀。
- [0234] 11. 所测量的 pH 值 :6.05,因此不需要调节 pH。
- [0235] 12. 加入 WFI 使最终体积为 80mL。
- [0236] 13. 所测量的 pH 值 :6.05。
- [0237] 14. 用  $0.22\ \mu\text{m}$  PES 过滤器过滤。
- [0238] 15. 用  $0.22\ \mu\text{m}$  PVDF 过滤器过滤。
- [0239] 2.2.2GH 制剂
- [0240] 1. 在玻璃烧杯中称量 25% 最终体积的柠檬酸盐 80mM/ 精氨酸 600, pH 5.5。
- [0241] 2. 加入 10% 最终体积的苯酚 3.7%。
- [0242] 3. 加入 10% 最终体积的泊洛沙姆 1882%。
- [0243] 4. 加入 10% 最终体积的 WFI。
- [0244] 5. 混合均匀。
- [0245] a. 澄清并很少量的颗粒 (可能是环境原因造成的),
- [0246] b. 所测量的 pH 值 :5.9。
- [0247] 6. 加入 4.83g 蔗糖。
- [0248] 7. 混合溶解并均匀。
- [0249] a. pH :5.87。
- [0250] 8. 加入 30mL GH DS,同时轻轻搅拌溶液。
- [0251] 9. 混合均匀。
- [0252] a. 所测量的 pH 值 :6.6。
- [0253] b. 最终 pH :6.0。
- [0254] 10. 用  $0.22\ \mu\text{m}$  PES 过滤器过滤。
- [0255] 11. 用  $0.22\ \mu\text{m}$  PVDF 过滤器过滤。
- [0256] 2.2.3 共制剂 (或共混合物)
- [0257] 制备 45mL 最终共混合物 rhIGF-1/rhGH(2.2:1) :
- [0258] 1. 在磁力搅拌下将 17.9mL IGF-1 制剂加入至 27.1mL rhGH 中。
- [0259] 2. 混合均匀。
- [0260] 3. 溶液看上去澄清并且无可见颗粒。
- [0261] 4. 在 building 2 的清洁室中用  $0.22\ \mu\text{m}$  PES 过滤器过滤 :得到澄清溶液,无可见颗粒 / 易于通过注射器进行。
- [0262] 3. 所选应用组氨酸作为缓冲液的制剂的可选择方法的应用

[0263] 3.1 制剂可行性

[0264] rhIGF-1 制剂如 § 2.2.1 所述进行配制, rhGH 制剂如 § 2.2.2 所述进行配制, 并且共制剂 2.2:1 共混合物如 § 2.2.3 所述进行配制, 除了应用:

[0265] - 组氨酸替代柠檬酸盐作为缓冲剂,

[0266] - pH 6.0 替代 5.8,

[0267] - 聚山梨酯 -20 替代泊洛沙姆 -188 作为表面活性剂,

[0268] - 纯的苯甲醇替代 10% 苯酚溶液作为防腐剂,

[0269] - 2.5% HCl 溶液替代 2.5% 柠檬酸溶液以调节 pH,

[0270] - PVDF 过滤器用于过滤单独的蛋白质产品和共混合物制剂,

[0271] - 制备比例为 1.1:1 和 6.6:1 的共制剂替代 2.2:1 的共制剂混合物。

[0272] 3.2 过滤 - 重复性的优化

[0273] 除了过滤步骤按照下文所述顺序进行之外, 如在 § 3.1 (在实验室中, 21°C) 中所述进行处理。

[0274] - 用 PES 0.22  $\mu$ m 对 150mL rhGH 制剂进行第一次澄清过滤 + 用 PVDF 进行第二次无菌过滤。

[0275] - 用 PVDF 0.22  $\mu$ m 对 150mL rhGH 制剂进行第一次澄清过滤 + 用 PVDF 进行第二次无菌过滤。

[0276] 进行下述观察:

[0277] - 在澄清过滤之前 rhGH 溶液看上去为略微乳白并且无沉淀物。

[0278] - 过滤两次后, rhGH 制剂看上去无颗粒。

[0279] - 视觉检测分析证明应用 PVDF 过滤器对制剂和共制剂的最终无菌过滤具有正性作用, 即显著减少可视颗粒, 并且当使用该类型的过滤器时具有良好的稳定性。

[0280] 表 14:

[0281] 制剂和共制剂组合物

[0282]

		组合物			
		单独的 GH 制剂	单独的 IGF-1 制剂	IGF-1/GH 比 例为 1.1:1 的 共制剂	IGF-1/GH 比 例为 6.6:1 的 共制剂
<b>pH</b>		<b>5.8</b>			
<b>缓冲液</b>	<b>组氨酸</b>	<b>20 mM</b>			
	<b>碳酸氢钠</b>	<b>7.5 mM</b>	<b>-</b>	<b>5.6 mM</b>	<b>2.5 mM</b>
<b>表面活性剂</b>	<b>聚山梨酯 20</b>	<b>0.2%</b>			
<b>防腐剂</b>	<b>苯甲醇</b>	<b>1%</b>			
<b>稳定剂</b>	<b>精氨酸</b>	<b>150 mM</b>			
		<b>6 mg/mL</b>	<b>20 mg/mL</b>	<b>5:4.5 (mg:mg)/mL</b>	<b>13.2:2 (mg:mg)/mL</b>

[0283] 实施例 10

[0284] rhIGF-1 和 rhGH 共制剂的制备方法

[0285] rhGH 物质（药物物质或 DS）是在浓度为 7.5mM 的碳酸氢盐缓冲液中的 20mg/mL 溶液。rhIGF-1 物质（DS）是在 200mM 柠檬酸盐缓冲液中的 25-35mg/mL 溶液。

[0286] 3 种不同类型的方法制备如下（在下文中称为方法 I、可替代方法 A 和 B）：

[0287] 方法 I 的步骤：

[0288] -rhGH 和 rhIGF-1 渗滤用于缓冲液交换（原始 DS 缓冲液对比组氨酸 (His) 20mM/精氨酸 (Arg) 150mM pH 5.8）。

[0289] -对于每种单独的蛋白质，以下文所述引入顺序进行配方：

[0290] • 加入交换缓冲液以调节 DS 浓度，

[0291] • 加入聚山梨酯 PS 20 溶液，

[0292] • 加入苯甲醇 (BA) 溶液，

[0293] -将单独的制剂共混合，得到稳定的共制剂。

[0294] 方法 A 的步骤：

[0295] -rhGH 和 rhIGF-1 渗滤用于缓冲液交换（原始 DS 缓冲液对比组氨酸 (His) 20mM/精氨酸 (Arg) 150mM pH 5.8）。

[0296] -以下文所述引入顺序对每种蛋白质进行最后配方：

[0297] • 浓缩缓冲液，

[0298] • 表面活性剂溶液，

[0299] • 防腐剂溶液，

[0300] • WFI（注射用水），

[0301] • 填充剂（如果有的话），

- [0302] • 渗滤过的药物物质，
- [0303] • 用柠檬酸（或 HCl）调节 pH
- [0304] • WFI 至最终体积。
- [0305] - 将单独的制剂共混合，得到稳定的共制剂。
- [0306] 方法 B 的步骤：
- [0307] -rhIGF-1 渗滤用于缓冲液交换（原始 DS 缓冲液对比组氨酸 (His) 20mM/ 精氨酸 (Arg) 150mM pH 5.8)。
- [0308] - 未渗滤的 rhGH 物质，而是 rhGH 物质的直接制剂（即不需要缓冲液交换而将 rhGH DS 加入至赋形剂混合物中）。
- [0309] - 最终的配方按照与方法 A 中组分的引入顺序相同的顺序进行。
- [0310] - 将单独的制剂共混合，得到稳定的共制剂。

### GH 的溶解度 pH 曲线

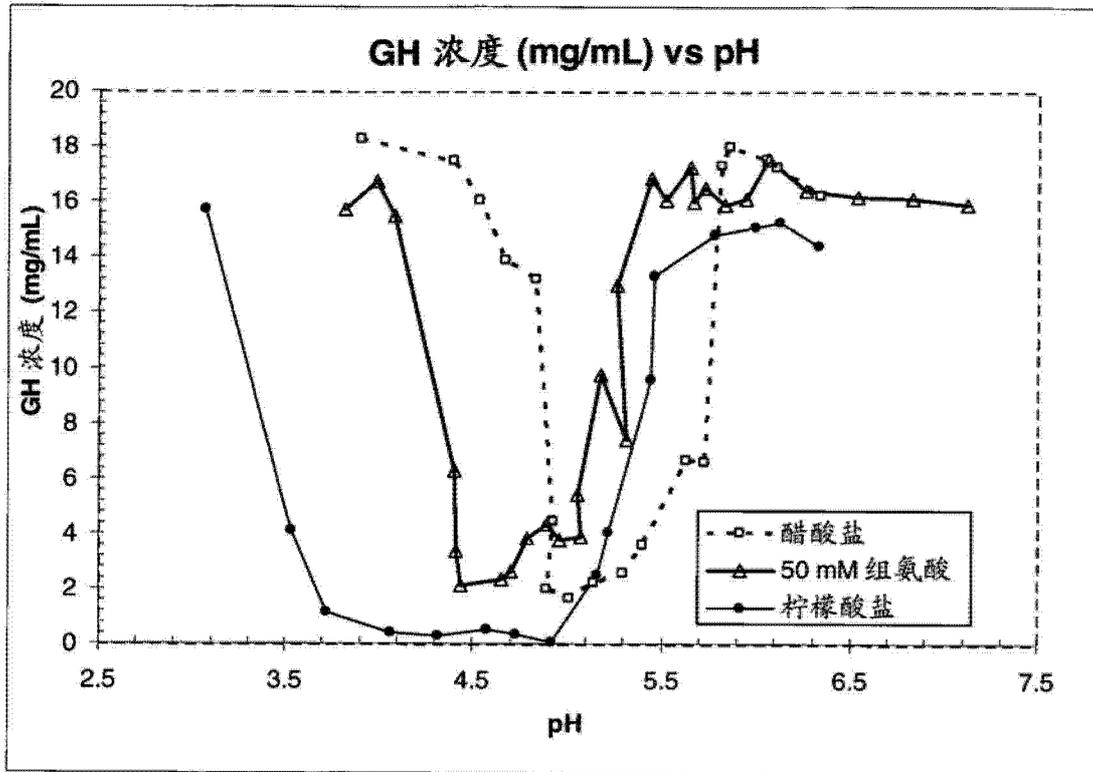


图 1

AUC - 比较沉降曲线

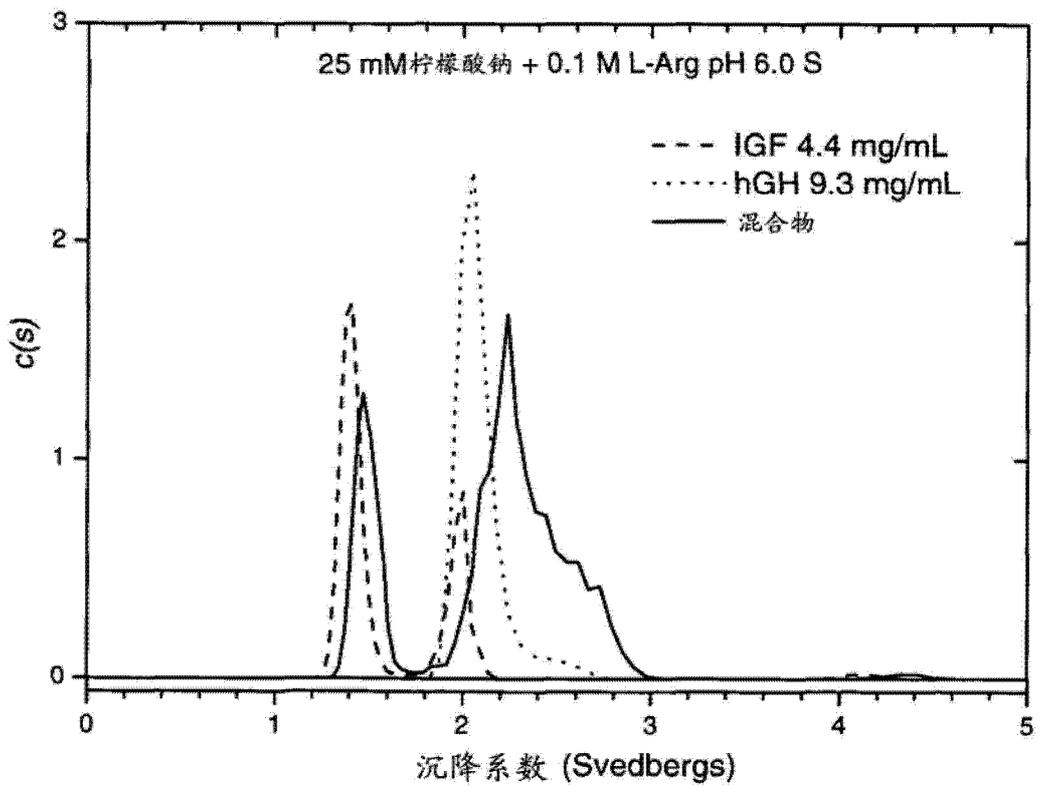
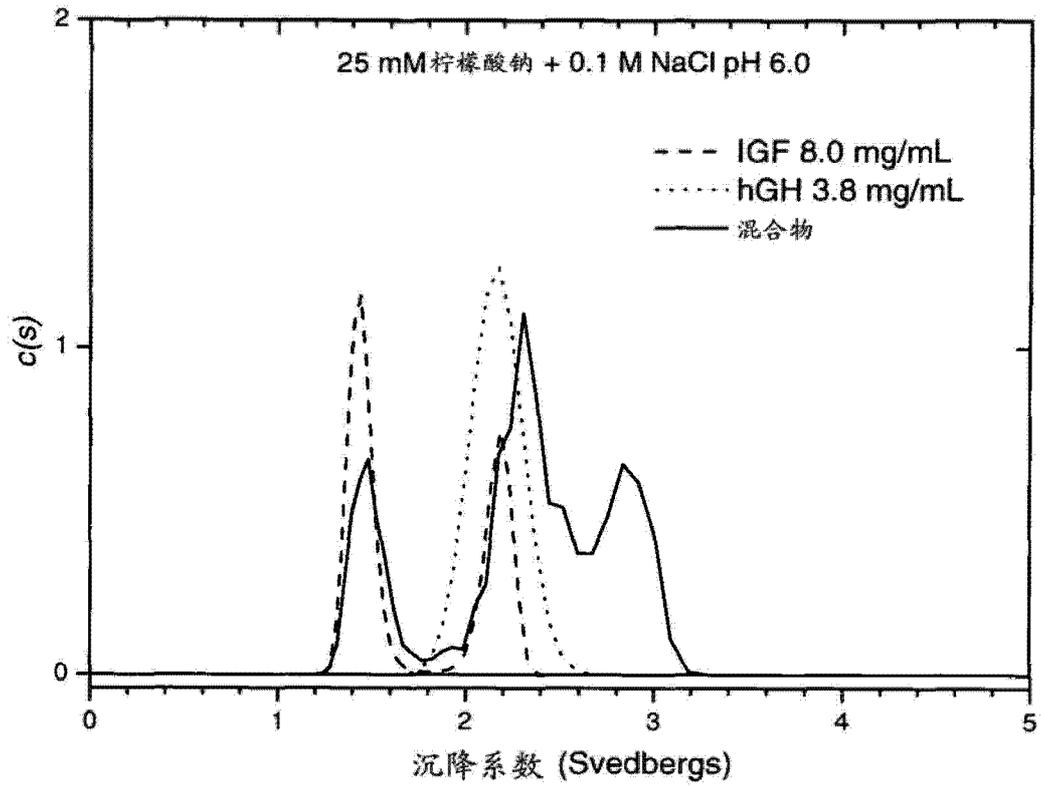


图 2