



(21)申請案號：101127108

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 07 月 27 日

(51)Int. Cl. : **A61K39/395 (2006.01)**
A61M5/28 (2006.01)

C07K16/40 (2006.01)

(30)優先權：2011/07/28 美國

61/512,666

(71)申請人：再生元醫藥公司 (美國) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)
美國

(72)發明人：瓦爾許 史考特 WALSH, SCOTT M. (US)；迪克斯 丹尼爾 DIX, DANIEL B. (US)

(74)代理人：黃慶源；陳彥希

(56)參考文獻：

US 2010166768A1

WO 2009100297A1

審查人員：林桂滿

申請專利範圍項數：12 項 圖式數：0 共 89 頁

(54)名稱

含有抗－P C S K 9 抗體之穩定化調配物

STABILIZED FORMULATIONS CONTAINING ANTI-PCSK9 ANTIBODIES

(57)摘要

本發明提供包含特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9,PCSK9)之人類抗體的醫藥調配物。除了抗-PCSK9 抗體以外，該等調配物可含有至少一種胺基酸、至少一種糖或至少一種非離子性界面活性劑。本發明之醫藥調配物在儲存數個月之後展現出充分程度的抗體穩定性。

The present invention provides pharmaceutical formulations comprising a human antibody that specifically binds to human proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). The formulations may contain, in addition to an anti-PCSK9 antibody, at least one amino acid, at least one sugar, or at least one non-ionic surfactant. The pharmaceutical formulations of the present invention exhibit a substantial degree of antibody stability after storage for several months.

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明是有關於治療性抗體調配物之領域。更具體地，本發明是有關於包含特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素(proprotein convertase subtilisin/kixin type 9, PCSK9)之人類抗體的醫藥調配物的領域。

序列表

一份序列表的 ST.25 適用文字檔與本說明書同時提申。文字檔的內容併入本文做為參考資料。序列表的紙本副本與 ST.25 適用文字檔的內容相同，其包括於本說明書的一部分。

【先前技術】

治療性大分子(例如抗體)必須以不但可以製造適於投藥給患者，還可以在儲存及後續使用期間維持其穩定性的方式來調配。舉例而言，除非溶液經過適當調配，否則治療性抗體在液體溶液中容易分解、聚集或經非所欲的化學修飾。抗體在液體調配物中的穩定性不僅取決於調配物中所用賦形劑種類，亦取決於賦形劑相對於彼此的量及比例。另外，除了穩定性，在製備液體抗體調配物時必須將其他考量納入考慮。此等其他考量的實例包括溶液黏度以及在預定調配物中可容納的抗體濃度，與調配物的視覺品質和訴求。因此，在調配治療性抗體時，必須十分注重達成調配物維持穩定、含有足夠

濃度的抗體，以及具有適當黏度和其他使得調配物方便投藥給患者的特性。

抗體對於人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素 (proprotein convertase subtilisin/kixin type 9, PCSK9) 來說是治療性相關大分子需要適當調配的一個實例。抗 PCSK9 抗體在臨床上用於治療或預防諸如高膽固醇血症與其他血脂異常的疾病，與其他病況。例示性抗 PCSK9 抗體尤其描述於 WO 2008/057457、WO 2008/057458、WO 2008/057459、WO 2008/063382、WO 2008/125623、U.S. Pat. No. 7,572,618、WO 2010/077854、US 2010/0166768 及 US 2011/0065902 中。

儘管抗 PCSK9 抗體為已知的，但在關於含有足夠穩定且適於投藥給患者的抗-PCSK9 抗體之新穎醫藥調配物的領域中仍存在著需求。

【發明內容】

發明摘要

本發明是藉由提供包含特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素 (PCSK9) 之人類抗體的醫藥調配物而滿足上述需求。

在一個態樣中，提供一種液體醫藥調配物，其包含：(i) 特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素 (PCSK9) 之人類抗體；(ii) 緩衝劑；(iii) 有機共溶劑；(iv) 穩定劑；以及視情況選用 (v) 減黏劑 (viscosity reducer)。

在一個具體例中，以約 50 ± 7.5 mg/mL 至約 200 ± 30 mg/mL 的濃度提供抗體。在另一個具體例中，以約 50 mg/mL ± 7.5 mg/mL 的濃度提供抗體。在另一個具體例中，以約 100 mg/mL ± 15 mg/mL 的濃度提供抗體。在另一個具體例中，以約 150 mg/mL ± 22.5 mg/mL 的濃度提供抗體。在另一個具體例中，以約 175 mg/mL ± 26.25 mg/mL 的濃度提供抗體。在另一個具體例中，以約 200 mg/mL ± 30 mg/mL 的濃度提供抗體。

在一個具體例中，該抗體包含胺基酸序列 SEQ ID NO：1-8 中的任一者或多者。在一個具體例中，該抗體包含 (a) 一具有重鏈互補決定區 1、2 及 3 (HCDR1-HCDR2-HCDR3) 之重鏈可變區 (HCVR)，各重鏈互補決定區 1、2 及 3 分別包含 SEQ ID NO：2、SEQ ID NO：3 及 SEQ ID NO：4 的序列；以及 (b) 一具有輕鏈互補決定區 1、2 及 3 (LCDR1-LCDR2-LCDR3) 之輕鏈可變區 (LCVR)，各輕鏈互補決定區 1、2 及 3 分別包含 SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7 及 SEQ ID NO：8 的序列。在一個特定具體例中，該抗體包含一 HCVR 以及一 LCVR，其各自分別包含 SEQ ID NO：1 及 SEQ ID NO：5 的胺基酸序列。

在一個具體例中，該液體調配物的 pH 為約 pH 6.0 ± 0.5 、pH 6.0 ± 0.4 、pH 6.0 ± 0.3 、pH 6.0 ± 0.2 、pH 6.0 ± 0.1 、pH 6.0 ± 0.05 、pH 6.0 ± 0.01 或 pH 6.0。在一個特定具體例中，該液體調配物的 pH 為約 pH 6.0 ± 0.3 。在

一個特定具體例中，該液體醫藥緩衝劑包含一或多種緩衝劑，其具有約 pH 5.5 至約 pH 7.4，或 pKa 為約 6.0 的有效緩衝範圍。

在一個具體例中，該緩衝劑為組胺酸。在一個具體例中，組胺酸濃度為 $5\text{ mM} \pm 0.75\text{ mM}$ 至 $50\text{ mM} \pm 7.5\text{ mM}$ 。在一個具體例中，組胺酸濃度為 $10\text{ mM} \pm 1.5\text{ mM}$ 或約 10 mM 。在一個具體例中，組胺酸濃度為 $20\text{ mM} \pm 3\text{ mM}$ 或約 20 mM 。在一個具體例中，組胺酸濃度為 $40\text{ nM} \pm 6\text{ mM}$ 或約 40 nM 。

在一個具體例中，該有機共溶劑為具有聚氧乙烯部分的非離子性聚合物。在一些具體例中，該有機共溶劑為聚山梨醇酯 20、帕洛沙姆 188 及聚乙二醇 3350 中的任一者或多者。在一個特定具體例中，該有機共溶劑為聚山梨醇酯 20。

在一個具體例中，該有機共溶劑濃度為約 $0.005\% \pm 0.00075\%$ 至約 $1\% \pm 0.15\%$ “重量對體積”或“w/v”，其中，例如 $0.1\text{ g/ml} = 10\%$ 而 $0.01\text{ g/ml} = 1\%$ 。在一個具體例中，有機共溶劑為聚山梨醇酯 20，其濃度為約 $0.2\% \pm 0.03\%$ w/v。在另一個具體例中，該有機共溶劑為聚山梨醇酯 20，其濃度為 $0.01\% \pm 0.0015\%$ w/v 或約 0.01% w/v。

在一個具體例中，該穩定劑為糖。在一個具體例中，該糖是選自於由蔗糖、甘露醇以及海藻糖組成之群。在一個特定具體例中，該穩定劑為蔗糖。

在一個具體例中，該穩定劑濃度為 $1\% \pm 0.15\% \text{ w/v}$ 至 $20\% \pm 3\% \text{ w/v}$ 。在一個特定具體例中，該穩定劑為濃度 $5\% \pm 0.75\% \text{ w/v}$ 或約 $5\% \text{ w/v}$ 的蔗糖。在另一個特定具體例中，該穩定劑為濃度 $10\% \pm 1.5\% \text{ w/v}$ 或約 $10\% \text{ w/v}$ 的蔗糖。在另一個特定具體例中，該穩定劑為濃度 $12\% \pm 1.8\% \text{ w/v}$ 或約 $12\% \text{ w/v}$ 的蔗糖。

在一個具體例中，該減黏劑為選自由精胺酸鹽酸鹽、硫代氰酸鈉、硫代氰酸銨、硫酸銨、氯化銨、氯化鈣、氯化鋅及乙酸鈉組成之群的鹽。在一個具體例中，該減黏劑為 L-精胺酸鹽酸鹽。

在一個具體例中，該減黏劑濃度為 $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 至 $150 \text{ mM} \pm 22.5 \text{ mM}$ 。在一個具體例中，該減黏劑為濃度 $50 \text{ mM} \pm 7.5 \text{ mM}$ 或約 50 mM 的 L-精胺酸鹽酸鹽。在一個具體例中，該減黏劑為濃度 $40 \text{ mM} \pm 6 \text{ mM}$ 或 40 mM 的 L-精胺酸鹽酸鹽。

在一個具體例中，該液體或經還原的凍乾醫藥調配物在 25°C 下的黏度少於或等於約 $15 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 。在一個具體例中，在 25°C 下的黏度介於 $1.0 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 與 $18 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 。在一個具體例中，在 25°C 下的黏度為 $1.6 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $1.7 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $3.3 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $3.5 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $4.8 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $6.0 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $7.0 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $7.1 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $7.2 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $7.9 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $8.9 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $10.0 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $10.6 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $11.4 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $11.6 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $11.8 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 、 $12.4 \text{ 厘泊} \pm 10\%$ 。

10%、13.9 厘泊 $\pm$ 10%、14.0 厘泊 $\pm$ 10%、15.5 厘泊 $\pm$ 10% 或 17.9 厘泊 $\pm$ 10%。

在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性介於 100 ± 15 mOsm/kg 與 460 ± 69 mOsm/kg。在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性為 103 ± 15 mOsm/kg 或約 103 mOsm/kg。在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性為 195 ± 29 mOsm/kg 或約 195 mOsm/kg。在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性為 220 ± 33 mOsm/kg 或約 220 mOsm/kg。在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性為 330 ± 50 mOsm/kg 或約 330 mOsm/kg。在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性為 435 ± 65 mOsm/kg 或約 435 mOsm/kg。在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性為 440 ± 66 mOsm/kg 或約 440 mOsm/kg。在一個具體例中，該液體醫藥調配物的滲透性為 458 ± 69 mOsm/kg 或約 458 mOsm/kg。

在一個具體例中，至少 96%或至少 97%的非聚集及非分解形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 -80°C 下儲存 3 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由尺寸排除層析所測定。在一個具體例中，至少 56%的非鹼性及非酸性形式(亦即，主峰或主要電荷形式)的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 -80°C 下儲存 3 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由離子交換層析所測定。

在一個具體例中，至少 96%或至少 97%的非聚集及

非分解形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於-30°C下儲存 3 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由尺寸排除層析所測定。在一個具體例中，至少 56%的主要電荷形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於-30°C下儲存 3 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由離子交換層析所測定。

在一個具體例中，至少 96%或至少 97%的非聚集及非分解形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於-20°C下儲存 3 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由尺寸排除層析所測定。在一個具體例中，至少 56%的主要電荷形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於-20°C下儲存 3 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由離子交換層析所測定。

在一個具體例中，至少 96%的非聚集及非分解形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 5°C下儲存 6 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由尺寸排除層析所測定。在一個具體例中，至少 58%或 59%的主要電荷形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 5°C下儲存 3 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由離子交換層析所測定。

在一個具體例中，至少 94%的非聚集及非分解形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 25°C下儲存 6 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由尺寸排除層析所測定。在一個具體例中，至少 45%或 47%的非

以及 FM 27 橡膠頂蓋。

本發明的其他具體例將透過參閱之後的詳細說明而清楚明瞭。

詳細說明

在說明本發明前，應了解，本發明不受限於所描述的特定方法或實驗條件，因為該等方法以及條件是可能改變的。亦應了解，本文所用術語僅是供說明特定具體例之用，而不意欲為限制性的，因為本發明的範圍將僅受到隨附申請專利範圍所圍限。

除非另有定義，否則本文所用全部技術與科學術語和本發明所屬技藝中具有通常技藝者一搬所理解的意思相同。如本文所用，術語"約"，當提及特定引用的數值或數值範圍時，表示該數值可相對於引用的數值改變不超過 1%。例如，如本文所用，詞句"約 100"包括 99 與 101，以及其間的所有數值(例如 99.1、99.2、99.3、99.4 等)。

儘管任何與本文所述方法和材料類似或等效者可用於實施或測試本發明，現將說明較佳方法與材料。本文提及的全部公開文獻以其全文併入本文做為參考文獻。

醫藥調配物

如本文所用，詞句"醫藥調配物"意指至少一種活性成分(例如，小分子、大分子、化合物等，其能夠在人類或非人類動物體內展現生物效用)以及至少一種非活

性成分(其與活性成分或一或多種其他非活性成分組合時，適於治療性投藥給人類或非人類動物)的組合。除非另有指明，否則術語"調配物"，如本文所用，表示"醫藥調配物"。本發明提供包含至少一種治療性多肽的醫藥調配物。依據本發明的某些具體例，該治療性多肽為抗體或其抗原結合片段，其特異結合至人類第9型前蛋白轉化酶枯草溶菌素(PCSK9)蛋白。更特別地，本發明包括含有下列的醫藥調配物：(i)特異結合至人類PCSK9的人類抗體；(ii)組胺酸緩衝劑；(iii)為非離子性界面活性劑之有機共溶劑；(iv)為碳水化合物之熱穩定劑；以及視情況選用(v)為鹽的減黏劑。本發明所包括的特定例示性組分與調配物詳述於下文。

特異結合至 PCSK9 之抗體

本發明之醫藥調配物可包含人類抗體或其抗原結合片段，其特異結合至人類 PCSK9。如本文所用，術語"PCSK9"表示屬於分泌型枯草溶菌素家族的蛋白酶 K 次家族的人類前蛋白轉化酶。證據暗示，PCSK9 藉由結合至低密度脂蛋白粒子受體並促進其分解而增加血漿 LDL 濃度。例示性人類 PCSK9 胺基酸序列描述於 SEQ ID NO: 9 中。針對人類 PCSK9 的抗體描述於專利申請公開案 US 2010/0166768、US 2011/0065902 與 WO 2010/077854 中。

術語"抗體"，如本文所用，通常欲意指免疫球蛋白分子，其包含4個多肽鏈，藉由雙硫鍵交互連結的2個

重(H)鏈以及 2 個輕(L)鏈，及其多聚體(例如 IgM)；然而，僅由單獨重鏈所構成的免疫球蛋白分子(亦即缺乏輕鏈)亦含括在術語"抗體"的定義內。各個重鏈包含 1 個重鏈可變區(此處縮寫為 HCVR 或 V_H)以及 1 個重鏈恆定區。重鏈恆定區包含 3 個結構域，CH1、CH2 以及 CH3。各個輕鏈包含 1 個輕鏈可變區(此處縮寫為 LCVR 或 V_L)以及 1 個輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包含 1 個結構域(CL1)。 V_H 與 V_L 區可進一步分為具有超變異性的區域(命名為互補決定區(complementarity determining regions, CDR))，散佈有較為守恆的區域(命名為骨架區(FR))。各個 V_H 與 V_L 由 3 個 CDR 以及 4 個 FR 所構成，以下列順序從胺基端往羧基端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

除非另有特別指明，否則術語"抗體"，如本文所用，應理解為含括完整抗體分子以及其抗原結合片段。術語抗體之"抗原結合部分"或"抗原結合片段"(或單單"抗體部分"或"抗體片段")，如本文所用，意指抗體的一或多個片段，其保有抗體特異結合至人類 PCSK9 或其抗原決定基的能力。

術語"經分離抗體"，如本文所用，欲意指基本上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體(例如，一個特異結合人類 PCSK9 的經分離抗體基本上不含特異結合人類 PCSK9 以外之抗原的抗體)。

術語"特異結合"或類似術語，意指抗體或其抗原結

合片段與抗原形成在生理條件下相對穩定的複合物。特異結合的特徵在於解離常數為至少約 1×10^{-6} M 或更高。用於測定兩個分子是否特異結合的方法為技藝中已知的，且包括例如平衡透析、表面電漿共振及類似方法。但是，特異結合人類 PCSK9 的經分離抗體與其他抗原(諸如其他物種的 PCSK9 分子(同源物))具有交叉反應性。在本發明的上下文中，結合至人類 PCSK9 以及一或多種其他抗原的多特異性(例如雙特異性)抗體被視為"特異結合"人類 PCSK9。此外，經分離抗體可能基本上不含其他細胞物質或化學品。

可含括在本發明醫藥調配物中的例示性抗-人類 PCSK9 抗體述於專利申請公開案 US 2010/0166768、US 2011/0065902 及 WO 2010/077854 中，其揭示內容以其全文併入本文做為參考文獻。

依據本發明的某些具體例，該抗-人類 PCSK9 mAb-316P 抗體為人類 IgG1，其包含重鏈可變區(為 IGHV3-23 亞型)以及輕鏈可變區(為 IGKV4-1 亞型)(參見 Barbie and Lefranc, The Human Immunoglobulin Kappa Variable (IGKV) Genes and Joining (IGKJ) Segments, Exp. Clin. Immunogenet. 1998; 15:171-183, 與 Scaviner, D. et al., Protein Displays of the Human Immunoglobulin Heavy, Kappa and Lambda Variable and Joining Regions, Exp. Clin. Immunogenet., 1999; 16:234-240)。

在一些具體例中，該抗-人類 PCSK9 mAb-316P 包含至少一個胺基酸置換，其使得在抗體的暴露表面處相對於生殖細胞系 IGKV4-1 序列有一個電荷改變。本文所示之生殖細胞系 IGKV4-1 序列及胺基酸位置分派號碼與國際免疫遺傳學(IMG T)資訊系統一致，如 Lefranc, M.-P., et al., IMG T®, the international ImMunoGeneTics information system®, Nucl. Acids Res, 37, D1006-D1012 (2009)中所述。在一些具體例中，暴露表面包含一個互補決定區(CDR)。在一些具體例中，胺基酸置換(等)是選自由下列所組成之群：在 IGKV4-1 的 CDR1 中(例如在位置 32 處)鹼性胺基酸置換成無電荷極性胺基酸。在抗體電荷分布中的獨特交換排列，尤其在環境交界處(諸如，例如 CDR 中)，對於維持或增進抗體在溶液中的穩定性來說預期會產生無法預測的條件。

在一些具體例中，該抗-人類 PCSK9 mAb-316P 抗體包含至少一個胺基酸置換，其在抗體之可變區的骨架區內相對於生殖細胞系 IGHV3-23 序列或生殖細胞系 IGKV4-1 序列產生一個電荷改變。在一些具體例中，胺基酸置換(等)是選自由下列所組成之群：(a)在 IGHV3-23 之骨架區 3 (FR3)中(例如在位置 77 處)疏水性胺基酸置換成極性胺基酸，及(b)在 IGKV4-1 之骨架區 2 (FR2)中(例如位置 51 處)極性胺基酸置換成鹼性胺基酸。肽鏈摺疊能力改變(特別是在骨架區中)會影響 CDR 與溶劑的交界處，對於維持或增進抗體在溶液中的穩定

性來說預期會產生無法預測的條件。

依據本發明的某些具體例，該抗-人類 PCSK9 抗體或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 2 之重鏈互補決定區(HCDR) 1、SEQ ID NO: 3 之 HCDR2，及 SEQ ID NO: 4 之 HCDR3。在某些具體例中，該抗-人類 PCSK9 抗體或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 1 之 HCVD。

依據本發明的某些具體例，該抗-人類 PCSK9 或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 6 之輕(κ)鏈互補決定區(LCDR) 1、SEQ ID NO: 7 之 LCDR2，及 SEQ ID NO: 8 之 LCDR3。在某些具體例中，該抗-人類 PCSK9 抗體或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 5 之 LCVD。

本文實施例中所用非限制性例示性抗體意指 "mAb-316P"。此抗體在 US 7,608,693 中亦意指為 H4H098P。mAb-316P (H4H098P)包含 HCVR/LCVR 胺基酸序列對，其具有 SEQ ID NO: 1/5，及由 SEQ ID NO: 2- 3 - 4 / SEQ ID NO: 6 - 7 - 8 所表示的 HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3 結構域。

本發明醫藥調配物中所包含的抗體或其抗原結合片段之量可隨著調配物所要的特定特性以及特定環境與要使用調配物之目的而改變。在某些具體例中，該醫藥調配物為液體調配物，其可含有 50 ± 7.5 mg/mL 至 250 ± 37.5 mg/mL 抗體、 60 ± 9 mg/mL 至 240 ± 36 mg/mL 抗體、 70 ± 10.5 mg/mL 至 230 ± 34.5 mg/mL 抗體、 80 ± 12 mg/mL 至 220 ± 33 mg/mL 抗體、 90 ± 13.5

mg/mL 至 210 ± 31.5 mg/mL 抗體、 100 ± 15 mg/mL 至 200 ± 30 mg/mL 抗體、 110 ± 16.5 mg/mL 至 190 ± 28.5 mg/mL 抗體、 120 ± 18 mg/mL 至 180 ± 27 mg/mL 抗體、 130 ± 19.5 mg/mL 至 170 ± 25.5 mg/mL 抗體、 140 ± 21 mg/mL 至 160 ± 24 mg/mL 抗體、 150 ± 22.5 mg/mL 抗體，或 175 ± 26.25 mg/ml。例如，本發明調配物可含有約 50 mg/mL、約 60 mg/mL、約 65 mg/mL、約 70 mg/mL、約 75 mg/mL、約 80 mg/mL、約 85 mg/mL、約 90 mg/mL、約 95 mg/mL、約 100 mg/mL、約 105 mg/mL、約 110 mg/mL、約 115 mg/mL、約 120 mg/mL、約 125 mg/mL、約 130 mg/mL、約 135 mg/mL、約 140 mg/mL、約 145 mg/mL、約 150 mg/mL、約 155 mg/mL、約 160 mg/mL、約 165 mg/mL、約 170 mg/mL、約 175 mg/mL、約 180 mg/mL、約 185 mg/mL、約 190 mg/mL、約 195 mg/mL、約 200 mg/mL、約 205 mg/mL、約 210 mg/mL、約 215 mg/mL、約 220 mg/mL、約 225 mg/mL、約 230 mg/mL、約 235 mg/mL、約 240 mg/mL、約 245 mg/mL，或約 250 mg/mL 抗體或其抗原結合片段，其特異結合至人類 PCSK9。

賦形劑與 pH

本發明醫藥調配物包含一或多種賦形劑。術語"賦形劑"，如本文所用，意指任一種被添加至調配物以提供所要硬度、黏度或穩定效用的非治療性藥劑。

在某些具體例中，本發明醫藥調配物包含至少一種

在粗略操作或震盪的條件下(諸如渦捲)呈穩定人類 PCSK9 抗體之類型與量的有機共溶劑。在一些具體例中,"穩定"表示在粗略操作程序中預防抗體總數(以莫耳濃度為基準)之超過 3%聚集抗體形成。在一些具體例中,粗略操作為渦捲含有抗體及有機共溶劑的溶液約 60 分鐘或約 120 分鐘。

在某些具體例中,該共溶劑為非離子性界面活性劑,諸如烷基聚(氧化乙烯)。可包括在本發明調配物中的特定非離子性界面活性劑包括,例如聚山梨醇酯,諸如聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 28、聚山梨醇酯 40、聚山梨醇酯 60、聚山梨醇酯 65、聚山梨醇酯 80、聚山梨醇酯 81 及聚山梨醇酯 85;帕洛沙姆,諸如帕洛沙姆 181、帕洛沙姆 188、帕洛沙姆 407 或聚乙二醇(PEG)。聚山梨醇酯 20 亦已知為 TWEEN 20、山梨醇單月桂酸酯及聚氧乙烯去水山梨醇單油酸酯。帕洛沙姆亦已知為普朗尼克(PLURONIC) F68。

本發明醫藥調配物中所含之非離子性界面活性劑之量可隨著調配物所需的特定特性,以及特定環境與要使用調配物之目的而改變。在某些具體例中,調配物可含有 $0.01\% \pm 0.0015\%$ 至 $0.2\% \pm 0.03\%$ 界面活性劑。例如,本發明調配物可含有約 0.0085%、約 0.01%、約 0.02%、約 0.03%、約 0.04%、約 0.05%、約 0.06%、約 0.07%、約 0.08%、約 0.09%、約 0.1%、約 0.11%、約 0.12%、約 0.13%、約 0.14%、約 0.15%、約 0.16%、約

0.17%、約 0.18%、約 0.19%、約 0.20%、約 0.21%、約 0.22%，或約 0.23%聚山梨醇酯 20 或帕洛沙姆 188。

本發明之醫藥調配物亦可包含一或多種呈在熱壓力條件下穩定人類 PCSK9 抗體之類型及量的穩定劑。在一些具體例中，"穩定"表示當含有抗體及熱穩定劑之溶液在約 45°C 下持續至高約 28 天時，超過約 91%的抗體維持其天然構形。在一些具體例中，"穩定"表示當含有抗體及熱穩定劑之溶液在約 45°C 下持續至高約 28 天時，其中少於約 6%的抗體聚集。如本文所用，"天然"表示依據尺寸排除的主抗體要形式，其通常為抗體的完整單體。

在某些具體例中，熱穩定劑為糖或糖醇，選自於蔗糖、海藻糖及甘露醇或其任何組合，調配物中所含量可隨著特定環境及要使用調配物之目的而改變。在某些具體例中，調配物可含有約 3%至約 14%糖或糖醇、約 4%至約 13%糖或糖醇、約 5%至約 12%糖或糖醇、約 6%至約 11%糖或糖醇、約 7%至約 10%糖或糖醇、約 8%至約 9%糖或糖醇、約 4%至約 6%糖或糖醇、約 5%至約 7%糖或糖醇、約 9%至約 11%糖或糖醇，或約 11%至約 13%糖或糖醇。例如，本發明醫藥調配物可包含 4%±0.6%、5%±0.75%、6%±0.9%、7%±1.05%、8%±1.2%、9%±1.35%、10%±1.5%、11%±1.65%、12%±1.8%、13%±1.95%，或約 14%±2.1%糖或糖醇(例如，蔗糖、海藻糖或甘露醇)。

本發明之醫藥調配物亦可包含緩衝劑或緩衝系統，其作為維持穩定 pH 並有助於穩定人類 PCSK9 抗體。在一些具體例中，"穩定"表示當含有抗體及緩衝劑的溶液在 45°C 下維持多達約 28 天時，少於 4.5% ± 0.5% 或少於 6.0 ± 0.5% 抗體聚集。在一些具體例中，"穩定"表示當含有抗體及緩衝劑的溶液在 37°C 下維持多達約 28 天時，少於 3% ± 0.5% 或少於 2.6 ± 0.5% 抗體聚集。在一些具體例中，"穩定"表示當含有抗體及緩衝劑的溶液在 45°C 下維持多達約 28 天時，至少 91% ± 0.5% 或至少 92 ± 0.5% 抗體呈其天然構形，如同藉由尺寸排除層析所測定。在一些具體例中，"穩定"表示當含有抗體及緩衝劑的溶液在 37°C 下維持多達約 28 天時，至少 94% ± 0.5% 或至少 95 ± 0.5% 抗體呈其天然構形，如同藉由尺寸排除層析所測定。"天然"或"天然構形"表示未聚集或分解的抗體部分。這通常是藉由測量抗體實體的相對大小之分析(諸如尺寸排除層析分析)來決定。非聚集及非分解抗體在與天然抗體相同的溶離份洗提出來，且通常是主要溶離份。聚集抗體在表示尺寸大於天然抗體的溶離份洗提出來。分解抗體在表示尺寸小於天然抗體的溶離份洗提出來。

在一些具體例中，"穩定"表示當含有抗體及緩衝劑的溶液在 45°C 下維持多達約 28 天時，至少 38% ± 0.5% 或至少 29% ± 0.5% 抗體呈其主要電荷形式，如同藉由陽離子交換層析所測定。在一些具體例中，"穩定"表示當

$\pm 26.25 \text{ mg/mL}$ ；(ii)包含組胺酸之緩衝系統，其在約 pH 6.0 ± 0.3 有效地緩衝；(iii)蔗糖；(iv)非離子性清潔劑，諸如聚山梨醇酯 20；及視情況選用(v)精胺酸鹽類。

依據一個具體例，該調配物包含：(i)人類 IgG1 抗體，其特異結合至人類 PCSK，且其包含 SEQ ID NO：2 之 HCDR1、SEQ ID NO：3 之 HCDR2、SEQ ID NO：4 之 HCDR3、SEQ ID NO：6 之 LCDR1、SEQ ID NO：7 之 LCDR2 及 SEQ ID NO：8 之 LCDR3，濃度為 $175 \text{ mg/ml} \pm 26.25 \text{ mg/mL}$ ；(ii) $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 的組胺酸，其在 pH 6.0 ± 0.3 下進行緩衝；(iii) $5\% \text{ w/v} \pm 0.75\% \text{ w/v}$ 的蔗糖；(iv) $0.01\% \text{ w/v} \pm 0.0015\% \text{ w/v}$ 的聚山梨醇酯 20；及(v) $50 \text{ mM} \pm 7.5 \text{ mM}$ 的精胺酸鹽酸鹽。

依據一個具體例，該醫藥調配物包含：(i)人類 IgG1 抗體，其特異結合至人類 PCSK9，且其包含 SEQ ID NO：2 之 HCDR1、SEQ ID NO：3 之 HCDR2、SEQ ID NO：4 之 HCDR3、SEQ ID NO：6 之 LCDR1、SEQ ID NO：7 之 LCDR2 及 SEQ ID NO：8 之 LCDR3，濃度為約 $150 \text{ mg/ml} \pm 22.5 \text{ mg/mL}$ ；(ii) $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 之組胺酸，其在 pH 6.0 ± 0.3 下進行緩衝；(iii) $10\% \text{ w/v} \pm 1.5\% \text{ w/v}$ 的蔗糖；及(iv) $0.2\% \text{ w/v} \pm 0.03\% \text{ w/v}$ 或 $0.01\% \text{ w/v} \pm 0.0015\% \text{ w/v}$ 聚山梨醇酯 20。

依據一個具體例，該醫藥組成物包含：(i)人類 IgG1 抗體，其特異結合至人類 PCSK9，且其包含 SEQ ID NO：2 之 HCDR1、SEQ ID NO：3 之 HCDR2、SEQ ID

NO : 4 之 HCDR3、SEQ ID NO : 6 之 LCDR1、SEQ ID NO : 7 之 LCDR2，及 SEQ ID NO : 8 之 LCDR3，濃度約 $100 \text{ mg/mL} \pm 15 \text{ mg/mL}$ ；(ii)約 $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ 之組胺酸，在 $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$ 下進行緩衝；(iii) $12\% \text{ w/v} \pm 1.8\% \text{ w/v}$ 蔗糖；以及(iv) $0.2\% \text{ w/v} \pm 0.03\% \text{ w/v}$ 或 $0.01\% \text{ w/v} \pm 0.0015\% \text{ w/v}$ 聚山梨醇酯 20。

依據一個具體例，該醫藥組成物包含：(i)人類 IgG1 抗體，其特異結合至人類 PCSK9，且其包含 SEQ ID NO : 2 之 HCDR1、SEQ ID NO : 3 之 HCDR2、SEQ ID NO : 4 之 HCDR3、SEQ ID NO : 6 之 LCDR1、SEQ ID NO : 7 之 LCDR2，及 SEQ ID NO : 8 之 LCDR3，濃度約 $50 \text{ mg/mL} \pm 7.5 \text{ mg/mL}$ ；(ii)約 $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 組胺酸，在 $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$ 下進行緩衝；(iii) $6\% \text{ w/v} \pm 0.9\% \text{ w/v}$ 蔗糖；以及(iv) $0.1\% \text{ w/v} \pm 0.015\% \text{ w/v}$ 或 $0.01\% \text{ w/v} \pm 0.0015\% \text{ w/v}$ 聚山梨醇酯 20。

依據一個具體例，該醫藥組成物包含：(i)人類 IgG1 抗體，其特異結合至人類 PCSK9，且其包含 SEQ ID NO : 1 之重鏈可變域與 SEQ ID NO : 5 之輕鏈可變域，濃度約 $175 \text{ mg/ml} \pm 26.25 \text{ mg/mL}$ ；(ii) $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 之組胺酸，其在 $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$ 下進行緩衝；(iii) $5\% \text{ w/v} \pm 0.75\% \text{ w/v}$ 蔗糖；以及(iv) $0.01\% \text{ w/v} \pm 0.0015\% \text{ w/v}$ 聚山梨醇酯 20；以及(v) $50 \text{ mM} \pm 7.5 \text{ mM}$ 的 L-精胺酸鹽酸鹽。

依據一個具體例，該醫藥調配物包含：(i)人類 IgG1

抗體，其特異結合至人類 PCSK9，且其包含 SEQ ID NO: 1 之重鏈可變域及 SEQ ID NO: 5 之輕鏈可變域，濃度為約 150 mg/ml $\pm$ 22.5 mg/mL；(ii) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 之組胺酸，其在 pH 6.0 $\pm$ 0.3 下進行緩衝；(iii) 10% w/v $\pm$ 1.5% w/v 蔗糖；及(iv) 0.2% w/v $\pm$ 0.03% w/v 或 0.01% w/v $\pm$ 0.0015% w/v 聚山梨醇酯 20。

依據一個具體例，該醫藥調配物包含(i)人類 IgG1 抗體，其特異結合至人類 PCSK9，且其包含 SEQ ID NO: 1 之重鏈可變域，及 SEQ ID NO: 5 之輕鏈可變域，濃度為約 100 mg/mL $\pm$ 15 mg/mL；(ii) 約 20 mM $\pm$ 3 mM 之組胺酸，其在 pH 6.0 $\pm$ 0.3 下進行緩衝；(iii) 12% w/v $\pm$ 1.8% w/v 蔗糖；及(iv) 0.2% w/v $\pm$ 0.03% w/v 或 0.01% w/v $\pm$ 0.0015% w/v 聚山梨醇酯 20。

依據一個具體例，該醫藥調配物包含(i)人類 IgG1 抗體，其特異結合至人類 PCSK9，且其包含 SEQ ID NO: 1 之重鏈可變域，及 SEQ ID NO: 5 之輕鏈可變域，濃度為約 50 mg/mL $\pm$ 7.5 mg/mL；(ii) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 之組胺酸，其在 pH 6.0 $\pm$ 0.3 下進行緩衝；(iii) 6% w/v $\pm$ 0.9% w/v 蔗糖；及(iv) 0.1% w/v $\pm$ 0.015% w/v 或 0.01% w/v $\pm$ 0.0015% w/v 聚山梨醇酯 20。

本發明所包括的醫藥調配物之其他非限制性實例在本文他處說明，包括工作例及如下所示。

醫藥調配物的穩定性與黏度

本發明醫藥調配物通常表現出高度穩定性。術語"

穩定"，如本文所用，在提及醫藥調配物時，表示醫藥調配物中的抗體在儲存於特定條件下之後保有可接受程度之化學結構或生物功能。調配物可以是穩定的，儘管其中所含抗體在儲存特定時間總數之後並未 100%維持其化學結構或生物功能。在某些情況下，在儲存特定時間總數之後維持約 90%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%或約 99%的抗體結構或功能被認為是"穩定"。

穩定性尤其可於特定溫度下儲存特定時間總數之後藉由測定調配物中維持之天然抗體百分比來決定。天然抗體的百分比尤其可以藉由尺寸排除層析(例如尺寸排除高效液相層析[SE-HPLC])來測定諸如天然平均非聚集者及非分解者。"可接受程度的穩定性"，當這個片語用於本文中時，表示至少 90%的天然形式抗體可於特定溫度下儲存特定時間總數之後在調配物中偵測到。在某些具體例中，至少約 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的天然形式抗體可於特定溫度下儲存特定時間總數之後在調配物中偵測到。在其後測量穩定性之特定時間總數可為至少 14 天、至少 28 天、至少 1 個月、至少 2 個月、至少 3 個月、至少 4 個月、至少 5 個月、至少 6 個月、至少 7 個月、至少 8 個月、至少 9 個月、至少 10 個月、至少 11 個月、至少 12 個月、至少 18 個月、至少 24 個月或更久。當評估穩定性時，醫藥調配物儲存的特定溫度可為下列的任一溫度：約-80°C 至約 45°C，例如儲存於約

-80°C、約-30°C、約-20°C、約 0°C、約 4-8°C、約 5°C、約 25°C、約 35°C、約 37°C 或約 45°C 下。例如，若在儲存於 5°C 下 6 個月之後，藉由 SE-HPLC 偵測到超過約 95%、96%、97% 或 98% 天然抗體，則醫藥調配物可被視為是穩定的。若在儲存於 25°C 下 6 個月之後，藉由 SE-HPLC 偵測到超過約 94%、95%、96%、97% 或 98% 天然抗體，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 45°C 下 28 天之後，藉由 SE-HPLC 偵測到超過約 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97% 或 98% 天然抗體，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 -20°C 下 3 個月之後，藉由 SE-HPLC 偵測到超過約 96%、97% 或 98% 天然抗體，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 -30°C 下 3 個月之後，藉由 SE-HPLC 偵測到超過約 96%、97% 或 98% 天然抗體，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 -80°C 下 3 個月之後，藉由 SE-HPLC 偵測到超過約 96%、97% 或 98% 天然抗體，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。

穩定性尤其可藉由測定在特定溫度下儲存特定時間總數之後，調配物中抗體形成聚集的百分比，其中穩定性與形成聚集的百分比呈反比。聚集抗體百分比尤其可藉由尺寸排除層析(例如，尺寸排除高效液相層析[SE-HPLC])來測定。"可接受程度的穩定性"，當這個片語用於本文中時，表示至多 6% 的抗體於特定溫度下儲存特定時間總數之後在調配物中偵測到為聚集形式。在

某些具體例中，可接受程度的穩定性表示至多約 6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%抗體於特定溫度下儲存特定時間總數之後在調配物中偵測到為聚集形式。在其後測得穩定性之特定時間總數可為至少 2 週、至少 28 天、至少 1 個月、至少 2 個月、至少 3 個月、至少 4 個月、至少 5 個月、至少 6 個月、至少 7 個月、至少 8 個月、至少 9 個月、至少 10 個月、至少 11 個月、至少 12 個月、至少 18 個月、至少 24 個月或更久。當評估穩定性時，醫藥調配物儲存的特定溫度可為約 -80°C 至約 45°C 的任一溫度，例如儲存於約 -80°C、約 -30°C、約 -20°C、約 0°C、約 4-8°C、約 5°C、約 25°C、約 35°C、約 37°C 或約 45°C 下。例如，若在儲存於 5°C 下 6 個月之後，偵測到少於約 3%、2%、1%、0.5%或 0.1%抗體呈聚集形式，則醫藥調配物可被視為是穩定的。若在儲存於 25°C 下 6 個月之後，偵測到少於約 4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%抗體呈聚集形式，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 45°C 下 28 天之後，偵測到少於約 6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1%抗體呈聚集形式，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 -20°C、-30°C 或 -80°C 下 3 個月之後，偵測到少於約 3%、2%、1%、0.5%或 0.1%抗體呈聚集形式，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。

穩定性尤其可藉由測定抗體在離子交換("酸性形式")期間移至比抗體主要溶離份("主要電荷部分)更為

酸性溶離份的百分比，其中穩定性與呈酸性形式之抗體溶離份呈反比。儘管不希望受到理論所囿限，抗體之去醯胺化可使得抗體變為更加帶負電荷並因而相對於非去醯胺化抗體更為酸性(參見，例如 Robinson, N., Protein Deamidation, *PNAS*, April 16, 2002, 99(8):5283-5288)。“酸化”抗體百分比尤其可藉由離子交換層析(例如，陽離子交換高效液相層析[CEX-HPLC])測定。“可接受程度的穩定性”，當這個片語用於本文中時，表示於特定溫度下儲存特定時間總數之後在調配物中至多 49% 抗體呈更為酸性的形式。在某些具體例中，可接受程度的穩定性表示於特定溫度下儲存特定時間總數之後在調配物中至多約 49%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5% 或 0.1% 抗體呈酸性形式。其後測量穩定性之特定時間總數可為至少 2 週、至少 28 天、至少 1 個月、至少 2 個月、至少 3 個月、至少 4 個月、至少 5 個月、至少 6 個月、至少 7 個月、至少 8 個月、至少 9 個月、至少 10 個月、至少 11 個月、至少 12 個月、至少 18 個月、至少 24 個月或更久。當評估穩定性時，儲存醫藥調配物的溫度可為約 -80°C 至約 45°C 的任一溫度，例如儲存於約 -80°C、約 -30°C、約 -20°C、約 0°C、約 4-8°C、約 5°C、約 25°C 或約 45°C 下。例如，若在儲存於 -80°C、-30°C 或 -20°C 下 3 個月之後，少於約 30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、

18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1% 抗體呈更為酸性的形式，則醫藥調配物可被視為是穩定的。若在儲存於 5°C 下 6 個月之後，少於約 32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1% 抗體呈更為酸性的形式，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 25°C 下 6 個月之後，少於約 43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1% 抗體呈更為酸性的形式，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。若在儲存於 45°C 下 28 天之後，偵測到少於約 49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%或 0.1% 抗體呈更為酸性的形式，則醫藥調配物亦可被視為是穩定的。

其他方法可用於評估本發明調配物的穩定性，例如

示差掃描測熱法(DSC)以測定熱穩定性、控制震盪以測定機械穩定性，以及在約 350 nm 或約 405 nm 下之吸光度以測定溶液混濁度。例如，若在儲存於約 5°C 至約 25°C 下 6 個月或更久之後，調配物的 OD₄₀₅ 相對於調配物在時間 0 時的 OD₄₀₅ 變化少於約 0.05 (例如 0.04、0.03、0.02、0.01 或更少)，則醫藥調配物可被視為是穩定的。

測量抗體之生物活性或對其目標之結合親和力亦可用於評估穩定性。例如，若在儲存於約 5°C、25°C、45°C 等溫度下特定時間總數(例如 1 至 12 個月)之後，調配物中所含抗-PCSK9 抗體以儲存前該抗體結合親和力的至少 90%、95%或更高結合至 PCSK9，本發明調配物可被視為是穩定的。結合親和力可藉由，例如 ELISA 或電漿共振來測定。生物活性可藉由 PCSK9 活性分析(諸如，例如使表現 PCSK9 的細胞與包含抗 PCSK9 抗體之調配物接觸)來測定。抗體結合至此一細胞可直接藉由諸如，例如經由 FACS 分析來測定。或者，PCSK9 系統的下游活性可在抗體存在時測量，並且與抗體不存在時 PCSK9 系統之活性相比較。在一些具體例中，PCSK9 對細胞來說是內生性的。在其他具體例中，PCSK9 在細胞中異位地表現。

用於評估調配物中的抗體穩定性的其他方法在下面所示實例中證實。

在某些具體例中，本發明液體醫藥調配物可表現出

低度至中度黏度。"黏度"，如本文中所用，可以是"動黏度"或"絕對黏度"。"動黏度"是液體受重力影響下的抗流動性的測量值。若兩個體積相同的流體置放在相同的毛細管黏度計中並容許依據重力而流動時，黏性流體要比較不黏的流體花更久的時間流過整個毛細管。例如，若一種流體花 200 秒完成其流動，而另一種流體花 400 秒，則第二種流體的黏度就動黏度量度來說比第一者黏兩倍。"絕對黏度"有時稱為動力或簡單黏度，其為動黏度與流體密度的乘積(絕對黏度=動黏度×密度)。動黏度的容積為 L^2/T ，其中 L 為長度，而 T 為時間。通常，動黏度表示為厘司(cSt)。動黏度的 SI 單位為 mm^2/s ，其為 1 cSt。絕對黏度表示為厘泊(cP)單位。絕對黏度的 SI 單位為毫帕-秒(mPa-s)，其中 $1 \text{ cP} = 1 \text{ mPa-s}$ 。

如本文所用，在提及本發明液體調配物時，低黏度表現出少於約 15 厘泊(cP)的絕對黏度。例如，若使用標準黏度測量技術來測量時，調配物的絕對黏度為約 15 cP、約 14 cP、約 13 cP、約 12 cP、約 11 cP、約 10 cP、約 9 cP、約 8 cP 或更低，則本發明液體調配物被視為具有"低黏度"。如本文所用，在提及本發明液體調配物時，中等黏度表現出介於約 35 cP 與約 15 cP 的絕對黏度。例如，若使用標準黏度測量技術來測量時，調配物的絕對黏度為約 34 cP、約 33 cP、約 32 cP、約 31 cP、約 30 cP、約 29 cP、約 28 cP、約 27 cP、約 26 cP、約 25 cP、約 24 cP、約 23 cP、約 22 cP、約 21 cP、約 20 cP、

約 19 cP、18 cP、約 17 cP、約 16 cP，或約 15.1 cP，則本發明液體調配物被視為具有"中等黏度"。

如以下實施例中所述，發明人出乎意料地發現，包含高濃度抗-人類 PCSK9 抗體(例如，約 100 mg/ml 至高到至少 200 mg/mL)之中等黏度液體調配物可藉由將該抗體與精胺酸(約 25 mM 至約 100 mM)一起調配而獲得。另外，進一步發現調配物的黏度可以藉由將蔗糖含量調整至低於約 10%而降低更大幅度。

容器及投藥方法

本發明醫藥調配物可包含在任一種適於儲存藥品及其他治療性組成物的容器中。例如，醫藥調配物可包含在密封與滅菌之具有預定體積的塑膠或玻璃容器中，例如小瓶、安瓿、注射器、藥匣或瓶中。不同類型的小瓶可用於容納本發明調配物，包括，例如透明與不透明(例如琥珀色)玻璃或塑膠小瓶。同樣地，任何類型的注射器可用於容納或投與本發明醫藥調配物。

本發明醫藥調配物可包含在"標準鎢"注射器或"低鎢"注射器中。如習於本技藝者所知，製造玻璃注射器的製程通常涉及使用高鎢桿(其作用為刺穿玻璃)，從而由其產生一個液體可被抽出並排出注射器的孔洞。此製程使微量鎢沉積在注射器的內表面。之後的洗滌與其他處理步驟可用於降低鎢在注射器中的量。如本文所用，術語"標準鎢"表示注射器含有超過或等於 500 ppb 的鎢。術語"低鎢"表示注射器含有少於 500 ppb 的鎢。例

如，依據本發明，低鎢注射器可含有少於約 490、480、470、460、450、440、430、420、410、390、350、300、250、200、150、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10 或更低 ppb 的鎢。

注射器中所使用的橡膠塞蓋，以及用於密封小瓶開口的橡膠瓶蓋可經塗層以防止注射器或小瓶的醫藥內容物汙染，或維持其穩定性。因此，依據某些具體例，本發明醫藥調配物可包含在具有經塗覆塞蓋之注射器內，或在以經塗覆橡膠瓶蓋密封之小瓶內。例如，塞蓋或瓶蓋可塗覆有氟碳化物膜。適用於與含有本發明醫藥調配物之小瓶及注射器一起使用的經塗覆塞蓋或瓶蓋的實例述於，例如美國專利第 4,997,423 號、第 5,908,686 號、第 6,286,699 號、第 6,645,635 號及第 7,226,554 號，其內容以其整體併入本文做為參考文獻。可用於本發明上下文內的特定例示性經塗覆橡膠瓶蓋與塞蓋可在商業上以商標名 "FluroTec®" 由 West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA) 取得。FluroTec® 是一種用於使藥品盡可能不附著於橡膠表面或防止藥品附著於橡膠表面的氟碳化物塗層。

依據本發明的某些具體例，醫藥調配物可包含於具有經氟碳化物塗覆之塞蓋之低鎢注射器內。

醫藥調配物可以藉由非經腸途徑投藥給患者，諸如注射(例如皮下、靜脈內、肌肉內、腹膜內等)，或經皮、黏膜、鼻、肺或口服投藥。許多可重複使用筆型或自動

注射遞送裝置可用於皮下遞送本發明之醫藥調配物。實例包括，但不限於 AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC™ pen (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25™ pen、HUMALOG™ pen、HUMALIN 70/30™ pen (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN™ I、II 與 III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD™ pen (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN™、OPTIPEN PRO™、OPTIPEN STARLET™及 OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)。應用在皮下遞送本發明醫藥調配物之拋棄式筆型或自動注射遞送裝置的實例包括，但不限於 SOLOSTAR™ pen (sanofi-aventis)、FLEXPEN™ (Novo Nordisk) 以及 KWIKPEN™ (Eli Lilly)、SURECLICK™ Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN (Dey, L.P.)與 HUMIRA™ Pen (Abbott Labs, Abbott Park, IL)。

在本文中亦預期使用微輸注器遞送本發明醫藥調配物。如本文所用，術語"微輸注器"表示被設計成在一段長時間內(例如約 10、15、20、25、30 或更多分鐘)緩慢地投與大量(例如多達約 2.5 mL 或更多)治療調配物的皮下遞送裝置。參見，例如 U.S. 6,629,949、US

6,659,982 以及 Meehan *et al.*, *J. Controlled Release* 46:107-116 (1996)。微輸注器尤其可用於遞送大劑量的治療性蛋白(具有高濃度)(例如，約 100、125、150、175、200 或更多 mg/mL)或黏性溶液。

在一個具體例中，含有約 175 mg/mL $\pm$ 26.25 mg/mL 抗-PCSK9 抗體的液體醫藥調配物以約 1.14 mL $\pm$ 0.17 ml 的體積在預充填注射器中被皮下投與。在一個具體例中，該注射器為 1 mL 長玻璃注射器，填充有 27 規薄壁針頭、經氟碳化物塗覆之橡膠塞蓋與橡膠針套。在一個具體例中，該注射器為 OMPI 1 mL 長玻璃注射器，填充有 27 規薄壁針頭、FM27 橡膠針套，以及經 FLUROTEC®塗覆之 4023/50 橡膠塞蓋。

在一個具體例中，含有約 150 mg/mL $\pm$ 22.5 mg/mL 抗-PCSK9 抗體的液體醫藥調配物以約 1 mL $\pm$ 0.15 ml 的體積在預充填注射器中被皮下投與。在一個具體例中，該注射器為 1 mL 長玻璃注射器，填充有 27 規薄壁針頭、經氟碳化物塗覆之橡膠塞蓋與橡膠針套。在一個具體例中，該注射器為 OMPI 1 mL 長玻璃注射器，填充有 27 規薄壁針頭、FM27 橡膠針套，以及經 FLUROTEC®塗覆之 4023/50 橡膠塞蓋。

醫藥調配物的治療用途

本發明之醫藥調配物尤其可用於治療、預防或改善與 PCSK9 活性有關的任何疾病或病症，包括由 PCSK9 所媒介的疾病或病症。可經由投與本發明醫藥調配物而

治療或預防的例示性、非限制性疾病與病症包括各種血脂異常，諸如(例如)高膽固醇血症、家族性高膽固醇血症、高血脂症、家族性高血脂症、異常 β -脂蛋白血症、家族性異常 β -脂蛋白血症、高三酸甘油酯血症以及家族性高三酸甘油酯血症。

【實施方式】

實例

提出下列實例俾以將如何製造與使用本發明方法和組成物之完整揭示內容以及發明說明提供給技藝中具有通常技術者，且不欲限制發明人就其發明所視為的範疇。已盡力確保所用數字的正確性(例如量、溫度等)，但可能產生某些實驗誤差與偏差。除非另有指明，否則份為以莫耳計的份，分子量為平均分子量，溫度為攝氏度，而壓力為大氣壓或近乎大氣壓。

初始調配物發展活性涉及篩選 mAb-319P (本發明抗-PCSK9 抗體)之液體與凍乾調配物中的有機共溶劑、熱穩定劑與緩衝劑，以鑑別與蛋白質相容且增強其穩定性，同時維持相近的生理滲透性與低黏度供靜脈內和皮下注射用的賦形劑。亦檢驗緩衝條件以測定最大蛋白質穩定性的最佳 pH。

實例 1：發展抗-PCSK1 MAB-316 調配物

篩選各種緩衝劑、有機共溶劑與熱穩定劑以鑑別會增強 PCSK9 抗體之穩定性的賦形劑。亦檢驗緩衝條件以決定最大蛋白質穩定性的最佳 pH。由此等研究所產

生的結果用於發展穩定的液體調配物，以及穩定的凍乾調配物適於供臨床之用(靜脈內(IV)或皮下(SC)投藥)。關於凍乾藥品，發展可使用注射用無菌水(WFI)還原成濃度 50 mg/mL (用於 IV 投與)或 100 mg/mL (用於 SC 投與)的單一用途、雙重用途調配物。在還原成 50 mg/mL 之後，藥品可進一步稀釋於含有 0.9%氯化鈉的 IV 袋中供 IV 遞送之用。關於液體調配物，mAb-316P 被調配成 175 ± 27 mg/ml 與 150 ± 23 mg/ml。在一個具體例中， 175 ± 27 mg/mL mAb-316P 被調配於 10 ± 1.5 mM 組胺酸(pH 6.0 ± 0.3)、 $0.01\% \pm 0.0015\%$ 聚山梨醇酯 20、 $5\% \pm 0.75\%$ 蔗糖中。在一個具體例中， 150 ± 23 mg/mL mAb-316P 被調配於 10 ± 1.5 mM 組胺酸(pH 6.0 ± 0.3)、 $0.2\% \pm 0.03\%$ 或 $0.01\% \pm 0.0015\%$ 聚山梨醇酯 20、 $10\% \pm 1.5\%$ 蔗糖中。

實例 2：抗-PCSK1 MAB-316P 緩衝劑與 pH

在液體調配物中檢驗 pH 與緩衝劑類型對於 PCSK9 抗體之穩定性的影響。在 45°C 下將 2 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 培育於 10 mM 之乙酸鹽(pH 5.0-5.5)、檸檬酸鹽(pH 5.5-6.0)、琥珀酸鹽(pH 6.0)、組胺酸(pH 6.0)、磷酸鹽(pH 6.0-7.5)或 Tris (pH 8.0)緩衝劑中，以評估緩衝劑與 pH 對於蛋白質之熱穩定性的影響(表 1)。關於這個實驗，液體調配物各自被維持在 0.35 mL 於 2 mL 容量第 1 型硼矽酸玻璃小瓶，其具有經 FluroTec®塗覆之 4432/50 丁基橡膠檔塞。還原的 mAb-316P 總量是使用

逆相層析來測定。mAb-316P 之天然形式相對於聚集形式的百分比是使用尺寸排除層析來測定。mAb-316P 之酸性形式與鹼性形式的百分比是使用陽離子交換層析來測定。當抗-PCSK9 mAb-316P 以 pH 6.0 調配於 10 mM 組胺酸緩衝劑中時，觀察最大蛋白質穩定性，如同藉由尺寸排除層析(SE)以及陽離子交換層析(CEX)所測得者。

接著，藉由在 45°C 下將 10 mg/mL 的 mAb-316P 以 pH 5.5 及 pH 6.5 培育於組胺酸緩衝劑中來測定 mAb-316P 的最佳 pH。當 mAb-316P 以 pH 6.0 調配於緩衝組胺酸中時，觀察最大蛋白質穩定性，如同藉由 SE 以及 CEX 所測得者(表 2)。這些分析亦揭示，主要蛋白質分解途徑為形成聚集、分解產物及電荷變體。根據這些結果，選定在 pH 6.0 下的 10 mM 組胺酸緩衝劑來發展液體與凍乾 mAb-316P 調配物。

調配物發展研究結果指出，在鹼性條件下(pH ≥ 6.5)，溶液中的抗-PCSK9 mAb-316P 可能經歷去醯胺化反應。相反地，在 pH ≤ 5.5 下，觀察到 mAb-316P 的分子量變體形成率增加。依據這些數據，用於 mAb-316P 調配物的緩衝 pH 維持在 pH 5.7 與 pH 6.3。在這個 pH 範圍內促進 mAb-316P 穩定性是類似的。

實例 3：篩選對抗震盪壓力之保護劑

單獨測試不同共溶劑將含有 mAb-316P 之混合物中因為震盪壓力而形成顆粒降至最低的能力。震盪藥物的

混濁度分析證實，當含有 mAb-316P (0.35 mL 的 25 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸、pH 6.0 ± 0.2 於 2 mL 容量具有 FluroTec® 塗覆之 4432/50 丁基橡膠瓶蓋之第 1 型硼矽酸玻璃小瓶) 渦卷 120 分鐘，會增加在 405 nm 下的光學密度(OD)(表 3)。具有任何增加共溶劑的調配物似乎預防震盪引起的混濁度增加。但是，20% PEG 300、10% PEG 300 與 20% 丙二醇能明顯降低 mAb-316P 的熱穩定性，如同藉由 SE 所測定(表 4，與上面渦卷研究中相同的 mAb-316P 濃度、緩衝劑與容器條件)。具有聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、普朗尼克 F68 與 PEG 3350 的調配物對於 mAb-316P 的熱穩定性不具顯著影響，如同藉由 SE 與 CEX 所測定，使這些共溶劑適用於調配抗-PCSK9 mAb-316P。選定聚山梨醇酯 20 作為發展 mAb-316P 之凍乾和液體調配物的有機共溶劑，因為證實它在 mAb-316P 的震盪與熱研究中有助於良好的穩定性。

實例 4：篩選對抗熱壓力的保護劑

單獨測試不同賦形劑以將 mAb-316P 之熱穩定性提高至最佳，賦形劑是選自於其不同含有糖、胺基酸與無機鹽的目錄。所檢驗的一些熱穩定劑的歸納呈現於表 5 中。關於這些實驗，"熱穩定劑"賦形劑包含在有 10 mM 組胺酸中之 20 mg/mL mAb-316P 溶液中(0.35 mL 於 2 mL 容量具有塗覆 FluroTec® 之 4432/50 丁基橡膠瓶蓋之第 1 型硼矽酸玻璃小瓶)。含有蔗糖、山梨醇、甘露醇

- 13. 維持在：25°C 下 60 分*
- 14. 使用氮氣回填
- 15. 在真空下封塞：80% 大氣壓
(608,000 mTorr)

當在第 2 次乾燥之後以及在封塞步驟之前需要大量儲存時，凍乾機的儲存溫度在 2-8°C。使用上述最終循環製得的凍乾藥品具有良好的餅狀外觀、低含水量 (0.3%)、還原時間少於 4 分鐘以及還原溶液不混濁。

當 mAb-316P 藥品(mAb-316P DP)在 50°C 下培育 2 個月或在 5°C 下儲存 3 個月時，凍乾餅的外觀不受影響。對於 pH、外觀或還原 mAb-316P 藥品的混濁度沒有影響，且在 mAb-316P 的還原量方面沒有顯著差異。在 50°C 下培育 2 個月後，凍乾的 mAb-316P 藥品有超過 1.1% 分解(如藉由 SE-HPLC 所測定)而超過 8.3% 分解(如藉由 CEX-HPLC 測定)。當凍乾 mAb-316P 藥品儲存在 5°C 下 3 個月時，沒有觀察到有顯著分解。關於任何受壓力樣品，未觀察到有明顯喪失效力，如同使用抗-PCSK9 生物分析所測得。

實例 6：液體與還原的 MAB-316P

取決於投藥途徑，有兩種還原(reconstitute)凍乾 mAb-316P 藥品的方法。關於 IV 投藥，使用 5.0 mL 無菌 WFI 還原 mAb-316P 藥品得到 5.3 mL 溶液，含有 50 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸、pH 6.0、0.1% (w/v) 聚山梨醇酯 20 及 6% (w/v) 蔗糖。關於 SC 投藥，使用

2.3 mL 無菌 WFI 還原 mAb-316P 藥品得到 2.7 mL 溶液，含有 100 mg/mL REGN727、20 mM 組胺酸、pH 6.0、0.2% (w/v) 聚山梨醇酯 20 及 12% (w/v) 蔗糖。可抽出的體積為 4.8 mL (IV) 及 2.0 mL (SC 注射)，SC 小瓶中含有剩餘的 0.7 mL 還原溶液。

或者，液體 mAb-316P 調配為液體調配物，而沒有凍乾的干擾步驟。液體 mAb-316P 調配物以 150 mg/mL ($\pm 15\%$) 或 175 mg/mL ($\pm 15\%$) 抗-PCSK9 mAb-316P 於 10 ± 1.5 mM 組胺酸 (pH 6.0 ± 0.3)、 $0.01\% \pm 0.0015\%$ 或 $0.2\% \pm 0.03\%$ 之聚山梨醇酯 20、 $5\% \pm 0.75\%$ 或 $10\% \pm 1.5\%$ 蔗糖，以及在 175 mg/mL 調配物的情況下， 50 ± 7.5 mM 的精胺酸中。

抗-PCSK9 mAb-316P 被發現在經無菌過濾時是穩定的。Millipore Millipak 過濾套組用於製造臨床供品，而相同組成物的過濾器用於研究 (Millipore Millex Durapore)。相較於儲存在玻璃小瓶中，mAb-316P 調配藥物 (mAb-316P FDS) 的穩定性當儲存在聚丙烯管、聚苯乙烯管、聚碳酸酯管或玻璃小瓶 (含有不鏽鋼滾珠軸承) 中未受到明顯影響 (表 8)。

實例 7：預充填注射器中的液體調配物

以發展出高濃度 mAb-316P 液體調配物為目標來進行調配物發展研究，該高濃度 mAb-316P 液體調配物可用於預充填注射器 (PFS) 中供 SC 遞送之用。來自凍乾 REGN727 調配物的發展階段的結果證實，最佳緩衝

劑、pH、有機共溶劑及熱穩定性分別為組胺酸、pH 6.0、聚山梨醇酯 20 以及蔗糖(上文)。這些相同的賦形劑被用來發展 150 mg/mL 與 175 mg/mL mAb-316P 藥品調配物。將精胺酸添加至 175 mg/mL 的 mAb-316P 藥品以降低調配物的黏度。在 1 mL 長玻璃 Nuova Ompi 預充填注射器(PFS)中檢驗 150 與 175 mg/mL mAb-316P 藥品的壓力穩定性並與對照組的 150 和 175 mg/mL 藥品(玻璃小瓶)穩定性相比較。於 150 或 175 mg/mL mAb-316P 藥品在 45°C 下培育之後，OMPI PFS 和玻璃對照小瓶之間在物理或化學分解數量方面沒有觀察到顯著差異。這些數據表示，150 和 175 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 藥品調配物在使用於 PFS 之時相當穩定。

實例 8：MAP-316P 調配藥物的穩定性

進行穩定性研究以測定 150 和 175 mg/mL mAb-316P 調配物的儲存與壓力穩定性。混濁度與 RP-HPLC 分析用來評估 mAb-316P 的物理穩定性。物理穩定性定義為抗-PCSK9 mAb-316P 在溶液中的可溶形式的還原率。蛋白質損失可能是因為蛋白質沉澱或表面吸收。在溶液中存在顆粒可藉由視覺審視或藉由光學密度(OD)在 405 nm 下測量(混濁度測量)來偵測。在混濁度測量分析中，OD 增加表示混濁度因為形成顆粒而增加。如同藉由 OD 測量所測定的顆粒存在表示樣品無法維持穩定性。mAb-316P 的還原率是藉由 RP-HPLC 來測量。在 RP-HPLC 分析中，抗-PCSK9 mAb-316P 抗體從

逆相管柱中以單峰被洗提出。各測試樣品的濃度是由洗提 mAb-316P 抗體峰面積相較於使用限定蛋白質數量之 mAb-316P 標準品產生之校正曲線而測定。

化學穩定性意指抗-PCSK9 抗體(mAb-316P)在樣品中的化學結構完整性。大多數化學不穩定性可能是因為形成蛋白質的共價修飾形式(例如，共價聚集物、切割產品或電荷變體)，以及蛋白質的非共價修飾形式(例如非共價聚集物)。迄今，mAb-316P 已被偵測到的唯一分解產物是一種分子量或電荷皆有所不同的形式。較高與較低分子量分解產物可藉由 SE-HPLC 從天然 mAb-316P 被分離。天然 mAb-316P 在尺寸排除層析法中的百分率是藉由天然峰面積相對於所有 mAb-316P 抗體峰之總面積的比例。

mAb-316P 的電荷變體形式是使用陽離子交換層析從天然 mAb-316P 被解析。以比主峰還早的滯留時間從 CEX-HPLC 管柱洗提出的峰被標記為"酸性峰"，而那些以比主峰還晚的滯留時間從 CEX-HPLC 管柱洗提出的峰被標記為"鹼性峰"。在陽離子交換層析法中的分解 mAb-316P 百分比是藉由主峰、酸性峰與鹼性峰面積與所有 mAb-316P 峰的總面積相比對的相對百分比變化而測定。

在促進條件下藉由將抗體進行各種壓力測試來評估 mAb-316P。此等測試表示調配藥物在藥品製造期間可能遭遇到的極端操作條件。mAb-316P 調配藥物被充

填至 5 mL 聚碳酸酯小瓶用於震盪、冷凍/解凍循環，以及冷凍儲存條件。mAb-316P 調配藥物被充填至玻璃小瓶中以檢驗在高溫下的壓力穩定性。

實施例 9：調配藥物(FDS)的儲存穩定性研究

當儲存在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 下 12 個月時，150 mg/mL mAb-316P 調配藥物(FDS；0.5 mL 於 5 mL 聚碳酸酯小瓶中；150 mg/mL mAb-316P 抗體、10 mM 組胺酸(pH 6.0)、0.2%聚山梨醇酯 20 及 10%蔗糖)被發現到在物理與化學上是穩定的。藉由尺寸排除或離子交換層析，沒有發現 mAb-316P 有顯著損失，且沒有偵測到顯著化學分解。超過 97%的還原 mAb-316P 為"天然"結構，如藉由尺寸排除所測定，而超過 56%的還原 mAb-316P 為"主要電荷變形"，如藉由陽離子交換所測定。結果歸納於表 9 中。

當儲存在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 下 3 個月時，175 mg/mL mAb-316P 調配藥物(FDS；0.75 mL 於 5 mL 聚碳酸酯小瓶中；175 mg/mL mAb-316P 抗體、10 mM 組胺酸(pH 6.0)、0.01%聚山梨醇酯 20、5%蔗糖及 50 mM 精胺酸)被發現到在物理與化學上是穩定的。藉由尺寸排除或離子交換層析，沒有發現 mAb-316P 有顯著損失，且沒有偵測到顯著化學分解。超過 96%的還原 mAb-316P 為"天然"結構，如藉由尺寸排除所測定，而超過 56%的還原 mAb-316P 為"主要電荷變體"，如藉由陽離子交換所測定。結果歸納於表 10 中。

實施例 10：調配藥物的壓力穩定性研究

對 150 mg/mL mAb-316P 調配藥物(FDS) (0.35 mL - 0.5 mL 的 150 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸(pH 6.0)、0.2%聚山梨醇酯 20、10%蔗糖)與 175 mg/mL mAb-316P 調配藥物(0.5 mL - 1.7 mL 的 175 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸(pH 6.0)、0.01%聚山梨醇酯 20、5%蔗糖、50 mM 精胺酸)進行壓力穩定性研究。在 2 mL 容量第 1 型硼矽酸玻璃(經 FLUROTec®塗覆 4432/50 丁基橡膠瓶蓋)中進行高溫研究；其餘研究在 5 mL 聚碳酸酯小瓶中進行。當震盪(渦卷) 2 小時，150 mg/mL 與 175 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 調配藥物被發現到在物理與化學上是穩定的。溶液在視覺上維持澄清，沒有發生蛋白質損失，且未形成分子量形式或電荷變體(表 11 & 12)。當進行冷凍至-80°C 並解凍至室溫的 8 個循環，mAb-319P 亦被觀察到在物理與化學上皆是穩定的。在 8 個冷凍/解凍循環後，蛋白質溶液在視覺上維持澄清且未觀察到蛋白質損失。分別藉由 SE 或 CEX 分析，未偵測到分子量(可溶聚集物或分解產物)或電荷變體形式。

當在 37°C 或 45°C 下培育 28 天，儘管 150 與 175 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 調配藥物在物理上為穩定的，但觀察到一些化學分解(表 11 & 12)。這些壓力測試表示，主要分解途徑為形成聚集物、分解產物與電荷變體。一如預期，抗-PCSK9 mAb-316P 抗體在 37°C 下的

分解速率低於在 45°C 下的分解速率。當在 25°C 下培育 28 天，150 或 175 mg/mL mAb-316P 調配物品的物理或化學穩定性沒有顯著改變。

實例 11：藥品(DP)的儲存穩定性

150 mg/mL mAb-316P 藥品是由 10 mM 組胺酸、pH 6.0、0.01% 聚山梨醇酯 20、10% 蔗糖及 150 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 抗體所構成。175 mg/mL mAb-316P 藥品是由 10 mM 組胺酸、pH 6.0、0.01% 聚山梨醇酯 20、5% 蔗糖、50 mM 精胺酸與 175 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 抗體所構成。當於預充填注射器(PFS；OMPI 1 mL 長玻璃注射器，具有 27 規薄壁針頭以及 FM27 橡膠針蓋，密封以 FLUROTEC® 塗覆之 4023/50 橡膠塞蓋)中在 5°C 下儲存 6 個月，在物理與化學穩定性上沒有改變(表 13 與表 14)。溶液維持澄清，未觀察到蛋白質損失，而且在這些壓力後沒有發生 pH 改變。另外，分別藉由 SE 與 CEX 偵測，在分子量形式或電荷變體方面沒有顯著改變。

實例 12：藥品(DP)的壓力穩定性

150 mg/mL mAb-316P 藥品與 175 mg/ml mAb-316P 藥品的壓力穩定性是藉由在 25°C 與 45°C 下培育預充填注射器來檢驗。當在 45°C 下培育 28 天或在 25°C 下培育 6 個月，各個藥品在物理上是穩定的(表 13 & 14)。溶液在視覺上維持澄清，未觀察到蛋白質損失，而且在這些壓力後沒有發生 pH 改變。但是，當在 45°C 與 25°C 下培

育蛋白質時，偵測到聚集物以及電荷變體。這個壓力測試指出，這些是藥品的主要分解途徑。在 150 mg/mL 藥品中，在 45°C 下培育 28 天後，mAb-316P 聚集增加 1.9%，而酸性形式增加 19.1%。當在 25°C 下培育蛋白質，偵測到化學分解程度降低。在 25°C 下培育 6 個月後，聚集相對量增加 0.8%，而酸性形式增加 10.3%。在 175 mg/mL 藥品中，在 45°C 下培育 28 天後，mAb-316P 聚集增加 1.8%，而酸性形式增加 17.0%。當在 25°C 下培育蛋白質，偵測到化學分解程度降低。在 25°C 下培育 6 個月後，聚集增加 0.7%，而酸性形式增加 9.4%。關於 150 及 175 mg/mL 藥品，於 25°C 下培育 1 個月後，mAb-316P 穩定性沒有顯著改變。

實例 13：充填體積

預充填注射器(PFS)(含有 150 mg/mL REGN727 藥品)的可注射體積為 1.0 mL。PFS (含有 175 mg/mL REGN727 藥品)的可注射體積為 1.14 mL。在 PFS 中無剩餘，因為忽略注射器中的失效體積(0.005 至 0.01 mL)。

實例 14：MAB-316P 在儲存材料中的穩定性

當無菌過濾時，抗-PCSK9 mAb-316P 被發現是穩定的。將 Millipore Millipak 過濾套組用於研究中以及製造臨床供品。當儲存於聚丙烯管、聚苯乙烯管或聚碳酸酯管，或含有不銹鋼襯墊之玻璃小瓶中時，相較於儲存於玻璃小瓶中，150 與 175 mg/mL mAb-316P 調配藥物的穩定性未明顯受到影響(表 15 與表 16)。儘管當在 40°C

下培育調配藥物 14 天時觀察到分解，在對照、玻璃小瓶與暴露至塑膠容器與不銹鋼之間的 mAb-316P 分解量觀察到沒有顯著差異。

實例 15：抗-PCSK9 抗體 mAb-316P 的特徵鑑定

藉由尺寸排除層析以及多角雷射光散射 (SEC-MALLS) 來分析至少 2 批 mAb-316P (第 1 批與第 2 批)，分析方法會提供蛋白質或醣蛋白的莫耳質量估算值。第 1 批與第 2 批具有 154.5 和 154.6 kDa 的個別莫耳質量。關於從 SE 基質洗提出之主要形式峰，其他批具有 154.4 至 154.8 kDa 的莫耳質量(平均約 155 kDa)。主峰表示約 96.7-99.2% 的總蛋白質峰面積並對應於完整 mAb-316P 單體(亦即如本文所用"天然")。

藉由毛細管等電聚焦(cIEF)來分析 mAb-316P，以測定主要構成同型的等電點。藉由 cIEF 所測定之 mAb-316P 樣品的 pI 與平均峰面積(%總峰面積)歸納於表 17。各批表現出具有經計算為約 8.5 之 pI 的主要形式(峰 5)，第 1 批與第 2 批分別表示為 66.4% 和 68.0%。主要形式(峰 5)最可能表示缺乏 C 端離胺酸的完整完全糖基化抗體(亦即如本文所用"主要電荷形式")。

第 1 批與第 2 批之還原型 mAb-316P 胰酶肽圖的質譜(MS)分析確認單一糖基化位點 Asn298，在兩批的 Fc 結構域中。形成此糖基化位點的大多數共價連結聚醣歸納於表 18 中。總言之，測定兩批具有複合雙觸聚醣，其中大多數在 Asn298 處經岩藻糖基化。但是，在第 2

批中含有岩藻糖基化非半乳糖基(G0)糖鏈形式的相對數量略高於第 1 批中的此糖型。相反地，在第 2 批中含岩藻糖基化雙半乳糖基(G2)以及岩藻糖基化單半乳糖基(G1)之糖鏈形式的相對數量比第 1 批中彼等糖鏈結構的相對數量還低。兩種藥物樣品的 LC/MS 結果分析(峰 16)亦識別第 1 批與第 2 批分別有 2.9%與 8.4%重鏈肽在 Asn298 缺少聚醣。

在從兩批 mAb-316P 的每一者釋出寡糖後，藉由 HPLC 分析所產生的聚醣型態。在各個層析圖中，衍生的寡糖分成兩個主要類別：非岩藻糖基化雙觸類以及岩藻糖基化雙觸類。在各類別(岩藻糖基化對非岩藻糖基化)中，寡糖進一步分成雙半乳糖基(G2)、單半乳糖基(G1)以及非半乳糖基(G0)形式。寡糖結構分配是經由 MALDI-TOF 質譜分析而得到。在兩個層析圖中，各峰的積分揭示兩批 mAb-316P 的岩藻糖基化程度大體上為高，在第 1 批與第 2 批中觀察到分別為 80.0%與 86.9%岩藻糖基化。

儘管兩批的岩藻糖基化總百分比相似，但存在於兩批中糖型之每一者的相對豐度在定量上有差異(表 19)。就第 1 批，G0、G1 與 G2 岩藻糖基化聚醣結構的峰面積百分比分別測定為 34.4%、39.6%與 11.7%。相對地，就第 2 批，G0、G1 與 G2 岩藻糖基化聚醣結構的峰面積百分比分別為 45.8%、33.3%與 7.1%，表示兩批間的半乳糖基化程度有差異。相對於在兩批中所觀察到

的糖鏈總量，高甘露糖聚醣(man5 glycan)峰(峰 2)偵測相對豐度為 1.8-2.9% (表 19)。總計 9 個未被識別的峰具有 0.5%至 1.5%的峰面積百分比亦在本方法所檢驗的兩批中偵測到，並代表在各批中偵測到 $\leq 3\%$ 總聚醣峰面積。兩批的等莫耳共混合物的分析未產生新的峰，且在共混合物中的所有峰的峰面積百分比與根據各批之單獨分析所預期數值充分相關(表 19)。

表 1：緩衝劑及 pH 在 45°C 下 28 天對於 mAb-316P 穩定性的影響

pH/緩衝劑	混濁度 ¹	總 (mg/m L)	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
無培育 ²	0.00	1.8	98.1	0.3	57.0	33.0	10.0
pH 8.0， Tris	0.00	1.7	88.9	0.8	15.2	82.4	2.4
pH 8.0，磷 酸鹽	0.01	2.0	89.4	1.3	NA	NA	NA
pH 7.5，磷 酸鹽	0.01	1.9	91.7	0.9	NA	NA	NA
pH 7.0，磷 酸鹽	0.01	2.1	92.4	0.7	16.7	78.8	4.5
pH 6.5，磷 酸鹽	0.00	2.0	93.2	0.6	25.0	68.3	6.6
pH 6.0，磷	0.00	1.8	93.9	0.3	29.8	62.3	8.0

表 1：緩衝劑及 pH 在 45°C 下 28 天對於 mAb-316P 穩定性的影響							
pH/緩衝劑	混濁度 ¹	總 (mg/mL)	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
酸鹽							
pH 6.0，組 胺酸	0.00	1.9	94.5	0.0	36.9	54.0	9.1
pH 6.0，琥 珀酸鹽	0.00	1.9	93.1	0.4	31.9	59.8	8.3
pH 6.0，檸 檬酸鹽	0.00	1.9	95.1	0.4	32.1	58.1	9.9
pH 5.5，檸 檬酸鹽	0.00	2.1	94.6	0.4	28.0	62.0	9.9
pH 5.5，乙 酸鹽	0.00	2.0	92.4	0.2	34.5	56.9	8.5
pH 5.0，乙 酸鹽	0.00	1.8	93.0	0.2	31.1	57.5	11.4

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

² 所有 12 種調配物之未培育材料的平均值。

表 2：pH 在 45°C 下 28 天對於 10 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸的影響							
pH/緩 衝劑	混濁度 ¹	總 mg/mL	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
無培	0.00	9.5	98.1	0.2	57.8	31.1	11.1

育 ²							
pH 5.5	0.01	9.5	94.3	0.5	34.7	52.2	13.1
pH 6.0	0.01	9.7	94.7	0.9	37.5	51.8	10.6
pH 6.5	0.01	10.1	93.4	1.8	35.7	55.2	9.1

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

² 所有 3 種調配物之未培育材料的平均值。

表 3：共溶劑對於 25 mg/mL mAb-316P 渦卷 120 分鐘的影響							
有機共溶劑	混濁度 ¹	總 (mg/mL)	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
無渦卷 ²	0.00	25.6	97.3	0.5	50.6	39.2	10.3
無共溶劑	0.10	25.6	97.3	0.5	51.1	39.0	9.9
0.2%聚山梨醇酯 20	0.01	24.7	97.2	0.5	51.1	38.9	10.1
0.2%聚山梨醇酯 80	0.01	24.7	97.3	0.5	50.9	38.9	10.2
0.2%普朗尼克 F68	0.01	25.2	96.9	0.5	50.5	39.2	10.3
3% PEG 3350	0.01	25.3	97.1	0.5	50.7	39.0	10.2
1.5% PEG 3350	0.01	24.9	97.1	0.5	50.8	39.1	10.1
20% PEG 300	0.00	26.7	97.0	0.6	48.8	40.5	10.7

表 3：共溶劑對於 25 mg/mL mAb-316P 渦卷 120 分鐘的影響

有機共溶劑	混濁度 ¹	總 (mg/mL)	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
10% PEG 300	0.01	25.7	97.2	0.5	49.9	39.8	10.3
20%丙二醇	0.01	25.8	96.9	0.5	51.1	38.6	10.3

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化

² 所有 9 種調配物之未渦卷材料的平均值

表 4：共溶劑對於 25 mg/mL mAb-316P 培育在 45°C 下 28 天的影響

有機共溶劑	混濁度 ¹	pH	總 mg/mL	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
無培育 ²	0.00	6.1	25.6	97.3	0.5	50.6	39.2	10.3
無共溶劑	0.02	6.2	24.9	94.5	0.7	34.8	54.7	10.5
0.2%聚山梨醇酯 20	0.03	6.2	24.3	94.6	0.5	35.2	54.3	10.5
0.2%聚山梨醇酯 80	0.02	6.2	24.3	94.8	0.6	35.1	54.5	10.4
0.2%普朗尼克 F68	0.03	6.1	24.6	94.7	0.6	33.8	55.6	10.6
3% PEG 3350	0.03	6.2	24.8	95.0	0.7	35.9	53.5	10.6
1.5% PEG	0.02	6.2	24.4	94.8	0.6	36.0	53.5	10.5

3350								
20% PEG 300	0.12	4.8	25.4	88.8	4.2	NA	NA	NA
10% PEG 300	0.09	5.4	25.0	93.7	0.9	24.1	67.0	8.9
20%丙二 醇	0.03	6.1	24.6	89.9	5.6	34.6	54.2	11.2

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

² 所有 9 種調配物之未渦卷材料的平均值。

表 5：穩定劑在 45°C 下 28 天對於 20 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸的影響									
賦形劑	視覺	混濁度 ¹	pH	總 mg/mL	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
無培育 ²	通過	0.00	6.0	20.2	97.7	0.5	51.1	39.3	9.6
無穩定劑	通過	0.02	6.1	19.8	93.6	2.0	33.5	56.5	10.1
150 mM NaCl	未通過	0.03	6.0	20.0	91.0	4.6	35.3	51.0	13.6
20%蔗糖	通過	0.04	6.0	22.6	94.4	1.0	32.1	57.0	10.9
20%山梨 醇	通過	0.16	5.8	21.8	94.3	1.0	23.5	67.4	9.1
10%甘露 醇	通過	0.02	6.0	21.2	94.8	0.9	34.4	54.5	11.1

表 5：穩定劑在 45°C 下 28 天對於 20 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸的影響

賦形劑	視覺	混濁度 ¹	pH	總 mg/mL	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
20%海藻糖	通過	0.05	6.0	22.7	94.7	0.5	33.2	56.6	10.2
5%甘油	通過	0.10	5.9	20.8	90.2	5.4	NA	NA	NA
3%精胺酸	通過	0.02	6.1	21.1	92.9	3.0	37.5	49.2	13.3
3%甘胺酸	通過	0.03	6.1	19.8	93.7	1.7	31.0	58.0	10.9

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

² 所有 9 種調配物之未培育材料的平均值。

表 6：凍乾保護劑於 50°C 下培育 28 天對於凍乾 mAb-316P 的影響

賦形劑	視覺	混濁度 ¹	pH	總 mg/mL	%天然	%聚集	%主要	%酸性	%鹼性
無培育	通過	0.00	6.0	100	97.1	1.2	51.0	38.3	10.7
無凍乾保護劑	未通過	0.09	6.1	100	70.0	28.5	24.2	35.1	40.7
2%蔗糖	通過	0.02	6.1	104	90.7	7.4	37.4	39.1	23.6
6%蔗糖	通過	0.00	6.1	105	96.1	1.8	46.8	39.2	14.1

2%蔗糖，2%甘氨酸	通過	0.02	6.0	114	94.5	3.4	40.9	42.4	16.8
2%蔗糖，2%精氨酸	通過	0.00	5.9	109	95.9	2.0	47.2	38.4	14.4

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

² 凍乾藥品在分析前還原成 100 mg/mL REGN727。

³ 所有 4 種調配物之起始材料的平均值。

表 7：還原成 100 mg/ml 之凍乾藥品的穩定性

儲存溫度	無儲存	5°C 4 個月	25°C 3 個月	40°C 3 個月	50°C 2 個月
混濁度 ¹	0.00	0.01	0.01	0.02	0.02
pH	6.2	6.3	6.2	6.2	6.2
%還原的總	100	104	100	98	105
%天然	96.0	96.5	96.2	95.7	94.9
%聚集	1.7	1.4	1.7	2.4	2.9
%主要	50.6	51.5	49.2	46.2	43.5
%酸性	38.0	37.9	38.2	39.5	40.1
%鹼性	11.4	10.5	12.7	14.3	16.2
生物分析(%參考標準品) ²	146	NP	NP	NP	152

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

² 接受標準：50-200%參考標準品。

表 8：50 mg/mL mAb-316P 在 40°C 及 75%濕度下 14 天的相容性

儲存	無儲存	玻璃	聚丙烯	聚苯乙烯	聚碳酸酯	不鏽鋼
混濁度 ¹	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01
%總	100	98	99	104	103	98
%天然	97.0	96.3	96.3	96.2	96.2	96.1
%聚集	2.0	1.9	1.9	2.0	2.0	2.0
%主要	50.8	45.7	44.9	45.2	45.6	45.5
%酸性	38.1	42.8	43.6	43.0	42.5	43.2
%鹼性	11.2	11.5	11.6	11.9	11.8	11.2

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

表 9：150 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 在 -80°C 下 12 個月的穩定性

儲存溫度	對照	-80°C	-30°C	-20°C
混濁度(OD 405 nm)	0.00	0.00	0.01	0.01
%還原的總 mAb-316P	100	104	108	111
%還原的天然	97.5	97.3	97.2	97.2
%還原的聚集	1.7	1.8	1.8	1.9
%還原的主要	56.2	56.5	56.4	56.3
%還原的酸性	26.5	25.7	25.7	25.4
%還原的鹼性	17.4	17.9	17.9	18.2

表 10：175 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P 在 -80°C 下 3 個月的穩定性

儲存溫度	對照	-80°C	-30°C	-20°C
混濁度(OD 405 nm) ¹	0.00	0.01	0.01	0.01
%還原的總 REGN727 (RP-HPLC)	100	100	104	101
%還原的天然 REGN727 (SE-HPLC)	96.2	96.5	96.4	96.3
%還原的聚集 REGN727 (SE-HPLC)	2.7	2.5	2.6	2.7
%還原的主要 REGN727 (CEX-HPLC)	58.5	56.2	56.6	56.7
%還原的酸性 REGN727 (CEX-HPLC)	29.4	29.4	29.4	29.4
%還原的鹼性 REGN727 (CEX-HPLC)	12.2	14.5	14.0	13.9

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

表 11：150 mg/mL mAb-316P FDS¹ 在壓力條件下的穩定性

壓力測試	無壓力 ²	震盪		45°C 培育		37°C 培育		25°C 培育		冷凍/ 解凍
壓力時間	0 分	60 分	120 分	14 天	28 天	14 天	28 天	14 天	28 天	8 循環
視覺外觀	通過	通過	通過	通過	通過	通過	通過	通過	通過	通過
混濁度 ³	0.00	0.00	0.00	0.02	0.03	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
pH	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
%還原的總	100	101	102	98	98	99	98	100	99	101
%還原的天然	97.4	97.5	97.2	94.2	92.4	95.7	95.1	96.7	96.2	97.1
%還原的聚集	1.6	1.7	2.1	3.4	4.1	2.4	2.6	2.0	2.2	1.7
%還原的主要	53.6	53.7	54.7	38.7	29.0	46.3	39.5	51.5	49.1	53.9
%還原的酸性	27.2	26.1	25.9	39.5	48.6	31.9	36.9	27.8	28.9	26.5
%還原的鹼性	19.3	20.2	19.5	21.8	22.5	21.8	23.7	20.7	22.0	19.6
生物分析										
(%相對效力) ⁴	84	NP	84	NP	85	NP	82	NP	98	81

¹10 mM 組胺酸、pH 6.0、0.2%聚山梨醇酯 20、10%蔗糖、150 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P。

²"無壓力"的數值為兩個穩定性研究的平均值。

³混濁度報導為在 405 nm 下相較於起始材料的相對 OD 變化。

⁴百分比相對效力；接受標準：50-200%參考標準品。

表 12：175 mg/mL mAb-316P FDS¹ 在壓力條件下的穩定性

壓力測試	無壓力 ²	震盪		45°C 培育		37°C 培育		25°C 培育		冷凍/ 解凍
壓力時間	0 分	60 分	120 分	14 天	28 天	14 天	28 天	14 天	31 天	8 循環
視覺外觀	通過	通過	通過	通過	通過	通過	通過	NA	通過	通過
混濁度 ³	0.00	0.00	0.01	0.01	0.03	0.00	0.01	NA	0.00	0.01
pH	6.0	6.0	6.0	6.1	6.1	6.0	6.0	NA	6.0	6.0
%還原的總	100	96	98	101	98	100	96	NA	99	98
%還原的天然	96.5	96.3	96.4	94.5	91.7	95.7	94.7	NA	96.2	96.1
%還原的聚集	2.5	2.5	2.5	3.6	5.2	2.8	3.0	NA	2.6	2.3
%還原的主要	59.5	58.3	59.0	47.1	38.4	56.3	46.9	NA	58.2	59.3

表 12：175 mg/mL mAb-316P FDS¹ 在壓力條件下的穩定性

壓力測試	無壓力 ²	震盪		45°C 培育		37°C 培育		25°C 培育		冷凍/ 解凍
壓力時間	0 分	60 分	120 分	14 天	28 天	14 天	28 天	14 天	31 天	8 循環
%還原的 酸性	30.1	29.3	29.4	39.5	47.6	32.3	39.8	NA	30.9	29.5
%還原的 鹼性	10.3	12.4	11.6	13.4	14.1	11.4	13.4	NA	11.0	11.1
生物分析 (%相對 效力) ⁴	0.00	0.00	0.01	0.01	0.03	0.00	0.01	NA	0.00	0.01

¹ 10 mM 組胺酸、pH 6.0、0.01% 聚山梨醇酯 20、5% 蔗糖、50 mM 精胺酸、175 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P。

² "無壓力"的數值為兩個穩定性研究的平均值。

³ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

⁴ 百分比相對效力；接受標準：50-200% 參考標準品。

表 13：150 mg/mL mAb-316P DP 在 PFS 中的穩定性

儲存	0	5°C 下 6 個月	25°C 下 6 個月	45°C 下 28 天
外觀	通過	通過	通過	通過
混濁度 ¹	0.00	0.00	0.00	0.02

pH	6.1	6.1	6.1	6.1
%還原的總	100	102	102	97
%還原的天然	96.6	96.1	94.2	92.4
%還原的聚集	2.4	2.6	3.2	4.3
%還原的主要	58.4	58.5	45.7	35.8
%還原的酸性	31.8	31.3	42.1	50.9
%還原的鹼性	9.8	10.2	12.2	13.4

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

表 14：175 mg/mL mAb-316P DP 在 PFS 中的穩定性

儲存	0	5°C 下 6 個月	25°C 下 6 個月	45°C 下 28 天
外觀	通過	通過	通過	通過
混濁度 ¹	0.00	0.00	0.02	0.04
pH	6.1	6.1	6.1	6.1
%還原的總	100	103	101	100
%還原的天然	96.7	96.3	94.6	91.6
%還原的聚集	2.3	2.4	3.0	5.4
%還原的主要	59.1	59.7	47.1	37.7
%還原的酸性	31.2	30.6	40.6	48.2
%還原的鹼性	9.7	9.7	12.3	14.2

¹ 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

表 15：150 mg/mL mAb-316P¹ 在 40°C 下 14 天的相容性

儲存	無儲存， 玻璃	玻璃	聚碳酸 酯	聚丙 烯	聚苯乙 烯	不鏽鋼
混濁度 ²	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01
pH	6.0	6.1	6.0	6.0	6.0	6.0
%還原的總	100	97	104	99	105	104
%還原的天然	97.4	95.9	95.8	95.7	95.7	95.5
%還原的聚集	1.7	2.5	2.6	2.7	2.6	2.7
%還原的主要	53.3	45.8	45.8	44.7	45.6	45.1
%還原的酸性	26.9	33.0	32.9	33.8	33.0	33.5
%還原的鹼性	19.8	21.3	21.6	21.6	21.5	21.4

¹10 mM 組胺酸、pH 6.0、0.2%聚山梨醇酯 20、10%蔗糖，及 150 mg/mL mAb。

²混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

表 16：175 mg/mL mAb-316P¹ 在 40°C 下 14 天的相容性

儲存	無儲存， 玻璃	玻璃	聚碳酸 酯	聚丙 烯	聚苯乙 烯	不鏽鋼
混濁度 ³	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
pH	6.1	6.1	6.1	6.0	6.1	6.1
%還原的總	100	98	104	100	105	98
%還原的天然	96.6	95.3	95.2	95.1	95.2	94.9
%還原的聚集	2.4	3.0	3.1	3.2	3.1	3.3

表 16：175 mg/mL mAb-316P¹ 在 40°C 下 14 天的相容性

儲存	無儲存， 玻璃	玻璃	聚碳酸 酯	聚丙烯	聚苯乙 烯	不鏽鋼
%還原的主要	57.7	51.3	51.0	50.6	51.0	50.4
%還原的酸性	30.0	34.5	34.5	35.0	34.5	35.2
%還原的鹼性	12.3	14.2	14.5	14.4	14.4	14.4

¹ 10 mM 組胺酸、pH 6.0、0.01% 聚山梨醇酯 20、5% 蔗糖、50 mM 精胺酸及 175 mg/mL mAb。

² 混濁度 = 在 405 nm 下相對於起始材料的 OD 變化。

表 17：依據 cIEF，mAb-316P 的電荷不均勻性

	第 1 批		第 2 批		第 1 批：第 2 批(1:1 混 合)	
峰編 號	pI	峰面積， %	pI	峰面積， %	pI	峰面積， %
1	7.99 (0.01)	0.8 (0.1)	7.99 (0.01)	0.8 (0.0)	7.98 (0.01)	0.7 (0.1)
2	8.15 (0.00)	2.6 (0.1)	8.15 (0.01)	2.6 (0.1)	8.14 (0.01)	2.6 (0.1)
3	8.29 (0.00)	6.9 (0.1)	8.29 (0.00)	7.0 (0.0)	8.28 (0.01)	6.9 (0.1)
4	8.42 (0.00)	18.4 (0.2)	8.42 (0.00)	18.6 (0.2)	8.42 (0.01)	18.5 (0.1)
5	8.54 (0.01)	66.4 (0.3)	8.55 (0.01)	68.0 (0.3)	8.54 (0.00)	67.3 (0.1)
6	8.65 (0.00)	4.0 (0.1)	8.65 (0.00)	2.8 (0.1)	8.64 (0.01)	3.4 (0.0)
7	8.82 (0.00)	0.9 (0.1)	8.81 (0.00)	0.3 (0.1)	8.81 (0.01)	0.6 (0.1)

表 18：mAb-316P 糖基化肽

峰 編 號	重鏈片 段	觀察質量(Da)		註解
		第 1 批	第 2 批	
15a	294-302	2957.15	2957.19	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₂
	294-302	2795.11	2795.11	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₁
	294-302	2404.94	2404.94	(GlcNAc) ₂ (Man) ₅
	294-302	2592.02	2591.96	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁ (Gal) ₁
	294-302	2267.94	2267.92	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₂ (GlcNAc) ₁
	294-302	2121.82	2121.80	(GlcNAc) ₂ (Man) ₂ (GlcNAc) ₁
15b	294-302	2283.91	2283.91	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	294-302	2429.98	2429.98	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	294-302	2486.99	2486.97	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂
	294-302	2633.05	2633.06	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂
16	294-302	1188.52	1188.53	non-glycosylated NST site
17a	290-302	3439.44	3439.44	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₂
	290-302	3278.40	3277.35	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂ (Gal) ₁
	290-302	2887.20	2887.26	(GlcNAc) ₂ (Man) ₅
17b	290-302	2766.24	2766.21	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	290-302	2969.34	2969.25	(GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂
	290-302	2912.28	2912.25	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₁
	290-302	3115.32	3115.35	(Fuc) ₁ (GlcNAc) ₂ (Man) ₃ (GlcNAc) ₂

表 19：由毛細管電泳所識別之聚醣的積分峰面積

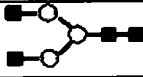
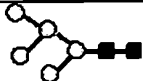
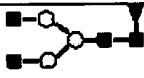
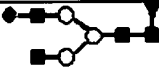
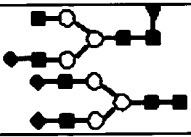
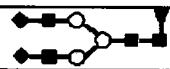
	第 1 批峰面積 ^a , %	第 2 批峰面積, %	1:1 批次混合物, 峰面積, %	聚醣識別 ¹	聚醣結構 ²
1	8.6 (0.2)	6.8 (0.1)	7.6 (0.2)	G0-Fuc	
2	1.8 (0.0)	2.9 (0.1)	2.3 (0.1)	Man5	
3	0.7 (0.0)	0.5 (0.0)	0.6 (0.0)	次要峰未識別	
4	低於 LOQ	低於 LOQ	低於 LOQ	次要峰未識別	
5	低於 LOQ	低於 LOQ	低於 LOQ	次要峰未識別	
6	34.4 (0.1)	45.8 (0.2)	40.4 (0.2)	G0	
7	1.5 (0.0)	0.7 (0.0)	1.1 (0.0)	次要峰未識別	
8	低於 LOQ	0.9 (0.0)	0.6 (0.0)	次要峰未識別	
9	低於 LOQ	0.7 (0.0)	0.6 (0.0)	次要峰未識別	
10	29.5 (0.1)	24.7 (0.0)	27.0 (0.1)	G1(1-6)	
11	10.1 (0.1)	8.6 (0.0)	9.3 (0.1)	G1(1-3)及/ 或 G2-Fuc	
12	低於 LOQ	低於 LOQ	低於 LOQ	次要峰未識別	

表 19：由毛細管電泳所識別之聚醣的積分峰面積

	第 1 批峰面積 ^a ， %	第 2 批峰面積， %	1:1 批次混合物， 峰面積， %	聚醣識別 ¹	聚醣結構 ²
13	低於 LOQ	低於 LOQ	低於 LOQ	次要峰未識別	
14	11.7 (0.0)	7.1 (0.1)	9.4 (0.2)	G2	

¹ G#-fuc 及 G# 分別意指非岩藻糖基化及岩藻糖基化聚醣。標號 # 指 0、1 或 2。

² 聚醣圖例：▼ 岩藻糖， ■ N-乙酰基葡萄糖胺，○ 甘露糖，◇ 半乳糖。

LOQ = 定量極限

序列表

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> 含有抗-PCSK9 抗體之穩定化調配物

<130> 7050

<160> 9

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 1

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr
 20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Val
 35 40 45

Ser Thr Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Ser Ser Lys His Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 2

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 2

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Ala
1 5

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 3

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr
1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 4

Ala Lys Asp Ser Asn Trp Gly Asn Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 5

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 5

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Arg
 20 25 30

Ser Asn Asn Arg Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
 85 90 95

Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
 100 105 110

Lys

<210> 6
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 6

Gln Ser Val Leu Tyr Arg Ser Asn Asn Arg Asn Phe
 1 5 10

<210> 7
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 7

Trp Ala Ser
 1

<210> 8
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成

<400> 8

Gln Gln Tyr Tyr Thr Thr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 9
 <211> 692
 <212> PRT
 <213> 智慧人

<400> 9

Met Gly Thr Val Ser Ser Arg Arg Ser Trp Trp Pro Leu Pro Leu Pro
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Gly Pro Ala Gly Ala Arg Ala Gln Glu
 20 25 30
 Asp Glu Asp Gly Asp Tyr Glu Glu Leu Val Leu Ala Leu Arg Ser Glu
 35 40 45
 Glu Asp Gly Leu Ala Asp Ala Pro Glu His Gly Ala Thr Ala Thr Phe
 50 55 60
 His Arg Cys Ala Lys Asp Pro Trp Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Val Val
 65 70 75 80
 Val Leu Lys Glu Glu Thr His Arg Ser Gln Ser Glu Arg Thr Ala Arg
 85 90 95
 Arg Leu Gln Ala Gln Ala Ala Arg Arg Gly Tyr Leu Thr Lys Ile Leu
 100 105 110
 His Val Phe His His Leu Leu Pro Gly Phe Leu Val Lys Met Ser Gly
 115 120 125
 Asp Leu Leu Glu Leu Ala Leu Lys Leu Pro His Val Asp Tyr Ile Glu
 130 135 140
 Glu Asp Ser Ser Val Phe Ala Gln Ser Ile Pro Trp Asn Leu Glu Arg
 145 150 155 160
 Ile Thr Pro Ala Arg Tyr Arg Ala Asp Glu Tyr Gln Pro Pro Lys Gly
 165 170 175
 Gly Ser Leu Val Glu Val Tyr Leu Leu Asp Thr Ser Ile Gln Ser Asp
 180 185 190
 His Arg Glu Ile Glu Gly Arg Val Met Val Thr Asp Phe Glu Ser Val
 195 200 205

Pro Glu Glu Asp Gly Thr Arg Phe His Arg Gln Ala Ser Lys Cys Asp
 210 215 220
 Ser His Gly Thr His Leu Ala Gly Val Val Ser Gly Arg Asp Ala Gly
 225 230 235 240
 Val Ala Lys Gly Ala Gly Leu Arg Ser Leu Arg Val Leu Asn Cys Gln
 245 250 255
 Gly Lys Gly Thr Val Ser Gly Thr Leu Ile Gly Leu Glu Phe Ile Arg
 260 265 270
 Lys Ser Gln Leu Val Gln Pro Val Gly Pro Leu Val Val Leu Leu Pro
 275 280 285
 Leu Ala Gly Gly Tyr Ser Arg Val Phe Asn Ala Ala Cys Gln Arg Leu
 290 295 300
 Ala Arg Ala Gly Val Val Leu Val Thr Ala Ala Gly Asn Phe Arg Asp
 305 310 315 320
 Asp Ala Cys Leu Tyr Ser Pro Ala Ser Ala Pro Glu Val Ile Thr Val
 325 330 335
 Gly Ala Thr Asn Ala Gln Asp Gln Pro Val Thr Leu Gly Thr Leu Gly
 340 345 350
 Thr Asn Phe Gly Arg Cys Val Asp Leu Phe Ala Pro Gly Glu Asp Ile
 355 360 365
 Ile Gly Ala Ser Ser Asp Cys Ser Thr Cys Phe Val Ser Arg Ser Gly
 370 375 380
 Thr Ser Gln Ala Ala Ala His Val Ala Gly Ile Ala Ala Met Met Leu
 385 390 395 400
 Ser Ala Glu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Glu Leu Arg Gln Arg Leu Ile
 405 410 415
 His Phe Ser Ala Lys Asp Val Ile Asn Glu Ala Trp Phe Pro Glu Asp
 420 425 430
 Gln Arg Val Leu Thr Pro Asn Leu Val Ala Ala Leu Pro Pro Ser Thr
 435 440 445
 His Arg Ala Gly Trp Gln Leu Phe Cys Arg Thr Val Trp Ser Ala His
 450 455 460
 Ser Gly Pro Thr Arg Met Ala Thr Ala Val Ala Arg Cys Ala Gln Asp
 465 470 475 480
 Glu Glu Leu Leu Ser Cys Ser Ser Phe Ser Arg Ser Gly Lys Arg Arg
 485 490 495
 Gly Glu Arg Ile Glu Ala Gln Gly Gly Lys Arg Val Cys Arg Ala His
 500 505 510
 Asn Ala Phe Gly Gly Glu Gly Val Tyr Ala Ile Ala Arg Cys Cys Leu
 515 520 525

Leu Pro Gln Val Asn Cys Ser Val His Thr Ala Pro Pro Ala Gly Ala
 530 535 540
 Ser Met Gly Thr Arg Val His Cys His Gln Gln Gly His Val Leu Thr
 545 550 555 560
 Gly Cys Ser Ser His Trp Glu Val Glu Asp Leu Gly Thr His Lys Pro
 565 570 575
 Pro Val Leu Arg Pro Arg Gly Gln Pro Asn Gln Cys Val Gly His Arg
 580 585 590
 Glu Ala Ser Ile His Ala Ser Cys Cys His Ala Pro Gly Leu Glu Cys
 595 600 605
 Lys Val Lys Glu His Gly Ile Pro Ala Pro Gln Glu Gln Val Ile Val
 610 615 620
 Ala Cys Glu Asp Gly Trp Thr Leu Thr Gly Cys Ser Pro Leu Pro Gly
 625 630 635 640
 Thr Ser His Val Leu Gly Ala Tyr Ala Val Asp Asn Thr Cys Val Val
 645 650 655
 Arg Ser Arg Asp Val Ser Thr Thr Gly Ser Thr Ser Lys Glu Ala Val
 660 665 670
 Ala Ala Val Ala Ile Cys Cys Arg Ser Arg His Leu Val Gln Ala Ser
 675 680 685
 Gln Glu Leu Gln
 690

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101127108

※申請日：101. 7. 27

※IPC 分類：A61K39/395 (2006.01)
C07K16/40 (2006.01)
A61M5/28 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

含有抗-PCSK9 抗體之穩定化調配物

STABILIZED FORMULATIONS CONTAINING
ANTI-PCSK9 ANTIBODIES

二、中文發明摘要：

本發明提供包含特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素(proprotein convertase subtilisin/kixin type 9, PCSK9)之人類抗體的醫藥調配物。除了抗-PCSK9 抗體以外，該等調配物可含有至少一種胺基酸、至少一種糖或至少一種非離子性界面活性劑。本發明之醫藥調配物在儲存數個月之後展現出充分程度的抗體穩定性。

三、英文發明摘要：

The present invention provides pharmaceutical formulations comprising a human antibody that specifically binds to human proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9). The formulations may contain, in addition to an anti-PCSK9 antibody, at least one amino acid, at least one sugar, or at least one non-ionic surfactant. The pharmaceutical formulations of the present invention exhibit a substantial degree of antibody stability after storage for several months.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 無 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

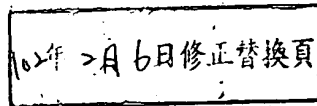
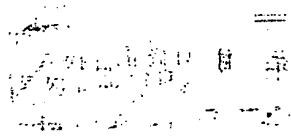
無

102 年 2 月 6 日修正

鹼性及非酸性形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 25°C 下儲存 6 個月後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由離子交換層析所測定。

在一個具體例中，至少 91% 或 92% 的非聚集及非分解形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 45°C 下儲存 28 天後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由尺寸排除層析所測定。在一個具體例中，至少 35% 或 37% 的非鹼性及非酸性形式的抗-PCSK9 抗體是在該液體醫藥調配物於 45°C 下儲存 28 天後由該液體醫藥調配物還原而來，如藉由離子交換層析所測定。

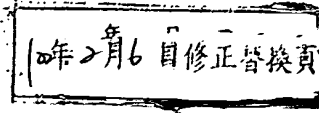
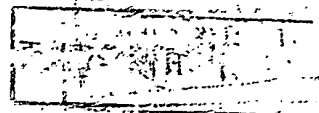
在一個態樣中，提供一種液體醫藥調配物，其包含：
(i) 50 ± 7.5 mg/ml 至 175 ± 26 mg/ml 特異結合至人類 PCSK9 之人類抗體；(ii) 0 mM 至 40 ± 6 mM 組胺酸；(iii) 0% 至 $0.2\% \pm 0.03\%$ (w/v) 聚山梨醇酯 20；(iv) 0% 至 $12\% \pm 1.8\%$ (w/v) 蔗糖；以及 (v) 0 mM 至 50 ± 7.5 mM 精胺酸，pH 為約 5.3 至約 6.7。此態樣的抗-PCSK9 抗體含有一重鏈可變區(HCVR)以及一輕鏈可變區(LCVR)，以使得 HCVR / LCVR 組合含有重鏈與輕鏈互補決定區(HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3)，其分別包含 SEQ ID NO：2 - 3 - 4 / SEQ ID NO：6 - 7 - 8 的胺基酸序列。在一個特定具體例中，該抗-PCSK9 抗體包含一重鏈可變區(HCVR)以及輕鏈可變區(LCVR)，其分別包含 SEQ ID NO：1 與 SEQ ID NO：5 的胺基酸序列(下文“mAb-316P”)。



在此態樣的一個具體例中，該液體調配物包含(i) 50 ± 7.5 mg/mL 的 mAb-316P；(ii) 10 ± 1.5 mM組胺酸；(iii) $0.1\% \pm 0.015\%$ (w/v)聚山梨醇酯 20；及(iv) $6\% \pm 0.9\%$ (w/v)蔗糖，pH 為 6.0 ± 0.3 。在此特定調配物的一個具體例中，黏度為約 1.7 厘泊。在此特定調配物的一個具體例中，滲透性為 220 ± 44 mOsm/kg。

在另一個具體例中，該液體調配物包含(i) 100 ± 20 mg/mL 的 mAb-316P；(ii) 20 ± 4 mM組胺酸；(iii) $0.2\% \pm 0.04\%$ (w/v)聚山梨醇酯 20；及(iv) $12\% \pm 2.4\%$ (w/v)蔗糖，pH 為 6.0 ± 0.3 。在此特定調配物的一個具體例中，黏度為約 3.5 厘泊。在此特定調配物的一個具體例中，滲透性為 440 ± 88 mOsm/kg。

在另一個具體例中，該液體調配物包含(i) 150 ± 22.5 mg/mL 的 mAb-316P；(ii) 10 ± 1.5 mM組胺酸；(iii) $0.2\% \pm 0.03\%$ 或 $0.01\% \pm 0.0015\%$ (w/v)聚山梨醇酯 20；及(iv) $10\% \pm 1.5\%$ (w/v)蔗糖，pH 為 6.0 ± 0.3 。在此特定調配物的一個具體例中，黏度為約 6 厘泊。在此特定調配物的一個具體例中，滲透性為 435 ± 65.25 mOsm/kg。在此特定調配物的一個具體例中，調配物於 45°C 下儲存 28 天後， $\geq 92\%$ 的抗體為天然的且 $\geq 35\%$ 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，調配物於 25°C 下儲存 6 個月後， $\geq 94\%$ 的抗體為天然的且 $\geq 45\%$ 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，調配物於 5°C 下儲存 6 個月後， $\geq 96\%$



的抗體為天然的且 $\geq 58\%$ 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，調配物於 -20°C 下儲存 12 個月後， $\geq 97\%$ 的抗體為天然的且 $\geq 56\%$ 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，調配物於 -30°C 下儲存 12 個月後， $\geq 97\%$ 的抗體為天然的且 $\geq 56\%$ 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，調配物於 -80°C 下儲存 12 個月後， $\geq 97\%$ 的抗體為天然的且 $\geq 56\%$ 的抗體為主要電荷形式。

在此特定調配物的一些具體例中， $\geq 85\%$ 的抗體在 45°C 下儲存 28 天後仍保有其生物效力， $\geq 82\%$ 在 37°C 下 28 天後仍保有其生物效力，及/或 $\geq 98\%$ 在 25°C 下 28 天後仍保有其生物效力。在此特定調配物的一些具體例中， $\geq 85\%$ 的抗體在 -20°C 下 6 個月後仍保有其生物效力， $\geq 70\%$ 在 -30°C 下 6 個月後仍保有其生物效力，及/或 $\geq 79\%$ 在 -80°C 下 6 個月後仍保有其生物效力。在此特定調配物的一些具體例中， $\geq 81\%$ 的抗體在 8 個冷凍-解凍循環後仍保有其生物效力，及/或 $\geq 84\%$ 的抗體在震盪 120 分鐘後仍保有其生物活力。

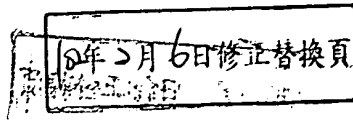
在此態樣的另一具體例中，該液體調配物包含(i) $175 \pm 26.25 \text{ mg/mL}$ 的 mAb-316P；(ii) $10 \pm 1.5 \text{ mM}$ 組胺酸；(iii) $0.01\% \pm 0.0015\%$ (w/v) 聚山梨醇酯 20；(iv) $5\% \pm 0.75\%$ (w/v) 蔗糖；及(v) $50 \pm 7.5 \text{ mM}$ 精胺酸，pH 為 6.0 ± 0.3 。在此特定調配物的一個具體例中，黏度為約 10.6 厘泊。在此特定調配物的一個具體例中，滲透性為

102年2月6日修正
102年2月6日修正
102年2月6日修正

102 年 2 月 6 日修正

330 ± 50 mOsm/kg。在此特定調配物的一個具體例中，該調配物在 45°C 下儲存 28 天後，≥ 91% 的抗體為天然的且 ≥ 38% 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，該調配物在 25°C 下儲存 6 個月後，≥ 94% 的抗體為天然的且 ≥ 47% 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，該調配物在 5°C 下儲存 6 個月後，≥ 96% 的抗體為天然的且 ≥ 59% 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，該調配物在 -20°C 下儲存 3 個月後，≥ 96% 的抗體為天然的且 ≥ 56% 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，該調配物在 -30°C 下儲存 3 個月後，≥ 96% 的抗體為天然的且 ≥ 56% 的抗體為主要電荷形式。在此特定調配物的一個具體例中，該調配物在 -80°C 下儲存 3 個月後，≥ 96% 的抗體為天然的且 ≥ 56% 的抗體為主要電荷形式。

在一個態樣中，在一容器中提供任一前述態樣的液體醫藥調配物。在一個具體例中，該容器為聚碳酸酯小瓶。在另一個具體例中，該容器為玻璃小瓶。在一個具體例中，該玻璃小瓶為第 1 型硼矽酸玻璃小瓶，具有塗覆氟碳化物的丁基橡膠瓶塞。在另一個具體例中，該容器為微浸出器。在另一個具體例中，該容器為注射器。在一個特定具體例中，該注射器含有一個塗覆氟碳化物的塞蓋。在一個特定具體例中，該注射器為 1 mL 長玻璃注射器，含有少於約 500 ppb 鎢的 27G 針頭、塗覆氟碳化物的丁基橡膠瓶塞，以及無乳膠、非細胞毒性橡膠



頂蓋。在一個更特定的具體例中，該注射器為 NUOVA OMPI 1 mL 長玻璃注射器，配有 27-G 薄壁針頭、一塗覆 FLUROTEC 的 4023/50 橡膠瓶塞，以及一 FM 27 橡膠頂蓋。在另一個更特定的具體例中，該注射器為 1 mL 或 3 mL 塑膠注射器，裝有 27-G 針頭。在一個更特定的具體例中，該塑膠注射器是由 BECTON DICKINSON 所分發。

在一個態樣中，提供一種包含下列之醫藥調配物：

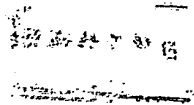
- (a) 175 mg/mL $\pm$ 26.25 mg/mL 的抗-PCSK9 抗體；
- (b) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 組胺酸，pH 6 $\pm$ 0.3；
- (c) 0.01% w/v $\pm$ 0.0015% 聚山梨醇酯 20；
- (d) 5% w/v $\pm$ 0.75% 蔗糖；及
- (e) 50 mM $\pm$ 7.5 mM 精胺酸，其中(a)該抗體包含 SEQ ID NO：1 的 HCVD 以及 SEQ ID NO：5 的 LCVD；

(b)調配物中超過 90%的抗體具有 155 kDa $\pm$ 1 kDa 的分子量；(c)調配物中超過 50%的抗體具有約 8.5 的等電點；及(d)調配物中 75%至 90%的抗體經岩藻糖基化。

在一個具體例中，該醫藥調配物在水中是由下列組成：(a) 175 mg/mL $\pm$ 26.25 mg/mL 的前一段的抗-PCSK9 抗體；(b) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 組胺酸，pH 6 $\pm$ 0.3；(c) 0.01% w/v $\pm$ 0.0015% 聚山梨醇酯 20；(d) 5% w/v $\pm$ 0.75% 蔗糖；及(e) 50 mM $\pm$ 7.5 mM 精胺酸。

在一個態樣中，提供一種包含下列之醫藥調配物：

- (a) 150 mg/mL $\pm$ 22.5 mg/mL 的抗-PCSK9 抗體；
- (b) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 組胺酸，pH 6 $\pm$ 0.3；
- (c) 0.2% w/v $\pm$ 0.03%



102年2月6日修正替換頁

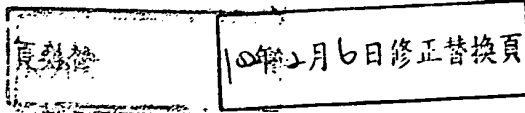
102年2月6日修正

聚山梨醇酯 20；及(d) 10% w/v $\pm$ 1.5%蔗糖，其中(i)該抗體含有 SEQ ID NO：1 的 HCVD 以及 SEQ ID NO：5 的 LCVD；(ii)調配物中超過 90%的抗體具有 155 kDa $\pm$ 1 kDa 的分子量；(iii)調配物中超過 50%的抗體具有約 8.5 的等電點；及(iv)調配物中 75%至 90%的抗體經岩藻糖基化。

在一個具體例中，該醫藥調配物在水中是由下列組成：(a) 150 mg/mL $\pm$ 22.5 mg/mL 的前一段的抗-PCSK9 抗體；(b) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 組胺酸，pH 6 $\pm$ 0.3；(c) 0.2% w/v $\pm$ 0.03%聚山梨醇酯 20；及(d) 10% w/v $\pm$ 1.5%蔗糖。

在一個態樣中，提供一種包含下列之醫藥調配物：(a) 150 mg/mL $\pm$ 22.5 mg/mL 的抗-PCSK9 抗體；(b) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 組胺酸，pH 為 6 $\pm$ 0.3；(c) 0.01% w/v $\pm$ 0.0015%聚山梨醇酯 20；及(d) 10% w/v $\pm$ 1.5%蔗糖，其中(i)該抗體包含 SEQ ID NO：1 的 HCVD 以及 SEQ ID NO：5 的 LCVD；(ii)超過 90%的抗體具有 155 kDa $\pm$ 1 kDa 的分子量；(iii)調配物中超過 50%的抗體具有約 8.5 的等電點；及(iv)調配物中 75%至 90%的抗體經岩藻糖基化。

在一個具體例中，該醫藥調配物在水中是由下列組成：(a) 150 mg/mL $\pm$ 22.5 mg/mL 的前一段的抗-PCSK9 抗體；(b) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 組胺酸，pH 為 6 $\pm$ 0.3；(c) 0.01% w/v $\pm$ 0.0015%聚山梨醇酯 20；及(d) 10% w/v $\pm$ 1.5%蔗糖。



在一個態樣中，提供一種包含下列之醫藥調配物：

(a) 100 mg/mL $\pm$ 15 mg/mL 的抗-PCSK9 抗體；(b) 20 mM $\pm$ 3 mM 組胺酸，pH 為 6 ± 0.3 ；(c) 0.2% w/v $\pm$ 0.03% 聚山梨醇酯 20；及(d) 12% w/v $\pm$ 1.8% 蔗糖，其中(i)該抗體包含 SEQ ID NO：1 的 HCVD 以及 SEQ ID NO：5 的 LCVD；(ii)調配物中超過 90% 的抗體具有 155 kDa $\pm$ 1 kDa 的分子量；(iii)調配物中超過 50% 的抗體具有約 8.5 的等電點；及(iv)調配物中 75% 至 90% 的抗體經岩藻糖基化。

在一個具體例中，該醫藥調配物在水中是由下列組成：(a) 100 mg/mL $\pm$ 15 mg/mL 的前一段的抗-PCSK9 抗體；(b) 20 mM $\pm$ 3 mM 組胺酸，pH 為 6 ± 0.3 ；(c) 0.2% w/v $\pm$ 0.03% 聚山梨醇酯 20；及(d) 12% w/v $\pm$ 1.8% 蔗糖。

在一個態樣中，提供一種包含下列之醫藥調配物：(a) 50 mg/mL $\pm$ 7.5 mg/mL 的抗體；(b) 10 mM $\pm$ 1.5 mM 組胺酸，pH 為 6 ± 0.3 ；(c) 0.1% w/v $\pm$ 0.015% 聚山梨醇酯 20；及(d) 6% w/v $\pm$ 0.9% 蔗糖，其中(i)該抗體含有 SEQ ID NO：1 的 HCVD 以及 SEQ ID NO：5 的 LCVD；(ii)調配物中超過 90% 的抗體具有 155 kDa $\pm$ 1 kDa 的分子量；(iii)調配物中超過 50% 的抗體具有約 8.5 的等電點；及(iv)調配物中 75% 至 90% 的抗體經岩藻糖基化。

在一個具體例中，該醫藥調配物在水中是由下列組成：(a) 50 mg/mL $\pm$ 7.5 mg/mL 的前一段的抗-PCSK9

102 年 2 月 6 日修正替換頁

抗體；(b) $10\text{ mM} \pm 1.5\text{ mM}$ 組胺酸，pH 為 6 ± 0.3 ；(c) $0.1\% \text{ w/v} \pm 0.015\%$ 聚山梨醇酯 20；及(d) $6\% \text{ w/v} \pm 0.9\%$ 蔗糖。

在一個態樣中，提供一種製備冷凍乾燥組成物的方法，該組成物含有抗-PCSK9 抗體以及少於 0.3% 的水。該方法包含下列步驟：(a) 在玻璃小瓶中將水、抗-PCSK9 抗體、組胺酸、蔗糖及聚山梨醇酯 20 組合；(b) 接著將該組合物維持在約 5°C 下約 60 分鐘；(c) 然後以每分鐘約 0.5°C 的速率降低溫度；(d) 接著將該組合維持在約 -45°C 下約 120 分鐘；(e) 接而將大氣壓力降低至約 100 mTorr；(f) 接著以每分鐘約 0.5°C 的速率增加溫度；(g) 接著將該組合物維持在約 -25°C 下約 78 小時；(h) 然後以每分鐘 0.2°C 的速率增加溫度；(i) 接而將該組合物維持在約 35°C 下約 6 小時；(j) 然後以約 0.5°C 的速率降低溫度；(k) 以及然後在儲存之前，將該組合物維持在約 25°C 下約 60 分鐘。

在一個具體例中，該方法進一步包含下列步驟：(l) 將含有步驟(k)之組合物的玻璃小瓶回填氮氣；以及(m) 在約 80% 大氣壓力下封塞該小瓶。在一個具體例中，於步驟(i)、(j)或(k)之後以及在封塞小瓶的步驟之前使該組成物為 $2-8^{\circ}\text{C}$ 。

在一些具體例中，於步驟(a)時，該抗-PCSK9 抗體為 $50\text{ mg/mL} \pm 7.5\text{ mg/mL}$ 、組胺酸為 $10\text{ mM} \pm 1.5\text{ mM}$ (pH 6.0)、聚山梨醇酯 20 為 $0.1\% \pm 0.015\%$ ，以及蔗糖

102年2月6日修正替換頁

為 $6\% \pm 0.9\%$ 。在一個具體例中，該抗-PCSK9 抗體包含 SEQ ID NO:2 之 HCDR1、SEQ ID NO:3 之 HCDR2、SEQ ID NO:4 之 HCDR3、SEQ ID NO:6 之 LCDR1、SEQ ID NO:7 之 LCDR2，以及 SEQ ID NO:8 之 LCDR3 mAb-316P。在一個具體例中，該抗-PCSK9 抗體包含 SEQ ID NO:1 之 HCVD 與 SEQ ID NO:5 之 LCVD。在一個具體例中，(i)該抗體包含 SEQ ID NO:1 之 HCVD 以及 SEQ ID NO:5 之 LCVD，(ii)組合中超過 90%的抗體具有 $155 \text{ kDa} \pm 1 \text{ kDa}$ 的分子量，(iii)組合中超過 50%的抗體具有約 8.5 的等電點，及(iv)組合中 75%至 90%的抗體經岩藻糖基化。

在一個態樣中，提供一種冷凍乾燥醫藥組成物，其包含抗-PCSK9 抗體以及少於 0.3%的水，其是依據前一個態樣的方法所製造。

在一個態樣中，提供一種醫藥組成物，其包含再懸浮於水中之前一態樣之冷凍乾燥醫藥組成物。在一個具體例中，該醫藥組成物在水中由 $50 \text{ mg/mL} \pm 7.5 \text{ mg/mL}$ 的抗-PCSK9 抗體、 $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 組胺酸(pH 6.0)、 $0.1\% \pm 0.015\%$ 聚山梨醇酯 20，以及 $6\% \pm 0.9\%$ 蔗糖所組成。在一個具體例中，該醫藥組成物在水中由 $100 \text{ mg/mL} \pm 15 \text{ mg/mL}$ 抗-PCSK9 抗體、 $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ 組胺酸(pH 6.0)、 $0.2\% \pm 0.03\%$ 聚山梨醇酯 20，以及 $12\% \pm 1.8\%$ 蔗糖所組成。在另一個具體例中，該醫藥組成物在水中由 $150 \text{ mg/mL} \pm 22.5 \text{ mg/mL}$ 抗-PCSK9 抗體、 30 mM

± 4.5 mM 組胺酸(pH 6.0)、 $0.3\% \pm 0.045\%$ 聚山梨醇酯 20，以及 $18\% \pm 2.7\%$ 蔗糖所組成。在另一個具體例中，該醫藥組成物在水中由 175 mg/mL ± 26.25 mg/mL 抗-PCSK9 抗體、 35 mM ± 5.25 mM 組胺酸(pH 6.0)、 $0.35\% \pm 0.0525\%$ 聚山梨醇酯 20，以及 $21\% \pm 3.15\%$ 蔗糖所組成。

在一些具體例中，該抗-PCSK9 抗體包含(a) SEQ ID NO: 1 之 HCVD 以及 SEQ ID NO: 5 之 LCVD，且(b)組成物中超過 90%的抗體具有 155 kDa ± 1 kDa 的分子量，(c)組成物中超過 50%的抗體具有約 8.5 的等電點，及(d)組成物中 75%至 90%的抗體經岩藻糖基化。

在一個態樣中，提供一種前述態樣中任一者的醫藥組成物，其中該組成物容納在一容器內。在一個具體例中，該容器為小瓶，其在一些具體例中為玻璃小瓶。在另一個具體例中，該容器為注射器。在一些具體例中，該注射器為低鎢玻璃注射器。在一個具體例中，該注射器為 NUOVA OMPI 1 mL 長玻璃注射器，配備有 27-G 薄壁針頭、塗覆 FLUROTEC 的 4023/50 橡膠瓶塞，以及 FM 27 橡膠頂蓋。

在一個態樣中，提供一種套組，其包含前述態樣中任一者之醫藥組成物、容器以及使用說明。在一個具體例中，該容器為預充填注射器。在一個特定具體例中，該注射器為 NUOVA OMPI 1 mL 長玻璃注射器，配備有 27-G 薄壁針頭、塗覆 FLUROTEC 的 4023/50 橡膠瓶塞，

108年2月6日修正替換頁

含有抗體及緩衝劑的溶液在 37°C 下維持多達約 28 天時，至少 $46\% \pm 0.5\%$ 或至少 $39 \pm 0.5\%$ 抗體呈其主要電荷形式，如同藉由陽離子交換層析所測定。"主要電荷"或"主要電荷形式"表示抗體在主峰中從離子交換樹脂洗提出來的溶離份，其通常一側為更"鹼性"峰而另一側為更"酸性"峰。

本發明醫藥調配物可具有約 5.2 至約 6.4 的 pH。例如，本發明調配物具有約 5.5、約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9、約 6.0、約 6.1、約 6.2、約 6.3、約 6.4 或約 6.5 的 pH。在一些具體例中，pH 為 6.0 ± 0.4 、 6.0 ± 0.3 、 6.0 ± 0.2 、 6.0 ± 0.1 、約 6.0 或 6.0。

在一些具體例中，該緩衝劑或緩衝系統包含至少一種具有完全含括 pH 5.5 - 7.4 或 pH 5.5 - 7.4 之一部分的緩衝範圍。在一個具體例中，緩衝劑具有約 6.0 ± 0.5 的 pKa。在某些具體例中，緩衝劑具有組胺酸緩衝劑。在某些具體例中，組胺酸以 $5 \text{ mM} \pm 0.75 \text{ mM}$ 至 $15 \text{ mM} \pm 2.25 \text{ mM}$ 、 $6 \text{ mM} \pm 0.9 \text{ mM}$ 至 $14 \text{ mM} \pm 2.1 \text{ mM}$ 、 $7 \text{ mM} \pm 1.05 \text{ mM}$ 至 $13 \text{ mM} \pm 1.95 \text{ mM}$ 、 $8 \text{ mM} \pm 1.2 \text{ mM}$ 至 $12 \text{ mM} \pm 1.8 \text{ mM}$ 、 $9 \text{ mM} \pm 1.35 \text{ mM}$ 至 $11 \text{ mM} \pm 1.65 \text{ mM}$ 、 $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ ，或約 10 mM 的濃度存在。在某些具體例中，緩衝系統包含 $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 、pH 為 6.0 ± 0.3 的組胺酸。

本發明醫藥調配物亦可包含一或多種賦形劑，其用於維持含有高濃度抗-PCSK9 抗體藥物(例如，一般 > 150

mg/ml 抗體)之調配物的低黏度或降低該調配物的黏度。在一些具體例中，該調配物含有量足以將液體調配物黏度維持在少於 20 ± 3 厘泊、少於 15 ± 2.25 厘泊，或少於 11 ± 1.65 厘泊的精胺酸。在一些具體例中，調配物含量足以將黏度維持在或低於 10.6 ± 1.59 厘泊的精胺酸。在某些具體例中，本發明醫藥調配物含有精胺酸，較佳為 L-精胺酸鹽酸鹽，濃度為 $10 \text{ mM} \pm 1.5 \text{ mM}$ 至 $90 \text{ mM} \pm 13.5 \text{ mM}$ 、 $20 \text{ mM} \pm 3 \text{ mM}$ 至 $80 \text{ mM} \pm 12 \text{ mM}$ 、 $30 \text{ mM} \pm 4.5 \text{ mM}$ 至 $70 \text{ mM} \pm 10.5$ 、 $40 \text{ mM} \pm 6 \text{ mM}$ 至 $60 \pm 9 \text{ mM}$ 或 $50 \text{ mM} \pm 7.5 \text{ mM}$ 。

例示性調配物

依據本發明的一個態樣，醫藥調配物為低黏度，大體上生理等張的液體調配物，其包含：(i)特異結合至人類 PCSK9 (例如 mAb-316P)的人類抗體，濃度為 $50 \text{ mg/mL} \pm 7.5 \text{ mg/mL}$ 、 $100 \text{ mg/mL} \pm 15 \text{ mg/mL}$ 、 $150 \text{ mg/mL} \pm 22.5 \text{ mg/mL}$ ，或 $175 \text{ mg/mL} \pm 26.25 \text{ mg/mL}$ ；(ii)緩衝系統，在 $\text{pH } 6.0 \pm 0.3$ 下提供充分緩衝；(iii)糖，尤其做為熱穩定劑；(iv)有機共溶劑，其保護抗體之結構完整性；及(v)胺基酸之鹽類，其作為將黏度維持可操控用於以皮下投藥所習知之體積注射。

依據一個具體例，該醫藥組成物包含：(i)人類 IgG1 抗體，特異結合至人類 PCSK9，且其包含經取代 IGHV3-23 型重鏈可變區及經取代 IGLV4-1 型輕鏈可變區(例如，mAb-316P)，濃度為 $50 \pm 7.5 \text{ mg/mL}$ 至約 175

102 年 2 月 6 日修正替換頁

與海藻糖的調配物具有最低量的 mAb-316P 分解，如藉由 SE 分析所測得。但是，那些含有山梨醇的調配物顯示相較於含有蔗糖、海藻糖與甘露糖之調配物對於混濁度有令人驚訝的增高。而蔗糖、海藻糖與甘露醇觀察到對於抗-PCSK9 mAb-316P 的電荷變體形成沒有影響，觀察到山梨醇在多次冷凍-解凍循環期間使蛋白質不穩定。因此，當與蔗糖或海藻糖一起調配時，mAb-316P 具有類似的穩定性。

實例 5：凍乾調配物

發展凍乾調配物以增加抗-PCSK9 mAb-316P 的穩定性，特別是關於電荷變體，以及增加 mAb-316P 的最大可遞送濃度。將各種冷凍保護劑與 0.7 mL 的 50 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸(於 2 mL 容量具有塗覆 FluroTec®之 4432/50 丁基橡膠瓶蓋之第 1 型硼矽酸玻璃小瓶中)混合、凍乾，並當於 50°C 下培育時檢驗其穩定凍乾 mAb-316P 的能力。在分析之前，將凍乾餅還原成 100 mg/mL mAb-316P。如 SE 與 CEX 所測定，具有最大穩定性的兩種凍乾調配物包含 1) 6%蔗糖或 2) 2%蔗糖加 2%精胺酸。針對 mAb-316P 藥品調配物選定 6%蔗糖。因此，藉由在最佳化、水性緩衝調配物(含有 10 mM 組胺酸、pH 6.0 ± 0.1、0.1% (w/v)聚山梨醇酯 20、6% (w/v)蔗糖與 50 mg/mL 抗-PCSK9 mAb-316P)中凍乾而製得抗-PCSK9 mAb-316P 凍乾藥品。此凍乾調配物的儲存與壓力穩定性呈現於表 7 中。

102年2月6日修正替換頁

102年2月6日修正

根據測量調配物的 T_g' (冷凍玻璃轉移溫度) 來發展抗-PCSK9 mAb-316P 凍乾循環，其是使用低於環境調節示差掃描測熱法(mDSC)來測量。在第一次乾燥期間，產物溫度不可超過 T_g' ，其被測定為 -27.9°C 。

經凍乾 mAb-316P 是藉由將 5.3 mL 的 50 mg/mL mAb-316P、10 mM 組胺酸(pH 6.0)、0.1%聚山梨醇酯 20、6%蔗糖填充到 20 mL 第 1 型玻璃小瓶並且依據下列步驟凍乾而製得：

1. 裝料期間所需的儲存溫度： $5-25^{\circ}\text{C}$
2. 起始維持在： 5°C 下 60 分鐘
3. 冷凍的斜率(時間)： $0.5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ (100 分)
4. 維持在： -45°C 下 120 分鐘
5. 真空測定點： 100 mTorr
6. 加熱至第 1 次乾燥的斜率(時間)： $0.5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ (40 分)
7. 第 1 次乾燥的儲存時間： -25°C
8. 第 1 次乾燥的長度： 78 小時
9. 加熱至第 2 次乾燥的斜率(時間)： $0.2^{\circ}\text{C}/\text{分}$ (300 分)
10. 第 2 次乾燥的儲存溫度： 35°C
11. 第 2 次乾燥的長度： 6 小時
12. 冷卻的斜率(時間)： $0.5^{\circ}\text{C}/\text{分}$ (20 分)

105 年 11 月 30 日修正本

七、申請專利範圍：

1. 一種液態醫藥調配物，其包含：

- (a) 50 ± 7.5 mg/mL 至 250 ± 37.5 mg/mL 特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素(人類 PCSK9)之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含 SEQ ID NO：2 之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO：3 之 HCDR2、SEQ ID NO：4 之 HCDR3、SEQ ID NO：6 之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO：7 之 LCDR2，以及 SEQ ID NO：8 之 LCDR3；
- (b) 5 ± 0.75 mM 至 50 ± 7.5 mM 組胺酸，pH 為 6.0 ± 0.3 ；
- (c) $0.01 \pm 0.0015\%$ w/v 聚山梨醇酯 20；以及
- (d) $10 \pm 1.5\%$ w/v 蔗糖。

2. 如申請專利範圍第 1 項之液態醫藥調配物，其中組胺酸濃度選自下列組成之群組：

- (i) 5 ± 0.75 mM 至 15 ± 2.25 mM；
- (ii) 6 ± 0.9 mM 至 14 ± 2.1 mM；
- (iii) 7 ± 1.05 mM 至 13 ± 1.95 mM；
- (iv) 8 ± 1.2 mM 至 12 ± 1.8 mM；
- (v) 9 ± 1.35 mM 至 11 ± 1.65 mM；及
- (vi) 10 ± 1.5 mM。

3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之液態醫藥調配物，其中該抗體包含 SEQ ID NO：1 之重鏈可變區(HCVD)與 SEQ ID NO：5 之輕鏈可變區(LCVD)。

4. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之液態醫藥調配

- 物，其中調配物包含 175 mg/mL 抗體或其抗原結合片段。
5. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之液態醫藥調配物，其中調配物包含 150 mg/mL 抗體或其抗原結合片段。
 6. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之液態醫藥調配物，其中調配物包含 100 mg/mL 抗體或其抗原結合片段。
 7. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之液態醫藥調配物，其中調配物包含 75 mg/mL 抗體或其抗原結合片段。
 8. 如申請專利範圍第 1 至 3 項中任一項之液態醫藥調配物，其中調配物包含 50 mg/mL 抗體或其抗原結合片段。
 9. 一種液態醫藥調配物，其包含：
 - (a) 75 mg/mL 特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素(人類 PCSK9)之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含 SEQ ID NO：2 之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO：3 之 HCDR2、SEQ ID NO：4 之 HCDR3、SEQ ID NO：6 之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO：7 之 LCDR2，以及 SEQ ID NO：8 之 LCDR3；
 - (b) 8 ± 1.2 mM 組胺酸，pH 6.0 ± 0.3 ；
 - (c) $0.01 \pm 0.0015\%$ w/v 聚山梨醇酯 20；及
 - (d) $10 \pm 1.5\%$ w/v 蔗糖。
 10. 如申請專利範圍第 9 項之液態醫藥調配物，其中該抗體包含 SEQ ID NO：1 之重鏈可變區(HCVD)與 SEQ ID

NO：5 之輕鏈可變區 (LCVD)。

11. 一種液態醫藥調配物，其包含(a) 150 mg/mL 特異結合至人類第 9 型前蛋白轉化酶枯草溶菌素(人類 PCSK9)之抗體或其抗原結合片段，其中該抗體包含 SEQ ID NO：2 之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO：3 之 HCDR2、SEQ ID NO：4 之 HCDR3、SEQ ID NO：6 之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO：7 之 LCDR2，以及 SEQ ID NO：8 之 LCDR3；
(b) 6 ± 0.9 mM 組胺酸，pH 6 ± 0.3 ；
(c) $0.01 \pm 0.015\%$ w/v 聚山梨醇酯 20；及
(d) $10\text{w/v} \pm 1.5\%$ 蔗糖。
12. 如申請專利範圍第 11 項之液態醫藥調配物，其中該抗體包含 SEQ ID NO：1 之重鏈可變區(HCVD)與 SEQ ID NO：5 之輕鏈可變區 (LCVD)。