(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0063222
(43) 공개일자 2022년05월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/08 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01) *A61K 47/20* (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) *C07K 16/24* (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/08 (2013.01)
A61K 39/39591 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-7012164
(22) 출원일자(국제) 2020년09월16일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2022년04월12일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/075840
(87) 국제공개번호 WO 2021/053001
국제공개일자 2021년03월25일
(30) 우선권주장
19197876.6 2019년09월17일
유럽특허청(EPO)(EP)
19214837.7 2019년12월10일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
메르크 파텐트 게엠베하
독일 64293 다름스타트 프랑크푸르터 스트라세 250
(72) 발명자
로젠크란츠 토비아스
독일 64283 다름슈타트 리데젤슈트라쎄 72
귀벨리 라파엘 요하네스
독일 64285 다름슈타트 브란디스슈트라쎄 9
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **고농축 단백질 제형에서 점도 감소제로서의 캄포술폰산 및 양이온성 부형제와 이의 조합**

(57) 요 약

본 발명은 적어도 캄포술폰산의 첨가에 의해 유도되는, 감소된 점도를 나타내는 고농축 단백질 제형의 조성물에 관한 것이다. 제조된 제형에 함유된 단백질은 응집 및 변성에 대해 안정화되며 따라서 환자에게 투여될 때까지 충분히 저장 안정하다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/183 (2013.01)
A61K 47/20 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)
C07K 16/241 (2013.01)
C07K 16/244 (2013.01)
C07K 16/40 (2013.01)
(72) 발명자
헨츨러 탄야
독일 68259 만하임 빌헬름슈트라쎄 2에
크로크 알렉산드라
독일 55294 보덴하임 슈베슈터-고스비나-슈트라쎄 68
힐데브란트 크리슈티안
독일 64646 헤펜하임 암 첸트게리히트 9

명 세 서

청구범위

청구항 1

점도-감소 효과를 갖는 농도로 부형제로서 적어도 캄포술폰산과 액체 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 액체 조성물을 캄포술폰산 및 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 적어도 하나의 양이온성 부형제가 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴을 포함하는 목록에서 선택되는 방법.

청구항 4

제 1 항, 제 2 항 또는 제 3 항에 있어서, 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 점도가 감소되는 방법.

청구항 5

제 2 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 양이온성 부형제가 아르기닌인 방법.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서, 액체 조성물이 액체 약학 제형이고, 단백질이 약학적 활성 단백질인 방법.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자, 항체-약물 접합체 및 융합 단백질의 군에서 선택되는 방법.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 액체 조성물의 점도가 적어도 12%, 바람직하게는 적어도 50% 감소되는 방법.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질의 농도가 90 mg/ml 내지 250 mg/ml 인 방법.

청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 캄포술폰산의 농도가 약 500 mM 미만, 특히 200 mM 미만인 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 액체 조성물의 pH 가 약 3 내지 약 8 범위이며 완충제를 포함하는 방법.

청구항 12

부형제가 없거나 부형제 조합이 없는 동일한 액체 조성물과 비교하여 감소된 점도를 갖는, 제 1 항 내지 제 11

항 중 어느 한 항에 따른 방법에 의해 수득가능한 액체 조성물.

청구항 13

생물공정에서의 제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 따른 방법의 용도.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 여과 단계에서의 액체 조성물의 투과 플럭스가 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 증가하는 용도.

청구항 15

제 13 항 또는 제 14 항에 있어서, 여과 단계에서 완충제 교환 및 부피 감소 후 단백질 회수가 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 증가하는 용도.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 적어도 캄포술폰산의 첨가에 의해 유도되는, 감소된 점도를 나타내는 고농축 단백질 제형의 조성물에 관한 것이다. 제조된 제형에 함유된 단백질은 응집 및 변성에 대해 안정화되며 따라서 환자에게 투여될 때까지 충분히 저장 안정하다.

배 경 기 술

[0002] 최신 기술

[0003] 개발 중인 대부분의 생물치료적 단백질성 생성물은 단일클론 항체 (mAb) 또는 관련 포맷 예컨대 이중특이적 항체 또는 항체 단편이다. 이러한 생성물의 치료적 용량은 광범위한 임상적으로 중요한 징후에 걸쳐 종종 높다.

[0004] 그러나, 펩티드 및 단백질 분자는 종래의 유기 및 무기 약물의 분자보다 더 크고 더 복잡하다 (즉, 이들은 복잡한 3 차원 구조에 추가로 다수의 작용기를 갖는다). 이러한 단백질의 제형은 제형화기의 특정 문제점을 제기한다. 이들 문제점 중 하나는 특히 고농도에서 단백질 제형의 점도 증가이다.

[0005] 그러나 후자는 낮은 부피의 피하 주사를 통해 전달되는 결과적 생성물에 대한 환자 편의성, 순응성 및 전체 건강관리 비용 관점에서 매우 바람직하기 때문에 특별한 문제이다.

[0006] 그러나, 높은 치료적 용량 및 매우 바람직한 낮은 주사 부피의 조합은 종종 활성 성분의 매우 농축된 제형에 대한 필요성을 초래한다. 높은 농도에서 생물치료제의 안정한 수성 제형을 달성하는 것은 예외적으로 어려울 수 있어, 종종 응집 속도, 입자 형성 및 점도에서 상당한 증가를 초래할 수 있다는 것이 잘 알려져 있다. 높은 점도는 생성물의 주입성을 상당히 제한하므로 허용가능하지 않다.

[0007] 항체 및 다른 단백질 치료제는 비경구적으로, 예컨대 정맥내 (IV), 근육내 (IM) 또는 피하 (SC) 경로에 의해 투여될 수 있다. 피하 주사는 환자 투여를 단순화시키는 가능성 (빠른, 낮은 부피 주사) 및 감소된 치료 비용 (짧은 의료 보조) 으로 인해 단백질 치료제의 전달에 대한 관심이 증가하고 있다. 환자 순응성을 보장하기 위해, 피하 주사 투약 형태가 등장성이고 작은 주사 부피 (주사 위치 당 <2.0 ml) 를 포함하는 것이 바람직하다. 주입 부피를 감소시키기 위해, 단백질은 종종 1 mg/ml 내지 150 mg/ml 의 범위 내에서 투여된다.

[0008] 따라서, 피하 투여를 위한 단백질 제형의 일차적인 개발은 종종 점도 문제와 관련된다. 부피 제한 (< 2 ml) 및 용량 요건 (통상 > 100 mg 투여) 은 종종 매우 농축된 단백질 제형을 요구한다. 그러나 높은 농도에서, 이미 상기와 같이, 단백질은 매우 점성인 용액을 형성하는 경향이 있고, 안정성은 가용성 및 불용성 단백질-단

백질 응집물의 형성으로 인해 문제가 될 수 있다. 그로서 점도는:

[0009] a) 제조 공정 및

[0010] b) 환자에 대한 투여

[0011] 에 대한 심각한 문제이다.

[0012] 제조 공정에서, 고도로 점성인 매우 농축된 단백질 제형은 가공에서, 특히 한외여과 및 멸균 여과에서 어려움을 나타낸다. 또한, 증가된 점도는 단백질에 대한 증가된 전단 응력을 산출하여, 빈번하게 생성물 손실을 산출한다.

[0013] mAb-기반 치료요법은 통상 장기간에 걸쳐 반복적으로 투여되며 수 mg/kg 투여를 필요로 한다. 항체 용액 또는 현탁액은 비경구 경로를 통해, 예컨대 정맥내 (IV) 주입, 및 피하 (SC) 또는 근육내 (IM) 주사에 의해 투여될 수 있다. 여기서, 주사 용액에서, 높은 점도는 문제가 된다. 이러한 문제점을 해결하고 용액의 안정성을 개선하기 위해서, 더 높은 농도의 첨가제 및 부형제를 통상 또한 첨가한다. 근육내 또는 피하 투여용으로 의도된 제형에 바람직한 단백질 농도에서, 수크로오스 및 소듐 클로라이드와 같은 높은 농도의 안정화제가 장기간 단백질 안정성을 달성하기 위해 필요하다. 생성 용액은 높은 주사력 및 조직 손상으로 인해 종종 주사 통증을 일으킨다. 따라서, 높은 단백질 농도 제형의 안정성 및 삼투질농도를 위한 필요량의 안정화제의 균형을 맞추는 것이 중요하다. 그 결과, 점도로 인한 기술적 장애는 종종 피하 전달을 위한 단백질 제형 개발의 실패를 초래한다.

[0014] 피하 제형의 개발 성공률을 증가시키기 위해, 화학적 방식에 의한 점도의 감소 및 조절이 최근 상당한 주목을 받고 있다.

[0015] 다수의 공개물 및 특허 출원은 염 (대부분 NaCl) 및 특정 아미노산, 바람직하게는 아르기닌, 히스티딘 및 프롤린의 패밀리로부터의 부형제를 지칭하며, 이는 특정 고농도 단백질 치료제의 점도를 저하시키는데 효과적인 것으로 나타났다.

[0016] 불행하게도, 점도를 낮추기 위한 이러한 잘 알려진 접근방식은 보편적으로 적용가능하지 않은데, 아마도 단백질 제형의 점도가 다양한 분자간 힘의 결과라는 점으로 인한 것이다. 단백질 분자 및 그의 제형 조건에 따라, 분자 군집, 또는 쌍극자-쌍극자 또는 쌍극자-전하 상호작용 또는 소수성 또는 하전된 기 사이의 상호작용과 같은 상이한 상호작용이 점도에 영향을 줄 수 있다. 결과적으로, 제약 산업은 특히 상기 언급된 아미노산 및 NaCl 을 기반으로 하는 표준 용액이 실패할 때 대안적인 옵션으로서 점도-감소 부형제에 대한 강력한 필요성을 갖는다.

[0017] 다수의 점도 저하 첨가제 및 부형제가 과거에 연구되었다. 그러나 현재, 높은 농도에서 점도 문제를 나타내는 모든 치료 단백질 용액이 공지된 점도-저하 부형제에 의해 적절히 다루어질 수 있는 것은 아니다.

[0018] 생물공정 동안, 용액은 튜빙 및 크로마토그래피 컬럼을 통해 펌핑되어야 한다. 높은 점도에서, 이러한 컬럼을 통한 유량은 상기 점도에 의해 제한되어, 이는 더 긴 가공 시간, 크로마토그래피 동안 상당한 단백질 손실을 초래하거나 단백질 용액의 완전한 비-가공성을 초래할 수 있다. 또한, 좁은 튜브로부터 덜 좁은 컬럼으로 커넥터를 통과할 때, 전단력이 발생할 수 있다. 전단 응력은 단백질이 변성되고 잠재적으로 응집하여 그로써 공정의 수율을 감소시키는 전형적인 이유이다. 명백하게, 이러한 전단 응력 유도 응집은 공정 경제성에 악영향을 갖는다. 또한, 크로마토그래피 컬럼 내의 겔 베드는 고압에 의해 손상될 수 있다.

[0019] 또한, 일부 단백질은 접선 유동 여과 (TFF) 를 통해 고농도로 제형화된다. 용액의 점도가 임계가 되면, 멤브레인 부근에 겔-유사 층이 형성될 수 있다. 특히, 멤브레인 플럭스는 상당히 감소되어 증가된 공정 시간, 및 따라서 상당한 더 높은 제조 비용을 산출한다. 상기 토의한 바와 같이, 또한 TFF 동안 전단 응력이 발생하여 불용성 단백질 응집물 및 감소된 수율을 산출할 수 있다.

[0020] 일반적으로, 매우 점성인 용액이 특정한 끈적임을 발생시켜, 용기로부터, 튜빙 밖으로 완전한 용액을 회수하거나 가공 시스템으로부터 전체 물질을 제거하는 것을 어렵게 하는 것으로 관찰되었다. 이러한 물질의 손실은 공정 경제성에 명백한 부작용과 함께 상당히 감소된 생성물 수율을 초래한다.

발명의 내용

[0021] 발명의 목적

[0022] 약학적 적용을 위해 의도된 단백질 제형 (예를 들어, 단일클론 항체, 융합 단백질 등) 은 통상 바람직하지 않은 응집에 대한 안정화제를 필요로 하며 물리적 또는 화학적 분해를 방지한다. 이러한 문제점은 높은 단백질 농도에서 악화되지만, 이러한 부류의 분자의 치료적 투여에 종종 바람직하다.

[0023] 높은 농도에서, 단백질은 자가-회합되는 경향이 있어, 고점도 제형을 초래하고, 예를 들어 주입에 의한 이러한 단백질 용액의 투여를 복잡하게 할 뿐만 아니라 제조 공정을 복잡하게 하는데, 여기서 접선 유동 여과가 종종 완충제 교환 및 단백질 농도 증가를 위해 사용된다. 여과 및 주입 동안 배압 및 전단 응력을 증가시킴으로써, 치료 단백질은 잠재적으로 불안정화되거나 공정 시간의 지속기간이 과도하게 연장된다. 따라서, 바이오의학 산업 내에서 점도 저하 특성을 갖는 제형 첨가제 및 부형제, 또는 이의 조합에 대한 높은 필요성이 존재한다. 그러나, 단일클론 항체와 같은 단백질을 제형화하는 것은 단백질 변성 및 생물학적 활성 손실을 방지하기 위해 제형 첨가제 및/또는 부형제의 신중한 선택을 필요로 한다.

[0024] 그러나 여전히 많은 수의 최근 생겨나는 새로운 항체 및 항체 포맷에는 적합한, 혁신적인 점도 저하 첨가제 및/또는 부형제 또는 특이적 첨가제/부형제 조합 또는 표적화된 제형 전략의 개발이 필요하다. 이러한 첨가제/부형제는, 단백질 제형이 정맥내, 근육내, 복강내, 피내 또는 피하 경로를 포함하여 비경구적으로 투여되기 때문에 약학적으로 안전해야 한다. 따라서, 이러한 제형에 사용될 수 있는 첨가제는 생리학적으로 적합해야 하고, 어떠한 바람직하지 않은 부작용도 가져서는 안 되고, 알레르기성 반응을 초래하는 환경 하에 있어서는 안 되며; 특히, 이들은 어떠한 아나필락시스성 부작용도 야기해서는 안 된다.

[0025] 또한, 해결되어야 하는 문제점은 단백질 용액의 점도를 효과적으로 감소시킬 수 있는 부형제 조합의 제공이다.

[0026] 해결되어야 하는 또 다른 문제점은 관련 농도에서 사용되는 많은 점도 감소 부형제가 단백질 안정성에 악영향을 가질 수 있다는 것이다. 따라서, 해결되어야 하는 추가의 문제점은 단백질 용액의 점도를 효과적으로 감소시킬 수 있고 조합과 비교하여 유사한 점도 감소를 초래하는 더 높은 농도에서 사용되는 하나의 점도 감소 부형제 단독과 비교하여 개선된 단백질 안정성을 나타내는 부형제 조합의 제공이다.

[0027] 단백질 용액의 높은 점도는 생물공정 (bioprocessing) 에서 수많은 어려움을 야기한다. 종래에 상응하는 단백질 용액에서 점도를 감소시키는데 사용되는 공지된 첨가제가 많은 경우에 충분한 점도-감소 효과를 초래하지 않으므로, 본 발명의 목적은 상응하는 점도-저하 효과를 개선시킬 수 있고 공정 경제성에 대한 악영향을 감소시킬 수 있는 새로운 가능성을 발견하는 것이다.

[0028] 발명의 주제

[0029] 예기치 않게, 고농축 제형을 제형화하는 실험에서, 단독으로 또는 다른 것들과 조합으로 점도를 실질적으로 저하시키는데 적합한 부형제가 발견된다.

[0030] 본 발명은 점도-감소 효과를 갖는 농도로 부형제로서 적어도 캄포술폰산과 액체 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 적어도 50 mg/ml 에서 300 mg/ml 까지의 범위의 농도로 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법에 관한 것이다.

[0031] 이 방법에 따르면 하기 열거한 분자 군에서 선택되는 부형제 또는 부형제의 조합을 최적화된 농도로 고농축 단백질 액체 제형에 첨가한다. 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도는 그에 따라 실질적으로 감소된다.

[0032] 바람직하게는 액체 단백질 조성물은 캄포술폰산 및 적어도 하나의 부형제와 조합된다. 점도의 양호한 감소는, 캄포술폰산이 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴의 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합으로 단백질을 포함하는 액체 조성물에 첨가될 때 달성된다.

[0033] 놀랍게도, 본 발명의 부형제 조합은 액체 단백질 조성물의 점도를 상승작용적으로 감소시키고 임의로는 단백질의 안정성을 동시에 증가시킬 수 있다.

[0034] 놀랍게도, 점도 감소 가능성과 관련하여, 단백질 안정성은 단 하나의 점도 감소 부형제가 사용된 경우와 비교하여 본 발명의 부형제 조합을 사용하는 경우에 덜 부정적인 영향을 받는다.

[0035] 단백질은 치료적 또는 약학적 활성 단백질일 수 있으며, 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자, 항체-약물 접합체 및 융합 단백질의 군에서 선택되는 단백질일 수 있다. 이것으로 제형의 점도는 적어도 12%, 바람직하게는 적어도 50% 감소된다.

[0036] 따라서, 본 발명의 목적은 부형제를 갖지 않거나 부형제를 갖는 동일한 제형과 비교하여 점도가 감소된 액체 단

백질 조성물 또는 액체 약학 제형을 이 방법에 의해 제조하는 것이다.

[0037] 양호한 점도 감소는 적어도 40 mg/ml 에서 250 mg/ml 까지의 농도, 바람직하게는 적어도 90 mg/ml 에서 250 mg/ml 까지의 농도로 단백질, 바람직하게는 치료 단백질, 및 점도 감소 부형제로서 첨가되는 경우 적어도 캄포술폰산을 포함하는 액체 약학 제형으로 달성된다. pH 가 약 3 내지 약 8 범위, 바람직하게는 4.5 내지 약 8.0 범위, 보다 바람직하게는 약 4.7 내지 약 7.5 범위이고, 특히 바람직하게는 약 5 내지 약 7.2 범위이며 완충제를 포함하는 액체 약학 조성물에서 부형제의 농도가 약 500 mM 미만, 특히 200 mM 미만인 경우에 특히 양호한 점도 감소 효과가 달성된다. 상기 제형은 포스페이트 또는 아세테이트 완충제를 포함할 수 있다. 또한, 제형은 안정화제를 포함할 수 있다. 이러한 안정화제는 당 또는 계면활성제, 예컨대 수크로오스, 폴리소르베이트, 바람직하게는 폴리소르베이트 80 또는 폴록사머일 수 있다.

[0038] 이에 따라 제조된 점도 감소된 약학 제형은 동결건조된 분말로서 제조될 수 있다. 이와 같은 동결건조된 분말은 치료 단백질 및 캄포술폰산을 포함하고, 여기서 캄포술폰산 또는 캄포술폰산과 양이온성 부형제의 조합은 재구성시 500 mM 미만, 바람직하게는 200 mM 미만의 농도를 산출하기에 충분한 양으로 존재하고, 단백질이 적어도 40 mg/ml 에서 250 mg/ml 까지, 바람직하게는 적어도 90 mg/ml 에서 250 mg/ml 까지의 농도로 산출된다. 이 분말의 재구성은 멸균 수성 희석제를 첨가하는 단계를 포함한다. 따라서, 본 발명의 목적은 치료 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자 및 융합 단백질의 군에서 선택되고, 바람직하게는 치료 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자및 융합 단백질의 군에서 선택되고, 특히 바람직하게는 치료 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자 및 융합 단백질의 군에서 선택되는 것인 제형을 제조하는 것을 특징으로 하는 방법이다.

[0039] 본 발명의 추가적인 주제는 액체 단백질 조성물에서 점도-감소 효과를 갖는 농도로 부형제로서 적어도 캄포술폰산과 액체 단백질 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 생물공정에서 액체 단백질 조성물의 점도를 감소시키는 방법이다. 바람직하게는 액체 단백질 조성물은 캄포술폰산 및 적어도 하나의 부형제와 조합된다. 점도의 양호한 감소는, 캄포술폰산이 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴의 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합으로 액체 단백질 조성물에 첨가될 때 달성된다.

[0040] 본 발명의 주제는 또한, 상기 특징분석된 바와 같은 약학 제형을 포함하거나 주어진 구현예에서의 동결건조된 분말을 포함하는 키트이다. 이러한 키트는 언급된 바와 같은 방법에 의해 수득되며 사용 전에 용액 제제로 만들어질 수 있는 약학 조성물의 동결 건조 또는 분무 건조된 제제를 포함할 수 있다. 따라서, 상응하는 키트는 96-웰 플레이트에 놓이는 즉시 사용 가능 동결 건조 또는 분무 건조된 제형을 포함할 수 있다. 키트는 또한 용기, 주사기 및/또는 바늘이 있거나 없는 다른 투여 장치, 주입 펌프, 제트 주입기, 펜 장치, 경피 주입기, 또는 다른 무-바늘 주입기 및 상기 키트의 적용 필요성에 따른 지시사항을 포함할 수 있다.

[0041] 발명의 상세한 설명

[0042] 상기 요약한 바와 같이, 높은 단백질 농도는 액체 제형 내의 단백질의 물리적 및 화학적 안정성과 관련될 뿐만 아니라 상기 단백질 제형의 제조, 저장 및 투여에 대한 어려움에 관련되는 문제를 제기한다. 주요 문제점은 처리 및/또는 저장 동안 단백질이 응집하고 미립자를 형성하는 경향이며, 이는 추가의 처리 및/또는 투여 동안 조작을 어렵게 한다. 농도-의존적 분해 및/또는 응집은 더 높은 농도에서 액체 단백질 제형을 개발하는데 있어서 주요 과제이다. 비-천연 단백질 응집 및 입자 형성에 대한 가능성에 추가로, 수용액에서 가역적 자기-회합이 일어날 수 있으며, 이는 다른 것들 중에서도 주사에 의한 전달을 복잡하게 하는 증가된 점도에 기여한다.

[0043] 정의

[0044] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "단백질" 은 펩티드 결합에 의해 서로 연결되어 사슬 길이가 적어도 하나의 검출가능한 3 차 구조를 생성하기에 충분한 폴리펩티드를 형성하는 아미노산의 중합체를 지칭한다. 약 100 kDas 초과의 분자량을 갖는 단백질 (kDa 로 표현, 여기서 "Da" 은 "달톤" 을 나타내고 1 kDa=1,000 Da 임) 은 "고분자량 단백질" 로 지정될 수 있는 한편, 약 100 kDa 미만의 분자량을 갖는 단백질은 "저분자량 단백질" 로 지정될 수 있다. 용어 "저분자량 단백질" 은 단백질로 간주되는데 필요한 적어도 3 차 구조의 필요성이 결여된 소형 펩티드는 제외한다. 단백질 분자량은 질량 분광법 (예를 들어, ESI, MALDI) 또는 공지된 아미노산 서열로부터의 계산 및 글리코실화를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 당업자에게 공지된 표준 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 단백질은 자연 발생 또는 비-자연 발생, 합성, 또는 반합성일 수 있다.

[0045] "본질적으로 순수한 단백질(들)" 및 "실질적으로 순수한 단백질(들)" 은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며

적어도 약 90 중량% 순수한 단백질, 바람직하게는 적어도 약 95 중량% 순수한 단백질을 포함하는 조성물을 지칭한다. "본질적으로 균질한" 및 "실질적으로 균질한" 은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며 존재하는 적어도 약 90 중량%, 바람직하게는 적어도 약 95 중량% 의 단백질이 단량체 및 가역적 디- 및 올리고머성 회합체 (불가역적 응집체가 아님) 의 조합인 조성물을 지칭한다.

[0046] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "항체" 는 mAb (면역글로불린 Fc 부위를 갖는 전장 항체를 포함함), 폴리에피토프 특이성을 갖는 항체 조성물, 이중특이적 항체, 디아바디 및 단일 사슬 항체 분자 뿐만 아니라 항체 단편 (예를 들어, Fab, Fab', F(ab')2 및 Fv), 단일 도메인 항체, 다가 단일 도메인 항체, Fab 융합 단백질 및 이의 융합물을 광범위하게 포함한다.

[0047] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "단일클론 항체" 또는 "mAb" 는 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득되는 항체를 지칭하며, 즉, 집단을 포함하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 단일클론 항체는 매우 특이적이어서, 단일 에피토프에 대해 유도된다. 이들은 예를 들어, 전형적으로 Kohler et al. (*Nature* 256: 495, 1975) 에 기재된 바와 같이 하이브리도마 세포를 배양함으로써 합성되거나, 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 번호 4,816,567 참조) 에 의해 만들어질 수 있거나, Clackson et al. (*Nature* 352: 624-628, 1991) 및 Marks et al. (*J. Mol. Biol.* 222: 581-597, 1991) 에서 기재된 기법을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 본원에서 사용되는 "mAb" 는, 구체적으로 유도체화된 항체, 항체-약물 접합체, 및 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 한편 사슬(들) 의 나머지는 또 다른 종으로부터 유래되거나 또 다른 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라" 항체 뿐만 아니라, 이들이 바람직한 생물학적 활성을 나타내는 한, 이러한 항체의 단편을 포함한다 (미국 특허 번호 4,816,567; Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855, 1984).

[0048] "항체 단편" 은 미손상 항체의 항원 결합 및/또는 가변부를 포함하는, 미손상 항체의 일부를 포함한다. 항체 단편의 예는 Fab, Fab', F(ab')2 및 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체 (미국 특허 번호 5,641,870; Zapata et al., *Protein Eng.* 8:1057-1062, 1995 참조); 단일 사슬 항체 분자; 다가 단일 도메인 항체; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다.

[0049] 비-인간 (예를 들어, 쥐과) 항체의 "인간화" 형태는 주로 인간 서열의 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬 또는 이의 단편 (예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')2, 또는 항체의 다른 항원-결합 하위서열) 이며, 이는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래한 최소 서열을 함유한다 (예를 들어, Jones et al., *Nature* 321:522-525, 1986; Reichmann et al., *Nature* 332:323-329, 1988; 및 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596, 1992 참조).

[0050] 이러한 맥락에서, 용어 "치료적 활성 단백질", "약학적 활성 단백질" 또는 "치료 단백질" 은 질환 또는 의학적 상태의 치료 또는 예방을 목적으로 대상체에게 투여되는 상기 정의되는 바와 같은 단백질 또는 펩티드를 지칭한다. 특히, 대상체는 포유동물 또는 인간일 수 있다. 치료 단백질은 상이한 목적, 예컨대 결핍되거나 비정상인 단백질을 대체하고, 기존 경로를 증가시키고, 새로운 기능 또는 활성을 제공하고, 분자 또는 유기체를 방해하고, 다른 화합물 또는 단백질, 예컨대 방사성 핵종, 세포독성 약물 또는 효과기 단백질을 전달하는 것을 위해 투여될 수 있다. 치료 단백질은 항체-기반 약물, Fc 융합 단백질, 항응고제, 혈액 인자, 골 형성 단백질, 조작된 단백질 스캐폴드, 효소, 성장 인자, 호르몬, 인터페론, 인터류킨, 항체 약물 접합체 (ADC) 및 혈전용해제를 포함한다. 치료 단백질은 자연 발생 단백질 또는 재조합 단백질일 수 있다. 그의 서열은 자연적인 것이거나 조작된 것일 수 있다.

[0051] "레올로지" 는 물질의 변형 및 유동의 연구를 지칭하고, "점도" 는 유동에 대한 물질 (전형적으로 액체) 의 저항을 지칭한다. 점도는 전단력의 개념과 관련되며; 이는 유체의 상이한 층들이 서로에 대해 이동함에 따라 서로에 대해 또는 다른 표면들 상에 전단력을 가하는 효과로서 이해될 수 있다. 여러 점도 척도가 존재한다. 점도 단위는 파스칼-초 (Pa-s) 로 알려져 있는 Ns/m^2 이다. 점도는 "동적 (kinematic)" 또는 "절대적 (absolute)" 일 수 있다. 동점도 (Kinematic viscosity) 는 유체를 통해 모멘텀이 전달되는 속도의 척도이다. 이는 스토크 (St) 로 측정된다. 동점도는 중력의 영향 하에서 유체의 저항 흐름의 척도이다. 동일한 부피 및 상이한 점도의 2 개 유체를 동일한 모세관 점도계에 넣고 중력에 의해 흐르도록 하는 경우, 더 많은 점성 유체는 모세관을 통해 흐르는데 덜 점성인 유체보다 더 오래 걸린다. 예를 들어, 하나의 유체가 그의 유동을 완료하는데 200 초 (s) 가 걸리고 또 다른 유체가 400 s 가 걸린다면, 두 번째 유체는 동점도 스케일에서 첫 번째 유체의 2 배 점도인 것으로 지칭된다. 동점도의 치수는 $길이^2$/시간이다.

통상적으로, 동점도는 센티스토크 (centiStokes) (cSt) 로 표시된다. 동점도의 SI 단위는 mm^2/s 이며 이는 1 cSt 와 동일하다. 때때로 "동역학 점도 (dynamic viscosity)" 또는 "단순 점도" 로 불리는 "절대 점도" 는 동점도 및 유체 밀도의 곱이다. 절대 점도는 센티푸아즈 (cP) 의 단위로 표시된다. 절대 점도의 SI 단위는 밀리파스칼-초 (mPa-s) 이고, 여기서 1 cP=1 mPa-s 이다.

[0052] 점도는 예를 들어 주어진 전단 속도 또는 다중 전단 속도를 사용하여 측정될 수 있다. "외삽된 제로-전단" 점도는 절대 점도 대 전단 속도의 플롯 상에 4 개의 최고-전단 지점의 최상 피팅 라인을 생성하고, 점도를 다시 제로-전단으로 선형적으로 외삽함으로써 결정될 수 있다. 대안적으로, 뉴턴 유체에 대해, 점도는 다중 전단 속도에서 점도 값을 평균내어 결정될 수 있다. 점도는 또한 단일 또는 다중 전단 속도 (유량으로도 불림) 에서 미세유체 점도계를 사용하여 측정될 수 있으며, 여기서 절대 점도는 액체가 채널을 통해 흐름에 따라 압력 변화로부터 유도된다. 점도는 전단 속도에 대한 전단 응력과 동일하다. 미세유체 점도계로 측정된 점도는, 일부 구현예에서, 외삽된 제로-전단 점도, 예를 들어 원뿔 및 플레이트 점도계를 사용하여 다중 전단 속도에서 측정된 점도로부터 외삽된 것들과 직접 비교될 수 있다. 본 발명에 따르면, 조성물 및 제형의 점도는 상기 기재된 방법 중 적어도 하나가 점도 저하 효과를 나타낼 때 감소한다. 바람직하게는, 점도는 mVROC™ Technology 를 사용하여 측정된다. 보다 바람직하게는 점도는 20℃ 에서 mVROC™ Technology 를 사용하여 측정된다. 가장 바람직하게는 점도는 20℃ 에서 mVROC™ Technology 를 사용하고, 500 μl 주사기, 전단 속도 3000 s-1 또는 2000 s-1 및 부피 200 μl 을 사용하여 측정된다. 당업자는 mVROC™ Technology 를 사용하는 점도 측정, 특히 상기 기재된 매개변수를 선택하는 것에 익숙하다. 상세한 사양, 방법 및 설정은 901003.5.1-mVROC_User's_Manual 에서 확인할 수 있다.

[0053] "전단 속도" 는 유체의 한 층이 인접한 층을 통과하는 속도의 변화율을 지칭한다. 속도 구배는 플레이트로부터의 거리에 따른 속도의 변화율이다. 이러한 간단한 경우는 (cm/sec)/(cm)=1/sec 단위의 전단 속도 $(v_1-v_2)/h$ 를 갖는 균일한 속도 구배를 나타낸다. 따라서, 전단 속도 단위는 역수 초 (reciprocal seconds), 또는 일반적으로 역수 시간 (reciprocal time) 이다. 미세유체 점도계의 경우, 압력 및 유량의 변화는 전단 속도와 관련된다. "전단 속도" 는 물질이 변형되는 속도이다. 단백질 및 점도-저하제를 함유하는 제형은 전형적으로 관심 대상 샘플의 점도 범위에서 점도를 정확히 측정하기 위해 당업자에 의해 적절히 선택된 원뿔 및 플레이트 점도계 및 스핀들을 사용하여 측정될 때 약 0.5 s^{-1} 내지 약 200 s^{-1} 범위의 전단 속도에서 (즉, 20 cP 의 샘플은 DV2T 점도계 (Brookfield) 에 부착된 CPE40 스핀들 상에서 가장 정확하게 측정됨); 미세유체 점도계를 사용하여 측정될 때 약 20 s^{-1} 내지 약 3,000 s^{-1} 초과 범위의 전단 속도에서 측정된다.

[0054] 본원에서 일반적으로 사용되는 고전적인 "뉴턴 (Newtonian)" 유체의 경우, 점도는 본질적으로 전단 속도와 관계가 없다. 그러나 "비-뉴턴 유체" 의 경우, 점도는 전단 속도가 증가함에 따라 감소하거나 증가하고, 예를 들어, 유체는 각각 "전단 담화 (shear thinning)" 또는 "전단 농화 (shear thickening)" 이다. 농축된 (즉, 고농도) 단백질 용액의 경우, 이는 의가소성 전단 담화 거동, 즉 전단 속도에 따른 점도 감소로서 나타날 수 있다.

[0055] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "화학적 안정성" 은 산화, 탈아미드화 또는 가수분해와 같은 화학적 경로를 통해 분해에 저항하는 제형 중 단백질 성분의 능력을 지칭한다. 단백질 제형은 전형적으로 4℃ 에서 24 개월 후 성분의 약 5% 미만이 분해되는 경우 화학적으로 안정한 것으로 고려된다.

[0056] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "물리적 안정성" 은 응집과 같은 물리적 악화에 저항하는 단백질 제형의 능력을 지칭한다. 물리적으로 안정한 제형은 생물활성 단백질 작용제의 불가역적 응집체 (예를 들어, 이량체, 삼량체 또는 다른 응집체) 의 허용가능한 백분율만을 형성한다. 응집체의 존재는 동적 광 산란에 의해 제형 중 단백질의 평균 입자 크기를 측정하는 것을 포함하는 여러 방식으로 평가될 수 있다. 제형은 4℃ 에서 24 개월 후 약 5% 미만의 불가역적 응집체가 형성되는 경우 물리적으로 안정한 것으로 고려된다. 응집된 오염물의 허용가능한 수준은 이상적으로 약 2% 미만일 것이다. 대략 1% 가 보다 전형적이지만, 약 0.2% 만큼 낮은 수준이 달성가능하다.

[0057] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "안정한 제형" 은 제형이 화학적으로 안정하고 물리적으로 안정하다는 것을 의미한다. 안정한 제형은 4℃ 에서 24 개월 후, 또는 40℃ 에서 1 개월 저장과 같은 승온에서 동등한 용액 조건에서 제형 중 생물활성 단백질 분자의 약 95% 초과가 생물활성을 보유하는 것일 수 있다. 단백질 안정

성을 측정하기 위한 다양한 분석 기법이 당업계에서 이용가능하며 예를 들어 [Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee, Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. (1991)] 및 [Jones, A., *Adv. Drug Delivery Revs.* 10:29-90, 1993] 에서 검토된다. 안정성은 특정 기간 동안 선택된 온도에서 측정될 수 있다. 신속한 스크리닝을 위해, 예를 들어, 제형은 40℃ 에서 2 주 내지 1 개월 동안 유지될 수 있으며, 이때 잔류 생물학적 활성을 측정하고 초기 조건과 비교하여 안정성을 평가한다. 제형을 2 - 8℃ 에서 저장하는 경우, 일반적으로 제형은 적어도 1 개월 동안 30℃ 또는 40℃ 에서 안정해야 하고/하거나 적어도 2 년 동안 2℃ - 8℃ 에서 안정해야 한다. 제형을 실온, 약 25℃ 에서 저장하는 경우, 일반적으로 제형은 적어도 2 년 동안 약 25℃ 에서 안정해야 하고/하거나 적어도 약 6 개월 동안 40℃ 에서 안정해야 한다. 동결건조 및 저장 후의 응집 정도는 단백질 안정성의 지표로서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 안정성은 제형 중 단백질의 입자 크기를 측정함으로써 평가된다. 일부 구현예에서, 안정성은 당업자의 능력 내에서 표준 생물학적 활성 또는 결합 어세이를 잘 사용하여 제형의 활성을 측정함으로써 평가될 수 있다.

[0058] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 단백질 "입자 크기" 는 널리 공지된 입자 크기 측정 기구, 예를 들어 동적 광 산란, SEC (크기 배제 크로마토그래피), 또는 당업자에게 공지된 다른 방법을 사용하여 결정되는 바와 같은 제형 중 생물활성 분자 미립자의 우세 집단의 평균 직경, 또는 이의 입자 크기 분포를 의미한다.

[0059] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "농축" 또는 "고농도" 는 적어도 1 mg/ml, 특히 약 10 mg/mL 초과, 바람직하게는 약 50 mg/mL 초과, 보다 바람직하게는 약 100 mg/mL 초과, 보다 더 바람직하게는 약 200 mg/mL 초과, 또는 가장 바람직하게는 약 250 mg/mL 초과의 단백질 최종 농도를 갖는 액체 단백질 제형을 기재한다.

[0060] 본원에서 일반적으로 사용되는 "재구성된 제형" 은 건조 분말, 동결건조, 분무 건조 또는 용매-침전 단백질을 희석제에 용해시켜, 단백질을 투여를 위해 수용액에 용해 또는 분산시켜 제조한 제형을 지칭한다.

[0061] "동결건조보호제" 는 단백질과 조합될 때, 동결건조 및/또는 후속 저장 시에 단백질의 화학적 및/또는 물리적 불안정성을 상당히 감소시키는 물질이다. 동결건조보호제는 일반적으로 "동결건조보호량" 으로 사전동결건조된 제형에 첨가된다. 이는 동결건조보호량의 동결건조보호제 존재 하에 단백질의 동결건조 후, 단백질이 본질적으로 그의 물리적 및 화학적 안정성 및 무결성을 보유하는 것을 의미한다.

[0062] 본원에서 일반적으로 사용되는 "희석제" 또는 "담체" 는 약학적으로 허용가능하며 (즉, 인간 또는 또 다른 포유동물에게 투여하기에 안전하고 무독성임) 액체 제형, 예컨대 동결건조 후 재구성된 수성 제형의 제조를 위한 유용한 성분이다. 예시적인 희석제는 멸균수, 주사용 정균수 (BWFI), pH 완충 용액 (예를 들어, 인산완충 식염수), 멸균 식염수, 링거액 또는 덱스트오로스 용액, 및 이의 조합을 포함한다.

[0063] "보존제" 는 박테리아, 진균, 또는 또 다른 감염성 작용제에 의한 오염 및/또는 작용을 감소시키기 위해 본원의 제형에 첨가될 수 있는 화합물이다. 보존제의 첨가는 예를 들어, 다용도 (다중-용량) 제형의 제조를 용이하게 할 수 있다.

[0064] 본원에서 일반적으로 사용되는 "벌크화제" 는 동결건조된 혼합물에 질량을 더하고 동결건조된 케이크의 물리적 구조에 기여하는 화합물이다 (예를 들어, 개방 기공 구조를 유지하는 본질적으로 균일한 동결건조된 케이크의 제조를 용이하게 함).

[0065] "치료적 유효량" 은 임의의 증상 또는 특정 병상 또는 장애의 측정가능한 개선 또는 예방을 달성하기 위해, 기대 수명의 측정가능한 향상을 달성하기 위해, 또는 일반적으로 환자의 삶의 질을 개선하기 위해 요구되는 최소 농도이다. 치료적 유효량은 특정 생물학적 활성 분자 및 치료할 특정 병상 또는 장애에 따라 좌우된다. 본원에 기재된 mAb 와 같은 많은 단백질의 치료적 유효량은 당업계에 잘 알려져 있다. 아직 확립되지 않은 또는 추가적인 장애를 치료하기 위해 임상적으로 적용될 mAb 와 같은 공지된 단백질로 특정 장애를 치료하기 위한 치료적 유효량의 단백질은 의사와 같은 숙련된 기술자의 기술 내에 잘 포함되는 표준 기법에 의해 결정될 수 있다.

[0066] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "주사가능성" 또는 "주사능" 은 임의로는 박막의, 18-32 게이지 바늘이 장착된 주사기를 통한 약학 제형의 주사 성능을 지칭한다. 주사가능성은 주사에 필요한 압력 또는 힘, 흐름의 균일성, 흡인 품질, 및 막힘이 없는 것과 같은 인자들에 따라 좌우된다. 액체 약학 제형의 주사 가능성은 점도-저하제를 첨가하지 않은 표준 제형과 감소된-점도 제형의 주사력을 비교함으로써 평가될 수 있다. 점도-저하제를 함유하는 제형의 주사력의 감소는 제형의 개선된 주사가능성을 반영한다. 감소된 점도 제형은, 점도-저하제를 대략 동일한 농도의 적절한 완충제로 대체하는 것을 제외하고는, 다르게는 동일한 조건 하에 동일한 농도의 단백질을 갖는 표준 제형과 비교하는 경우, 주사력이 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 30%, 보다

바람직하게는 적어도 50%, 및 가장 바람직하게는 적어도 75% 감소될 때 개선된 주사가능성을 갖는다. 대안적으로는, 액체 약학 제형의 주사가능성은 주사기가 동일한 힘으로 눌러질 때 상이한 액체 단백질 제형의 동일한 부피, 예컨대 0.5 mL, 또는 보다 바람직하게는 약 1 mL 를 주입하는데 필요한 시간을 비교함으로써 평가될 수 있다.

[0067] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "주사력" 은 주어진 주사 속도에서 주어진 바늘 게이지가 장착된 주어진 주사기를 통해 주어진 액체 제형을 밀어내는데 필요한 힘을 지칭한다. 주사력은 전형적으로 뉴턴으로 보고된다. 예를 들어, 주사력은 250 mm/분 주사 속도에서 0.50-인치 27-게이지 바늘이 장착된 0.25 인치 내경을 갖는 1 mL 플라스틱 주사기를 통해 액체 제형을 밀어내는데 필요한 힘으로서 측정될 수 있다. 시험 장비는 주사력을 측정하는데 사용될 수 있다. 동일한 조건 하에서 측정하는 경우, 더 낮은 점도를 갖는 제형은 일반적으로 전체적으로 더 낮은 주사력을 필요로 할 것이다.

[0068] 본원에서 일반적으로 사용되는 용어 "감소된-점도 제형" 은 점도-저하 첨가제(들) 또는 작용제(들) 를 함유하지 않는 상응하는 제형과 비교하여, 점도를 저하시키기 위해 하나 이상의 첨가제의 존재에 의해 변형되는 mAb 와 같은 고분자량 단백질 또는 저분자량 단백질의 높은 농도를 갖는 액체 제형을 지칭한다.

[0069] 본원에서 사용되는 용어 "점도-저하제" 는 점도-저하제가 없는 용액의 점도에 비해 용액의 점도를 감소시키는 작용을 하는 화합물을 지칭한다. 점도-저하제는 단일 화합물일 수 있거나 하나 이상의 화합물의 혼합물일 수 있다. 점도-저하제가 둘 이상의 화합물의 혼합물인 경우, 달리 명시되지 않는 한, 열거된 농도는 각각의 개별 작용제를 지칭한다. 예를 들어, 점도-저하제로서 약 0.25 M 메글루민 벤젠술포네이트를 함유하는 제형은 0.25 M 의 농도로 벤젠술폰산, 및 0.25 M 의 농도로 메글루민을 갖는 용액이다.

[0070] 특정 점도-저하제는 산성 또는 염기성 작용기를 함유하고, 친수성 및 소수성 부위를 나타낼 수 있으며, 이는 용액의 단백질을 포함하는 것과의 상호작용 특징에 영향을 준다. 작용기가 완전히 또는 부분적으로 이온화되는지 여부는 이들이 존재하는 제형의 pH 에 따라 좌우된다. 달리 명시되지 않는 한, 이온화가능한 작용기를 갖는 점도-저하제를 함유하는 제형에 대한 언급은 모 화합물 및 임의의 가능한 이온화된 상태 둘 모두를 포함한다.

[0071] 본원에서 사용되는 용어 "액체 제형" 또는 "제형" 은 환자에게 투여하기 전에 허용가능한 약학적 희석제 중에서 공급되거나 허용가능한 약학적 희석제 중에서 재구성되는 단백질이다.

[0072] 바이오시밀러 (Biosimilar) 는 미생물 세포 (원핵, 진핵), 인간 또는 동물 기원의 세포주 (예를 들어, 포유동물, 조류, 곤충), 또는 동물 또는 식물로부터 유래된 조직에 의해 생성될 수 있다. 제시된 바이오시밀러 생성물에 대한 발현 구축물은 일반적으로 이의 참조 생성물과 동일한 1 차 아미노산 서열을 인코딩할 것이다. 안전성, 순도 또는 효능에 영향을 미치지 않을 N- 또는 C-말단 절두와 같은 사소한 변형이 존재할 수 있다.

[0073] 바이오시밀러 mAb 는 안전성 및 효능 면에서 참조 mAb 와 생리학적으로 또는 생물학적으로 모두 유사하다. 바이오시밀러 mAb 는 표적 항원(들) 에 대한 결합; Fc 감마 수용체 (FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII) 의 동형, FcRn 및 보체 (C1q) 에 대한 결합; Fab-관련 기능 (예를 들어, 가용성 리간드의 중화, 수용체 활성화 및 차단); 또는 Fc-관련 기능 (예를 들어, 항체-의존적 세포-매개 세포독성, 보체-의존적 세포독성, 보체 활성화) 을 상세히 설명하는 어세이를 포함하는 하나 이상의 시험관내 연구를 사용하여 참조 mAb 에 대해 평가될 수 있다. 시험관내 비교는 약동학, 약력학 및/또는 안전성의 유사성을 입증하는 생체내 데이터와 조합될 수 있다. 참조 mAb 에 대한 바이오시밀러 mAb 의 임상적 평가는 약동학적 특성 (예를 들어, AUC_{0-inf}, AUC_{0-t}, C_{max}, t_{max}, C_{trough}); 약력학적 종말점; 또는 임상 효능의 유사성 (예를 들어 무작위화된 병행 군 비교 임상 시험을 사용) 의 비교를 포함할 수 있다. 바이오시밀러 mAb 와 참조 mAb 사이의 품질 비교는, "Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: Quality issues" (EMEA/CHMP/BWP/49348/2005), 및 "Guideline on development, production, characterization and specifications for monoclonal antibodies and related substances" (EMEA/CHMP/BWP/157653/2007) 에서 기재된 것들을 포함하는, 확립된 절차를 사용하여 평가될 수 있다.

[0074] 바이오시밀러 mAb 와 참조 mAb 사이의 차이는, 예를 들어 mAb 를 포스페이트, 다양한 지질 및 탄수화물과 같은 다른 생화학적 기에 부착시킴에 의한; 번역 후 단백질분해 절단에 의한; 아미노산의 화학적 성질의 변화 (예를 들어, 포르밀화) 에 의한; 또는 다수의 다른 메커니즘에 의한 번역후 변형을 포함할 수 있다. 다른 번역후 변형은 생산 공정 작업의 결과일 수 있다 - 예를 들어, 당화는 생성물을 환원 당에 노출시켜 발생할 수 있다.

다른 경우, 저장 조건은 산화, 탈아미드화 또는 응집과 같은 특정 분해 경로에 대해 허용적일 수 있는데, 이는 모든 이러한 생성물-관련 변이체가 바이오시밀러 mAb 에 포함될 수 있기 때문이다.

[0075] 본원에서 사용되는 용어 "약학적으로 허용가능한 염" 은 무기 산 및 염기, 및 유기 산 및 염기를 포함하는 약학적으로 허용가능한 비-독성 산 및 염기로부터 제조되는 염을 지칭한다.

[0076] 본원에서 사용되는 용어 "알킬 기" 는 직쇄, 분지쇄 및 시클릭 탄화수소기 를 지칭한다. 달리 명시하지 않는 한, 용어 알킬 기는 하나 이상의 이중 또는 삼중 결합을 함유하는 탄화수소 기를 포함한다. 적어도 하나의 고리계를 함유하는 알킬 기는 "시클로알킬" 기이다. 적어도 하나의 이중 결합을 함유하는 알킬 기는 "알케닐 기" 이고, 적어도 하나의 삼중 결합을 함유하는 알킬 기는 "알키닐 기" 이다.

[0077] 본원에서 사용되는 용어 "아릴" 은 융합된 고리계를 포함하는 방향족 탄소 고리계를 지칭한다. "아릴" 기에서, 고리를 형성하는 각각의 원자는 탄소 원자이다.

[0078] 본원에서 사용되는 "헤테로아릴" 은 융합된 고리계를 포함하는 방향족 고리계를 지칭하며, 여기서 고리를 형성하는 원자 중 적어도 하나는 헤테로원자이다.

[0079] 또한, 본원에서 사용되는 용어 "헤테로사이클" 은 융합된 고리계를 포함하는, 방향족이 아닌 고리계를 지칭하며, 여기서 고리를 형성하는 원자 중 적어도 하나는 헤테로원자이다.

[0080] 본원에서 사용되는 용어 "헤테로원자" 는 임의의 비-탄소 또는 비-수소 원자이다. 바람직한 헤테로원자는 산소, 황 및 질소를 포함한다.

[0081] 용어 "생물공정" 은 치료적 세포 제조 공정을 지칭하며, 이는 업스트림 공정 및 다운스트림 공정으로 분리될 수 있다. 업스트림 공정은 세포 화합물로부터 단백질을 분리하기 전의 전체 공정으로서 정의된다. 업스트림 공정은 세포 보관 (cell banking) 까지의 초기 세포 단리 및 배양, 및 최종 수확까지 세포의 배양 확장을 포함한다. 생물공정의 다운스트림 부분은 업스트림의 공급물로부터 표적 단백질이 정제되고 순도 및 품질 요건을 충족하도록 가공되는 부분을 의미한다. 다운스트림 공정에 들어갈 때 일부 유형의 세포는 파괴되어야 할 필요가 있다. 또 다른 세포는 표적 단백질을 배지 내로 분비할 수 있고 여과를 통해 제거될필요가 있다.
추가의 다운스트림 처리는 통상 주요 섹션: 정제 섹션 및 연마 섹션으로 나뉜다. 생물공정은 뱃치 공정 또는 반연속 또는 연속 공정일 수 있다.

[0082] 용어 "투과 플럭스" 는 전형적으로 몇 분 정도의 특정 시간 내에 규정된 필터를 통과하는 부피를 지칭한다.

[0083] 용어 "여과 단계" 는 액체가 그의 크기를 기반으로 하여 물질의 분리를 가능하게 하는 규정된 기공 크기를 갖는 물질을 통과하는 공정 단계를 지칭한다. 일부 필터의 경우 기공 크기는 나노미터로 정의된다. 또 다른 필터의 경우, 기공 크기는 직접 정의되지 않지만, 보류될 분자의 중량이 주어진다. 여과 물질은 여과 장치의 단면을 차단하는 방식으로 배치될 수 있다 (전량 (dead-end) 여과). 여과 물질은 여과될 용액이 상기 물질의 표면을 가로질러 접선으로 흐르는 방식, 예를 들어 접선 유동 여과로 배치될 수 있다. 여과 물질은 멤브레인, 유리 필터, 금속 필터 또는 수지일 수 있다. 수지는 크로마토그래피 컬럼에서 유지될 수 있다. 수지는 양이온성 또는 음이온성 교환 수지, 친화성 수지, 예컨대 단백질 A 또는 글루타티온 수지, 또는 소수성 또는 친수성 수지일 수 있다.

[0084] 완충제 교환 및 부피 감소 후의 용어 "단백질 회수" 는 공정 단계 후에 회수될 단백질의 분획물을 지칭한다.

[0085] 용어 "접선 유동 여과" 또는 "TFF" 는 용액이 규정된 필터를 접선으로 통과하는 여과 방법을 지칭한다. 필터 기공보다 더 작은 물질은 용액 유량, 점도, 온도 및 기타 인자로 인해 발생하는 압력에 의해 필터를 통해 용액 밖으로 배출된다.

[0086] 제형

[0087] mAb 의 것과 같은 생체적합성, 저점도 단백질 용액은 피하 (SC) 및 근육내 (IM) 주사에 유용한 부피로, 전형적으로 SC 의 경우 약 2 ml 이하 및 IM 의 경우 약 5 ml 이하, 보다 바람직하게는 SC 의 경우 약 1 ml 이하 및 IM 의 경우 약 3 ml 이하의 단백질의 치료적 유효량을 전달하는데 사용될 수 있다. 단백질은 일반적으로 임의의 분자량을 가질 수 있지만, 일부 구현예에서 고분자량 단백질이 바람직하다. 다른 구현예에서, 단백질은 저분자량 단백질이다.

[0088] 이제, 본 발명은 적어도 적합한 양이온성 부형제와 조합될 수 있는 부형제로서 점도-감소량의 캄포술폰산과 액체 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 감소시키고 임의로는 안정성

을 개선하는 방법을 제공한다. 이러한 양이온성 부형제는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물의 군에서 선택될 수 있다. 이들 부형제는 제형에 적합한 양으로 첨가된다. 바람직하게는, 이들은 포함하는 액체 단백질 조성물에 등몰량으로 첨가된다. 용액의 pH 값, 액체 단백질 조성물의 농도, 단백질의 성질, 첨가된 부형제(들) 의 결과적인 농도 및 그의 (그들의) 화학적 성질에 따라 점도 감소 효과가 달라진다. 특정 구현예에서, 액체 조성물은 액체 약학 제형이고 단백질은 치료 단백질이다.

[0089] 특히, 캄포술폰산 및 적어도 하나의 양이온성 부형제를 농축된 액체 단백질 조성물, 예를 들어 (mAbC, mAbD 및 mAbE) 의 용액에 등몰량으로 첨가하는 경우, 특히 양호한 점도 감소가 달성된다. 본 발명에 따르면 mAbC 는 단일클론 항체 인플릭시맙을 나타내고, mAbD 는 단일클론 항체 에볼로쿠맙을 나타내고, mAbE 는 단일클론 항체 레슬리주맙을 나타낸다.

[0090] 예기치 않게, 특정 등몰 혼합물로서 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물의 군에서 선택되는 양이온성 산과 조합된 캄포술폰산의 혼합물이 단일클론 항체 또는 융합 단백질의 고농축 단백질 액체 제형의 점도를 상당히 감소시킨다는 것이 실험에 의해 발견되었다.

[0091] 또한, 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴의 군에서 선택되는 양이온성 산과 조합된 캄포술폰산의 혼합물이 단백질을 포함하는 조성물 및 제형에서 상승작용적으로 점도를 감소시키고/시키거나 안정성을 증가시킬 수 있다는 것이 발견되었다. 본원에서 정의되는 "상승작용적" 은 성분의 조합의 작용이 각각의 성분 단독의 작용의 합계보다 더 큰 효과를 지칭한다.

[0092] 본 발명은 추가로, 점도-감소 효과를 갖는 농도로 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴의 군에서 선택되는 양이온성 산과 조합된 부형제로서 적어도 캄포술폰산과 액체 단백질 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로 약학적 활성 단백질을 포함하는 액체 제형 또는 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 상승작용적으로 감소시키는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서 점도는 캄포술폰산 및 아르기닌의 조합에 의해 상승작용적으로 감소한다. 바람직하게는 점도는 1:1 의 농도비로의 캄포술폰산 및 아르기닌의 조합에 의해 상승작용적으로 감소한다.

[0093] 또한 놀랍게도, 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴의 군에서 선택되는 양이온성 산을 캄포술폰산에 첨가하는 것이 캄포술폰산 단독과 비교하여 단백질의 안정성을 개선시킨다는 것이 발견되었다.

[0094] 본 발명은 추가로, 점도-감소 효과를 갖는 농도로 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴의 군에서 선택되는 양이온성 산과 조합된 부형제로서 적어도 캄포술폰산과 액체 단백질 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로의 액체 제형 중 약학적 활성 단백질 또는 액체 조성물 중 단백질을 안정화시키는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서 단백질은 캄포술폰산 및 아르기닌 또는 캄포술폰산 및 오르니틴의 조합에 의해 안정화된다. 바람직하게는 단백질은 1:1 의 농도비로의 캄포술폰산 및 아르기닌 또는 캄포술폰산 및 오르니틴의 조합에 의해 안정화된다. 바람직하게는 약학적 활성 단백질의 안정성은, 부형제로서 캄포술폰산과 액체 단백질 조성물을 조합하는 단계를 포함하여, 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로 약학적 활성 단백질을 포함하는 액체 제형 또는 단백질을 포함하는 액체 조성물과 비교하여 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 또는 75% 개선된다.

[0095] 본 발명은 추가로, 점도-감소 효과를 갖는 농도로 아르기닌과 조합된 부형제로서 캄포술폰산과 액체 단백질 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로 약학적 활성 단백질을 포함하는 액체 제형 또는 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 상승작용적으로 감소시키는 반면, 부형제로서 캄포술폰산과 액체 단백질 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 약학적 활성 단백질의 안정성이 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로 약학적 활성 단백질을 포함하는 액체 제형 또는 단백질을 포함하는 액체 조성물과 비교하여 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 또는 75% 개선되는 방법을 제공한다.

[0096] 예시적 구현예에서, 단백질 또는 치료 단백질은 상기 기재된 바와 같은 높은 단백질 농도이다. 일부 구현예에서, 점도 감소는 점도 감소제 용액 대신에 동일한 양으로 액체 단백질 조성물에 완충제 용액을 첨가한 대조군 제형과 비교하여 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% or 70% 이다.

[0097] 예시적 구현예에서, 단백질 또는 치료 단백질은 적어도 50 mg/ml, 바람직하게는 75 mg/ml 초과, 보다 바람직하게는 100 mg/ml 초과의 상기 기재된 바와 같은 높은 단백질 농도이다. 본원에서 시험되고 개시된 제형은 150 - 280 mg/ml 범위의 단백질 농도를 갖는다. 일부 구현예에서, 점도 감소는 대조군 제형과 비교하여 적

어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70% 또는 75% 또는 그 이상이다.

[0098] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료 단백질 및 부형제로서 캄포술폰산, 및 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 추가의 양이온성 부형제를 포함하는 액체 용액을 제공하며, 여기서 제형은 대조군 제형에 비해 감소된 점도를 나타낸다. 예시적 구현예에서, 치료 단백질은 상기 기재된 바와 같은 높은 단백질 농도이고, 본원에 기재된 부형제(들) 는 점도-감소 농도로 존재한다. 캄포술폰산 및 이의 부형제(들) 는 그의 용해도 한계까지의 농도에서 사용될 수 있다. 이러한 용액은 점도를 상당히 증가시키지 않고, 안정성을 더 개선하고, 응집을 감소시키고/시키거나 제형을 등장성으로 만드는데 효과적인 양으로 다른 첨가제를 추가로 포함할 수 있다.

[0099] 추가 구현예에서, 부형제로서 캄포술폰산의 농도는 약 500 mM 미만, 특히 200 mM 미만이다. 바람직하게는 캄포술폰산의 농도는 적어도 약 50 mM 내지 약 300 mM, 또는 적어도 약 100 mM 내지 약 250 mM, 또는 적어도 약 140 mM 내지 약 200 mM 이다. 예시적인 구현예에서 부형제의 농도는 적어도 약 50, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 210, 220, 250 또는 300 mM 또는 그 초과이다. 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제의 농도는 적어도 약 50 mM 내지 약 300 mM, 또는 적어도 약 100 mM 내지 약 250 mM, 또는 적어도 약 140 mM 내지 약 200 mM 이다. 예시적인 구현예에서 적어도 하나의 양이온성 부형제의 농도는 적어도 약 50, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 210, 220, 250 또는 300 mM 또는 그 초과이다. 캄포술폰산의 바람직한 농도는 단독으로 또는 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합으로 사용되는 경우 25 mM 내지 250 mM, 보다 바람직하게는 50 mM 내지 200 mM, 가장 바람직하게는 75 mM 내지 150 mM 이다. 조합으로 사용되는 경우, 적어도 하나의 양이온성 부형제의 농도는 바람직하게는 25 mM 내지 250 mM, 보다 바람직하게는 50 mM 내지 200 mM, 가장 바람직하게는 75 mM 내지 150 mM 이다. 캄포술폰산이 아르기닌, 카르니틴, 메글루민 및 오르니틴의 군에서 선택되는 양이온성 부형제와 조합으로 사용되는 경우, 캄포술폰산과 양이온성 부형제 사이의 몰비는 바람직하게는 1:3 내지 3:1 범위, 보다 바람직하게는 1:2 내지 2:1 범위, 가장 바람직하게는 1:1 이다. 예를 들어, 25 mM 카르니틴과 50 mM 캄포술폰산의 조합은 이들 부형제의 1 : 2 혼합물의 용액 중 75 mM 의 부형제 농도를 산출한다. 다른 예시적인 구현예는 점도를 상당히 증가시키지 않고 제형을 등장성으로 만드는데 효과적인 부형제의 농도를 포함한다. 예시적인 농도는 약 150 mM 이상의 농도를 포함하고, 추가 구현예에서 그 양은 적어도 약 170 mM 이상이다. 그러나, 선택된 농도는 액체 단백질 조성물에서 점도의 효과적인 감소를 초래하고, 선택된 농도는 유기체에 대해 안전하고 허용가능하게 유지되어야 한다.

[0100] 또 다른 양태에서, 본 발명은 치료 단백질과 함께 부형제로서 캄포술폰산, 및 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하는 동결건조된 단백질 제형을 제공하며, 권고된 양의 희석제로 재구성시, 제형은 대조군 제형에 비해 감소된 점도를 나타낸다. 예시적 구현예에서, 치료 단백질은 상기 기재된 바와 같은 높은 단백질 농도이다. 일부 구현예에서, 부형제는 예를 들어 98 mg mAbC: 150 mM 부형제를 포함하는 희석제로 재구성시 점도를 감소시키는데 효과적인 양으로 존재한다. 이러한 제형은 점도를 상당히 증가시키지 않고, 안정성을 더 개선하고, 응집을 감소시키고/시키거나 제형을 등장성으로 만드는데 효과적인 양으로 추가 첨가제를 포함할 수 있다.

[0101] 본 발명의 예시적인 구현예에서, 부형제(들) 및 선택된 부형제의 농도는 적어도 치료 단백질 mg 당 적어도 약 1 μg, 치료 단백질 mg 당 최대 약 1.0 mg 이다. 일부 구현예에서, 부형제의 농도는 치료 단백질 mg 당 적어도 약 1, 10, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 또는 550 μg 이다. 다른 예시적인 구현예에서, 부형제의 농도는 치료 단백질 mg 당 최대 약 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000 μg 이다.

[0102] 또 다른 구현예에서, 본 발명은 본원에 기재된 양 또는 농도 중 어느 하나로 부형제(들) 로서 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물의 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합으로 캄포술폰산을 사용함으로써 액체 제형 중 단백질의 자가-회합을 방지하는 방법을 제공한다.

[0103] 본 발명은 또한 본 발명의 액체 단백질 제형, 및 그의 투여를 위한 지시사항을 임의로는 용기, 주사기 및/또는 다른 투여 장치와 함께 포함하는 키트를 제공한다. 본 발명은 추가로, 임의로는 용기 중, 본 발명의 동결건조된 단백질 제형, 및 그의 재구성 및 투여를 위한 지시사항을 임의로는 멸균 희석제의 바이알, 및 임의로는 주사기 또는 다른 투여 장치와 함께 포함하는 키트를 제공한다. 예시적인 용기는 바이알, 튜브, 병, 단일 또는 다중-챔버 사전충전 주사기, 또는 카트리지, 뿐만 아니라 웰에 놓인 즉시사용가능 동결건조 또는 분무건조된

제형을 포함하는 96-웰 플레이트를 포함한다. 예시적인 투여 장치는 바늘이 있거나 없는 주사기, 주입 펌프, 제트 주입기, 펜 장치, 경피 주입기, 또는 다른 무-바늘 주입기를 포함한다.

[0104] 본 발명의 또 다른 양태는: (1) 부형제로서 캄포술폰산, 및 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물로 이루어지는 군에서 선택되는 적합한 부형제의 제 1 농도 및 치료 단백질 예컨대 항체를 포함하는 제 1 용액의 점도를 평가하는 단계, (2) 부형제의 상이한 제 2 농도 및 치료 단백질을 포함하는 제 2 용액의 점도를 평가하는 단계, 및 (3) 제 1 용액이 덜 점성인 경우, 부형제의 제 1 농도는 부형제의 제 2 농도보다 더 점도를 감소시키는지를 결정하는 단계를 포함하는 부형제의 점도-저하 농도를 스크리닝하는 방법을 제공하는 것이다. 점도는 예를 들어 m-VROC™ Technology 유량계 (RheoSense, San Ramon, California, USA) 또는 Aries ARG2 유량계 또는 Brookfield RV-DVIII 유량계를 사용하여 결정될 수 있다.

[0105] 부형제의 응집-감소 또는 안정화 농도를 스크리닝하기 위해 유사한 방법이 제공된다.

[0106] 안정성은 온도 (열안정성) 및/또는 기간 (저장 수명) 의 범위에 걸쳐 및/또는 스트레스가 많은 처리 상황 (예를 들어, 물리적 진탕) 에 노출된 후에 형태 변화를 모니터링하는 것을 포함하는 많은 방식으로 평가될 수 있다.

다양한 농도의 제형 성분을 함유하는 제형의 안정성은 다양한 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 예를 들어, 단백질 응집의 양은 탁도의 시각적 관찰에 의해, 특정 파장에서 흡광도의 측정에 의해, 크기 배제 크로마토그래피 (단백질의 응집물이 그의 자연적 활성 상태에서의 단백질과 비교하여 상이한 분획물 중 용리될 것임), HPLC, 또는 다른 크로마토그래피 방법에 의해 측정될 수 있다. 시차 주사 열량계 (DSC) 를 사용하는 것을 포함하여, 단백질의 몰 타원율을 측정하는, 예를 들어 변성의 온도, 또는 원편광 이색성 (CD) 을 결정하기 위해 다른 형태 변화 측정 방법이 사용될 수 있다. 형광을 또한 조성물을 분석하는데 사용할 수 있다. 형광은 적합한 파장을 필요로 하는 광의 흡수에 후속하는 광의 방출을 포함한다. 잠재적 판독값은 광의 극성 특성, 광 강도 또는 방출 파장의 변화이다. 형광 방출은 단백질에 고유한 것일 수 있거나, 예를 들어 부분적으로 언폴딩된 단백질의 소수성 포켓에 결합하는 형광 리포터 분자로 인한 것일 수 있다. 리포터 분자의 결합 증가는 단백질 샘플의 형광 신호의 검출에 의해 모니터링될 수 있다. 안정성을 측정하기 위한 다른 수단이 사용될 수 있으며 당업자에게 널리 공지되어 있다. 본 발명에 따르면, 조성물 및 제형의 안정성은 상기 기재된 방법 중 적어도 하나가 안정화 효과를 나타낼 때 증가한다.

[0107] 실행된 실험에서, 먼저, 캄포술폰산 단독의 점도 저하 가능성을 시험하고 항체 (mAbC, mAbD, mAbE) 와 조합한다. 단백질의 농도는 높은 점도 수준을 생성하기 위해 하기 실시예에 주어진 바와 같이 조정된다.

[0108] 이미 상기 기재된 바와 같이, 이들 제형의 pH 값은 이들의 유효성 및 각각의 약학적 활성 단백질의 유용성에 대해 특히 중요하다. 따라서, 조사된 단백질 제형의 pH 는 약 3 내지 약 8, 바람직하게는 4.5 내지 약 8.0 의 범위로 조정되는 것이 바람직하다. 함유 단백질 또는 펩티드의 성질에 따라 pH 값은 바람직하게는 약 3 내지 약 8, 바람직하게는 4.5 내지 약 5.5 범위 또는 약 5.0 내지 약 8.0 범위로 조정된다. pH 를 조정하는데 사용되는 완충제는 바람직하게는 pH 5.0 의 아세테이트 완충제 (25 mM) 및 pH 7.2 또는 7.5 의 인산완충 식염수 (10 mM) 이다. 그러나 필요한 경우, 또 다른 완충제가 사용될 수 있으며, 이는 함유된 약학적 활성 단백질과 양립가능하고 생리학적으로 허용가능한 것이다.

[0109] 점도 저하제의 농도는 50 mM 내지 500 mM 범위로 조정된다. 칩 기반 (미세-전자-기기 시스템) 모세관 유량계, m-VROC™ (RheoSence, San Ramon, CA) 을 이용하여 동역학 점도를 측정하였다. 일반적으로, 절대 점도 (절대 점도 계수) 로서도 불리는 동역학 점도는 고농축 용액 내의 단백질 분자의 자가-회합에 의해 결정될 수 있는 내부 저항의 척도이다.

[0110] 결정된 점도는, 특정 농도의 캄포술폰산을 특정 항체와 함께 용액 중 적용하는 것이 고농축 액체 단백질 조성물의 점도의 측정가능한 유의한 감소를 초래한다는 것을 명백하게 나타낸다.

[0111] 그러나 특히 예기치 않게, 실험은 캄포술폰산, 및 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물의 군에서 선택되는 부형제의 조합된 첨가가 상당히 더 높은 점도 감소를 유도한다는 것을 나타내었다.

[0112] 이미 지적한 바와 같이, 특히 캄포술폰산, 및 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴 또는 이의 혼합물의 군에서 선택되는 부형제의 혼합물이 등몰량으로 농축된 액체 단백질 조성물, 예를 들어 mAbC, mAbD 및 mAbE 의 용액에 첨가되는 경우, 특히 양호한 점도 감소가 달성된다.

[0113] 추가 실험에서, 고농축 항체 용액 (mAbC, mAbD & mAbE) 의 점도를 감소시키기 위한 캄포술폰산과 조합된 시험한 양이온성 부형제 중 어느 하나의 혼합물의 가능성을 조사하였다. 각각의 이들 연구에 대해, 등몰량의 이러

한 부형제의 혼합물을 첨가하였다. 등몰량의 이러한 부형제가 바람직하다. 150 mM 농도의 첨가된 부형제에 대해 특히 양호한 결과가 여기서 발견되었다.

[0114] 모든 모델 항체를 pH 5 또는 pH 5.5 의 아세테이트 완충제 또는 pH 7.2 의 포스페이트 완충제 중에서 약 100 mg/ml, 일부 약 150 mg/ml, 특히 200 mg/ml 초과, 및 특히 220 mg/ml (mAbE) 의 다소 높은 농도에서 제형화하였다. 칩 기반 (미세-전자-기기 시스템) 모세관 유량계, m-VROC™ (RheoSence, San Ramon, CA) 을 이용하여 20℃ 에서 점도를 측정하였다.

[0115] 모든 경우, 150 mM 의 양이온성 부형제 농도에서 특정 등몰 혼합물은 고농축 항체 용액에서 측정된 점도의 유의한 감소를 나타낸다.

[0116] 추가 실험에서, 캄포술폰산 및 상기 언급된 양이온성 부형제 중 적어도 하나의 조합이 각각 150 mM의 총 농도로 액체 단백질 조성물에 첨가될 때 항체 제형의 점도를 상당히 감소시킬 수 있다는 것이 발견되었다.

[0117] 또한, 단백질로서 mAbD 가 함유되는 용액에서, 각각의 150 mM 캄포술폰산 및 부형제로서 양이온성 부형제의 첨가는 점도의 유의한 감소를 초래한다.

[0118] 또한, 실행된 실험에 의해 나타낸 바와 같이, 본원에서 언급된 보조제의 다양한 다른 조합은 고농도 항체 용액의 점도를 감소시킨다. 따라서, 여기서 언급된 부형제의 조합은 완전한 것이 아니며, 상응하는 결과를 초래하는 다른 가능한 조합이 존재한다.

[0119] 이와 관련하여, 다양한 액체 단백질 조성물의 점도를 감소시키려는 시도는, 특정 용액에서 함유된 단백질에 따라, 상이한 첨가제가 최상의 안정화 및 점도 감소를 야기한다는 것을 나타내었다.

[0120] 이러한 맥락에서 단백질 mAbC 에 대한 최상의 제형은 포스페이트 완충제, 폴리소르베이트 80, 75 mM 캄포술폰산, 및 Milli-Q 수에 용해되고 pH 7.2 로 조정된 75 mM 아르기닌을 포함하는 조성물이다.

[0121] mAbE 의 경우 최상의 제형은 아세테이트 완충제, 0.1 g/L 폴리소르베이트 80, 75 mM 캄포술폰산 및 Milli-Q 수에 용해되고 pH 5.5 로 조정된 75 mM 아르기닌을 포함하는 조성물이다.

[0122] 따라서, 본 발명의 특히 바람직한 구현예는 단독 또는 조합으로 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 부형제로서 양이온성 부형제와 조합으로 부형제로서 캄포술폰산을 점도 감소를 위해 상기 기재된 바와 같은 고농축 액체 단백질 조성물에 첨가하는 것으로 이루어진다. 특히 바람직하게는, 메글루민 또는 오르니틴과, 또는 카르니틴과 조합으로의 캄포술폰산의 첨가는 양호한 점도 감소를 초래한다.
본 발명의 또 다른 바람직한 구현예에서 부형제로서 아르기닌과 조합된 캄포술폰산은 또한 pH 7.2 의 포스페이트 완충제를 포함하는 용액에서와 같이 pH 5.0 의 아세테이트 완충제를 포함하는 조성물에서도 특히 양호한 점도 감소를 초래한다.

[0123] 용액 제제의 제형화 및 동결 건조는 상기 기재된 바와 같은 방법에 의해 실행될 수 있다.

[0124] 요약하면, 매우 농축된 액체 단백질 조성물에서 중요한 생리학적 특성으로서의 점도는 부형제 캄포술폰산을 첨가하여 유리하게 감소될 수 있다. 특히 양호한 점도 감소 효과는 캄포술폰산이 아르기닌, 메글루민, 오르니틴, 카르니틴의 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합되는 경우 달성가능하다. 따라서, 특히 양호한 점도 감소 효과는: 메글루민과 캄포술폰산, 오르니틴과 캄포술폰산, 카르니틴과 캄포술폰산 및 아르기닌과 캄포술폰산의 조합을 첨가하여 달성된다.

[0125] 한 양태에서 본 발명은 단백질 용액에서 점도-감소 효과를 갖는 농도로 부형제로서 적어도 캄포술폰산과 단백질 용액을 조합하는 단계를 포함하는, 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로 약학적 활성 단백질을 포함하는 액체 제형의 점도를 감소시키는 방법을 제공한다.

[0126] 또 다른 양태에서 본 발명은 단백질 용액을 캄포술폰산 및 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합하는 단계를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 방법을 제공한다.

[0127] 또 다른 양태에서 본 발명은 캄포술폰산이 L-아르기닌, 메글루민, L-오르니틴 및 L-카르니틴의 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제와 조합으로 첨가되는, 상기 언급된 바와 같은 방법을 제공한다.

[0128] 또 다른 양태에서 본 발명은 치료 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자 및 융합 단백질의 군에서 선택되는, 상기 언급된 바와 같은 방법을 제공한다.

[0129] 또 다른 양태에서 본 발명은 제형의 점도가 적어도 12% 감소되는, 상기 언급된 바와 같은 방법을 제공한다.

[0130] 또 다른 양태에서 본 발명은 제형의 점도가 적어도 50% 감소되는, 상기 언급된 바와 같은 방법을 제공한다.

[0131] 또 다른 양태에서 본 발명은 부형제가 없거나 부형제 조합이 없는 동일한 제형과 비교하여 감소된 점도를 갖는 상기 언급된 바와 같은 방법에 의해 제조되는 액체 약학 제형을 제공한다.

[0132] 또 다른 양태에서 본 발명은 적어도 90 mg/ml 에서 최대 250 mg/ml 의 농도로 치료 단백질 및 점도 감소 부형제로서 캄포술폰산을 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0133] 또 다른 양태에서 본 발명은 부형제의 농도가 약 500 mM 미만, 특히 200 mM 미만인 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0134] 또 다른 양태에서 본 발명은 pH 가 약 4.5 내지 약 8.0 범위이며 완충제를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0135] 또 다른 양태에서 본 발명은 pH 가 약 4.5 내지 약 7.5 범위이며 완충제를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0136] 또 다른 양태에서 본 발명은 pH 가 약 5 내지 약 7.2 이며 완충제를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0137] 또 다른 양태에서 본 발명은 포스페이트 또는 아세테이트 완충제를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0138] 또 다른 양태에서 본 발명은 안정화제를 포함하는 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0139] 또 다른 양태에서 본 발명은 안정화제로서 당 또는 계면활성제를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0140] 또 다른 양태에서 본 발명은 안정화제로서 수크로오스를 포함하는 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0141] 또 다른 양태에서 본 발명은 안정화제로서 폴리소르베이트 또는 폴록사머 80 을 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 액체 약학 제형을 제공한다.

[0142] 또 다른 양태에서 본 발명은 상기 언급된 약학 조성물을 동결건조시키는 단계를 포함하는, 동결건조된 분말의 제조 방법을 제공한다.

[0143] 또 다른 양태에서 본 발명은 치료 단백질 및 캄포술폰산을 포함하는 상기 언급된 바와 같은 동결건조된 분말을 제공하며, 여기서 캄포술폰산 또는 캄포술폰산과 양이온성 부형제의 조합은 재구성시 500 mM 미만, 바람직하게는 200 mM 미만의 농도를 산출하기에 충분한 양으로 존재한다.

[0144] 또 다른 양태에서 본 발명은 멸균 수성 희석제를 첨가하는 단계를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 동결건조된 분말을 재구성하는 방법을 제공한다.

[0145] 또 다른 양태에서 본 발명은 치료 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자 및 융합 단백질의 군에서 선택되는, 상기 언급된 바와 같은 방법을 제공한다.

[0146] 또 다른 양태에서 본 발명은 치료 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자 및 융합 단백질의 군에서 선택되는, 상기 언급된 바와 같은 약학 제형 또는 약학 조성물을 제공한다.

[0147] 또 다른 양태에서 본 발명은 치료 단백질이 항체, 항체 단편, 미니바디, 나노바디, 변형된 항체, 항체-유사 분자 및 융합 단백질의 군에서 선택되는, 상기 언급된 바와 같은 동결건조된 분말을 제공한다.

[0148] 또 다른 양태에서 본 발명은 상기 언급된 바와 같은 약학 제형 또는 동결건조된 분말을 포함하는 키트를 제공한다.

[0149] 또 다른 양태에서 본 발명은 상기 언급된 바와 같은 방법에 의해 수득되며 사용 전에 용액 제제로 만들어질 수 있는 약학 조성물의 동결 건조 또는 분무 건조된 제제를 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 키트를 제공한다.

[0150] 또 다른 양태에서 본 발명은 96-웰 플레이트에 놓이는 즉시 사용 가능 동결 건조 또는 분무 건조된 제형을 포함하는, 상기 언급된 바와 같은 키트를 제공한다.

[0151] 또 다른 양태에서 본 발명은 용기, 주사기 및/또는 바늘이 있거나 없는 다른 투여 장치, 주입 펌프, 제트 주입기, 펜 장치, 경피 주입기, 또는 다른 무-바늘 주입기 및 지시사항을 포함하는, 환자에게 투여를 위한 상기 언급된 바와 같은 키트를 제공한다.

[0152] 또한, 상기 언급된 부형제 및 부형제 조합이 생물공정에서 유익하다는 것이 발견되었다. 부형제 및 부형제 조합은 크로마토그래피 컬럼에 대한 배압을 감소시키고 더 큰 유량을 허용하는 것으로 발견되었다. 이는 용액 중의 단백질을 변형시키는 전단력을 감소시켜, 따라서 응집이 감소될 것이다. 전체적으로 더 높은 수율을 수득할 수 있다. 이 외에도, 공정이 더 높은 유량을 사용하여 실행될 수 있는 경우, 공정 시간은 상당히 감소될 것이다.

[0153] 여기서 의미되는 바와 같은 생물공정에서, 점도-감소 첨가제로서 역할하는 것으로 발견되는 이들 부형제의 첨가는, 한편으로는 미손상 단백질의 수율이 개선될 수 있고 다른 한편으로는 공정의 지속시간이 감소될 수 있다는 점에서, 개선된 공정 경제성을 초래한다.

[0154] 본 발명에서 실시된 실험의 기초는 Amicon® 원심분리 여과 연구에 의해 준비된다. 이들 실험은 용액이 원심력에 의해 필터 멤브레인을 통과하는 임의의 공정 단계와 유사하다. 원심력에 대한 저항은 이 실험의 맥락 내에서 일정한 것으로 가정되는 필터의 특성, 및 용액의 점도에 따라 좌우된다. 가장 유리한 용액을 제공하는 부형제 및 부형제 조합은 교반 셀을 사용하는 보다 복잡한 실험을 위해 선택된다.

[0155] Amicon® 교반 셀을 사용하는 실험에서 질소 기체는 필터를 통과하는 용액에 압력을 가하는데 사용된다. 압력의 저항은 이 실험의 맥락 내에서 일정한 것으로 가정되는 필터의 특성, 및 용액의 점도에 따라 좌우된다. 가장 유리한 결과를 제공하는 부형제 조합은 실험실 규모 접선 유동 여과 (TFF) 시스템을 사용하는 실험에서 사용된다.

[0156] 이들 두 실험은 전량 여과 접근방식 동안 점도 감소제의 유익한 효과를 강조한다. 또한, 기술적 접근방식에서, 용액이 예를 들어 크로마토그래피 정제 동안, 백-엔드 압력에 의해 가해진 힘에 의해 필터 또는 매질, 예컨대 겔 베드를 통과하는 경우, 개시된 점도 감소 부형제가 유익한 효과를 갖는다는 것이 명백해진다. 상기 여과 단계가 다운스트림 공정에서 주로 사용되지만, 점도 감소 부형제는 또한 업스트림 공정에서 유익할 수 있다. 세포 물질 및 잔해를 제거하기 위해 용액이 튜빙 또는 필터를 통과할 때 압력 제한 및 전단력의 기재된 부정적 효과와 함께, 단백질 농도가 점도를 일으키는 수준으로 상승되는 경우, 본 발명은 명백하게 유익한 효과를 가질 것이다. 접선 유동 여과에서 공정 효율을 측정하기 위해, 이전에 사용된 방법과 대조적으로 대부분의 필드 유동이 필터를 통과하기보다는 필터의 표면을 가로질러 접선으로 이동하는 경우, 실험실 규모 TFF 시스템을 사용하였다. 여과 원리는 상기 기재된 방법에서와 상이하지만, 여기서 여과 효율은 또한 일정하게 유지되는 멤브레인의 저항, 및 본 발명에 의해 변형되는 용액 점도에 따라 좌우된다. 여과 방법은 제형 완충제를 교환하거나 생체분자의 농도를 원하는 수준으로 만들기 위해 사용되는 전형적인 단위 작업이다. 본원에서 사용되는 교반 셀은 전량 필터의 표현이며, 공급물은 물질의 상부에 더 큰 분자를 보유하는 여과 물질을 통과하여 장치의 다른 말단 상에서 여과물을 방출한다.

[0157] 완충제를 교환하고 단백질을 농축하기 위한 빈번한 방법은 접선 유동 여과이며, 여기서는 이전에 사용된 방법과 대조적으로 대부분의 필드 유동이 필터를 통과하기보다는 필터의 표면을 가로질러 접선으로 이동한다. 교반 셀이 접선 유동 여과에서 사용되는 경우와 같이, 큰 분자는 작은 분자를 적합한 여과 물질을 통과시킴으로써 상기 작은 분자로부터 분리된다. 전량 여과의 한 형태를 나타내는 교반 셀과 대조적으로, 접선 유동 여과에서 공급물의 유동 기하학 구조는 필터 케이크의 형성을 방지하고 연속 공정을 허용하기 위해 상이하다. 교반 셀이 사용되는 경우 필터 케이크의 형성은 마찬가지로 교반 장치를 사용하여 방지된다. 따라서, 교반 셀은 필터 기하학 구조의 차이에도 불구하고 접선 유동 여과 장치와 매우 유사하다. 두 방법의 효율은 멤브레인 저항에 따라 결정적으로 좌우된다. 또한, 높은 점도는 사용할 수 있는 플럭스 속도를 감소시키는 것으로 알려져 있으며 따라서 공정 시간을 증가시켜 더 높은 제조 비용을 야기한다. 따라서, 감소된 점도는 보다 효율적인 여과 공정을 가능하게 하는 한편 전단력은 낮은 수준으로 유지되어 여과물에서의 더 높은 단백질 농도를 산출하는 것으로 예상된다. 이는 "접선 유동 한외여과 (TFF) 에 의한 농축된 단일클론 항체 제형의 제조 동안, 높은 점도 및 응집은 종종 광범위한 멤브레인 오염, 플럭스 붕괴 및 낮은 생성물 수율을 초래한다" (Journal of Membrane Science Volume 508, 15 June 2016, p. 113-126) 고 서술한 Hung et al. 의 연구에 의해 강조된다.

[0158] 실험은 캄포술폰산이 상기 기재된 바와 같이 생물공정 경제성을 개선시키는데 적합하다는 것을 나타내었다. 또한, 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 부형제로서의 양이온성 부

형제와 조합된 캄포술폰산 및 상기 부형제 중 2 개는 생물공정 경제성을 개선시킨다. 특히 단백질 용액에 따라 다양한 비율로의 조합은 상기 기재된 바와 같이 생물공정 경제성을 개선시킨다.

[0159] 따라서, 본 발명의 또 다른 양태는 점도-감소 효과를 갖는 농도로 부형제로서 적어도 캄포술폰산과, 바람직하게는 적어도 하나의 양이온성 부형제, 보다 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴을 포함하는 목록에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제와 액체 조성물을 조합하는 단계를 포함하는, 생물공정에서 적어도 50 mg/ml 에서 최대 300 mg/ml 범위의 농도로 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법을 제공한다.

[0160] 본 발명의 또 다른 양태는 생물공정에서 상기 기재된 바와 같은 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법의 용도이다.

[0161] 본 발명에 따르면, 상기 언급된 모든 매개변수; 예를 들어, 부형제의 농도, 단백질의 농도, 부형제의 농도, 부형제의 공급, 조성물의 추가의 요소 예컨대 완충제 또는 안정화제, pH 값, 점도 감소, 단백질의 사양, 단백질의 분자량이 또한 생물공정에서 사용된다.

[0162] 생물공정에서 사용하기 위한 바람직한 구현예로서, 캄포술폰산은 75 - 500 mM, 보다 바람직하게는 75 - 150 mM, 가장 바람직하게는 75 mM 또는 150 mM 의 농도로 사용된다. 캄포술폰산을 아르기닌, 카르니틴, 메글루민 및 오르니틴의 군에서 선택되는 양이온과 조합으로 사용하는 경우, 각각의 부형제의 농도는 75 - 500 mM, 보다 바람직하게는 75 - 150 mM, 가장 바람직하게는 75 mM 또는 150 mM 이다. 캄포술폰산을 아르기닌, 카르니틴, 메글루민 및 오르니틴의 군에서 선택되는 양이온과 조합으로 사용하는 경우, 비는 1:3 내지 3:1, 보다 바람직하게는 1:2 내지 2:1, 가장 바람직하게는 1:1 의 범위이다. 예를 들어, 25 mM 카르니틴과 50 mM 캄포술폰산의 조합은 이들 부형제의 1 : 2 혼합물의 용액 중 75 mM 의 부형제 농도를 산출한다.

[0163] 단백질 용액 및 실행한 생물공정에 따라, 상이한 완충제 시스템이 완충제로서 사용될 수 있다. 생물공정 동안 조건에 따라 아세테이트 예컨대 암모늄 아세테이트 또는 소듐 아세테이트, 카르보네이트 예컨대 암모늄 바이카르보네이트 또는 소듐 바이카르보네이트, 또는 포스페이트 예컨대 소듐 포스페이트 또는 트리스-포스페이트를 여기서 사용할 수 있다.

[0164] 본 발명의 또 다른 양태는 상기 언급된 바와 같은 생물공정에서 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법을 제공하는 것이며, 여기서 여과 단계에서 액체 조성물의 투과 플럭스는 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 증가한다.

[0165] 본 발명의 또 다른 양태는 상기 언급된 바와 같은 생물공정에서의 방법의 용도이며, 여기서 여과 단계에서 액체 조성물의 투과 플럭스는 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 증가한다.

[0166] 투과 플럭스의 증가는 적어도 2%, 바람직하게는 적어도 5%, 보다 바람직하게는 적어도 10%, 가장 바람직하게는 10% 내지 100% 의 백분율 증가를 의미한다.

[0167] 본 발명의 또 다른 양태는 상기 언급된 바와 같은 생물공정에서 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법을 제공하는 것이며, 여기서 필터에서 완충제 교환 및 부피 감소 후 단백질 회수는 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 증가한다.

[0168] 본 발명의 또 다른 양태는 상기 언급된 바와 같은 생물공정에서의 방법의 용도이며, 여기서 필터에서 완충제 교환 및 부피 감소 후 단백질 회수는 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 증가한다.

[0169] 필터에서 완충제 교환 및 부피 감소 후 단백질 회수의 증가는 적어도 1%, 바람직하게는 적어도 2%, 보다 바람직하게는 적어도 5%, 가장 바람직하게는 5% 내지 20% 의 단백질 회수의 백분율 증가를 의미한다.

[0170] 본 발명의 또 다른 양태는 상기 언급된 바와 같은 생물공정에서 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법을 제공하는 것이며, 여기서 여과 단계, 바람직하게는 단백질이 농축되는 여과 단계를 위한 공정 시간은 캄포술폰산을

포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 감소된다.

[0171] 본 발명의 또 다른 양태는 상기 언급된 바와 같은 생물공정에서의 방법의 용도이며, 여과 단계, 바람직하게는 단백질이 농축되는 여과 단계를 위한 공정 시간은 캄포술폰산을 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하거나 캄포술폰산, 및 바람직하게는 아르기닌, 메글루민, 오르니틴 및 카르니틴으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 양이온성 부형제를 포함하지 않는 동일한 액체 조성물과 비교하여 감소된다.

[0172] 여과 단계를 위한 공정 시간의 감소는 적어도 5%, 바람직하게는 적어도 10%, 보다 바람직하게는 적어도 25%, 가장 바람직하게는 25% 내지 100% 의 백분율 감소를 의미한다.

[0173] 본 발명의 특정 구현예에서, 여과 단계는 접선 유동 여과 (TFF) 이다.

[0174] 본 발명의 다른 양태는 본원에 기재된 방법을 실행하기 위한 키트를 제공하는 것이다. 일반적으로, 실행을 위한 키트는 본 발명의 방법에 따라 조정되고 부품의 형태는 그의 의도된 기능에 따라 좌우된다.

[0175] 전형적으로, 키트는 포장되고 시약 함유 용기를 포함하며, 이의 용액 부피는 키트가 등급화되는 제제의 양을 기준으로 하여 가변적일 것이다. 용기는 일반적으로 본 발명의 방법을 실행하는데 유용한 하나 이상의 시약을 포함할 것이다. 특정 구현예에서, 키트는 구획화된 키트이고, 즉, 키트는 동일한 또는 별개의 용기 내에 함유된 시약을 포함한다. 용기의 예는 작은 유리 용기, 플라스틱 용기, 또는 플라스틱 종이의 스트립을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 이들 또는 다른 작은 용기는 시약을 하나의 구획에서 또 다른 구획으로 효율적으로 이동시킬 수 있다. 이러한 용기는 시험 샘플을 수용할 용기, 개시물의 단백질 또는 단백질성 용액을 함유하는 용기, 물질을 함유하는 용기, 세척 시약을 함유하는 용기 및/또는 키트의 적용에 유용한 시약을 함유하는 용기를 포함할 수 있다. 키트는 본원에 기재된 폴리펩티드의 공급원 및 농도를 포함할 수 있다. 대규모 적용을 위해, 키트는 일반적으로 유사한 시약 및 용액을 포함하지만, 더 큰 양으로 포함할 것이다.

[0176] 본 발명은 또한 본 발명의 액체 단백질 제형, 및 그의 투여를 위한 지시사항을 임의로는 용기, 주사기 및/또는 다른 투여 장치와 함께 포함하는 키트를 제공한다. 본 발명은 추가로, 임의로는 용기 중, 본 발명의 동결건조된 단백질 제형, 및 그의 재구성 및 투여를 위한 지시사항을 임의로는 멸균 희석제의 바이알, 및 임의로는 주사기 또는 다른 투여 장치와 함께 포함하는 키트를 제공한다. 예시적인 용기는 바이알, 튜브, 병, 단일 또는 다중-챔버 사전충전 주사기, 또는 카트리지, 뿐만 아니라 웰에 놓인 즉시사용가능 동결건조 또는 분무건조된 제형을 포함하는 96-웰 플레이트를 포함한다. 예시적인 투여 장치는 바늘이 있거나 없는 주사기, 주입 펌프, 제트 주입기, 펜 장치, 경피 주입기, 또는 다른 무-바늘 주입기를 포함한다.

[0177] 키트는 또한 전형적으로 사용을 위한 지시사항을 포함할 것이다. 지시사항은 일반적으로 최종 사용자가 원하는 제조 또는 어세이를 실행하기에 적합할 것이다. 지시사항은 일반적으로, 예를 들어 적어도 하나의 제조 또는 어세이를 위한 시약 농도, 매개변수 예컨대 혼합할 시약 및 샘플의 상대적인 양, 시약/샘플 혼합을 위한 유지 또는 인큐베이션 기간, 온도 요건 또는 선호도 등을 기술하는 유형적 표현일 것이다. 지시사항은 키트의 외부 또는 내부 포장, 키트 내의 브로셔, 카드 또는 다른 종이 및/또는 키트에 포함된 용기 또는 통의 외부 표면에 인쇄될 수 있다.

[0178] 본 발명을 상세히 기재하였으나, 첨부된 특허청구범위에서 정의된 본 발명의 범주를 벗어남이 없이 변경 및 변형이 가능하다는 것이 명백할 것이다. 또한, 본 개시물의 모든 예가 비제한적인 예로서 제공된다는 것이 이해되어야 한다.

[0179] 용액 제제의 제형화 및 동결 건조는 당업자에게 공지된 바와 같은 방법에 의해 실행될 수 있다.

[0180] 본 발명의 설명은 당업자가 본 발명을 포괄적으로 실행할 수 있게 한다. 따라서, 추가의 설명이 없더라도, 당업자는 상기 설명을 가장 넓은 범주에서 이용할 수 있다는 것이 추정된다.

[0181] 본 발명이 바람직한 구현예와 관련되어 기재되었지만, 첨부된 청구범위에서 정의된 바와 같은 본 발명의 취지 및 범주에서 벗어남이 없이 당업자에 의해 본 발명에 다양한 변형, 추가 및 변경이 만들어질 수 있다는 것을 이해해야 한다. 특히 본 발명의 개념은 실시예에서 나타낸 특정 단백질에 제한되지 않으며 상기 정의된 바와 같은 다른 모든 단백질에 전달될 수 있다.

[0182] 불명확한 점이 있는 경우, 인용되고 당업자에게 공지된 간행물 및 특허 문헌을 참고해야 한다는 것이 이해된다.

따라서, 인용된 문헌은 본 발명의 설명의 개시물 내용의 일부로서 간주되며 본원에 참조로 포함된다.

[0183] 본 발명의 더 나은 이해 및 본 발명을 설명하기 위해, 본 발명의 보호 범주 내에 있는 실시예를 하기에 나타낸다. 이들 실시예는 또한 가능한 변형을 설명하는 역할을 한다.

[0184] 또한, 제시된 실시예 및 또한 발명의 설명의 나머지 모두에서, 조성물에 존재하는 성분 양은 항상 전체로서의 조성물을 기준으로 오직 100 중량% 또는 몰% 까지 첨가되며, 나타낸 백분율 범위에서 더 높은 값이 발생할 수 있더라도, 이 백분율을 초과할 수 없다는 것이 당업자에게 자명하다. 따라서, 달리 나타내지 않는 한, % 데이터는 부피 데이터로 나타내는 비를 제외하고는, 중량% 또는 몰% 이다.

[0185] 본 발명은 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법을 추가로 제공하는 한편, 단백질은 인플릭시맙이다. 본 발명에서 인플릭시맙은 약어 "mAbC" 로 지칭된다. 바람직하게는 약학 제형 중 인플릭시맙 농도는 122 mg/ml 내지 185 mg/ml 이다.

[0186] Janssen Biotech, Inc. 에 의해 개발된 인플릭시맙 (REMICADE®) 및 Biogen 에 의해 개발된 그의 바이오시밀러 약물 (FUXABI®), Celltrion 에 의해 개발된 (Inflectra) 는 류마티스 관절염, 성인 궤양성 대장염, 판상 건선, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 성인 & 소아 크론병의 치료에 사용된다 (용량/투약량: 5 mg/kg). 인플릭시맙은 자가면역 질환을 치료하는데 사용되는 종양 괴사 인자 알파 (TNF-a) 에 대한 mAb 이다. 인플릭시맙은 TNFa 의 가용성 및 트랜스멤브레인 형태에 높은 친화성으로 결합하여 TNFa 의 생물학적 활성을 중화시키고, TNFa 와 그의 수용체의 결합을 억제한다. 이는 미국에서 Janssen Global Services, LLC ("Janssen"), 일본에서 Mitsubishi Tanabe Pharma, 중국에서 Xian Janssen, 및 그 외에서 Merck Sharp & Dohme ("MSD") 에 의해 상표명 REMICADE® 로 판매되고 있다. 일부 구현예에서, 제형은 REMICADE® 의 바이오시밀러, 예컨대 REMSIMA™ 또는 INFLECTRA™ 를 함유한다. REMSIMA™ 은 Celltrion, Inc. ("Celltrion") 에 의해 개발되었고, INFLECTRA™ 은 Hospira Inc., UK 에 의해 개발되었다. 인플릭시맙은 현재 약 3 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 범위의 용량으로 iv 주입을 통해 투여된다.

[0187] 본 발명은 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법을 추가로 제공하는 한편, 단백질은 에볼로쿠맙이다. 본 발명에서 에볼로쿠맙은 약어 "mAbD" 로 지칭된다. 바람직하게는 약학 제형 중 에볼로쿠맙 농도는 163 mg/ml 내지 204 mg/ml 이다.

[0188] Amgen 에 의해 개발된 에볼로쿠맙 (REPATHA®) 은 PCSK9 (프로단백질 컨버타아제 서브틸리신 켁신 유형 9) 를 표적화하여 저밀도 지질단백질 콜레스테롤 (LDL-C) 을 감소시키는 HeFH, CVD 의 치료에 사용된다 (용량/투약량: 매달 420 mg).

[0189] 본 발명은 단백질을 포함하는 액체 조성물의 점도를 감소시키는 방법을 추가로 제공하는 한편, 단백질은 레슬리주맙이다. 본 발명에서 레슬리주맙은 약어 "mAbE" 로 지칭된다. 바람직하게는 약학 제형 중 레슬리주맙 농도는 178 mg/ml 내지 224 mg/ml 이다.

[0190] 레슬리주맙 (CINQAIR®) 은 Teva Pharmaceuticals 에 의해 개발되었으며 중증 천식 침범 (악화) 에서 사용된다 (용량/투약량: 3 mg/kg).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0191] **실시예:**

[0192] 실시예에서, mAb 에 대해 하기의 약어가 사용된다:

[0193] mAbC: 인플릭시맙

[0194] mAbD: 에볼로쿠맙

[0195] mAbE: 레슬리주맙

[0196] 실시예 1

[0197] 고농축 단백질 용액에 대한 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴 및 캄포술폰산의 효과:

[0198] 실시예 1a) 는 L-아르기닌, L-카르니틴 및 캄포술폰산이 각각 98 mg/ml 및 148 mg/ml 에서 mAbC 의 점도를 감소시키지만 L-오르니틴 및 메글루민은 그렇지 않다는 것을 보여준다.

[0199] 실시예 1b) 는 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴 및 캄포술폰산이 170 mg/ml 및 190 mg/ml 에서 mAbD 의 점도를 감소시킨다는 것을 보여준다.

[0200] 실시예 1c) 는 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴 및 캄포술폰산이 179 mg/ml 및 223 mg/ml 에서 mAbE 의 점도를 감소시킨다는 것을 보여준다. 모든 경우에서 대조군 샘플은 점도 감소 부형제가 없는 각각의 mAb 의 시판 제형이다.

[0201] 실시예 1a

[0202] L-아르기닌, L-카르니틴 및 캄포술폰산의 점도 감소 효과, 그러나 L-오르니틴 및 메글루민은 pH 7.2 에서 포스페이트 완충제 중 제형화된 mAbC 의 점도를 감소시키지 않는다.

[0203] 완충제 제조

[0204] 소듐 디히드로겐포스페이트 및 디-소듐 히드로겐포스페이트를 적절히 혼합하여 pH 7.2 로 만들고 상기 혼합물을 초순수에 용해하여, 5 mM 포스페이트 완충제를 제조하였다. 헨더슨-하셀바흐 (Henderson-Hasselbalch) 식을 사용하여 상기 비를 결정하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0205] 50 mg/ml 수크로오스 및 0.05 mg/ml 폴리소르베이트 80 을 안정화제로서 첨가하였다.

[0206] 샘플 제조

[0207] 150 mM L-오르니틴, L-아르기닌, L-카르니틴, 메글루민 및 캄포술폰산의 부형제 용액을 각각 포스페이트 완충제 pH 7.2 에서 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0208] 원하는 부형제를 함유하는 농축 mAb 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다. 이후, 단백질을 각각 98 mg/ml 및 148 mg/ml 로 희석하였다.

[0209] 점도 측정

[0210] mVROC™ Technology (Rheo Sense, San Ramon, California USA) 를 점도 측정에 사용하였다.

[0211] 500 μl 주사기를 사용하여 20℃ 및 전단 속도 3000 s^{-1} 에서 측정을 수행하였다. 200 μl 의 부피를 사용하였다. 모든 샘플을 삼반복으로 측정하였다.

[0212] 도 1 은 포스페이트 완충제 pH 7.2 중 제형화된 mAbC 의 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴, 아르기닌 및 캄포술폰산의 점도 감소 효과를 보여준다 (실시예 1a).

[0213] 실시예 1b

[0214] 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴 및 캄포술폰산은 170 mg/ml 및 190 mg/ml 에서 mAbD 의 점도를 감소시킨다.

[0215] 완충제 제조

[0216] 1.2 mg/ml 빙초산과 초순수를 혼합하여 20 mM 아세테이트 완충제를 제조하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 5.0 으로 조정하였다.

[0217] 0.1 mg/ml 폴리소르베이트 80 을 안정화제로서 첨가하였다.

[0218] 샘플 제조

[0219] 150 mM L-오르니틴, L-아르기닌, L-카르니틴, 메글루민 및 캄포술폰산의 부형제 용액을 각각 아세테이트 완충제 pH 5.0 에서 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0220] 원하는 부형제를 함유하는 농축 mAb 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다. 이후, 단백질을 각각 169 mg/ml 및 190 mg/ml 로 희석하였다.

[0221] 점도 측정

[0222] mVROC™ Technology (Rheo Sense, San Ramon, California USA) 를 점도 측정에 사용하였다.

[0223] 500 μl 주사기를 사용하여 20℃ 에서 169 mg/ml 에서의 단백질 용액의 경우 전단 속도 3000 s^{-1} 에서, 그리고 190 mg/ml 에서의 단백질 용액의 경우 전단 속도 2000 s^{-1} 에서 측정을 수행하였다. 200 μl 의 부피를 사용하였다. 모든 샘플을 삼반복으로 측정하였다.

[0224] 도 2 는 아세테이트 완충제 pH 5.0 중 제형화된 mAbD 의 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴, 아르기닌 및 캄포술폰산의 점도 감소 효과를 보여준다 (실시예 1b).

[0225] 실시예 1c

[0226] 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴 및 캄포술폰산은 179 mg/ml 및 223 mg/ml 에서 mAbE 의 점도를 감소시킨다.

[0227] 완충제 제조

[0228] 소듐 아세테이트 및 빙초산을 pH 5.5 의 완충제 용액을 산출하는 비로 초순수와 혼합하여 20 mM 아세테이트 완충제를 제조하였다. 소듐 아세테이트 및 빙초산의 비를 헨더슨-하셀바흐 식을 사용하여 계산하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다. 70 mg/ml 수크로오스를 안정화제로서 첨가하였다.

[0229] 샘플 제조

[0230] 150 mM L-오르니틴, L-아르기닌, L-카르니틴, 메글루민 및 캄포술폰산의 부형제 용액을 각각 아세테이트 완충제 pH 5.5 에서 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0231] 원하는 부형제를 함유하는 농축 mAb 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다. 이후, 단백질을 각각 179 mg/ml 및 223 mg/ml 로 희석하였다.

[0232] 점도 측정

[0233] mVROC™ Technology (Rheo Sense, San Ramon, California, USA) 를 점도 측정에 사용하였다.

[0234] 500 μl 주사기를 사용하여 20℃ 에서 전단 속도 3000 s^{-1}. 에서 측정을 수행하였다. 200 μl 의 부피를 사용하였다. 모든 샘플을 삼반복으로 측정하였다.

[0235] 도 3 은 아세테이트 완충제 pH 5.5 중 제형화된 mAbE 의 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴, 아르기닌 및 캄포술폰산의 점도 감소 효과를 보여준다 (실시예 1c).

[0236] 실시예 2

[0237] L-아르기닌, L-카르니틴, L-오르니틴 및 메글루민과 캄포술폰산의 조합의 효과.

[0238] 실시예 2a) 는 캄포술폰산과 조합되는 경우 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴이 각각 98 mg/ml 및 148 mg/ml 에서 mAbC 의 점도를 감소시킨다는 것을 보여준다.

[0239] 실시예 2b) 는 캄포술폰산과 조합되는 경우 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴이 170 mg/ml 및 190 mg/ml 에서 mAbD 의 점도를 감소시킨다는 것을 보여준다.

[0240] 실시예 2c) 는 캄포술폰산과 조합되는 경우 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴이 179 mg/ml 및 223 mg/ml 에서 mAbE 의 점도를 감소시킨다는 것을 보여준다.

[0241] 실시예 2d) 는 포스페이트 완충제 pH 7.2 중에서 제형화된 mAbC 에 대한 L-아르기닌을 캄포술폰산과 조합함에 의한 상승작용적 점도 감소를 보여준다.

[0242] 실시예 2a

[0243] 완충제 제조

[0244] 소듐 디히드로겐포스페이트 및 디-소듐 히드로겐포스페이트를 적절히 혼합하여 pH 7.2 로 만들고 상기 혼합물을 초순수에 용해하여, 5 mM 포스페이트 완충제를 제조하였다. 헨더슨-하셀바흐 식을 사용하여 상기 비를 결정하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다. 50 mg/ml 수크로오스 및 0.05 mg/ml 폴리소르베이트 80 을 안정화제로서 첨가하였다.

[0245] 샘플 제조

[0246] 추가적인 75 mM 캄포술폰산이 보충된 75 mM L-오르니틴 히드로클로라이드, L-아르기닌, L-카르니틴, 메글루민의 부형제 용액을 각각 포스페이트 완충제 pH 7.2 에서 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0247] 원하는 부형제를 함유하는 농축 mAb 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다. 이후, 단백질을 각각 98 mg/ml 및 148 mg/ml 로 희석하였다.

[0248] 점도 측정

[0249] mVROC™ Technology (Rheo Sense, San Ramon, California USA) 를 점도 측정에 사용하였다.

[0250] 500 μl 주사기를 사용하여 20℃ 및 전단 속도 3000 s^{-1} 에서 측정을 수행하였다. 200 μl 의 부피를 사용하였다. 모든 샘플을 삼반복으로 측정하였다.

[0251] 도 4 는 포스페이트 완충제 pH 7.2 중 제형화된 mAbC 의 캄포술폰산과 조합되는 경우 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴의 점도 감소 효과를 보여준다 (실시예 2a).

[0252] 실시예 2b

[0253] 완충제 제조

[0254] 1.2 mg/ml 빙초산과 초순수를 혼합하여 20 mM 아세테이트 완충제를 제조하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 5.0 으로 조정하였다.

[0255] 0.1 mg/ml 폴리소르베이트 80 을 안정화제로서 첨가하였다.

[0256] 샘플 제조

[0257] 추가적인 75 mM 캄포술폰산이 보충된 75 mM L-오르니틴 히드로클로라이드, L-아르기닌, L-카르니틴, 메글루민의 부형제 용액을 각각 아세테이트 완충제 pH 5.0 에서 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0258] 원하는 부형제를 함유하는 농축 mAb 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다. 이후, 단백질을 각각 169 mg/ml 및 190 mg/ml 로 희석하였다.

[0259] 점도 측정

[0260] mVROC™ Technology (Rheo Sense, San Ramon, California USA) 를 점도 측정에 사용하였다.

[0261] 500 μl 주사기를 사용하여 20℃ 에서 169 mg/ml 에서의 단백질 용액의 경우 전단 속도 3000 s^{-1} 에서, 그리고 190 mg/ml s^{-1} 에서의 단백질 용액의 경우 전단 속도 2000 s^{-1} 에서 측정을 수행하였다. 200 μl 의 부피를 사용하였다. 모든 샘플을 삼반복으로 측정하였다.

[0262] 도 5 는 아세테이트 완충제 pH 5.0 중 제형화된 mAbD 의 캄포술폰산과 조합되는 경우 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴의 점도 감소 효과를 보여준다 (실시예 2b).

[0263] 실시예 2c

[0264] 완충제 제조

[0265] 소듐 아세테이트 및 빙초산을 pH 5.5 의 완충제 용액을 산출하는 비로 초순수와 혼합하여 20 mM 아세테이트 완충제를 제조하였다. 소듐 아세테이트 및 빙초산의 비를 헨더슨-하셀바흐 식을 사용하여 계산하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다. 70 mg/ml 수크로오스를 안정화제로서 첨가하였다.

[0266] 샘플 제조

[0267] 추가적인 75 mM 캄포술폰산이 보충된 75 mM L-오르니틴, L-아르기닌, L-카르니틴, 메글루민의 부형제 용액을 각각 아세테이트 완충제 pH 5.5 에서 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0268] 원하는 부형제를 함유하는 농축 mAb 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련

부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다. 이후, 단백질을 각각 179 mg/ml 및 223 mg/ml 로 희석하였다.

[0269] 점도 측정

[0270] mVROC™ Technology (Rheo Sense, San Ramon, California USA) 를 점도 측정에 사용하였다.

[0271] 500 μl 주사기를 사용하여 20℃ 및 전단 속도 3000 s^{-1} 에서 측정을 수행하였다. 200 μl 의 부피를 사용하였다. 모든 샘플을 삼반복으로 측정하였다.

[0272] 도 6 은 아세테이트 완충제 pH 5.5 중 제형화된 mAbE 의 캄포술폰산과 조합되는 경우 메글루민, L-오르니틴, L-카르니틴의 점도 감소 효과를 보여준다 (실시예 2c).

[0273] 실시예 2d

[0274] 완충제 제조, 샘플 제조 및 점도 측정을 실시예 1a) 및 2a) 에 따라 수행하였다.

[0275] 도 7 는 포스페이트 완충제 pH 7.2 중 제형화된 mAbC 의 캄포술폰산과 조합되는 경우 L-아르기닌의 상승작용적 점도 감소 효과를 보여준다 (실시예 2d). '예상된 점도-조합' 은 75 mM 단독에서 각각의 부형제, L-오르니틴 및 L-아르기닌의 추정된 첨가제 효과에 상응한다. 측정된 조합은 148 mg/mL 에서 mAbC 에 대한 이들 2 개 부형제 사이의 상승작용을 제공하는 훨씬 더 낮은 점도를 나타내었다.

[0276] 실시예 3

[0277] 실시예 3 은 mAbC 의 단백질 안정성에 대한 캄포술폰산 및 이의 L-오르니틴 또는 L-아르기닌과의 조합의 효과를 나타낸다.

[0278] 완충제 제조

[0279] 소듐 디히드로겐포스페이트 및 디-소듐 히드로겐포스페이트를 적절히 혼합하여 pH 7.2 로 만들고 상기 혼합물을 초순수에 용해하여, 5 mM 포스페이트 완충제를 제조하였다. 헨더슨-하셀바흐 식을 사용하여 상기 비를 결정하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다. 50 mg/ml 수크로오스 및 0.05 mg/ml 폴리소르베이트 80 을 안정화제로서 첨가하였다.

[0280] 샘플 제조

[0281] 150 mM L-오르니틴, L-아르기닌 또는 캄포술폰산을 함유하는 부형제 용액을 포스페이트 완충제 pH 7.2 에서 제조하였다. 또한, 추가적인 75 mM 캄포술폰산이 보충된 75 mM L-오르니틴 히드로클로라이드 또는 L-아르기닌을 각각 포스페이트 완충제 pH 7.2 에서 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0282] 원하는 부형제를 함유하는 농축 mAbC 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다. 이후, 단백질을 대략 80 mg/ml 로 희석하였다.

[0283] 주사기 필터 (Millex GV, 0.22μm, PVDF, Art.No.: SLGV013SL) 를 사용하여 샘플을 멸균하고, 이전에 헹구고 멸균한 크림프 바이알에 분취하였다. 바이알을 크림핑하고 40℃/ 75% rH 에서 28 일 동안 저장하였다.

[0284] 단량체 함량 분석

[0285] Agilent 1290 Infinity UHPLC System 에 부착된 Aquity UPLC Protein BEH SEC 컬럼을 사용하여 크기 배제 크로마토그래피에 의해 단량체 함량을 결정하였다. 30℃ 에서 10% 유기 용매를 함유하는 포타슘 염 용리액을 사용하여 등용매로 크기 분리를 수행하였다. 표준 (100%) 으로서 mAbC 의 미-응력 샘플 (1 mg/mL) 을 사용하였다. 샘플을 분석을 위해 1 mg/mL 로 희석하였다.

[0286] 도 8 은 40℃/ 75% rH 에서 28 일 동안 저장된 부형제가 있거나 부형제가 없는 포스페이트 완충제 pH 7.2 중 대략 80 mg/mL mAbC 를 포함하는 용액의 잔류 단량체 함량을 보여준다. 산이 유일한 부형제일 때 대신 캄포술폰산과 L-아르기닌 또는 L-오르니틴의 조합이 사용되는 경우 단백질 안정성은 덜 부정적으로 영향받는다.

[0287] 실시예 4: 원심분리 필터 유닛에 대한 이점

[0288] 완충제 제조

[0289] 시트르산 모노히드레이트를 사용하여 10 mM 시트레이트 완충제를 제조하고 이를 초순수에 용해하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 5.5 로 조정하였다. 0.25 mg/mL 폴리소르베이트 80 을 안정화제로서 첨가하였다.

[0290] 캄포술폰산 (CSAcid), 오르니틴(Orn 또는 OM), 아르기닌 (Arg 또는 AG), 카르니틴 (Car) 및 메글루민 (Meg 또는 MG) 의 부형제 용액을 시트레이트 완충제, pH 5.5 에서 150 mM 의 농도로 제조하였다. 이들 부형제 중 2 개를 함유하는 조합을 각각 75 mM 또는 각각 150 mM 의 농도로 제조하였다.

[0291] 샘플 제조

[0292] 대략 14.7 mg/ml 을 함유하는 세툭시맙 용액을 출발 물질로서 사용하였다. 최대 20% 샘플 손실을 가정하여 500 µL 샘플 중 120 mg/ml 초과의 최종 농도가 달성되도록 이의 충분한 부피를 계산하였다.

[0293] 단백질 농도 측정

[0294] 램버트-비어 법칙 (Lambert-Beer's-Law) 을 적용하는 흡수 분광법을 사용하여 단백질 농도를 결정하였다. 부형제 자체가 280 nm 에서 강한 흡광도를 갖는 경우, 브래드포드 (Bradford) 어세이를 사용하였다.

[0295] 농축된 단백질 용액을 희석하여, 그의 예상된 농도가 측정에서 0.3 내지 1.0 mg/mL 가 되도록 하였다.

[0296] 흡수 분광법을 위해, 280 nm 에서의 흡광도를 단백질 흡광 계수 A0.1%, 280 nm = 1.4 로 BioSpectrometer® kinetic (Eppendorf, Hamburg, Germany) 을 사용하여 280 nm 에서 측정하였다.

[0297] 280 nm 에서 빛을 흡수하는 부형제의 경우 단백질 농도를 브래드포드 어세이를 사용하여 결정하였다. 따라서, Thermo Scientific™ (Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts, USA) 로부터의 키트 뿐만 아니라 램버트-비어 법칙을 적용하는 흡수 분광법을 사용하여 제조된 세툭시맙-표준을 사용하였다. Multiskan™ Wellplatereader (Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts, USA) 를 사용하여 595 nm 에서 흡수를 측정하였다. 125 내지 1500 µg/mL 의 표준 곡선의 적절한 다항 회귀에 의해 단백질 농도를 결정하였다.

[0298] 부피 측정

[0299] 적절한 크기의 메스 플라스크를 사용하여 투과물 부피를 측정하였다.

[0300] Amicon® 원심분리 필터 유닛의 경우, 투과물을 원심분리 후 메스 플라스크에 옮겼다. Amicon® 교반 셀 실험의 경우, 투과물을 이러한 것에 직접 수집하였다.

[0301] 적절한 크기의 Multipette® E3X (Eppendorf, Hamburg, Germany) 및 Combitips advanced® 를 사용하여 농축된 단백질 용액의 부피를 측정하였다.

[0302] 완충제 교환 및 부피 감소

[0303] 30 kDa MWCO 를 갖는 Amicon® 원심분리 필터를 사용하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고 용액의 부피를 감소시켰다.

[0304] 5 정용 부피 (diavolume) 를 사용하여 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하였다.

[0305] 투과 플럭스를 측정하기 위해, Amicon® 원심분리 필터를 2000 xg 에서 15 분 동안 원심분리하고, 상기 기재된 바와 같이 부피를 측정하였다 (4 회 반복 및 평균 계산함).

[0306] 최종 농도를 달성하기 위해, Amicon® 원심분리 필터를 작은 시간 단계에서 원심분리하고, 500 µL 마크에 도달시 누적 기간을 표시하였다.

[0307] 도 9 내지 도 11 은 증가된 투과 플럭스에 의해 표시되는 공정 개선을 강조한다.

[0308] 150 mM 의 각각의 부형제가 상기 실험 조건 하에 관류액을 증가시키는 것으로 발견되었다. 75 mM 의 CSAcid 및 더 많은 양이온성 부형제를 포함하는 조합을 사용하는 것은 또한 관류액, 특히 조합 AG/CSAcid 을 증가시킨다.

[0309] 개별 부형제의 농도가 150 mM 로 증가하는 경우, 모든 시험한 조합은 관류액을 상당히 증가시키는 것으로 발견되었다.

[0310] Amicon® 원심분리 필터를 사용하는 공정 이점을 특징분석하기 위한 또 다른 양태는 특정 부피에 도달하는데 필

요한 시간이다. 더 높은 단백질 농도에서 부형제의 효과가 이러한 매개변수에 대한 더 강한 영향을 가지므로, 이러한 양태는 평균 투과 플럭스와 관련되지만 이와 상이하다.

[0311] 도 12 내지 도 14 는 각각 75 mM 양이온성 또는 음이온성 부형제를 사용하여 달성될 수 있는 공정 시간의 감소를 나타낸다.

[0312] 각각의 열거된 부형제에 대해 감소된 처리 시간이 관찰될 수 있다. 도 13 및 14 는 공정 시간에 대한 부형제 조합의 효과를 강조한다.

[0313] 열거된 각각의 조합은 처리 시간을 감소시키며, 따라서 공정 경제성에 유익한 영향을 갖는다.

[0314] 처리 시간 외에 공정 경제성에 중요한 또 다른 양태는 공정 효율성이다. 이러한 매개변수는 단백질의 회수에 의해 이러한 실험 설정에서 평가될 수 있다. 회수는 용액의 부피가 0.5 ml 로 감소된 후 Amicon 필터로부터 되찾을 수 있는 단백질의 분율로서 정의된다.

[0315] 도 15 및 도 16 은 단백질 회수에 대한 75 mM 양이온성 및/또는 음이온성 부형제 각각의 효과를 보여준다.

[0316] 모든 시험한 조건 하에 본 발명에 따른 점도 감소 부형제를 첨가하여 회수가 개선된다는 것이 발견되었다.

[0317] 실시예 5: 교반 셀에 대한 이점

[0318] Amicon® 원심분리 필터를 사용한 처리에서 긍정적 효과를 갖는 부형제 및 조합을 Amicon® 교반 셀 여과에서 사용하였다. Amicon® 스핀 컬럼 농축기가 원심력에 의해 구동되는 한편, 교반 셀은 질소 또는 공기 흐름의 형태로 용액에 적용되는 배압에 의해 작동된다. 이러한 모델 시스템은 용액의 가공성을 시험하는데 종종 사용되며, 이전에 사용한 Amicon® 원심분리 필터와 비교하여 더 가까운 모델 시스템이다.

[0319] 완충제 제조

[0320] 실시예 1 참조

[0321] 샘플 제조

[0322] 최대 20% 의 손실을 가정하여, 25 mg/mL 세툭시맙을 포함하는 적어도 10 mL 의 용액이 산출되도록 항체 저장 용액의 부피를 계산하였다.

[0323] 단백질 농도 측정

[0324] 실시예 1 참조

[0325] 부피 측정

[0326] 실시예 1 참조

[0327] 완충제 교환 및 부피 감소

[0328] 교반 셀 설정의 경우 최대 50 mL 를 함유하는 모델에 NMWL 이 30 kDa 이고 활성 멤브레인 면적이 13.4 cm^2 인 한외여과 디스크 필터를 장착하였다.

[0329] 세툭시맙 저장 용액의 각각의 부피를 교반 셀에 충전하고 각각의 완충제를 50 mL 마크까지 첨가하였다.

[0330] 5 정용 부피를 사용하여 관련 부형제 또는 조합을 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하였다.

[0331] 투과 플럭스를 측정하기 위해, 4 bar 의 압력을 200 rpm 의 혼합 속도 (자기 교반기 플레이트 사용) 에서 30 분 동안 (4 회) Amicon® 교반 셀에 적용하였다.

[0332] 최종 농도 시간 동안, 셀을 각각의 완충제로 50 mL 마크까지 다시 충전하고 200 rpm 교반기 속도에서 4 bar 압력을 적용하였다. 10 mL 마크에 도달하면 지속기간을 표시하고, 공정을 중단하고, 부피 뿐만 아니라 생성 항체 용액의 농도를 상기 기재된 바와 같이 측정하였다.

[0333] 이전 섹션에서와 같이, 제형의 평균 투과 플럭스에 대한 효과를 먼저 평가하였다. 결과를 하기 도 17 에서 나타낸다.

[0334] 각각의 사용한 부형제 및 부형제 조합에 대한 개선된 투과 플럭스가 관찰되었다.

[0335] 분석할 다음 매개변수는 공정 시간이다. 여기서, 제형의 부피가 10 ml 로 감소될 때까지의 시간을 측정하였

다. 결과를 도 18 에서 나타낸다.

[0336] 본원에 사용된 각각의 부형제 및 부형제 조합의 경우, 처리 시간의 감소가 관찰되었다. 마지막으로, 교반 셀로부터의 단백질 회수의 형태로의 공정 수율을 결정하였고 도 19 에서 나타낸다.

[0337] 모든 시험한 조건에 대한 개선된 회수가 관찰되었다.

[0338] 실시예 5: Amicons 를 이용한 처리: 인플릭시맙

[0339] 완충제 제조

[0340] 소듐 디히드로겐포스페이트 및 디-소듐 히드로겐포스페이트를 적절히 혼합하여 pH 7.2 로 만들고 상기 혼합물을 초순수에 용해하여, 5 mM 포스페이트 완충제를 제조하였다. 헨더슨-하셀바흐 식을 사용하여 상기 비를 결정하였다. 필요시 HCl 및 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0341] 50 mg/ml 수크로오스 및 0.05 mg/ml 폴리소르베이트 80 을 안정화제로서 첨가하였다.

[0342] 샘플 제조

[0343] 달리 언급되지 않는 한, 포스페이트 완충제 pH 7.2 중 150 mM 의 농도로 하나의 화합물을 갖는 부형제 용액을 제조하였다. 엽산을 12 mM 농도로 제조하였다. 티아민 피로포스페이트를 75 mM 농도로 제조하였다. 필요시 HCL 또는 NaOH 를 사용하여 pH 를 조정하였다.

[0344] 2 개 부형제를 조합하여, 각각의 화합물을 각각 75 mM 의 농도로 제조하였다. 엽산을 조합으로 12 mM 로 사용하였다.

[0345] 원하는 부형제를 함유하는 농축된 인플릭시맙 용액을 원심분리 필터 (Amicon, 30 kDA MWCO) 를 사용하여 제조하여, 관련 부형제를 함유하는 완충제로 본래 완충제를 교환하고, 용액의 부피를 감소시켰다.

[0346] 원료 물질로서 10 mg/ml 인플릭시맙을 함유하는 용액을 사용하고, 0.5 ml 에서 적어도 160 mg/ml 의 농도가 달성되도록 출발 부피를 계산하였다.

[0347] 단백질 농도 측정

[0348] 브래드포드 어세이를 사용하여 단백질 농도를 결정하였다.

[0349] 따라서 Thermo Scientific™ (Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts, USA) 로부터의 키트 뿐만 아니라 램버트-비어 법칙을 적용하는 흡수 분광법을 사용하여 제조된 인플릭시맙-표준을 사용하였다. Multiskan™ Wellplatereader (Thermo Fisher, Waltham, Massachusetts, USA) 를 사용하여 595 nm 에서 흡수를 측정하였다. 125 내지 1500 µg/mL 의 표준 곡선의 적절한 다항 회귀에 의해 단백질 농도를 결정하였다.

[0350] 대략 0.5 ml 의 부피에 도달할 때까지 처리 시간을 도 20 및 도 21 에서 나타낸다.

[0351] 이 연구에서 사용한 각각의 부형제를 사용하여, 처리 시간은 적어도 20 분, 일부 경우에는 최대 90 분 감소될 수 있다. 부형제의 조합 (각각 75 mM) 으로 도달될 수 있는 시간 감소를 도 21 에서 나타낸다.

[0352] 점도 감소 부형제 조합의 사용은, Amicon 필터를 모델로서 사용하는 경우 인플릭시맙에 대한 처리 시간을 감소시킨다. 이전에 기재된 바와 같이, 본원에 나타낸 공정 이점은 심지어 보다 현실적인 모델, 예를 들어 TFF 가 사용되는 경우에도 개선된 가공성으로 변환될 수 있다.

[0353] **하기의 것이 발견되었다:**

[0354] • 고농축 단백질 용액의 점도는 L-아르기닌, L-오르니틴, L-카르니틴, 메글루민 및 캄포술폰산에 의해 감소된다.

[0355] • 고농축 단백질 용액의 점도는 L-아르기닌, L-오르니틴, L-카르니틴, 메글루민과 조합된 캄포술폰산에 의해 감소된다.

[0356] • 점도는 두 부형제 단독 (상승작용적 조합) 의 합계에 의해 달성되는 이론적 감소보다 L-아르기닌 및 캄포술폰산의 조합에 의해 더 강하게 감소된다.

[0357] • 점도 감소 가능성과 관련하여, 단백질 안정성은 캄포술폰산이 단독 부형제인 경우와 비교하여 캄포술폰산을 L-아르기닌 또는 L-오르니틴과 조합으로 사용하는 경우 덜 부정적으로 영향받는다.

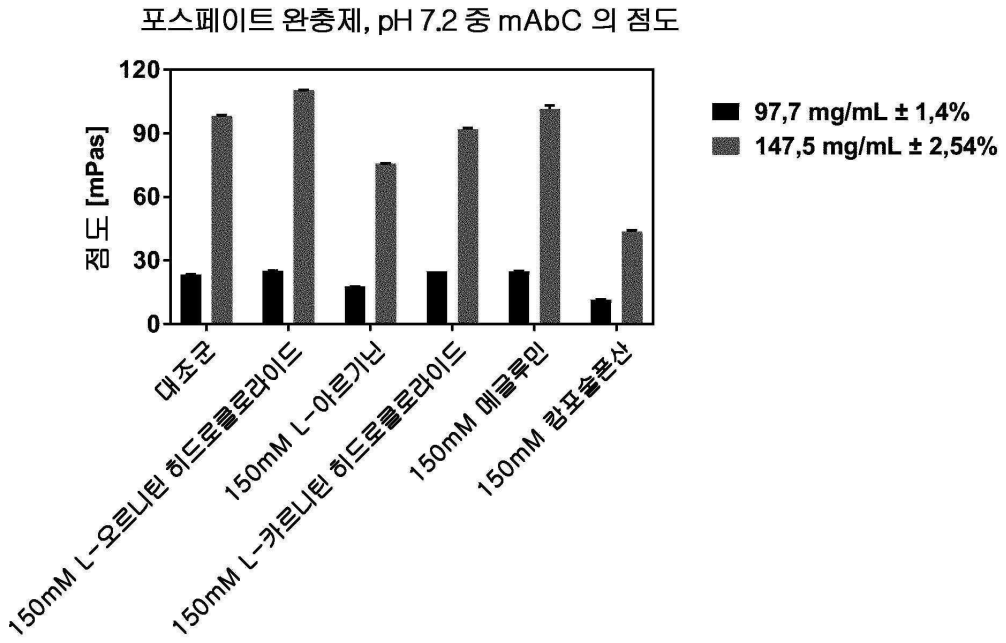
[0358] • Amicon® 원심분리 필터를 사용하는 투과 플럭스는 캄포술폰산, 및 캄포술폰산과 L-오르니틴, L-아르기닌, L-카르니틴 및 메글루민의 조합에 의해 증가한다. Amicon® 원심분리 필터에서 투과 플럭스를 증가시키는 부형제 및 조합은 또한 Amicon® 교반 셀에서 이러한 플럭스를 증가시킬 수 있다.

[0359] • 최종 단백질 농도에 도달할 때까지의 지속기간은 부형제가 없는 샘플과 비교하여 캄포술폰산, 및 캄포술폰산과 L-오르니틴, L-아르기닌, L-카르니틴 및 메글루민의 조합에 의해 감소될 수 있다.

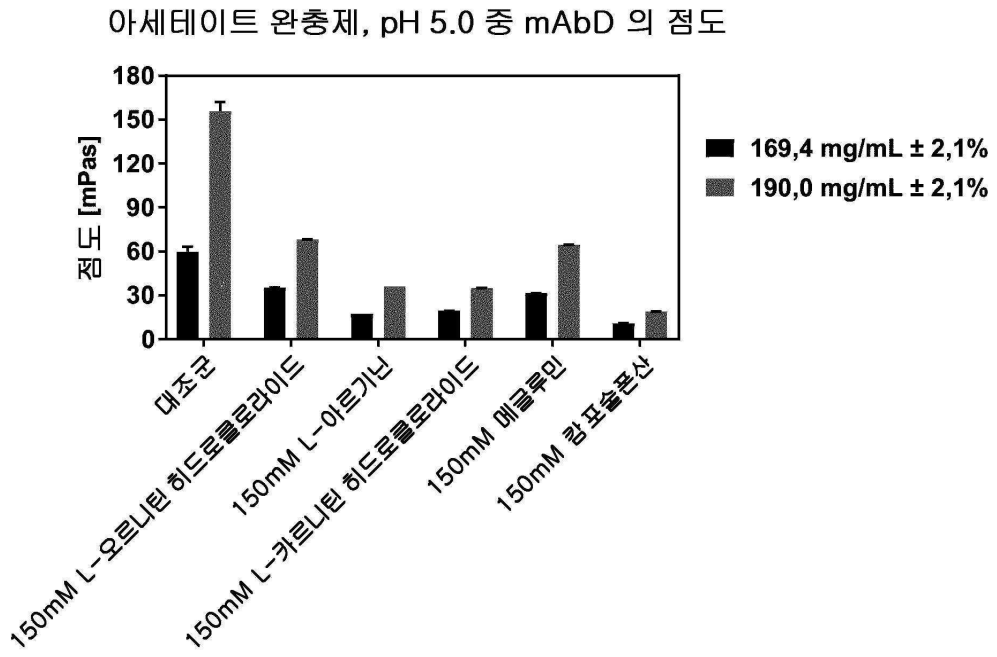
[0360] • 완충제 교환 및 부피 감소 후 항체의 회수는 부형제가 없는 샘플과 비교하여 캄포술폰산, 및 캄포술폰산과 L-오르니틴, L-아르기닌, L-카르니틴 및 메글루민의 조합에 의해 증가할 수 있다. Amicon® 원심분리 필터에서 완충제 교환 및 부피 감소 후 단백질 회수를 증가시키는 부형제 및 조합은 또한 Amicon® 교반 셀에서 이를 증가시킬 수 있다.

도면

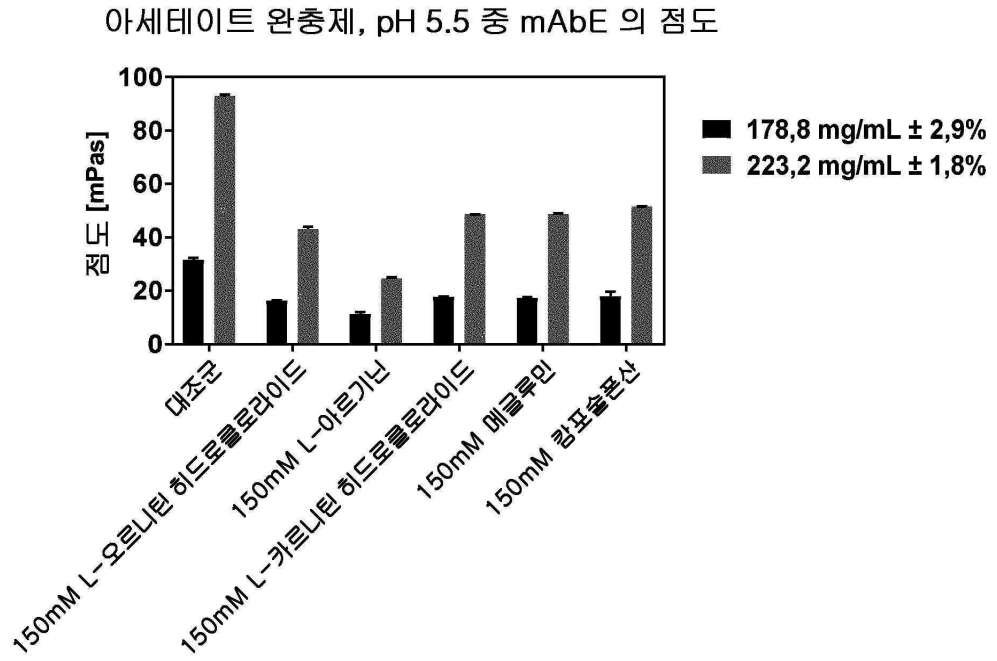
도면1



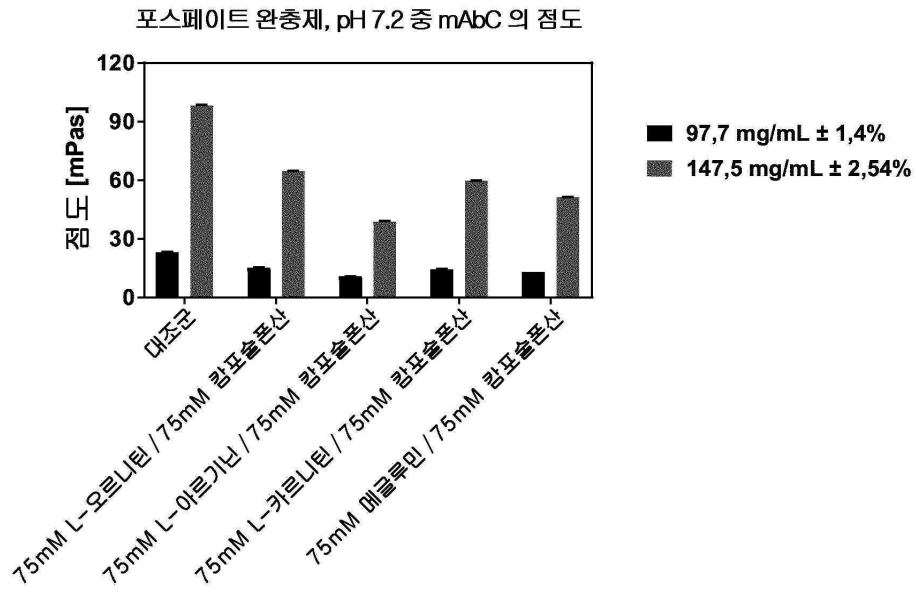
도면2


아세테이트 완충제, pH 5.0 중 mAbD 의 점도
점도 [mPas]
180
150
120
90
60
30
0
169,4 mg/mL ± 2,1%
190,0 mg/mL ± 2,1%
대조군
150mM L-오르니틴 히드로클로라이드
150mM L-아르기닌
150mM L-카르니틴 히드로클로라이드
150mM 메글루민
150mM 캄포술폰산

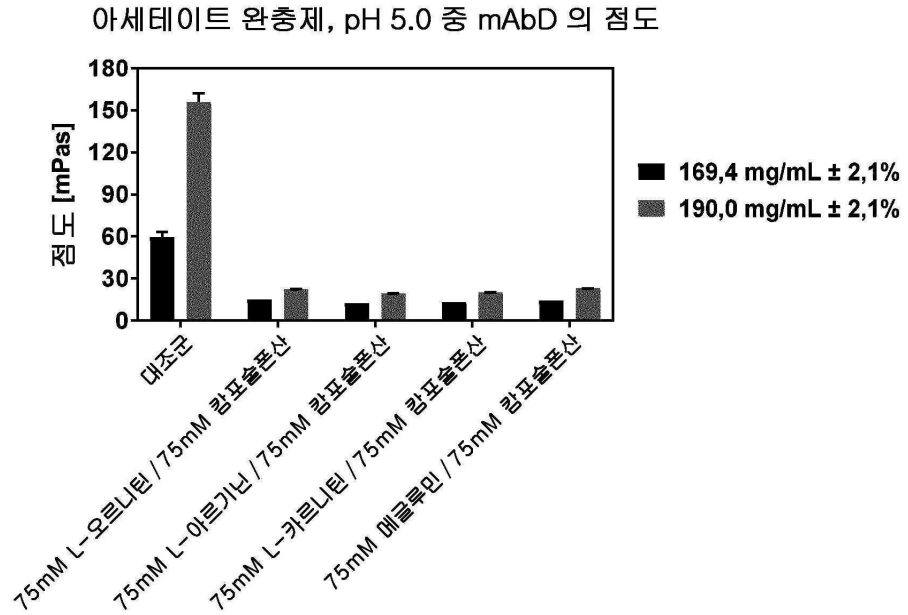
도면3


아세테이트 완충제, pH 5.5 중 mAbE 의 점도
점도 [mPas]
100
80
60
40
20
0
178,8 mg/mL ± 2,9%
223,2 mg/mL ± 1,8%
대조군
150mM L-오르니틴 히드로클로라이드
150mM L-아르기닌
150mM L-카르니틴 히드로클로라이드
150mM 메글루민
150mM 캄포술폰산

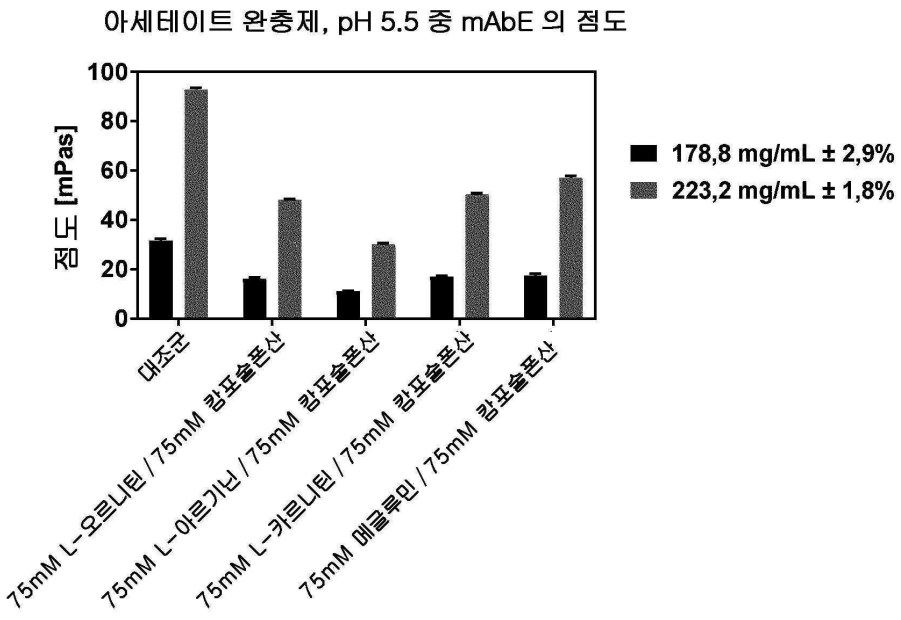
도면4


포스페이트 완충제, pH 7.2 중 mAbC 의 점도
점도 [mPas]
120
90
60
30
0
97,7 mg/mL ± 1,4%
147,5 mg/mL ± 2,54%
대조군
75mM L-오르니틴 / 75mM 캄포술폰산
75mM L-아르기닌 / 75mM 캄포술폰산
75mM L-카르니틴 / 75mM 캄포술폰산
75mM 메글루민 / 75mM 캄포술폰산

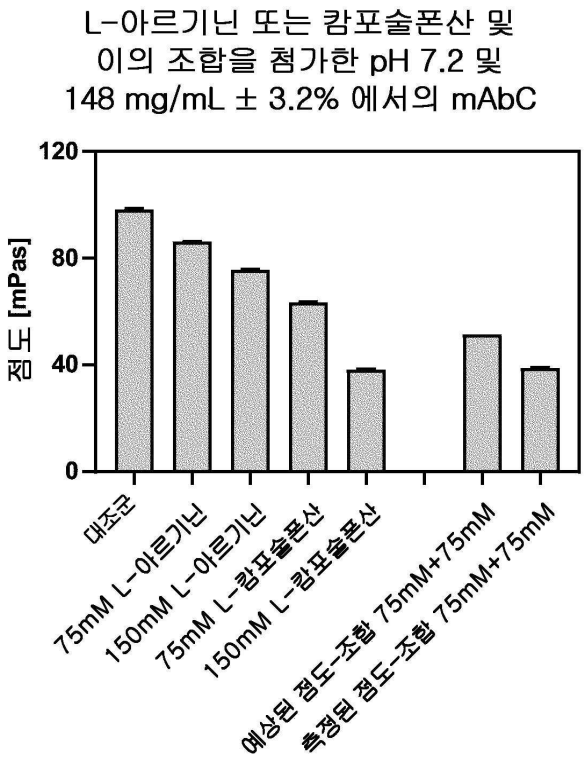
도면5


아세테이트 완충제, pH 5.0 중 mAbD 의 점도
점도 [mPas]
180
150
120
90
60
30
0
169,4 mg/mL ± 2,1%
190,0 mg/mL ± 2,1%
대조군
75mM L-오르니틴 / 75mM 캄포술폰산
75mM L-아르기닌 / 75mM 캄포술폰산
75mM L-카르니틴 / 75mM 캄포술폰산
75mM 메글루민 / 75mM 캄포술폰산

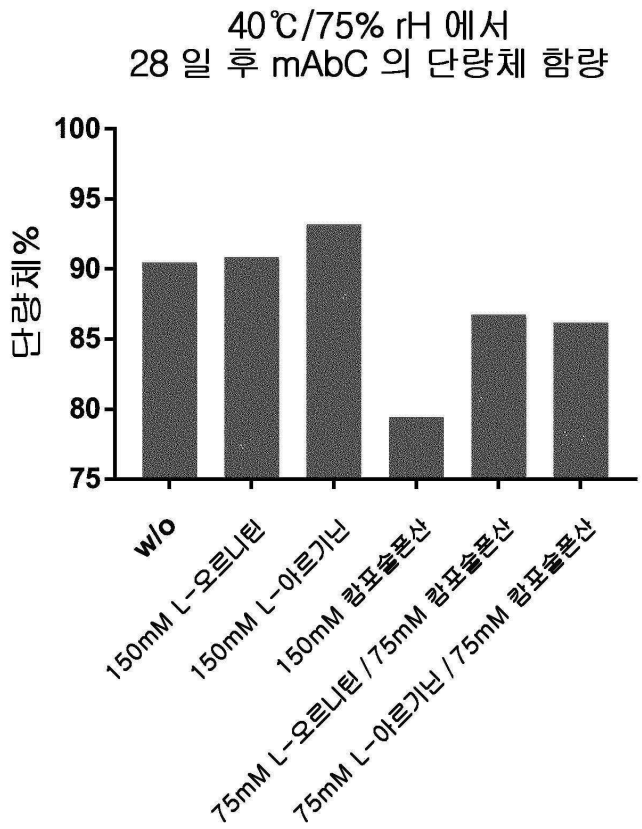
도면6


아세테이트 완충제, pH 5.5 중 mAbE 의 점도
점도 [mPas]
100
80
60
40
20
0
178,8 mg/mL ± 2,9%
223,2 mg/mL ± 1,8%
대조군
75mM L-오르니틴 / 75mM 캄포술폰산
75mM L-아르기닌 / 75mM 캄포술폰산
75mM L-카르니틴 / 75mM 캄포술폰산
75mM 메글루민 / 75mM 캄포술폰산

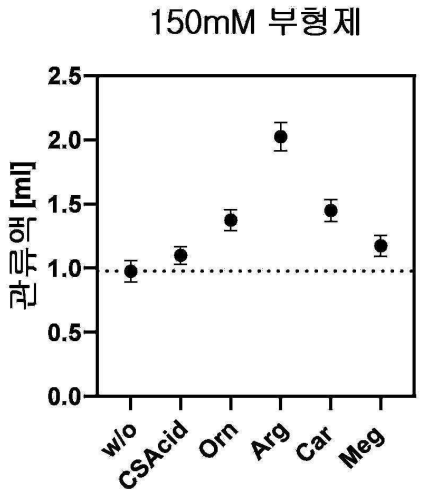
도면7


L-아르기닌 또는 캄포술폰산 및
이의 조합을 첨가한 pH 7.2 및
148 mg/mL ± 3.2% 에서의 mAbC
점도 [mPas]
120
80
40
0
대조군
75mM L-아르기닌
150mM L-아르기닌
75mM L-캄포술폰산
150mM L-캄포술폰산
예상된 점도-조합 75mM+75mM
측정된 점도-조합 75mM+75mM

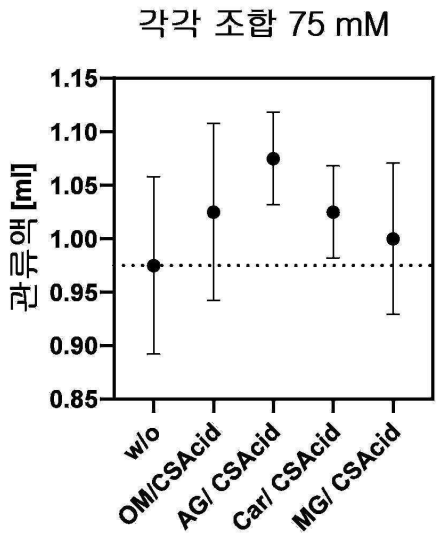
도면8


40℃/75% rH 에서
28 일 후 mAbC 의 단량체 함량
단량체 %
100
95
90
85
80
75
w/o
150mM L-오르니틴
150mM L-아르기닌
150mM 캄포술폰산
75mM L-오르니틴 / 75mM 캄포술폰산
75mM L-아르기닌 / 75mM 캄포술폰산

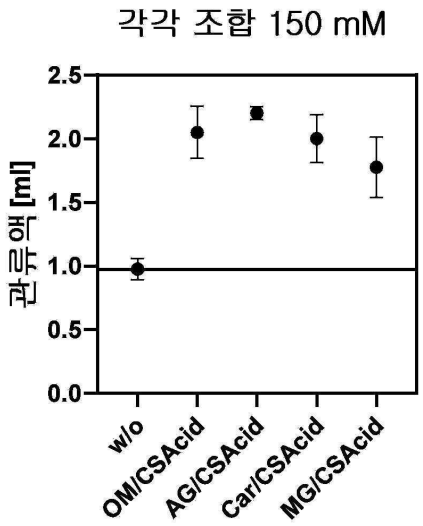
도면9


150mM 부형제
관류액 [ml]
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
w/o
CSAcid
Orn
Arg
Car
Meg

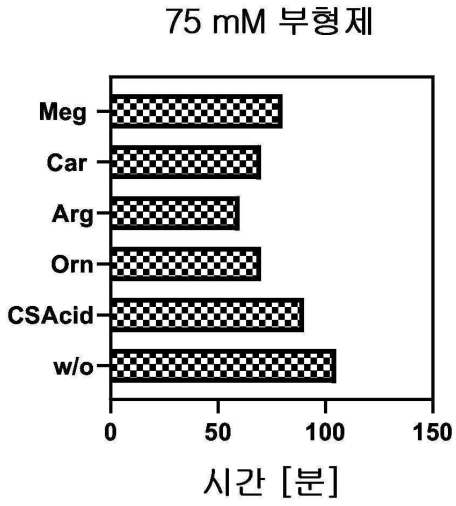
도면10



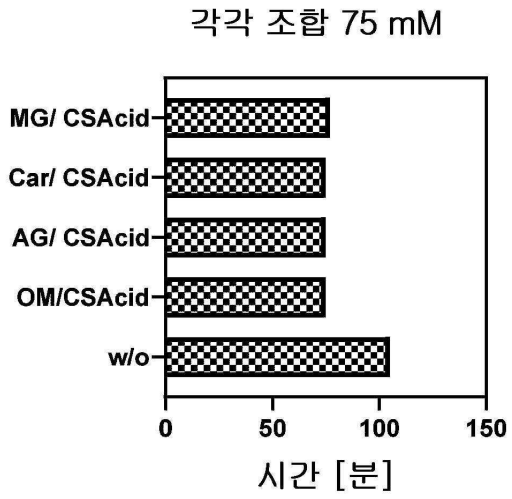
도면11



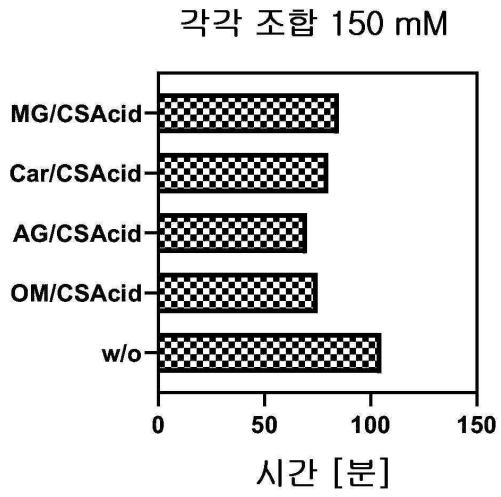
도면12



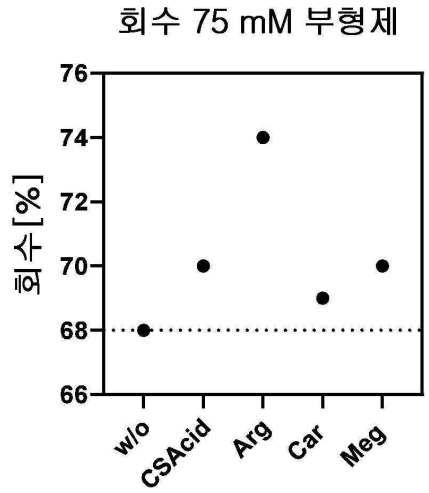
도면13



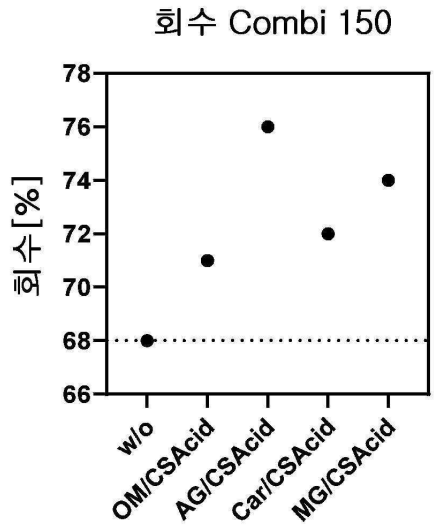
도면14



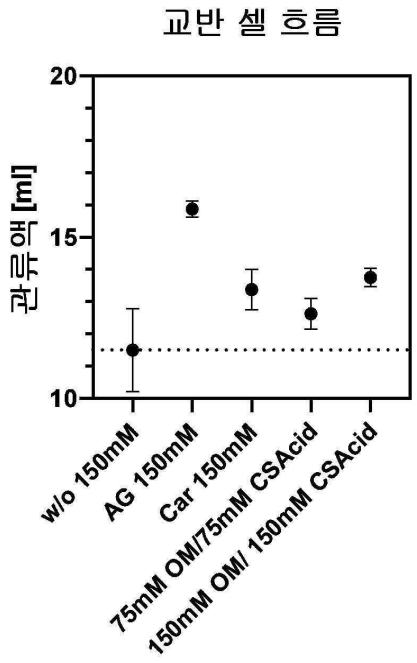
도면15



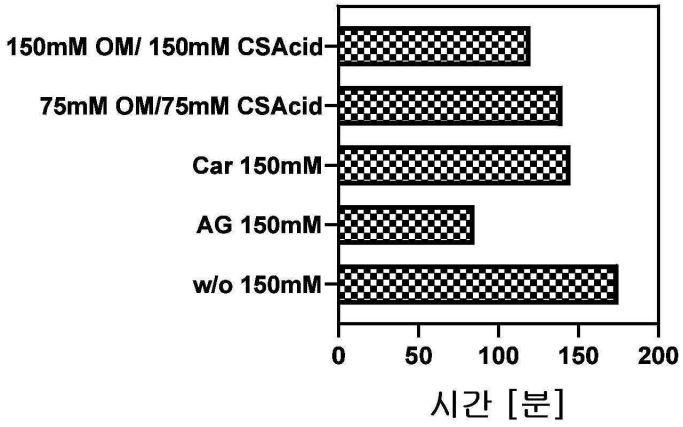
도면16


회수 Combi 150
회수 [%]
78
76
74
72
70
68
66
w/o
OM/CSAcid
AG/CSAcid
Car/CSAcid
MG/CSAcid

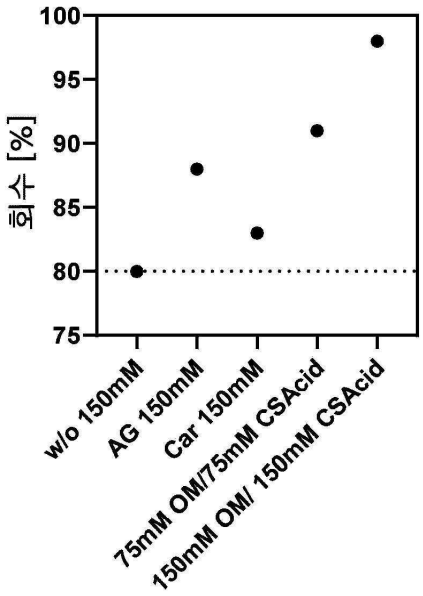
도면17


교반 셀 흐름
관류액 [ml]
20
15
10
w/o 150mM
AG 150mM
Car 150mM
75mM OM/75mM CSAcid
150mM OM/ 150mM CSAcid

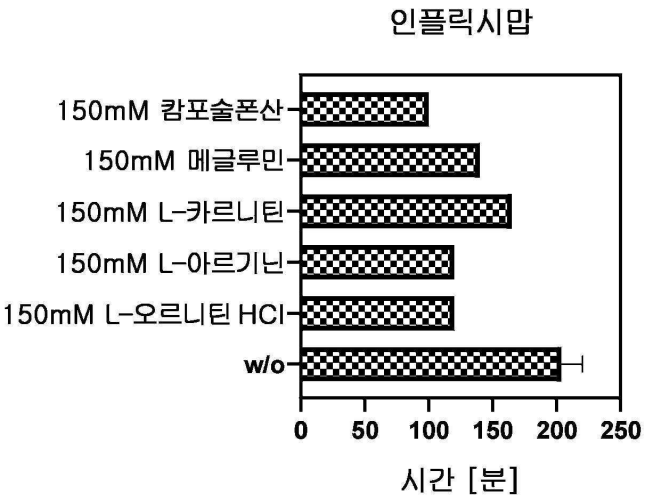
도면18



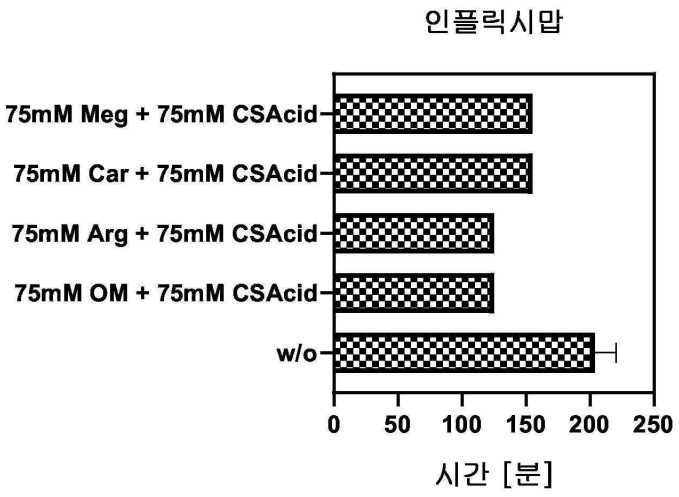
도면19



도면20



도면21


인플릭시맙
75mM Meg + 75mM CSAcid
75mM Car + 75mM CSAcid
75mM Arg + 75mM CSAcid
75mM OM + 75mM CSAcid
w/o
0
50
100
150
200
250
시간 [분]