

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-123718

(P2019-123718A)

(43) 公開日 令和1年7月25日(2019.7.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D 4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N 4 C 0 8 5
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/10	
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	

審査請求 有 請求項の数 1 O L 外国語出願 (全 62 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-39059 (P2019-39059)
 (22) 出願日 平成31年3月4日 (2019.3.4)
 (62) 分割の表示 特願2016-549199 (P2016-549199) の分割
 原出願日 平成26年10月16日 (2014.10.16)
 (31) 優先権主張番号 61/891,485
 (32) 優先日 平成25年10月16日 (2013.10.16)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 516114064
 アウトロック セラピューティクス, インコーポレイティド
 アメリカ合衆国, ニュージャージー 08512, クランベリー, クラーク ドライブ 7
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100077517
 弁理士 石田 敬
 (74) 代理人 100087871
 弁理士 福本 積
 (74) 代理人 100087413
 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体安定性を増強する緩衝液製剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 抗体の熱安定性、立体構造及びコロイドの安定性を向上させる抗体保管用緩衝化された製剤の提供。

【解決手段】 特定のアミノ酸配列を含む重鎖、及び、特定のアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む抗体と、約0.7 mM~約1.3 mMの酢酸塩、約200 mM~約206 mMのマンニトール、約16 mM~約22 mMの氷酢酸、及び、約2.4 mM~約2.8 mMの塩化ナトリウムを含む緩衝液と、約0.07% (v/v)~約0.15% (v/v)のポリソルベート80と、を含む緩衝化された抗体製剤であって、約5.1~約5.3のpHを有する緩衝化された抗体製剤。

【選択図】 図7

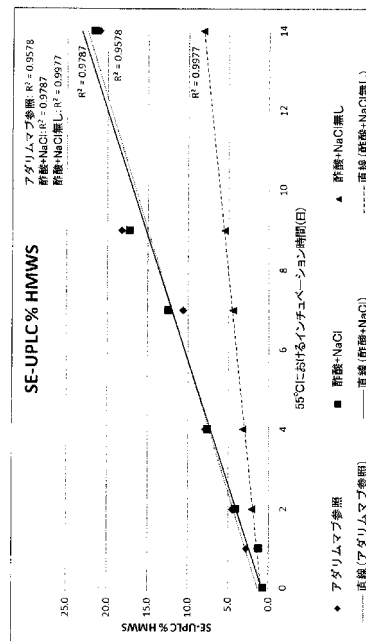


Fig. 7

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖、及び、配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む抗体と、

約0.7mM～約1.3mMの酢酸塩、約200mM～約206mMのマニトール、約16mM～約22mMの氷酢酸、及び、約24mM～約28mMの塩化ナトリウムを含む緩衝液と、

約0.07% (v/v)～約0.15% (v/v)のポリソルベート80と、を含む緩衝化された抗体製剤であって、約5.1～約5.3のpHを有する緩衝化された抗体製剤。

10

【請求項 2】

製剤が、約30mg～約50mgの抗体を含む、請求項1に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 3】

製剤が、約35mg～約45mgの抗体を含む、請求項1又は2に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 4】

製剤が、約37mg～約43mgの抗体を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 5】

製剤が、約40mgの抗体を含む、請求項1～4のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

20

【請求項 6】

緩衝液が、約0.8mM～約1.2mMの酢酸塩を含む、請求項1～5のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 7】

緩衝液が、約0.9mM～約1.1mMの酢酸塩を含む、請求項1～6のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 8】

緩衝液が、約1mMの酢酸塩を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

30

【請求項 9】

緩衝液が、約201mM～約205mMのマニトールを含む、請求項1～8のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 10】

緩衝液が、約202mM～約204mMのマニトールを含む、請求項1～9のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 11】

緩衝液が、約203mMのマニトールを含む、請求項1～10のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

40

【請求項 12】

緩衝液が、約17mM～約21mMの氷酢酸を含む、請求項1～11のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 13】

緩衝液が、約18mM～約20mMの氷酢酸を含む、請求項1～12のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 14】

緩衝液が、約19mMの氷酢酸を含む、請求項1～13のいずれか1項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 15】

50

緩衝液が、約 2.5 mM ~ 約 2.7 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 1 ~ 1.4 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 1.6】

緩衝液が、約 2.6 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 1 ~ 1.5 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 1.7】

緩衝液が、約 2.6 ~ 3.5 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 1 ~ 1.6 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 1.8】

製剤が、約 0.08% (v/v) ~ 約 0.12% (v/v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 1 ~ 1.7 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

10

【請求項 1.9】

製剤が、約 0.09% (v/v) ~ 約 0.11% (v/v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 1 ~ 1.8 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 2.0】

製剤が、約 0.1% (v/v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 1 ~ 1.9 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 2.1】

製剤が、約 5.2 の pH を有する、請求項 1 ~ 1.9 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

20

【請求項 2.2】

配列番号：1 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び、配列番号：2 のアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む抗体と、

約 0.8 mM ~ 約 1.2 mM の酢酸塩、約 2.01 mM ~ 約 2.05 mM のマンニトール、約 1.7 mM ~ 約 2.1 mM の氷酢酸、及び、約 2.5 mM ~ 約 2.7 mM の塩化ナトリウムを含む緩衝液と、

約 0.08% (v/v) ~ 約 0.15% (v/v) のポリソルベート 80 と、を含む緩衝化された抗体製剤であって、約 5.1 ~ 約 5.3 の pH を有する、緩衝化された抗体製剤。

【請求項 2.3】

製剤が、約 30 mg ~ 約 50 mg の抗体を含む、請求項 2.2 に記載の緩衝化された抗体製剤。

30

【請求項 2.4】

製剤が、約 35 mg ~ 約 45 mg の抗体を含む、請求項 2.2 又は 2.3 に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 2.5】

製剤が、約 37 mg ~ 約 43 mg の抗体を含む、請求項 2.2 ~ 2.4 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 2.6】

製剤が、約 40 mg の抗体を含む、請求項 2.2 ~ 2.5 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

40

【請求項 2.7】

緩衝液が、約 0.9 mM ~ 約 1.1 mM の酢酸塩を含む、請求項 2.2 ~ 2.6 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 2.8】

緩衝液が、約 1 mM の酢酸塩を含む、請求項 2.2 ~ 2.7 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 2.9】

緩衝液が、約 2.02 mM ~ 約 2.04 mM のマンニトールを含む、請求項 2.2 ~ 2.8 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

50

- 【請求項 30】
緩衝液が、約 203 mM のマンニトールを含む、請求項 22 ~ 29 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 31】
緩衝液が、約 18 mM ~ 約 20 mM の氷酢酸を含む、請求項 22 ~ 30 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 32】
緩衝液が、約 19 mM の氷酢酸を含む、請求項 22 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 33】 10
緩衝液が、約 26 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 22 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 34】
緩衝液が、約 27 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 22 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 35】
緩衝液が、約 26 . 35 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 22 ~ 32 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 36】 20
製剤が、約 0 . 09 % (v / v) ~ 約 0 . 11 % (v / v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 22 ~ 35 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 37】
製剤が、約 0 . 1 % (v / v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 1 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 38】
製剤が、約 5 . 2 の pH を有する、請求項 22 ~ 37 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 39】 30
配列番号：1 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び、配列番号：2 のアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む抗体と、
約 0 . 9 mM ~ 約 1 . 1 mM の酢酸塩、約 202 mM ~ 約 204 mM のマンニトール、約 18 mM ~ 約 20 mM の氷酢酸、及び、約 23 . 35 mM ~ 約 26 . 35 mM の塩化ナトリウムを含む緩衝液と、
約 0 . 09 % (v / v) ~ 約 0 . 11 % (v / v) のポリソルベート 80 と、
を含む緩衝化された抗体製剤であって、約 5 . 1 ~ 約 5 . 3 の pH を有する緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 40】
製剤が、約 30 mg ~ 約 50 mg の抗体を含む、請求項 39 に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 41】 40
製剤が、約 35 mg ~ 約 45 mg の抗体を含む、請求項 39 又は 40 に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 42】
製剤が、約 37 mg ~ 約 43 mg の抗体を含む、請求項 39 ~ 41 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 43】
製剤が、約 40 mg の抗体を含む、請求項 39 ~ 42 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 44】 50
緩衝液が、約 1 mM の酢酸塩を含む、請求項 39 ~ 43 のいずれか 1 項に記載の緩衝化

された抗体製剤。

【請求項 45】

緩衝液が、約 203 mM のマンニトールを含む、請求項 39 ~ 44 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 46】

緩衝液が、約 19 mM の氷酢酸を含む、請求項 39 ~ 45 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 47】

緩衝液が、約 26 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 39 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 48】

緩衝液が、約 26.35 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 39 ~ 46 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 49】

製剤が、約 0.1% (v/v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 39 ~ 48 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 50】

製剤が、約 5.2 の pH を有する、請求項 39 ~ 49 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 51】

配列番号：1 のアミノ酸配列を含む重鎖、及び、配列番号：2 のアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む抗体と、

約 1 mM の酢酸ナトリウム三水和物、約 203 mM のマンニトール、約 19 mM の氷酢酸、及び、約 26.35 mM の塩化ナトリウムを含む緩衝液と、

約 0.1% (体積) のポリソルベート 80 と、

を含む緩衝化された抗体製剤であって、約 5.2 の pH を有する、緩衝化された抗体製剤。

【請求項 52】

製剤が、約 30 mg ~ 約 50 mg の抗体を含む、請求項 51 に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 53】

製剤が、約 35 mg ~ 約 45 mg の抗体を含む、請求項 51 又は 52 に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 54】

製剤が、約 37 mg ~ 約 43 mg の抗体を含む、請求項 51 ~ 53 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 55】

製剤が、約 40 mg の抗体を含む、請求項 51 ~ 54 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 56】

関節リウマチを治療する方法であって、関節リウマチを治療するのに有効な量の請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤を、それを必要とする被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 57】

被験体がヒトである、請求項 56 に記載の方法。

【請求項 58】

投与工程が、抗体製剤を皮下注射することを含む、請求項 56 又は 57 に記載の方法。

【請求項 59】

若年性特発性関節炎を治療する方法であって、若年性特発性関節炎を治療するのに有効な量の請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤を、

10

20

30

40

50

それを必要とする被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 6 0】

被験体がヒトである、請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 1】

投与工程は、抗体製剤を皮下注射することを含む、請求項 5 9 又は 6 0 に記載の方法。

【請求項 6 2】

乾癬性関節炎を治療する方法であって、乾癬性関節炎を治療するのに有効な量の請求項 1 ~ 5 5 又は 9 5 ~ 9 7 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤を、それを必要とする被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 6 3】

被験体がヒトである、請求項 6 2 に記載の方法。

【請求項 6 4】

投与工程は、抗体製剤を皮下注射することをを含む、請求項 6 2 又は 6 3 に記載の方法。

【請求項 6 5】

強直性脊椎炎を治療する方法であって、強直性脊椎炎を治療するのに有効な量の請求項 1 ~ 5 5 又は 9 5 ~ 9 7 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤を、それを必要とする被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 6 6】

被験体がヒトである、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

投与工程は、抗体製剤を皮下注射することをを含む、請求項 6 5 又は 6 6 に記載の方法。

【請求項 6 8】

クローン病を治療する方法であって、クローン病を治療するのに有効な量の請求項 1 ~ 5 5 又は 9 5 ~ 9 7 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤を、それを必要とする被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 6 9】

被験体がヒトである、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 0】

投与工程は、抗体製剤を皮下注射することをを含む、請求項 6 8 又は 6 9 に記載の方法。

【請求項 7 1】

尋常性乾癬を治療する方法であって、尋常性乾癬を治療するのに有効な量の請求項 1 ~ 5 5 又は 9 5 ~ 9 7 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤を、それを必要とする被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 7 2】

被験体がヒトである、請求項 7 1 に記載の方法。

【請求項 7 3】

投与工程は、抗体製剤を皮下注射することをを含む、請求項 7 1 又は 7 2 に記載の方法。

【請求項 7 4】

潰瘍性大腸炎を治療する方法であって、潰瘍性大腸炎を治療するのに有効な量の請求項 1 ~ 5 5 又は 9 5 ~ 9 7 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤を、それを必要とする被験体に投与することを含む、方法。

【請求項 7 5】

被験体がヒトである、請求項 7 4 に記載の方法。

【請求項 7 6】

投与工程は、抗体製剤を皮下注射することをを含む、請求項 7 4 又は 7 5 に記載の方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 77】
関節リウマチの治療に使用するための請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 78】
若年性特発性関節炎の治療に使用するための請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 79】
乾癬性関節炎の治療に使用するための請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 80】 10
強直性脊椎炎の治療に使用するための請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 81】
クローン病の治療に使用するための請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 82】
尋常性乾癬の治療に使用するための請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 83】 20
潰瘍性大腸炎の治療に使用するための請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 84】
医薬として使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。
- 【請求項 85】
関節リウマチを治療する方法において抗体製剤を使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤と、説明書とを含むキット。
- 【請求項 86】 30
若年性特発性関節炎を治療する方法において抗体製剤を使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤と、説明書とを含むキット。
- 【請求項 87】
乾癬性関節炎を治療する方法において抗体製剤を使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤と、説明書とを含むキット。
- 【請求項 88】
強直性脊椎炎を治療する方法において抗体製剤を使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤と、説明書とを含むキット。
- 【請求項 89】 40
クローン病を治療する方法において抗体製剤を使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤と、説明書とを含むキット。
- 【請求項 90】
尋常性乾癬を治療する方法において抗体製剤を使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤と、説明書とを含むキット。
- 【請求項 91】
潰瘍性大腸炎をを治療する方法において抗体製剤を使用するための、請求項 1 ~ 55 又は 95 ~ 97 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤と、説明書とを含むキット。
- 【請求項 92】
さらに、被験体に抗体製剤を注入するためのデバイスを含む、請求項 85 ~ 91 のいずれか 1 項に記載のキット。
- 【請求項 93】 50

デバイスが、注射器及び針を含む、請求項 9 2 に記載のキット。

【請求項 9 4】

デバイスが、カテーテルを含む、請求項 9 2 に記載のキット。

【請求項 9 5】

酢酸塩が、酢酸ナトリウム三水和物を含む、請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 9 6】

酢酸塩が、酢酸ナトリウム三水和物を含む、請求項 2 2 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 9 7】

酢酸塩が、酢酸ナトリウム三水和物を含む、請求項 3 9 ~ 5 0 のいずれか 1 項に記載の緩衝化された抗体製剤。

【請求項 9 8】

抗体を保存するための緩衝液製剤であって、

約 0.7 mM ~ 約 1.3 mM の酢酸塩、約 200 mM ~ 約 206 mM のマンニトール、約 16 mM ~ 約 22 mM の氷酢酸、及び、約 24 mM ~ 約 28 mM の塩化ナトリウムを含む緩衝液と、

約 0.07% (v/v) ~ 約 0.15% (v/v) のポリソルベート 80 と、
を含み、約 5.1 ~ 約 5.3 の pH を有する緩衝液製剤。

【請求項 99】

緩衝液が、約 0.8 mM ~ 約 1.2 mM の酢酸塩を含む、請求項 9 8 に記載の緩衝液製剤。

【請求項 100】

緩衝液が、約 0.9 mM ~ 約 1.1 mM の酢酸塩を含む、請求項 9 8 又は 9 9 に記載の緩衝液製剤。

【請求項 101】

緩衝液が、約 1 mM の酢酸塩を含む、請求項 9 8 ~ 100 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 102】

緩衝液が、約 201 mM ~ 約 205 mM のマンニトールを含む、請求項 9 8 ~ 101 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 103】

緩衝液が、約 202 mM ~ 約 204 mM のマンニトールを含む、請求項 9 8 ~ 102 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 104】

緩衝液が、約 203 mM のマンニトールを含む、請求項 9 8 ~ 103 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 105】

緩衝液が、約 17 mM ~ 約 21 mM の氷酢酸を含む、請求項 9 8 ~ 104 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 106】

緩衝液が、約 18 mM ~ 約 20 mM の氷酢酸を含む、請求項 9 8 ~ 105 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 107】

緩衝液が、約 19 mM の氷酢酸を含む、請求項 9 8 ~ 106 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 108】

緩衝液が、約 25 mM ~ 約 27 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 9 8 ~ 107 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 109】

10

20

30

40

50

緩衝液が、約 26 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 98 ~ 108 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 110】

緩衝液が、約 26.35 mM の塩化ナトリウムを含む、請求項 98 ~ 109 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 111】

製剤が、約 0.08% (v/v) ~ 約 0.12% (v/v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 98 ~ 110 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 112】

製剤が、約 0.09% (v/v) ~ 約 0.11% (v/v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 98 ~ 111 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

10

【請求項 113】

製剤が、約 0.1% (v/v) のポリソルベート 80 を含む、請求項 98 ~ 112 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 114】

製剤が、約 5.2 の pH を有する、請求項 98 ~ 112 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【請求項 115】

酢酸塩が、酢酸ナトリウム三水和物を含む、請求項 98 ~ 114 のいずれかの 1 項に記載の緩衝液製剤。

20

【請求項 116】

さらに抗体を含む、請求項 98 ~ 115 のいずれか 1 項に記載の緩衝液製剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2013年10月16日に出願された米国仮出願番号 61/891485 に係る優先権を主張するものであって、その内容は、全体が全ての目的のために、参照により本明細書に援用される。

【0002】

30

配列表の参照

本出願は、16,000 バイトのサイズで、2014年10月10日に作成された `Buffered Adalimumab ST25.txt` という名前のテキストファイルとして電子的に提出され配列表を含んでいる。配列表は、本明細書中に参照によって援用される。

【0003】

発明の分野

本発明は、一般的に抗体製剤化学の分野に関する。特に、本発明は、抗体の熱安定性、立体構造及びコロイドの安定性を向上させる抗体保管用緩衝化された製剤に関するものであって、それによって抗体の長期保存を亢進する。

40

【背景技術】

【0004】

発明の背景

特許、出願公開公報、アクセッション番号、技術論文及び学術論文を含む様々な刊行物は、明細書を介して引用される。これらの刊行物の各々は、その全体において、全ての目的のために参照により本明細書に援用される。

【0005】

生物製剤価格競争・イノベーション法 (BPCIA) の一環として、(生物で生産された又は生物由来の) 生物学的製剤は、他のものと間で製品が既に承認された生物学的製剤と「非常に類似」することがデータで示される場合は「バイオシミラー」であることが実

50

証され得る。バイオシミラー製品は、少なくとも、米国食品医薬品局が承認した生物学的製剤の生物学的機能及び治療の有効性を保持すべきである。しかしながら、バイオシミラー製品は、承認された生物学的製剤とは異なる製剤化が行われてもよい。製剤は、生物学的製剤の安定性及びの保存性を改善する可能性があり、また、特定の疾患又は状態の治療における有効性を改善する可能性がある。製剤はまた、承認された生物学的製剤を投与する際に患者が経験しうる、患者の不快感や他の有害影響の低減を含んだ、投与の他の側面を改善するかもしれない。

【0006】

抗体分子は、生物学的製剤として使用してもよく、多くのそのような抗体は、ヒトでの使用が承認されている。抗体分子は、バイオシミラーとして製造され、それに応じて再製剤化されてもよい。高品質の抗体バイオシミラーに対する技術が必要とされている。

10

【発明の概要】

【0007】

本発明は、(a)抗体を含む、緩衝化された抗体製剤を特徴とする。抗体は、腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor alpha) に特異的に結合してもよい。抗体は、配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖、及び配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖を含んでもよい。抗体に加え、製剤は、(b)約0.7mM~約1.3mMの酢酸塩、好ましくは酢酸ナトリウム三水和物、約200mM~約206mMのマンニトール、約16mM~約22mMの氷酢酸、及び、約24mM~約28mMの塩化ナトリウム、を含む水性緩衝液、並びに、(c)約0.07%(v/v)~0.15%(v/v)のポリソルベート80等の非イオン性界面活性剤を含む。緩衝化された抗体製剤は、約5.1~5.3、好ましくは、約5.2のpHを有する。

20

【0008】

いくつかの態様では、製剤は、抗体を約30mg~約50mg含んでいる。いくつかの好ましい態様では、製剤は、抗体を約35mg~約45mg含んでいる。いくつかの好ましい態様では、製剤は、抗体を約37mg~約43mg含んでいる。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約40mgの抗体を含んでいる。

【0009】

緩衝液は、約0.8mM~約1.2mMの酢酸ナトリウム三水和物、又は、約0.9mM~約1.1mMの酢酸ナトリウム三水和物、又は、約1.1mMの酢酸ナトリウム三水和物を含んでもよい。緩衝液は、約201mM~約205mMのマンニトール、又は、約202mM~約204mMのマンニトール、又は、約203mMのマンニトールを含んでもよい。緩衝液は、約17mM~約21mMの氷酢酸、又は、約18mM~約20mMの氷酢酸、又は、約19mMの氷酢酸を含んでもよい。緩衝液は、約25mM~約27mMの塩化ナトリウム、又は、約26mMの塩化ナトリウム、又は、約27mMの塩化ナトリウム、又は、約26.35mMの塩化ナトリウムを含んでもよい。

30

【0010】

緩衝化された抗体製剤は、非イオン性界面活性剤を含み、好ましくは、ポリソルベート80である。いくつかの態様において、製剤は、約0.08%(v/v)~約0.12%(v/v)のポリソルベート80を含む。いくつかの態様において、製剤は、約0.09%(v/v)~約0.11%(v/v)のポリソルベート80を含む。いくつかの態様において、製剤は、約0.1%(v/v)のポリソルベート80を含む。

40

【0011】

詳細な態様において、緩衝化された抗体製剤は、(a)約30mg~約50mgの、配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む抗体、(b)約1mMの酢酸塩、好ましくは酢酸ナトリウム三水和物、約203mMのマンニトール、約19mMの氷酢酸、及び、約26.35mMの塩化ナトリウム、を含む水性緩衝液、並びに、(c)約0.1%(体積)のポリソルベート80を含む。緩衝化された抗体製剤は、約5.1~約5.3、好ましくは、約5.2のpHを有する。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約35mg~約45mgの抗体を含む。いくつかの好まし

50

い態様では、製剤は、約 37 mg ~ 約 43 mg の抗体を含む。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約 40 mg の抗体を含む。

【0012】

緩衝化された抗体製剤は、薬剤として使用されてもよく、治療方法において使用されてもよい。例えば、緩衝化された抗体製剤は、関節炎の治療に使用するためのものであってもよい。いくつかの態様において、緩衝化された抗体製剤は、関節リウマチ又は若年性特発性関節炎、又は乾癬性関節炎の治療に使用するためのものであってもよい。いくつかの態様において、緩衝化された抗体製剤は、強直性脊椎炎の治療に使用するためのものであってもよい。いくつかの態様において、緩衝化された抗体製剤は、クローン病の治療に使用するためのものであってもよい。いくつかの態様において、緩衝化された抗体製剤は、潰瘍性大腸炎の治療に使用するためのものであってもよい。いくつかの態様において、緩衝化された抗体製剤は、尋常性乾癬の治療に使用するためのものであってもよい。

10

【0013】

治療の方法は、関節リウマチ、若年性特発性関節炎、及び乾癬性関節炎を含む関節炎を治療するための方法を含む。治療の方法はまた、強直性脊椎炎を治療する方法、クローン病を治療する方法、尋常性乾癬を治療する方法、及び潰瘍性大腸炎を治療する方法を含む。

【0014】

いくつかの態様において、治療方法は、関節リウマチ、若年性特発性関節炎、又は乾癬性関節炎を含む関節炎患者に、本明細書中に記載された又は例示された、患者の関節炎を治療するために有効な緩衝化された抗体製剤の量を投与することを含む。いくつかの態様では、治療方法は、強直性脊椎炎患者に、本明細書中に記載された又は例示された、患者の強直性脊椎炎を治療するために有効な緩衝化された抗体製剤の量を投与することを含む。いくつかの態様では、治療方法は、クローン病患者に、本明細書中に記載された又は例示された、患者のクローン病を治療するために有効な緩衝化された抗体製剤の量を投与することを含む。いくつかの態様では、治療方法は、潰瘍性大腸炎患者に、本明細書中に記載された又は例示された、患者の潰瘍性大腸炎を治療するために有効な緩衝化された抗体製剤の量を投与することを含む。いくつかの態様では、治療方法は、尋常性乾癬患者に、本明細書中に記載された又は例示された、患者の尋常性乾癬を治療するために有効な緩衝化された抗体製剤の量を投与することを含む。緩衝化された抗体製剤は、好ましくは、患者へ皮下投与、例えば、皮下注射によって投与される。患者は好ましくはヒトである。

20

30

【0015】

本発明はまた、例えば、治療方法に従って使用することができるキットを提供する。従って、例えば、キットは、一般的に、明細書に記載された又は例示された任意の緩衝化された抗体製剤、及び、治療方法における製剤を使用するための指示のを含む。治療方法は、関節炎を治療するための方法であってもよい。治療の方法は、関節リウマチを治療する方法であってもよい。治療の方法は、若年性特発性関節炎を治療する方法であってもよい。治療の方法は、乾癬性関節炎を治療する方法であってもよい。治療の方法は、強直性脊椎炎を治療する方法であってもよい。治療の方法は、クローン病を治療する方法であってもよい。治療の方法は、潰瘍性大腸炎を治療する方法であってもよい。治療の方法は、尋常性乾癬を治療するための方法であってもよい。キットは、患者へ抗体製剤を投与するための装置を含んでもよい。デバイスは、シリンジ及び針を含んでもよい。デバイスは、カテーテルを含んでもよい。

40

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】図1は、代表的な実験シリーズ1製剤条件のSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図2】図2は、SE-UPLC%高分子量種(HMWS)における溶液pH関数の傾きを示す。

【図3】図3は、代表的な実験シリーズ1製剤条件のDSCサーモグラムを示す。

50

【図4】図4は、緩衝液組成で符号化した、50mg/mLのタンパク質濃度での製剤溶液のDLS及びpHの範囲を示す。

【図5】図5は、ストレス安定性実験（55、14日まで）期間の、アダリムマブ参照製剤に対するSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図6】図6は、ONS-3010の実験シリーズ2製剤条件の代表的なSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図7】図7は、ストレス条件におけるSE-UPLC凝集の経時の傾きを示す。

【図8】図8は、ストレス条件におけるSE-UPLCフラグメント化の経時の傾きを示す。

【図9】図9は、ONS-3010実験シリーズ3のDLSの結果を示す。

【図10】図10は、ストレス安定性実験（55、7日まで）期間のアダリムマブ参照製剤に対するSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図11】図11は、実験シリーズ3のONS-3010製剤条件における代表的なSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図12】図12は、ストレス条件における実験シリーズ3のSE-UPLC凝集の経時の傾きを示す。

【図13】図13は、アダリムマブ参照製剤中にて55でインキュベートした0、1、及び2日のサンプルのCEX-HPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図14】図14は、2日まで55でインキュベートしたサンプルのCEX-HPLCのメインピーク割合を示す。

【図15】図15は、2日まで55でインキュベートしたサンプルのCEX-HPLC酸性ピーク割合を示す。

【図16】図16は、2日まで55でインキュベートしたサンプルのCEX-HPLC塩基性ピーク割合を示している。

【図17】図17は、55のストレスを与えたONS-3010のサンプルのペプチドマップにおける異性化種の合計割合を示す（x軸は製剤条件番号を参照している）。

【図18】図18は、55のストレスを与えたONS-3010のサンプルのペプチドマップ内の環化N末端ペプチドの割合を示す（x軸は製剤条件番号を参照している）。

【図19】図19は、55のストレスを与えたONS-3010のサンプルのペプチドマップ内の酸化メチオニンペプチドの合計割合を示す（x軸は製剤条件番号を参照している）。

【図20】図20は、55のストレスを与えたONS-3010のサンプルのペプチドマップ内の脱アミド化ペプチドの合計割合を示す（x軸は製剤条件番号を参照している）。

【図21】図21は、37でインキュベートした時間0及び28日目のアダリムマブ参照製剤サンプルのSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図22】図22は、37でインキュベートした28日目のサンプルのSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図23】図23は、ONS-3010強制酸化試験ペプチドマップにおける酸化メチオニン-256ペプチドの割合を示す（x軸は製剤条件番号を参照している）。上=全体図、下=拡大。

【図24】図24はONS-3010強制酸化試験ペプチドマップにおける酸化メチオニン-432ペプチドの割合を示す（x軸は製剤条件番号を参照している）。上=全体図、下=拡大。

【図25】図25は、2~8でインキュベートした28日目のサンプルのSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図26】図26は、2~8でインキュベートした5ヶ月目のサンプルのSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

【図27】図27は、2~8でインキュベートした12ヶ月目の条件1及び3のサンプルのSE-UPLCクロマトグラムのオーバーレイを示す。

10

20

30

40

50

【図 28】図 28 は、2 ~ 8 でインキュベートした 18 ヶ月目の条件 1 及び 3 のサンプルの SE - U P L C クロマトグラムオーバーレイを示す。

【発明を実施するための形態】

【0017】

発明の詳細な説明

本発明の態様に関する様々な用語が明細書及び特許請求の範囲で使用される。このような用語は、特に断りのない限り、当技術分野におけるそれらの通常の意味が与えられる。他の具体的に定義された用語は、本明細書で提供される定義と一致する方法で解釈される。

【0018】

本明細書で使用する単数形「a」、「an」及び「the」は、別段の記載がない限り、複数の対象を含む。

【0019】

本明細書で使用する、用語「含む (comprising)」、「有する (having)」及び「含む (including)」は、より限定する用語「本質的に～からなる」及び「～からなる」を包含する。

【0020】

用語の被験体及び患者は、互換的に使用され、任意の動物を含む。被験体は、コンパニオン哺乳動物及び農場哺乳動物、並びに、マウス、ウサギ及びラット及び他のげっ歯類を含むげっ歯類を含む哺乳動物が含まれる。非ヒト霊長類は、好ましい被験体である。ヒトは、より好ましい被験体である。

【0021】

腫瘍壊死因子 に結合する ONS - 3010 の製剤は、塩化ナトリウムを最小限にする一方で、マンニトール及び酢酸塩で緩衝化され得ることが本発明で観察され、緩衝液を用いることで、現在患者への使用が承認されているアダリムマブの製剤よりも、抗体の熱的及びコロイド安定性を高める。適切な塩及び緩衝液成分を用いて、約 5.2 の酸性 pH を確立して維持する優れたバランスがあることが見出された。例えば、高レベルの塩は、凝集及び分解を誘導し、塩濃度を下げることによって改善できることが見出された。従って、本開示は、抗体用の緩衝化された製剤を特徴とするものであって、それは、酢酸及びマンニトール並びに非イオン性界面活性剤を含むが、最小限の塩化ナトリウムを有する緩衝液を含む、水性の担体含有している。

【0022】

いくつかの好ましい態様において、抗体は、特異的に腫瘍壊死因子 上のエピトープに結合し、該エピトープは、線状又は立体構造であってもよい。いくつかの好ましい態様において、抗体は、配列番号：1 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含む。いくつかの好ましい態様において、抗体は、配列番号：2 のアミノ酸配列を含む重鎖を含む。好ましくは、抗体は、重鎖定常領域及び / 又は軽鎖定常領域を含む。より好ましい態様において、抗体は、配列番号：1 のアミノ酸配列を含む重鎖及び配列番号：2 のアミノ酸配列を含む軽鎖を含み、例えば、ONS - 3010 である。抗体の重鎖及び軽鎖は、米国特許第 6,090,382 号を含んでもよい。

【0023】

好ましくは、抗体は完全長の抗体であって、可変及び定常領域の両方を含み、しかしながらいくつかの態様では、抗体は、完全の抗体分子の抗原結合特異性を保持する、好ましくは、親和性のほとんど又は全てを保持する、完全長の抗体分子の誘導体又はフラグメント又は一部を含んでもよい。抗体は、抗体の活性又は安定性に影響を与えうる、翻訳後修飾 (PTM) 又は成分 (moieties) を含んでもよい。抗体は、メチル化、アセチル化、グリコシル化、硫酸化、リン酸化、カルボキシル化、及び / 又はアミド化されていてもよく、当技術分野において周知である他の成分を含んでもよい。ONS - 3010 の共通 PTM は、N - グリコシル化、C 末端変異体 (例えば、リジンの切断、プロリンアミド化)、N 末端の pyro - E 形成、酸化、異性化、脱アミド、スクシンイミド形成

10

20

30

40

50

、マンノシル化、K98のグリコシル化、及びフラグメント化を含んでいる。成分は、任意の化学基又天然の免疫グロブリン分子で共通に見出される基の組み合わせ、又は、原核生物及び真核生物発現システムを含む組換え発現系で抗体に別に付加されるものを含む。

【0024】

製剤は、好ましくは、抗体の治療上有効な量を含む。抗体は、水性緩衝液の製剤に適合する任意の抗体であってもよい。好ましい抗体は、配列番号：1のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号：2のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む。治療上有効な量は、抗体投与の際に治療される疾患又は状態に依存して、及び/又は、年齢、性別、身長、体重、疾患のステージの進行程度若しくは状態などの抗体が投与される被験体の特徴、以前の投与された回数及び効果、被験体に投与された他の薬剤、並びに、実施者に公知の又はそうでなければ適切な投与量を決定する際に考慮される他の特徴に依存して、変えてもよい。好ましくは、治療上有効な量は、関節リウマチを治療するのに有効な量である。いくつかの好ましい態様において、治療上有効な量は、若年性特発性関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、クローン病、尋常性乾癬、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、化膿性汗腺炎、又は、難治性喘息を治療するのに有効な量である。

10

【0025】

製剤は、約10mg～約70mgの抗体を含んでもよい。いくつかの態様において、製剤は、約20mg～約60mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約30mg～約50mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約35mg～約45mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約37mg～約43mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約38mg～約42mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約39mg～約41mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約30mg～約60mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約35mg～約55mgの抗体を含む。いくつかの態様において、製剤は、約40mg～約60mgの抗体を含む。これらの範囲は、範囲を定義する下部及び上部の量が含まれる。いくつかの態様では、製剤は、約40mgの抗体を含む。

20

【0026】

抗体は、好ましくは緩衝化水性担体と共に製剤化され、該担体は、好ましくは水を含む。緩衝化された抗体製剤は、好ましくは、液体形態で、より好ましくは、皮下投与に適した液体形態である。従って、緩衝化された製剤中の水の量は、注射可能な急速投与(bolus)の所望の容量に応じて変えることが可能である。緩衝液は、酢酸ナトリウム三水和物、マンニトール、塩化ナトリウム、氷酢酸、及び非イオン性界面活性剤を含み、酸性pHで抗体製剤を維持する。緩衝化された製剤中で保存した場合、通常の貯蔵条件下で抗体は貯蔵安定である。

30

【0027】

緩衝液は、約0.1mM～約5mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.3mM～約3mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.5mM～約2mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.5mM～約1.5mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.6mM～約1.4mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.7mM～約1.5mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.7mM～約1.3mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.8mM～約1.2mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.8mM～約1.5mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.8mM～約1.1mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.9mM～約1.2mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.9mM～約1.4mMの酢酸塩を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約0.9mM～約1.1mMの酢酸塩を含んでもよい。これらの範囲は、範囲を定義する下部と上部の量が含まれている。いくつかの態様において、緩衝液は、約1mMの酢酸塩を含む。酢酸塩は、任意の適切な酢

40

50

酸塩を含んでいてもよい。好適な酢酸塩の非限定的な例としては、酢酸マグネシウム塩、酢酸カリウム塩、酢酸カルシウム塩、酢酸亜鉛塩、及び酢酸ナトリウム塩を含んでいる。より好ましい酢酸塩は、無水酢酸ナトリウム及び酢酸ナトリウム三水和物を含む。酢酸ナトリウム三水和物は非常に好ましい。

【0028】

緩衝液は、約100 mM～約300 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約110 mM～約290 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約120 mM～約280 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約150 mM～約250 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約175 mM～約225 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約180 mM～約220 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約185 mM～約215 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約190 mM～約215 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約195 mM～約210 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約197 mM～約209 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約198 mM～約208 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約198 mM～約205 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約199 mM～約207 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約200 mM～約210 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約200 mM～約207 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約200 mM～約206 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約200 mM～約205 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約200 mM～約203 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約201 mM～約205 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約201 mM～約204 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約201 mM～約203 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約202 mM～約204 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約202 mM～約203 mMのマニトールを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約202 mM～約206 mMのマニトールを含んでもよい。これらの範囲は、範囲を定義する下部と上部の量が含まれている。いくつかの態様において、緩衝液は、約203 mMのマニトールを含む。

10

20

30

【0029】

緩衝液は、約9 mM～約30 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約10 mM～約30 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約9 mM～約29 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約10 mM～約28 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約11 mM～約27 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約12 mM～約26 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約13 mM～約25 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約14 mM～約24 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約15 mM～約23 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約15 mM～約21 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約15 mM～約20 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約16 mM～約22 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約16 mM～約20 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約17 mM～約21 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約17 mM～約20 mMの氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様に

40

50

において、緩衝液は、約 18 mM ~ 約 20 mM の氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 18 mM ~ 約 19 mM の氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 18 mM ~ 約 23 mM の氷酢酸を含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 19 mM ~ 約 20 mM の氷酢酸を含んでもよい。これらの範囲は、範囲を定義する下部と上部の量が含まれている。いくつかの態様において、緩衝液は、約 19 mM の氷酢酸を含む。

【0030】

緩衝剤は、好ましくは、最小量の塩化ナトリウムを含み、いくつかの態様では、全く塩化ナトリウムを含まない。いくつかの態様において、緩衝液は、約 15 mM ~ 約 36 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 16 mM ~ 約 36 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 18 mM ~ 約 34 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 20 mM ~ 約 32 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 22 mM ~ 約 30 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 23 mM ~ 約 29 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 23 mM ~ 約 27 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 24 mM ~ 約 28 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 24 mM ~ 約 30 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 25 mM ~ 約 27 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 25 mM ~ 約 28 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 25 mM ~ 約 30 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 25.5 mM ~ 約 27.5 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 25.3 mM ~ 約 27.3 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 25.4 mM ~ 約 27.4 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 25.35 mM ~ 約 27.35 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26 mM ~ 約 30 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26 mM ~ 約 28 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26 mM ~ 約 27 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26.3 mM ~ 約 27.3 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26.4 mM ~ 約 27.4 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26.3 mM ~ 約 26.4 mM の塩化ナトリウムを含んでもよい。これらの範囲は、範囲を定義する下部と上部の量が含まれている。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26 mM の塩化ナトリウムを含む。いくつかの態様において、緩衝液は、約 27 mM の塩化ナトリウムを含む。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26.3 mM の塩化ナトリウムを含む。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26.4 mM の塩化ナトリウムを含む。いくつかの態様において、緩衝液は、約 26.35 mM の塩化ナトリウムを含む。

【0031】

抗体製剤は、好ましくは、非イオン性界面活性剤を含む。より好ましくは、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート 80 を含む。抗体及び水性緩衝液を含む抗体製剤は、好ましくは、約 0.01% ~ 約 1% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.03% ~ 約 0.7% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.05% ~ 約 0.4% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.075% ~ 約 0.3% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.07% ~ 約 0.25% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.07% ~ 約 0.2% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.07% ~ 約 0.15% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.07% ~ 約 0.14% (体積) のポリソ

10

20

30

40

50

ルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.08% ~ 約 0.3% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.08% ~ 約 0.2% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.08% ~ 約 0.15% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.08% ~ 約 0.12% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.08% ~ 約 0.1% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.09% ~ 約 0.15% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.09% ~ 約 0.2% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.09% ~ 約 0.18% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.09% ~ 約 0.11% (体積) のポリソルベート 80 を含む。いくつかの態様において、約 0.09% ~ 約 0.1% (体積) のポリソルベート 80 を含む。これらの範囲は、範囲を定義する下部と上部の量が含まれている。いくつかの態様において、抗体製剤は、約 0.1% (体積) のポリソルベート 80 を含む。

10

【0032】

抗体製剤は、好ましくは酸性の pH に緩衝される。製剤は、好ましくは、約 4.8 ~ 約 5.6 の pH を有する。いくつかの態様では、製剤は、約 4.9 ~ 約 5.5 の pH を有する。いくつかの態様では、製剤は、約 5.0 ~ 約 5.4 の pH を有する。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約 5.0 ~ 約 5.3 の pH を有する。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約 5.0 ~ 約 5.2 の pH を有する。いくつかの態様では、製剤は、約 5.1 ~ 約 5.3 の pH を有する。いくつかの態様では、製剤は、約 5.1 ~ 約 5.5 の pH を有する。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約 5.1 ~ 約 5.2 の pH を有する。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約 5.1 ~ 約 5.4 の pH を有する。いくつかの態様では、製剤は、約 5.2 ~ 約 5.4 の pH を有する。いくつかの態様では、製剤は、約 5.2 ~ 約 5.5 の pH を有する。いくつかの好ましい態様では、製剤は、約 5.2 ~ 約 5.3 の pH を有する。これらの範囲は、範囲を定義する下部と上部の量が含まれている。いくつかの態様では、製剤は、約 5.2 の pH を有する。

20

【0033】

いくつかの好ましい態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1 のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約 35 mg ~ 約 45 mg の抗体、約 0.7 mM ~ 約 1.3 mM の酢酸ナトリウム三水和物と、約 200 mM ~ 約 206 mM のマンニトールと、約 16 mM ~ 約 22 mM の氷酢酸と、約 24 mM ~ 約 28 mM の塩化ナトリウムとを含む緩衝液、並びに、約 0.07% ~ 約 0.15% (体積) のポリソルベート 80 を含むものであって、約 5.1 ~ 約 5.3 の pH を有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1 のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約 35 mg ~ 約 45 mg の抗体、約 0.7 mM ~ 約 1.3 mM の酢酸ナトリウム三水和物と、約 200 mM ~ 約 206 mM のマンニトールと、約 16 mM ~ 約 22 mM の氷酢酸と、約 24 mM ~ 約 28 mM の塩化ナトリウムとから実質的になる緩衝液、並びに、約 0.07% ~ 約 0.15% (体積) のポリソルベート 80 から実質的になるものであって、約 5.1 ~ 約 5.3 の pH を有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1 のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2 のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約 35 mg ~ 約 45 mg の抗体、約 0.7 mM ~ 約 1.3 mM の酢酸ナトリウム三水和物と、約 200 mM ~ 約 206 mM のマンニトールと、約 16 mM ~ 約 22 mM の氷酢酸と、約 24 mM ~ 約 28 mM の塩化ナトリウムとからなる緩衝液、並びに、約 0.07% ~ 約 0.15% (体積) のポリソルベート 80 からなり、約 5.1 ~ 約 5.3 の pH を有する。任意のこのような実施形態において、抗体は、製剤中において、約 37 mg ~ 約 43 mg、又は約 38 mg ~ 約 42 mg、又は約 39 mg ~ 約 41 mg、又は約 40 mg で存在してもよい。

30

40

【0034】

いくつかの好ましい態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列

50

番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約35mg～約45mgの抗体、約0.8mM～約1.2mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約201mM～約205mMのマンニトールと、約17mM～約21mMの氷酢酸と、約25mM～約27mMの塩化ナトリウムとを含む緩衝液、並びに、約0.08%～約0.15%（体積）のポリソルベート80を含むものであって、約5.1～約5.3のpHを有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約35mg～約45mgの抗体、約0.8mM～約1.2mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約201mM～約205mMのマンニトールと、約17mM～約21mMの氷酢酸と、約25mM～約27mMの塩化ナトリウムとから実質的になる緩衝液、並びに、約0.08%～約0.15%（体積）のポリソルベート80から実質的になるものであり、約5.1～約5.3のpHを有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約35mg～約45mgの抗体、約0.8mM～約1.2mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約201mM～約205mMのマンニトールと、約17mM～約21mMの氷酢酸と、約25mM～約27mMの塩化ナトリウムとからなる緩衝液、並びに、約0.08%～約0.15%（体積）のポリソルベート80からなるものであり、約5.1～約5.3のpHを有する。任意のこのような実施形態において、抗体は、製剤中において、約37mg～約43mg、又は約38mg～約42mg、又は約39mg～約41mg、又は約40mgで存在してもよい。酢酸塩は、任意の適切な酢酸塩を含んでもよい。好ましい酢酸塩の非限定的な例としては、酢酸マグネシウム塩、酢酸カリウム塩、酢酸カルシウム塩、酢酸亜鉛塩、及び酢酸ナトリウム塩が含まれる。より好ましい酢酸塩は、無水酢酸ナトリウム及び酢酸ナトリウム三水和物を含む。酢酸ナトリウム三水和物は非常に好ましい。

【0035】

いくつかの好ましい態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約39mg～約41mgの抗体、約0.9mM～約1.1mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約202mM～約204mMのマンニトールと、約18mM～約20mMの氷酢酸と、約25.35mM～約26.35mMの塩化ナトリウムとを含む緩衝液、並びに、約0.09%～約0.11%（体積）のポリソルベート80を含むものであって、約5.1～約5.3のpHを有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約39mg～約41mgの抗体、約0.9mM～約1.1mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約202mM～約204mMのマンニトールと、約18mM～約20mMの氷酢酸と、約25.35mM～約26.35mMの塩化ナトリウムとから実質的になる緩衝液、並びに、約0.09%～約0.11%（体積）のポリソルベート80から実質的になるものであって、約5.1～約5.3のpHを有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約39mg～約41mgの抗体、約0.9mM～約1.1mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約202mM～約204mMのマンニトールと、約18mM～約20mMの氷酢酸と、約25.35mM～約26.35mMの塩化ナトリウムとからなる緩衝液、並びに、約0.09%～約0.11%（体積）のポリソルベート80からなるものであって、約5.1～約5.3のpHを有する。任意のこのような実施形態において、抗体は、製剤中において、約37mg～約43mg、又は約38mg～約42mg、又は約39mg～約41mg、又は約40mgで存在してもよい。酢酸塩は、任意の適切な酢酸塩を含んでもよい。好ましい酢酸塩の非限定的な例としては、酢酸マグネシウム塩、酢酸カリウム塩、酢酸カルシウム塩、酢酸亜鉛塩、及び酢酸ナトリウム塩が含まれる。より好ましい酢酸塩は、無水酢酸ナトリウム及び酢酸ナトリウム三水和物を含む。酢酸ナトリウム三水和物は非常に好ましい。

10

20

30

40

50

【0036】

いくつかの好ましい態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約40mgの抗体、約1mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約203mMのマンニトールと、約19mMの氷酢酸と、約26.35mMの塩化ナトリウムとを含む緩衝液、並びに、約0.1%（体積）のポリソルベート80を含むものであって、約5.2のpHを有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約40mgの抗体、約1mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約203mMのマンニトールと、約19mMの氷酢酸と、約26.35mMの塩化ナトリウムとから実質的になる緩衝液、並びに、約0.1%（体積）のポリソルベート80から実質的になるものであって、約5.2のpHを有する。いくつかの態様において、抗体製剤は、腫瘍壊死因子 に特異的に結合し配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖と配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む約40mgの抗体、約1mMの酢酸ナトリウム三水和物と、約203mMのマンニトールと、約19mMの氷酢酸と、約26.35mMの塩化ナトリウムとからなる緩衝液、並びに、約0.1%（体積）のポリソルベート80からなるものであって、約5.2のpHを有する。酢酸塩は、任意の適切な酢酸塩を含んでいてもよい。好ましい酢酸塩の非限定的な例としては、酢酸マグネシウム塩、酢酸カリウム塩、酢酸カルシウム塩、酢酸亜鉛塩、及び酢酸ナトリウム塩が含まれる。より好ましい酢酸塩は、無水酢酸ナトリウム及び酢酸ナトリウム三水和物を含む。酢酸ナトリウム三水和物は非常に好ましい。

10

20

【0037】

製剤は、抗体を安定させ、特に数カ月から数年の期間にわたる貯蔵性を改善する。製剤中に保存した場合、抗体は、貯蔵期間中の熱及びコロイド安定性を維持する。例えば、製剤中に保存した場合、抗体は安定であり、凝集、凝結（flocculation）、フラグメント化、及び変性が最小化し、抗体は、腫瘍壊死因子 の結合活性を保持する。

【0038】

抗体製剤は、冷蔵条件下で保存することが好ましく、約2～約6を含んでいる、及び、約2、約3、約4、約5、約6、約7、又は約8を含んでいる約2～約8の温度が好ましい。抗体製剤は、少なくとも約3ヶ月間、そのような温度で保存してもよい。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約6ヶ月間、そのような温度で保存してもよい。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約9ヶ月間、そのような温度で保存してもよい。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約12ヶ月間、そのような温度で保存してもよい。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約15ヶ月間、そのような温度で保存してもよい。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約18ヶ月間、そのような温度で保存してもよい。貯蔵期間中、抗体は安定し、凝集、凝結、フラグメント化、及び変性は最小化する。そして、抗体製剤を貯蔵場所から取り出し、患者へ投与し、製剤が投与される状態に対して治療効果を示すように、抗体は腫瘍壊死因子 結合活性を保持している。

30

【0039】

製剤は約10mg～約70mgの抗体を含む。抗体タンパク質のこの量の中に、活性を有し、天然の形態の抗体の単量体の割合、並びに、抗体フラグメント、抗体の凝集体又は腫瘍壊死結合活性が減少した、若しくは、全くない変性若しくは部分変性した抗体の割合がある。製剤は、機能的な抗体単量体を最大量含み、抗体フラグメント、凝集体、並びに、（未変性単量体に対して）結合活性及び/又は治療効果が低下した構造的に変形した形態の抗体の最小量を含むことが非常に好ましい。例えば、抗体製剤は、少なくとも約6ヶ月、約2～約8で保存した場合、好ましくは、抗体単量体の重量は少なくとも約85%を含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態は、約15重量%未満を含まれる。

40

【0040】

いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約6ヶ月、約2～約8で保存し

50

た場合、抗体単量体は少なくとも約 90 重量%含まれ、抗体フラグメント、抗体の凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 10 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 6 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 93 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 3 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 6 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 95 重量%含まれ、抗体フラグメント、抗体の凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 5 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 6 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 96 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 4 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 6 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 97 重量%含み、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 3 重量%未満含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 6 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 98 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 2 重量%未満含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 6 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 99 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が約 1 重量%未満含まれる。抗体単量体及び抗体フラグメント、凝集体、及び構造的に改変した形態の量は、当技術分野において適切な任意の技術に従って決定してもよく、本明細書に記載又は例示されるものを含むものであって、動的光散乱 (DLS)、示差走査熱量測定 (DSC)、サイズ排除クロマトグラフィー (SE-ULC)、非還元及び還元キャピラリー電気泳動 SDS (NRCE-SDS 及び RCE-SDS)、ペプチドマッピング及び粒子計数 (PC) のいずれか 1 つ又は組み合わせを含んでいる。

【0041】

いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 12 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 90 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 10 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 12 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 93 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 7 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 12 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 95 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 5 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 12 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 96 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 4 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 12 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 97 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 3 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 12 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 98 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び/又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 2 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 12 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体

単量体が少なくとも約 99 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 1 重量%未満を含まれる。抗体単量体及び抗体フラグメント、凝集体、及び構造的に改変した形態の量は、当技術分野において適切な任意の技術に従って決定してもよく、本明細書に記載又は例示されるものを含むものであって、動的光散乱 (D L S)、示差走査熱量測定 (D S C)、サイズ排除クロマトグラフィー (S E - U P L C)、非還元及び還元キャピラリー電気泳動 S D S (N R C E - S D S 及び R C E - S D S)、ペプチドマッピング及び粒子計数 (P C) のいずれか 1 つ又は組み合わせを含んでいる。

【 0 0 4 2 】

いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 18 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 90 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 10 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 18 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 93 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 7 重量%未満含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 18 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体を少なくとも約 95 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 5 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 18 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 96 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 4 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 18 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体は少なくとも約 97 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 3 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 18 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 98 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 2 重量%未満を含まれる。いくつかの態様において、抗体製剤は、少なくとも約 18 ヶ月、約 2 ~ 約 8 で保存した場合、抗体単量体が少なくとも約 99 重量%含まれ、抗体フラグメント、凝集体、並びに、腫瘍壊死因子 結合活性及び / 又は治療効果が減少した構造的に変形した形態が、約 1 重量%未満含まれる。抗体単量体及び抗体フラグメント、凝集体、及び構造的に改変した形態の量は、当技術分野において適切な任意の技術に従って決定してもよく、本明細書に記載又は例示されるものを含むものであって、動的光散乱 (D L S)、示差走査熱量測定 (D S C)、サイズ排除クロマトグラフィー (S E - U P L C)、非還元及び還元キャピラリー電気泳動 S D S (N R C E - S D S 及び R C E - S D S)、ペプチドマッピング及び粒子計数 (P C) のいずれか 1 つ又は組み合わせを含んでいる。

【 0 0 4 3 】

本発明はまた、本明細書に記載又は例示した抗体製剤の任意の治療上有効な量を投与することにより、それを必要とする被験体における関節リウマチを治療する方法を特徴とする。本発明はまた、本明細書に記載又は例示した抗体製剤の任意の治療上有効な量を投与することにより、若年性特発性関節炎、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、クローン病、尋常性乾癬、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、化膿性汗腺炎又は難治性喘息を治療する方法を特徴とする。治療効果は、例えば、投与される製剤中に存在する O N S - 3 0 1 0 抗体により達成される。抗体製剤は、任意の適切な経路に従って、好ましくは注射によって、より好ましくは皮下注射によって投与されてもよい。投与は、医師の指示、又は監督下で行われてもよい。

【 0 0 4 4 】

本明細書に記載され、例示された抗体製剤は、医薬として使用するものであってもよい

10

20

30

40

50

。本明細書に記載され、例示された抗体製剤は、医薬の製造で使用するものであってもよい。製剤は、関節リウマチの治療に使用するものであってもよい。製剤は、若年性特発性関節炎の治療に使用するものであってもよい。製剤は、乾癬性関節炎の治療に使用するものであってもよい。製剤は、若年性特発性関節炎の治療に使用するものであってもよい。製剤は、クローン病の治療に使用するものであってもよい。製剤は、尋常性乾癬の治療に使用するものであってもよい。製剤は、潰瘍性大腸炎の治療に使用するものであってもよい。製剤は、炎症性腸疾患の治療に使用するものであってもよい。製剤は、化膿性汗腺炎の治療に使用するものであってもよい。製剤は、難治性喘息の治療に使用するものであってもよい。

【0045】

本発明はまた、キットを特徴とする。キットは、例えば、本明細書に記載又は例示された任意の方法を実施するために使用されてもよい。いくつかの態様において、キットは、本明細書に記載又は例示された任意の抗体製剤、及び、本明細書に記載又は例示された任意の方法若しくは使用において抗体製剤を使用するための説明書を含む。キットは、被験体へ抗体製剤を注入するためのデバイスを含んでもよく、これに限定されないが、シリンジ及び針、又はカテーテルを含む。

【0046】

キットに含まれる説明書は、それを必要とする慢性関節リウマチ患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、慢性関節リウマチを治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様において、キットに含まれる説明書は、それを必要とする若年性特発性関節炎患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、若年性特発性関節炎を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様において、キットに含まれる説明書は、それを必要とする乾癬性関節炎患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、乾癬性関節炎を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様では、キットに含まれる説明書は、それを必要とする乾癬性関節炎患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、乾癬性関節炎を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様では、キットに含まれる説明書は、その必要があるクローン病の患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、クローン病を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様において、キットに含まれる説明書は、それを必要とする尋常性乾癬患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、尋常性乾癬を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様において、キットに含まれる説明書は、それを必要とする潰瘍性大腸炎患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、潰瘍性大腸炎を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様において、キットに含まれる説明書は、それを必要とする炎症性腸疾患患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、炎症性腸疾患を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様において、キットに含まれる説明書は、それを必要とする化膿性汗腺炎患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、化膿性汗腺炎を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。いくつかの態様において、キットに含まれる説明書は、それを必要とする難治性喘息患者に抗体製剤を注入するための説明書を含む、難治性喘息を治療する方法における抗体製剤を投与するための説明書を含んでもよい。

【0047】

以下の実施例は本発明をより詳細に説明するために提供される。これらは、本発明を制限するものではなく、説明することを意図している。

【実施例】

【0048】

実施例 1

材料及び方法

イントロダクション。抗体ONS-3010は、アダリムマブのバイオシミラーを表し

10

20

30

40

50

、貯蔵安定性を増強するために再製剤化されている。製剤組成物の緩衝液への変更は、アダリムマブの皮下投与の際に観察される注射痛及び灼熱感を含む、注射部位反応の事象を低減しうると考えられている (Kaiser C et al. (2012) Rheumatol. Int. 32: 295 - 9、及び、Fransson J et al. (1996) J. Pharm. Pharmacol. 48: 1012 - 5)。現在のアダリムマブ製剤は (抗体に加えて)、塩化ナトリウム、一塩基性リン酸ナトリウム二水和物、二塩基性リン酸ナトリウム二水和物、クエン酸ナトリウム、クエン酸一水和物、マンニトール、ポリソルベート 80、及び注射用滅菌水を含む。以下に説明する実験的アプローチは、治療的投与用のアダリムマブを再製剤化するための開発作業の 3 つの実験シリーズを含んだ。

10

【0049】

研究の第 1 実験シリーズは、緩衝液組成、強度、及び所望の約 5.2 の pH を達成する能力に焦点を当てた。実験の第 2 実験シリーズは、実験シリーズ 1 の結果を基にした製剤条件の洗練したセットを用いたストレス安定性試験を利用した。塩化ナトリウム濃度は、実験シリーズ 2 で探索した。製剤開発研究の第 3 実験シリーズは、アダリムマブ参照製品緩衝液 (0.8 mL あたり: 40 mg のアダリムマブ、4.93 mg の塩化ナトリウム、0.69 mg の一塩基性リン酸ナトリウム二水和物、1.22 mg の二塩基性リン酸ナトリウム二水和物、0.24 mg のクエン酸ナトリウム、1.04 mg のクエン酸一水和物、9.6 mg のマンニトール、0.8 mg のポリソルベート 80、及び注射用 Q.S. 滅菌水、pH 5.2) を含む 3 つの条件を比較した。各緩衝液システムに対して、NaCl 及びマンニトールのアダリムマブ参照製剤レベルの 1 条件、及び、それらのレベルをアダリムマブ参照製剤に比較して変更した条件 (低 NaCl、高マンニトール (LS/HM)) にて実施した。これらの修飾は、等張性を維持する一方、アダリムマブ参照製剤と同等の浸透圧の製剤をもたらした。

20

【0050】

動的光散乱 (DLS)。DLS 試験方法は、Wyatt DynaProTM プレートリーダーを使用し、溶液中のタンパク質のサイズ分布及び全体のコロイド安定性に関する情報を提供した。流体力学半径は、溶液中の分子構造の凝集及び確認の有無に関する情報を提供した。DLS 試験は、非変性条件下における、溶液中における粒度分布の直交の測定を提供した。

30

【0051】

示差走査熱量測定 (DSC)。示差走査熱量測定は、タンパク質の融解転移を測定し、このように溶液中のタンパク質の熱安定性に関する情報を提供した。熱量測定は、GEV P キャピラリー DSC システムを用いて行った。タンパク質は、タンパク質がアンフォールディングする間に発生する融解転移 (T_m) を許容する最適化されたスキャンレートにて、25 から 95 まで加熱された。緩衝液コントロールは、サンプルと一緒に加熱して融解温度と遷移を計算するために使用した。DSC プロファイルは、抗体の典型であって、タンパク質が異なるドメインへと折り畳まれていることを実証した。

【0052】

サイズ排除クロマトグラフィー (SE-UPLC)。SE-UPLC は、ONS-3010 サイズ変異分布を監視するために使用した。SE-UPLC 試験方法は、サイズに基づいてタンパク質を分離する。方法は、ウォーターズ・アキュイティー UPLC BEH 200 SEC カラム (1.7 µm、4.6 × 150 mm) を使用し、リン酸ナトリウムランニング緩衝液を用いる均一溶媒 (isocratic) である。ピークは、280 nm での吸光度を用いてモニターした。単量体のピーク前に溶出する種は、凝集体 (HMWS) であり、単量体ピークの後に溶出するピークは分解物 (LMWS) であった。

40

【0053】

非還元及び還元キャピラリー電気泳動 SDS (NR CE-SDS 及び R CE-SDS)。CE-SDS 解析は、Beckman PA800 プラス装置を用いて、非還元及び還元条件の両方で、変性条件下で ONS-3010 サイズ変異体を比較するために使用

50

した。キャピラリーゲル電気泳動は、タンパク質の純度及び/又は不均一性を決定するために、サイズによって還元及び非還元タンパク質の自動分析を提供する。サンプルは、アルキル化又は還元剤のいずれかで処理し、SDSをサンプル緩衝液を介してすべてのタンパク質に結合させた。ポリマーマトリックスは、サンプル分析前にキャピラリーに充填した。サンプルは印加電圧によってキャピラリーに電気運動的に導入し、次いで電気泳動は、キャピラリーに一定の電圧を印加することにより実施した。SDS処理したタンパク質はタンパク質の重量に比例した荷電した性質の集団を有しており、分子量の違いによって、SDS結合タンパク質を分離することを可能とする。試験物品タンパク質は、220nmのUV検出で定量した。

【0054】

TNF- 活性の調節：L929細胞ベースのバイオアッセイ。アダリムマブの作用の主要なメカニズムは、循環しているTNF- の中和である。L929細胞ベースのバイオアッセイにより、細胞死/生存能力を測定する。TNF- は、L929細胞において細胞傷害を誘発する。アダリムマブの相対的な力価は、発光タグを介して生細胞を監視することにより測定した。

【0055】

ペプチドマッピング。N末端配列変異体、C末端配列変異体、酸化、脱アミド化、スクンイミド形成、異性化は、ペプチドマッピングLC-MS法を用いて測定される。

【0056】

粒子カウント。凝集体及び微粒子のレベルは、液体タンパク質製剤を評価するための重要な品質特性である。凝集体及び微粒子の存在は、製品の品質に負の影響を与える可能性がある。

【0057】

実施例2

結果

実験シリーズ1。研究の第1実験シリーズは、緩衝液組成、強度、及び所望のpH5.2を達成する能力に焦点を当てた。試験した緩衝液は、クエン酸塩及びリン酸塩（参照製品製剤中に使用される）及び酢酸を含有した（表1）。塩化ナトリウム及びマンニトール濃度（アダリムマブ参照製剤と同等）は、実験シリーズ1の実験全般の条件に加えた。この実験シリーズの実験より、4.9~5.5の範囲の所望のpHを達成し、維持する点において、いくつかの緩衝液は、他よりも優れていることが観察された（アダリムマブ参照製剤の0.3pH単位外）。SE-UPLC純度は、特に、pH値と高く相関し、酢酸緩衝液の使用が好ましいプロファイルをもたらした（図1及び2）。

【0058】

【表1】

表1 ラウンド1製剤条件

種類	クエン酸	リン酸	酢酸	NaCl	マンニトール	標的 pH4.9	標的 pH 5.2	標的 pH 5.5
アダリムマブ参照	Y	Y		Y	Y		Y	Y
低クエン酸	10mM			Y	Y	Y	Y	Y
高クエン酸	20mM			Y	Y	Y	Y	Y
低酢酸			10mM	Y	Y	Y	Y	Y
高酢酸			20mM	Y	Y	Y	Y	Y

Y：NaCl及びマンニトールは、それぞれ4.93mg/0.08mL及び9.6mg/0.8mLのアダリムマブ参照緩衝液濃度を含んだ。

【0059】

DSCサーモグラムは、熱変性する製品の安定性を評価するのに有益であった。全トレースが、2つの優位な熱転移：72 後の大きいもの、及び、80 後の小さいもの、を示した。一定条件下で、60 の後に追加的な肩 (shoulder) が観察され、それは、これらの製剤条件下で、アンフォールディング工程の開始を示していると考えられる (図 3)。これらの後者の製剤は、続く次の実験シリーズのスクリーニングから除外した。

【 0 0 6 0 】

動的光散乱 (D L S) は、溶液中のタンパク質分子の流体力学半径 R_h (サイズ) を監視するために使用した。低タンパク質濃度 ($\sim 1 \text{ mg} / \text{mL}$) における $5 \sim 6 \text{ nm}$ の流体力学的半径サイズは、単量体モノクローナル抗体 (大きさが約 140 kDa) の典型的なものであり、このサイズは、密集、自己会合又は凝集に起因する可能性のあるタンパク質濃度で増加する。それらは本質的には不安定な状態の指標であるため、このようなより大きいサイズは、通常、製剤条件では避けるべきである。実験シリーズ1の製剤条件における O N S - 3 0 1 0 の流体力学的半径は、コロイド安定性をより完全に描写するために、2つのタンパク質濃度で監視した。 R_h は、pHによって支配されなかった (図 4) : 比較的狭い pH 範囲内でさえ R_h にはかなりばらつきがあり、コロイド安定性に対する緩衝液組成の影響を強調していた。実験シリーズ2のさらなる評価に対し、 $R_h < 8.0 \text{ nm}$ のアダリムマブ参照製剤を有する条件が選択された。

10

【 0 0 6 1 】

実験シリーズ2。第2実験シリーズは、実験シリーズ1の結果を基にして洗練した製剤条件セットを用いて、ストレス安定性試験を利用した。塩化ナトリウム濃度も評価した。いくつかの条件はアダリムマブ参照製剤の NaCl レベルと一致させ、一方、他は NaCl を含まなかった (表 2)。

20

【 0 0 6 2 】

【 表 2 】

表 2. 実験シリーズ2製剤条件

種類	クエン酸	リン酸	酢酸	NaCl	マンニトール
アダリムマブ参照	Y	Y		Y	Y
高酢酸+NaCl			20mM	Y	Y
高酢酸、NaCl無し			20mM	N	Y

30

Y : NaCl 及びマンニトールは、アダリムマブ参照 (AR) 緩衝液の濃度 (それぞれ $4.9 \text{ mg} / 0.8 \text{ mL}$ 及び $9.6 \text{ mg} / 0.8 \text{ mL}$) が含まれる。N : NaCl 添加無し

【 0 0 6 3 】

NaCl を含む実験シリーズ2の製剤緩衝液は、NaCl を含まない緩衝液に比べて、最大14日間55 でインキュベートした際、安定性が低かった。図5に示すように、高温の時間が、凝集 (SE - U P L C 高分子量種又は H M W S を増加) 並びに、分解及びフラグメント化 (低分子量種又は L M W S を増加) の両方を引き起こした。これらの実験における NaCl を含有する製剤条件は、アダリムマブ参照製剤と比較して凝集及びフラグメント化に対する同等の速度を示した。NaCl を欠いた製剤は、しかしながら、凝集及び分解の両方のメカニズムに対する安定性を向上することを示した。これは、図6で説明されており、アダリムマブ参照緩衝液、NaCl 含有酢酸緩衝液、及び、NaCl 非含有酢酸緩衝液を用いて製剤化した O N S - 3 0 1 0 のオーバレイクロマトグラムを表示する。図7と図8のハイライトは、それぞれ SE - U P L C 凝集及びフラグメント化の傾向である。

40

【 0 0 6 4 】

NaCl の除去は、DLSで測定した時にコロイド安定性の改善、及び、CEX - H P L C における安定性の改善と相関するようであった。実験シリーズ3のために、NaCl

50

レベルを減少し（しかし、除去しなかった）、一方で、マンニトール濃度を参照製品製剤に近い浸透圧レベルに調節した、低NaCl条件を設計した。

【0065】

以下の表3は、実験シリーズ2の条件、及びそれらの解析結果、実験シリーズ3研究に含める又は除外する強調した理由を要約している。一般的に、実験シリーズ3で選択された条件は、様々な直交する技術（SE-UPLC、CEX-HPLC、CE-SDS）で観察した時に、熱的及び化学的変性に対して同等又は改善された安定性を示した。相対的力価はまた、L929細胞ベースの力価アッセイを用いて評価し、コロイド安定性はDLSを用いて観察した。最後に、研究全般にわたり、すべてのサンプルは視覚的に観察した（テストの希釈時の濁りは除外基準となった）。

10

【0066】

【表3】

表3 実験シリーズ2 データ概要

条件	55°C				37°C		DLS (Rh)	実験シリーズ3への決定
	SE (Δ%主要/7d)	CEX (Δ%基礎/2d)	CE-SDS (NR Δ%主要/7d)	目視	バイオアッセイ	SE (Δ%主要/28d)		
アダリムマブ参照	-17.2	3.4	-14.0	透明	コントロール	-4.5	7.4nm	コントロール
高酢酸+NaCl	-19.6	4.1	-12.5	希釈時に濁る	アダリムマブ参照と同等	-4.5	7.1nm	含む
高酢酸、NaCl無し	-7.4	0.7	-5.5	透明	アダリムマブ参照より改善	-2.8	3.0nm	変更して含む

20

【0067】

実験シリーズ3。製剤開発研究の最終的な実験シリーズは、コントロールとしてのアダリムマブ参照製剤を含む三つの条件を比較する（表4）。他の二つの改質条件は、酢酸緩衝液を使用している。アダリムマブ参照レベルのNaCl及びマンニトールと一致する一酢酸緩衝液、及び、アダリムマブ参照（AR）製剤に対してこれらの改変したレベルの酢酸緩衝液（低NaCl、高マンニトール（LS/HM））である。これらの改変は、等張性を維持しながら、アダリムマブ参照に匹敵するモル浸透圧濃度（osmolality）をもたらす。

30

【0068】

【表 4】

表 4. 実験シリーズ 3 製剤条件

条件#	種類	クエン酸	リン酸	酢酸	NaCl	マンニ トール	ポリソル ベート 80
1	アダリムマブ 参照 (AR)	Y	Y		Y	Y	Y
2	酢酸			20mM	ARレベル	ARレベル	ARレベル
3	酢酸LS/HM			20mM	低い	高い	ARレベル

Y : NaCl 及びマンニトールは、アダリムマブ参照 (AR) 緩衝液濃度 (それぞれ 4.93 mg/0.8mL 及び 9.6mg/0.8mL) に含まれる。LS/HM : 低 NaCl 及び高マンニトールレベル。

10

【0069】

包括的な一連の、ストレス、加速、及びリアルタイム安定性試験は実験シリーズ 3 の製剤開発の一部として実施した (表 5)。リアルタイム研究は、最終製剤として提示されるもの (タイプ 1 ホウケイ酸ガラス) と同様に接触する容器を提示するため、及び、製品の

外観及び粒子形成の評価を促進するために、ガラスバイアル中にて実施した。液体として異なる温度下で ONS - 3010 をインキュベートすることに加え、製品は冷凍条件下で保存したり (-20 及び -80 の両者)、液体遷移する冷凍反復サイクルにさらす。強制酸化研究及び振盪/せん断力研究は、最終製剤の選択を通知するために役立つ追加情報を提供する。

20

【0070】

【表5】

表5. ラウンド3実験の成分及び範囲

研究要素	条件	期間	解析試験	発見
ストレス安定性	55℃	7日目まで	SE-UPLC、CE-SDS、CEX-HPLC、ペプチドマップピング、L929バイオアッセイ	全てのアッセイにわたり最良の条件3
加速安定性	37℃	28日目まで	SE-UPLC、CE-SDS、CEX-HPLC、ペプチドマップピング、L929バイオアッセイ、外観	CEX-HPLC、SE-UPLC、CE-SDS、ペプチドマップ及びバイオアッセイに対するアダリムマブ参照と同等の酢酸製剤。
	25℃	28日目まで	SE-UPLC、CE-SDS、CEX-HPLC、ペプチドマップピング、L929バイオアッセイ、外観	CEX-HPLC、SE-UPLC、CE-SDS、ペプチドマップ及びバイオアッセイに対するアダリムマブ参照と同等の酢酸製剤。
リアルタイム安定性	2~8℃	0、1m、5m、12m、18m	SE-UPLC、CE-SDS、CEX-HPLC、ペプチドマップピング、L929バイオアッセイ、粒子カウント、外観	全ての製剤はアダリムマブ参照と同等。 低塩条件3は28日まで粒子を減少する。28日目における粒子カウントがアダリムマブよりも良い。
追加の特徴	時間0時点	時間0時点	DLS、DSC、重量モル浸透圧濃度、粒子カウント	全ての製剤DLSはアダリムマブ参照と同等又はより良い。 低塩はRhに有益である。 重量モル浸透圧濃度は全て等張。 T=0における粒子カウントは、アダリムマブ参照と同等又はより良い。
強制酸化	1%t-ブチル過酸化水素、25℃	8時間まで	SE-UPLC、CEX-HPLC、ペプチドマップピング	SE-UPLCにおいて変化無し、CEXにおいてわずかに変化(条件3はより良い)、ペプチドマップにおいて明らかに酸化(条件3はより良い)
凍結安定性	-80℃	0、1m、5m、12m、18m	SE-UPLC、CE-SDS、CEX-HPLC、ペプチドマップピング、L929バイオアッセイ	全ての製剤はアダリムマブ参照と同等。
凍結-解凍サイクル	-20℃及び-80℃	5サイクルまで	SE-UPLC、CE-SDS(NR)	-20℃は、高マンニトールを用いるといくつかのHMWS(非共有結合)をしめす。全ての製剤は、-80℃において、アダリムマブ参照と同等。
振盪試験	37℃、Tween有り及び無し	28日目まで	SE-UPLC、CE-SDS、CEX-HPLC、L929バイオアッセイ、選択したペプチドマップ、外観	SE-UPLC、CE-SDS及びバイオアッセイに対するアダリムマブ参照と比較して、せん断に対する同等又はよりよい保護を示す。CEXはアダリムマブ参照と同等の酢酸条件を示す。

【0071】

実施例3

材料の性質決定

動的光散乱。動的光散乱は、4つの異なるタンパク質濃度にてONS-3010の流体

10

20

30

40

50

力学的半径 (Rh) を測定するために使用した (結果のグラフ表示については図9を参照)。50 mg/mLにおけるアダリムマブ参照製剤は、8.0 nmの平均流体力学的半径を有する。条件2 (酢酸) は、完全な50 mg/mLの濃度で同等の値を示し、一方で、低塩の条件3 (酢酸LS/HM) はより小さいRh値を示し、高タンパク質濃度において、より自己会合するコントロールと相関している。条件3で使用されるより少ない塩化ナトリウム量は、典型的な製剤条件下で使用される、使用に50 mg/mLで起こる密集/会合を破壊するのに十分である。より低濃度において、Rh値は、単量体モノクローナル抗体に典型的な5~6 nmの範囲の値に収束する。条件3 (酢酸LS/HM) は、測定したタンパク質濃度の全範囲にわたってより低いRh値をもたらす。

【0072】

緩衝液製剤中の少量の塩化ナトリウムの存在 (26.35 mMの塩化ナトリウム対105.45 mMの塩化ナトリウム) は、50 mg/mLの高タンパク質濃度の個々の抗体分子の密集を防止する。この現象は、緩衝液製剤を含む低塩化ナトリウムに対し、低い流体力学的半径によって確認される (図9 酢酸LS/HM緩衝条件3 50 mg/mL)。これは、密集を防止し、凝集を減少する (HMWS) 酢酸緩衝液と塩化ナトリウム (低濃度) のユニークな相乗効果である (図11及び12図)。製剤中の塩化ナトリウムが低濃度であり、クエン酸が存在しないことは、患者の受容性が良いこと (注射部位での刺激及び疼痛の軽減) と関連しうると考えられている。緩衝液組成の変更 (特に、低濃度のクエン酸又はクエン酸の除去) は、薬剤の皮下投与の際に、注射部位反応の発生率 (例えば、「灼熱感」) を低減しうる。

【0073】

200 LのパイロットスケールのONS-3010のような別の材料は、2~8で17ヶ月間、ガラスバイアル (I型ホウケイ酸塩) で保存した後、~50 mg/mLにてそのコロイド特性について試験した。試験したロットは、酢酸LS/HM緩衝液製剤 (BDS-0) 及びアダリムマブ参照製剤 (BDS-H) の両方に製剤化した。表6に示すように、BDS-0の流体力学的半径は、約5.5 nmであり、BDS-H (7.9 nm) よりも有意に低い。流体力学的半径 (RH) の差は、アダリムマブ参照製剤と比較して、緩衝化された製剤中のコロイド安定性の増大を示している。また、この重要なコロイド特性 (Rh) は、2~8において17ヶ月の貯蔵期間にわたって変化しないままであり、緩衝液製剤の高い貯蔵安定性を示している。

【0074】

【表6】

表6. ONS-3010 DLSの結果

サンプル	タンパク質濃度 (mg/mL)	平均 Rh (nm)
BDS-0	49.9	5.5
アダリムマブ参照 (BDS-H)	53.7	7.9

【0075】

モル浸透圧濃度 (Osmolality)。三つの条件のモル浸透圧濃度は、ノバフレックス装置を用いて測定した。すべての条件は、互いに及びアダリムマブ参照製剤と同様であり、290~340 mOsm/kgの等張範囲であった (表7)。

【0076】

10

20

30

40

【表 7】

表7. ONS-3010実験シリーズ3 モル浸透圧濃度値

条件 #	種類	浸透圧濃度 (mOsm/kg)
1	アダリムマブ参照	330
2	酢酸	320
3	酢酸LS/HM	324

緩衝液組成は表4を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

10

【0077】

粒子カウント。粒子分析は、HIA Cモデル9703+システムを用いて、以下の改変USP法(2µmもの小さな粒子の検出が可能)にて実施した。すべてのサイズ範囲の累積結果は、0.8mLの予め充填されたシリンジの準備に基づいて計算した容器あたりのカウントにて、表8に示している。10と25µmサイズピンは、特異的に、USP法<788>ごとに追跡される。すべての条件の値は、>25ミクロンの粒子に対する容器当たり<600累積カウント、及び、>10ミクロンの粒子に対する容器当たり<6000累積カウントの限界以下であった。低塩(製剤条件3)はさらに、アダリムマブ参照製剤及び高塩製剤と比較して2~10ミクロンの粒子を減少させるようである(表8)。

【0078】

20

【表 8】

表 8. 粒子数の実験シリーズ 3 の 0 時間及び 28 日目サンプルの粒子カウントの結果

サンプル	粒子サイズ (μm)	時間 0		28 日目 2~8°C	
		平均累積 カウント/mL	カウント/容器	平均累積 カウント/mL	カウント/容器
アダリム マブ参照	2	1932	1546	1946	1557
	3	1020	816	1332	1066
	5	198	158	304	243
	10	56	45	40	32
	15	28	22	20	16
	25	10	8	6	5
	50	2	2	0	0
	100	2	2	0	0
酢酸	2	808	646	1788	1430
	3	396	317	1058	846
	5	96	77	214	171
	10	30	24	36	29
	15	10	8	22	18
	25	6	5	6	5
	50	4	3	0	0
	100	0	0	0	0
酢酸 LS/HM	2	356	285	290	232
	3	240	192	178	142
	5	112	90	72	58
	10	56	45	18	14
	15	30	24	10	8
	25	12	10	0	0
	50	2	2	0	0
	100	0	0	0	0

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

【0079】

ストレス安定性 (55)。高温のストレス状態に対する ONS - 3010 の挙動を調べるために、サンプルを最大 7 日 55 でインキュベートし、その後、複数の分析方法によって調べた。55 は保存条件として十分に超えており、臨床で遭遇することが予想される短期的な処理条件である一方、ストレス安定性アーム (arm) は、より高い温度で優位となる無数の強制的に分解する事象から、保護する製剤能力を強調する点で極めて有用である。アダリムマブと ONS - 3010 の両者に対し、55 は示差走査熱量測定によって監視される熱変性の初期の発現よりも低い。

【0080】

SE-UPLC。55 への ONS - 3010 の曝露は、高分子量及び低分子量種 (HMWS と LMWS) の両方を生成した (表 9)。いずれも SE-UPLC によって監視することが可能である。時間 0 から 7 日目まで、二量体 (持続時間約 3.1 分)、及び、より持続時間が短い二量体よりも大きい種が著しく増加し、両者は、HMWS としてカウントした。フラグメント化の、明確なピークが、~ 3.9 分に単量体ピークの後部、及び、4.5 分にて追加のピークの裏側に離れて形成された (図 10)。7 日間のインキュベート後、製剤条件の SE-UPLC クロマトグラムには明らかな差があった (図 11)。特

10

20

30

40

50

に、酢酸LS/HM条件は、アダリムマブ参照製剤及び他の製剤条件に比較して、HMWS形成に対する保護を示した。これは、図12にも示された。

【0081】

【表9】

表9. 1日目から7日目のストレス安定性に対するSE-UPLCデータ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 55°C 1日目	3.81	95.78	0.42
酢酸 55°C 1日目	4.18	95.48	0.34
酢酸LS/HM 55°C 1日目	2.32	97.40	0.28
アダリムマブ参照製剤 55°C 2日目	6.31	93.11	0.58
酢酸 55°C 2日目	5.42	94.00	0.58
酢酸LS/HM 55°C 2日目	2.89	96.53	0.57
アダリムマブ参照製剤 55°C 4日目	7.75	88.93	3.32
酢酸 55°C 4日目	6.92	89.94	3.13
酢酸LS/HM 55°C 4日目	4.03	93.24	2.73
アダリムマブ参照製剤 55°C 7日目	10.75	84.20	5.05
酢酸 55°C 7日目	9.81	85.43	4.76
酢酸LS/HM 55°C 7日目	6.15	89.37	4.48

10

20

緩衝液組成は表4を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0082】

CEX-HPLC。55 で処理されたサンプルの陽イオン交換クロマトグラフィーは、分子の電荷の変化としてそれ自身に顕在化する多くの物理化学的変化の広範な見解を提供する。これは、脱アミド化、異性化、及びピログルタミン形成等の特異的電荷を基礎とする修飾を含むだけでなく、高温で発生し始めるより微妙な立体構造シフトも明らかにする。CEX-HPLCプロファイルは、時間0から2日目のサンプルを監視した(表10)

30

【0083】

【表 10】

表 10. ストレス安定性 (55°C) の CEX データ

サンプルの種類	%酸性種	%主要種	%塩基性種	%特別な塩基性種
アダリムマブ参照 T=0 2~8°C	15.5	64.4	18.5	1.7
酢酸 T=0 2~8°C	15.7	64.1	18.8	1.5
酢酸 LS/HM T=0 2~8°C	15.5	64.0	18.6	1.8
アダリムマブ参照 55°C 1日目	19.6	58.5	21.0	0.9
酢酸 55°C 1日目	19.4	58.8	20.8	1.1
酢酸 LS/HM 55°C 1日目	20.4	58.1	19.6	2.0
アダリムマブ参照 55°C 2日目	24.9	53.7	20.8	0.6
酢酸 55°C 2日目	24.4	54.3	20.5	0.9
酢酸 LS/HM 55°C 2日目	26.2	53.5	19.4	0.9

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM: 低 NaCl 及び高マンニトールレベル

【0084】

アダリムマブ参照製剤中のサンプルの代表的なクロマトグラムは、55 の 2 日目のサンプルのオーバーレイとして図 13 に示す。CEX %メイン、酸性及び塩基性種の傾きを図 14、図 15 及び図 16 に示す。酢酸 LS/HM 緩衝液製剤は、二日間 55 で処理後のアダリムマブ参照製剤と同様の CEX プロフィールを有していた。軽微な違いは、アッセイの変動の範囲内である。

【0085】

CE-SDS R/NR。サイズパリエーションの直交の見解 (変性 対 非変性 SE-UPLC 方法論) を提供するために、非還元及び還元条件の両方で CE-SDS を使用した。変性技術による解析において、SE-UPLC で観察された製剤の条件間には大きな違いは見られず、形成されたサイズパリエーションは、天然では主に非共有結合であることを示している。

【0086】

バイオアッセイ。一般的に、試験した全てのサンプルは、バイオアッセイにて、方法の変動内で同等の相対的な力価を示した。55 で 7 日間の処理後、力価の測定可能な変化は認められず、これは、熱変性に安定性を有していることを示している。

【0087】

ペプチドマップ。ペプチドマッピングは、ONS-3010 のより具体的な修飾に関する見解を与える。55 のインキュベーション温度は、一般に、N 末端重鎖のピログルタミン酸の形成及び特異的な異性化イベント等、低温では観察されてない特定の化学修飾を促進した。条件 3 (酢酸 LS/HM) は、化学修飾のこの分類に対する最大限の保護を有しているように観察された (図 17、図 18、図 19、図 20、及び表 11)。条件 3 の 7 日目のストレスを与えたサンプルにおいて、CH2ドメイン中のメチオニン 256 の酸化は、例えば、非ストレスの範囲内のレベルに維持された。C 末端変異体及びグリコシル化レベルは、処理全般にわたって一定のままであった。

【0088】

10

20

30

40

【表 1 1】

表 1 1. ストレス安定性サンプル中のペプチドマッピングによって監視した、選択ONS-3010翻訳後修飾

修飾	部位	非ストレスの アダリムマブ 範囲 (%)	ONS-3010 7日目 55℃		
			アダリム マブ参照	酢酸	酢酸LS/HM
N末端 ピロ-E	N末端	<1.7	11.4	9.7	8.1
酸化	HC M256	1.5~2.4	5.0	2.6	2.3
酸化	HC M432	<0.7	5.0	2.9	2.5
脱アミノ化	LC N137/138	2.2~3.5	2.2	1.8	1.6
脱アミノ化	LC N152/158	0.6~1.5	0.0	0.0	0.0
脱アミノ化	HC N54	0.4~2.4	1.1	1.0	0.9
脱アミノ化	HC N77/N84	0.2~1.3	1.0	0.9	0.8
脱アミノ化	HC N280/290	0.1~1.9	0.6	0.5	0.4
脱アミノ化 モッズ (mods)	HC N319	3.9~11.2	6.1	5.3	4.8
脱アミノ化 モッズ (mods)	PENNY ペプチドHC N388/393/394	12.2~19.4	15.3	14.8	14.0
脱アミノ化	HC N438	0.2~1.6	1.2	1.0	0.9
異性化	HC D30	< LOQ	2.9	2.9	3.1
異性化	HC D62	< LOQ	1.5	1.3	1.4
異性化	HC D284	< LOQ	9.0	7.3	5.8

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0089】

加速安定性 (37 °C 及び 25 °C)。加速 (37 °C 及び 25 °C) 及びリアルタイム安定性試験は、ガラスバイアル中で実施した。サンプルは、SE-UPLC、CEX-HPLC、CE-SDS、外観、バイオアッセイ、及びペプチドマッピング (選択された時点における) による分析のために引き出した。25 °C にて 28 日まで、酢酸製剤は、CEX-HPLC、SE-UPLC、CE-SDS、ペプチドマップとバイオアッセイに対してアダリムマブ参照製剤と同等であった。

【0090】

SE-UPLC。アダリムマブ参照製剤に対する、7 日目でインキュベートしたクロマトグラムの全オーバーレイを図 2 1 に示し、28 日目の 3 条件全てを拡大したオーバーレイが図 2 2 である。3 つ全ての条件は、37 °C 28 日後の SE-UPLC プロファイルと同等であり、主要ピーク / 単量体純度レベル ~ 96 % を有している。すべての製剤条件において単量体ピーク上の後ろの肩 (shoulder) の形成 (4 分の保持時間) が観察され、いくつかのより早い時点において、統合閾値 (integration threshold) があった (LMWS 定量においていくつかのバリエーションを導いた、数値は表 1 2 を参照、21 日目から 28 日目の間の増加の中断は存在しなかった)。

【0091】

10

20

30

40

【表 1 2】

表 1 2. 37°C加速安定性サンプルのSE-UPLC

37°C サンプル	%HMWS				%単量体				%LMWS			
	T0	14日	21日	28日	T0	14日	21日	28日	T0	14日	21日	28日
アダリムマブ参照	0.74	1.25	1.36	1.52	99.16	98.34	98.08	95.9	0.10	0.40	0.57	2.58
酢酸	0.71	1.27	1.43	1.74	99.14	98.31	98.07	95.84	0.15	0.42	0.49	2.42
酢酸 LS/HM	0.7	1.04	1.24	1.71	99.16	98.62	98.29	95.77	0.14	0.34	0.47	2.52

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0092】

CEX-HPLC。37°Cで処理した14日目、21日目及び28日目の加速安定性サンプルのCEX-HPLC解析は(表13)は、アダリムマブ参照製剤と同等の酢酸条件を示した。

【0093】

【表 1 3】

表 1 3. ストレス安定性 (37°C) のCEX-HPLCデータ

サンプル名	%酸性種	%主要種	%塩基性種	%特別塩基性種
アダリムマブ参照 37°C 14日目	22.4	56.4	19.9	1.4
酢酸 37°C 14日目	21.8	57.5	19.5	1.1
酢酸 LS/HM 37°C 14日目	22.3	57.4	19.5	0.8
アダリムマブ参照 37°C 21日目	25.7	53.3	20.2	0.9
酢酸 37°C 21日目	24.3	54.3	20.2	1.2
酢酸 LS/HM 37°C 21日目	26.2	52.7	19.6	1.5
アダリムマブ参照 37°C 28日目	29.0	49.7	20.1	1.1
酢酸 37°C 28日目	27.5	50.9	20.1	1.5
酢酸 LS/HM 37°C 28日目	30.4	49.0	19.3	1.3

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0094】

CE-SDS (R/NR)。37°Cでインキュベートしたサンプルに対するCE-SDS試験は、28日後の3つの条件間のNR変性サイズのバリエーションにける同様の傾向を明らかにする。37°CのR-CE-SDSに対して、アダリムマブ参照製剤に対する全ての条件は、28日後と同等である。

【0095】

バイオアッセイ。全ての製剤条件は、37°C、28日間のインキュベーション後のL929バイオアッセイで完全な力価を示した。

【0096】

外観。定期的な目視の検査は、加速及びリアルタイム安定性サンプルに対して実施した。具体的には、サンプルは、色彩、透明度、及びタンパク質性粒子の有無の任意の変化を監視した。一般的には、ONS-3010サンプルは、タンパク質産物に対して所望される外観を示した。37°Cでインキュベートしたサンプルにおいて、条件3を除く全ての製剤は20日目までに粒子形成を示し、一方で、条件3(酢酸LS/HM)は、28日目

粒子を形成しないままであった（表 1 4）。全ての製剤は、2 ~ 8、2 6 日目においていくつか可視化された粒子を示した（表 3 0）。

【 0 0 9 7 】

【 表 1 4 】

表 1 4. ストレス安定性に対する外観データ（37℃）

日	アダリムマブ 参照	酢酸	酢酸 L S / H M
0	C	C	C
1	C	C	C
4	C	C	C
5	C	C	C
6	C	C	C
7	C	C	C
8	C	C	C
11	C	C	C
12	C	C	C
13	C	C	C
14	C	C	C
15	C	C	C
18	C	C	C
19	C	C	C
20	1P	C	C
21	1P	1P	C
22	1P	1P	C
25	1P	1P	C
26	1P	1P	C
27	1P	1P	C
28	1P	1P	C

C=明瞭、1P~5Pスケール：1P=粒子の可視、5P=多くの粒子の可視
緩衝液組成は表 4 を参照。L S / H M：低 N a C l 及び高マンニトールレベル

【 0 0 9 8 】

強制酸化。強制酸化試験では、ONS - 3 0 1 0 製剤候補で酸化を誘導するために、1 % t - ブチル過酸化水素処理を利用した。SE - UPLC、CEX - HPLC、及びトリプシンペプチドマップ法は、製品の品質特性及び酸化を受けやすい特異的なアミノ酸残基の変化を監視するために使用した。酸化修飾は、主要な化学的分解経路の一つである。骨格又は側鎖上の酸化損傷の部位は、タンパク質表面の疎水性を変化することができる。LC - MS ペプチドマッピングを用いた、酸化のフィンガープリント (f i n g e r p r i n t) は、製剤の選択のための高速かつ信頼性の高いアプローチを可能にする。

【 0 0 9 9 】

ONS - 3 0 1 0 の配列に沿って分布する 5 メチオニン残基：軽鎖における残基 M 4、並びに、重鎖中の残基 M 3 4、M 8 3、M 2 5 6、及び M 4 3 2 が存在した。M 3 4 は、CDR 内に存在する。

【 0 1 0 0 】

ペプチドマッピングデータに基づいて、Fc 領域のメチオニン残基 M 2 5 6 及び M 4 3 2 は、酸化によって優先的に修飾される残基であった（図 2 3 及び図 2 4）。製剤条件 # 3 は、酸化に対して全体的に最大限の保護を提供する。残基 M 4 と M 8 3 の酸化された種

は、ストレス条件下でさえも方法 L O Q 以下であった。ストレス時には、酸化された M 3 4 は L O Q であり、方法の変動内で 3 条件と同等であった。

【 0 1 0 1 】

C E X - H P L C に対して、酸化ストレスの処理は、主要ピークの減少と、数 % の基本的なピークの割合の対応する増加とをもたらす (表 1 5)。条件 3 (酢酸 L S / H M) は、他の条件よりも酸化に対してより保護的であることを示した。S E - U P L C の値は、処理する際に、本質的に不変である。

【 0 1 0 2 】

【 表 1 5 】

10

表 1 5 . 3 7 ° C 強制酸化に対する C E X - H P L C データ

サンプル名	%酸性種	%主要種	%塩基性種	%特別塩基性種
アダリムマブ参照 T=0 2~8°C	15.3	65.2	18.6	0.8
酢酸 T=0 2~8°C	15.1	65.4	18.7	0.8
酢酸 L S / H M T=0 2~8°C	15.5	65.1	18.6	0.8
アダリムマブ参照 1%TBHP	14.0	63.4	20.9	1.7
酢酸 1%TBHP	14.2	64.1	20.5	1.3
酢酸 L S / H M 1%TBHP	14.6	64.6	19.9	0.9

20

緩衝液組成は表 4 を参照。L S / H M : 低 N a C l 及び高マンニトールレベル

【 0 1 0 3 】

凍結 - 解凍サイクル。凍結 - 解凍サイクルは、2 つの温度 : - 2 0 と - 8 0 にて、候補製剤のサンプルで実施した。サンプルを適切な温度に設定された冷凍庫に置き、完全に (少なくとも 1 時間) 凍結させた。その後、サンプルを冷凍庫より取り出し、2 5 (約 1 時間) で解凍した。この凍結工程プラス解凍工程は、単一のサイクルを構成した。サンプルは、最大 5 回の凍結 - 解凍サイクルに供した後、S E - U P L C と共に、N R C E - S D S によってテストされるサンプルのサブセットとともに解析した。

30

【 0 1 0 4 】

全製剤条件は、- 8 0 での複数の凍結 - 解凍サイクルに対して安定であるようであり、5 サイクル後の主要ピークの純度値は、時間ゼロ値と同等であった。- 2 0 のサイクルでは、いくらか % H M W S の増加がみられ、高マンニトール製剤条件 3 でより認められた (表 1 6)。このより低い凍結温度で成長するマンニトールの結晶化が指標になりうると考えられる。アダリムマブ参照製剤及び条件 3 は、N R C E - S D S で監視したとき、サイクル時に同様のパターンを示した。

【 0 1 0 5 】

【表 16】

表 16. 凍結/解凍のSE-UPLCデータ (「C」=凍結/解凍サイクル1~5)

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C1 25/-20°C	0.71	99.21	0.07
酢酸F/T C1 25/-20°C	0.68	99.28	0.04
酢酸LS/HM F/T C1 25/-20°C	0.66	99.22	0.13
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C1 25/-80°C	0.72	99.18	0.09
酢酸F/T C1 25/-80°C	0.69	99.25	0.05
酢酸LS/HM F/T C1 25/-80°C	0.65	99.28	0.07
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C2 25/-20°C	0.71	99.22	0.07
酢酸F/T C2 25/-20°C	0.71	99.14	0.14
酢酸LS/HM F/T C2 25/-20°C	1.42	98.44	0.14
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C2 25/-80°C	0.73	99.16	0.1
酢酸F/T C2 25/-80°C	0.70	99.18	0.12
酢酸LS/HM F/T C2 25/-80°C	0.66	99.20	0.14
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C3 25/-20°C	0.73	99.15	0.1
酢酸F/T C3 25/-20°C	0.72	99.13	0.15
酢酸LS/HM F/T C3 25/-20°C	1.40	98.48	0.12
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C3 25/-80°C	0.73	99.15	0.13
酢酸F/T C3 25/-80°C	0.70	99.15	0.14
酢酸LS/HM F/T C3 25/-80°C	0.65	99.26	0.09
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C4 25/-20°C	0.73	99.17	0.11
酢酸F/T C4 25/-20°C	0.71	99.14	0.14
酢酸LS/HM F/T C4 25/-20°C	1.37	98.56	0.06
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C4 25/-80°C	0.73	99.14	0.12
酢酸F/T C4 25/-80°C	0.69	99.24	0.07
酢酸LS/HM F/T C4 25/-80°C	0.65	99.21	0.14
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C5 25/-20°C	0.72	99.17	0.11
酢酸F/T C5 25/-20°C	0.70	99.15	0.14
酢酸LS/HM F/T C5 25/-20°C	1.37	98.57	0.06
7 ^タ リムマ ^フ 参照製剤 F/T C5 25/-80°C	0.72	99.16	0.12
酢酸F/T C5 25/-80°C	0.70	99.15	0.15
酢酸LS/HM F/T C5 25/-80°C	0.64	99.24	0.12

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM: 低NaCl及び高マンニトールレベル

【0106】

振盪試験。せん断力に対する製剤の保護能力を評価するために、振盪試験を、37、150rpmに設定した軌道振盪インキュベーターに配置したガラスバイアル(0.5mL充填)で実施した。第二アーム(arm)は、ポリソルベート80非添加の製剤を含有していた。サンプルは、以下の方法を用いて試験した: SE-UPLC、CEX-HPLC、CE-SDS(R/NR)、L929バイオアッセイ、ペプチドマップ、及び外観。

【0107】

10

20

30

40

50

SE-UPLCに基づく、ポリソルベート80を含有及び非含有の両方の振盪試験に対し、条件2及び3(28日目におけるメインピーク純度~96%)は、アダリムマブ参照製剤に匹敵するか、又はわずかに良好であった(表17~24)。CEX-HPLCの結果は、アダリムマブ参照製剤と比較して、酢酸塩製剤で有意な差を示さなかった(表25~27)。28日目のサンプルは、L929バイオアッセイにおいて完全な力価を示し、CE-SDS(R/NR)の値は、条件全体で類似している。28日目において、全条件は、いくつかの可視粒子形成を示した:条件3は、他の条件より保護していた(表28及び29)。

【0108】

【表17】

10

表17. ポリソルベート80を用いた、7日目における振盪試験のSE-UPLCデータ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 7日目	1.02	98.71	0.26
酢酸 振盪 7日目	1.08	98.65	0.26
酢酸LS/HM 振盪 7日目	0.92	98.78	0.3

緩衝液組成は表4を参照。LS/HM:低NaCl及び高マンニトールレベル

20

【0109】

【表18】

表18. ポリソルベート80を用いた、14日目における振盪試験のSE-UPLCデータ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 14日目	1.21	98.36	0.42
酢酸 振盪 14日目	1.30	98.30	0.40
酢酸LS/HM 振盪 14日目	1.09	98.56	0.34

緩衝液組成は表4を参照。LS/HM:低NaCl及び高マンニトールレベル

30

【0110】

【表19】

表19. ポリソルベート80を用いた、21日目における振盪試験のSE-UPLCデータ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 21日目	1.30	96.75	1.96
酢酸 振盪 21日目	1.47	98.05	0.49
酢酸LS/HM 振盪 21日目	1.36	98.16	0.48

緩衝液組成は表4を参照。LS/HM:低NaCl及び高マンニトールレベル

40

【0111】

【表 2 0】

表 2 0. ポリソルベート 8 0 を用いた、2 8 日目における振盪試験の SE-UPLC データ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 28日目	1.51	95.94	2.56
酢酸 振盪 28日目	1.78	95.81	2.41
酢酸 LS/HM 振盪 28日目	1.58	96.07	2.35

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

10

【 0 1 1 2】

【表 2 1】

表 2 1. ポリソルベート 8 0 を用いない (Tw) 6 日目における振盪試験の SE-UPLC データ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 w/o Tw 6日目	0.97	98.77	0.25
酢酸 振盪 w/o Tw 6日目	0.99	98.80	0.20
酢酸 LS/HM 振盪 w/o Tw 6日目	0.86	98.94	0.20

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

20

【 0 1 1 3】

【表 2 2】

表 2 2. ポリソルベート 8 0 を用いない (Tw) 1 3 日目における振盪試験の SE-UPLC データ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 w/o Tw 13日目	1.17	98.46	0.37
酢酸 振盪 w/o Tw 13日目	1.21	98.41	0.39
酢酸 LS/HM 振盪 w/o Tw 13日目	1.00	98.68	0.32

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

30

【 0 1 1 4】

【表 2 3】

表 2 3. ポリソルベート 8 0 を用いない (Tw) 2 0 日目における振盪試験の SE-UPLC データ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 w/o Tw 20日目	1.35	96.75	1.90
酢酸 振盪 w/o Tw 20日目	1.38	98.10	0.51
酢酸 LS/HM 振盪 w/o Tw 20日目	1.14	98.39	0.47

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

40

【 0 1 1 5】

【表 2 4】

表 2 4. ポリソルベート 8 0 を用いない (Tw) 2 8 日目における振盪試験の SE-UPLC データ

サンプル名	%領域総凝集	%単量体領域	%領域総分解
アダリムマブ参照製剤 振盪 w/o Tw 28日目	1.56	95.84	2.60
酢酸 振盪 w/o Tw 28日目	1.54	96.03	2.42
酢酸 LS/HM 振盪 w/o Tw 28日目	1.44	96.18	2.39

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

10

【0 1 1 6】

【表 2 5】

表 2 5. ポリソルベート 8 0 を用いた 1 4 日目における振盪試験の CEX-HPLC データ

サンプル名	%酸性種	%主要種	%塩基性種	%特別塩基性種
アダリムマブ参照製剤 振盪 14日目	22.4	56.9	20.2	0.5
酢酸 振盪 14日目	21.5	58.1	19.7	0.7
酢酸 LS/HM 振盪 14日目	22.5	57.2	19.6	0.7

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

20

【0 1 1 7】

【表 2 6】

表 2 6. ポリソルベート 8 0 を用いた 2 8 日目における振盪試験の CEX-HPLC データ

サンプル名	%酸性種	%主要種	%塩基性種	%特別塩基性種
アダリムマブ参照製剤 振盪 28日目	29.0	51.2	19.5	0.4
酢酸 振盪 28日目	27.0	53.3	19.2	0.6
酢酸 LS/HM 振盪 28日目	29.1	51.0	18.3	1.6

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

30

【0 1 1 8】

【表 2 7】

表 2 7. ポリソルベート 8 0 (Tw) を用いない 2 8 日目における振盪試験の CEX-HPLC データ

サンプル名	%酸性種	%主要種	%塩基性種	%特別塩基性種
アダリムマブ参照製剤 振盪 28日目 w/o Tw	27.8	49.6	20.5	2.2
酢酸振盪 28日目 w/o Tw	27.0	51.2	19.9	1.9
酢酸 LS/HM 振盪 28日目 w/o Tw	28.4	51.8	19.2	0.6

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

40

50

【 0 1 1 9 】

【 表 2 8 】

表 2 8. ポリソルベート 8 0 を用いた振盪試験の外観データ

日	アダリムマブ 参照	酢酸	酢酸 LS/HM
0	C	C	C
1	C	C	C
2	C	C	C
3	C	C	C
4	1P	C	C
7	2P	1P	1P
8	2P	1P	1P
9	2P	1P	1P
10	2P	1P	1P
11	2P	1P	1P
14	2P	2P	1P
15	2P	2P	1P
16	2P	2P	1P
17	2P	2P	1P
18	2P	2P	1P
21	2P	2P	1P
22	2P	2P	1P
23	2P	2P	1P
24	2P	2P	1P
25	2P	2P	1P
28	2P	2P	1P

C=明瞭、1P~5Pスケール：1P=粒子の可視、5P=多くの粒子の可視
緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

【 0 1 2 0 】

10

20

30

【表 29】

表 29. ポリソルベート 80 を用いない振盪試験の外観データ

日	アダリムマブ 参照	酢酸	酢酸 LS/HM
0	C	C	C
1	C	C	C
2	C	C	C
3	C	C	C
6	C	C	1P
7	C	C	1P
8	C	C	1P
9	C	C	1P
10	C	C	1P
13	C	C	1P
14	C	C	1P
15	C	C	1P
16	C	C	1P
17	C	C	1P
20	C	C	1P
21	C	C	1P
22	C	C	1P
23	C	C	1P
24	C	C	1P
27	C	C	1P
28	C	C	1P

10

20

30

C=明瞭、1P~5Pスケール：1P=粒子の可視、5P=多くの粒子の可視
緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

【0121】

2~8 及び -80 におけるリアルタイム安定性。長期リアルタイム安定性試験前に、製剤の候補を評価するため、ストレス若しくは加速温度、強制酸化、高せん断暴露及び凍結-解凍を含む製剤試験を行った。熱安定性、凝集、フラグメント化、分解経路及び力価との間の関係は、これらの処理の結果として観察されている。実験シリーズ 3、条件 3 (酢酸 LS/HM) は、試験したいいくつかの極端な条件における他の条件より、保護を示している。

【0122】

2~8 及び -80 で保存することは、ONS-3010 薬剤製品で予測される。2~8 及び -80 における長期リアルタイム安定性試験が、1ヶ月、5ヶ月、12ヶ月及び18ヶ月の時点で実施されている。サンプルは以下の方法で試験した：SE-UPLC (表 32~34)、CEX-HPLC (表 35~37)、CE-SDS (R/NR) (表 38~42)、L929 バイオアッセイ (表 43)、ペプチドマップ (表 44~46)、粒子カウント (28日目 2~8、表 8) 及び外観 (表 30~31)。

40

【0123】

三つの異なる条件を用いて製剤化した ONS-3010 サンプルの試験結果は、SE-UPLC によれば有意な生化学的変化を示さず (図 25~28)、バイオアッセイの結果は同等及び方法のばらつきの範囲内である。製剤条件 1 及び 3 の外観においては、有意差を示さなかった (表 30 及び 31)。28日目の時点のサブ可視化粒子数は、表 8 に記録

50

されている。28日目の時点において、低塩（製剤条件3 酢酸LS/HM）は、アダリムマブ参照製剤及び高塩製剤と比較して、さらに粒子が2～10ミクロン減少するようである。条件2の安定性評価は5ヶ月の時点後に停止し、必要に応じて安定性サンプルは、その後、将来の試験用に-80℃で凍結した。

【0124】

【表30】

表30. 2～8℃リアルタイムインキュベーションに対する外観

日	アダリムマブ参照	酢酸	酢酸LS/HM
0	C	C	C
1	C	C	C
4	C	C	C
5	C	C	C
6	C	C	C
7	C	C	C
8	C	C	C
11	C	C	C
12	C	C	C
13	C	C	C
14	C	C	C
15	C	C	C
18	C	C	C
19	C	C	C
20	C	C	C
21	C	C	C
22	C	C	C
25	C	C	C
26	1P	1P	1P
27	1P	1P	1P
28	1P	1P	1P
5ヶ月	1P	1P	1P
12ヶ月	1P	2P	1P
18ヶ月	1P	2P	1P

C=明瞭、1P～5Pスケール：1P=粒子の可視、5P=多くの粒子の可視
緩衝液組成は表4を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0125】

10

20

30

40

【表 3 1】

表 3 1. -80℃リアルタイムインキュベーションの外観

月	条件 1	条件 2	条件 3
5	1P	2P	1P
12	1P	試験せず	1P
18	1P	試験せず	1P

C=明瞭、1P~5Pスケール：1P=粒子の可視、5P=多くの粒子の可視
緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

10

【0126】

【表 3 2】

表 3 2. 2~8℃及び-80℃インキュベーションのSE-UPLC%HMWS

サンプル	%HMWS							
	2~8℃ T0	2~8℃ 28日	2~8℃ 5ヶ月	2~8℃ 12ヶ月	2~8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	0.74	0.76	0.87	0.98	1.07	0.71	0.68	0.68
2. 酢酸	0.71	0.75	0.91	試験せず	試験せず	0.69	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	0.7	0.68	0.83	0.96	1.03	0.66	0.64	0.64

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

20

【0127】

【表 3 3】

表 3 3. 2~8℃及び-80℃インキュベーションに対するSE-UPLC%単量体

サンプル	%単量体							
	2~8℃ T0	2~8℃ 28日	2~8℃ 5ヶ月	2~8℃ 12ヶ月	2~8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	99.16	99.12	99.03	98.73	98.60	99.22	99.17	99.32
2. 酢酸	99.14	99.17	98.96	試験せず	試験せず	99.23	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	99.16	99.25	99.09	98.75	98.62	99.27	99.16	99.36

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

30

40

【0128】

【表 3 4】

表 3 4. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対するSE-UPLC%LMWS

%LMWS								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	0.1	0.12	0.10	0.29	0.34	0.06	0.15	0.00
2. 酢酸	0.15	0.08	0.14	試験せず	試験せず	0.08	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	0.14	0.07	0.08	0.30	0.36	0.07	0.20	0.00

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0129】

【表 3 5】

表 3 5. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対するCEX-HPLC%酸性種

%酸性種								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	15.5	15.0	15.4	16.7	17.0	15.0	17.7	15.3
2. 酢酸	15.7	15.2	15.0	試験せず	試験せず	14.5	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	15.5	15.0	15.7	16.8	17.0	15.2	16.5	15.3

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0130】

【表 3 6】

表 3 6. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対するCEX-HPLC%主要種

%主要種								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	64.4	64.8	64.4	63.2	62.5	65.4	63.1	65.0
2. 酢酸	64.1	64.9	64.5	試験せず	試験せず	65.6	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	64.0	65.2	64.1	63.3	63.1	64.6	64.3	65.1

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0131】

10

20

30

40

【表 3 7】

表 3 7. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対する CEX-HPLC %塩基性種

%塩基性種								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	18.5	19.2	20.2	20.1	20.4	19.7	19.2	19.7
2. 酢酸	18.8	18.8	20.5	試験せず	試験せず	20.0	試験せず	試験せず
3. 酢酸 LS/HM	18.6	19.0	20.2	19.8	20.0	20.2	19.2	19.7

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

【 0 1 3 2 】

【表 3 8】

表 3 8. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対する CE-SDS 減少軽鎖%領域

軽鎖%領域								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	29.5	29.6	29.9	32.6	32.7	30.1	32.5	31.3
2. 酢酸	29.6	29.3	29.8	試験せず	試験せず	30.0	試験せず	試験せず
3. 酢酸 LS/HM	29.6	29.0	29.9	32.5	31.4	30.0	32.6	32.3

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

【 0 1 3 3 】

【表 3 9】

表 3 9. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対する CE-SDS 減少重鎖%領域

重鎖%領域								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	67.5	67.4	67.5	65.8	65.5	67.7	65.9	66.0
2. 酢酸	67.4	67.9	67.5	試験せず	試験せず	67.5	試験せず	試験せず
3. 酢酸 LS/HM	66.4	67.6	67.4	65.7	66.9	67.2	65.8	66.0

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低 NaCl 及び高マンニトールレベル

【 0 1 3 4 】

【表 4 0】

表 4 0. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対するCE-SDS減少中間種%領域

中間種%領域								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	2.1	2.0	1.6	0.2	0.6	1.1	0.2	0.9
2. 酢酸	2.0	2.0	1.5	試験せず	試験せず	1.2	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	1.4	2.3	1.7	0.3	0.5	1.4	0.2	0.5

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0135】

【表 4 1】

表 4 1. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対するCE-SDS非減少主要ピーク%領域

主要ピーク%領域								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	91.4	91.7	92.2	93.1	93.9	92.4	93.3	93.9
2. 酢酸	91.8	91.7	92.3	試験せず	試験せず	92.2	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	91.8	93.1	92.7	93.4	93.9	92.4	93.1	93.9

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0136】

【表 4 2】

表 4 2. 2～8℃及び-80℃インキュベーションに対するCE-SDS非減少プレ主要ピーク種の%領域

プレ主要ピーク種の%領域								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	8.6	5.8	7.8	6.9	6.1	7.6	6.7	6.1
2. 酢酸	8.2	5.9	7.7	試験せず	試験せず	7.8	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	8.2	6.9	7.3	6.6	6.1	7.6	6.9	6.1

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0137】

10

20

30

40

【表 4 3】

表 4 3. 2~8℃及び-80℃インキュベーションに対するバイオアッセイL929

力価平均%±標準偏差								
サンプル	2~8℃ T0	2~8℃ 28日	2~8℃ 5ヶ月	2~8℃ 12ヶ月	2~8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	96.76± 16.50	108.68± 4.08	98.76± 6.22	98.81± 1.73	102.03± 6.52	97.39± 6.82	101.38± 3.85	101.73± 5.89
2. 酢酸	93.40± 15.49	103.17± 3.19	100.37± 4.60	試験せず	試験せず	95.80± 7.77	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	91.23± 11.44	107.92± 3.08	103.39± 8.05	101± 3.62	100.37± 5.67	95.27± 3.63	94.28± 1.62	102.76± 4.78

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0138】

【表 4 4】

表 4 4. 2~8℃及び-80℃インキュベーションに対するN末端PyroE

N末端PyroE								
サンプル	2~8℃ T0	2~8℃ 28日	2~8℃ 5ヶ月	2~8℃ 12ヶ月	2~8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	1.5	2.4*	1.7	1.7	1.7	1.6	1.4	1.2
2. 酢酸	1.5	2.4*	1.4	試験せず	試験せず	1.5	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	1.5	2.3*	1.7	1.5	1.6	1.6	1.4	1.3

* 28日間2~8℃のサンプルは、時間ゼロにおける別々のサンプルセットとともに、単独で試験した。

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0139】

【表 4 5】

表 4 5. 2~8℃及び-80℃インキュベーションの酸化

酸化の合計								
サンプル	2~8℃ T0	2~8℃ 28日	2~8℃ 5ヶ月	2~8℃ 12ヶ月	2~8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	4.7	5.2	5.4	6.3	5.8	4.8	5.9	5.2
2. 酢酸	5.4	7.2	4.7	試験せず	試験せず	4.8	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	5.2	5.1	5.0	6.7	6.7	4.3	5.7	5.2

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0140】

10

20

30

40

【表 4 6】

表 4 6. 2～8℃及び-80℃インキュベーションの異性化

異性化の合計								
サンプル	2～8℃ T0	2～8℃ 28日	2～8℃ 5ヶ月	2～8℃ 12ヶ月	2～8℃ 18ヶ月	-80℃ 5ヶ月	-80℃ 12ヶ月	-80℃ 18ヶ月
1. アダリム マブ参照	LOD	LOD	LOD	0.24	0.23	LOD	0.15	0.11
2. 酢酸	LOD	LOD	LOD	試験せず	試験せず	LOD	試験せず	試験せず
3. 酢酸LS/HM	LOD	LOD	LOD	0.21	0.24	LOD	0.15	0.15

緩衝液組成は表 4 を参照。LS/HM：低NaCl及び高マンニトールレベル

【0141】

実施例 4

強制分解評価

本実施例中で提示されたデータは、強制分解試験から発しており、ONS-3010用の酢酸LS/HM緩衝液組成物を用いた安定性の増強を示している。試験サンプルは以下の通り：

【0142】

A. 51.0 mg/mL (酢酸LS/HM緩衝液製剤) 及び 52.6 mg/mL (アダリムマブ参照製剤)

B. 48.5 mg/mL (酢酸LS/HM緩衝液製剤) 及び 50.3 mg/mL (アダリムマブ参照製剤)

【0143】

SE-UPLC純度：SE-UPLCは、非変性条件下でONS-3010サイズの均一性を監視する。SE-UPLC試験方法は、サイズに基づいてタンパク質を分離する。この方法は、ウォーターズ・アキュイー-UPLC BEH200 SECカラム(1.7 μm、4.6 × 150 mm)を使用した、リン酸ナトリウムランニング緩衝液を用いる均一溶媒である。ピークは、280 nmの吸光度を使用して監視される。単量体ピークの前に溶出する種は、凝集体(HMWS)であり、単量体ピークの後に溶出するピークは、分解物(LMWS)である。

【0144】

CE-SDS(NR)純度：CE-SDS分析は、Beckman PA800プラス装置を用いて、非還元条件、変性条件下でONS-3010サイズの均一性を監視するために使用する。サンプルは、アルキル化剤で処理し、SDSはサンプル緩衝液を介して全てのタンパク質に結合される。ポリマーマトリックスを、サンプル分析前にキャピラリーに充填する。サンプルは電印加電圧によってキャピラリーに導入され、その後、キャピラリーに一定の電圧を印加することによって電気泳動を行う。SDS処理されたタンパク質は、タンパク質の重量に比例する特性を荷電する質量を有し、分子量の差によってSDSが結合したタンパク質の分離を可能にする。試験品タンパク質は、220 nmのUV検出によって定量化される。

【0145】

ペプチドマップ：UPLCペプチドマッピングは、タンパク質の一次構造を特徴づけるために使用される。ONS-3010は、トリプシンで消化され、得られたペプチドは、RP-UPLCによって分離される。特徴的なペプチドマップフィンガープリントによって、参照と比較して、ピークの相対保持時間及び全体的なピークパターンが分析される。

【0146】

55 処理：55 の研究は、溶液中のONS-3010の2ロットで行った。結果は

、酢酸LS/HM緩衝液製剤中のONS-3010抗体が、アダリムマブ参照製剤中の同一抗体と比較して分解速度が遅いことを証明しており、非還元CEにおいて、55の凝集及び無傷のタンパク質%は安定性が増強すること、並びに、ペプチドマップを示す。処理の10日間を通して透明なままの酢酸LS/HM緩衝液製剤中の抗体と比較して、処理10日目まで乳白色になるアダリムマブ参照緩衝液中の抗体が原因で、視覚的な違いもあった。

【0147】

表48～50は、有意な差を有する最長の時点を示す。しかしながら、処理を通して一貫した傾向を有する。

【0148】

【表47】

10

表47. 10日間55℃のONS-3010の強制温度試験の概要

製品	緩衝液	処理	外観	SEC			NR-CE
				%凝集	%単量体	%分解	%無傷
ONS-3010-BDS	酢酸LS/HM 緩衝液	非処理	透明	0.5	99.2	0.4	94.9
		55℃ 1日	透明	1.8	97.3	0.9	91.2
		55℃ 2日	透明	3.2	95.6	1.3	90.0
		55℃ 7日	透明	7.6	84.0	8.4	85.0
		55℃ 10日	透明	10.3	79.8	9.9	83.0
ONS-3010-BDS	アダリム マブ参照	非処理	透明	0.5	99.4	0.2	96.2
		55℃ 1日	透明	2.3	96.9	0.8	88.2
		55℃ 2日	透明	3.8	95.2	1.0	83.1
		55℃ 7日	透明	10.3	93.3	6.4	77.1
		55℃ 10日	乳白色	13.7	78.9	7.4	75.1

備考：両製剤における処理サンプルの力価には変化は無い

20

【0149】

【表48】

30

表48. 10日間55℃におけるONS-3010及びアダリムマブの強制温度試験の概要

製品	緩衝液	処理	総脱アミノ化	PTM				
				酸化		異性化		Pyro-E
				M256	M432	D31	D284	
ONS-3010-BDS	酢酸LS/HM 緩衝液	非処理	29	3.1	1.2	<LOD	0.1	1.2
		55℃ 1日	29.4	3.3	1.0	0.2	0.9	1.9
		55℃ 2日	30.5	3.8	1.0	0.5	2.3	2.6
		55℃ 7日	37.7	5.0	1.7	2.9	8.4	7.0
		55℃ 10日	38.8	5.5	1.9	4.9	12.5	8.5
ONS-3010-BDS	アダリムマブ参照	非処理	26.9	2.6	1.1	<LOD	0.1	1.2
		55℃ 1日	29.7	4.0	1.2	0.1	1.3	2.2
		55℃ 2日	31.9	4.6	1.5	0.5	3.7	3.6
		55℃ 7日	30.7	5.7	2.6	2.2	11.0	8.8
		55℃ 10日	39.2	6.6	2.4	3.8	14.4	12.1

備考：両製剤における処理サンプルの力価には変化は無い

40

50

【 0 1 5 0 】

pH 3.0 処理：pH 3.0 処理は、ONS-3010 抗体の 2 ロットで実施した。酢酸 LS / HM 緩衝液における ONS-3010 BDS は、アダリムマブ参照製剤中の同じ抗体と比較して、凝集を基にした安定性のレベルがより高いことを示した。pH 3.0 での処理 12 時間を通して透明のままであった酢酸 LS / HM 緩衝液製剤中の抗体と比較して、アダリムマブ参照緩衝液中の抗体は、処理の 12 時間後に濁りっており、視覚的にも違いがあった。

【 0 1 5 1 】

【 表 4 9 】

表 4 9. 12 時間までの pH 3 における ONS-3010 の低 pH 試験の概要*

製品	緩衝液	処理	外観	SEC		
				%凝集	%単量体	%分解
ONS-3010-BDS	酢酸LS/HM 緩衝液	非処理	透明	0.6	99.4	0.1
		0.5時間	透明	2.5	97.5	0.0
		1時間	透明	3.3	96.7	0.1
		2時間	透明	4.4	95.4	0.2
		3時間	透明	5.6	94.2	0.2
		12時間	透明	12.5	87.2	0.4
ONS-3010-BDS	アダリムマブ参照	非処理	透明	0.5	99.5	0.0
		0.5時間	透明	7.7	92.1	0.2
		1時間	透明	11.1	88.7	0.2
		2時間	透明	15.8	84.0	0.2
		3時間	透明	18.3	81.5	0.3
		12時間	懸濁	30.5	69.0	0.5

備考：両製剤における処理サンプルの力価には変化は無い

*pH 3.0 において、1～3 時間にわたって、アダリムマブ参照（クエン酸-リン酸緩衝液）対 酢酸 LS / HM 緩衝液中に形成された凝集体の量には、2～3 倍の差がある。これらのデータは、酢酸 LS / HM 緩衝液は、pH が 3.0 にて凝集に対するより高い安定性を提供することを示唆している。酢酸 LS / HM 緩衝液製剤は、アダリムマブ参照製剤に比べて低い pH でより大きな保護性を示す。

【 0 1 5 2 】

実施例 5

概要

ストレス及び加速安定性試験に基づく結果は、アダリムマブ参照製剤中の抗体と比較して、同等及び / 又は改善された分解速度を有する有望な改質条件を示している。実験シリーズ 3 で使用した製剤条件 # 3（酢酸 LS / HM）はアダリムマブ参照緩衝液と比較して ONS-3010 に保護効果を提供する。この知見は、強制酸化試験及び振盪試験、並びに高温と一致している。酢酸 LS / HM 緩衝液製剤は、ONS-3010 に対して熱、立体構造及びコロイド安定性を改善し、それが、実際に、同等の貯蔵寿命及び / 又は製品品質の向上につながる。

【 0 1 5 3 】

2～8 及び -80 で 18 ヶ月保存後、条件 1（アダリムマブ参照）及び条件 3（酢酸 LS / HM 緩衝液製剤）は安定であって、有意な変化は示さなかった。

【 0 1 5 4 】

アダリムマブ参照製剤緩衝液 構成成分：

105.45 mM 塩化ナトリウム

10

20

30

40

50

5.53 mM リン酸ナトリウム一塩基二水和物
 8.57 mM リン酸ナトリウム二塩基二水和物
 1.02 mM クエン酸ナトリウム二水和物
 6.19 mM クエン酸一水和物
 65.87 mM マンニトール
 0.1% ポリソルベート80
 pH 5.20 (必要に応じて水酸化ナトリウムで調整)
 注射用滅菌水を用いたQ.S.

【0155】

ONS-3010 酢酸LS/HM製剤緩衝液 構成成分：

26.35 mM 塩化ナトリウム
 1.00 mM 酢酸ナトリウム三水和物
 19.00 mM 氷酢酸
 203.00 mM マンニトール
 0.1% ポリソルベート80
 pH 5.20 (必要に応じて水酸化ナトリウムで調整)
 注射用滅菌水を用いたQ.S.

【0156】

【表50】

10

20

表50. アダリムマブ参照及びONS-3010製剤組成物の比較

構成成分	アダリムマブ参照製剤 緩衝液中の濃度 (0.8mLあたり)	ONS-3010製剤 緩衝液中の濃度 (0.8mLあたり)
有効 (active)	40 mg	40 mg
塩化ナトリウム	4.93 mg	1.23 mg
一塩基性リン酸ナトリウム二水和物	0.69 mg	-----
二塩基性リン酸ナトリウム二水和物	1.22 mg	-----
クエン酸ナトリウム二水和物	0.24 mg	-----
クエン酸一水和物	1.04 mg	-----
酢酸ナトリウム三水和物	-----	0.11 mg
氷酢酸	-----	0.91 mg
マンニトール	9.6 mg	29.58 mg
ポリソルベート80	0.8 mg	0.8 mg
pH	5.2	5.2

30

【0157】

本発明は、上記及び例示の実施形態に限定されるものではなく、添付の特許請求の範囲内で変形及び変更が可能である。

40

【 図 1 】

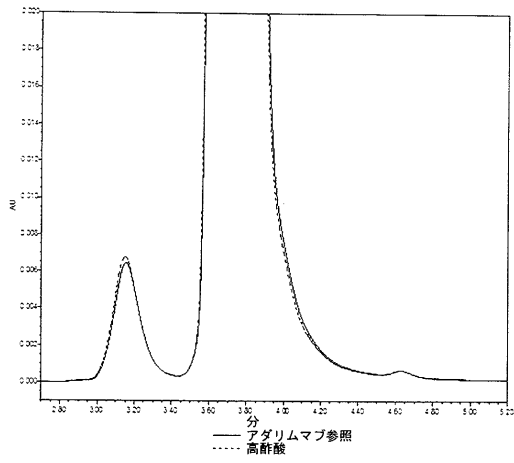


Fig. 1

【 図 2 】

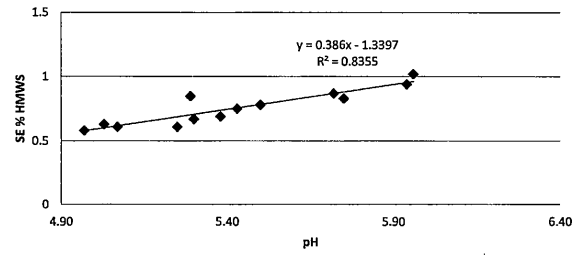


Fig. 2

【 図 3 】

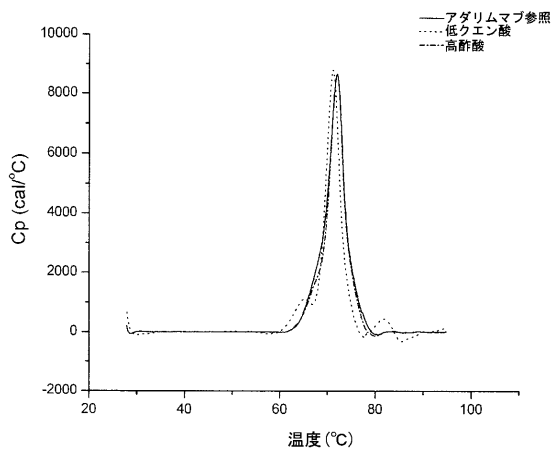


Fig. 3

【 図 4 】

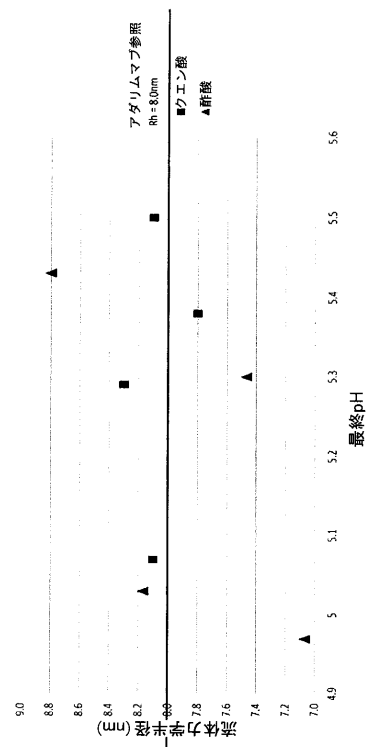


Fig. 4

【 図 5 】

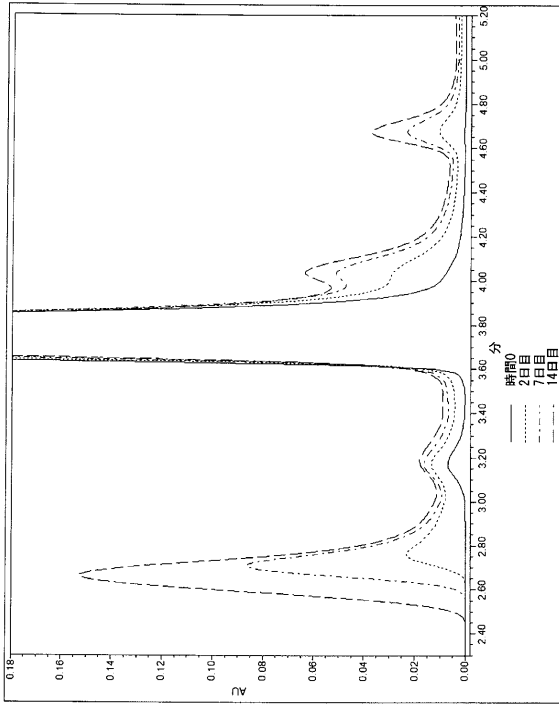


Fig. 5

【 図 6 】

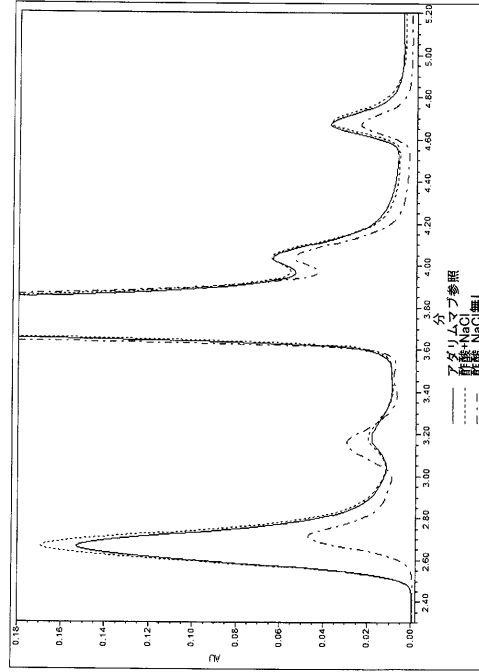


Fig. 6

【 図 7 】

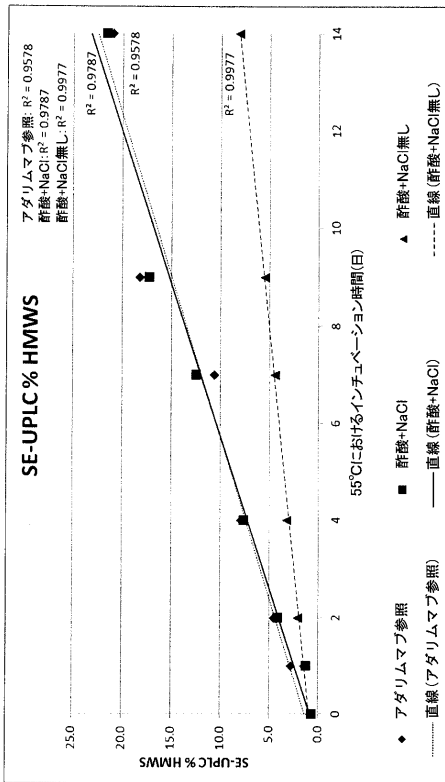


Fig. 7

【 図 8 】

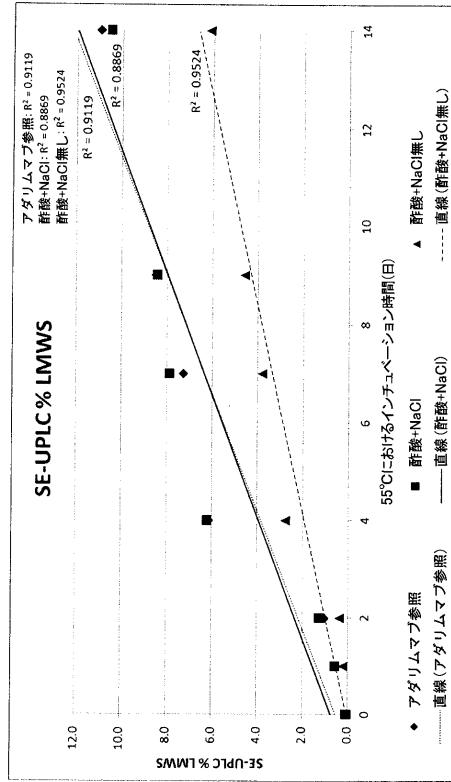


Fig. 8

【 図 9 】

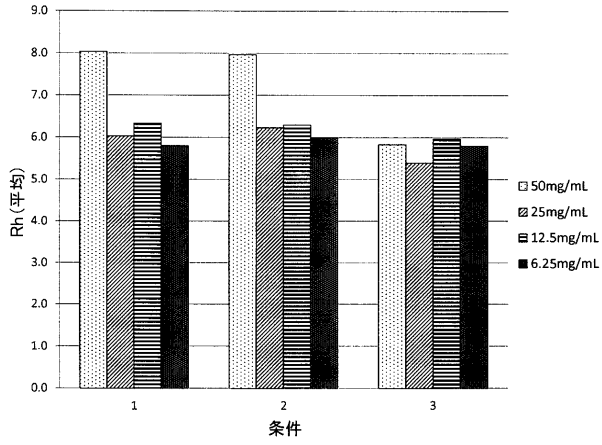


Fig. 9

【 図 10 】

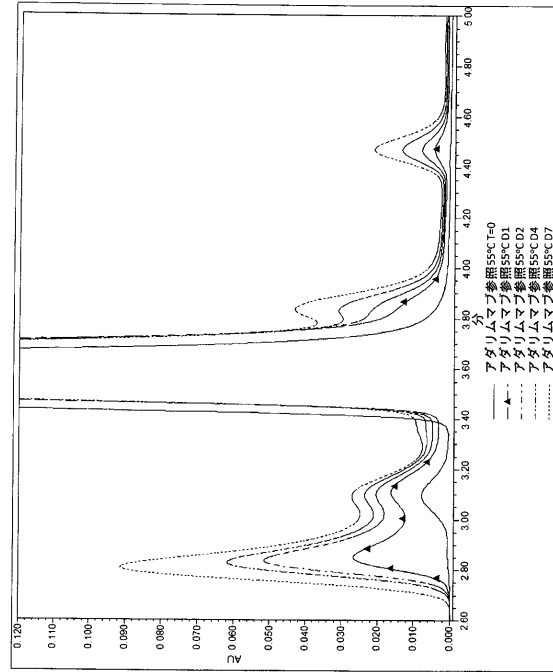


Fig. 10

【 図 11 】

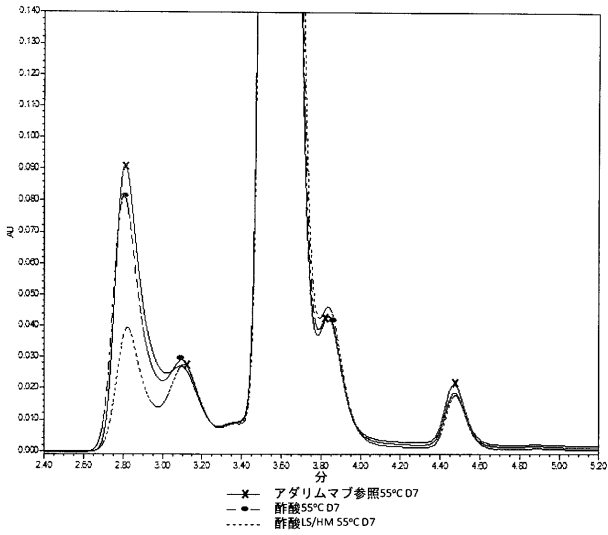


Fig. 11

【 図 12 】

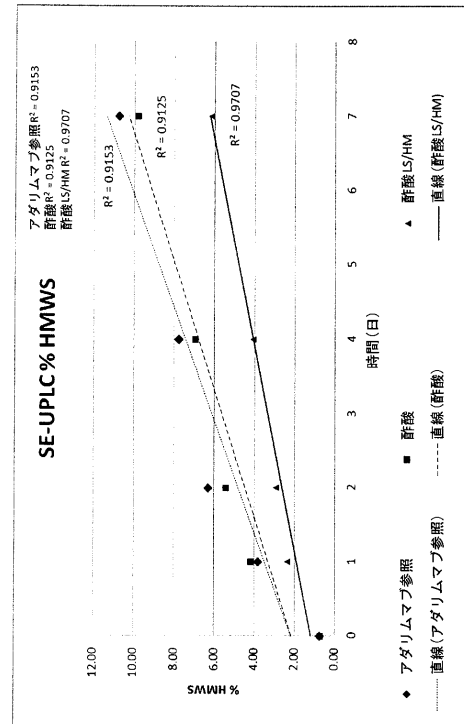
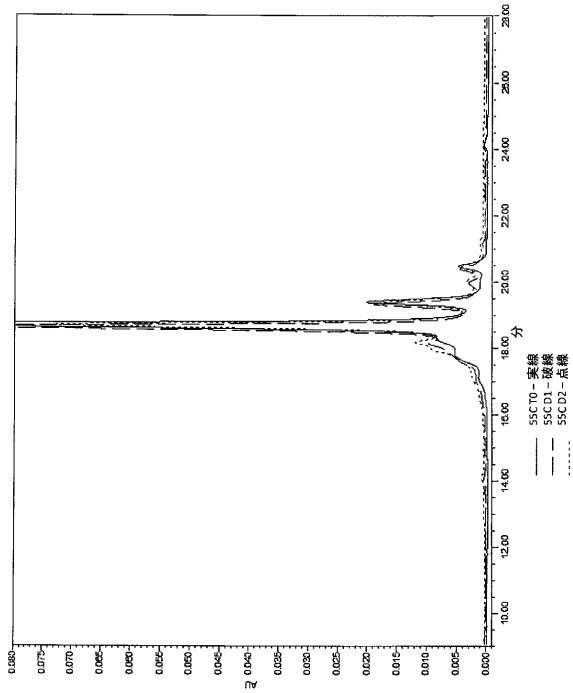
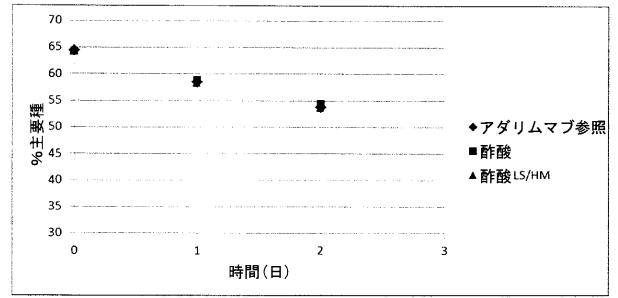


Fig. 12

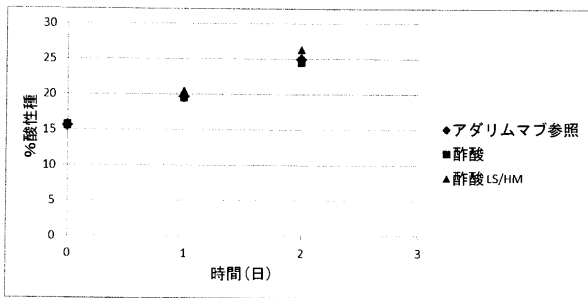
【 図 1 3 】



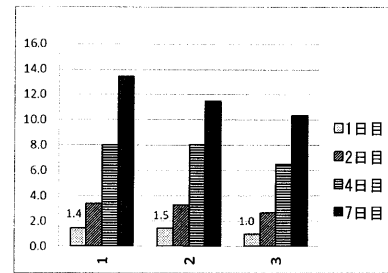
【 図 1 4 】



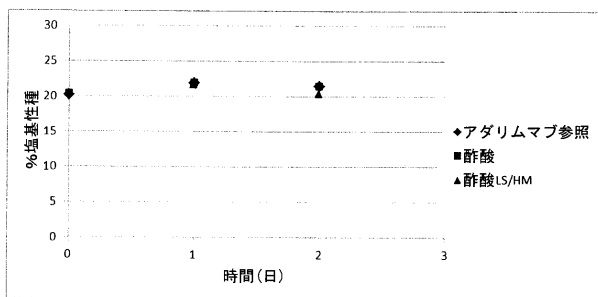
【 図 1 5 】



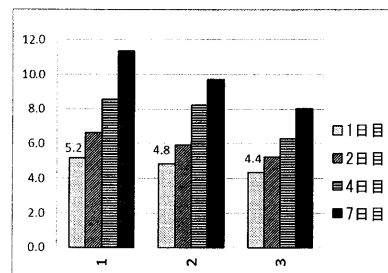
【 図 1 7 】



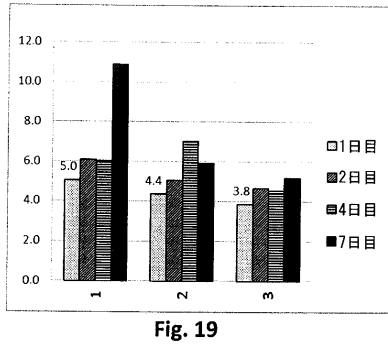
【 図 1 6 】



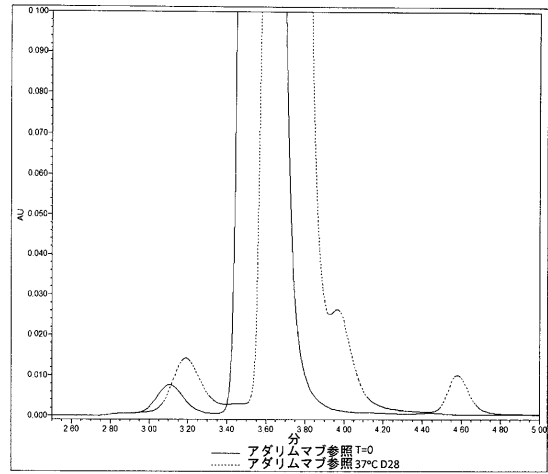
【 図 1 8 】



【 図 19 】



【 図 21 】



【 図 20 】

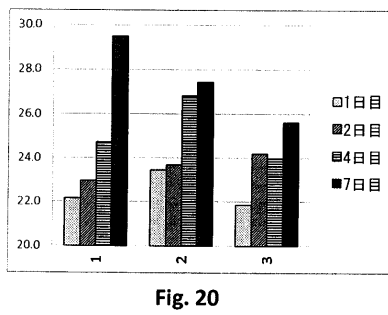
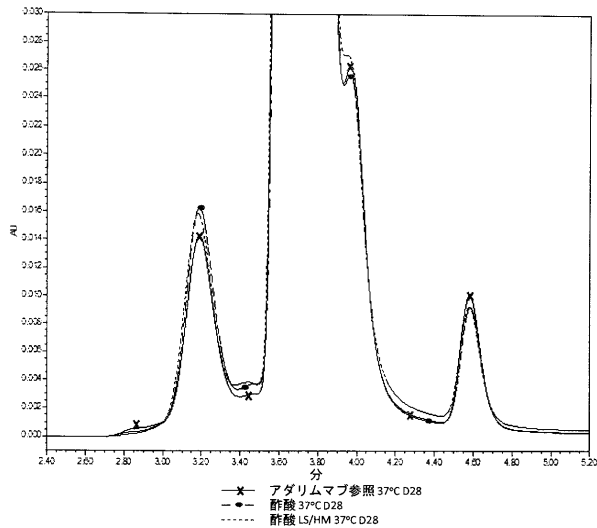


Fig. 21

Fig. 20

【 図 22 】



【 図 23 】

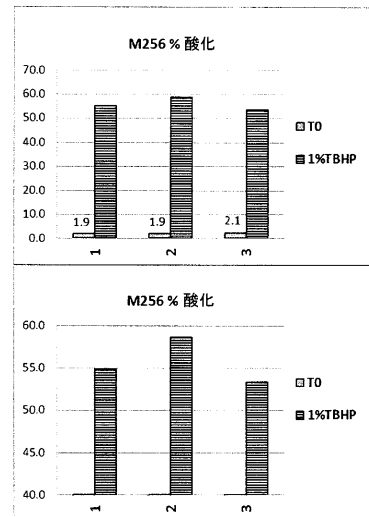


Fig. 22

Fig. 23

【 図 2 4 】

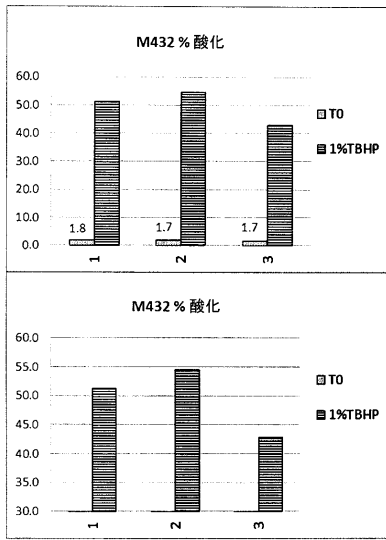


Fig. 24

【 図 2 5 】

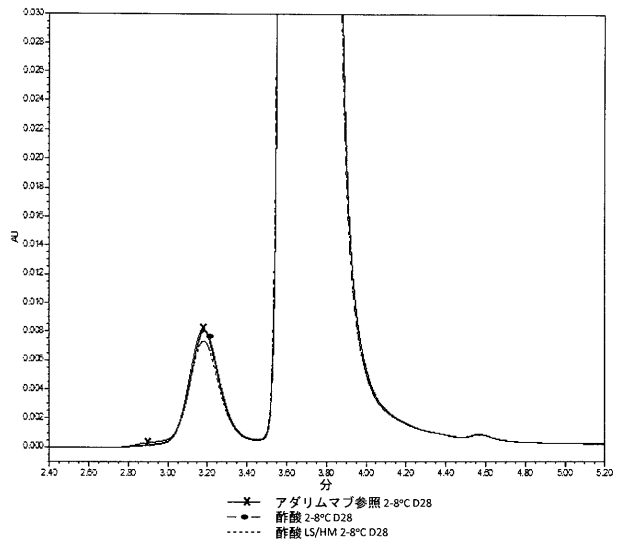


Fig. 25

【 図 2 6 】

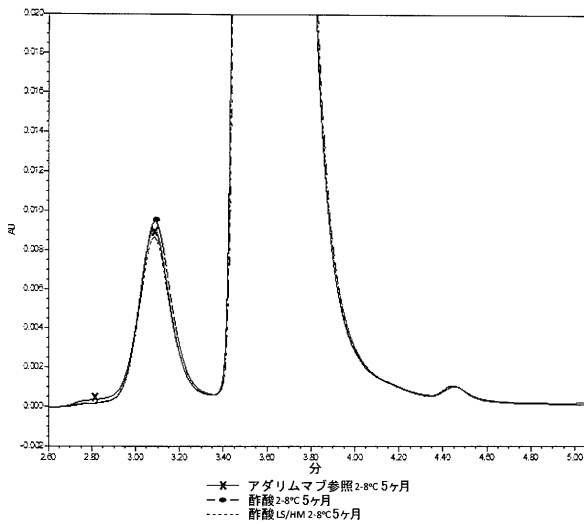


Fig. 26

【 図 2 7 】

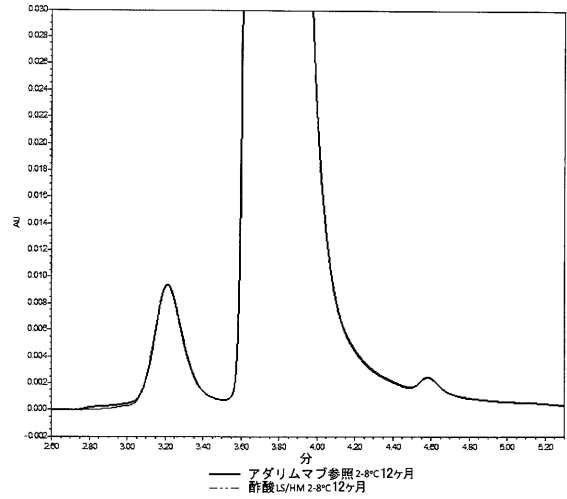


Fig. 27

【 図 2 8 】

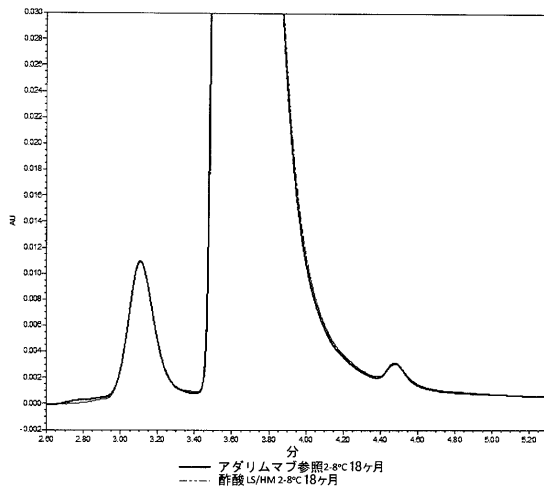


Fig. 28

【 配列表 】

2019123718000001.app

【 手続補正書 】

【 提出日 】 平成31年4月3日 (2019.4.3)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】 特許請求の範囲

【 補正対象項目名 】 全文

【 補正方法 】 変更

【 補正の内容 】

【 特許請求の範囲 】

【 請求項 1 】

配列番号：1のアミノ酸配列を含む重鎖、及び、配列番号：2のアミノ酸配列を含む軽鎖、を含む抗体と、

約0.7mM～約1.3mMの酢酸塩、約200mM～約206mMのマニトール、約16mM～約22mMの氷酢酸、及び、約24mM～約28mMの塩化ナトリウムを含む緩衝液と、

約0.07% (v/v)～約0.15% (v/v)のポリソルベート80と、を含む緩衝化された抗体製剤であって、約5.1～約5.3のpHを有する緩衝化された抗体製剤。

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K	47/26
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 K	9/08
A 6 1 P	17/06 (2006.01)	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/06
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/04
		A 6 1 P	43/00 1 2 1

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100197169

弁理士 柴田 潤二

(72)発明者 ジョン シーニ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 1 2, クランベリー, クラーク ドライブ 7

(72)発明者 アテナ ナジ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 1 2, クランベリー, クラーク ドライブ 7

(72)発明者 マリア タデイ

アメリカ合衆国, ニュージャージー 0 8 5 1 2, クランベリー, クラーク ドライブ 7

Fターム(参考) 4C076 AA12 BB16 CC01 CC07 CC09 CC16 CC18 DD23Z DD38 DD41Z

FF63

4C085 AA13 AA14 BB11 EE01 EE03 GG04

【外国語明細書】

2019123718000001.pdf