(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020 년 3 월 26 일 (26.03.2020)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2020/060192 A1

(51) 국제특허분류:
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 47/18* (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2019/012077

(22) 국제출원일: 2019 년 9 월 18 일 (18.09.2019)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2018-0111666 2018 년 9 월 18 일 (18.09.2018) KR

(71) 출원인: 삼성바이오에피스 주식회사 (**SAMSUNG BIOEPIS CO., LTD.**) [KR/KR]; 21987 인천시 연수구 첨단대로 107, Incheon (KR).

(72) 발명자: 김미경 (**KIM, Mi Gyeong**); 08845 서울시 관악구 신림로29길 8, 111동 1403호, Seoul (KR). 유원정 (**YOO, Won Jung**); 21982 인천시 연수구 송도과학로27번길 55, 202동 1505호, Incheon (KR). 이승하 (**LEE, Seung Ha**); 21988 인천시 연수구 첨단대로 80, 922호, Incheon (KR). 이재민 (**LEE, Jae Min**); 05536 서울시 송파구 토성로 38-6, 102동 301호, Seoul (KR). 이헌주 (**LEE, Hun Joo**); 21996 인천시 연수구 해돋이로6번길 7, 112동 1004호, Incheon (KR). 김용국 (**KIM, Yong Kook**); 22003 인천시 연수구 센트럴로 160, 102동 3301호, Incheon (KR).

(74) 대리인: 리앤목 특허법인 (**Y.P.LEE, MOCK & PARTNERS**); 06292 서울시 강남구 언주로 30길 13 대림아크로텔 12층, Seoul (KR).

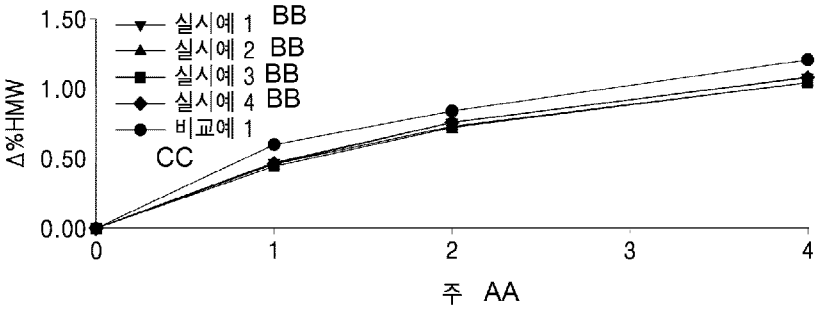
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(54) **Title:** TRASTUZUMAB STABILIZING LIQUID FORMULATION CONTAINING HIGH CONCENTRATION OF SURFACTANT

(54) **발명의 명칭:** 고농도의 계면활성제를 포함하는 트라스투주맙 안정화 액체 제제



AA ... Week
BB ... Example
CC ... Comparative Example

(57) **Abstract:** The present invention relates to a liquid formulation comprising: trastuzumab or an antigen-binding fragment thereof; a stabilizer; and a buffer, and containing a high concentration of a surfactant, and a method for preparing same.

(57) **요약서:** 본 발명은, 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편; 안정화제; 및 완충화제를 포함하고, 고농도의 계면활성제를 포함하는 액체 제제 및 이를 제조하는 방법에 관한 것이다.

WO 2020/060192 A1

명세서

발명의 명칭: 고농도의 계면활성제를 포함하는 트라스투주맙 안정화 액체 제제

기술분야

[1] 본 발명은 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는, 고농도의 계면활성제를 포함하는 안정화 액체 제제 및 그 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

[2] 환자 편의성을 증진시키기 위한 고농도 예를 들면, 50 mg/mL 이상의 농도 항체 의약품 개발 필요성이 부각되고 있으며 Herceptin® SC(120 mg/mL), Xolair®(125 mg/mL), Simponi®(100 mg/mL), 및 Humira®(50 mg/mL, 100 mg/mL) 등의 의약품이 시판된 상태이다. 항체 의약품은 제조, 운송, 보관 및 투여 동안 다양한 환경에 노출되거나 공기-액체, 고체-액체, 또는 액체-액체와 같은 상 변화를 겪을 수 있다. 특히 항체가 소수성 경계면(hydrophobic interface)과 접촉하는 경우 단백질 응집 또는 입자 형성과 같은 문제가 발생할 수 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해, 트라스투주맙 제제는 계면활성제로서 폴리소르베이트 20을 포함하고 있다. 폴리소르베이트 20을 포함하는 트라스투주맙 제형은 단백질 흡수 또는 응집을 감소시키는 것으로 알려져 있다.

[3] 상기한 알려진 항체 제제에도 불구하고, 안정성이 증가된 항체 제제에 대한 요구가 여전히 존재한다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[4] 본 발명의 일 양상은, 계면활성제를 포함하는 트라스투주맙의 응집을 유발하지 않고 안정성을 유지할 수 있는 액체 제제를 제공하는 것이다.

[5] 본 발명의 또 다른 일 양상은, 용매에 안정화제 및 완충화제를 첨가하여 혼합 용액을 제조하는 단계; 상기 혼합 용액에 0.1 w/v% 이상의 계면활성제를 첨가하는 단계; 및 계면활성제가 첨가된 용액에 트라스투주맙을 첨가하는 단계를 포함하는 액체 제제를 제조하는 방법에 관한 것이다.

과제 해결 수단

[6] 본 발명의 일 양상은, (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편;(b) 안정화제; 및 (c) 완충화제를 포함하고, 0.1 w/v% 이상의 계면활성제를 포함하는 액체 제제를 제공한다.

[7] 본 발명의 다른 일 양상은, 용매에 안정화제 및 완충화제를 첨가하여 혼합 용액을 제조하는 단계; 상기 혼합 용액에 계면활성제를 첨가하는 단계; 및 계면활성제가 첨가된 용액에 0.1 w/v% 이상의 트라스투주맙을 첨가하는 단계를 포함하는 액체 제제를 제조하는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[8] 본 발명의 일 양상에 따른 액체 제제는, 온도 스트레스 조건에서 트라스투주맙의 안정성을 유지할 수 있는 것으로 확인되었다.

도면의 간단한 설명

[9] 도 1은 온도 스트레스 조건에서 실시예 1 내지 4 및 비교예 1의 제제의 %HMW의 변화를 크기배제-고성능 액체 크로마토그래피(Size-Exclusion HPLC, SE-HPLC)로 분석한 결과를 나타낸 그래프이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[10] **실시예:**

[11] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 이에 의해 본 발명의 범위가 한정되는 것은 아니다.

[12]

[13] **제조예: 실시예 및 비교예의 제조**

[14] 실시예 1의 제조를 위하여, 하기의 표 1의 조성으로 트라스투주맙 및 계면활성제를 제외한 완충화제 및 안정화제를 폴리카르보네이트 재질의 5L 바오테이너(biotainer) 용기 중의 멸균 증류수에 첨가하여 5L 완충 용액을 제조하였다. pH 6.0의 5 mM 히스티딘 버퍼 중 40 mg/mL 트라스투주맙 용액 3mL를 투석 카세트(MWCO 10 kDa)(Slide-A-Lyzer cassette, Thermo Fisher Scientific)에 넣은 다음, 이 트라스투주맙 용액이 포함된 카세트를 상기 완충 용액 1,600mL가 포함된 2L 비커에 넣어 투석이 이루어지게 하여, pH 6.0의 5 mM 히스티딘 버퍼를 상기 완충 용액으로 교환하였다. 그 후, 트라스투주맙을 120 mg/mL 이상으로 농축하였다. 농축은 투석된 트라스투주맙 함유 용액을 컷오프 분자량이 30 kDa인 Amicon Filter를 통과시켜 이루어졌다. 마지막으로, 상기 농축된 트라스투주맙 용액에 상기 제조된 완충 용액 중에 20x 농도로 제조된 계면활성제를 1x 농도가 되도록 첨가하였다.

[15]

[16] 그 결과 얻어진 실시예 1의 제제는 pH가 약 5.5이었다. 또한, 실시예 2 내지 4, 및 비교예1의 제제를 실시예 1의 제조에서 계면활성제의 농도를 바꾸거나, 계면활성제 폴록사머 188을 폴리소르베이트 20으로 바꾼 것을 제외하고 동일하게 제조하였다. 실시예 2 내지 4, 및 비교예1의 제제의 pH는 약 5.5이었다. 또한, 실시예 5의 제제는 실시예 1의 제제에 2,000 U/ml 히알루로니다제를 첨가한 것을 제외하고 실시예 1의 제제의 제조과정과 동일하게 제조하였다. 구체적으로, 히알루로니다제는 농축된 트라스투주맙 용액에 상기 제조된 완충 용액 중에 20x 농도로 제조된 계면활성제를 1x 농도가 되도록 첨가하는 때에, 히알루로니다제도 첨가하였다.

[17]

[18] 상기 히알루로니다제는 재조합 단백질의 생산 방법에 의하여 제조하였다. 구체적으로, 상기 히알루로니다제는 *Streptomyces* koganeiensis의 것을 사용하였다. 상기 히알루로니다제는 서열번호 1의 아미노산 서열을 갖는다. 상기 히알루로니다제를 코딩하는 유전자의 nt 서열은 서열번호 2의 뉴클레오티드 서열을 갖는다. 상기 유전자는 양 말단에 제한 효소 NdeI 및 XhoI의 인지 부위를 포함하도록 한 것으로서 GenScript(Singapore)에 의뢰하여 합성하였다. 합성된 유전자 및 pUC57-Kan 벡터(Addgene 사)를 NdeI 및 XhoI으로 절단하고, 서로 연결하여, 상기 히알루로니다제 유전자를 포함하는 pUC57-Kan 벡터를 제조하였다. 상기 벡터를 대장균에 형질전환하고, 형질전환된 대장균을 배양하여 상기 pUC57-Kan 벡터를 증폭하였다. 다음으로, 상기 pUC57-Kan 벡터 중 히알루로니다제 유전자를 발현 벡터인 pFlag-STS 벡터(Addgene 사)의 NdeI 및 XhoI 부위 도입하여 발현 벡터를 제작하였다. 상기 발현 벡터를 대장균 W3110 균주에 형질전환하고, 배양하여 히알루로니다제를 배지 중에 생성하였다. 배양물로부터 상기 히알루로니다제를 분리하여 본 실시예에 사용하였다.

[19] 표 1은 실시예 1 내지 4 및 비교예1의 조성을 나타낸 것이다. 실시예5의 제제는 실시예1의 제제에 2,000 U/ml 히알루로니다제를 더 포함하는 것이다.

[20]

[21] [표1]

		실시예1	실시예2	실시예3	실시예4	비교예1
트라스투주맙(mg/mL)		120	120	120	120	120
완충화제	히스티딘(mM)	20	20	20	20	20
안정화제	메티오닌(mM)	10	10	10	10	10
	트레할로스(w/v %)	8	8	8	8	8
계면활성제(w/v%)	PS20	-		0.4	0.8	0.04
	폴록사머 188	0.4	0.8	-	-	

[22] **시험예** 1: SE-HPLC를 이용한 온도 스트레스에서 고농도 계면활성제 포함 제제의 안정성 확인

[23]

[24] 계면활성제로서 고농도의 폴록사머 188을 포함하는 제제 즉, 실시예 1 내지 2와 고농도의 PS20을 포함하는 제제 즉, 실시예 3 및 4의 제제가 스트레스 조건에서 안정성을 유지하는지 SE-HPLC를 이용하여 확인하였다. 비교를 위하여 저 농도 즉, 0.04 w/v%의 PS20을 포함하는 제제를 비교예1로서 사용하였다.

[25]

[26] 구체적으로, 실시예 1 내지 4 및 비교예 1의 제제 각각 1 mL를 폴리프로필렌

재질의 1.5 mL 마이크로튜브(microtube)(Axygen 사)에 넣고, 상기 튜브를 안정성 항온기(JEIO TECH 사)에서 40℃의 온도 스트레스 조건에 4주간 노출시켰다. 구체적으로, 상기 튜브를 상기 안정성 항온기 내에 넣고 온도 40±2℃ 및 상대 습도 75±5%의 조건에서 4 주간 두었다. 그 후, 상기 제제에 대하여 SE-HPLC를 이용하여 %HMW를 측정하였다. 제제에서 항체가 안정성을 상실하는 경우, 응집(aggregation)이 유발되어 고분자량(high molecular weight; HMW) 물질의 비율이 증가하는 것으로 관찰될 것이다.

[27] 그 결과를 표 2 및 도 1에 나타내었다. 도 1은 온도 스트레스 조건에서 실시예 1 내지 4 및 비교예 1의 제제의 %HMW의 변화를 크기배제-고성능액체 크로마토그래피(Size-Exclusion HPLC, SE-HPLC)로 분석한 결과를 나타낸 그래프이다. 제제 당 3 반복으로 제조된 제제를 각각 분석하여 얻어진 데이터의 평균값 및 표준편차(SD)를 구했으며, 표 2에 각 제제에 대한 항목당 평균 및 그 하단의 행에 표준편차를 표시하였다. 비교예 1에 비하여 실시예 1 내지 4의 제제는 현저하게 낮은 △%HMW 값을 보였다. 따라서, 고농도의 계면활성제를 포함하는 제제는 저농도의 계면활성제를 포함하는 제제에 비하여 현저하게 안정하였다. 이러한 효과는 통상의 기술자에게 예기치 않은 놀라운 효과이다.

[28] [표2]

제제	%HMW(40℃)		△%HMW(40℃)
	0일	4주	
실시예1	1.15	2.20	1.04
	[N=3,0.01]	[N=3,0.03]	[N=3,0.03]
실시예2	1.17	2.25	1.08
	[N=3,0.02]	[N=3,0.05]	[N=3,0.04]
실시예3	1.17	2.26	1.09
	[N=3,0.01]	[N=3,0.03]	[N=3,0.01]
실시예4	1.15	2.19	1.04
	[N=3,0.02]	[N=3,0.02]	[N=3,0.02]
비교예1	0.83	2.04	1.21
	[N=3,0.07]	[N=3,0.13]	[N=3,0.06]

[29] **시험예 2**: SE-HPLC를 이용한 온도 스트레스에서 고농도 계면활성제 및 히알루로니다제 포함 제제의 안정성 확인

[30]

[31] 계면활성제로서 고농도의 폴록사머 188과 2,000 U/mL의 히알루로니다제를 포함하는 제제 즉, 실시예 5의 제제와 비교예1의 제제가 스트레스 조건에서

안정성을 유지하는지 SE-HPLC를 이용하여 확인하였다.

[32] 구체적으로, 실시예 5 및 비교예 1의 제제 각각 1 mL를 폴리프로필렌 재질의 1.5 mL 마이크로튜브(microtube)(Axygen 사)에 넣고, 상기 튜브를 안정성 항온기(JEIO TECH 사)에서 40℃의 온도 스트레스 조건에 8 주간 노출시켰다. 구체적으로, 상기 튜브를 상기 안정성 항온기 내에 넣고 온도 40±2℃ 및 상대 습도 75±5%의 조건에서 8 주간 두었다. 그 후, 상기 제제에 대하여 SE-HPLC를 이용하여 %HMW를 측정하였다. 제제에서 항체가 안정성을 상실하는 경우, 응집(aggregation)이 유발되어 고분자량(high molecular weight; HMW) 물질의 비율이 증가하는 것으로 관찰될 것이다.

[33] 그 결과를 표 3에 나타내었다. 제제 당 3 반복으로 제조된 제제를 각각 분석하여 얻어진 데이터이다. 비교예 1에 비하여 실시예 5의 제제는 현저하게 낮은 △%HMW 값을 보였다. 구체적으로, 40 ℃에서 8 주 동안 두었을 경우, 실시예 5 및 비교예 1의 제제는 평균 △%HMW 값은 각각 1.24 및 1.38이었다.

[34] [표3]

제제	초기	40°C							
		1주		2주		4주		8주	
	%HMW	%HMW	Δ%HMW	%HMW	Δ%HMW	%HMW	Δ%HMW	%HMW	Δ%HMW
실시예5	0.66	1.01	0.35	1.23	0.57	1.50	0.84	1.83	1.17
	0.66	1.05	0.39	1.27	0.61	1.55	0.89	1.88	1.22
	0.69	1.13	0.44	1.37	0.68	1.65	0.96	2.03	1.34
비교예1	0.72	1.19	0.47	1.45	0.73	1.76	1.04	2.15	1.43
	0.73	1.21	0.48	1.46	0.73	1.77	1.04	2.21	1.48
	0.66	1.04	0.38	1.26	0.60	1.54	0.88	1.88	1.22

[35] 표3에서, 비교예1의 제제는 실시예5와 동일하게 동일양의 히알루로니다제를 포함한다.

[36] **시험예 3: 동결-해동 스트레스에서 고농도 계면활성제 포함 제제의 안정성 확인**

[37] 실시예 1 내지 4 및 비교예 1의 제제가 동결-해동 스트레스 조건에서 고농도의 항체를 포함하면서도 안정성을 유지할 수 있는지 SE-HPLC를 이용하여 확인하였다.

[38]

[39] 구체적으로, 실시예 1 내지 4 및 비교예 1의 제제를 동결-해동 스트레스를 가한 후

[40] %HMW를 측정하였다. 제제에서 항체가 안정성을 상실하는 경우,

응집(aggregation)이 일어나 고분자량(high molecular weight; HMW) 물질의 비율이 증가하는 것으로 관찰될 것이다. 동결-해동 스트레스는 실시예 1 내지 4 및 비교예 1의 제제 각각 1 mL를 폴리프로필렌 재질의 1.5 mL 마이크로튜브(microtube)(Axygen 사)에 넣고, 상기 튜브를 -70±10℃로 유지되는 딥프리져(deep freezer)(Thermo scientific 사)에 넣고 18시간 유지하여 동결 및 동결 상태로 유지한 후, 상기 튜브를 꺼내 상온에서 1시간 방치하여 해동 및 해동 상태로 유지하였다. 이 과정을 5회 반복하였다.

[41] 최종적으로 해동된 제제에 대하여, SE-HPLC를 이용하여 %HMW를 측정하였다. 그 결과를 표 4에 나타내었다. 제제 당 3 반복으로 제조된 제제를 각각 분석하여 얻어진 데이터의 평균값 및 표준편차(SD)를 구했으며, 표 4에 각 제제에 대한 항목당 평균 및 그 하단의 행에 표준편차를 표시하였다. 표 4에 의하면, 실시예 1 내지 4의 제제는 동결-해동 스트레스에서 비교예 1보다 우수한 안정성을 보였다. 구체적으로, 실시예 1 내지 4의 제제는 △% HMW 값이 -0.01 내지 -0.02인데 반하여, 비교예 1의 제제는 △% HMW 값이 0.06이었다.

[42] [표4]

제제	% HMW(동결-해동 0회)	% HMW(동결-해동 5회)	△% HMW
실시예1	1.15	1.14	-0.01
	[N=3, SD:0.01]	[N=3, SD:0.01]	[N=3, SD:0.01]
실시예2	1.17	1.15	-0.02
	[N=3, SD:0.02]	[N=3, SD:0.01]	[N=3, SD:0.01]
실시예3	1.17	1.16	-0.01
	[N=3, SD:0.01]	[N=3, SD:0.01]	[N=3, SD:0.01]
실시예4	1.15	1.14	-0.01
	[N=3, SD:0.02]	[N=3, SD:0.02]	[N=3, SD:0.01]
비교예1	0.83	0.89	0.06
	[N=3, SD:0.07]	[N=3, SD:0.06]	[N=3, SD:0.01]

[43] 또한, 실시예 1 내지 4의 제제가 동결-해동 스트레스 조건에서 고농도의 항체를 포함하면서도 안정성을 유지할 수 있는지를 SE-HPLC 대신 미세-흐름 이미지(Micro-Flow Imaging: MFI) 방법을 이용하여 확인하였다. 동결-해동 스트레스 조건은 상기한 바와 같다. 3 반복으로 제조된 각 제제를 분석하여 얻어진 데이터의 평균값 구하였다. 흐름-이미지 현미경(Flow-imaging microscopy, MFI) 즉, 미세-흐름 이미지는 단백질 제제 중 육안으로 보이지 않는 입자(subvisible particle)의 양을 측정하는데 이용된다. 약전에서 요구되는 바와 같이, 10 μm 및 25 μm 보다 큰 입자가 조사된다. 입자는 디지털 카메라에 의하여

검출된다. 구체적으로, MFI를 이용한 미세-흐름 이미지는 직교하는 광을 이용하여 흐르는 입자의 스냅 샷 이미지를 촬영하고, 이를 특정 부피의 액체에 존재하는 입자 수로 다시 변환한다. 상기 변환은 이미지 분석 알고리즘에 의하여 수행될 수 있다. 이 방법은 용액에 존재하는 대량의 단백질 응집체에 대한 정보를 제공한다.

[44]

[45] 구체적으로, 흐름-이미지 현미경은 MFI 5200(Protein Simple 사)를 사용하였다. 실험은 실시예 1 내지 4의 제제 0.4mL을 96웰 플레이트에 주입하고, 이 96웰 플레이트를 기기에 장착하여 수행하였다. 그 후 자동샘플러(autosampler)가 시료를 흡인한 후 흐름 셀(flow cell)에 흐르게 하고 그와 동시에 흐르는 방향과 수직인 방향으로 이미지를 촬영하였다. 촬영된 이미지는 소프트웨어를 통해 각각의 입자의 특징 즉, 크기, 강도(intensity) 등을 이용하여 입자를 분석하였다. 그 결과를 하기의 표 5에 나타내었다.

[46] [표5]

제제	입자/용기(동결-해동 0회)		입자/용기(동결-해동 5회)	
	≥10 μm	≥25 μm	≥10 μm	≥25 μm
실시예1	1467	282	2501	306
실시예2	518	160	2099	229
실시예3	2019	400	4927	988
실시예4	1008	323	4871	1094

[47] 표 5에 나타낸 바와 같이, 고농도 계면활성제를 포함하는 제제는 모두 안정하였다. 상기 계면활성제 중 0.4 w/v% 또는 0.8 w/v% 폴록사머 188을 포함하는 제제인 실시예1 및 실시예2의 제제는 고농도 즉, 0.4 w/v% 또는 0.8 w/v% PS20을 포함하는 제제인 실시예 3 및 실시예 4의 제제에 비하여 더 안정하였다.

발명의 실시를 위한 형태

[48] 본 발명에서 사용되는 모든 기술용어는, 달리 정의되지 않는 이상, 본 발명의 관련 분야에서 통상의 당업자가 일반적으로 이해하는 바와 같은 의미로 사용된다. 또한, 본 명세서에는 바람직한 방법이나 시료가 기재되나, 이와 유사하거나 동등한 것들도 본 발명의 범주에 포함된다. 또한, 본 명세서에 기재된 수치는 명시하지 않아도 "약"의 의미를 포함하는 것으로 간주한다. 본 명세서에 참고문헌으로 기재되는 모든 간행물의 내용은 전체가 본 명세서에 참고로 통합된다.

[49]

[50] 본 발명의 일 양상은, (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편; (b) 안정화제; 및 (c) 완충화제를 포함하고, 0.1 w/v% 이상의 계면활성제를 포함하는 액체

제제를 제공한다.

[51] 용어 "항원 결합 단편(antigen binding fragment)"은 트라스투주맙 항체에서 항원에 결합할 수 있는 부분의 단편으로서, 예를 들어, Fab, F(ab')2 및 Fv를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 상기 항원은 HER2 수용체일 수 있다.

[52] 트라스투주맙(trastuzumab)은 유방암을 포함한 암을 치료하는데 사용되는 단일클론 항체로서, 여러 상품명 중 하나로 허셉틴(Herceptin™)이라는 명칭으로 판매된다. 트라스투주맙은 목적하는 HER2 수용체 양성인 유방암에 사용된다. 또한, 트라스투주맙은 단독 또는 다른 화학 치료제와 조합되어 사용될 수 있다. 트라스투주맙은 정맥 내 주사 및 피하 주사에 의하여 투여된다. 트라스투주맙은 HER2 수용체에 결합하여 작동하고 세포 복제를 느리게 한다. 트라스투주맙은 인간 상피세포성장인자 수용체 단백질(HER2)의 세포외 도메인에 결합하는 마우스로부터 인간화된 재조합 IgG1 카파, 전 항체(whole antibody)이다.

[53]

[54] 일 구체예에서, 상기 액체 중 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 2 내지 300 mg/mL일 수 있다. 트라스투주맙의 농도는 본 발명의 액체 제제의 안정성, 점도 및 목적하는 pH에 영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다. 일 구체예에서, 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 예를 들어, 10 내지 300 mg/mL, 20 내지 300 mg/mL, 30 내지 300 mg/mL, 50 내지 300 mg/mL, 80 내지 300 mg/mL, 100 내지 300 mg/mL, 80 내지 250 mg/mL, 80 내지 200 mg/mL, 80 내지 180 mg/mL, 80 내지 150 mg/mL, 100 내지 150 mg/mL, 100 내지 140 mg/mL, 105 내지 135 mg/mL, 110 내지 130 mg/mL, 115 내지 125 mg/mL, 100 내지 250 mg/mL, 100 내지 200 mg/mL, 100 내지 180 mg/mL, 100 내지 150 mg/mL, 100 내지 140 mg/mL, 150 내지 300 mg/mL, 200 내지 300 mg/mL, 220 내지 300 mg/mL 또는 250 내지 300 mg/mL일 수 있다. 적절한 트라스투주맙의 농도는 액체 제제에서 스스로의 안정성, 투여에 적합한 액체 제제의 점도 및 액체 제제의 pH 유지에 기여할 수 있다

[55] 본 발명의 액체 제제는, 0.1 w/v% 이상의 계면활성제를 포함한다. 상기 계면활성제는 농도가 0.1 w/v% 이상, 예를 들면, 0.1 w/v% 초과, 0.1 내지 1.0 w/v%, 0.1 내지 0.9 w/v%, 0.15 내지 0.85 w/v%, 0.1 내지 0.8 w/v%, 0.2 내지 0.8 w/v%, 0.2 내지 0.85 w/v%, 0.15 내지 0.8 w/v%, 0.2 내지 0.6 w/v%, 0.2 내지 0.4w/v%, 0.3 내지 0.5w/v%, 0.1 내지 0.3w/v%, 0.6 내지 1.0w/v%, 0.7 내지 0.9w/v%, 0.2w/v%±5%, 0.4w/v%±5%, 또는 0.8w/v%±5%일 수 있다. 여기서, "±5%"은 기본량에 대하여 ±5% 비율로 변이를 갖는 것을 나타낸다.

[56] 상기 계면활성제는 비이온성 계면활성제일 수 있다. 상기 계면활성제는 예를 들면, 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르(Tween), 폴리에틸렌-폴리프로필렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 코폴리머(폴록사머), 또는 소듐 도데실 술페이트일 수 있다. 상기 폴록사머는

폴록사머 188일 수 있다. 상기 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르는 예를 들면, 폴리옥시에틸렌 모노라우릴 에테르, 또는 알킬페닐폴리옥시에틸렌 30 에테르(트리톤-X)일 수 있다. 상기 폴리소르베이트는 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르 또는 이의 유도체이다. 폴리소르베이트는 산화 및 가수분해를 통해 분해되는 것으로 알려져 있고, 이는 결과적으로 ROS를 생성하여 트라스투주맙 단백질의 산화적 손상을 발생시킨다고 알려져 있다. 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80일 수 있다.

[57] 일 구체예에서, 상기 계면활성제는 폴록사머 188, 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80일 수 있다.

[58] 다른 구체예에서, 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 폴리소르베이트 20일 수 있다.

[59] 일 구체예에서, 상기 안정화제는 당, 당알코올, 당산(sugar acid), 폴리올, 금속염 및 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[60] 당은 단당류, 이당류, 올리고당, 다당류 또는 이의 유도체로부터 선택된 것일 수 있다. 상기 당 유도체는 당알코올 또는 당산을 의미하는 것일 수 있다. 일 구체예에서, 상기 당, 당알코올 또는 당산은 글루코스, 프룩토스, 갈락토스, 수크로오스, 락토스, 말토스, 트레할로스, 프룩토올리고당, 갈락토올릭고당, 만난올리고당, 전분, 글리코겐, 셀룰로스, 키틴, 펙틴, 글리세롤, 에리스리톨, 트레이톨, 아라비톨, 자일리톨, 리비톨, 만니톨, 소르비톨, 갈락티톨, 푸시톨, 이디톨, 이노시톨, 볼레미톨, 아이소말트, 말티톨, 락티톨, 말토트리이톨, 말토테트라이톨, 폴리글리시톨, 알돈산, 울로손산, 우론산, 알다르산, 스타키오스, 소르보스, 자일로스, 리보스, 마이오이니시토스, 마이오이니시톨, 및 폴리에틸렌 글리콜로 이루어진 것으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[61] 일 구체예에서, 상기 당, 당알코올 또는 당산의 농도는 1 내지 20w/v%일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 당, 당알코올 또는 당산의 농도는 각각 2 내지 20w/v%, 4 내지 20w/v%, 6 내지 20w/v%, 6 내지 12w/v%, 6 내지 10w/v%, 4 내지 14w/v%, 2 내지 18w/v%, 7 내지 9w/v%, 1 내지 18w/v%, 1 내지 15w/v%, 1 내지 12w/v%, 1 내지 10w/v%, 2 내지 18w/v%, 2 내지 15w/v%, 2 내지 14w/v%, 2 내지 12w/v%, 2 내지 10w/v%, 2 내지 8w/v%, 3 내지 13w/v%, 4 내지 18w/v%, 4 내지 15w/v%, 4 내지 12w/v%, 4 내지 10w/v%, 5 내지 11w/v%일 수 있다. 당, 당알코올 또는 당산의 농도는 본 발명의 액체 제제 중 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 안정성 및 액체 제제의 점도를 유지하는데 바람직한 범위 내에서 자유롭게 조절될 수 있고, 각 구체적인 당, 당알코올 또는 당산에 따라 개별적으로 달라질 수 있다.

[62] 용어 "폴리올"은 분자에 2개 이상의 수산기(-OH)를 갖고 있는 유기 화합물을 의미할 수 있다. 일 구체예에서, 상기 폴리올은 프로판디올, 글리세린, 부틸렌글라이콜, 프로필렌글리콜, 디프로필렌글리콜, 펜틸렌글라이콜,

헥실렌글라이콜, 폴리에틸렌글라이콜 및 솔비톨로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나 이상일 수 있다.

[63] 일 구체예에서, 상기 금속염은 NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na_2SO_4, NaSCN, 또는 K_2SO_4일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 일 구체예에서, 상기 금속염은 NaCl일 수 있다. 상기 금속염의 농도는 0.1 내지 10w/v%일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 금속염의 농도는 0.1 내지 8w/v%, 0.1 내지 6w/v%, 0.1 내지 5w/v%, 0.1 내지 3w/v%, 0.1 내지 1w/v%, 0.3 내지 10w/v%, 0.3 내지 8w/v%, 0.3 내지 6w/v%, 0.3 내지 5w/v%, 0.3 내지 3w/v% 또는 0.3 내지 1w/v%, 0.5 내지 10w/v%, 0.5 내지 8w/v%, 0.5 내지 6w/v%, 0.5 내지 5w/v%, 0.5 내지 3w/v% 또는 0.5 내지 1w/v%일 수 있다. 금속염의 농도는 본 발명의 액체 제제 중 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 안정성 유지하고, 이를 침전시키기 않는 범위 내에서 자유롭게 조절될 수 있고, 각 구체적인 금속염에 따라 개별적으로 달라질 수 있다.

[64] 일 구체예에서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루탐산, 히스티딘, 글루타민, 이소루신, 루신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 및 발린으로 이루어진 군에서 선택된 하나 이상일 수 있다. 아미노산의 농도는 본 발명의 액체 제제의 목적하는 pH에 영향을 미치지 않고, 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 안정성에 영향을 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절될 수 있고, 각 구체적인 아미노산에 따라 개별적으로 달라질 수 있다.

[65] 일 구체예에서, 상기 아미노산은 메티오닌일 수 있다.

[66] 일 구체예에서, 상기 안정화제는 2 이상의 안정화제를 포함할 수 있다.

[67] 일 구체예에서, 상기 안정화제는 트레할로스 및 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[68] 일 구체예에서, 상기 안정화제는 1 내지 15w/v% 트레할로스 및 1 내지 50 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 2 내지 14w/v% 트레할로스 및 1 내지 30 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 3 내지 13w/v% 트레할로스 및 1 내지 20 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 4 내지 12w/v% 트레할로스 및 1 내지 20 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 5 내지 11w/v% 트레할로스 및 2 내지 18 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 6 내지 10w/v% 트레할로스 및 2 내지 18 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 6 내지 10w/v% 트레할로스 및 4 내지 16 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 6 내지 10w/v% 트레할로스 및 6 내지 14 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다. 상기 안정화제는 7 내지 9w/v% 트레할로스 및 8 내지 12 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나

이상일 수 있다. 상기 안정화제는 2 내지 8w/v% 트레할로스 및 1 내지 20 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.

[69]

[70] 일 구체예에서, 상기 완충화제는 pH 4.0 내지 7.0을 제공하는 것일 수 있다. 상기 액체 제제의 pH는 4.0 내지 7.0일 수 있다. 다른 구체예에서, 상기 액체 제제의 pH는 4.5 내지 6.5, 5.0 내지 6.0 또는 5.5±0.2일 수 있다. 액체 제제의 pH는 트라스투주맙의 응집 방지 및 활성 유지에 적절한 범위 내에서 자유롭게 조절될 수 있다.

[71] 본 발명의 액체 제제는 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편을 안정화하는데 바람직한 pH를 유지하기 위해 완충화제를 포함할 수 있다. 상기 용어 "완충화제"는 산이나 알칼리에 의한 pH의 변화를 최소화시키는 중화성 물질을 의미하고, 일 구체예에서, 상기 완충화제는 히스티딘, 인산, 구연산, 말레인산, 타르타르산, 숙신산, 시트레이트, 아세테이트, 카르보네이트 및 이들의 염으로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[72] 일 구체예에서, 상기 완충화제는 히스티딘이다. 일 구체예에서, 상기 완충화제는 1 내지 100 mM의 히스티딘이다. 상기 히스티딘의 농도는 예를 들면, 1 내지 80 mM, 1 내지 70 mM, 1 내지 60 mM, 1 내지 50 mM, 1 내지 40 mM, 1 내지 30 mM, 2 내지 80 mM, 2 내지 70 mM, 2 내지 60 mM, 2 내지 50 mM, 2 내지 40 mM, 2 내지 30 mM, 2 내지 25 mM, 3 내지 80 mM, 3 내지 70 mM, 3 내지 60 mM, 3 내지 50 mM, 3 내지 40 mM, 3 내지 30 mM, 3 내지 25 mM, 4 내지 80 mM, 4 내지 70 mM, 4 내지 60 mM, 4 내지 50 mM, 4 내지 40 mM, 4 내지 30 mM, 4 내지 25 mM, 5 내지 80 mM, 5 내지 70 mM, 5 내지 60 mM, 5 내지 50 mM, 5 내지 40 mM, 5 내지 30 mM, 5 내지 25 mM, 6 내지 80 mM, 6 내지 70 mM, 6 내지 60 mM, 6 내지 50 mM, 6 내지 40 mM, 6 내지 30 mM, 6 내지 25 mM, 8 내지 80 mM, 8 내지 70 mM, 8 내지 60 mM, 8 내지 50 mM, 8 내지 40 mM, 8 내지 30 mM, 8 내지 25 mM, 10 내지 80 mM, 10 내지 70 mM, 10 내지 60 mM, 10 내지 50 mM, 10 내지 40 mM, 10 내지 30 mM, 10 내지 25 mM, 12 내지 80 mM, 12 내지 70 mM, 12 내지 60 mM, 12 내지 50 mM, 12 내지 40 mM, 12 내지 30 mM, 12 내지 25 mM, 14 내지 80 mM, 14 내지 70 mM, 14 내지 60 mM, 14 내지 50 mM, 14 내지 40 mM, 14 내지 30 mM, 14 내지 25 mM, 16 내지 80 mM, 16 내지 70 mM, 16 내지 60 mM, 16 내지 50 mM, 16 내지 40 mM, 16 내지 30 mM, 16 내지 25 mM, 16 내지 24 mM, 18 내지 80 mM, 18 내지 70 mM, 18 내지 60 mM, 18 내지 50 mM, 18 내지 40 mM, 18 내지 30 mM, 18 내지 25 mM, 18 내지 24 mM, 18 내지 22 mM, 19 내지 80 mM, 19 내지 70 mM, 19 내지 60 mM, 19 내지 50 mM, 19 내지 40 mM, 19 내지 30 mM, 19 내지 25 mM, 19 내지 23 mM, 19 내지 21 mM, 10 내지 100 mM, 15 내지 100 mM, 20 내지 100 mM, 15 내지 80 mM, 20 내지 80 mM, 15 내지 50 mM, 20 내지 50 mM, 15 내지 30 mM, 15 내지 25 mM, 17 내지 23 mM, 또는 20 내지 30 mM일 수 있다. 상기

히스티딘은 히스티딘과 그의 짝산의 형태일 수 있다. 상기 짝산은 히스티딘 HCl일 수 있다. 히스티딘과 그의 짝산의 비율은 선택되는 제제의 pH에 달라질 수 있다. 예를 들면, 상기 제제의 pH가 5.5±0.2인 경우, 히스티딘과 히스티딘 HCl 일수화물의 농도 비율은 약 1:6 일 수 있다.

[73] 상기 정의된 안정화제, 완충화제, 및 계면활성제는 서로 다른 것일 수 있다.

[74] 본 발명의 액체 제제에서 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 안정화될 수 있다. 상기 액체 제제는 안정한 액체 약학적 제제일 수 있다. 용어 "안정화(stabilization)"는 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편이 투여 전후, 추가 제조 공정, 보관 또는 저장 시에 이의 물리적 안정성, 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 실질적으로 보유하는 것을 의미한다. 물리적 안정성, 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성은 통상적으로 알려진 방법으로 평가할 수 있다.

[75] 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 색상 및/또는 투명성에 대한 육안 조사시 또는 자외선(ultraviolet, UV) 광분산 또는 크기 배제 크로마토그래피에 의해 측정시 어떠한 응집, 침전 및/또는 변성에 대한 징후도 보이지 않는 경우 상기 약학적 제제 내에서 물리적 안정성을 보유한다.

[76]

[77] "안정성(stability)"은 선택된 온도에서 선택된 기간 동안 측정될 수 있다. 예를 들면, 일 구체예에서, 안정한 제제는 2 내지 8℃에서 12개월 또는 그 이상 동안 유의한 변화가 관찰되지 않는 제제이다. 다른 구체예에서, 안정한 제제는 2 내지 8℃에서 18개월 또는 그 이상 동안 유의한 변화가 관찰되지 않는 제제이다. 다른 구체예에서, 안정한 제제는 23 내지 27℃에서 3개월 또는 그 이상 동안 유의한 변화가 관찰되지 않는 제제이다. 다른 구체예에서, 안정한 제제는 23 내지 27℃에서 6개월 또는 그 이상 동안 유의한 변화가 관찰되지 않는 제제이다. 다른 구체예에서, 안정한 제제는 23 내지 27℃에서 12개월 또는 그 이상 동안 유의한 변화가 관찰되지 않는 제제이다. 다른 구체예에서, 안정한 제제는 23 내지 27℃에서 18개월 또는 그 이상 동안 유의한 변화가 관찰되지 않는 제제이다. 항체 제제에 대한 안정성 기준은 다음과 같다. SE-HPLC로 측정하였을 때, 항체 단량체는 최초 단량체 양에 대하여 10% 이하, 예를 들면, 5% 이하, 또는 2.5% 이하가 분해되는 것이다. 예를 들면, SE-HPLC로 저분량(low molecular weight, LMW) 종을 측정하였을 때, 저분자량 종의 양 변화가 이의 최초 양에 대하여 10% 이하, 5% 이하, 또는 2.5% 이하의 변화를 갖는 것일 수 있다. 예를 들면, SE-HPLC로 고분량(high molecular weight, HMW) 종을 측정하였을 때, 고분자량 종의 양 변화가 이의 최초 양에 대하여 10% 이하, 5% 이하, 또는 2.5% 이하의 변화를 갖는 것일 수 있다. 또한, 제제의 농도, 및 pH는 최초 값에 대하여 0% 이하, ±5% 이하, 또는 ±2.5% 이하의 변화를 갖는 것일 수 있다. 항체 역가(potency)는 대조군 또는 표준 항체의 60 내재 140%, 또는 80 내지 120% 이내일 수 있다.

[78] 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 생물학적 활성을 여전히

보유하는 것으로 보이는 소정의 시간에 화학적으로 안정한 경우 상기 약학적 제제 내에서 화학적 안정성을 보유한다. 화학적 안정성은 화학적으로 변형된 형태의 트라스투주맙을 검출하고 정량함에 의해 평가될 수 있다. 화학적 변형은 크기 변형 또는 전하 변화를 포함한다. 상기 전하 변화는 예를 들면 탈아미드화의 결과로서 발생하는 전하 변화일 수 있다. 상기 크기 변형은 크기 배제 크로마토그래피(SE-HPLC), 소듐 도데실술페이트-폴리아크릴아미드겔 전기영동(SDS-PAGE), 모세관 전기영동-소듐 도데실술페이트(capillary electrophoresis-sodium dodecyl sulfate, CE-SDS) 분석, 및 기질-보조 레이저 해흡/이온화/비행시간 질량분석(Matrix-assisted laser desorption/ionization/Time-of-flight Mass spectrometry, MALDI/TOF MS)을 사용하여 평가될 수 있다. 또한, 전하 변화는 이온 교환 크로마토그래피(ion exchange chromatograph, IEC), 및 이미지 모세관 등전 포커싱(Imaged capillary isoelectric focusing, icIEF)에 의해 평가될 수 있다. 활성은 HER2 수용체 결합 분석을 통하여 결정할 수 있다. HER2 수용체 결합 분석은 효소-연결 면역흡착 분석(Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)에 의하여 수행될 수 있다. ELISA 분석은 트라스투주맙이 HER2 수용체에 결합하는 비율(%)을 측정하는 것이다. ELISA는 Her2 ELISA kit (R&D system) 를 사용하여 수행될 수 있다. 트라스투주맙 시료와 ELISA 기판 상의 HER2 수용체와 반응시킨 후 결합 정도는 450 nm 흡광도를 측정하여 상대적 결합 비율(%)(relative binding rate)을 얻을 수 있다.

[79]

[80] 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 약학적 제제 내에서 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편이 이의 의도된 목적을 위해 생물학적으로 활성인 경우 약학적 제제 내에서 생물학적 활성을 보유한다. 생물학적 활성은 예를 들면 약학적 제제 내에 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 생물학적 활성이 약학적 제제의 제조 시점에 나타내는 생물학적 활성의 약 30%, 약 20%, 약 10% 이내 또는 분석 오차 이내에 있는 경우 생물학적 활성을 보유한다. 상기 생물학적 활성은 예를 들면 항원 결합 분석에서 결정될 수 있다. 상기 생물학적 활성은 예를 들면 항원 결합 활성일 수 있다.

[81] 안정화 여부는 온도 스트레스, 예를 들어, 40℃에서 1주 내지 4주 또는 8주, 동결-해동 스트레스, 예를 들어, -70℃ 동결 및 상온에서 해동하는 주기의 5회 반복, 또는 교반 스트레스, 예를 들어, 교반기에서 72시간 400 rpm 회전력을 가하여, SE-HPLC를 이용하여, %HMW, % 단량체 및/또는 %LMW를 측정함으로써 평가할 수 있다. 일 구체예에서, 본 발명의 액체 제제는 Herceptin®과 비교하여 더 적은 Δ%HMW, Δ% 단량체 및/또는 Δ%LMW 값을 가질 수 있다.

[82]

[83] 본 명세서에서 제공되는 액체 제제는 항체 함량이 120 mg/ml인 경우(pH 5.5),

통상적인 SEC로 40℃에서 4주일 동안 보관 시에 측정된 %HMW의 변화량 즉, 보관 4주차의 %HMW - 0주차의 %HMW 값이, 약 5% 이하, 약 3% 이하, 약 2% 이하, 약 1.5% 이하, 약 1.3% 이하, 약 0.1 내지 약 5%, 약 0.5 내지 약 3%, 약 0.5 내지 약 2%, 약 0.5 내지 약 1.5%, 약 0.7 내지 약 1.3%, 또한 약 0.8 내지 약 1.2%일 수 있다. 상기 "0주차"는 보관 개시 시(initial)를 나타낸다.

[84]

[85] 다른 예에서, 본 명세서에서 제공되는 액체 제제는 항체 함량이 120 mg/ml인 경우(pH 5.5), 상기 액체 조성물을 -70±10℃에서 18시간 유지한 후, 상온에서 1시간 방치하여 해동하는 과정을 5회 반복한 후, 통상적인 SEC로 측정된 %HMW의 변화량이 약 2% 이하, 약 1.5% 이하, 약 1.0% 이하, 약 0.5% 이하, 약 0.1% 이하, 약 0.05% 이하, 약 0.01% 이하, 약 0.001% 이하, 약 0.1 내지 약 1%, 약 0.01 내지 약 1%, 약 0.001 내지 약 1%, 약 -0.05 내지 약 0.05%, 약 -0.04 내지 약 0.05%, 약 -0.03 내지 약 0.05%, 약 -0.02% 내지 약 0.05%, 또는 약 -0.01 내지 약 0.05% 일 수 있다.

[86]

[87] 또한, 본 명세서에서 제공되는 액상 조성물은 항체 함량이 120 mg/ml인 경우(pH 5.5), 상기 액체 조성물을 -70±10℃에서 18시간 유지한 후, 상온에서 1시간 방치하여 해동하는 과정을 5회 반복한 후, 시료 0.4mL을 96웰 플레이트에 주입하고, 이 96웰 플레이트를 현미경 MFI 5200(Protein Simple 사) 기기에 장착하고, 자동샘플러(autosampler)가 시료를 흡인한 후 흐름 셀(flow cell)에 흐르게 하고 그와 동시에 흐르는 방향과 수직인 방향으로 이미지를 촬영하고, 촬영된 이미지를 분석하여 얻어진 입자가 크기가 10 μm 이상의 입자가 2,000 내지 6,000개, 2,000 내지 5,500개, 2,050 내지 5,000개, 2,050 내지 5,000개, 2,050 내지 4,900개, 2,090 내지 4,880개, 2,000 내지 2,600개, 2,000 내지 2,550개, 또는 2,000 내지 2,510개일 수 있다. 또한, 얻어진 입자가 크기가 25 μm 이상의 입자가 200 내지 1,200개, 210 내지 1,100개, 200 내지 310개, 210 내지 310개, 또는 220 내지 310개일 수 있다.

[88] 일 구체예에서, 상기 액체 제제는 피하 주사 또는 정맥 주사용일 수 있다. 상기 액체 제제는 주사에 적합하도록 적절한 수성 담체를 더 포함할 수 있다. 상기 수성 담체는 인간에게 투여 시 안전하고 무독성인 제약상 허용된 것일 수 있다. 상기 수성 담체는 멸균수, 예를 들어 멸균 주사용수(SWFI), 정균성 주사용수(BWFI), 멸균 염수 용액, 링거 용액, 덱스트로스를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[89] 일 구체예에서, 본 발명의 액체 제제는 피하 또는 정맥 주사시 적절한 범위의 삼투질 농도를 가질 수 있다. 삼투질 농도는 예를 들어, 200 내지 400 mOsm/kg, 250 내지 380 mOsm/kg, 또는 270 내지 360 mOsm/kg일 수 있다. 삼투질 농도는 투여시 발생할 수 있는 통증을 최소화하기 위해 적절히 조절될 수 있다.

[90] 일 구체예에서, 본 발명의 액체 제제는 피하 또는 정맥 주사시 적절한 범위의

점도를 가질 수 있다. 점도는 예를 들어, 0.5 내지 50 cp로서, 투여시 발생할 수 있는 통증을 최소화하기 위해 적절히 조절될 수 있다.

[91] 일 구체예에서, 본 발명의 액체 제제는 히알루로니다제 효소를 포함할 수 있다. 상기 히알루로니다제 효소의 양은 사용되는 히알루로니다제 효소에 따라 달라질 수 있다. 히알루로니다제 효소의 양은 함께 투여되는 항-HER2 항체, 예를 들면, 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 분산(dispersion) 및 흡수(absorption)가 증가되도록 하는데 충분한 양일 수 있다. 히알루로니다제 효소의 양은 150 U/ml 이상일 수 있다. 히알루로니다제 효소의 효과적인 양은 예를 들면, 약 1,000 내지 16,000 U/ml이고, 여기서 상기 양은 추정 비활성(assumed specific activity) 100,000 U/mg에 근거한 약 0.01 mg 내지 0.16 mg에 해당한다. 대안적으로, 상기 히알루로니다제 효소의 농도는 약 1,500 내지 12,000 U/ml, 또는 약 2,000 내지 12,000 U/ml일 수 있다. 상기 양은 상기 제제에 추가되는 히알루로니다제 효소의 양에 해당한다. 최종 제제에서 측정되는 히알루로니다제 효소의 양은 특정 범위에서 변할 수 있다. 히알루로니다제 효소 대 항-HER2 항체의 비(w/w)는 1:5,00 내지 1:100,000, 1:1,000 내지 1:50,000, 1:1,000 내지 1:30,000, 1:1,000 내지 1:20,000, 1:1,000 내지 1:15,000, 1:1,000 내지 1:13,000, 1:1,000 내지 1:12,000, 1:1,000 내지 1:10,000, 1:1,000 내지 1:8,000, 1:4,000 내지 1:5,000, 또는 약 1:6,000일 수 있다.

[92]

[93] 상기 히알루로니다제 효소는 동물, 박테리아, 또는 사람 시료로부터 유래되거나 재조합 DNA 기술에 의하여 제조된 것일 수 있다.

[94] 상기 히알루로니다제 효소는 가용성 히알루로니다제 당단백질(soluble hyaluronidase glycoproteins: sHASEGPs)일 수 있다. 이러한 가용성 히알루로니다제 당단백질은 상기 제제와 함께 또는 별개로 투여될 수 있다. 상기 가용성 히알루로니다제 당단백질의 첨가는 피하로 치료 약물이 투여되는 것을 촉진할 수 있다. 세포외 공간 내의 히알루로난(HA)을 빠르게 해중합함으로써, 가용성 히알루로니다제 당단백질은 간질(interstitium)의 점도를 낮추어, 유압적 전도성(hydraulic conductance)을 증가시켜, 많은 부피가 피하 조직으로 쉽고 편안하게 투여되게 한다. 감소된 간질 점도를 통한 가용성 히알루로니다제 당단백질에 의하여 유도된 증가된 유압적 전도성은 분산을 더 잘되게 하여, 피하 투여된 치료 약물의 전신성 생체 이용성(systemic bioavailability)을 증가시킬 수 있다.

[95] 상기 히알루로니다제 효소는 어느 하나 이상의 국가에서 사람에 사용되는 것에 대하여 허가된 것일 수 있다. 상기 히알루로니다제 효소는 예를 들면, EU에서 허가된 Hylase™, Dessau, Hyalase™, 미국에서 허가된 Vitrase™, Hydase™, Amphadase™, 또는 Hylenex™일 수 있다. 상기 히알루로니다제 효소는 PH20 또는 rHuPH20과 같은 사람 히알루로니다제 효소일 수 있다. 재조합 사람 PH20(rHuPH20)은 중성 및 산성-활성 β-1,4 글리코실 히드롤라제 패밀리의

일원이다. rHuPH20은 N-아세틸 글로코사민의 C1 위치 및 글루쿠론산의 C4 위치 사이의 β-1,4 결합의 가수분해에 의하여 히알루로난을 해중합한다. rHuPH20는 Halozyme 사에 의하여 개발된 지질 부착에 필요한 카로복시 말단의 아미노산이 없는 전달된 결실 변이체(truncated deletion variant)일 수 있다.

[96]

[97] 본 발명의 다른 일 양상은, 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 2 내지 300 mg/mL이고, 상기 안정화제는 트레할로스 및 메티오닌의 조합이고, 상기 완충화제는 히스티딘이고, 상기 계면활성제는 0.1 내지 0.9 w/v% 계면활성제인 것인 액체 제제를 제공한다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[98] 일 구체예에서, 상기 안정화제는 1 내지 20w/v%의 트레할로스 및 1 내지 20 mM의 메티오닌의 조합이고, 상기 완충화제는 10 내지 50 mM의 히스티딘이다. 상기 트레할로스의 농도는 2 내지 20w/v%, 4 내지 20w/v%, 6 내지 20w/v%, 1 내지 18w/v%, 1 내지 15w/v%, 1 내지 12w/v%, 1 내지 10w/v%, 2 내지 18w/v%, 2 내지 15w/v%, 2 내지 12w/v%, 2 내지 10w/v%, 4 내지 18w/v%, 4 내지 15w/v%, 4 내지 12w/v% 또는 4 내지 10w/v%일 수 있다. 상기 메티오닌의 농도는 1 내지 20 mM, 2 내지 20 mM, 5 내지 20 mM, 8 내지 20 mM, 1 내지 18 mM, 2 내지 18 mM, 5 내지 18 mM, 1 내지 15 mM, 2 내지 15 mM, 5 내지 15 mM, 8 내지 15 mM, 1 내지 12 mM, 2 내지 12 mM, 5 내지 12 mM 또는 8 내지 12 mM일 수 있다. 상기 히스티딘은 10 내지 45 mM, 10 내지 40 mM, 10 내지 35 mM, 10 내지 30 mM, 15 내지 25 mM, 또는 18 내지 22 mM일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 농도가 0.1 w/v% 이상, 예를 들면, 0.1 내지 1.0 w/v%, 0.1 내지 0.9 w/v%, 0.15 내지 0.85 w/v%, 0.1 내지 0.8 w/v%, 0.2 내지 0.8 w/v%, 0.2 내지 0.85 w/v%, 0.15 내지 0.8 w/v%, 0.2 내지 0.6 w/v%, 0.2 내지 0.4w/v%, 0.3 내지 0.5w/v%, 0.1 내지 0.3w/v%, 0.6 내지 1.0w/v%, 0.7 내지 0.9w/v%, 0.2w/v%±5%, 0.4w/v%±5%, 또는 0.8w/v%±5%일 수 있다.

[99] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 80 내지 160 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 1 내지 20 mM 및 트레할로스 1 내지 15(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 1 내지 50 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[100]

[101] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 80 내지 160 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 1 내지 20 mM 및 트레할로스 1 내지 15(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 1 내지 40 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH

5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[102]

[103] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 100 내지 140 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 3 내지 18 mM 및 트레할로스 2 내지 13(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 10 내지 30 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[104]

[105] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 110 내지 130 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 5 내지 15 mM 및 트레할로스 4 내지 12(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 15 내지 25 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[106]

[107] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 110 내지 130 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 8 내지 12 mM 및 트레할로스 6 내지 10(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 16 내지 24 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[108]

[109] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 80 내지 160 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 1 내지 20 mM 및 트레할로스 1 내지 15(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 1 내지 50 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.3 w/v%, 0.3 내지 0.5 w/v%, 또는 0.7 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[110]

[111] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 80 내지 160 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 1 내지 20 mM 및 트레할로스 1 내지 15(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 1 내지 40 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.3 w/v%, 0.3 내지 0.5 w/v%, 또는 0.7 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[112]

[113] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 100 내지 140 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 3 내지 18 mM 및 트레할로스 2 내지 13(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 10 내지 30 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.3 w/v%, 0.3 내지 0.5 w/v%, 또는 0.7 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[114]

[115] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 110 내지 130 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 5 내지 15 mM 및 트레할로스 4 내지 12(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 15 내지 25 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.3 w/v%, 0.3 내지 0.5 w/v%, 또는 0.7 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[116]

[117] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 110 내지 130 mg/ml;(b) 안정화제로 메티오닌 8 내지 12 mM 및 트레할로스 6 내지 10(w/v)%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 16 내지 24 mM을 포함하고, 계면활성제로서 0.1 내지 0.3 w/v%, 0.3 내지 0.5 w/v%, 또는 0.7 내지 0.9 w/v% 계면활성제를 포함하는 액체 제제일 수 있다. 상기 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188, PS20 또는 PS80일 수 있다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[118]

[119] 본 발명의 일 구체예는 (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편 120 mg/ml±5%;(b) 안정화제로 메티오닌 10 mM±5% 및 트레할로스 8(w/v)%±5%; 및(c) 완충화제로서 히스티딘 20 mM±5%를 포함하고, 계면활성제로서 0.4 w/v%±5%, 또는 0.8 w/v%±5% 폴록사머 188 또는 PS20을 포함하는 액체 제제일 수 있다. 여기서는 "±5%"는 기본량에 대하여 "±5%"의 변이를 갖는 것을 나타낸다. 상기 액체 제제는 pH 5.5±0.2일 수 있다. 상기 히스티딘은 히스티딘 및 그의 짝산 예를 들면, 히스티딘 HCl을 포함하는 것일 수 있다. 상기 완충화제는 히스티딘 및 그의 짝산만을 포함하는 것일 수 있다. 상기 제제는 상기 계면활성제 외의 다른 계면활성제를 포함하지 않을 수 있다.

[120]

[121] 본 발명의 다른 일 양상은, 용매에 안정화제 및 완충화제를 첨가하여 혼합 용액을 제조하는 단계; 상기 혼합 용액에 0.1 w/v% 이상의 계면활성제를 첨가하는 단계; 및 계면활성제가 첨가된 용액에 트라스투주맙을 첨가하는

단계를 포함하는 액체 제제를 제조하는 방법을 제공한다. 상기 계면활성제는 폴록사머 188 또는 PS20일 수 있다.

[122]

[123] 상기 액체 제제에서 언급된 용어 또는 요소 중 청구된 액체 제제의 제조 방법에 대한 설명에서 언급된 것과 같은 것은, 앞에서 청구된 액체 제제에 대한 설명에서 언급된 바와 같은 것으로 이해된다.

[124]

[125]

청구범위

[청구항 1] (a) 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편;
(b) 안정화제; 및
(c) 완충화제를 포함하고,
0.1 w/v% 이상의 계면활성제를 포함하는 약제학적 액체 제제.

[청구항 2] 청구항 1에 있어서, 상기 계면활성제는 폴록사머 또는 폴리소르베이트인 것인 액체 제제.

[청구항 3] 청구항 1에 있어서, 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 80 내지 300 mg/mL인 것인 액체 제제.

[청구항 4] 청구항 1에 있어서, 상기 안정화제는 당, 당알코올, 당산(sugar acid), 폴리올, 금속염 및 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것인 액체 제제.

[청구항 5] 청구항 4에 있어서, 상기 아미노산은 메티오닌인 것인 액체 제제.

[청구항 6] 청구항 4에 있어서, 상기 당, 당알코올 또는 당산은 글루코스, 프룩토스, 갈락토스, 수크로오스, 락토스, 말토스, 트레할로스, 프룩토올리고당, 갈락토올릭고당, 만난올리고당, 전분, 글리코겐, 셀룰로스, 키틴, 펙틴, 글리세롤, 에리스리톨, 트레이톨, 아라비톨, 자일리톨, 리비톨, 만니톨, 소르비톨, 갈락티톨, 푸시톨, 이디톨, 이노시톨, 볼레미톨, 아이소말트, 말티톨, 락티톨, 말토트리이톨, 말토테트라이톨, 폴리글리시톨, 알돈산, 울로손산, 우론산, 알다르산, 스타키오스, 소르보스, 자일로스, 리보스, 마이오이니시토스, 마이오이니시톨, 및 폴리에틸렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것인 액체 제제.

[청구항 7] 청구항 6에 있어서, 상기 당, 당알코올 또는 당산의 농도는 1 내지 20w/v%인 것인 액체 제제.

[청구항 8] 청구항 1에 있어서, 상기 안정화제는 트레할로스 및 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것인 액체 제제.

[청구항 9] 청구항 1에 있어서, 상기 안정화제는 1 내지 20w/v% 트레할로스 및 1 내지 50 mM 메티오닌으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 것인 액체 제제.

[청구항 10] 청구항 1에 있어서, pH 4.0 내지 7.0을 갖는 것인 액체 제제.

[청구항 11] 청구항 1에 있어서, 상기 완충화제는 히스티딘인 것인 액체 제제.

[청구항 12] 청구항 1에 있어서, 상기 완충화제는 1 내지 50 mM의 히스티딘인 것인 액체 제제.

[청구항 13] 청구항 1에 있어서, 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 액체 제제에서 안정화된 것인 액체 제제.

[청구항 14] 청구항 1에 있어서, 상기 액체 제제는 피하 주사 또는 정맥 주사용인 것인 액체 제제.

[청구항 15] 청구항 1에 있어서, 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 80 내지 300 mg/mL이고, 상기 안정화제는 1 내지 20w/v% 트레할로스 및 1 내지 50 mM 메티오닌의 조합이고, 상기 완충화제는 1 내지 50 mM 히스티딘이고, 상기 계면활성제는 0.1 내지 0.9 w/v%의 폴록사머 또는 폴리소르페이트인 것인 액체 제제.

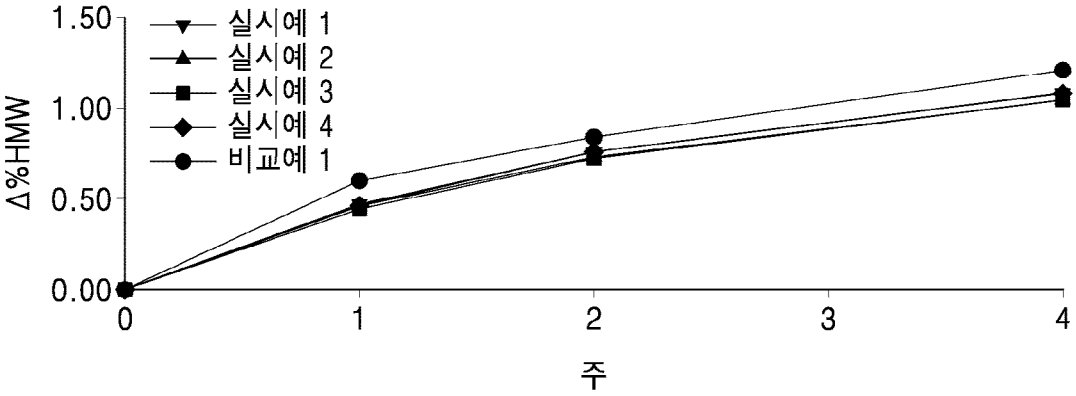
[청구항 16] 청구항 1에 있어서, 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 80 내지 160 mg/mL이고, 상기 안정화제는 1 내지 15w/v% 트레할로스 및 1 내지 20 mM 메티오닌의 조합이고, 상기 완충화제는 1 내지 40 mM 히스티딘이고, 상기 계면활성제는 0.1 내지 0.9 w/v%의 폴록사머 또는 폴리소르페이트인 것인 액체 제제.

[청구항 17] 청구항 1에 있어서, 상기 트라스투주맙 또는 이의 항원 결합 단편은 100 내지 140 mg/mL이고, 상기 안정화제는 2 내지 13%의 트레할로스 및 3 내지 18 mM의 메티오닌의 조합이고, 상기 완충화제는 10 내지 30 mM의 히스티딘이고, 상기 계면활성제는 0.1 내지 0.9 w/v%의 폴록사머 또는 폴리소르페이트인 것인 액체 제제.

[청구항 18] 청구항 1에 있어서, 상기 제제는 히알루로니다제를 더 포함하는 것인 액체 제제.

[청구항 19] 용매에 안정화제 및 완충화제를 첨가하여 혼합 용액을 제조하는 단계; 및
상기 혼합 용액에 0.1 w/v% 이상의 폴록사머 또는 0.1 w/v% 이상의 폴리소르페이트를 첨가하는 단계; 및
폴록사머 또는 폴리소르페이트가 첨가된 용액에 트라스투주맙을 첨가하는 단계;를 포함하는 액체 제제를 제조하는 방법.

[도1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2019/012077

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/395(2006.01)i, A61K 9/08(2006.01)i, A61K 47/26(2006.01)i, A61K 47/10(2006.01)i, A61K 47/18(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61K 39/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 39/395; A61K 31/00; A61K 47/10; A61K 47/14; A61K 47/18; A61K 47/26; A61K 9/00; C07K 14/00; C12N 9/96; G06F 19/00; A61K 9/08; A61K 39/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: trastuzumab, surfactant, polysorbate, poloxamer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	KR 10-2013-0041374 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.) 24 April 2013 See abstract; example 1; claims 1-13.	1-19
Y	KR 10-2018-0003452 A (CELLTRION, INC.) 09 January 2018 See abstract; paragraph [0062]; claims 1, 8-18.	1-19
Y	WO 2017-122121 A1 (DR. REDDY'S LABORATORIES LIMITED) 20 July 2017 See abstract; claims 1-2, 9.	1-19
Y	KR 10-2011-0061646 A (WYETH LLC.) 09 June 2011 See abstract; paragraph [0016]; claim 1.	1-19
A	US 2011-0014676 A1 (COWAN, A. S. et al.) 20 January 2011 See the entire document.	1-19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
30 DECEMBER 2019 (30.12.2019)	**30 DECEMBER 2019 (30.12.2019)**

Name and mailing address of the ISA/KR	Authorized officer
Korean Intellectual Property Office Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu, Daejeon, 35208, Republic of Korea Facsimile No. +82-42-481-8578	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2019/012077

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2013-0041374 A	24/04/2013	AR 077605 A1	07/09/2011
		AR 108936 A2	10/10/2018
		AU 2010-277657 A1	02/02/2012
		AU 2010-277657 B2	02/05/2013
		BR 112012002080 A2	12/04/2016
		CA 2768458 A1	03/02/2011
		CA 2768458 C	03/12/2013
		CL 2013002550 A1	13/12/2013
		CN 102573789 A	11/07/2012
		CN 102573789 B	30/09/2015
		CN 105168125 A	23/12/2015
		CO 6430421 A2	30/04/2012
		CR 20110679 A	06/03/2012
		CY 1114185 T1	31/08/2016
		DK 2459167 T3	03/06/2013
		DO P2015000255 A	31/01/2016
		EA 027553 B1	31/08/2017
		EA 031013 B1	30/11/2018
		EA 201200204 A1	30/08/2012
		EA 201400270 A1	30/06/2014
		EC SP12011643 A	29/02/2012
		EP 2459167 A2	06/06/2012
		EP 2459167 B1	15/05/2013
		EP 2687202 A1	22/01/2014
		ES 2413090 T3	15/07/2013
		GT 201200024 A	28/10/2013
		HK 1172236 A1	13/05/2016
		HK 1215157 A1	19/08/2016
		HR P20130697 T1	30/09/2013
		IL 217382 A	29/02/2012
		JP 2013-224305 A	31/10/2013
		JP 2013-500947 A	10/01/2013
		JP 5462944 B2	02/04/2014
		JP 5878144 B2	08/03/2016
		KR 10-1413947 B1	30/06/2014
		KR 10-2012-0038540 A	23/04/2012
		MA 33471 B1	03/07/2012
		MX 2012001124 A	29/03/2012
		MX 355450 B	18/04/2018
		MY 163001 A	31/07/2017
		NZ 597190 A	21/12/2012
		NZ 603900 A	28/03/2014
		PE 06652012 A1	01/06/2012
		PE 13242013 A1	04/11/2013
		PT 2459167 E	24/06/2013
		RS 52913 B	28/02/2014
		SG 178185 A1	29/03/2012
		SG 193146 A1	30/09/2013
		SI 2459167 T1	31/07/2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2019/012077

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		TN 2012000023 A1	19/09/2013
		TW 201106973 A	01/03/2011
		TW 201328708 A	16/07/2013
		TW I401089 B	11/07/2013
		TW I474834 B	01/03/2015
		UA 102166 C2	10/06/2013
		UA 104254 C2	10/01/2014
		US 2011-0044977 A1	24/02/2011
		US 2013-0216532 A1	22/08/2013
		US 2016-0166689 A1	16/06/2016
		US 2018-0228895 A1	16/08/2018
		US 9345661 B2	24/05/2016
		US 9968676 B2	15/05/2018
		WO 2011-012637 A2	03/02/2011
		WO 2011-012637 A3	25/08/2011
		WO 2011-012637 A4	03/11/2011
		ZA 201109459 B	29/05/2013
		ZA 201207815 B	31/07/2013
KR 10-2018-0003452 A	09/01/2018	AU 2017-287743 A1	22/11/2018
		BR 112018076377 A2	26/03/2019
		CA 3028238 A1	04/01/2018
		CL 2018003662 A1	15/03/2019
		CN 109310628 A	05/02/2019
		CO 2018013689 A2	18/01/2019
		CR 20180599 A	09/04/2019
		CU 20180154 A7	06/08/2019
		DO P2018000290 A	15/02/2019
		EA 201892653 A1	31/05/2019
		EP 3479819 A1	08/05/2019
		JP 2019-525902 A	12/09/2019
		KR 10-2018-0097471 A	31/08/2018
		MX 2018015960 A	21/03/2019
		NI 201800139 A	25/03/2019
		PE 20190448 A1	29/03/2019
		PH 12018502670 A1	07/10/2019
		SG 11201811320 A	30/01/2019
		TW 201806617 A	01/03/2018
		WO 2018-004260 A1	04/01/2018
WO 2017-122121 A1	20/07/2017	BR 112018014123 A2	11/12/2018
		CN 108778261 A	09/11/2018
		EP 3402470 A1	21/11/2018
		EP 3402470 A4	13/11/2019
		US 2019-0284282 A1	19/09/2019
KR 10-2011-0061646 A	09/06/2011	AR 073997 A1	15/12/2010
		AU 2009-333791 A1	08/07/2010
		AU 2009-333791 B2	04/04/2013
		BR PI0919979 A2	15/12/2015

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/KR2019/012077

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		CA 2738243 A1	08/07/2010
		CN 102271707 A	07/12/2011
		CN 102271707 B	08/04/2015
		CN 104740631 A	01/07/2015
		CN 104740631 B	16/04/2019
		EP 2362767 A2	07/09/2011
		EP 2362767 B1	06/12/2017
		EP 3011953 A1	27/04/2016
		HK 1160376 A1	18/12/2015
		HK 1210431 A1	22/04/2016
		IL 211932 A	30/06/2011
		JP 2012-507553 A	29/03/2012
		JP 2015-091844 A	14/05/2015
		JP 2017-105807 A	15/06/2017
		JP 5823867 B2	25/11/2015
		JP 6421031 B2	07/11/2018
		KR 10-1593285 B1	11/02/2016
		KR 10-2013-0105749 A	25/09/2013
		MX 2011004557 A	20/07/2011
		MX 345226 B	20/01/2017
		RU 2011113438 A	10/12/2012
		RU 2013104181 A	10/08/2014
		RU 2481824 C2	20/05/2013
		RU 2683861 C2	02/04/2019
		US 2010-0137213 A1	03/06/2010
		US 2016-0263220 A1	15/09/2016
		US 2018-0353604 A1	13/12/2018
		US 9393304 B2	19/07/2016
		US 9993552 B2	12/06/2018
		WO 2010-077422 A2	08/07/2010
		WO 2010-077422 A3	18/11/2010
US 2011-0014676 A1	20/01/2011	WO 2009-006301 A2	08/01/2009
		WO 2009-006301 A3	26/02/2009
		WO 2009-006301 A4	30/04/2009

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2019/012077

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 39/395(2006.01)i, A61K 9/08(2006.01)i, A61K 47/26(2006.01)i, A61K 47/10(2006.01)i, A61K 47/18(2006.01)i, A61K 9/00(2006.01)i, A61K 39/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
A61K 39/395; A61K 31/00; A61K 47/10; A61K 47/14; A61K 47/18; A61K 47/26; A61K 9/00; C07K 14/00; C12N 9/96; G06F 19/00; A61K 9/08; A61K 39/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드:트라스투주맙(Trastuzumab), 계면활성제(surfactant), 폴리소르베이트(polysorbate),폴록사머(Poloxamer)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
Y	KR 10-2013-0041374 A (에프. 호프만-라 로슈 아게) 2013.04.24 요약; 실시예 1; 청구항 1-13	1-19
Y	KR 10-2018-0003452 A ((주)셀트리온) 2018.01.09 요약; 단락 [0062]; 청구항 1, 8-18	1-19
Y	WO 2017-122121 A1 (DR. REDDY`S LABORATORIES LIMITED) 2017.07.20 요약; 청구항 1-2, 9	1-19
Y	KR 10-2011-0061646 A (와이어쓰 엘엘씨) 2011.06.09 요약; 단락 [0016]; 청구항 1	1-19
A	US 2011-0014676 A1 (COWAN, A. S. 등) 2011.01.20 전체 문헌	1-19

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2019년 12월 30일 (30.12.2019)	2019년 12월 30일 (30.12.2019)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관
박제현
전화번호 +82-42-481-3349

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2019/012077

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2013-0041374 A	2013/04/24	AR 077605 A1	2011/09/07
		AR 108936 A2	2018/10/10
		AU 2010-277657 A1	2012/02/02
		AU 2010-277657 B2	2013/05/02
		BR 112012002080 A2	2016/04/12
		CA 2768458 A1	2011/02/03
		CA 2768458 C	2013/12/03
		CL 2013002550 A1	2013/12/13
		CN 102573789 A	2012/07/11
		CN 102573789 B	2015/09/30
		CN 105168125 A	2015/12/23
		CO 6430421 A2	2012/04/30
		CR 20110679 A	2012/03/06
		CY 1114185 T1	2016/08/31
		DK 2459167 T3	2013/06/03
		DO P2015000255 A	2016/01/31
		EA 027553 B1	2017/08/31
		EA 031013 B1	2018/11/30
		EA 201200204 A1	2012/08/30
		EA 201400270 A1	2014/06/30
		EC SP12011643 A	2012/02/29
		EP 2459167 A2	2012/06/06
		EP 2459167 B1	2013/05/15
		EP 2687202 A1	2014/01/22
		ES 2413090 T3	2013/07/15
		GT 201200024 A	2013/10/28
		HK 1172236 A1	2016/05/13
		HK 1215157 A1	2016/08/19
		HR P20130697 T1	2013/09/30
		IL 217382 A	2012/02/29
		JP 2013-224305 A	2013/10/31
		JP 2013-500947 A	2013/01/10
		JP 5462944 B2	2014/04/02
		JP 5878144 B2	2016/03/08
		KR 10-1413947 B1	2014/06/30
		KR 10-2012-0038540 A	2012/04/23
		MA 33471 B1	2012/07/03
		MX 2012001124 A	2012/03/29
		MX 355450 B	2018/04/18
		MY 163001 A	2017/07/31
		NZ 597190 A	2012/12/21
		NZ 603900 A	2014/03/28
		PE 06652012 A1	2012/06/01
		PE 13242013 A1	2013/11/04
		PT 2459167 E	2013/06/24
		RS 52913 B	2014/02/28
		SG 178185 A1	2012/03/29
		SG 193146 A1	2013/09/30
		SI 2459167 T1	2013/07/31

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2019/012077

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		TN 2012000023 A1	2013/09/19
		TW 201106973 A	2011/03/01
		TW 201328708 A	2013/07/16
		TW I401089 B	2013/07/11
		TW I474834 B	2015/03/01
		UA 102166 C2	2013/06/10
		UA 104254 C2	2014/01/10
		US 2011-0044977 A1	2011/02/24
		US 2013-0216532 A1	2013/08/22
		US 2016-0166689 A1	2016/06/16
		US 2018-0228895 A1	2018/08/16
		US 9345661 B2	2016/05/24
		US 9968676 B2	2018/05/15
		WO 2011-012637 A2	2011/02/03
		WO 2011-012637 A3	2011/08/25
		WO 2011-012637 A4	2011/11/03
		ZA 201109459 B	2013/05/29
		ZA 201207815 B	2013/07/31
KR 10-2018-0003452 A	2018/01/09	AU 2017-287743 A1	2018/11/22
		BR 112018076377 A2	2019/03/26
		CA 3028238 A1	2018/01/04
		CL 2018003662 A1	2019/03/15
		CN 109310628 A	2019/02/05
		CO 2018013689 A2	2019/01/18
		CR 20180599 A	2019/04/09
		CU 20180154 A7	2019/08/06
		DO P2018000290 A	2019/02/15
		EA 201892653 A1	2019/05/31
		EP 3479819 A1	2019/05/08
		JP 2019-525902 A	2019/09/12
		KR 10-2018-0097471 A	2018/08/31
		MX 2018015960 A	2019/03/21
		NI 201800139 A	2019/03/25
		PE 20190448 A1	2019/03/29
		PH 12018502670 A1	2019/10/07
		SG 11201811320 A	2019/01/30
		TW 201806617 A	2018/03/01
		WO 2018-004260 A1	2018/01/04
WO 2017-122121 A1	2017/07/20	BR 112018014123 A2	2018/12/11
		CN 108778261 A	2018/11/09
		EP 3402470 A1	2018/11/21
		EP 3402470 A4	2019/11/13
		US 2019-0284282 A1	2019/09/19
KR 10-2011-0061646 A	2011/06/09	AR 073997 A1	2010/12/15
		AU 2009-333791 A1	2010/07/08
		AU 2009-333791 B2	2013/04/04
		BR PI0919979 A2	2015/12/15

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2019/012077

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		CA 2738243 A1	2010/07/08
		CN 102271707 A	2011/12/07
		CN 102271707 B	2015/04/08
		CN 104740631 A	2015/07/01
		CN 104740631 B	2019/04/16
		EP 2362767 A2	2011/09/07
		EP 2362767 B1	2017/12/06
		EP 3011953 A1	2016/04/27
		HK 1160376 A1	2015/12/18
		HK 1210431 A1	2016/04/22
		IL 211932 A	2011/06/30
		JP 2012-507553 A	2012/03/29
		JP 2015-091844 A	2015/05/14
		JP 2017-105807 A	2017/06/15
		JP 5823867 B2	2015/11/25
		JP 6421031 B2	2018/11/07
		KR 10-1593285 B1	2016/02/11
		KR 10-2013-0105749 A	2013/09/25
		MX 2011004557 A	2011/07/20
		MX 345226 B	2017/01/20
		RU 2011113438 A	2012/12/10
		RU 2013104181 A	2014/08/10
		RU 2481824 C2	2013/05/20
		RU 2683861 C2	2019/04/02
		US 2010-0137213 A1	2010/06/03
		US 2016-0263220 A1	2016/09/15
		US 2018-0353604 A1	2018/12/13
		US 9393304 B2	2016/07/19
		US 9993552 B2	2018/06/12
		WO 2010-077422 A2	2010/07/08
		WO 2010-077422 A3	2010/11/18
US 2011-0014676 A1	2011/01/20	WO 2009-006301 A2	2009/01/08
		WO 2009-006301 A3	2009/02/26
		WO 2009-006301 A4	2009/04/30