

中图分类号: R979.1; R943 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)01-0062-06
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.01.011



PM01 单抗制剂处方研究*

杨天一, 秦梦贝, 陈小春, 唐浩[△]

(江苏太平洋美诺克生物药业股份有限公司, 江苏 常州 213000)

摘要:目的 对靶向生物大分子药物 PM01 单抗进行处方研究。方法 对多种缓冲液、pH、蛋白保护剂、表面活性剂等进行筛选, 采用差示扫描量热法检测蛋白熔解温度, 采用体积排阻色谱法检测蛋白纯度, 采用毛细管电泳-十二烷基硫酸钠法检测聚合物含量, 确定适用于 PM01 单抗的制剂处方, 并进行 36 个月的验证试验, 考察蛋白的稳定性。结果 优选制剂处方组成为质量浓度为 20 mg/mL 的 PM01 单抗, 缓冲液为 25 mmol/L 琥珀酸, pH 为 5.5, 蛋白保护剂为质量浓度为 75 mg/mL 的海藻糖, 表面活性剂为质量浓度为 0.40 mg/mL 的聚山梨酯 20。按此处方制备 PM01 单抗制剂, 放置 36 个月后的外观、pH、蛋白质含量、蛋白纯度、聚合物含量均符合规定。结论 该制剂处方对 PM01 单抗有较好的保护作用, 可保证 PM01 单抗长期储存的稳定性, 为 PM01 单抗的临床应用提供了基础。

关键词: PM01 单抗; 制剂处方; 海藻糖; 琥珀酸; 聚山梨酯 20; 靶向生物大分子

Formulation Research of PM01 Monoclonal Antibody Preparation

YANG Tianyi, QIN Mengbei, CHEN Xiaochun, TANG Hao[△]

(Jiangsu Pacific Meinuoke Bio - Pharmaceutical Co., Ltd., Changzhou, Jiangsu 213000, China)

Abstract: Objective To study the formulation of the targeted biomacromolecule drug PM01 monoclonal antibody. **Methods** A screen was conducted on the multiple buffer systems, pH, protein stabilizer, surfactants and so on. The differential scanning calorimetry was used to detect protein melting temperature, the volume exclusion chromatography method was used to detect protein purity, the capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate method was used to detect polymer content, in order to determine the formulation suitable for PM01 monoclonal antibody. A 36-month validation test was conducted to investigate the stability of the protein. **Results** The optimal formulation was as follows: 20 mg/mL PM01 monoclonal antibody, buffer solution of 25 mmol/L succinic acid, pH of 5.5, protein protectant of 75 mg/mL trehalose, and surfactant of 0.40 mg/mL polysorbate 20. The appearance, pH, protein content, protein purity, and polymer content of PM01 monoclonal antibody preparation prepared according to the above formulation after 36 months of storage all complied with the regulations. **Conclusion** The formulation of this preparation has a good protective effect on PM01 monoclonal antibody, which can ensure the stability of long-term storage of PM01 monoclonal antibody, and provide a basis for the clinical application of PM01 monoclonal antibody.

Key words: PM01 monoclonal antibody; formulation prescription; trehalose; succinic acid; polysorbate 20; targeting biomolecules

CD147 是一类与肿瘤相关的跨膜糖蛋白, 属免疫球蛋白超家族成员^[1], 能诱导肿瘤周围成纤维细胞产生基质金属蛋白酶 (MMP), 从而促进肿瘤细胞的浸润与转移^[2], 与非小细胞肺癌 (NSCLC)、肝癌等的发生、发展密切相关^[2-4]。PM01 单抗是一种人源化免疫球蛋白 G₁ (IgG₁) 单克隆抗体, 其利用生物信息学、DNA 重组技术等手段, 从表达抗 CD147 抗体的杂交瘤细胞株中扩增出抗体的轻、重链可变区基因, 并利用生物信息学方法和 DNA 重组技术将抗体轻、重链可变区中 FR 序列置换为人源性 FR 序列, 并将其分别插入含人 IgG₁ 抗体恒定区基因的表达载体中, 转染相应宿主细胞表达产生的单克隆抗体。PM01 单抗可特异性结合肺癌等上皮源性肿瘤组织细胞表面高表达的 CD147 分子, 阻断该分子介导的生物学效应, 从而抑制肿瘤细胞的生长、侵袭、

转移^[5-6]。临床开发的 PM01 单抗药物适应证为治疗 NSCLC。PM01 单抗是通过基因工程手段, 在 CHO 工程细胞株中表达, 且通过单抗纯化工艺平台的层析步骤纯化获得的单抗原液, 制剂规格为每支 5 mL: 100 mg。由于抗体分子具有复杂的蛋白质多级结构, 易受溶液内部条件、外界环境、包装材料、生产加工过程等因素的影响^[7-8], 易形成聚合物, 从而可能导致不期望的免疫反应^[9], 或可能在使用期间堵塞注射器/泵而对患者不安全^[10]。因此, 开发一种稳定的 PM01 单抗制剂尤为重要。蛋白熔解温度 (T_m) 是表征制剂稳定性的重要指标, 其值越高, 蛋白变性所需温度越高, 则蛋白结构越稳定^[11]。目前, 检测 T_m 的先驱和金标准为差示扫描量热 (DSC) 法。该方法较灵敏, 且不受样品光学特性的影响^[12]。DSC 法从热力学角度, 以抗体分子在变性过程中

* 基金项目: 国家科技重大专项子课题 [2014ZX09508001004]。

第一作者: 杨天一, 男, 博士研究生, 主管药师, 研究方向为蛋白药物上下游的技术研发, (电子信箱) yangtianyi@pmbp.cn。

[△] 通信作者: 唐浩, 男, 博士研究生, 主管药师, 研究方向为蛋白药物上下游的技术研发, (电子信箱) tanghao@pmbp.cn。

的吸热或放热反应为原理和依据来确定 T_m ^[12-13]。其基本原理为蛋白质的去折叠需吸收热量, DSC 线性升温, 并测量蛋白溶液与空白溶液热容上升的差值, 以此预测蛋白在不同溶液状态下的稳定性^[14]。本研究中采用 DSC 法检测了 PM01 单抗的稳定性。现报道如下。

1 仪器与试剂

仪器: MicroCal VP-Capillary DSC Auto 型 DSC 仪(英国 Malvern 公司); Evolution 60 型紫外分光光度仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); e2695 型高效液相色谱(HPLC)仪(美国 Waters 公司); PA800 Plus 型毛细管电泳(CE)仪(美国 Beckman 公司); ELIX5 型超纯水仪(美国 Millipore 公司); SHH-SSD-2ST 型综合药品稳定性试验箱(重庆康诚永生试验设备有限公司); BD/BC-380 型冷冻冷藏箱(香雪海电器集团有限公司); HYC-940 型医用药品保存箱(海尔集团公司); S220 型 pH 计, PL203 电子天平(精度为 1 mg), 均购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

试剂: PM01 单抗(江苏太平洋美诺克生物药业股份有限公司, 批号为 20160704, 含量为 99.48%); 组氨酸(批号为 F056200801), 盐酸组氨酸(批号为 F053191101), 均为原料药, 购自上海协和氨基酸有限公司; 琥珀酸(药用辅料, 德国 Merck KGaA 公司, 批号为 F041151001); 氢氧化钠(药用辅料, 四川金山制药有限公司, 批号为 Y039180401); 柠檬酸(批号为 F007190801), 柠檬酸三钠(批号为 F008190501), 均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; 醋酸(批号为 Y036201001), 醋酸钠(批号为 Y037201001), 均为药用辅料, 购自南京化学试剂股份有限公司; 蔗糖(药用辅料, 嘉兴市白浪淀粉制品有限公司, 批号为 F025200503); 海藻糖(药用辅料, 美国 Pfanstiehl 公司, 批号为 F049190101); 聚山梨酯 20(批号为 F044220401), 聚山梨酯 80(批号为 F048200401), 均为药用辅料, 购自南京威尔药业集团股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 检测方法

DSC 分析: 温度扫描范围为 20~100 °C; 扫描速率为 90 °C/h; 反馈模式为 None; 数据采集频率为 10 s。 T_{m1} , T_{m2} , T_{m3} 分别代表单抗—CH₂, Fab, —CH₃ 区域的变性温度。

体积排阻色谱(SEC-HPLC)法纯度分析: 采用凝胶色谱柱的分子筛机制, 根据相对分子质量分离样品, 按 2020 年版《中国药典(三部)》通则 0514 SEC-HPLC 法^{[15]66-67}, 采用适合分离相对分子质量为 10 000~500 000 蛋白质的凝胶色谱柱。流动相为含 1% 异丙醇的 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液, 检测波长为 280 nm。用流

动相将供试品稀释至每 1 mL 约含 2 mg 单抗, 作为供试品溶液, 取 20 μ L 注入 HPLC 仪, 按面积归一法计算单体峰面积相对于总峰面积的百分含量。

CE-十二烷基硫酸钠(CE-SDS)法纯度分析: 在非还原条件下, 依据相对分子质量分离样品, 按 2020 年版《中国药典(三部)》通则 3127 单抗分子大小变异体测定法^{[15]296-297}, 定量测定 PM01 单抗的纯度。用超纯水将 100 μ g 供试品稀释至 30 μ L, 再加 65 μ L SDS 样品缓冲液, 2 μ L 相对分子质量为 10 000 的内参标准品, 5 μ L 250 mmol/L 碘乙酰胺, 混匀, 离心(离心力为 6 000 g) 1 min, 70 °C 水浴 3 min, 取出, 冷却至室温, 离心(离心力为 12 000 g) 2 min, 除去气泡, 即得供试品溶液。采用 CE 仪进样及电泳分离, 分离时间设为 35 min, 按面积归一法对 CE 图谱进行积分分析。

2.2 制剂处方研究

pH 筛选: 将 PM01 单抗原液经换液至 pH 为 3.5~9.0 的组氨酸缓冲液(25 mmol/L)中, 将抗体质量浓度调节至 1.5 mg/mL, 采用 DSC 仪分别测量抗体的 T_m 。结果见表 1。可见, pH < 5.0 或 pH > 8.0 时, 部分样品未显示出 3 个 T_m , 表明在这些 pH 条件下部分抗体结构域可能已发生改变或被破坏, 不利于抗体的稳定性。pH 为 5.0~8.0 时, PM01 单抗均显示 3 个 T_m , 表明 PM01 单抗在 pH 5.0~8.0 时相对稳定。在 pH 5.0~8.0 的范围内, PM01 单抗在 pH 5.0~6.0 时的 T_m 均高于 pH 6.0~8.0 下的 T_m , 表明 pH 5.0~6.0 更有利于 PM01 单抗的稳定性。故 pH 范围选择 5.0~6.0。

表 1 PM01 单抗在不同 pH 下的 DSC 扫描蛋白溶解温度 (T_m , °C)
Tab. 1 DSC scanning protein melting temperature (T_m) of PM01 monoclonal antibody at different pH values (°C)

试验分组	pH	T_{m1}	T_{m2}	T_{m3}
A1	3.5	35.4	62.4	-
A2	4.0	47.2	67.5	-
A3	4.5	52.6	72.8	-
A4	5.0	64.7	75.1	81.4
A5	5.5	65.1	75.2	82.7
A6	6.0	66.2	75.6	82.4
A7	6.5	64.2	71.3	82.1
A8	7.0	58.1	70.4	81.3
A9	7.5	55.3	69.7	81.3
A10	8.0	52.7	68.3	81.1
A11	8.5	-	72.1	-
A12	9.0	-	74.5	-

注: - 为无数据。

Note: - refers to no data available.

缓冲液筛选:将PM01单抗原液换液至pH为5.0~6.0的4种缓冲液(见表2)中,将抗体质量浓度调至1.5 mg/mL,采用DSC仪分别测量抗体的 T_m ,并对pH为5.5的药物制剂进行加速 $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ 热稳定性试验,采用CE-SDS法检测蛋白纯度。结果在pH 5.0~6.0条件下,PM01单抗在25 mmol/L琥珀酸缓冲液中的 T_m 最高,PM01单抗在25 mmol/L琥珀酸缓冲液中的热力学稳定性较其他3种缓冲液更好。详见表3。加速热稳定性CE-SDS纯度测试结果显示,包含4种缓冲液的制剂在测试条件下的蛋白纯度在4周内均下降,其中含25 mmol/L琥珀酸缓冲液的制剂在第4周的蛋白纯度下降最小,25 mmol/L组氨酸次之。故PM01单抗的缓冲液选择琥珀酸和组氨酸。详见表4。

表2 PM01单抗缓冲液分组

Tab. 2 Grouping of PM01 monoclonal antibody buffer liquid systems

试验分组	缓冲液	pH
B1-B3	25 mmol/L琥珀酸	5.0/5.5/6.0
B4-B6	25 mmol/L组氨酸	5.0/5.5/6.0
B7-B9	25 mmol/L柠檬酸	5.0/5.5/6.0
B10-B12	25 mmol/L醋酸	5.0/5.5/6.0

表3 PM01单抗在不同缓冲液中的DSC扫描 T_m ($^\circ\text{C}$)

Tab. 3 DSC scanning T_m of PM01 monoclonal antibody in different buffer liquid systems ($^\circ\text{C}$)

试验分组	T_{m1}	T_{m2}	T_{m3}	试验分组	T_{m1}	T_{m2}	T_{m3}
B1	65.1	76.2	82.8	B7	64.7	74.5	81.0
B2	65.5	76.9	83.1	B8	64.8	74.7	82.1
B3	67.3	77.1	82.9	B9	65.9	75.1	82.2
B4	64.6	74.7	81.1	B10	64.3	74.3	81.4
B5	64.9	74.9	82.3	B11	64.6	74.5	82.2
B6	66.1	75.3	82.1	B12	65.9	75.1	82.1

表4 PM01单抗在不同缓冲液中的加速热稳定性试验蛋白纯度(%)

Tab. 4 Protein purity of PM01 monoclonal antibody in different buffer liquid systems by the accelerated thermal stability test (%)

取样点	B2	B5	B8	B11
第0周	96.3	96.1	96.2	96.3
第1周	96.2	96.1	95.9	95.6
第2周	96.1	95.7	95.6	95.0
第3周	95.9	95.3	95.4	93.7
第4周	95.5	94.7	94.0	92.1

缓冲液浓度筛选:将PM01单抗原液换液至浓度分别为10,25,50 mmol/L琥珀酸和组氨酸的缓冲液中,溶液初始pH为5.5~5.6,调节抗体质量浓度为20 mg/mL,并进行加速 $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ 热稳定性试验,以考察制剂pH的变化。每组缓冲液平行测试3次,取平均值。结果浓度为25 mmol/L的琥珀酸缓冲液或组氨酸缓冲液可使制剂的pH更稳定,制剂的pH在4周内的变化分别为0和

表5 PM01单抗在不同浓度缓冲液中的pH变化

Tab. 5 Changes in pH of PM01 monoclonal antibody in different concentrations of buffer liquid systems

试验分组	缓冲液	pH					pH变化值
		第0周	第1周	第2周	第3周	第4周	
C1	10 mmol/L琥珀酸	5.6	5.6	5.5	5.4	5.4	0.2
C2	25 mmol/L琥珀酸	5.6	5.6	5.6	5.6	5.6	0
C3	50 mmol/L琥珀酸	5.5	5.5	5.3	5.2	5.2	0.3
C4	10 mmol/L组氨酸	5.5	5.5	5.5	5.3	5.2	0.3
C5	25 mmol/L组氨酸	5.5	5.5	5.5	5.4	5.4	0.1
C6	50 mmol/L组氨酸	5.5	5.5	5.3	5.3	5.2	0.3

0.1。因此,琥珀酸和组氨酸的浓度选择25 mmol/L。详见表5。

蛋白保护剂筛选:缓冲液采用浓度为25 mmol/L的琥珀酸和组氨酸,选择3种浓度和2种类型的蛋白保护剂,配制pH为5.5的含质量浓度为1.5 mg/mL的PM01单抗和不同缓冲液的制剂,采用DSC仪测量抗体的 T_m 。试验分组见表6,结果见表7。其中, T_m 提高值指对于包含1种缓冲液和1种蛋白保护剂的制剂,对应于PM01单抗的某一结构域的 T_m 的最大值与不添加蛋白保护剂的空白组的相应 T_m 之差。可见,在包含蔗糖和海藻糖的药物制剂中,PM01单抗的 T_{m1} , T_{m2} , T_{m3} 均增加,表明蔗糖和海藻糖均有提高PM01单抗的热力学稳定性的作用;相比之下,在包含山梨醇的药物制剂中,PM01单抗的 T_m 增加不明显,表明其提高PM01单抗的热力学稳定性的作用有限。另外,相比于使用25 mmol/L组氨酸,使用25 mmol/L琥珀酸的PM01单抗显示出相对更高的 T_m ,这与缓冲液筛选结果一致。故PM01单抗的缓冲液选择25 mmol/L琥珀酸。对于缓冲液包含琥珀酸的制剂,相比于使用蔗糖作为蛋白保护剂,使用海藻糖作为蛋白保护剂可使PM01单抗显示出相对更高的 T_m ,表明海藻糖是更优选的蛋白保护剂。同时考虑该抗体制剂为液体制剂,为保持与人体等渗的渗透压,优选海藻糖的质量浓度为75 mg/mL。

表面活性剂筛选:在制剂中所含PM01单抗的质量浓度为20 mg/mL,使用25 mmol/L琥珀酸和75 mg/mL海藻糖的情况下,筛选不同质量浓度的表面活性剂,并配制其他组分相同、不含表面活性剂的对照制剂(试验组号F7),试验分组见表8。使用上述制剂进行振荡稳定性试验和冻融稳定性试验,并采用SEC-HPLC法检测候选制剂中的聚合物含量。振荡稳定性试验结果显示,试验组F1-F6的聚合物含量增加明显小于不含表面活性剂的对照组F7,表明聚山梨酯80和聚山梨酯20均有减缓抗体聚合物增加的作用;其中,含聚山梨酯20的试验组F4的聚合物含量增加最小(0.06%)。详见表9。冻融稳定性试验结果显示,试验组F1-F6在冻融后的聚

表6 不同蛋白保护剂筛选的试验分组

Tab. 6 Experimental grouping for screening different protein protectants

试验分组	缓冲液	pH	蛋白保护剂	蛋白保护剂质量浓度(mg/mL)
D1	25 mmol/L	5.5	无	
D2-D4	琥珀酸		海藻糖	42/75/160
D5-D7			蔗糖	42/75/160
D8-D10			山梨醇	42/75/160
E1	25 mmol/L	5.5	无	
E2-E4	组氨酸		海藻糖	42/75/160
E5-E7			蔗糖	42/75/160
E8-E10			山梨醇	42/75/160

表7 不同蛋白保护剂筛选的DSC扫描 T_m ($^{\circ}\text{C}$)

Tab. 7 DSC scanning T_m of screening different protein protectants ($^{\circ}\text{C}$)

试验分组	T_{m1}	T_{m2}	T_{m3}	试验分组	T_{m1}	T_{m2}	T_{m3}
D1	65.5	76.9	83.1	E1	64.3	74.9	82.3
D2	67.2	77.4	83.9	E2	66.8	75.7	83.5
D3	68.1	78.1	84.1	E3	67.2	76.2	83.7
D4	68.7	78.4	84.3	E4	67.7	76.9	83.4
T_m 提高值	3.2	1.5	1.2	T_m 提高值	3.4	2.0	1.4
D5	67.0	76.7	83.6	E5	66.7	75.3	83.7
D6	67.8	77.4	83.7	E6	67.1	75.9	83.7
D7	68.1	78.1	83.3	E7	67.5	76.4	83.6
T_m 提高值	2.6	1.2	0.6	T_m 提高值	3.2	1.5	1.4
D8	65.3	75.6	83.1	E8	64.5	74.6	82.7
D9	65.5	76.1	83.3	E9	64.9	74.8	82.1
D10	65.9	77.1	83.3	E10	65.1	74.9	82.3
T_m 提高值	0.4	0.2	0.2	T_m 提高值	0.8	0.0	0.4

表8 不同表面活性剂筛选的试验分组

Tab. 8 Experimental grouping for screening different surfactants

试验分组	缓冲液与蛋白保护剂	表面活性剂	表面活性剂质量浓度(mg/mL)
F1	pH 5.5的25 mmol/L	聚山梨酯80	0.25
F2	琥珀酸, 75 mg/mL	聚山梨酯20	0.25
F3	海藻糖	聚山梨酯80	0.40
F4		聚山梨酯20	0.40
F5		聚山梨酯80	0.80
F6		聚山梨酯20	0.80
F7		-	-

注:- 为不含表面活性剂。

Note: - indicates that it does not contain surfactants.

合物含量增加明显小于不含表面活性剂的对照组F7, 表明聚山梨酯80和聚山梨酯20均有减缓抗体聚合物增加的作用;其中,含聚山梨酯20的试验组F6的聚合物含量增加最小(0.40%)。详见表10。综合振荡稳定性试验和冻融稳定性试验结果可见,聚山梨酯80和聚山梨酯20均有减缓抗体聚合物增加的作用,相比于聚山梨酯80,聚山

表9 不同表面活性剂筛选的振荡稳定性试验中的聚合物含量(%)

Tab. 9 Polymer content in PM01 monoclonal antibody formulation with different surfactants by the oscillatory stability test (%)

振荡时间	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
0 h	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41
3 h	0.41	0.41	0.41	0.42	0.42	0.42	0.43
6 h	0.51	0.52	0.44	0.45	0.44	0.46	0.55
24 h	0.56	0.54	0.51	0.47	0.48	0.49	0.62
含量增加	0.15	0.13	0.10	0.06	0.07	0.08	0.21

表10 不同表面活性剂筛选的冻融稳定性试验中的聚合物含量(%)

Tab. 10 Polymer content in PM01 monoclonal antibody formulation with different surfactants by the freeze - thaw stability test (%)

冻融次数	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
冻融0次	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41
冻融1次	0.49	0.48	0.46	0.47	0.51	0.49	0.52
冻融5次	0.87	0.97	0.84	0.82	0.85	0.81	1.22
含量增加	0.46	0.56	0.43	0.41	0.44	0.40	0.81

梨酯20更有利于减缓聚合物含量的增加。故PM01单抗制剂的表面活性剂选择聚山梨酯20。由于试验组F4在振荡稳定性试验中聚合物含量增加仅为0.06%,在各试验组中最优,且在冻融稳定性试验中聚合物含量增加为0.41%,与最优试验组F6的差异最小。综合考虑,最终选择质量浓度为0.40 mg/mL的聚山梨酯20作为PM01单抗的表面活性剂。

2.3 稳定性研究

根据上述制剂处方研究结果,即25 mmol/L琥珀酸,75 mg/mL海藻糖,0.40 mg/mL聚山梨酯20,pH 5.5,进行长期稳定性试验。将制剂置注射剂瓶中,以溴化丁基胶塞密封瓶口,以铝塑组合盖紧固瓶口,在2~8 $^{\circ}\text{C}$ 下避光密闭储存至少36个月,定期取样,检测制剂的外观、pH、蛋白质含量、蛋白纯度、聚合物含量等。结果在36个月的测试终点时,PM01单抗制剂的外观、pH和蛋白质含量均无显著变化;由CE-SDS法测得的纯度呈下降趋势;由SEC-HPLC法测得的纯度整体呈下降趋势,聚合物含量有所上升。结果均符合预设标准,表明本制剂配方在2~8 $^{\circ}\text{C}$ 温度下能稳定储存36个月。详见表11。

3 讨论

单抗制剂的主要组分有缓冲液、辅料、表面活性剂等^[16]。合适的pH可平衡单抗中氨基酸残基间的相互作用,从而维持蛋白结构的完整性。本研究中从3.5~9.0的pH范围内筛选出最佳pH范围为5.0~6.0。常见的用于稳定制剂的缓冲液有磷酸、柠檬酸、琥珀酸、醋酸、甘氨酸、组氨酸等^[17]。本研究中从常用缓冲液中筛选出合适PM01单抗的缓冲液为25 mmol/L琥珀酸。糖及多

表 11 PM01 单抗制剂的稳定性试验结果
Tab. 11 Stability test results of PM01 monoclonal antibody formulation

检测指标	标准	放置时间							
		0个月	3个月	6个月	9个月	12个月	18个月	24个月	36个月
外观	*	合格	合格	合格	合格	合格	合格	合格	合格
pH	5.0~6.0	5.5	5.5	5.6	5.6	5.6	5.5	5.5	5.5
蛋白质含量(mg/mL)	18.0~22.0	20.2	19.8	19.7	19.6	19.7	19.8	20.1	19.9
CE-SDS法(%)	主峰≥95.0	96.90	97.30	97.45	97.40	96.59	96.60	95.60	95.30
SEC-HPLC法(%)	主峰≥98.0	99.48	99.37	99.14	99.29	99.26	99.22	99.14	99.19
	聚合物≤1.0	0.31	0.37	0.38	0.42	0.47	0.44	0.44	0.40

注:*指外观检测应无色至微黄澄明液体,可微带乳光。

Note:* indicates that the appearance inspection should be a colorless to yellowish clear liquid with slight opalescence.

元醇能通过降低蛋白类药物的聚集,从而稳定单抗药物,蔗糖、海藻糖等是自然界中稳定蛋白、调整渗透压的常用物质,甘露醇、山梨醇等多元醇也可优先水合作用稳定单抗^[18]。本研究中筛选出的最合适的蛋白保护剂为质量浓度为75 mg/mL的海藻糖。表面活性剂的加入,能降低搅动、摇晃、冻融及冻干过程中蛋白的聚集,防止蛋白被吸附到容器表面^[19],单抗制剂中广泛使用的表面活性剂为聚山梨酯80和聚山梨酯20^[20]。本研究中通过对这2种表面活性剂进行筛选发现,质量浓度为0.40 mg/mL的聚山梨酯20的稳定性最佳。此外,该制剂处方所用辅料均为国产的高品质注射级辅料,均已被收录于2025年版《中国药典(四部)》^[21],与进口辅料相比,在同等质量条件下,能大幅降低制剂生产的原材料成本。在此基础上,本研究中对该制剂处方进行了36个月的长期稳定性研究,结果各项质量指标均符合预设标准,表明确定的制剂处方对PM01单抗有较好的保护作用,可保证PM01单抗长期储存的稳定性,为PM01单抗的临床应用提供了基础。

参考文献

[1] ASGARI R, VAISI - RAYGANI A, ALEAGHA MSE, et al. CD147 and MMPs as key factors in physiological and pathological processes[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 157: 113983.
[2] 刘文华, 旷菲, 陈小香, 等. 周围型非小细胞肺癌患者细胞周期蛋白 D1、CD147 与预后的关系研究[J]. 实用医院临床杂志, 2023, 20(1): 111 - 114.
[3] 周宏伟, 陈志南, 姚毅冰, 等. 肝癌细胞内 HAb18G / CD147 信号转导通路关键分子的筛选[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(9): 1196 - 1200.
[4] LIAO C, LIANG XH, KE Y, et al. Active demethylation upregulates CD147 expression promoting non - small cell lung cancer invasion and metastasis[J]. Oncogene, 2022, 41(12): 1780 - 1794.
[5] CHEN ZN, ZHANG Z, ZHANG Y, et al. Human - mouse chimeric Anti - CD147 antibody with non - fucosylated glycosylation: United States Patent: US 9963506[P]. 2018 - 05 - 08.
[6] QI FZ, SU HS, WANG B, et al. Hypoxia-activated ADCC -

enhanced humanized anti - CD147 antibody for liver cancer imaging and targeted therapy with improved selectivity[J]. Med Comm, 2024, 5(3): e512.

[7] WANG W, OHTAKE S. Science and Art of Protein Formulation Development[J]. J Inter Pharm, 2019, 568: 118505.
[8] 各建华, 韩君, 徐寒梅. PD - 1 / PD - L1 免疫检查点抗体药物制剂稳定性开发[J]. 中国生物工程杂志, 2020, 40(10): 35 - 42.
[9] LI W, PRABAKARAN P, CHEN W, et al. Antibody Aggregation: Insights from Sequence and Structure[J]. Antibodies (Basel), 2016, 5(3): 19.
[10] KAMERZELL TJ, ESFANDIARY R, JOSHI SB, et al. Protein - excipient interactions: mechanisms and biophysical characterization applied to protein formulation development[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2011, 63(13): 1118 - 1159.
[11] ROBINSON MJ, MATEJTSCHUK P, BRISTOW AF, et al. T_m - Values and Unfolded Fraction Can Predict Aggregation Rates for Granulocyte Colony Stimulating Factor Variant Formulations but Not Under Predominantly Native Conditions[J]. Mol Pharm, 2018, 15(1): 256 - 267.
[12] JOHNSON CM. Differential scanning calorimetry as a tool for protein folding and stability[J]. Arch Biochem Biophys, 2012, 531(1): 100 - 109.
[13] KURIL KA. Differential Scanning Calorimetry: A Powerful and Versatile Tool for Analyzing Proteins and Peptides[J]. J Pharm Res Int, 2024, 36(7): 179 - 187.
[14] 谭小钉, 章燕珍, 杜翊. 差示扫描量热法在抗体偶联药物稳定性研究中的应用[J]. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(3): 299 - 302.
[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(三部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
[16] MANNING MC, LIU J, LI T, et al. Rational Design of Liquid Formulations of Proteins[J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2018, 112: 1 - 59.
[17] ZBACNIK TJ, HOLCOMB RE, KATAYAMA DS, et al. Role of Buffers in Protein Formulations[J]. J Pharm Sci, 2017, 106(3): 713 - 733.