I851622

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I851622 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 08 月 11 日

(21)申請案號：108141678 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 11 月 15 日

(51)Int. Cl.：

A61K39/395	***(2006.01)***	***A61K9/08***	***(2006.01)***
A61K47/26	***(2006.01)***	***A61K47/18***	***(2006.01)***
A61K47/22	***(2006.01)***	***A61K9/00***	***(2006.01)***
A61K39/00	***(2006.01)***		

(30)優先權：2018/11/16 南韓 10-2018-0141556

(71)申請人：南韓商三星ＢＩＯＥＰＩＳ股份有限公司 (南韓) SAMSUNG BIOEPIS CO., LTD. (KR)
南韓

(72)發明人：鄭榮碩 JUNG, YOUNGSEOK (KR)；洪慈慧 HONG, JAHYE (KR)；朱景熙 JOO, KYUNG HEE (KR)；李才慜 LEE, JAEMIN (KR)；李憲周 LEE, HUN JOO (KR)；金龍局 KIM, YONGKOOK (KR)

(74)代理人：閻啓泰；林景郁

(56)參考文獻：

CN 101217979A WO 2018200918A1

審查人員：劉祥音

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：3 共 45 頁

(54)名稱

包含蛋白質的穩定液體組成物

(57)摘要

本發明揭示一種蛋白質之穩定液體調配物。提供一種包含蛋白質且不含緩衝劑及/或包含組胺酸之液體蛋白質組成物及其製備方法。

Disclosed is a stable liquid formulation of a protein. Provided is a liquid protein composition comprising a protein, and being free of a buffer and/or comprising histidine, and a preparation method thereof.

指定代表圖：

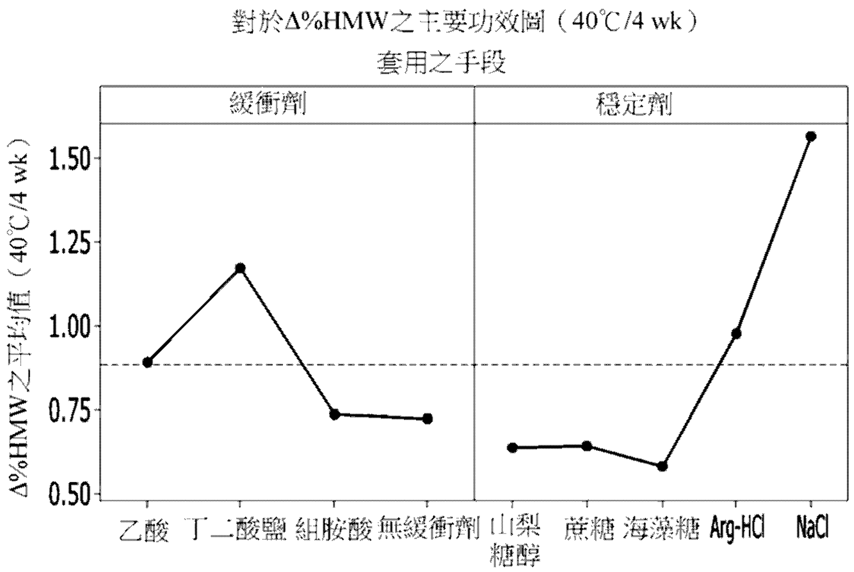

對於Δ%HMW之主要功效圖（40℃/4 wk）
套用之手段
緩衝劑
穩定劑
Δ%HMW之平均值（40℃/4 wk）
1.50
1.25
1.00
0.75
0.50
乙酸
丁二酸鹽
組胺酸
無緩衝劑
山梨糖醇
蔗糖
海藻糖
Arg-HCl
NaCl

圖1a

專利案號：108141678

公告本

I851622

【發明摘要】

【中文發明名稱】 包含蛋白質的穩定液體組成物

【英文發明名稱】 STABLE LIQUID COMPOSITION COMPRISING PROTEIN

【中文】

本發明揭示一種蛋白質之穩定液體調配物。提供一種包含蛋白質且不含緩衝劑及/或包含組胺酸之液體蛋白質組成物及其製備方法。

【英文】

Disclosed is a stable liquid formulation of a protein. Provided is a liquid protein composition comprising a protein, and being free of a buffer and/or comprising histidine, and a preparation method thereof.

【指定代表圖】 圖1a

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】　包含蛋白質的穩定液體組成物

【英文發明名稱】　STABLE LIQUID COMPOSITION COMPRISING PROTEIN

【技術領域】

【0001】　本發明係關於一種蛋白質之穩定液體調配物，及一種包含蛋白質且不含緩衝劑及/或包含組胺酸之液體組成物，及其製備方法。

【先前技術】

【0002】　一種可針對標靶而設計之抗體藥物具有產生與廣泛性蛋白質藥物相比較小副作用之優勢，且即使在以小劑量使用時仍有較大治療性功效。然而，為發揮此類功效，抗體藥物必然需要巨大分子量及複雜結構。此等結構特徵可能導致物理/化學不穩定性，其可能導致抑制抗體藥物之活性。因此，需要開發適用於其的調配物。

【0003】　在抗體藥物中，由於諸如溫度、pH值、緩衝劑、濃度賦形劑及其類似因素之各種因素，抗體可能變得不穩定。為開發能夠降低抗體藥物之不穩定性及增加醫藥品質之調配物，已嘗試進行修改緩衝劑、最佳化pH值、添加穩定劑等。

【0004】　德諾單抗（denosumab）以兩種市售產品出售：一者以商標名Prolia®，用於治療骨質疏鬆；且另一者以商標名Xgeva®，用於癌症療法。針對於各產品之適應症亦不同。Prolia®為經液體調配之抗體藥物，其具有60 mg/mL德諾單抗（pH 5.2）、17 mM冰醋酸緩衝劑、4.7%山梨糖醇及0.01%聚山梨醇酯20。Xgeva®為亦經液體調配之抗體藥物調配物，其具有70 mg/mL德諾單抗（pH

5.2）、18 mM冰醋酸緩衝劑、4.6%山梨糖醇及0.01%聚山梨醇酯20。儘管含有相同的成分，但兩種產品之組成比率（包括抗體含量及其類似者）彼此不同。在兩種德諾單抗產品之情況下，需要將抗體濃度差所導致之不穩定性降至最低。因為Prolia®每年投予兩次且相對長的投予時段需要更穩定的調配物，所以已開發更穩定之藥物調配物。

【發明內容】

技術問題

【0005】　因此，本發明提供一種蛋白質之穩定液體醫藥組成物。

【0006】　一具體實例提供一種蛋白質之液體組成物，其包含蛋白質，具有在5至7範圍內之pH值，且不包含（不含）選自由乙酸鹽、丁二酸鹽及麩胺酸鹽組成之群組的至少一者，或不包含緩衝劑。所述液體組成物可進一步包含組胺酸。液體組成物可進一步包含界面活性劑。所述液體組成物可為水性液體組成物。

【0007】　在一個具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-1）不含乙酸鹽。

【0008】　在另一具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-2）不含丁二酸鹽。

【0009】　在另一具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-3）不含乙酸鹽與丁二酸鹽兩者。

【0010】　所述液體組成物可不含麩胺酸鹽。液體組成物可進一步包含組胺酸。

【0011】　在另一具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-4）不含緩衝劑。在此情形下，液體組成物可不含組胺酸。

【0012】　所述液體組成物可為水性液體組成物。

【0013】　除蛋白質或蛋白質及組胺酸（若含有）以外，液體組成物可進一步包含選自由以下者組成之群組的至少一者：糖、糖衍生物（糖酸、多元醇（諸如糖醇）等）、胺基酸、其醫藥學上可接受之鹽及其類似物。在本發明中的提供之液體組成物中，選自以下者之群的至少一者可充當穩定劑及/或張力劑：糖、糖衍生物、胺基酸、其醫藥學上可接受之鹽及其類似物。

【0014】　在一個具體實例中，當液體組成物包含至少一種糖（例如選自由海藻糖、蔗糖、甘露糖及麥芽糖組成之群組的至少一者）時，其濃度可在以總液體組成物計1至15%（w/v）、3至15%（w/v）、5至15%（w/v）、7至15%（w/v）、1至10%（w/v）、3至10%（w/v）、5至10%（w/v）、7至10%（w/v）、1至7%（w/v）、2至7%（w/v）、3至7%（w/v）、4至7%（w/v）、1至5%（w/v）、2至5%（w/v）、3至5%（w/v）或4至5%（w/v）、4.5至5%（w/v）（例如約4.7%（w/v））或7.8至8.2%（w/v）（例如約7.8%（w/v）、約7.9%（w/v）、約8%（w/v）、約8.1%（w/v）或約8.2%（w/v））範圍內。

當液體組成物包含至少一種糖醇（例如選自由山梨糖醇及甘露糖醇組成之群組的至少一者）時，其濃度可在以總液體組成物計1至10%（w/v）、2.5至10%

（w/v）、3至10%（w/v）、3.5至10%（w/v）、4至10%（w/v）、1至8%（w/v）、2.5至8%（w/v）、3至8%（w/v）、3.5至8%（w/v）、4至8%（w/v）、1至6%（w/v）、2.5至6%（w/v）、3至6%（w/v）、3.5至6%（w/v）、4至6%（w/v）、4至5.5%（w/v）、4至5%（w/v）、4.2至4.8%（w/v）或4.4至4.7%（w/v）（例如約4.4%（w/v）、約4.5%（w/v）、約4.6%（w/v）或約4.7%（w/v））範圍內；

當液體組成物包含至少一種胺基酸（例如選自由以下者組成之群組的至少一者：精胺酸（Arg）、離胺酸（Lys）、脯胺酸（Pro）、甘胺酸（Gly）、丙胺酸（Ala）、甲硫胺酸（Met）、絲胺酸（Ser）及該等胺基酸之醫藥學上可接受之鹽）時，其濃度可在0.1至300mM、0.5至300mM、1至300mM、5至300mM、10至300mM、30至300mM、50至300mM、80至300mM、100至300mM、120至300mM、0.1至250mM、0.5至250mM、1至250mM、5至250mM、10至250mM、30至250mM、50至250mM、80至250mM、100至250mM、120至250mM、0.1至200mM、0.5至200mM、1至200mM、5至200mM、10至200mM、30至200mM、50至200mM、80至200mM、100至200mM、120至200mM、0.1至160mM、0.5至160mM、1至160mM、5至160mM、10至160mM、30至160mM、50至160mM、80至160mM、100至160mM、120至160mM或130至150mM範圍內。

【0015】　在一具體實例中，液體組成物可進一步包含界面活性劑。當液體組成物包含界面活性劑時，可使用濃度在以總液體組成物計0.001至1%（w/v）、0.001至0.5%（w/v）、0.001至0.1%（w/v）、0.001至0.05%（w/v）、0.005至1%（w/v）、0.005至0.5%（w/v）、0.005至0.1%（w/v）、0.005至0.05%（w/v）或0.008至0.02%（w/v）範圍內之界面活性劑。界面活性劑可為可常用於蛋白質調配物中之任何一者。舉例而言，界面活性劑可包含選自非離子型界面活性劑之至少一者。

【0016】　另一具體實例提供一種包含該液體組成物之醫藥組成物。所述醫藥組成物具有與液體組成物中所含之蛋白質之活性對應的藥理學活性。

【0017】 在所述液體組成物或醫藥組成物中，蛋白質可具有例如10至500 kDa、10至400 kDa、10至300 kDa、10至200 kDa或10至150 kDa之分子量。在一具體實例中，蛋白質可為RANKL（核因子κ-B配位體之受體活化劑）拮抗劑（例如抗RANKL抗體)，例如德諾單抗（約147 kDa之分子量；例如PROLIA®或XGEVA®），但不限於此。當蛋白質為RANKL拮抗劑（例如抗RANKL抗體），例如德諾單抗時，可施用醫藥組成物以治療骨質疏鬆及/或癌症/癌轉移。

【0018】 另一具體實例提供一種穩定蛋白質或製備蛋白質之穩定液體組成物之方法，該方法包含將蛋白質混合於上文所述之組成物中之步驟。

技術方案

【0019】 本發明提供一種蛋白質之穩定液體醫藥組成物。

【0020】 一具體實例提供一種液體蛋白質組成物，其包含蛋白質，具有在5至7範圍內之pH值，且不含選自由乙酸鹽、丁二酸鹽及麩胺酸鹽組成之群組的至少一者，或不包含緩衝劑。所述液體組成物可進一步包含組胺酸。液體組成物可進一步包含界面活性劑。所述液體組成物可為水性液體組成物。

【0021】 在一個具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-1）不含乙酸鹽。

【0022】 在另一具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-2）不含丁二酸鹽。

【0023】 在另一具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-3）不含乙酸鹽與丁二酸鹽。

【0024】 所述液體組成物可不含麩胺酸鹽。

【0025】 所述液體組成物可進一步包含組胺酸。

【0026】 在另一具體實例中，所述液體組成物可：

（1）包含蛋白質，例如抗體，諸如抗RANKL抗體，

（2）具有5至7之pH，且

（3-4）不含緩衝劑。在此情形下，液體組成物可不含組胺酸。

【0027】 所述液體組成物可為水性液體組成物。

【0028】 所述液體組成物可具有4至8範圍內之pH值，例如4.5至7、4.8至7、5至7、5.2至7、4.5至6.8、4.8至6.8、5至6.8、5.2至6.8、4.5至6.5、4.8至6.5、5至6.5、5.2至6.5、4.5至6.3、4.8至6.3、5至6.3、5.2至6.3、4.5至6、4.8至6、5至6、5.2至6、4.5至5.8、4.8至5.8、5至5.8、5.2至5.8、4.5至5.6、4.8至5.6、5至5.6、5.2至5.6、4.9至5.5、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4或5.5。

【0029】 本發明中提供之蛋白質之液體組成物可不含乙酸鹽及丁二酸鹽中之任一者或兩者，亦可不含麩胺酸鹽，及/或可包含組胺酸，藉此可將作為影響蛋白質穩定性之重要因素中之一者的pH值保持在上述適合的範圍內，且組成物中之蛋白質可具有極佳穩定性（例如極佳的蛋白質穩定性指標，諸如蛋白質聚集體之量（%HMW；高分子量%）、帶電荷變異體之百分比（例如酸性變異體之量（%Acidic））。

【0030】 如本文所用，諸如「藉由本發明提供之蛋白質之液體組成物不含成分A（the liquid composition of a protein provided by the present disclosure is free of ingredient A）」之描述欲意謂組成物不包含成分A（組成物中不存在成分A）

或實質上不包含成分A（組成物中實質上不存在成分A）。就此而言，描述「組成物中實質上不包含或不存在成分A(ingredient A is not substantially comprised or is absent in the composition)」可理解為「根本不包含（或不存在）成分A」或「包含（或存在）少至難以展示預期醫藥功能或難以在蛋白質之液體組成物中偵測到之量的成分A」。在一具體實例中，術語「不含成分A（free of ingredient A）」可意謂成分A由習知方法偵測不到。

【0031】 在下文中，將給出由本發明提供之液體組成物之詳細描述：

1. 蛋白質

【0032】 在由本發明提供之液體組成物中，蛋白質可為蛋白質藥物，例如分子量為10至500 kDa、10至400 kDa、10至300 kDa、10至200 kDa或10至150 kDa之蛋白質，例如抗體。

【0033】 可使用任何抗體，只要其有兩個重鏈藉由雙硫鍵彼此連接即可，其中各重鏈藉由雙硫鍵連接至各別輕鏈。抗體可為天然產生的抗體或為以重組方式/以化學方式合成的（非天然獲得的）抗體。如本文所用，術語「抗體（antibody）」意欲（非限制性地）涵蓋任何習知抗體及/或其抗原結合片段或單鏈、包含具有與抗原結合之生物活性的免疫球蛋白分子之至少一部分的任何蛋白質或肽分子。因此，抗體可包含單域抗體或其片段，例如單域抗體或其配體結合部分之重鏈或輕鏈中之互補決定區（CDR）、重鏈或輕鏈可變區、重鏈或輕鏈恆定區、構架區（FR）及/或其任何部分、及/或結合蛋白之至少一部分。在一具體實例中，抗體可為單株抗體。在一具體實例中，抗體可為動物源抗體、嵌合抗體、人類化抗體或人類抗體。在一具體實例中，抗體可包括單、雙或多特異性抗體。

【0034】 在一具體實例中，蛋白質可為RANKL（核因子κ-B配位體之受體

活化劑）拮抗劑（例如抗RANKL抗體)，例如德諾單抗（分子量：約147 kDa；例如PROLIA®或XGEVA®），但不限於此。當蛋白質為RANKL拮抗劑（例如抗RANKL抗體），例如德諾單抗時，可施用醫藥組成物以治療骨質疏鬆及/或癌症。

【0035】 液體組成物中所含有之蛋白質可為天然產生或非天然產生的，例如可以重組或合成方式產生。

【0036】 液體組成物可包含以下濃度之蛋白質：5 mg/ml至300 mg/ml、5 mg/ml至250 mg/ml、5 mg/ml至200 mg/ml、5 mg/ml至150 mg/ml、5 mg/ml至125 mg/ml、5 mg/ml至100 mg/ml、5 mg/ml至90 mg/ml、5 mg/ml至80 mg/ml、5 mg/ml至70 mg/ml、5 mg/ml至60 mg/ml、10 mg/ml至300 mg/ml、10 mg/ml至250 mg/ml、10 mg/ml至200 mg/ml、10 mg/ml至150 mg/ml、10 mg/ml至125 mg/ml、10 mg/ml至100 mg/ml、10 mg/ml至90 mg/ml、10 mg/ml至80 mg/ml、10 mg/ml至70 mg/ml、10 mg/ml至60 mg/ml、20 mg/ml至300 mg/ml、20 mg/ml至250 mg/ml、20 mg/ml至200 mg/ml、20 mg/ml至150 mg/ml、20 mg/ml至125 mg/ml、20 mg/ml至100 mg/ml、20 mg/ml至90 mg/ml、20 mg/ml至80 mg/ml、20 mg/ml至70 mg/ml、20 mg/ml至60 mg/ml、30 mg/ml至300 mg/ml、30 mg/ml至250 mg/ml、30 mg/ml至200 mg/ml、30 mg/ml至150 mg/ml、30 mg/ml至125 mg/ml、30 mg/ml至100 mg/ml、30 mg/ml至90 mg/ml、30 mg/ml至80 mg/ml、30 mg/ml至70 mg/ml、30 mg/ml至60 mg/ml、40 mg/ml至300 mg/ml、40 mg/ml至250 mg/ml、40 mg/ml至200 mg/ml、40 mg/ml至150 mg/ml、40 mg/ml至125 mg/ml、40 mg/ml至100 mg/ml、40 mg/ml至90 mg/ml、40 mg/ml至80 mg/ml、40 mg/ml至70 mg/ml、40 mg/ml至60 mg/ml、50 mg/ml至300 mg/ml、50 mg/ml至250 mg/ml、50 mg/ml至200 mg/ml、50 mg/ml至150 mg/ml、50 mg/ml至125 mg/ml、50 mg/ml至100 mg/ml、50 mg/ml至90 mg/ml、50 mg/ml至80 mg/ml、50 mg/ml至70 mg/ml、50 mg/ml至60 mg/ml、60 mg/ml至300 mg/ml、60 mg/ml至250 mg/ml、60 mg/ml至200 mg/ml、60 mg/ml至

150 mg/ml、60 mg/ml至125 mg/ml、60 mg/ml至100 mg/ml、60 mg/ml至90 mg/ml、60 mg/ml至80 mg/ml或60 mg/ml至70 mg/ml，例如濃度為50 mg/ml、55 mg/ml、60 mg/ml、65 mg/ml、70 mg/ml、75 mg/ml或80 mg/ml。

2. 緩衝劑

【0037】 本發明中提供之液體組成物可不含緩衝劑。在一具體實例中，不包含（不包括）於液體組成物中之緩衝劑可為具有緩衝能力之常用緩衝劑中之至少一者。舉例而言，不包含於液體組成物中之緩衝劑可包含選自由以下者組成之群組的至少一者：（1）選自以下者之至少一種酸：磷酸、乙酸、檸檬酸、丁二酸及碳酸及其離子形式（例如磷酸鹽、乙酸鹽、檸檬酸鹽、丁二酸鹽、碳酸鹽等）；（2）其醫藥學上可接受之鹽（例如鈉鹽、鉀鹽等），（3）選自以下者之至少一種胺基酸：麩胺酸及天冬胺酸及其離子形式（例如麩胺酸鹽、天冬胺酸鹽等），及（4）所述胺基酸之醫藥學上可接受之鹽（例如鹽酸鹽等）。

【0038】 除非另外說明，否則在本發明中，（1）之酸及/或（3）之胺基酸及其離子形式彼此具有等效含義，或可互換使用。

【0039】 液體組成物可不包含選自由以下者組成之群組的至少一者：磷酸、乙酸（例如冰醋酸）、檸檬酸、丁二酸、碳酸、該等酸（磷酸、乙酸、檸檬酸、丁二酸、碳酸等）之離子型形式（例如磷酸鹽、乙酸鹽、檸檬酸鹽、丁二酸鹽、碳酸鹽等）、該等酸（磷酸、乙酸、檸檬酸、丁二酸及碳酸）之醫藥學上可接受之鹽（例如鈉鹽、鉀鹽等）；及天冬胺酸、麩胺酸、該等胺基酸（天冬胺酸、麩胺酸）之離子形式（例如麩胺酸鹽、天冬胺酸鹽等），及該等胺基酸（天冬胺酸、麩胺酸）之醫藥學上可接受之鹽（例如鹽酸鹽等）。不包含於液體組成物中之胺基酸可不為存在於蛋白質中之胺基酸，但為游離胺基酸。

【0040】 在一具體實例中，所述液體組成物可不含乙酸及/或乙酸鹽。

【0041】 在另一具體實例中，所述液體組成物可不含丁二酸及/或丁二酸鹽。

【0042】 在另一具體實例中，所述液體組成物可不含乙酸、乙酸鹽、丁二酸及丁二酸鹽。

【0043】 在另一具體實例中，所述液體組成物可不含麩胺酸及/或麩胺酸鹽。

【0044】 在另一具體實例中，所述液體組成物可不含乙酸、乙酸鹽、麩胺酸及麩胺酸鹽。

【0045】 在另一具體實例中，所述液體組成物可不含丁二酸、丁二酸鹽、麩胺酸及麩胺酸鹽。

【0046】 在另一具體實例中，所述液體組成物可不含乙酸、乙酸鹽、丁二酸、丁二酸鹽、麩胺酸及麩胺酸鹽。

【0047】 在另一具體實例中，所述液體組成物可不含乙酸、乙酸鹽、丁二酸、丁二酸鹽、麩胺酸、麩胺酸鹽、磷酸、磷酸鹽、檸檬酸、檸檬酸鹽、碳酸、碳酸鹽、天冬胺酸及天冬胺酸鹽。

3. 組胺酸

【0048】 本發明中提供之液體組成物可包含組胺酸。在所述液體組成物中，組胺酸可充當緩衝劑。在所述液體組成物中，組胺酸亦可充當用於蛋白質之穩定劑。舉例而言，組胺酸可抑止蛋白質之酸性變異體（抑制酸性變異體形成）或充當蛋白質之酸性變異體抑制劑。在所述液體組成物中，組胺酸可抑止蛋白質之酸變異體（抑制酸性變異體形成，減小%Acidic增加）。此外，組胺酸可具有抑制蛋白質聚集之作用（例如抑制高分子量（HMW）形成，減小%HMW增加）。因此，液體組成物可包含作為緩衝劑、及/或酸性變異體抑制劑、及/或

蛋白質聚集抑制劑之組胺酸。

【0049】 在所述液體組成物中，組胺酸可呈分離之游離胺基酸形式（亦即，並非蛋白質之組胺酸殘基）。

【0050】 若所述液體組成物包含組胺酸，則液體組成物中組胺酸之濃度可在1至100mM、1至70mM、1至50mM、1至40mM、1至30mM、1至25mM、1至22mM、1至20mM、5至100mM、5至70mM、5至50mM、5至40mM、5至30mM、5至25mM、5至22mM、5至20mM、10至100mM、10至70mM、10至50mM、10至40mM、10至30mM、10至25mM、10至22mM、10至20mM、14至100mM、14至70mM、14至50mM、14至40mM、14至30mM、14至25mM、14至22mM、14至20mM、16至100mM、16至70mM、16至50mM、16至40mM、16至30mM、16至25mM、16至22mM或16至20mM範圍內；例如16mM、17mM、18mM、19mM或20mM。

4. 糖、糖衍生物及/或胺基酸

【0051】 液體組成物可包含選自由糖、糖衍生物及胺基酸組成之群組的至少一者。

【0052】 選自由糖、糖衍生物及胺基酸組成之群組的該至少一者可充當用於液體組成物中之蛋白質的穩定劑及/或張力劑，但不限於此。就此而言，可作為穩定劑及/或張力劑包含之胺基酸可為至少一種胺基酸，但組胺酸除外（亦即，所述胺基酸可不包括組胺酸）。

（1）糖及糖衍生物（糖酸、多元醇（諸如糖醇））

【0053】 在一具體實例中，糖可為選自由以下者組成之群組的至少一者：單醣、雙醣、寡醣及多醣，但不限於此。單醣可為選自由以下者組成之群組的

至少一者：葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖及其類似物，但不限於此。雙醣可為選自由以下者組成之群組的至少一者：蔗糖、乳糖、麥芽糖、海藻糖及其類似物，但不限於此。寡醣可為選自由以下者組成之群組的至少一者：果寡醣、半乳寡醣、甘露寡醣及其類似物，但不限於此。多醣可為選自由以下者組成之群組的至少一者：澱粉、肝醣、纖維素、幾丁質、果膠及其類似物，但不限於此。

【0054】 糖酸可為選自由以下者組成之群組的至少一者：醛醣酸（甘油酸等）、酮醣酸（神經胺酸等）、醣醛酸（葡萄糖醛酸等）、醛醣二酸（酒石酸等）及其類似物，但不限於此。

【0055】 糖醇可為選自由以下者組成之群組的至少一者：丙三醇、赤藻糖醇、蘇糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、核糖醇、甘露糖醇、山梨糖醇、半乳糖醇、海藻糖醇、艾杜糖醇、肌醇、庚七醇、異麥芽酮糖醇、麥芽糖醇、乳糖醇、麥芽三糖醇（maltotritol）、麥芽四糖醇（maltotetraitol）、聚糖醇（polyglycitol）及其類似物，但不限於此。

【0056】 在一具體實例中，液體組成物可包含選自由以下者組成之群組的至少一種糖或糖醇：海藻糖、蔗糖、甘露糖、山梨糖醇、麥芽糖、甘露糖醇及其類似物（例如選自由以下者組成之群組的至少一者：山梨糖醇、蔗糖、海藻糖及其類似物）。

【0057】 在一具體實例中，當液體組成物包含至少一種糖（例如選自由以下者組成之群組的至少一者：海藻糖、蔗糖、甘露糖及麥芽糖）時，其濃度可在以總液體組成物計1至15%（w/v）、3至15%（w/v）、5至15%（w/v）、7至15%（w/v）、1至10%（w/v）、3至10%（w/v）、5至10%（w/v）、7至10%（w/v）、1至7%（w/v）、2至7%（w/v）、3至7%（w/v）、4至7%（w/v）、1至5%（w/v）、2至5%（w/v）、3至5%（w/v）、4至5%（w/v）、4.5至5%（w/v）（例如約4.7%（w/v））

或7.8至8.2%（w/v）（例如約8%（w/v））（例如海藻糖或蔗糖之含量可為7.8至8.2%（w/v）（例如約7.8%（w/v）、約7.9%（w/v）、約8%（w/v）、約8.1%（w/v）或約8.2%（w/v）））範圍內；及

當液體組成物包含至少一種糖醇（例如選自由山梨糖醇及甘露糖醇組成之群組的至少一者）時，其濃度可在以總液體組成物計1至10%（w/v）、2.5至10%（w/v）、3至10%（w/v）、3.5至10%（w/v）、4至10%（w/v）、1至8%（w/v）、2.5至8%（w/v）、3至8%（w/v）、3.5至8%（w/v）、4至8%（w/v）、1至6%（w/v）、2.5至6%（w/v）、3至6%（w/v）、3.5至6%（w/v）、4至6%（w/v）、4至5.5%（w/v）、4至5%（w/v）、4.2至4.8%（w/v）或4.4至4.7%（w/v）（例如約4.4%（w/v）、約4.5%（w/v）、約4.6%（w/v）或約4.7%（w/v））範圍內。

【0058】 在一具體實例中，液體組成物可包含：

至少一種選自由以下者組成之群組的糖：海藻糖、蔗糖、甘露糖及麥芽糖，其濃度以其總液體組成物計為1至15%（w/v）、3至15%（w/v）、5至15%（w/v）、7至15%（w/v）、1至10%（w/v）、3至10%（w/v）、5至10%（w/v）、7至10%（w/v）、1至7%（w/v）、2至7%（w/v）、3至7%（w/v）、4至7%（w/v）、1至5%（w/v）、2至5%（w/v）、3至5%（w/v）、4至5%（w/v）、4.5至5%（w/v）（例如約4.7%（w/v））或7.8至8.2%（w/v）（例如約7.8%（w/v）、約7.9%（w/v）、約8%（w/v）、約8.1%（w/v）或約8.2%（w/v））。

至少一種選自由以下者組成之群組的糖醇：山梨糖醇及甘露糖醇，其濃度以其總液體組成物計為1至10%（w/v）、2.5至10%（w/v）、3至10%（w/v）、3.5至10%（w/v）、4至10%（w/v）、1至8%（w/v）、2.5至8%（w/v）、3至8%（w/v）、3.5至8%（w/v）、4至8%（w/v）、1至6%（w/v）、2.5至6%（w/v）、3至6%（w/v）、3.5至6%（w/v）、4至6%（w/v）、4至5.5%（w/v）、4至5%（w/v）、4.2至4.8%（w/v）或4.4至4.7%（w/v）（例如約4.4%（w/v）、約4.5%（w/v）、約4.6%（w/v）或約

4.7%（w/v））；或

其組合。

【0059】　更特定言之，液體組成物可包含：

海藻糖或蔗糖，其濃度以其總液體組成物計為1至15%（w/v）、3至15%（w/v）、4至15%（w/v）、5至15%（w/v）、7至15%（w/v）、1至10%（w/v）、3至10%（w/v）、4至10%（w/v）、5至10%（w/v）、7至10%（w/v）、1至7%（w/v）、3至7%（w/v）、4至7%（w/v）、1至5%（w/v）、3至5%（w/v）、4至5%（w/v）、4.2至5%（w/v）、4.5至5%（w/v）、7至9%（w/v）、7至8.5%（w/v）、7至8.2%（w/v）、7.5至9%（w/v）、7.5至8.5%（w/v）、7.5至8.2%（w/v）、7.8至9%（w/v）、7.8至8.5%（w/v）、7.8至8.2%（w/v）、4.7（w/v）、7.8%（w/v）、7.9%（w/v）、8%（w/v）、8.1%（w/v）或8.2%（w/v）；

山梨糖醇，其濃度以其總液體組成物計為1至10%（w/v）、2.5至10%（w/v）、3至10%（w/v）、3.5至10%（w/v）、4至10%（w/v）、1至8%（w/v）、2.5至8%（w/v）、3至8%（w/v）、3.5至8%（w/v）、4至8%（w/v）、1至6%（w/v）、2.5至6%（w/v）、3至6%（w/v）、3.5至6%（w/v）、4至6%（w/v）、4至5.5%（w/v）、4至5.2%（w/v）、4至5%（w/v）、4至4.8%（w/v）、4.1至5.5%（w/v）、4.1至5.2%（w/v）、4.1至5%（w/v）、4.1至4.8%（w/v）、4.1至4.7%（w/v）、4.2至5.5%（w/v）、4.2至5.2%（w/v）、4.2至5%（w/v）、4.2至4.8%（w/v）、4.2至4.7%（w/v）、4.4%（w/v）、4.5%（w/v）、4.6%（w/v）或4.7%（w/v）；或

其組合。

（2）胺基酸

【0060】　如本發明中所用，術語「胺基酸（amino acid）」可指選自胺基酸本身、其離子形式及其醫藥學上可接受之鹽之至少一者。胺基酸可呈L-形式、

D-形式或呈外消旋混合物形式，且例如可呈L-形式，但不限於此。

【0061】 作為穩定劑及/或張力劑包含之胺基酸可為選自除組胺酸外之胺基酸及其醫藥學上可接受之鹽之至少一者。舉例而言，胺基酸可為選自由以下者組成之群組的至少一者：丙胺酸（Ala）、精胺酸（Arg）、天冬醯胺酸（Asn）、天冬胺酸（Asp）、麩醯胺酸（Gln）、麩胺酸（Glu）、甘胺酸（Gly）、異白胺酸（Ile）、白胺酸（Leu）、離胺酸（Lys）、甲硫胺酸（Met）、苯丙胺酸（Phe）、脯胺酸（Pro）、絲胺酸（Ser）、蘇胺酸（Thr）、色胺酸（Trp）、酪胺酸（Tyr）、纈胺酸（Val）、半胱胺酸（Cys）及其醫藥學上可接受之鹽（例如鹽酸鹽、乙醯基胺基酸鹽等）。該胺基酸可不為存在於本發明中提供之蛋白質內之胺基酸，但為游離胺基酸。

【0062】 在一具體實例中，胺基酸可包括選自由以下者組成之群組的至少一者：精胺酸（Arg）、離胺酸（Lys）、脯胺酸（Pro）、甘胺酸（Gly）、丙胺酸（Ala）、甲硫胺酸（Met）、絲胺酸（Ser）及該等胺基酸之醫藥學上可接受之鹽（例如鹽酸鹽、乙醯基胺基酸鹽等）。

【0063】 在一具體實例中，液體組成物可包含至少一種胺基酸（除組胺酸外；例如選自由以下者組成之群組的至少一者：精胺酸（Arg）、離胺酸（Lys）、脯胺酸（Pro）、甘胺酸（Gly）、丙胺酸（Ala）、甲硫胺酸（Met）、絲胺酸（Ser）及該等胺基酸之醫藥學上可接受之鹽）。就此而言，液體組成物中胺基酸之濃度可為0.1至300mM、0.5至300mM、1至300mM、5至300mM、10至300mM、30至300mM、50至300mM、80至300mM、100至300mM、120至300mM、0.1至250mM、0.5至250mM、1至250mM、5至250mM、10至250mM、30至250mM、50至250mM、80至250mM、100至250mM、120至250mM、0.1至200mM、0.5至200mM、1至200mM、5至200mM、10至200mM、30至200mM、50至200mM、80至200mM、100至200mM、120至200mM、0.1至160mM、0.5至160mM、1至160mM、5至

160mM、10至160mM、30至160mM、50至160mM、80至160mM、100至160mM、120至160mM或130至150mM。

【0064】 在一具體實例中，液體組成物可包含至少一種選自由以下者組成之群組的胺基酸：精胺酸（Arg）、離胺酸（Lys）、脯胺酸（Pro）、甘胺酸（Gly）、丙胺酸（Ala）、甲硫胺酸（Met）、絲胺酸（Ser）及該等胺基酸之醫藥學上可接受之鹽，其濃度為80至200mM、100至200mM、130至200mM、80至150mM、100至150mM或120至160mM。

【0065】 更特定言之，液體組成物可包含精胺酸（Arg）或精胺酸鹽酸鹽（Arg-HCl），其濃度為80至200mM、100至200mM、120至200mM、80至160mM、100至160mM、120至160mM、120至155mM、120至150mM、120至145mM、130至160mM、130至155mM、130至150mM、130至145mM、130至142mM、135至160mM、135至155mM、135至150mM、135至145mM、135至142mM、138至160mM、138至155mM、138至150mM、138至145mM、138至142mM或140mM。

5. 氯化鈉及其他成分

【0066】 在一具體實例中，液體組成物可不含氯化鈉。氯化鈉可充當穩定劑及/或張力劑。在另一具體實例中，除上文所述之糖、糖衍生物及/或胺基酸以外，液體組成物可進一步包含氯化鈉。在另一具體實例中，液體組成物不單獨包含作為穩定劑及/或張力劑之氯化鈉。亦即，當液體組成物包含氯化鈉時，液體組成物中亦可包含選自如上文所述之糖、糖衍生物（糖酸、多元醇（諸如糖醇）、胺基酸及其醫藥學上可接受之鹽的至少一者。

【0067】 在另一具體實例中，液體組成物可不包含作為穩定劑之聚乙二醇（例如PEG3350）、環糊精衍生物（例如磺基丁醚-β-環糊精（sulfobutylether-β-cyclodextrin））及其類似物。

6. 界面活性劑

【0068】 在一具體實例中，液體組成物可進一步包含界面活性劑。對於所述液體組成物中，可以基於總液體組成物計0.001至1%（w/v）、0.001至0.5%（w/v）、0.001至0.1%（w/v）、0.001至0.05%（w/v）、0.005至1%（w/v）、0.005至0.5%（w/v）、0.005至0.1%（w/v）、0.005至0.05%（w/v）或0.008至0.02%（w/v）之濃度包含界面活性劑。

【0069】 界面活性劑可為醫藥學上可接受的且能夠將蛋白質均勻分散於液體組成物介質中的任何界面活性劑。界面活性劑可為非離子界面活性劑，例如選自由以下者組成之群組的至少一者：聚山梨醇酯（例如聚山梨醇酯20（聚氧乙烯（20）山梨糖醇酐單月桂酸酯）、聚山梨醇酯40（聚氧乙烯（20）山梨糖醇酐單棕櫚酸酯）、聚山梨醇酯60（聚氧乙烯（20）山梨糖醇酐單硬脂酸酯）、聚山梨醇酯80（聚氧乙烯（20）山梨糖醇酐單油酸酯）；聚氧乙烯後之數字（20）指示氧乙烯（-(CH_2CH_2O)-）單元之總數目））、泊洛沙姆（poloxamer）（PEO-PPO-PEO共聚物；PEO：聚(環氧乙烷)，PPO：聚(環氧丙烷)）、聚乙烯-聚丙二醇、聚氧乙烯化合物（例如聚氧乙烯-硬脂酸酯、聚氧乙烯烷基醚（烷基：C1-C30）、聚氧乙烯單月桂基醚、烷基苯基聚氧乙烯共聚物（烷基：C1-C30）等）、十二烷基硫酸鈉（sodium dodecyl sulphate，SDS）及其類似物。舉例而言，界面活性劑可為聚山梨醇酯（例如聚山梨醇酯20）。

7. 液體組成物

【0070】 液體組成物可包含各別前述濃度之蛋白質；糖、糖衍生物及/或胺基酸；組胺酸（若包含）及界面活性劑（若包含），且其餘為水性介質（例如水（純化水）、生理食鹽水溶液、注射溶液等）。

【0071】 本發明中提供之液體組成物可與生物體等張。舉例而言，所述液體組成物可具有以下範圍內之滲透壓：約200 mOsm/kg至約450 mOsm/kg、約200 mOsm/kg至約400 mOsm/kg、約200 mOsm/kg至約350 mOsm/kg、約200 mOsm/kg至約330 mOsm/kg、約250 mOsm/kg至約450 mOsm/kg、約250 mOsm/kg至約400 mOsm/kg、約250 mOsm/kg至約350 mOsm/kg、約250 mOsm/kg至約330 mOsm/kg、約270 mOsm/kg至約450 mOsm/kg、約270 mOsm/kg至約400 mOsm/kg、270 mOsm/kg至約350 mOsm/kg、270 mOsm/kg至約330 mOsm/kg、約300 mOsm/kg至約450 mOsm/kg、約300 mOsm/kg至約400 mOsm/kg、約300 mOsm/kg至約350 mOsm/kg或約300 mOsm/kg至約330 mOsm/kg，但不限於此。滲透壓可藉由穩定劑調節。

【0072】 本發明中提供之液體組成物可具有以下範圍內之電導率：約0 mS/cm或更高（或大於0 mS/cm）、約0.0001 mS/cm或更高、或約0.001 mS/cm或更高，例如約0 mS/cm至約10 mS/cm、約0 mS/cm至約7 mS/cm、0 mS/cm至約5 mS/cm、約0 mS/cm至約2.5 mS/cm、約0 mS/cm至約1 mS/cm、約0 mS/cm至約0.5 mS/cm、約0 mS/cm至約0.1 mS/cm、約0 mS/cm至約0.05 mS/cm、大於約0 mS/cm及約10 mS/cm或更低、大於約0 mS/cm及約7 mS/cm或更低、大於0 mS/cm及約5 mS/cm或更低、大於約0 mS/cm及約2.5 mS/cm或更低、大於約0 mS/cm及約1 mS/cm或更低、大於約0 mS/cm及約0.5 mS/cm或更低、大於約0 mS/cm及約0.1 mS/cm或更低、約大於0 mS/cm及約0.05 mS/cm或更低、約0.0001 mS/cm至約10 mS/cm、約0.0001 mS/cm至約7 mS/cm、0.0001 mS/cm至約5 mS/cm、約0.0001 mS/cm至約2.5 mS/cm、約0.0001 mS/cm至約1 mS/cm、約0.0001 mS/cm至約0.5 mS/cm、約0.0001 mS/cm至約0.1 mS/cm、約0.0001 mS/cm至約0.05 mS/cm、約0.001 mS/cm至約10 mS/cm、約0.001 mS/cm至約7 mS/cm、0.001 mS/cm至約5 mS/cm、約0.001 mS/cm至約2.5 mS/cm、0.001 mS/cm至約1 mS/cm、約0.001 mS/cm至約0.5

mS/cm、約0.001 mS/cm至約0.1 mS/cm或約0.001 mS/cm至約0.05 mS/cm。

【0073】 約40℃之高溫下藉由本發明提供之液體組成物可穩定保持4週或更長。

【0074】 如本文所用，與液體組成物相關之表述「極佳穩定性（excellent stability）」或「保持穩定（maintained stably）」意謂在儲存期間組成物中之蛋白質保持其結構及/或物理、化學及/或生物特性（例如在儲存期間的低高分子量、低蛋白質聚集率、低蛋白質降解率及/或低酸性變異體量）。用於評估蛋白質穩定性之各種分析在相關領域中已熟知。與包含除組胺酸外之緩衝劑（例如包含乙酸鹽或丁二酸鹽）之情況相比，不含緩衝劑或包含組胺酸之本發明中提供之液體組成物可展現低高分子量（蛋白質聚集率）及/或低酸性變異體量（酸性變異體率）。

【0075】 舉例而言，當本發明中提供之液體組成物包含濃度為60 mg/ml、70 mg/ml或80 mg/ml之蛋白質（抗體）時，如藉由習知尺寸排阻層析（size exclusion chromatography，SEC）所量測，在40℃下儲存一週或更長，例如一、二、三或四週期間蛋白質聚集量或聚集率變化（高分子量%（w/v）；%HMW）（例如變化可指Δ%HMW；第4週之%HMW - 第0週之%HMW（初始））可為約5%或更小，例如約4.5%或更小、約4%或更小、約3.5%或更小、約3%或更小、約2.5%或更小、約2%或更小、約1.5%或更小、約1%或更小、約0.9%或更小、約0.8%或更小、約0.7%或更小、約0.65%或更小、約0.6%或更小、約0.55%或更小、約0.5%或更小、約0.45%或更小或約0.4%或更小，但不限於此。

【0076】 在另一具體實例中，當本發明中提供之液體組成物包含濃度為60 mg/ml、70 mg/ml或80 mg/ml之蛋白質（抗體）時，如藉由習知SEC（尺寸排阻層析）所量測，在40℃下儲存一週或更長，例如一、二、三或四個週期間蛋白質聚集量或聚集率變化（高分子量%（w/v）；%HMW）（例如變化可指Δ%HMW；

第4週之%HMW - 第0週之%HMW（初始））與和本發明之液體組成物一致，但包含作為緩衝劑之選自乙酸鹽、丁二酸鹽及麩胺酸鹽之至少一者，及/或不包含組胺酸的液體組成物相比可低約0.01%或更多、約0.5%或更多、約0.1%或更多、約0.15%或更多、約0.2%或更多、約0.25%或更多、約0.3%或更多、約0.35%或更多、約0.4%或更多、約0.45%或更多、約0.5%或更多、約0.55%或更多、約0.6%或更多、約0.65%或更多、約0.7%或更多、約0.75%或更多、約0.8%或更多、約0.85%或更多、約0.9%或更多、約0.95%或更多或約1%或更多，例如約0.01%至約2%、約0.05%至約2%、約0.1%至約2%、約0.15%至約2%、約0.2%至約2%、約0.25%至約2%、約0.3%至約2%、約0.35%至約2%、約0.4%至約2%、約0.45%至約2%、約0.5%至約2%、約0.55%至約2%、約0.6%至約2%、約0.65%至約2%、約0.7%至約2%、0.75%至約2%、0.8%至約2%、0.85%至約2%、0.9%至約2%、0.95%至約2%、或1%至約2%，但不限於此。

【0077】 在另一具體實例中，當本發明中提供之液體組成物包含含量為60 mg/ml、70 mg/ml或80 mg/ml之蛋白質（抗體）時，如藉由習知陽離子交換層析（cation exchange chromatography，CEX）所量測，在40℃下儲存一週或更長，例如一、二、三或四週期間酸性變異體量（%Acidic）之變化（例如變化可指Δ%Acidic；第4週之%Acidic - 第0週之%Acidic（初始））可為約30.0%或更小、約28.0%或更小、約25.0%或更小、約23%或更小、約20%或更小、約18%或更小、約15%或更小、約13%或更小、約10%或更小、約9%或更小、約8%或更小、約7.5%或更小、約7.2%或更小、約7%或更小、約6.9%或更小、約6.8%或更小、約6.7%或更小、約6.6%或更小、約6.5%或更小、約6.4%或更小、約6.3%或更小、約6.2%或更小、約6.1%或更小、約6.0%或更小、約5.9%或更小、約5.8%或更小、約5.7%或更小、約5.6%或更小、約5.5%或更小、約5.4%或更小、約5.3%或更小、約5.2%或更小、約5.1%或更小或約5.0%或更小，但不限於此。

【0078】 在另一具體實例中，當本發明中提供之液體組成物包含含量為60 mg/ml、70 mg/ml或80 mg/ml之蛋白質（抗體）時，如藉由習知CEX（陽離子交換層析）所量測，在40℃下儲存一週或更長，例如一、二、三或四週期間酸性變異體量（%Acidic）之變化（例如變化可指Δ%Acidic；第4週之%Acidic - 第0週之%Acidic（初始）），其與和本發明之液體組成物一致，但包含作為緩衝劑之選自乙酸鹽、丁二酸鹽及麩胺酸鹽之至少一者及/或不包含組胺酸之液體組成物相比低約0.01%或更多、約0.5%或更多、約0.1%或更多、約0.15%或更多、約0.2%或更多、約0.25%或更多、約0.3%或更多、約0.35%或更多、約0.4%或更多、約0.45%或更多、約0.5%或更多、約0.55%或更多、約0.6%或更多、約0.65%或更多、約0.7%或更多、約0.75%或更多、約0.8%或更多、約0.85%或更多、約0.9%或更多、約0.95%或更多或約1%或更多，例如約0.01%至約2%、約0.05%至約2%、約0.1%至約2%、約0.15%至約2%、約0.2%至約2%、約0.25%至約2%、約0.3%至約2%、約0.35%至約2%、約0.4%至約2%、約0.45%至約2%、約0.5%至約2%、約0.55%至約2%、約0.6%至約2%、約0.65%至約2%、約0.7%至約2%、0.75%至約2%、0.8%至約2%、0.85%至約2%、0.9%至約2%、0.95%至約2%或1%至約2%，但不限於此。

8. 醫藥組成物

【0079】 另一具體實例提供一種包含該液體組成物之醫藥組成物。當液體組成物包含例如作為蛋白質之抗RANKL抗體時，醫藥組成物可對骨質疏鬆、癌症或癌轉移（例如癌症之骨轉移）具有預防性或治療性功效。因此，一具體實例提供一種包含液體組成物之醫藥組成物，其用於預防或治療骨質疏鬆、癌症或癌轉移（例如癌症之骨轉移）。

【0080】 可向包括人類之哺乳動物投予液體組成物或醫藥組成物。

【0081】 液體組成物或醫藥組成物可經口或非經腸投予。對於非經腸投予（例如注射），投予途徑可選自靜脈內、皮下、肌肉內、腹膜內、皮內、局部、鼻內、肺內、直腸內及腫瘤內途徑等。

【0082】 在一具體實例中，倘若液體組成物包含抗RANKL抗體，則所述液體組成物或醫藥組成物可靜脈內或皮下投予。

【0083】 液體組成物或醫藥組成物可製備成適於投予途徑之調配物。

【0084】 液體組成物或醫藥組成物可包含醫藥學上可接受之載劑。如本文所用，術語「醫藥學上可接受之載劑（pharmaceutically acceptable carrier）」可指選自固體、半固體或液體填充劑、稀釋劑、包囊材料、調配助劑及任何習知賦形劑之至少一者，其所有均無毒。

9. 蛋白質穩定化之方法或製備蛋白質之穩定液體組成物之方法

【0085】 另一具體實例提供一種穩定蛋白質或製備蛋白質之穩定液體組成物之方法，該方法包含混合上文所述之成分之步驟。

【0086】 一具體實例提供一種穩定蛋白質或製備蛋白質之穩定水性液體組成物之方法，該方法包含混合之步驟：

（1）所述蛋白質與糖、糖衍生物及/或胺基酸；或

（2）所述蛋白質與糖、糖衍生物及/或胺基酸及組胺酸。

【0087】 當包含步驟（1）時，該方法可不包含混合選自乙酸鹽、丁二酸鹽及麩胺酸鹽之至少一者或混合緩衝劑。包含步驟（1）或步驟（2）的方法，可進一步包含混合界面活性劑。

【0088】 穩定蛋白質或製備蛋白質之穩定水性液體組成物之方法中所用之個別成分之類別及量如上文所述。

本發明之功效

【0089】 對於諸如抗體之蛋白質之藥物調配物，對緩衝液之類別及濃度、穩定劑之類別及濃度及pH值進行最佳化，從而獲得具有改良之蛋白質藥物穩定性之蛋白質藥物調配物。

【圖式簡單說明】

【0090】

[圖1a]為展示如實施例1.2中所量測之在40℃下四週之蛋白質液體調配物之平均Δ%HMW的圖表，其中左側圖展示根據緩衝劑類別之平均Δ%HMW，且右側圖展示根據穩定劑類別之平均Δ%HMW，且在圖1c中，虛線指示PROLIA®調配物之平均Δ%HMW（0.69%）。

[圖1b]為展示如實施例1.2中所量測之在40℃下四週之蛋白質液體調配物之平均Δ%Acidic的圖表，其中左側圖展示根據緩衝劑類別之平均Δ%Acidic且右側圖展示根據穩定劑類別之平均Δ%Acidic。

[圖2a]為展示如實施例2.2中所量測之40℃下四週之蛋白質液體調配物之平均Δ%HMW的圖表，其中左側圖展示根據蛋白質藥物濃度之平均Δ%HMW，中間圖展示根據緩衝劑類別之平均Δ%HMW，且右側圖展示根據穩定劑類別之平均Δ%HMW。

[圖2b]為展示如實施例2.2中所量測之40℃下四週之蛋白質液體調配物之平均Δ%Acidic的圖表，其中左側圖展示根據蛋白質藥物濃度之平均Δ%Acidic，中間圖展示根據緩衝劑類別之平均Δ%Acidic，且右側圖展示根據穩定劑類別之平均Δ%Acidic。

[圖3]為展示如實施例3中所量測之40℃下四週之蛋白質液體調配物根據蛋白質藥物濃度、緩衝劑類別、穩定劑類別及pH值之平均Δ%HMW的圖表。

【實施方式】

【0091】 本發明之較佳理解可經由以下實施例獲得，該等實施例經闡述以說明本發明但不視為限制本發明。

實施例1：緩衝劑/穩定劑之選擇

1.1. 液體調配物之製備

【0092】 製備如以下表1所指示之具有5.2之pH值且包含60 mg/mL作為蛋白質藥物之德諾單抗（登錄編號DB06643）（其為抗RANKL人類單株抗體）、0.01%聚山梨醇酯20（PS20）、緩衝劑及穩定劑的液體調配物。

表1

STD No.	緩衝劑	穩定劑
1-3	乙酸（17mM）	4.7%山梨糖醇
1	乙酸（17mM）	4.7%山梨糖醇
2	乙酸（17mM）	4.7%山梨糖醇
3	乙酸（17mM）	4.7%山梨糖醇
4	乙酸（17mM）	8%蔗糖
5	乙酸（17mM）	8%海藻糖
6	乙酸（17mM）	140 mM精胺酸鹽酸鹽
7	乙酸（17mM）	0.8% NaCl
8	丁二酸鹽（17mM）	4.7%山梨糖醇
9	丁二酸鹽（17mM）	8%蔗糖
10	丁二酸鹽（17mM）	8%海藻糖
11	丁二酸鹽（17mM）	140 mM精胺酸鹽酸鹽
12	丁二酸鹽（17mM）	0.8% NaCl
13	組胺酸（17mM）	4.7%山梨糖醇
14	組胺酸（17mM）	8%蔗糖
15	組胺酸（17mM）	8%海藻糖
16	組胺酸（17mM）	140 mM精胺酸鹽酸鹽
17	組胺酸（17mM）	0.8% NaCl
18	無緩衝劑	4.7%山梨糖醇
19	無緩衝劑	8%蔗糖
20	無緩衝劑	8%海藻糖
21	無緩衝劑	140 mM精胺酸鹽酸鹽
22	無緩衝劑	0.8% NaCl

（1-3：具有與PROLIA®相同的組成之調配物；%：w/v）

1.2. **%HMW及%Acidic之量測（40℃條件）**

【0093】 為分析實施例1.1中製備之包含緩衝劑/穩定劑之各種組合的液體調配物（德諾單抗60 mg /mL，pH 5.2）之穩定性，將液體調配物儲存於40℃下四週，且藉由SEC（尺寸排阻層析法）及CEX（陽離子交換層析）分別量測液體調配物之高分子量（%HMW）及酸性變異體量（%Acidic）。詳細地，%HMW使用SEC（尺寸排阻層析法）來量測且%Acidic使用CEX（陽離子交換層析）來量測。

【0094】 更詳細地，SEC（尺寸排阻層析法）使用Waters之HPLC系統根據製造商之手冊進行。根據滯留時間（蛋白質之分子量）分離出總計三個峰。依滯留時間短（較大分子量）之順序，三個峰與HMW峰、單體峰及LMW峰相對應。單體之前偵測到之物質定義為HMW。%HMW使用HPLC（Waters 2695分離模組聯盟）及管柱（Tosoh，TSK-gel G3000 SWXL）在0.7 mL/min之流速下在24 min注射運行時間下來量測（%HMW = 面積$_{HMW}$/面積$_{總}$ ×100）。

【0095】 此外，CEX（陽離子交換層析）使用Waters之HPLC系統根據製造商之手冊進行。根據滯留時間（蛋白質電荷）分離出總計三個峰。依滯留時間短之順序，三個峰與酸性峰、主峰及鹼性峰相對應。主峰前偵測到之物質定義為酸性峰。%Acidic（酸性變異體量）使用HPLC（Waters 2695分離模組聯盟）及管柱（Thermo Scientific，Propac WCX-10管柱）在1.0 mL/min之流速下在32 min注射運行時間下來量測（%Acidic = 面積$_{Acidic}$/面積$_{總}$ × 100）。

%HMW（高分子量%）: %HMW= {HMW之面積/（HMW + 單體 + LMW）之面積}×100；

%Acidic：酸性變異體之比率（%Acidic = {酸性峰之面積/（酸性峰 + 主峰 + 鹼性峰)之面積}×100）。

【0096】 關於%HMW（第0週之%HMW、第4週之%HMW）及Δ%HMW（第4週之%HMW - 第0週之%HMW）之結果概述於表2中，且關於%Acidic（第0週之%Acidic、第4週之%Acidic）及Δ%Acidic（第4週之%Acidic - 第0週之%Acidic）概述於表3中：

表2

STD No.	緩衝劑（No. 1~17：17mM）	穩定劑	%HMW		
			第0週	第4週	
				%HMW	Δ%HMW
1-3	乙酸	4.7%山梨糖醇	0.44 N=3, SD:0.04	1.14 N=3, SD:0.07	0.69 N=3, SD:0.09
1	乙酸	4.7%山梨糖醇	0.47	1.07	0.60
2	乙酸	4.7%山梨糖醇	0.47	1.12	0.65
3	乙酸	4.7%山梨糖醇	0.39	1.22	0.83
4	乙酸	8%蔗糖	0.40	1.15	0.75
5	乙酸	8%海藻糖	0.43	0.87	0.44
6	乙酸	140 mM精胺酸鹽酸鹽	0.41	1.34	0.93
7	乙酸	0.8% NaCl	0.46	2.03	1.57
8	丁二酸鹽	4.7%山梨糖醇	0.42	1.24	0.82
9	丁二酸鹽	8%蔗糖	0.41	1.34	0.93
10	丁二酸鹽	8%海藻糖	0.43	1.29	0.86
11	丁二酸鹽	140 mM精胺酸鹽酸鹽	0.40	1.74	1.34
12	丁二酸鹽	0.8% NaCl	0.47	2.40	1.93
13	組胺酸	4.7%山梨糖醇	0.40	0.87	0.47
14	組胺酸	8%蔗糖	0.40	0.83	0.43
15	組胺酸	8%海藻糖	0.40	0.89	0.49
16	組胺酸	140 mM精胺酸鹽酸鹽	0.28	1.17	0.89
17	組胺酸	0.8% NaCl	0.42	1.84	1.42
18	無緩衝劑	4.7%山梨糖醇	0.53	1.02	0.49
19	無緩衝劑	8%蔗糖	0.51	0.99	0.48
20	無緩衝劑	8%海藻糖	0.50	1.06	0.56
21	無緩衝劑	140 mM精胺酸鹽酸鹽	0.39	1.15	0.76
22	無緩衝劑	0.8% NaCl	0.50	1.85	1.35

（1-3：具有與PROLIA®相同的組成之調配物）

表3

STD No.	緩衝劑（No. 1~17：17mM）	穩定劑	%Acidic		
			第0週	第4週	
				%Acidic	Δ%Acidic
1-3	乙酸	山梨糖醇	17.62 N=3，SD:0.13	25.31 N=3，SD:0.24	7.69 N=3，SD:0.06
1	乙酸	山梨糖醇	17.78	25.42	7.64
2	乙酸	山梨糖醇	17.46	25.53	8.07
3	乙酸	山梨糖醇	17.62	24.97	7.35
4	乙酸	蔗糖	18.39	25.19	6.8
5	乙酸	海藻糖	18.01	24.9	6.89
6	乙酸	精胺酸鹽酸鹽	17.23	23.72	6.49
7	乙酸	NaCl	17.59	24.36	6.77
8	丁二酸鹽	山梨糖醇	18.3	29.32	11.02
9	丁二酸鹽	蔗糖	17.91	29.26	11.35
10	丁二酸鹽	海藻糖	17.95	28.29	10.34
11	丁二酸鹽	精胺酸鹽酸鹽	17.19	25.16	7.97
12	丁二酸鹽	NaCl	18.21	26.87	8.66
13	組胺酸	山梨糖醇	18.11	23.93	5.82
14	組胺酸	蔗糖	17.27	23.81	6.54
15	組胺酸	海藻糖	18.14	24.01	5.87
16	組胺酸	精胺酸鹽酸鹽	17.94	23.71	5.77
17	組胺酸	NaCl	17.76	24.67	6.91
18	無緩衝劑	山梨糖醇	18.7	23.78	5.08
19	無緩衝劑	蔗糖	17.88	25.11	7.23
20	無緩衝劑	海藻糖	18.45	25.35	6.9
21	無緩衝劑	精胺酸鹽酸鹽	17.5	24.24	6.74
22	無緩衝劑	NaCl	18.4	24.08	5.68

（1-3：具有與PROLIA®相同的組成之調配物）

【0097】 此外，四週之平均Δ%HMW描繪於圖1a及1c中（Δ%HMW；左側：根據緩衝劑類別之平均Δ%HMW，右側：根據穩定劑類別之平均Δ%HMW，圖1c之虛線：PROLIA®調配物之平均Δ%HMW（0.69%）），且四週之平均Δ%Acidic描繪於圖1b中（Δ%Acidic；左側：根據緩衝劑類別之平均Δ%Acidic，右側：根據穩定劑類別之平均%Acidic）。

【0098】 在德諾單抗60 mg/mL及pH 5.2之條件下，由表2及3及圖1a及圖1b之資料所理解，與包括作為緩衝劑之乙酸或丁二酸鹽之調配物1至12相比，包含

作為緩衝劑之組胺酸之調配物13至17及不含緩衝劑之調配物18至22展示較低的Δ%HMW及/或較低的Δ%Acidic。在含有山梨糖醇、蔗糖、海藻糖或Arg之調配物中，特定言之在含有山梨糖醇、蔗糖或海藻糖之調配物中，且更特定言之在含有作為穩定劑之山梨糖醇之調配物中量測到較低的Δ%HMW及/或較低的Δ%Acidic。此等結果表明，與含有作為緩衝劑之乙酸或丁二酸鹽之調配物相比，包含作為緩衝劑之組胺酸或不含緩衝劑且包含作為穩定劑之山梨糖醇、蔗糖、海藻糖或Arg之調配物使蛋白質藥物更穩定。

【0099】 表2及3中所列之包含各種穩定劑（山梨糖醇、蔗糖、海藻糖、Arg或NaCl）之調配物中高分子量（%HMW）及酸性變異體量（%Acidic）之平均值概述於以下表4中：

表4

STD之平均值	緩衝劑（No. 1~17：17mM）	平均%HMW			平均%Acidic		
		第0週	第4週		第0週	第4週	
			%HMW	Δ%HMW		%Acidic	Δ%Acidic
1-7	乙酸	0.43	1.31	0.88	17.77	24.70	6.93
8-12	丁二酸鹽	0.43	1.60	1.18	17.91	27.78	9.87
13-17	**組胺酸**	**0.38**	**1.12**	**0.74**	**17.84**	**24.03**	**6.18**
18-22	**無緩衝劑**	**0.49**	**1.21**	**0.73**	**18.19**	**24.51**	**6.33**

【0100】 在德諾單抗60 mg/mL及pH 5.2之條件下，如表4中可見，與包含作為緩衝劑之乙酸或丁二酸鹽之調配物1至12相比，包含作為緩衝劑之組胺酸之調配物13至17及不含緩衝劑之調配物18至22展示較低的平均Δ%HMW及/或較低的平均Δ%Acidic。此等結果清晰地表明，包含作為緩衝劑之組胺酸或不含緩衝劑之調配物使蛋白質藥物更穩定。

實施例2：視蛋白質藥物含量而定之穩定性

2.1. 液體調配物之製備

【0101】 製備如表5中所列舉包含濃度為60mg/mL、70mg/mL或80mg/mL

之抗RANKL人類單株抗體德諾單抗、0.01%聚山梨醇酯20（PS20）、緩衝劑（乙酸鹽或組胺酸）及穩定劑（山梨糖醇、蔗糖或海藻糖）的pH 5.2之液體調配物。

表5

<table>
<tr><th>STD No.</th><th>蛋白質濃度</th><th>緩衝劑（17mM）</th><th>穩定劑</th></tr>
<tr><td>1-3</td><td rowspan="6">60 mg/mL</td><td rowspan="3">乙酸</td><td>4.7%山梨糖醇</td></tr>
<tr><td>4</td><td>8.0%蔗糖</td></tr>
<tr><td>5</td><td>8.0%海藻糖</td></tr>
<tr><td>6</td><td rowspan="3">組胺酸</td><td>4.7%山梨糖醇</td></tr>
<tr><td>7</td><td>8.0%蔗糖</td></tr>
<tr><td>8</td><td>8.0%海藻糖</td></tr>
<tr><td>9-11</td><td rowspan="6">70 mg/mL</td><td rowspan="3">乙酸</td><td>4.7%山梨糖醇</td></tr>
<tr><td>12</td><td>8.0%蔗糖</td></tr>
<tr><td>13</td><td>8.0%海藻糖</td></tr>
<tr><td>14</td><td rowspan="3">組胺酸</td><td>4.7%山梨糖醇</td></tr>
<tr><td>15</td><td>8.0%蔗糖</td></tr>
<tr><td>16</td><td>8.0%海藻糖</td></tr>
<tr><td>17</td><td rowspan="6">80 mg/mL</td><td rowspan="3">乙酸</td><td>4.7%山梨糖醇</td></tr>
<tr><td>18</td><td>8.0%蔗糖</td></tr>
<tr><td>19</td><td>8.0%海藻糖</td></tr>
<tr><td>20</td><td rowspan="3">組胺酸</td><td>4.7%山梨糖醇</td></tr>
<tr><td>21</td><td>8.0%蔗糖</td></tr>
<tr><td>22</td><td>8.0%海藻糖</td></tr>
<tr><td>23-25</td><td>60 mg/mL</td><td colspan="2">Prolia®</td></tr>
</table>

（1-3：具有與PROLIA®相同的組成之調配物；9-11：具有與Xgeva®相似的組成之調配物；%：w/v）

2.2. %HMW及%Acidic之量測（40℃條件）

【0102】 為分析實施例2.1製備之包含各種濃度之蛋白質藥物（德諾單抗）及各種組合之緩衝劑/穩定劑之液體調配物（pH 5.2）之穩定性，參看實施例1.2

在儲存於40℃下四週時量測液體調配物之蛋白質聚集及酸性變異體量。

【0103】 關於%HMW（第0週之%HMW、第4週之%HMW）及Δ%HMW（第4週之%HMW － 第0週之%HMW）之量測值概述於表6中，且關於%Acidic（第0週之%Acidic、第4週之%Acidic）及Δ%Acidic（第4週之%Acidic - 第0週之%Acidic）概述於表7中：

表6

STD No.	蛋白質濃度	緩衝劑（17mM）	穩定劑	%HMW		
				第0週	第4週	
					%HMW	Δ%HMW
1-3	60 mg/mL	乙酸	4.7%山梨糖醇	0.43 N=3，SD：0.03	0.86 N=3，SD：0.03	0.43 N=3，SD：0.02
4			8.0%蔗糖	0.43	0.93	0.50
5			8.0%海藻糖	0.45	1.05	0.60
1-5			**平均值**	0.44	0.95	**0.51**
6		組胺酸	4.7%山梨糖醇	0.41	0.66	0.25
7			8.0%蔗糖	0.44	0.74	0.30
8			8.0%海藻糖	0.46	0.74	0.28
6-8			**平均值**	0.44	0.71	**0.28**
9-11	70 mg/mL	乙酸	4.7%山梨糖醇	0.47 N=3，SD：0.04	1.04 N=3，SD：0.05	0.57 N=3，SD：0.08
12			8.0%蔗糖	0.47	1.05	0.58
13			8.0%海藻糖	0.46	0.98	0.52
9-13			**平均值**	0.47	1.02	**0.56**
14		組胺酸	4.7%山梨糖醇	0.53	0.79	0.26
15			8.0%蔗糖	0.48	0.81	0.33
16			8.0%海藻糖	0.48	0.78	0.30
14-16			**平均值**	0.50	0.79	**0.30**
17	80 mg/mL	乙酸	4.7%山梨糖醇	0.51	1.16	0.65
18			8.0%蔗糖	0.49	1.24	0.75
19			8.0%海藻糖	0.51	1.26	0.75
17-19			**平均值**	0.50	1.22	**0.72**
20		組胺酸	4.7%山梨糖醇	0.51	0.84	0.33
21			8.0%蔗糖	0.53	1.01	0.48
22			8.0%海藻糖	0.48	0.88	0.40
20-22			**平均值**	0.51	0.91	**0.40**
23-25	60 mg/mL	Prolia®		0.61 N=3，SD：0.01	0.98 N=3，SD：0.07	0.36 N=3，SD：0.08

（1-3：具有與PROLIA®相同的組成之調配物；9-11：具有與Xgeva®相似的組成之調配物）

表7

STD No.	蛋白質濃度	緩衝劑（17mM）	穩定劑	%Acidic 第0週	第4週 %Acidic	第4週 Δ%Acidic
1-3	60 mg/mL	乙酸	4.7%山梨糖醇	18.36 N=3，SD：0.09	24.32 N=3，SD：0.10	5.96 N=3，SD：0.17
4			8.0%蔗糖	18.37	24.27	5.90
5			8.0%海藻糖	18.21	23.70	5.49
1-5			**平均值**	18.31	24.10	**5.78**
6		組胺酸	4.7%山梨糖醇	17.96	23.31	5.35
7			8.0%蔗糖	17.62	23.71	6.09
8			8.0%海藻糖	18.27	23.57	5.30
6-8			**平均值**	17.95	23.53	**5.58**
9-11	70 mg/mL	乙酸	4.7%山梨糖醇	18.18 N=3，SD：0.12	24.36 N=3，SD：0.52	6.18 N=3，SD：0.41
12			8.0%蔗糖	18.01	23.68	5.67
13			8.0%海藻糖	18.39	24.13	5.74
9-13			**平均值**	18.19	24.06	**5.86**
14		組胺酸	4.7%山梨糖醇	18.18	23.18	5.00
15			8.0%蔗糖	18.49	23.86	5.37
16			8.0%海藻糖	18.37	23.28	4.91
14-16			**平均值**	18.35	23.44	**5.09**
17	80 mg/mL	乙酸	4.7%山梨糖醇	18.19	24.19	6.00
18			8.0%蔗糖	17.94	24.93	6.99
19			8.0%海藻糖	17.98	23.76	5.78
17-19			**平均值**	18.04	24.29	**6.26**
20		組胺酸	4.7%山梨糖醇	18.04	23.25	5.21
21			8.0%蔗糖	18.16	24.00	5.84
22			8.0%海藻糖	18.06	23.10	5.04
20-22			**平均值**	18.09	23.45	**5.36**
23-25	60 mg/mL	Prolia®		20.24 N=3，SD：0.20	27.86 N=3，SD：0.85	7.62 N=3，SD：0.67

（1-3：具有與PROLIA®相同的組成之調配物；9-11：具有與Xgeva®相似的組成之調配物）

【0104】　此外，四週之平均Δ%HMW描繪於圖2a中（Δ%HMW；左側：根據蛋白質藥物濃度之平均Δ%HMW，中間：根據緩衝劑類別之平均Δ%HMW，右側：根據穩定劑類別之平均Δ%HMW），且四週之平均Δ%Acidic描繪於圖2b中（Δ%Acidic；左側：根據蛋白質藥物濃度之平均Δ%Acidic，中間：根據緩衝

劑類別之平均值Δ%Acidic，右側：根據穩定劑類別之平均%Acidic）。

【0105】 如表6及7及圖2a及圖2b所示，總體上，與包含乙酸之調配物相比，包含作為緩衝劑之組胺酸之調配物確保較高蛋白質藥物之穩定性。尤其，發現包含濃度為60 mg/mL之蛋白質藥物（德諾單抗）且包含作為緩衝劑之組胺酸及作為穩定劑之山梨糖醇之調配物尤其展示蛋白質藥物之最高穩定性。此外，如表6及7之平均資料中可見，與包含乙酸之調配物相比，包含作為緩衝劑之組胺酸之調配物在所有濃度之蛋白質藥物下，特定言之在60 mg/mL或70 mg/mL之蛋白質藥物下具有較低的平均Δ%HMW及Δ%Acidic值。更特定言之，包含作為緩衝劑之組胺酸之調配物之平均Δ%HMW為約0.33%，然而包含乙酸之調配物之平均Δ%HMW為0.59%。此外，包含作為緩衝劑之組胺酸之調配物之平均Δ%Acidic為約5.35%，然而包含乙酸之調配物之平均Δ%Acidic為5.97%。此等結果表明，與包含乙酸之調配物相比，在所有測試之蛋白質藥物濃度下，尤其在60 mg/mL或70 mg/mL下包含作為緩衝劑之組胺酸之調配物之Δ%HMW與Δ%Acidic兩者顯著地低且調配物穩定性優異。

實施例3：視穩定劑濃度、緩衝劑濃度、pH值及蛋白質藥物濃度而定之穩定性

【0106】 製備如以下表8所列舉之包含作為蛋白質藥物之抗RANKL人類單株抗體德諾單抗、作為緩衝劑之組胺酸、作為穩定劑之山梨糖醇及0.01%聚山梨醇酯20（PS20）的液體調配物。

表8

<table>
<tr><th>STD No.</th><th>蛋白質濃度</th><th>pH</th><th>組胺酸緩衝劑濃度（mM）</th><th>穩定劑濃度（%）</th><th>界面活性劑濃度（%）</th></tr>
<tr><td>1</td><td rowspan="8">50 mg/mL</td><td rowspan="4">4.9</td><td rowspan="2">10</td><td>4.0</td><td rowspan="19">0.01</td></tr>
<tr><td>2</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>3</td><td rowspan="2">30</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>4</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>5</td><td rowspan="4">5.5</td><td rowspan="2">10</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>6</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>7</td><td rowspan="2">30</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>8</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>9</td><td rowspan="8">80 mg/mL</td><td rowspan="4">4.9</td><td rowspan="2">10</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>10</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>11</td><td rowspan="2">30</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>12</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>13</td><td rowspan="4">5.5</td><td rowspan="2">10</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>14</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>15</td><td rowspan="2">30</td><td>4.0</td></tr>
<tr><td>16</td><td>5.5</td></tr>
<tr><td>17</td><td rowspan="3">65 mg/mL</td><td rowspan="3">5.2</td><td rowspan="3">20</td><td>4.75</td></tr>
<tr><td>18</td><td>4.75</td></tr>
<tr><td>19</td><td>4.75</td></tr>
</table>

（在表8中，%意謂%（w/v））

【0107】　參看實施例1.2在儲存於40℃下四週時量測由此製備之液體調配物之Δ%HMW及Δ%Acidic，

【0108】　關於%HMW（第0週之%HMW、第4週之%HMW）及Δ%HMW（第4週之%HMW － 第0週之%HMW）所獲得之結果概述於表9中，且關於%Acidic（第0週之%Acidic、第4週之%Acidic）及Δ%Acidic（第4週之%Acidic－第0週之%Acidic）所獲得之結果概述於表10中：

表9

STD No.	蛋白質濃度	pH	組胺酸緩衝劑濃度（mM）	穩定劑濃度（%）	界面活性劑濃度（%）	%HMW 第0週	第4週 %HMW	第4週 Δ%HMW
1	50 mg/mL	4.9	10	4.0	0.01	0.27	0.48	0.21
2				5.5		0.28	0.45	0.17
3			30	4.0		0.27	0.58	0.31
4				5.5		0.26	0.62	0.36
5		5.5	10	4.0		0.31	0.51	0.20
6				5.5		0.32	0.54	0.22
7			30	4.0		0.33	0.64	0.31
8				5.5		0.33	0.62	0.29
9	80 mg/mL	4.9	10	4.0		0.31	0.72	0.41
10				5.5		0.32	0.71	0.39
11			30	4.0		0.31	0.93	0.62
12				5.5		0.31	0.90	0.59
13		5.5	10	4.0		0.40	0.91	0.51
14				5.5		0.40	0.93	0.53
15			30	4.0		0.39	0.95	0.56
16				5.5		0.39	0.89	0.50
17	65 mg/mL	5.2	20	4.75		0.33 N=3，SD：0.00	0.70 N=3，SD：0.01	0.37 N=3，SD：0.01
18				4.75				
19				4.75				

表10

STD No.	蛋白質濃度	pH	組胺酸緩衝劑濃度（mM）	穩定劑濃度（%）	界面活性劑濃度（%）	%Acidic 第0週	第4週 %Acidic	第4週 Δ%Acidic
1	50 mg/mL	4.9	10	4.0	0.01	16.98	20.73	3.75
2				5.5		16.78	20.54	3.76
3			30	4.0		17.29	21.20	3.91
4				5.5		17.31	20.72	3.41
5		5.5	10	4.0		17.56	20.63	3.07
6				5.5		16.27	21.12	4.85
7			30	4.0		17.58	21.64	4.06
8				5.5		17.08	21.70	4.62
9	80 mg/mL	4.9	10	4.0		16.79	20.69	3.90
10				5.5		17.20	21.11	3.91
11			30	4.0		16.84	21.11	4.27
12				5.5		17.33	20.98	3.65
13		5.5	10	4.0		17.21	21.68	4.47
14				5.5		16.61	21.42	4.81
15			30	4.0		17.28	21.93	4.65
16				5.5		17.36	21.33	3.97
17	65 mg/mL	5.2	20	4.75		17.10 N=3，SD：0.49	20.60 N=3，SD：0.22	3.50 N=3，SD：0.55
18				4.75				
19				4.75				

【0109】 如於表9及10中所示之四週之根據蛋白質濃度、緩衝劑濃度、穩定劑濃度及pH值之平均Δ%HMW描繪於圖3中。如圖3中可見，在測試範圍內，蛋白質之穩定性隨調配物中緩衝劑濃度及蛋白質藥物濃度之降低而增加。發現在所有測試範圍中穩定劑濃度及pH值具有等效蛋白質穩定性水準。

實施例4：分析液體調配物中德諾單抗之活性

【0110】 製備如表11中所列舉包含60mg/ml德諾單抗及0.01%（w/v）聚山梨醇酯20且包含緩衝劑及穩定劑之具有pH 5.2之液體調配物。為分析其中醫藥活性成分德諾單抗之活性，當儲存於40℃下四週時量測調配物之德諾單抗對RANKL之%RBA（相對結合活性）及%RP（相對效能活性）。

【0111】 如下量測%RP（相對效能）：將德諾單抗及RANKL依序添加至96孔盤中，之後添加RANK 293細胞（表現螢光素酶及RANK受體之HEK 293細胞）。在培育之後，使用EnVision®多標記讀取器（PerkinElmer，2015）分析%RP。

【0112】 如下量測%RBA（相對結合活性）：MaxiSorp96孔盤（Nunc）用RANKL塗佈且阻斷，之後將德諾單抗添加於其中。隨後，用二級抗體處理盤且接著依序用TMB ELISA物質溶液及終止溶液處理。使用微孔盤讀取器（SpectraMax 190）分析%RBA。

【0113】 在表11中，概述蛋白質液體調配物中第0週（初始）及第4週之%RBA在40℃下的量測值及其4週之變化（Δ%RBA）及第0週（初始）及第4週之%RP在40℃下的量測值及其4週之變化（Δ%RP）：

表11

緩衝劑	穩定劑	RANKL			中和		
		初始	第4週		初始	第4週	
		%RBA	%RBA	%ΔRBA	%RP	%RP	%ΔRP
17 mM乙酸	4.7%（w/v）山梨糖醇	105 [N=3，SD:1]	105 [N=3，SD:3]	0 [N=3，SD:3]	99 [N=3，SD:0]	99 [N=3，SD:2]	0 [N=3, SD:2]
	8.0%（w/v）海藻糖	106 [N=3，SD:5]	102 [N=3，SD:2]	-4 [N=3，SD:2]	97 [N=3，SD:1]	91 [N=3，SD:4]	-6 [N=3, SD:4]
17 mM組胺酸	4.7%（w/v）山梨糖醇	105 [N=3，SD:3]	107 [N=3，SD:1]	2 [N=3，SD:1]	101 [N=3，SD:8]	106 [N=3，SD:5]	5 [N=3, SD:5]
	8.0%（w/v）海藻糖	107 [N=3，SD:5]	111 [N=3，SD:3]	4 [N=3，SD:3]	92 [N=3，SD:4]	100 [N=3，SD:2]	8 [N=3, SD:2]
Prolia®		105 [N=3, SD:5]	100 [N=3，SD:2]	-5 [N=3，SD:2]	105 [N=3，SD:2]	104 [N=3，SD:0]	-1 [N=3，SD:0]

【0114】　如表11中所示，包含作為緩衝劑之組胺酸之調配物甚至在40℃之壓力條件下仍非常良好地保持蛋白質（德諾單抗）之活性（功能）相對長的時段（4週）。

【符號說明】

無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種液體組成物，其包含：

20 mg/ml至200 mg/ml之德諾單抗（denosumab），

選自由以下者組成之群中的至少一者：0.1 mM至300 mM之除了組胺酸以外的胺基酸、1至15%（w/v）之糖、及1至10%（w/v）之糖醇，以總組成物計，

0.001至1%（w/v）之界面活性劑，以及

1至100 mM之組胺酸，

具有5至7之pH，且

不含乙酸鹽。

【請求項2】如請求項1之液體組成物，其進一步不含丁二酸鹽、麩胺酸鹽或其組合。

【請求項3】如請求項1之液體組成物，其中包含1至70 mM之濃度的所述組胺酸。

【請求項4】如請求項1之液體組成物，其中所述組胺酸被包含作為緩衝劑、蛋白質聚集抑制劑、或酸性變異體抑制劑。

【請求項5】如請求項1之液體組成物，其中如在40℃下儲存四週之後所量測，該液體組成物具有5.0%或更小之高分子量變化（Δ%HMW）；或與相同但包含選自由乙酸鹽、丁二酸鹽及麩胺酸鹽組成之群組的至少一者及/或不含組胺酸的組成物相比，高分子量變化（Δ%HMW）降低至少0.05%。

【請求項6】如請求項1之液體組成物，其中如在40℃下儲存四週之後所量測，該液體組成物具有25.0%或更小之酸性變異體量變化（Δ%Acidic）；或與相同但包含選自由乙酸鹽、丁二酸鹽及麩胺酸鹽組成之群組的至少一者及/或不含組胺酸的組成物相比，酸性變異體量變化（Δ%Acidic）降低至少0.05%。

【請求項7】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其中所述胺基酸為選自

由以下者組成之群組中的至少一者：丙胺酸、精胺酸、天冬醯胺酸、天冬胺酸、麩醯胺酸、甘胺酸、異白胺酸、白胺酸、離胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、色胺酸、酪胺酸、纈胺酸、半胱胺酸及其醫藥學上可接受之鹽。

【請求項8】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其中包含100 mM至200 mM之濃度的所述胺基酸。

【請求項9】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其中所述糖或糖醇為選自由以下者組成之群組中的至少一者：葡萄糖、果糖、半乳糖、甘露糖、蔗糖、乳糖、麥芽糖、海藻糖、果寡醣、半乳寡醣、甘露寡醣、澱粉、肝醣、纖維素、幾丁質、果膠、醛醣酸、酮醣酸、醣醛酸、醛醣二酸、丙三醇、赤藻糖醇、蘇糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、核糖醇、甘露糖醇、山梨糖醇、半乳糖醇、海藻糖醇、艾杜糖醇、肌醇、庚七醇、異麥芽酮糖醇、麥芽糖醇、乳糖醇、麥芽三糖醇、麥芽四糖醇及聚糖醇。

【請求項10】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其中所述糖或糖醇為7至9%（w/v）之濃度的海藻糖或蔗糖或者3.5至6%（w/v）之濃度的山梨糖醇。

【請求項11】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其中所述界面活性劑為聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80或其組合。

【請求項12】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其中包含以總組成物計0.005至0.1%（w/v）之濃度的所述界面活性劑。

【請求項13】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其中包含50 mg/mL至80 mg/mL之濃度的德諾單抗。

【請求項14】如請求項1至6中任一項之液體組成物，其適用於包含60 mg/mL德諾單抗之注射藥劑及包含70 mg/mL德諾單抗之注射藥劑兩者。

【發明圖式】

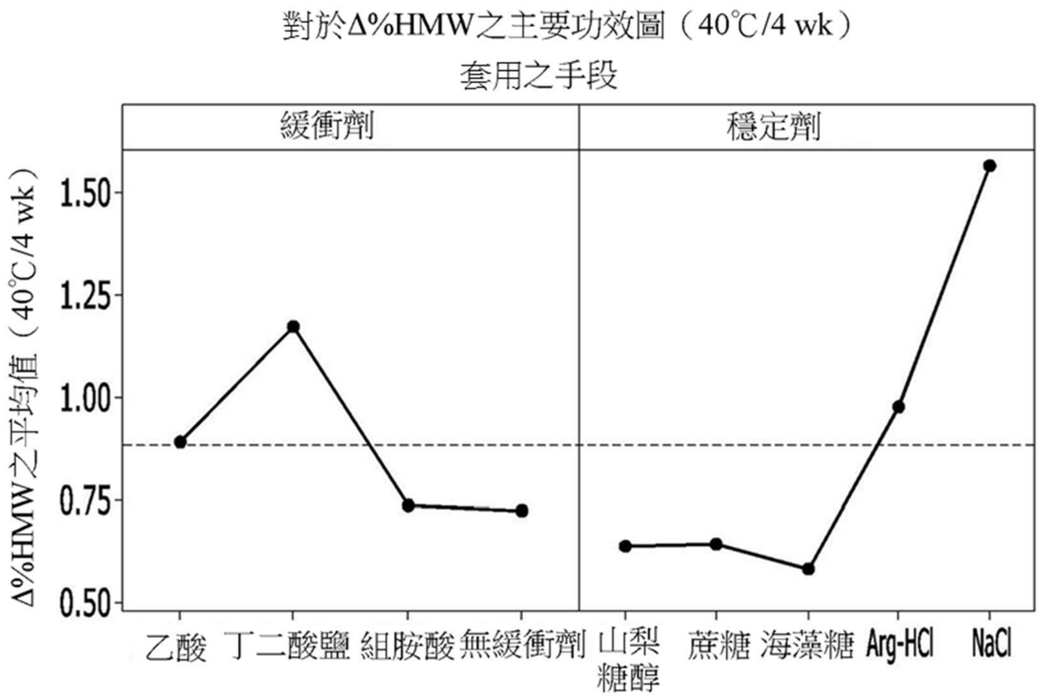
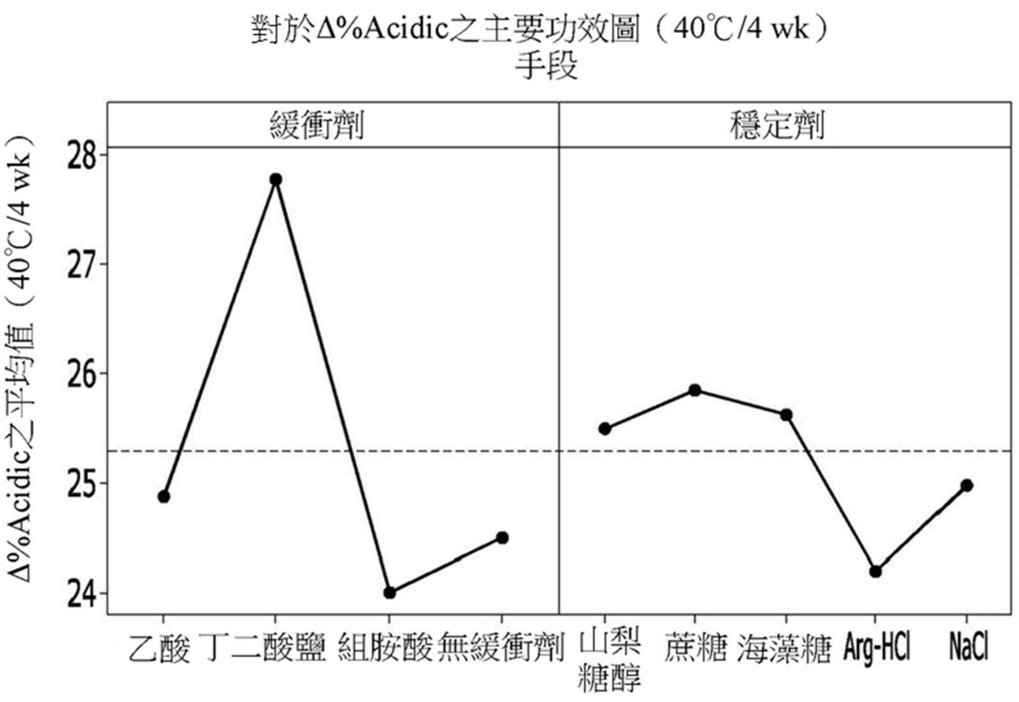
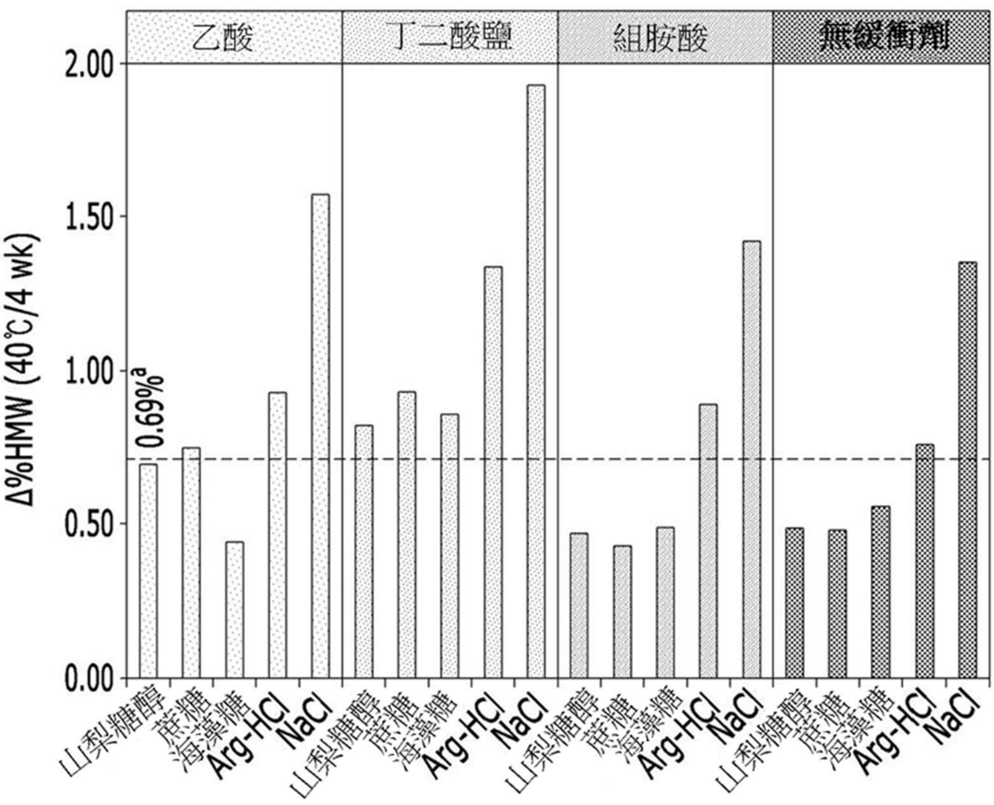

對於Δ%HMW之主要功效圖（40℃/4 wk）
套用之手段
緩衝劑
穩定劑
Δ%HMW之平均值（40℃/4 wk）
1.50
1.25
1.00
0.75
0.50
乙酸
丁二酸鹽
組胺酸
無緩衝劑
山梨糖醇
蔗糖
海藻糖
Arg-HCl
NaCl

圖1a



對於Δ%Acidic之主要功效圖（40℃/4 wk）
手段
緩衝劑
穩定劑
Δ%Acidic之平均值（40℃/4 wk）
28
27
26
25
24
乙酸
丁二酸鹽
組胺酸
無緩衝劑
山梨糖醇
蔗糖
海藻糖
Arg-HCl
NaCl

圖1b



aProlia®調配物

圖1c

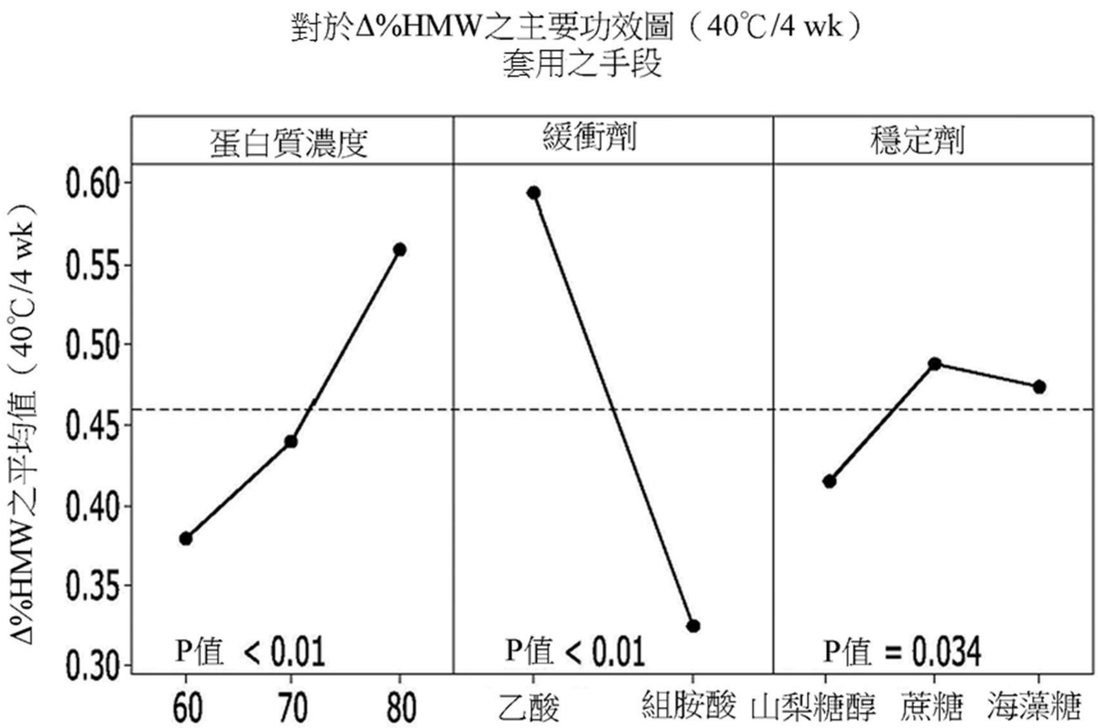
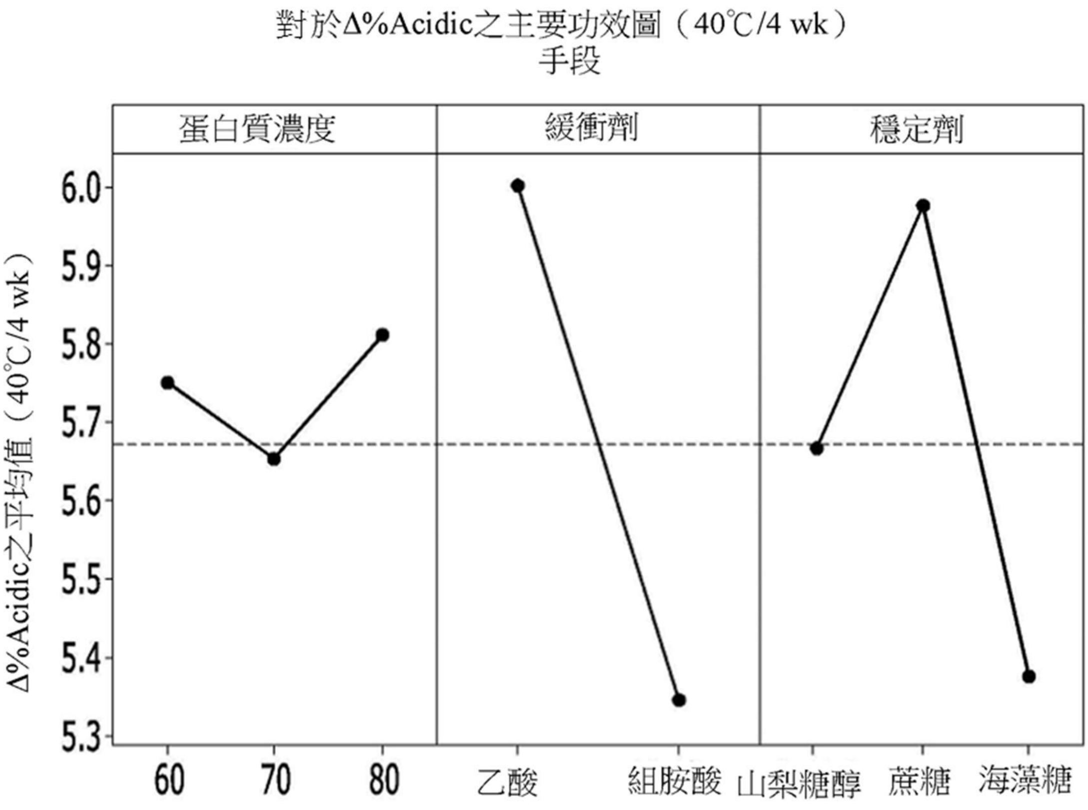
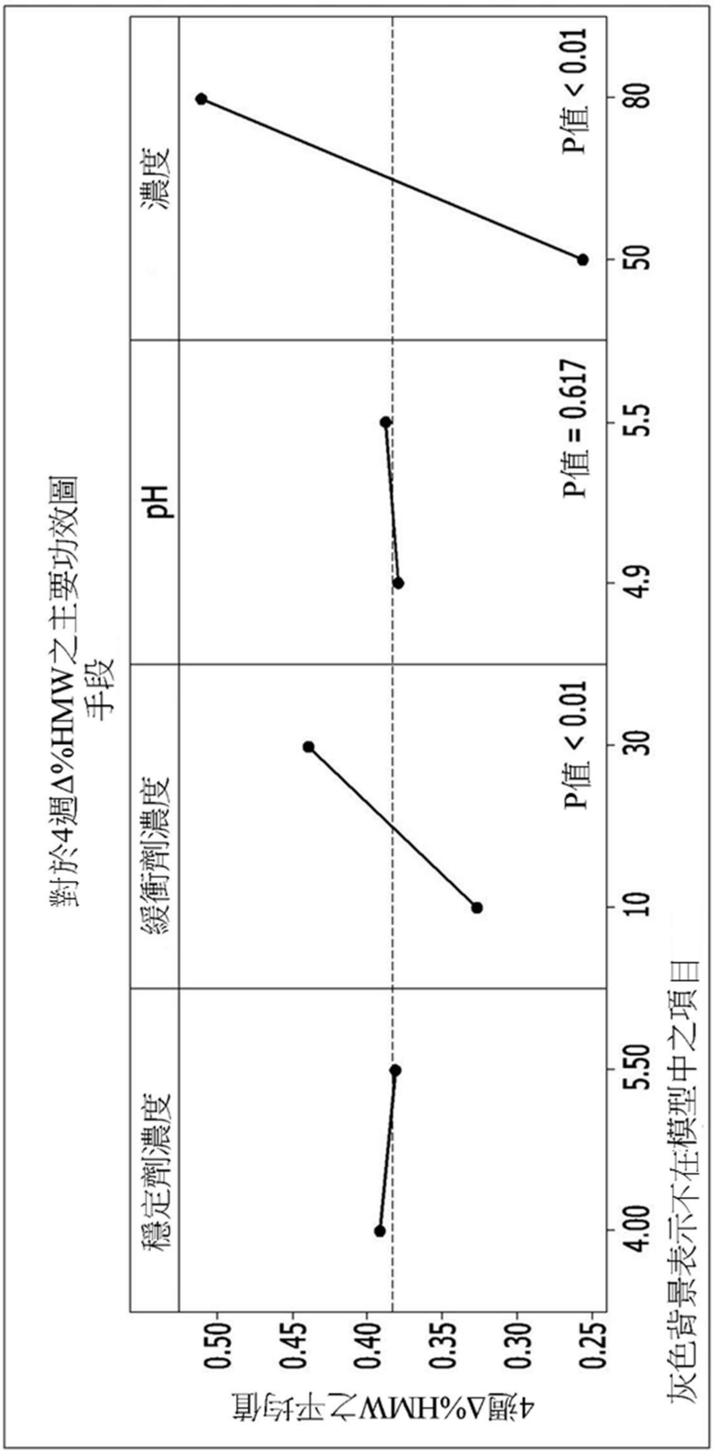

對於Δ%HMW之主要功效圖（40℃/4 wk）
套用之手段
蛋白質濃度
緩衝劑
穩定劑
Δ%HMW之平均值（40℃/4 wk）
0.60
0.55
0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
P值 < 0.01
P值 < 0.01
P值 = 0.034
60
70
80
乙酸
組胺酸
山梨糖醇
蔗糖
海藻糖

圖2a



對於Δ%Acidic之主要功效圖（40℃/4 wk）
手段
蛋白質濃度
緩衝劑
穩定劑
Δ%Acidic之平均值（40℃/4 wk）
6.0
5.9
5.8
5.7
5.6
5.5
5.4
5.3
60
70
80
乙酸
組胺酸
山梨糖醇
蔗糖
海藻糖

圖2b



Y標度：Prolia® 3 SD (%HMW$_{40℃/4\ wk}$)，n=4

圖3