



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년03월28일

(11) 등록번호 10-2652509

(24) 등록일자 2024년03월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 39/12 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61K 39/17 (2006.01) A61K 39/215 (2006.01)

A61K 47/26 (2017.01) A61K 9/20 (2006.01)

A61K 9/46 (2006.01)

(52) CPC특허분류

A61K 39/12 (2013.01)

A61K 39/17 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-7011822

(22) 출원일자(국제) 2015년10월09일

심사청구일자 2020년09월29일

(85) 번역문제출일자 2017년04월28일

(65) 공개번호 10-2017-0066532

(43) 공개일자 2017년06월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2015/055027

(87) 국제공개번호 WO 2016/057978

국제공개일자 2016년04월14일

(30) 우선권주장

62/062,180 2014년10월10일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

CN102160856 A

(73) 특허권자

아빅 바이오로지칼 라보라토리즈 리미티드

이스라엘 (우편번호 701990) 에어포트 시티 하네  
게브 스트리트 2

(72) 발명자

게냉 노엘 이브 앙리 장

프랑스 69290 생 제니 레 올리에르 뒤편 라 보아  
띠에르 32

(74) 대리인

특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 34 항

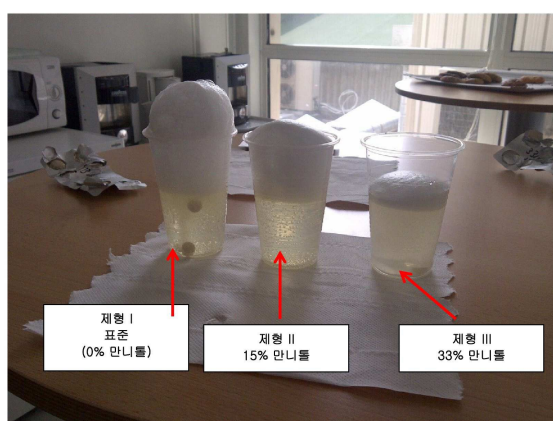
심사관 : 김윤선

(54) 발명의 명칭 감소된 발포성을 갖는 백신 조성물

### (57) 요약

본 발명은, 조성물이 액체 희석제와 혼합될 때 발포되기 쉬운 안정화제를 포함하는 무수 항원성 구성성분 하나 이상; 및 유효량의 당 알코올을 포함하는, 신규한 안정한 압축 백신 조성물에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

*A61K 39/215* (2013.01)

*A61K 47/26* (2013.01)

*A61K 9/0007* (2013.01)

*A61K 9/2018* (2013.01)

*A61K 2039/5252* (2013.01)

*A61K 2039/552* (2013.01)

*C12N 2760/18134* (2013.01)

*C12N 2770/20034* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

액체 희석제와 혼합될 때 고체 백신 조성물의 발포를 감소시키는 방법으로서, 상기 방법은:

(a) 유효량의 당 알코올을 고체 백신 조성물에 첨가하는 단계, 여기서, 당 알코올은 자일리톨, 만니톨 또는 소르비톨 또는 이들의 혼합물임

를 포함하고,

여기서 조성물은:

(i) 발포되기 쉬운 안정화제를 포함하는 무수 항원성 구성성분 하나 이상, 및

(ii) 한 쌍의 발포제, 여기서 한 쌍의 발포제는 염 및 산을 포함하고, 산은 시트르산, 타르타르산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 숙신산, 이들의 산 무수물 또는 혼합물이고, 염은 카르보네이트 염, 바이카르보네이트 염, 세스퀴카르보네이트 염, 또는 이들의 혼합물임;

을 포함하고,

당 알코올의 유효량이 조성물의 15 중량% 내지 35 중량% 이고, 발포제가 조성물의 30 중량 % 내지 60 중량% 인, 방법.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

(b) 고체 백신 조성물을 압축하여 안정한 압축 백신 조성물을 형성하는 단계

를 추가로 포함하는 방법.

#### 청구항 3

제 1 항에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 동결건조되거나 또는 건조되는 방법.

#### 청구항 4

제 1 항에 있어서, 안정화제가 하나 이상의 아미노산 또는 그의 염, 단백질 또는 그의 염, 알부민, 젤라틴, 또는 이들의 조합물을 포함하는 방법.

#### 청구항 5

제 1 항에 있어서, 항원성 구성성분이 뉴캐슬병 (Newcastle disease) 바이러스, 감염성 기관지염 바이러스, 계두 (fowl pox) 바이러스, 조류 뇌척수염 바이러스, 마렉병 (Marek's disease) 바이러스, 트리코피톤 베루코숨 (*trichophyton verrucosum*), 조류 파라믹소바이러스, 미코박테리움 파라투베르쿨로시스 (*Mycobacterium paratuberculosis*), 멜레아그리드 (meleagrid) 헤르페스바이러스, 오르프 (orf) 바이러스, 또는 양두 (sheep pox) 바이러스인 방법.

#### 청구항 6

제 1 항에 있어서, 항원성 구성성분이 뉴캐슬병 바이러스, 또는 감염성 기관지염 바이러스인 방법.

#### 청구항 7

제 1 항에 있어서, 조성물이 음파처리, 기계적 또는 화학적 수단에 의해 혼합되는 방법.

#### 청구항 8

제 1 항에 있어서, 조성물이 음파처리 또는 기계적 수단에 의해 혼합되는 방법.

**청구항 9**

제 1 항에 있어서, 조성물이 화학적 수단에 의해 혼합되는 방법.

**청구항 10**

제 9 항에 있어서, 화학적 수단이 발포성 반응인 방법.

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

삭제

**청구항 20**

삭제

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

제 1 항에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 조성물의 20 중량% 내지 50 중량% 인 방법.

**청구항 23**

제 1 항에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 조성물의 20 중량% 초과 내지 40 중량% 인 방법.

**청구항 24**

제 1 항에 있어서, 고체 백신 조성물이, 희석제와의 접촉 시 60 내지 700 초에서의 희석제 중에서의 조성물의 완

전 용해를 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 25

제 1 항에 있어서, 고체 백신 조성물이, 희석제와 접촉 시 60 내지 300 초에서의 희석제 중에서의 조성물의 완전 용해를 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 26

제 1 항에 있어서, 고체 백신 조성물의 발포가 당 알코올 부재 하에서의 조성물의 발포에 비해 감소되는 방법.

#### 청구항 27

제 1 항에 있어서, 당 알코올이 만니톨인 방법.

#### 청구항 28

i) 조성물이 액체 희석제와 혼합될 때 발포되기 쉬운 안정화제를 포함하는 무수 항원성 구성성분 하나 이상;

ii) 유효량의, 당 알코올인 포말 (foam) 조절제, 여기서, 당 알코올은 자일리톨, 만니톨 또는 소르비톨 또는 이들의 혼합물임; 및

iii) 한 쌍의 발포제, 여기서 한 쌍의 발포제는 염 및 산을 포함하고, 산은 시트르산, 타르타르산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 숙신산, 이들의 산 무수물 또는 혼합물이고, 염은 카르보네이트 염, 바이카르보네이트 염, 세스퀴카르보네이트 염, 또는 이들의 혼합물임;

을 포함하는,

안정한 백신 조성물로서,

당 알코올의 유효량이 조성물의 15 중량% 내지 35 중량% 이고, 발포제가 조성물의 30 중량 % 내지 60 중량% 이고,

백신 조성물은 고체 백신 조성물인, 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 29

제 28 항에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 동결건조되거나 또는 건조되는 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 30

제 28 항에 있어서, 백신 조성물이 정제로 압축되는 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 31

제 28 항에 있어서, 안정화제가 하나 이상의 아미노산 또는 그의 염, 단백질 또는 그의 염, 알부민, 젤라틴, 또는 이들의 조합물을 포함하는 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 32

제 28 항에 있어서, 안정화제가 아미노산 또는 그의 염, 단백질 또는 그의 염, 또는 이들의 조합물인 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 33

제 28 항에 있어서, 항원성 구성성분이 뉴캐슬병 바이러스, 감염성 기관지염 바이러스, 계두 바이러스, 조류 뇌척수염 바이러스, 마라병 바이러스, 트리코피톤 베루코숨 (*trichophyton verrucosum*), 조류 파라믹소바이러스, 미코박테리움 파라투베르쿨로시스 (*Mycobacterium paratuberculosis*), 멜레아그리드 헤르페스바이러스, 오르프 바이러스, 또는 양두 바이러스인 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 34

제 28 항에 있어서, 항원성 구성성분이 감염성 기관지염 바이러스 균주 CR88121, 감염성 기관지염 바이러스 균주 H120 또는 뉴캐슬병 바이러스 균주 VG/GA 인 안정한 백신 조성물.

**청구항 35**

삭제

**청구항 36**

삭제

**청구항 37**

제 27 항에 있어서, 발포제가 소듐 바이카르보네이트 및 무수 시트르산인 방법.

**청구항 38**

삭제

**청구항 39**

삭제

**청구항 40**

삭제

**청구항 41**

삭제

**청구항 42**

삭제

**청구항 43**

삭제

**청구항 44**

삭제

**청구항 45**

제 29 항에 있어서, 동결건조된 항원성 구성성분이 조성물의 55 중량% 이하인 안정한 백신 조성물.

**청구항 46**

제 28 항에 있어서, 조성물이, 희석제와의 접촉 시 60 내지 700 초에서의 희석제 중에서의 조성물의 완전 용해를 특징으로 하는 안정한 백신 조성물.

**청구항 47**

제 28 항에 있어서, 조성물이 당 알코올 부재 하에서의 조성물의 발포에 비해, 희석제와 접촉될 때 조성물의 발포가 감소되는 것을 특징으로 하는 안정한 백신 조성물.

**청구항 48**

제 28 항에 있어서, 당 알코올이 만니톨인 안정한 백신 조성물.

**청구항 49**

제 48 항에 있어서, 발포제가 소듐 바이카르보네이트 및 무수 시트르산인 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 50

제 28 항에 있어서, 조성물이 2% 미만의 파쇄성을 갖는 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 51

삭제

#### 청구항 52

제 28 항에 있어서, 조성물이 무수 조건에서 5℃ 에서 9 개월 이상 동안 안정한 것인, 안정한 백신 조성물.

#### 청구항 53

제 28 항에 있어서, 하기 제형 2, 4, 6, II, III, B, D 또는 E 중 어느 하나에 제시된 바와 같은 안정한 백신 조성물.

	제형 2	제형 4	제형 6
100 kg 의 제형			
동결 건조된 항원 및 안정화제	35.00 kg	40.00 kg	35.00 kg
소듐 바이카르보네이트	28.92 kg	19.50 kg	28.92 kg
만니톨	15.00 kg	26.00 kg	15.00 kg
무수 시트르산	20.08 kg	13.50 kg	20.08 kg
마그네슘 스테아레이트	1.00 kg	1.00 kg	1.00 kg

조성	제형 II	제형 III
플라세보 및 안정화제	33%	33%
소듐 바이카르보네이트 및 무수 시트르산	51%	33%
만니톨	15%	33%
마그네슘 스테아레이트	1%	1%

조성	제형 B	제형 D	제형 E
동결 건조된 항원 및 안정화제	뉴캐슬병 바이러스 균주 VG/GA (35%)	감염성 기관지염 바이러스 균주 H120 (35%)	감염성 기관지염 바이러스 균주 CR88121 (40%)
소듐 바이카르보네이트 무수 시트르산	49%	49%	33%
만니톨	15%	15%	26%
마그네슘 스테아레이트	1%	1%	1%

## 청구항 54

질환에 대해 조류(avian) 대상에게 백신 접종하는 방법으로서,

(a) 뉴캐슬병 바이러스, 감염성 기관지염 바이러스, 계두 바이러스, 조류 뇌척수염 바이러스, 마렉병 바이러스, 트리코피톤 베루코숨 (*trichophyton verrucosum*), 조류 파라믹소바이러스, 미코박테리움 파라투베르쿨로시스 (*Mycobacterium paratuberculosis*), 멜레아그리드 헤르페스바이러스, 오르프 바이러스, 또는 양두 바이러스로부터 선택되는 질환으로부터의 보호를 제공하는 제 28 항의 백신 조성물을, 희석제로 용해시켜 용액을 형성하는 단계; 및

(b) 수득한 용액을, 질환에 대해 조류 대상을 면역화하기에 효과적인 양으로 조류 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

## 청구항 55

제 54 항에 있어서, 투여 단계가, 용액으로부터 형성된 에어로졸을 조류 대상에게 분무하는 것을 포함하는 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 교차-참조

[0002] 본 출원은 2014 년 10 월 10 일자 출원된 미국 가출원 제 62/062,180 호에 대해 우선권을 주장하며, 그 개시 내용은 그 전문이 본원에 참조로서 인용된다.

[0003] 본문에 인용된 각각의 이러한 출원, 특허, 및 각각의 문헌, 및 상기 출원, 특허 및 문헌에 인용된 각각의 문헌 ("출원 인용 문헌"), 및 출원 인용 문헌에 참조 또는 인용된 각각의 문헌은, 이의 출원 및 특허의 본문 또는 이의 심사 중 뿐 아니라, 이의 심사 중 선행된 특허성을 뒷받침하는 모든 주장이, 본원에 참조로서 인용된다.

[0004] 발명의 분야

[0005] 본 발명은 하나 이상의 동결건조된 항원성 구성성분 및 포말 (foam) 조절제를 포함하는 안정하고 콤팩트된 압축 백신 조성물, 및 이의 제조 방법에 관한 것이다. 이러한 안정한 고밀도 백신 조성물은 역가 안정성을 유지하면서, 발포를 최소화하여 희석제 중의 완전 용해를 추가로 제공한다. 안정한 백신 조성물을 사용하여 대상에게 백신 접종하는 방법이 또한 제공된다.

### 배경 기술

[0006] PCT 공보 제 WO 99/21579 호 (Seager, et al.) 에는, 동결건조되고 느슨하게 콤팩트된 수의과 백신용 신속 분산 조성물이 개시되어 있다. 미국 특허 제 5, 587, 180 호 (Allen, Jr. et al) 에는, 정제를 신속하게 용해시키는 미립자 지지 매트릭스의 제조 방법이 기재되어 있다. 미국 특허 제 5, 336, 666 호 (Neway et al.) 에는, 액체 형태로 재구성되는 정제를 형성할 수 있는 동결건조된 액체 백신이 개시되어 있다.

[0007] 현재의 백신 제제의 단점은, 백신 제제가 희석제와 혼합될 때 발포되기 쉬운 안정화제를 함유하는데, 이는 조성물의 용해 후 용액의 과도한 발포를 야기하고, 또한 사용자가 그것이 용해되어 있는 용기 내의 용액을 함유하게 되는 문제를 야기한다는 점이다. 발포로 인한 용기로부터 용액의 넘쳐흐름은, 제품의 손실 및 사용자에게의 백신의 증가된 노출을 초래할 수 있다.

### 발명의 내용

[0008] 발명의 요약

[0009] 따라서, 본 발명의 목적은, 발포 및 항원 활성의 손실을 최소화하여 희석제 중에 고체인 안정한 형태의 무수 백신을 간단하게 용해시킴으로써 달성되는 안정한 백신 조성물 및 면역화 방법을 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명의 추가의 목적은, 제조 중 및 약학적으로 허용 가능한 기간을 위해 요구되는 기간 동안 이의 잠재적인 면역화 능력을 유지할 수 있고, 발포를 최소화하여 희석제 중에 용해될 수 있는, 고밀도의 안정한 고체로서 콤팩트한 백신 조성물을 제공하는 것이다.



팩트, 압축 또는 정제화된 동결건조된 생 (live) 또는 비(非)활성화 백신을 제공하는 것이다.

- [0011] 본 발명의 또 다른 목적은, 제형화될 수 있는 백신 접종 및 이의 용도에 있어서 보다 큰 융통성을 갖는 백신 조성물 및 면역화 방법을 제공하는 것이다.
- [0012] 본 발명의 추가의 목적은, 과-발포로 인해 야기되는 역가의 내재적인 부정확성 및 용해 중 제품의 손실을 보상하기 위하여 요구되는 과량의 백신 물질의 필요를 감소시키는 백신 조성물 및 면역화 방법을 제공하는 것이다.
- [0013] 본 발명의 또 다른 목적은, 조류 (avian) 대량 면역화를 가능하게 하는 백신 조성물 및 면역화 방법을 제공하는 것이다.
- [0014] 이러한 및 기타 목적은, 하나 이상의 사전-적정된 동결건조된 항원성 구성성분, 및 포말-조절제를 포함하는 안정한 백신 조성물로서, 여기서 백신 조성물이 압축 조성물의 형태인 본 발명에 의해 달성될 수 있다. 또한, 본 발명은 또한 질환에 대해 대상을 면역화하는 방법으로서, 하기 단계를 포함하는 방법을 제공한다: 약학적으로 허용 가능한 희석제 중에 포말 조절제를 함유하는 압축 백신 조성물을 용해시켜 용액을 형성하는 단계; 및 수득한 용액을 질환에 대해 대상을 면역화하기에 효과적인 양으로 대상에게 투여하는 단계.
- [0015] 본 발명의 특정한 특징은, 첨부되는 실시예를 참조로 고려되는 하기 상세한 설명으로부터 보다 명백해질 것이다. 하기 설명은 본 발명에 의해 제안된 문제 및 해결책을 수의학적 적용에 관련되는 것으로서 계속 논의될 것이다.
- [0016] 본 발명은, 출원인(들)이 권리를 가지고 있고, 이에 의해 임의의 상기 기재된 생성물, 생성물의 제조 방법 또는 생성물의 사용 방법의 권리불요구를 개시하기 때문에, USPTO (35 U.S.C. 112, 첫 번째 문단) 또는 EPO (EPC 제 83 조) 의 서면 설명 및 구현 요건을 충족시키는 임의의 상기 개시된 생성물, 생성물의 제조 방법 또는 사용 방법이, 본 발명의 범위 내에 포함되는 것으로 의도되지 않는다는 점에 유의해야 한다.
- [0017] 추가로, 본 개시 내용 및 특히 청구범위 및/또는 단락에서, "포함하다", "포함한", "포함하는" 등과 같은 용어는, 미국 특허법에서 이에 부여된 의미를 가질 수 있으며; 예를 들어, 이는 "포함된다", "포함된", "포함되는" 등을 의미할 수 있고; "~ 로 본질적으로 이루어지는" 및 "~ 로 본질적으로 이루어진다" 와 같은 용어는 미국 특허법에서 이들에 부여된 의미를 가지며, 예를 들어, 이는 명시적으로 인용되지 않은 요소를 허용하지만, 본 발명의 기본적인 또는 신규한 특징에 영향을 주거나 또는 선행 기술에서 확인된 요소는 제외된다는 점에 유의해야 한다.
- [0018] 이러한 및 기타 실시예는, 하기 상세한 설명에 개시되거나 이로부터 명백지고, 그 안에 포함된다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 본 발명은, 하나 이상의 동결건조된 항원성 구성성분 및 포말 조절제를 포함하는 안정한 압축 백신 조성물을 제공한다.
- [0020] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 희석제 중에 완전히 및 신속하게 용해된다.
- [0021] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 경질 정제, 캡렛 (caplet), 과립, 스프링클 (sprinkle), 펠렛, 비드, 필 (pill), 또는 동결건조된 케이크의 형태이다.
- [0022] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 하나의 발포제 (effervescent agent) 또는 한 쌍의 제제인 용해제를 포함한다.
- [0023] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 한 쌍의 발포제를 포함하는 용해제를 포함한다.
- [0024] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 염 및 산, 예를 들어 시트르산을 포함하는 발포제 쌍을 포함하고, 염은 바이카르보네이트이다.
- [0025] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 조성물의 약 25 중량% 내지 40 중량% 를 차지하는 포말 조절제를 포함한다.
- [0026] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 조성물의 약 60 중량% 이하를 차지하는 용해제를 포함한다.
- [0027] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 조성물의 약 35 중량% 이하를 차지하는 용해제를 포함한다.
- [0028] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 조성물의 90 중량% 이하를 차지하는 동결건조된 항원성 구성성분을 포

함한다.

- [0029] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 조성물의 80 중량% 이하를 차지하는 동결건조된 항원성 구성성분을 포함한다.
- [0030] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 희석제와의 접촉 시 약 90 내지 700 초에서의 완전 용해를 특징으로 한다.
- [0031] 본 발명의 일 구현예에서, 조성물의 안정성은 실시예에 제시된 차이보다 크지 않은 역가의 손실을 특징으로 한다.
- [0032] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 당 알코올인 포말 조절제를 포함한다.
- [0033] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 자일리톨, 만니톨 및 소르비톨인 포말 조절제를 포함한다.
- [0034] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 만니톨인 포말 조절제를 포함한다.
- [0035] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 IB88 또는 IBH120 인 항원성 구성성분을 포함한다.
- [0036] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 약 2% 미만의 파쇄성 (friability) 을 갖는다.
- [0037] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은, 자연 발생, 재조합 또는 개질된 것으로서의, 뉴캐슬병 (Newcastle Disease) 바이러스, 감염성 F낭병 (Bursal Disease) 바이러스, 계두 (fowl pox) 바이러스, 후두기관염 바이러스, 가금류의 감염성 기관지염 바이러스, 양두 (sheep pox) 바이러스, 우역 (Rinderpest) 바이러스, 또는 상기 중 하나 이상의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 생 바이러스를 포함한다.
- [0038] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은, 자연 발생 또는 재조합 또는 개질된 것으로서의, 탄저균 (anthrax bacilli), 살모넬라 (Salmonella) SPP, 대장균 (E. coli), 또는 상기 중 하나 이상의 혼합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 항원성 구성성분을 포함한다.
- [0039] 본 발명의 일 구현예에서, 백신 조성물은 생 바이러스인 항원성 구성성분을 포함하고, 조성물은 바이러스에 대한 중화 항체를 추가로 포함한다.
- [0040] 본 발명의 일 구현예에서, 질환에 대해 대상에게 백신 접종하는 방법으로서, 상기 질환으로부터의 보호를 제공하는 본 발명의 백신 조성물을 희석제로 용해시켜 용액을 형성하는 단계; 및 수득한 용액을 질환에 대해 대상을 면역화하기에 효과적인 양으로 대상에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0041] 본 발명의 일 구현예에서, 용해 단계가 백신 조성물의 완전 용해를 추가의 특징으로 하는, 대상에게 백신 접종하는 방법을 제공한다.
- [0042] 본 발명의 일 구현예에서, 희석제와의 접촉 시 약 90 내지 700 초에서 용해가 일어나며, 투여 단계가 용액으로부터 형성된 에어로졸을 대상에게 분무하는 것을 포함하는, 대상에게 백신 접종하는 방법을 제공한다.
- [0043] 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 압축된 신속 용해성 백신 조성물의 제조 방법으로서, 하나 이상의 항원성 구성성분을 동결건조시키는 단계; 동결건조된 항원성 구성성분 및 포말 조절제를 혼합하는 단계; 및 동결건조된 항원성 구성성분 및 포말 조절제와 하나 이상의 용해제의 혼합물을 압축하여 안정한 압축된 신속 용해성 백신 조성물을 형성하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0044] 본 발명의 다른 구현예가 하기 번호가 매겨진 단락들에 의해 추가로 기재될 것이다:
- [0045] 1. 액체 희석제와 혼합될 때 고체 백신 조성물의 발포를 감소시키는 방법으로서, 상기 방법은:
- [0046] (a) 유효량의 당 알코올을 고체 백신 조성물에 첨가하는 단계
- [0047] 를 포함하고,
- [0048] 여기서 조성물은:
- [0049] (i) 발포되기 쉬운 안정화제를 포함하는 무수 항원성 구성성분 하나 이상
- [0050] 을 포함하는 것인 방법.
- [0051] 2. 단락 1 에 있어서,

- [0052] (b) 고체 백신 조성물을 압축하여 안정한 압축 백신 조성물을 형성하는 단계
- [0053] 를 추가로 포함하는 방법.
- [0054] 3. 단락 1 또는 2 에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 동결건조되거나 또는 건조되는 방법.
- [0055] 4. 단락 1 내지 3 중 어느 하나에 있어서, 안정화제가 하나 이상의 아미노산 또는 그의 염, 단백질 또는 그의 염, 알부민, 젤라틴, 또는 이들의 조합물을 포함하는 방법.
- [0056] 5. 단락 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 항원성 구성성분이 뉴캐슬병 바이러스, 감염성 기관지염 바이러스, 계두 바이러스, 조류 뇌척수염 바이러스, 마렉병 (Marek's disease) 바이러스, 트리코피톤 베루코숨 (*trichophyton verrucosum*), 조류 파라믹소바이러스, 미코박테리움 파라투베르쿨로시스 (*Mycobacterium paratuberculosis*), 멜레아그리드 (meleagrid) 헤르페스바이러스, 오르프 (orf) 바이러스, 또는 양두 바이러스 인 방법.
- [0057] 6. 단락 1 내지 4 중 어느 하나에 있어서, 항원성 구성성분이 뉴캐슬병 바이러스, 또는 감염성 기관지염 바이러스인 방법.
- [0058] 7. 단락 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 음파처리, 기계적 또는 화학적 수단에 의해 혼합되는 방법.
- [0059] 8. 단락 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 음파처리 또는 기계적 수단에 의해 혼합되는 방법.
- [0060] 9. 단락 1 내지 6 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 화학적 수단에 의해 혼합되는 방법.
- [0061] 10. 단락 9 에 있어서, 화학적 수단이 발포성 반응인 방법.
- [0062] 11. 단락 1 내지 10 중 어느 하나에 있어서, 용해제를 추가로 포함하는 방법.
- [0063] 12. 단락 11 에 있어서, 용해제가 하나의 발포제 또는 한 쌍의 발포제인 방법.
- [0064] 13. 단락 11 에 있어서, 용해제가 한 쌍의 발포제를 포함하는 방법.
- [0065] 14. 단락 13 에 있어서, 한 쌍의 발포제가 염 및 산을 포함하는 방법.
- [0066] 15. 단락 14 에 있어서, 산이 시트르산, 타르타르산, 말산, 푸마르산, 아디프산, 숙신산, 이들의 산 무수물 또는 혼합물인 방법.
- [0067] 16. 단락 14 에 있어서, 염이 카르보네이트 염, 바이카르보네이트 염, 세스퀴카르보네이트 염, 또는 이들의 혼합물인 방법.
- [0068] 17. 단락 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올의 유효량이 조성물의 약 10 중량% 내지 40 중량% 인 방법.
- [0069] 18. 단락 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올의 유효량이 조성물의 약 10 중량% 내지 35 중량% 인 방법.
- [0070] 19. 단락 1 내지 16 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올의 유효량이 조성물의 약 15 중량% 내지 35 중량% 인 방법.
- [0071] 20. 단락 11 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 용해제가 조성물의 약 60 중량% 이하인 방법.
- [0072] 21. 단락 11 내지 19 중 어느 하나에 있어서, 용해제가 조성물의 약 30 중량% 내지 약 60 중량% 인 방법.
- [0073] 22. 단락 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 조성물의 약 20 중량% 내지 약 50 중량% 인 방법.
- [0074] 23. 단락 1 내지 21 중 어느 하나에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 조성물의 약 20 중량% 초과 내지 약 40 중량% 인 방법.
- [0075] 24. 단락 1 내지 23 중 어느 하나에 있어서, 고체 백신 조성물이, 희석제와의 접촉 시 약 60 내지 700 초에서의 희석제 중への 조성물의 완전 용해를 특징으로 하는 방법.
- [0076] 25. 단락 1 내지 24 중 어느 하나에 있어서, 고체 백신 조성물이, 희석제와의 접촉 시 약 60 내지 300 초에서의 희석제 중への 조성물의 완전 용해를 특징으로 하는 방법.

- [0077] 26. 단락 1 내지 25 중 어느 하나에 있어서, 고체 백신 조성물의 발포가 당 알코올 부재 하에서의 조성물의 발포에 비해 감소되는 방법.
- [0078] 27. 단락 1 내지 26 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올이 자일리톨, 만니톨 또는 소르비톨 또는 이들의 혼합물인 방법.
- [0079] 28. 하기를 포함하는 안정한 백신 조성물:
- [0080] i) 조성물이 액체 희석제와 혼합될 때 발포되기 쉬운 안정화제를 포함하는 무수 항원성 구성성분 하나 이상; 및
- [0081] ii) 유효량의, 당 알코올인 포말 조절제.
- [0082] 29. 단락 28 에 있어서, 무수 항원성 구성성분이 동결건조되거나 또는 건조되는 안정한 백신 조성물.
- [0083] 30. 단락 28 또는 29 에 있어서, 백신 조성물이 정제로 압축되는 안정한 백신 조성물.
- [0084] 31. 단락 28 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 안정화제가 하나 이상의 아미노산 또는 그의 염, 단백질 또는 그의 염, 알부민, 젤라틴, 또는 이들의 조합물을 포함하는 안정한 백신 조성물.
- [0085] 32. 단락 28 내지 30 중 어느 하나에 있어서, 안정화제가 아미노산 또는 그의 염, 단백질 또는 그의 염, 또는 이들의 조합물인 안정한 백신 조성물.
- [0086] 33. 단락 28 내지 32 중 어느 하나에 있어서, 항원성 구성성분이 뉴캐슬병 바이러스, 감염성 기관지염 바이러스, 계두 바이러스, 조류 뇌척수염 바이러스, 마력병 바이러스, 트리코피톤 베루코숨 (*trichophyton verrucosum*), 조류 파라믹소바이러스, 미코박테리움 파라투베르쿨로시스 (*Mycobacterium paratuberculosis*), 멜레아그리드 헤르페스바이러스, 오르프 바이러스, 또는 양두 바이러스인 안정한 백신 조성물.
- [0087] 34. 단락 28 내지 33 중 어느 하나에 있어서, 항원성 구성성분이 감염성 기관지염 바이러스 균주 CR88121, 감염성 기관지염 바이러스 균주 H120 또는 뉴캐슬병 바이러스 균주 VG/GA 인 안정한 백신 조성물.
- [0088] 35. 단락 28 내지 34 중 어느 하나에 있어서, 용해제를 추가로 포함하는 안정한 백신 조성물.
- [0089] 36. 단락 35 에 있어서, 용해제가 하나의 발포제 또는 한 쌍의 발포제인 안정한 백신 조성물.
- [0090] 37. 단락 35 에 있어서, 용해제가 한 쌍의 발포제를 포함하는 안정한 백신 조성물.
- [0091] 38. 단락 36 에 있어서, 발포제 쌍이 염 및 산을 포함하는 안정한 백신 조성물.
- [0092] 39. 단락 28 에 있어서, 당 알코올의 유효량이 조성물의 약 10 중량% 내지 40 중량% 인 안정한 백신 조성물.
- [0093] 40. 단락 28 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올의 유효량이 조성물의 약 10 중량% 내지 35 중량% 인 안정한 백신 조성물.
- [0094] 41. 단락 28 내지 39 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올의 유효량이 조성물의 약 15 중량% 내지 35 중량% 인 안정한 백신 조성물.
- [0095] 42. 단락 35 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 용해제가 조성물의 약 60 중량% 이하인 안정한 백신 조성물.
- [0096] 43. 단락 35 내지 41 중 어느 하나에 있어서, 용해제가 조성물의 약 30 중량% 내지 약 60 중량% 인 안정한 백신 조성물.
- [0097] 44. 단락 28 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 동결건조된 항원성 구성성분이 조성물의 90 중량% 이하인 안정한 백신 조성물.
- [0098] 45. 단락 28 내지 43 중 어느 하나에 있어서, 동결건조된 항원성 구성성분이 조성물의 80 중량% 이하인 안정한 백신 조성물.
- [0099] 46. 단락 28 내지 45 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 희석제와의 접촉 시, 약 60 내지 700 초에서의 희석제 중への 조성물의 완전 용해를 특징으로 하는 안정한 백신 조성물.
- [0100] 47. 단락 28 내지 46 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 당 알코올 부재 하에서의 조성물의 발포에 비해, 희석제와 접촉될 때 조성물의 발포가 감소되는 것을 특징으로 하는 안정한 백신 조성물.
- [0101] 48. 단락 28 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올이 자일리톨, 만니톨, 소르비톨, 또는 이들의 혼합물인

안정한 백신 조성물.

- [0102] 49. 단락 28 내지 47 중 어느 하나에 있어서, 당 알코올이 만니톨인 안정한 백신 조성물.
- [0103] 50. 단락 35 에 있어서, 조성물이 약 2% 미만의 과쇄성을 갖는 안정한 백신 조성물.
- [0104] 51. 단락 28 내지 50 중 어느 하나에 있어서, 항원성 구성성분이 생 바이러스이고, 조성물이 바이러스에 대한 중화 항체를 추가로 포함하는 안정한 백신 조성물.
- [0105] 52. 단락 28 내지 51 중 어느 하나에 있어서, 조성물이 무수 조건에서 5℃ 에서 9 개월 이상 동안 안정한, 안정한 백신 조성물.
- [0106] 53. 실시예에 제시된 제형 2, 4, 6, II, III, B, D 또는 E 중 어느 하나에 따른 안정한 백신 조성물.
- [0107] 52. 단락 28 내지 53 중 어느 하나에 있어서, 포말이 당 알코올을 함유하지 않는 동일한 조성물에 비해 약 50%, 약 60% 또는 약 80% 감소된 안정한 백신 조성물.
- [0108] 56. 질환에 대해 대상에게 백신 접종하는 방법으로서,
- [0109] (a) 상기와 같은 질환으로부터의 보호를 제공하는 단락 28 내지 55 중 어느 하나의 백신 조성물을, 희석제로 용해시켜 용액을 형성하는 단계; 및
- [0110] (b) 수득한 용액을, 질환에 대해 대상을 면역화하기에 효과적인 양으로 대상에게 투여하는 단계
- [0111] 를 포함하는 방법.
- [0112] 57. 단락 54 에 있어서, 투여 단계가 용액으로부터 형성된 에어로졸을 대상에게 분무하는 것을 포함하는 방법.
- [0113] 백신 조성물의 콤팩트된, 압축된 및 경질의 정제는, 계장화 MANESTY F3 Single Punch 12mm Flat Beveled 또는 6mm 표준 오목 펀치 상에서 제조될 수 있다. 경질 정제 형태의 백신 조성물은, 최대 4 톤의 압력에서 제조될 수 있다. 정제는 상기 기재된 바와 같이 ERWEKA Tablet Hardness Tester Model TBH20 상에서 경도를 시험할 수 있으며, 모두 3.0 seD 초과인 경도를 갖는 것으로 확인되었다. 통상적으로 치료제와 관련된 전형적인 정제가, 상기와 같은 "정제" 인 것으로 이해된다. 하지만, 이는 약학 분야에서 덜 빈번하게 사용되는 것들을 포함하여, 임의의 콤팩트된 또는 압축된 고밀도 형태가 의도되는 것으로 이해된다. 예를 들어, 최종 적용에서 대량의 물질이 요구되는 경우, 큰 "구공탄 (briquette)" 이 적합할 수 있다.
- [0114] 특히, 정제 충전제는 대부분의 정제와 절충되고, 담체로서 주로 작용하는 물질이다. 전형적인 정제 충전제에는, 비제한적으로, 칼슘 술페이트, 칼슘 포스페이트, 칼슘 카르보네이트, 전분, 개질 전분 (카르복시메틸 전분 등), 미세결정성 셀룰로오스, 락토오스, 수크로오스, 텍스트로오스, 만니톨 및 소르비톨이 포함된다. 정제 충전제 수준은 정제의 약 0 중량% 내지 90 중량% 이다.
- [0115] 결합제는, 분말을 뭉치게 만들어 과립을 형성하는 "접착제 (glue)" 로서 작용한다. 결합제에는, 비제한적으로, 전분 또는 아카시아 검, 트래거캔스 및 젤라틴과 같은 천연 중합체, 또는 PVP 및 메틸-, 에틸- 및 히드록시프로필셀룰로오스와 같은 합성 중합체가 포함된다. 결합제 수준은 조성물의 약 0 중량% 내지 20 중량% 이다.
- [0116] 용해 보조제는 백신 조성물의 용해를 촉진시킨다. 전형적인 예에는, 비제한적으로, 발포제, 봉해제, 계면활성제 및 가용화제가 포함된다.
- [0117] 봉해제는 압축 정제의 붕괴를 야기한다. 전형적인 예에는, 비제한적으로, 전분, 미세결정성 셀룰로오스, 정제 울 전분, 알긴산, 소듐 전분 글리콜레이트, 구아 검, 가교된 폴리비닐 피롤리돈 (PVP), 이온 교환 수지 및 셀룰로오스, 에컨대 메틸-, 크로스카르멜로오스 소듐, 소듐 카르복시메틸- 및 히드록시프로필메틸- 이 포함된다. 용해제 수준은 조성물의 약 1 중량% 내지 95 중량% 이다.
- [0118] 윤활제는 압축 및 사출 중 압축되는 물질과 다이 벽 사이의 마찰을 감소시킨다. 대부분의 윤활제는 수불용성이고, 이에에는 스테아레이트(마그네슘, 칼슘 및 소듐), 스테아르산, 탈크 및 왁스가 포함된다. 수용해성 윤활제에는, PEG, 소듐 벤조에이트, 소듐 올레에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 라우릴 술페이트 및 마그네슘 라우릴 술페이트가 포함된다. 윤활제 수준은 조성물의 약 0 중량% 내지 5 중량% 이다.
- [0119] 착색제는 심미적 기능적 목적을 위하여, 정제 형태와 같은 백신 제형의 유형을 식별하는 것을 돕기 위해 첨가되며, 예를 들어 본 발명에 제한되는 것이 아니라, 이스라엘 특허 제 46189 호에서 취한 실시예 A 내지 D 에 개시



된 염료가 있다. 착색제 수준은 제형의 약 <1% 이다. 일 구현예에서, 본 발명의 조성물은 용해 보조제로서 발포제를 갖는 것으로 제조된 경질 정제이다. 당업자가 이해하고 있는 바와 같이, 발포성 정제는, 용해 시 적절한 반응이 일어나 이산화탄소 및 탄산을 생성하도록, 염기성 구성성분 및 산성 구성성분, 예컨대 발포제 쌍을 함유해야 한다. 적합한 발포성 구성성분에는, 염기성 화합물 및 무기 또는 유기 산성 화합물의 카르보네이트 계열이 포함된다. 염기성 화합물의 카르보네이트 계열 중에서, 본 발명의 조성물에 사용하기에 바람직한 발포제는, 소듐 카르보네이트, 소듐 바이카르보네이트, 글리신 카르보네이트, 포타슘 카르보네이트, 포타슘 바이카르보네이트, 포타슘 디히드로젠시트레이트, 및 칼슘 카르보네이트이다. 가장 바람직한 염기성 화합물은 소듐 바이카르보네이트이다. 본 발명의 조성물에 사용하기에 바람직한 산성 구성성분은, 시트르산, 아디프산, 타르타르산, 말레산, 붕산, 벤조산, 히드록시벤조산, 메톡시벤조산, 만델산, 말론산, 락트산, 피루브산, 글루타르산, 아스파르트산, 염산, 옥살산, 살리신산, 숙신산, 및 아세트산이다. 가장 바람직한 산성 발포성 구성성분은 시트르산이다.

- [0120] 상기 기재된 염기성 및 산성 발포성 정제 성분 이외에, 본 발명의 정제 조성물은 또한 통상적으로 이용되는 기타 부형제를 함유할 수 있다.
- [0121] 정의
- [0122] 본원에 사용된 용어는, 달리 명시되지 않는 한, 당업계에서의 통상의 의미를 가질 수 있다.
- [0123] 본원에 사용된 바, 용어 "항원성 구성성분" 또는 "항원" 은, 면역계에 의해 인식되고 면역 반응을 유도하는 물질이다. 이러한 물질은, 죽은, 약독화된 또는 살아있는 전체 유기체; 유기체의 서브유닛 또는 부분; 항원성 특성을 갖는 인서트 (insert) 를 함유하는 재조합 벡터; 숙주 동물에의 제시 시 면역 반응을 유도할 수 있는 핵산 조각 또는 단편; 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 당단백질, 에피토프 (epitope), 합텐 (hapten), 탄수화물, 당, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 대안적으로, 항원은 독소 또는 항독소를 포함할 수 있다. 이러한 맥락에서 상호교환적으로 사용되는 유사한 용어는, "면역원" 또는 "항원성" 이다.
- [0124] 본원에 사용된 바, 용어 "콤팩트된 (compacted)" 은, 1.0 g/cc 초과와 밀도를 갖는 백신 조성물을 의미하며, 단 ERWEKA Tablet Hardness Tester Model TBH20 상에서 경도 시험하여 Strong-Cobb Unit (SCU) 으로 측정 시 경도 측정이 불가능하다.
- [0125] 본원에 사용된 바, 용어 "압축된 (compressed)" 은, 2.0 SCU 이상의 경도를 갖는 백신 조성물을 의미한다.
- [0126] 본원에 사용된 바, 용어 "경질 정제" 는, 3.0 SCU 이상의 경도를 갖는, 정제 형태 또는 기타 고밀도 형태의 백신 조성물을 의미한다.
- [0127] 본원에 사용된 바, 용어 "완전 용해된" 은, 가용성 구성성분이 용해되지 않은 채로 남아있지 않다는 것을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0128] 본원에 사용된 바, 용어 "신속하게 봉해된" 또는 "신속하게 용해된" 은, 대량의 물이 소량의 압축 동결건조 백신 조성물을 위해 이용되는 경우, 예를 들어 100 ml 의 물이 400 mg 발포성 정제를 위해 이용되는 경우, 봉해 또는 용해가 대략 수 분 이내에 완료되는 것을 의미하는 것으로 이해된다. 희석제의 부피가 상대적으로 감소되는 경우, 시간이 증가된다. 따라서, 동일한 정제에 있어서, 10 ml 부피의 물을 이용한 경우에는 70 초가 요구되고, 2 ml 의 물을 이용한 경우에는 80 초가 요구될 수 있다.
- [0129] 본원에 사용된 바, 용어 "봉해 시간" 또는 "용해 시간" 은, 실온에서 측정된 양의 물과 혼합될 때, 정제의 용해 또는 봉해에 걸리는 시간이다.
- [0130] 본원에 사용된 바, 용어 "안정한" 은, 본 발명의 조성물이 제조 중 및 시판용 백신의 유효 기간을 위해 요구되는 기간 동안 이의 (잠재적인) 면역화 능력을 유지할 수 있다는 것을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0131] 본원에 사용된 바, 용어 "부형제" 는, 백신 조성물의 제형에 사용되는 희석제 또는 비히클에 대한 용어를 의미한다. 부형제에는 희석제 또는 충전제, 결합제 또는 접착제, 용해 보조제, 윤활제, 접착방지제, 활제 또는 유동 촉진제, 색소, 향미제, 감미제 및 흡착제가 포함될 수 있다.
- [0132] 본원에 사용된 바, 용어 "안정화제" 는, 저온 저장 또는 동결건조 중 항원성 물질을 안정화시키는데 사용되는 화학적 화합물이다. 이러한 안정화제의 예에는, 아미노산, 예컨대 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산, 시스테인, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 히드록시 프롤린, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐 알라닌, 프롤린, 세린, 트레오닌, 티로신, 및 발린; 이의 아미노산 염, 예컨대 L-아르기닌 히드로클로라이드 염, 및 모노소듐 글루

타메이트 및 모노포타슘 글루타메이트와 같은 글루탐산 알칼리 금속 염; 단백질, 또는 그의 염, 예컨대 단백질 가수분해물, 소 단백질, 마우스 혈청 단백질, 송아지 혈청 단백질, 이스트 단백질, 닭 단백질, 알 단백질; 알부민, 예컨대 소 알부민 및 오브알부민, 젤라틴, 및 가수분해 젤라틴이 포함된다.

[0133] 안정화제에는 또한 당당류, 예를 들어, 소르비톨, 또는 이당류, 예를 들어, 수크로오스, 락토오스, 또는 말토오스가 포함된다. 수크로오스가 바람직하다.

[0134] 본원에 사용된 바, 용어 "혼합된" 은, 음파처리, 기계적 또는 화학적 수단에 의한 물질의 혼합을 의미한다. 기계적 혼합의 예에는, 교반, 진탕, 자기적 교반, 및 적합한 시린지를 통한 물질의 강제 주입이 포함된다. 화학적 혼합의 예에는, 기체 버블의 결과적인 방출이 액체를 통해 표면으로 통과함에 따라, 혼합 작용을 야기하기에 충분한 제자리 (in-situ) 기체 형성을 야기하는 발포성 반응 (하나 이상의 성분의 화학적 반응을 통해, 이산화탄소 (CO<sub>2</sub> 기체) 의 형성을 포함) 이 포함된다.

[0135] 본원에 정의된 바와 같은 항원성 구성성분은, 생 약독화 병원체, 예컨대 생 약독화 바이러스, 박테리아, 진균, 또는 기생충을 포함할 수 있다. 하지만, 활성 항원성 구성성분은 또한 바이러스 벡터, 박테리아 벡터, 플라스미드 벡터 등으로부터 발현될 수 있는, 본원에 기재된 하나 이상의 병원체에서 유도된 또는 유래된 죽은 바이러스, 재조합 이중 면역원, 항원, 항원성 서브유닛 (예를 들어 단백질, 폴리펩티드, 펩티드, 에피토프, 합텐) 또는 면역원 또는 항원의 에피토프를 포함할 수 있다.

[0136] 본 발명의 활성 항원성 구성성분은, 비제한적으로, 공수병 바이러스, 개 아데노바이러스 유형 2 (CAV2), 개 헤르페스바이러스 (CHV), 개 파르보바이러스 (CPV), 개 코로나바이러스, 렙토스피라 카니콜라 (*Leptospira canicola*), 렙토스피라 이크테로해모라기아에 (*Leptospira icterohaemorrhagiae*), 렙토스피라 그립포티포사 (*Leptospira grippotyphosa*), 보렐리아 부르그도르페리 (*Borrelia burgdorferi*), 보르데텔라 브론키세프티카 (*Bordetella bronchiseptica*) 등, 및 이들의 조합을 포함하는 개 병원체로부터 선택되는 하나 이상의 면역원을 포함할 수 있다. 활성 항원성 구성성분은, 특히 CDV 의 HA, F, NP 유전자, CPV 의 캡시드 유전자, 개 코로나바이러스의 스파이크, M, N 유전자, cPi2 의 HN 및 F 유전자, 렙토스피라 (*Leptospira*) 의 유전자, 보르데텔라 (*Bordetella*) 의 유전자, 보렐리아 (*Borrelia*) 의 유전자 및 개 헤르페스바이러스의 gB, gC 및 gD 유전자를 포함할 수 있다. 이러한 구성성분은 이러한 병원체에 의해 야기되는 질환으로부터 개를 보호하기 위한 항원성 조성물 또는 백신 조성물로서 유용할 수 있다.

[0137] 개 아데노바이러스 유형 2 (CAV2) 는, 개에게 널리 퍼져있으며 전염성이 높다. 이는 감기와 유사한 증상을 일으킨다. 일반적으로, 전염성 질환의 첫 번째 징후는 발열이며, 이는 통상적으로 1 내지 2 일 내에 진정된다. 감염된 개는 편도염, 복부 통증, 확장된 간, 구토 및 설사를 일으킬 수 있다. 급성 질환은 일반적으로 치명적이다. CAV2 는 비활성화 또는 약독화될 수 있으며, 다가 백신을 제조하기 위하여 CDV (및/또는 cPi2) 와 조합될 수 있다. 대안적으로, CAV2 의 면역원 또는 항원, 또는 CAV2 면역원의 에피토프, 예컨대 캡시드, 매트릭스, 또는 핵소 단백질이 사용될 수 있다.

[0138] 개 파르보바이러스 (CPV) 는, 어린 개에서 구토, 설사, 위장염, 심근염 및 간염을 야기할 수 있는 일반적인 장 바이러스이다. 이는 개에게 널리 퍼져 있는 것으로 확인되었다. CPV 는 비활성화, 생 약독화된 것, 또는 CPV 면역원, 항원, 또는 CPV 면역원의 에피토프, 예컨대 VP1, VP2 (캡시드) 유전자 생성물로서, 본 발명의 항원성 조성물, 현탁액, 또는 용액 중에 존재할 수 있다.

[0139] 본 발명의 조성물 및 방법에서 유용한 기타 활성 항원성 구성성분은, 비제한적으로, 살모넬라 티피무리움 (*Salmonella typhimurium*), 살모넬라 엔테리티디스 (*Salmonella enteritidis*), 감염성 기관지염 바이러스 (IBV), 뉴캐슬병 바이러스 (NDV), 산란 저하 증후군 바이러스 (EDS), 감염성 F낭병 바이러스 (IBDV), 칠면조 바이러스, 조류 인플루엔자 바이러스, 마렉병 바이러스, 헤르페스바이러스, 예컨대 감염성 후두기관염 바이러스, 조류 감염성 기관지염 바이러스, 조류 레오바이러스, 조류폭스 (avipox), 계두 (fowlpox), 카나리폭스 (canarypox), 구두 (pigeonpox), 꿩일폭스 (quailpox), 및 도브폭스 (dovepox) 를 포함하는 폭스바이러스, 조류 폴리오마바이러스, 조류 페럼바이러스, 조류 비기관염 바이러스, 조류 세망내피증 바이러스, 조류 레트로바이러스, 조류 내생 바이러스, 조류 적아세포증 바이러스, 조류 간염 바이러스, 조류 빈혈 바이러스, 조류 장염 바이러스, 파체코병 (Pacheco's disease) 바이러스, 조류 백혈병 바이러스, 조류 파르보바이러스, 조류 로타바이러스, 조류 백혈증 바이러스, 조류 근건막 섬유종증 바이러스, 조류 골수아세포 바이러스, 조류 골수아세포-관련 바이러스, 조류 골수세포종 바이러스, 조류 육종 바이러스, 조류 비장 괴사 바이러스, 및 이들의 조합을 포함하는 조류 병원체로부터 선택되는 하나 이상의 면역원을 포함할 수 있다.

- [0140] 특정 면역원에 관하여, 활성 항원성 구성성분은 또한 뉴캐슬병 바이러스의 HN 및 F 유전자, 감염성 F낭병 바이러스의 다단백질 및 VP2 유전자, 감염성 기관지염 바이러스의 S 및 N 유전자, 및 마력병 바이러스의 gB 및 gD 유전자일 수 있다. 이러한 구성성분은 이러한 병원체에 의해 야기되는 질환으로부터 조류를 보호하기 위한 항원성 조성물 또는 백신 조성물로서 사용될 수 있다.
- [0141] 대안적으로, 활성 항원성 구성성분은, 고양이 병원체, 예컨대 비제한적으로, 고양이 헤르페스바이러스 (FHV), 고양이 칼리시바이러스 (FCV), 고양이 백혈병 바이러스 (FeLV), 고양이 감염성 복막염 바이러스, 고양이 백혈구 감소증 바이러스, 고양이 면역결핍 바이러스 (FIV), 공수병 바이러스 등, 및 이들의 조합으로부터의 하나 이상의 면역원을 포함한다.
- [0142] 활성 항원성 구성성분은, 또한 고양이 헤르페스바이러스의 gB, gC 및 gD 유전자, FeLV의 env 및 gag/pro 유전자, FIV 바이러스의 env, gag/pol 및 tat 유전자, 고양이 칼리시바이러스의 캡시드 유전자, 고양이 감염성 복막염 바이러스의 S 개질된 유전자, M 및 N 유전자, 및 고양이 파르보바이러스의 VP2 유전자를 포함할 수 있다. 이러한 구성성분은 이러한 병원체에 의해 야기되는 질환으로부터 고양이를 보호하기 위한 항원성 또는 백신 조성물로서 유용할 수 있다.
- [0143] 활성 항원성 구성성분은, 말 병원체, 예컨대 말 헤르페스바이러스 (유형 1 또는 유형 4), 말 인플루엔자 바이러스, 말 뇌척수염 바이러스 (EEV), 파상풍, 웨스트 나일 (West Nile) 바이러스 등 또는 이들의 조합으로부터의 하나 이상의 면역원을 포함할 수 있다.
- [0144] 활성 항원성 구성성분은, 또한 말 헤르페스바이러스 유형 1의 gB, gC, gD 및 전초기 (Immediate-Early) 유전자, 말 헤르페스바이러스 유형 4의 gB, gC, gD 및 전초기 유전자, 말 인플루엔자 바이러스의 HA, NA, M 및 NP 유전자, 동부 말 뇌염 바이러스의 유전자, 서부 말 뇌염 바이러스의 유전자, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스의 유전자, 웨스트 나일 바이러스의 prM-M-E 유전자, 및 말 동맥염 바이러스의 유전자 (이러한 열거에 제한되지 않음) 을 포함할 수 있다. 이러한 구성성분은 이러한 병원체에 의해 야기되는 질환으로부터 말을 보호하기 위한 항원성 조성물 또는 백신 조성물로서 유용할 수 있다.
- [0145] 활성 항원성 구성성분은, 소 병원체, 예컨대 공수병 바이러스, 소 로타바이러스, 소 파라인플루엔자 바이러스 유형 3 (bCPI2-3), 소 코로나바이러스, 소 바이러스성 설사증 바이러스 (BVDV), 구제역 바이러스 (FMDV), 소 호흡기 세포융합 바이러스 (BRSV), 감염성 소 비기관염 바이러스 (IBR), 대장균, 파스퇴렐라 물토시다 (*Pasteurella multocida*), 파스퇴렐라 해모리티카 (*Pasteurella haemolytica*) 등, 및 이들의 조합으로부터의 하나 이상의 면역원을 포함할 수 있다.
- [0146] 활성 항원성 구성성분은, 또한 소 헤르페스바이러스 유형 1의 gB, gC, gD 및 전초기 유전자, BRSV의 F 및 G 유전자, BVDV의 다단백질, E1, E2 유전자, PI3 바이러스의 HN 및 F 유전자 또는 로타바이러스의 유전자로부터 선택될 수 있다. 이러한 구성성분은 이러한 병원체에 의해 야기되는 질환으로부터 소를 보호하기 위한 항원성 또는 백신 조성물로서 유용할 수 있다.
- [0147] 나아가, 활성 항원성 구성성분은, 돼지 병원체, 예컨대, 비제한적으로, 돼지 인플루엔자 바이러스 (SIV), 돼지 시르코바이러스 유형 2 (PCV-2), 돼지 생식 호흡 증후군 바이러스 (PRRSV), 유사공수병 바이러스 (PRV), 돼지 파르보바이러스 (PPV), 돼지 콜레라 바이러스 (HCV), FMDV, 미코플라스마 히오뉴모니아에 (*Mycoplasma hyopneumoniae*), 에리시펠로트릭스 루시오파티아에 (*Erysipelothrix rhusiopathiae*), 파스퇴렐라 물토시다 (*Pasteurella multocida*), 보르테텔라 브론키셉티카 (*Bordetella bronchiseptica*), 대장균 등, 및 이들의 조합으로부터의 하나 이상의 면역원을 포함할 수 있다.
- [0148] 활성 항원성 구성성분은, 또한 PRV의 gB, gC, gD 및 전초기 유전자, 돼지 인플루엔자 바이러스의 HA, NA, M 및 NP 유전자, 돼지 콜레라 바이러스의 다단백질, E1, E2, PCV2 바이러스의 ORF1 및 ORF2 유전자, PRRSV 바이러스의 ORF3, ORF4, ORF5, ORF6, 또는 ORF7, 또는 미코플라스마 히오뉴모니아에 (*Mycoplasma hyopneumoniae*)의 유전자를 포함할 수 있다. 이러한 구성성분은 이러한 병원체에 의해 야기되는 질환으로부터 돼지를 보호하기 위한 항원성 조성물 또는 백신 조성물로서 유용할 수 있다.
- [0149] 활성 항원성 구성성분은, 병원체, 특히 예컨대 HIV, HCV, HBV, HPV, EBV, HSV, CMV, HTLV, 한타 (Hanta) 바이러스, 에볼라 (Ebola) 바이러스, 마르부르크 (Marburg) 바이러스, 리프트 계곡 열 (Rift Valley fever) 바이러스, 라사 (Lassa) 바이러스 및 인플루엔자 바이러스, 출혈성 장염 바이러스 (HEV), 감염성 비기관염 바이러스 (IBRV)와 같은 RNA 또는 DNA 바이러스에서 발현되는 단백질을 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 이러한 면역원은 이러한 병원체에 의해 야기되는 질환으로부터 대상, 예컨대 인간을 보호하기 위한 항원성 조성물 또는



백신 조성물로서 유리하게 사용될 수 있다.

[0150] 활성 항원성 구성성분은 또한, 예를 들어, 특히 하기 병원성 박테리아 및 이의 항원 중 어느 하나일 수 있다: 악티노바실루스 (*Actinobacillus*) 종, 예컨대 악티노바실루스 플레우로뉴모니아에 (*Actinobacillus pleuropneumoniae*), 보르데텔라 페르투스시스 (*Bordetella pertussis*), 보르데텔라 파라페르투스시스 (*Bordetella parapertussis*), 보르데텔라 브론키셉티카 (*Bordetella bronchiseptica*), 보르데텔라 아비움 (*Bordetella avium*), 클라미디아 트라코마티스 (*Chlamydia trachomatis*), 클라미디아 뉴모니아에 (*Chlamydia pneumoniae*), 클라미디아 시타시 (*Chlamydia psittaci*), 클레브시엘라 (*Klebsiella*) 종, 예컨대 클레브시엘라 뉴모니아에 (*Klebsiella pneumoniae*), 미코박테리움 투베르쿨로시스 (*Mycobacterium tuberculosis*), 미코박테리움 슈도투베룰로시스 (*Mycobacterium pseudotuberculosis*), 미코박테리움 뉴모니아에 (*Mycobacterium pneumoniae*), 군 A 스트렙토코쿠스 (*Streptococcus*), 스트렙토코쿠스 에퀴 (*Streptococcus equi*), 스트렙토코쿠스 뉴모니아에 (*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코쿠스 아갈락티아에 (*Streptococcus agalactiae*), 스트렙토코쿠스 피오케네스 (*Streptococcus pyogenes*), 스트렙토코쿠스 비리단스 (*Streptococcus viridans*), 네이세리아 고노로에아에 (*Neisseria gonorrhoeae*), 에리시켈로트릭스 (*Erysipelothrix*) 종, 독소원성 대장균, 비브리오 콜레라에 (*Vibrio cholerae*), 바실루스 안트라시스 (*Bacillus anthracis*), 해모필루스 인플루엔자에 (*Haemophilus influenzae*), 해모필루스 솜누스 (*Haemophilus somnus*), 해모필루스 파라수이스 (*Haemophilus parasuis*), 살모넬라 (*Salmonella*) 종, 살모넬라 아고나 (*Salmonella agona*), 살모넬라 블록클레이 (*Salmonella blockley*), 살모넬라 엔테리디티스 (*Salmonella enteritidis*), 살모넬라 하다르 (*Salmonella hadar*), 살모넬라 헤이델베르그 (*Salmonella Heidelberg*), 살모넬라 몬테비데오 (*Salmonella montevideo*), 살모넬라 센프텐베르그 (*Salmonella senftenberg*), 살모넬라 콜레라수이스 (*Salmonella choleraesuis*), 리케트시아 (*Rickettsia*) 종, 헬리코박테르 피롤리 (*Helicobacter pylori*), 헬리코박테르 펠리스 (*Helicobacter felis*), 시겔라 (*Shigella*) 종, 리스테리아 (*Listeria*) 종, 레지오넬라 뉴모니아에 (*Legionella pneumoniae*), 슈도모나스 (*Pseudomonas*) 종, 보렐리아 (*Borrelia*) 종, 보렐리아 부르그도르페리 (*Borrelia burgdorferi*), 네이세리아 메닝기티데스 (*Neisseria meningitidis*), 클로스트리디움 (*Clostridium*) 종, 클로스트리디움 디피실레 (*Clostridium difficile*), 우레아플라스마 우레아리티쿰 (*Ureaplasma urealyticum*), 스타필로코쿠스 (*Staphylococcus*) 종, 스타필로코쿠스 아우레우스 (*Staphylococcus aureus*), 엔테로코쿠스 파에칼리스 (*Enterococcus faecalis*), 파스퇴렐라 페스티스 (*Pasteurella pestis*), 캄필로박테르 (*Campylobacter*) 종, 캄필로박테르 제주니 (*Campylobacter jejuni*), 트레포네마 (*Treponema*) 종, 랩토스피라 (*Leptospira*) 종, 코리네박테리움 디프테리아 (*Corynebacterium diphtheria*), 해모필루스 두크레이 (*Hemophilus ducreyi*), 해모필루스 인플루엔자 (*Hemophilus influenza*), 엘리카 (*Ehrlichia*) 종.

[0151] 활성 항원성 구성성분은 또한 진균 또는 곰팡이, 예컨대 아스페르길루스 플라부스 (*Aspergillus flavus*), 아스페르길루스 푸미가티스 (*Aspergillus fumigatis*), 페니실리움 (*Penicillium*) 종, 푸사리움 (*Fusarium*) 종, 칸디다 (*Candida*) 종, 예컨대 칸디다 트리코피톤 (*Candida trichophyton*), 칸디다 파라프실로시스 (*Candida parapsilosis*), 칸디다 글라브라타 (*Candida glabrata*), 칸디다 두블리니엔시스 (*Candida dubliniensis*), 및 칸디다 알비칸스 (*Candida albicans*), 리조푸스 (*Rhizopus*) 종, 크립토코쿠스 (*Cryptococcus*) 종, 예컨대 크립토코쿠스 네오포르만스 (*Cryptococcus neoformans*), 크립토코쿠스 그루비 (*Cryptococcus grubii*), 크립토코쿠스 가티 (*Cryptococcus gattii*), 파라코시디오데스 브라질리엔시스 (*Paracoccidioides brasiliensis*), 히스토플라스마 캡슐라툼 (*Histoplasma capsulatum*), 및 기타 진균 및 곰팡이에서 유도될 수 있다.

[0152] 활성 항원성 구성성분은 또한 특히, 비제한적으로, 플라스모디움 (*Plasmodium*) 종, 트리파노솜 (*Trypanosome*) 종, 기아르디아 (*Giardia*) 종, 부필루스 (*Boophilus*) 종, 바베시아 (*Babesia*) 종, 엔타모에바 (*Entamoeba*) 종, 에이메리아 (*Eimeria*) 종, 레이쉬마니아 (*Leishmania*) 종, 슈스토소마 (*Schistosoma*) 종, 브루기아 (*Brugia*) 종, 파스시다 (*Fasciola*) 종, 디로필라리아 (*Dirofilaria*) 종, 뱀체레리아 (*Wuchereria*) 종, 온코세레아 (*Onchocerca*) 종, 트레포네마 (*Treponema*) 종, 톡소플라스마 (*Toxoplasma*) 종, 크립토코쿠스 (*Cryptococcus*) 종, 코시디아 (*Coccidia*) 종, 히스토모니아시스 (*Histomoniasis*) 종, 헥사미티아시스 (*Hexamitiasis*) 종, 기아르디아 (*Giardia*) 종을 포함하는 기생충 중; 특히 아스카리스 (*Ascaris*) 종, 트리키넬라 (*Trichinella*) 종 등을 포함하는 선충류, 유충류, 예컨대 흡충류, 촌충류; 및 기타 유사 병원성 유기체에서 유도된 기생충 항원으로 부터 선택될 수 있다. 바이러스, 박테리아, 진균, 곰팡이, 원생동물, 선충류, 및 유충류에서 유도된 면역원의 제조 방법은 당업계에 공지되어 있다.

[0153] 기타 유용한 면역원은, 예를 들어, 정제된 분비된 항원 독성 인자, 예컨대 독소, 세포독소 등일 수 있다. 알루미늄 히드록시드와 같은 아유반트와 조합으로 투여될 수 있는, 개질에 의해 해독되는 독소 항원 (톡소이드

(toxoid)) 은, 독소-중화 항체의 형성을 자극하는데 사용될 수 있다. 면역원으로 사용될 수 있는 독소의 예에는, 박테리아 내독소 및 외독소, 예컨대 지질다당류, 열-불안정성 장내독소 (LT), 열 안정성 장내독소 (ST), 베로독소 (VT) 등을 포함하는 장내독소가 포함된다. 박테리아 외독소 면역원은 주위 배지 중에서 분리되며, 이에, 예를 들어, 디프테리아 독소 (코리네박테리움 디프테리아에 (*Corynebacterium diphtheriae*)), 과상풍 독소 (클로스트리디움 테타니 (*Clostridium tetani*)), 스타필로코쿠스 아우레우스 (*Staphylococcus aureus*) 에 의해 분리되는 장내독소, 보툴리눔 독소 (클로스트리디움 보툴리눔 (*Clostridium botulinum*)); 및 조류 (algae) 에 의해 생성되는 독소, 예컨대 신경독소; 등이 포함된다. 박테리아의 자기분해에 의해 방출되는 열-안정성 내독소에는, 예를 들어, 그람 음성 비브리오 콜레라에 (*Vibrio cholerae*) 에서 방출되는 콜레라 독소, 대장균과 같은 장내 박테리아 의해 생성되는 콜리신 (박테리오신) 이 포함된다.

[0154] 바이러스, 박테리아, 진균 등에서 유도된, 또는 유래된 면역원은, 적절한 배양 배지 또는 숙주 세포주를 사용하는 시험관내 배양 방법 및 당업자에게 널리 공지된 통상적인 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, PRRSV 는 적절한 세포주, 예컨대 MA-104 세포주에서 배양될 수 있다 (특히, 미국 특허 제 5,587,164; 5,866,401; 5,840,563; 6,251,404 호 참조). 유사한 방식으로, PCV-2 는 PK-15 세포주를 사용하여 배양될 수 있고 (미국 특허 제 6,391,314 호 참조); SIV 는 알에서 배양될 수 있고 (미국 특허 제 6,048,537 호); 미코플라스마 히오뉴모니아에 (*Mycoplasma hyopneumoniae*) 는 적절한 배양 배지에서 배양될 수 있다 (미국 특허 제 5,968,525; 5,338,543 호; [Ross R. F. et al., (1984) Am. J. Vet. Res. 45: 1899-1905]). 유리하게는, CDV 는 미국 특허 제 5,178,862 호에 기재된 바와 같은 밍크 폐 세포에서 배양될 수 있다. 바이러스-유래 면역원의 제조를 위한 다른 기법은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, [Ulmer et al., Science 259: 1745 (1993)]; [Male et al., Advanced Immunology, pages 14.1-14. 15, J.B. Lippincott Co., Philadelphia, Pa. (1989)] 에 기재되어 있다.

[0155] 항원성 펩티드 서열을 모방한 항원성 합성 펩티드가 또한 유용하다. 익와 같은 면역원은, 예를 들어 [R. B. Merrifield, Science 85:2149-2154 (1963)] 에 기재된 바와 같이 고체상 기법을 사용하여 합성되고, 정제되고, 임의로 글루타르알데히드 등과 같은 이관능성 커플링제를 사용하여, 담체 단백질, 예컨대 무라밀 디펩티드 (MDP), 소 혈청 알부민 (BSA), 키홀 림펫 헤모시아닌 (keyhole limpet hemocyanin) (KLH) 등에 커플링될 수 있다.

[0156] 합성 항원, 예를 들어, 폴리에피토프, 플랭킹 (flanking) 에피토프, 및 기타 재조합 또는 합성으로 유도된 항원이 또한 이러한 정의 내에 포함된다. 예를 들어, [Bergmann et al. (1993) Eur. J. Immunol. 23, 2777-2781]; [Bergmann et al. (1996) J. Immunol. 157, 3242-3249]; [Suhriebier, A. (1997) Immunol. Cell Biol. 75, 402-408]; [Gardner et al. (1998) 12th World AIDS Conference, Geneva, Switzerland, Jun. 28-Jul. 3, 1998] 참조. 본 발명의 목적을 위한 항원성 단편은, 분자 중, 통상적으로 적어도 약 3 개의 아미노산, 바람직하게는 적어도 약 5 개의 아미노산, 더욱 바람직하게는 적어도 약 10-15 개의 아미노산, 및 가장 바람직하게는 25 개 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 단편의 길이에 대한 상한은 중요하지 않으며, 이는 거의 전체-길이 단백질 서열, 또는 심지어 둘 이상을 포함하는 융합 단백질, 또는 적어도 하나의 단백질의 에피토프를 포함할 수 있다.

[0157] 따라서, 에피토프를 발현하는 핵산의 최소 구조는, 단백질 또는 다단백질의 에피토프, 면역원, 또는 항원을 인코딩는 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 전체 단백질 또는 다단백질의 단편을 인코딩하는 핵산은, 더욱 유리하게는, 전체 단백질 또는 다단백질을 인코딩하는 서열 중, 최소 약 21 개의 뉴클레오티드, 유리하게는 적어도 약 42 개의 뉴클레오티드, 및 바람직하게는 적어도 약 57 개, 약 87 개 또는 약 150 개의 연속적 또는 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이로 이루어진다. 에피토프 측정 절차, 예컨대 중첩 펩티드 라이브러리의 생성 ([Hemmer B. et al., (1998) Immunology Today 19(4), 163-168]), 펩스칸 (Pepscan) ([Geysen et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 3998-4002]; [Geysen et al., (1985) Proc. Nat. Acad. Sci. USA 82, 178-182]; [Van der Zee R. et al., (1989) Eur. J. Immunol. 19, 43-47]; [Geysen H.M., (1990) Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 21, 523-533]; Multipin® Peptide Synthesis Kits de Chiron) 및 알고리즘 ([De Groot A. et al., (1999) Nat. Biotechnol. 17, 533-561], 및 PCT 출원 제 PCT/US2004/022605 호); 이러한 문헌은 모두 그 전문이 본원에 참조로서 인용되어 있고, 과도한 실험 없이 본 발명의 실시예 사용될 수 있다. 본원에 인용 및 포함된 기타 문헌은 또한 면역원 또는 항원의 에피토프 및 따라서 이러한 에피토프를 인코딩하는 핵산 분자의 측정 방법에 대하여 참고할 수 있다.

[0158] 또한, 예를 들어, 뉴캐슬병 바이러스를 포함하는 동결건조된 안정한 항원성 조성물 또는 백신 조성물의 제조 방법으로서, 생 약독화된 뉴캐슬병 바이러스 현탁액 또는 용액을, 본 발명에 따른 안정화제 및 본 발명에 따른 당

알코올과 혼합하여 형성된 안정화된 현탁액 또는 용액을 동결건조시키는 단계를 포함하는 방법이, 본 발명에 의해 제공된다.

- [0159] "동결-건조 (freeze-drying)" 또는 "동결건조 (lyophilization)" 는, 현탁액을 동결시키고, 그 후 물을 저압에서의 승화에 의해 제거하는 공정을 의미한다. 본원에 사용된 바, 용어 "승화" 는, 조성물이 액체가 되지 않고 고체 상태에서 기체 상태로 직접 변화하는, 조성물의 물리적 특성의 변화를 의미한다. 본원에 사용된 바, "T'g 값" 은, 유리 전이 온도로서 정의되며, 이는 동결된 조성물이 유리체가 되는 온도 미만의 온도에 해당한다.
- [0160] 본 발명에 따른 항원성 현탁액 또는 용액의 동결-건조 공정은 하기의 단계를 포함할 수 있다: (a) 항원성 현탁액 또는 용액과 본 발명의 안정화제를 접촉시켜, 안정화된 항원성 현탁액 또는 용액을 형성하는 단계; (b) 안정화된 항원성 현탁액 또는 용액을, 대기압에서, 안정화된 항원성 현탁액 또는 용액의 약 T'g 값 미만의 온도로 냉각시키는 단계; (c) 저압에서의 얼음의 승화에 의해 안정화된 항원성 현탁액 또는 용액을 건조시키는 단계 (즉, 1 차 건조 또는 승화 단계); 및 (d) 추가로 안정화된 항원성 현탁액 또는 용액의 온도를 증가시키고 압력을 감소시킴으로써, 과량의 잔류 물을 제거하는 단계 (즉, 2 차 건조 또는 탈착 단계).
- [0161] 냉각 단계 (b) 는 약 -40℃ 미만의 온도에서 일어날 수 있다 (물 동결 단계). 저압에서의 얼음의 승화에 의해 안정화된 항원성 현탁액 또는 용액을 건조시키는 단계 (c) 는, 예를 들어, 약 200  $\mu$ bar 이하의 압력에서 일어날 수 있으나, 약 100  $\mu$ bar 이하로의 추가의 압력 감소가 일어날 수 있다. 최종적으로, 과량의 잔류 물의 제거 (d) 중 안정화된 항원성 현탁액 또는 용액의 온도는, 예를 들어, 약 20℃ 내지 약 30℃ 이다.
- [0162] 또한 본 발명에 따른 안정화제와 혼합된, 파라믹소바이러스 이외의 병원체에서 유도된 활성 항원성 구성성분 하나 이상 및 생 약독화된 뉴캐슬병 바이러스를 포함하는 항원성 현탁액 또는 용액으로 동결-건조 공정을 수행하여, 동결-건조된 안정화된 다가 항원성 또는 백신 조성물을 수득할 수 있다.
- [0163] 동결-건조 물질의 수분 함량은, 약 0.5% 내지 약 5% w/w, 바람직하게는 약 0.5% 내지 약 3% w/w, 및 더욱 바람직하게는 약 1.0% 내지 약 2.6% w/w 범위일 수 있다.
- [0164] 물 동결, 및 1 차 및 2 차 건조 동안의 이의 제거를 포함하는 각각의 단계는, 본 발명의 항원성 현탁액 또는 용액 중의 생물학적 성분, 예컨대 병원체를 기계적, 물리적 및 생화학적 충격에 적용하는 것으로, 이는 잠재적으로 병원체 또는 생물학적 성분의 구조, 외관, 안정성, 항원성, 감염성 및 생존력에 부정적인 영향을 미친다.
- [0165] 본 발명의 안정화제는 개 파라믹소바이러스와 같은 생 약독화된 병원체의 양호한 안정성을 가능하게 하고, 특히, 동결-건조 공정 중 및 저장 중 CDV 및 cPi2 의 감염성을 유지한다. 안정성은 동결-건조 단계 전 감염성 역가와, 동결-건조된 안정화된 항원성 조성물 또는 백신 조성물의 4℃ 에서의 12 개월 저장 후의 감염성 역가 간의 차이에 의해 산출될 수 있다. 양호한 안정성은, 유리하게는 단지 1.2 log<sub>10</sub> 차이, 및 바람직하게는 단지 1.0 log<sub>10</sub> 차이를 포함할 수 있다. 감염성 역가의 측정 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 감염성 역가의 측정 방법 중 일부는 본원의 실시예에 기재되어 있다. 또한, 안정성은, 선형 회귀 계산 및/또는 알고리즘을 사용하여, 저장 기간 동안의 log<sub>10</sub> 역가와 적정 시점을 피팅함으로써 예측될 수 있다.
- [0166] 나아가, 본 발명의 안정화제는 양호한 양상, 즉, 규칙적인 형태 및 균일한 색상을 갖는 동결-건조 패스틸 (pastille) 을 가능하게 한다. 불규칙한 형태는, 수용체의 바닥에 달라 붙은, 및 전환 및 전단 후 고정된 채로 남아있는 패스틸의 전부 또는 일부의 존재를 특징으로 할 수 있다 (고정된 (stuck) 양상). 또한, 스폴 (spool) 형태를 갖는 패스틸 (스폴된 양상), 또는 2 개의 부분으로의 패스틸의 분리 후, 수평면의 형태를 갖는 패스틸 (탈-중복된 (de-duplicated) 양상), 또는 불규칙한 홀을 갖는 무스의 양상을 갖는 패스틸 (스폰지 양상), 또는 수용체 내에 포말 양상을 갖는 패스틸 (머랭 양상) 은 불규칙한 형태를 갖기 때문에, 허용되지 않는다.
- [0167] 본 발명에 따른 안정화제를 사용하고 상기 기재된 동결-건조 공정에 의해 수득되는, 안정화된 동결-건조된 항원성 조성물 또는 백신 조성물이, 본 발명에 포함된다.
- [0168] 본 발명의 추가의 양태는, 본 발명의 동결-건조된 안정화된 항원성 조성물 또는 백신 조성물을 함유하는 제 1 용기, 및 희석제를 함유하는 제 2 용기를 포함하는 키트를 제공한다.
- [0169] 대상에의 이의 사용 및 투여를 위하여, 동결-건조된 안정화된 항원성 조성물 또는 백신 조성물은 희석제를 이용한 재수화에 의해 재구성될 수 있다. 희석제는 통상적으로 물, 예컨대 탈염된 또는 증류된 물이지만, 또한

당업계에 공지된 생리학적 용액 또는 완충액을 포함할 수 있다.

[0170] 재구성된 즉시 사용 가능한 (ready-to-use) 항원성 조성물 또는 백신 조성물은, 비경구 또는 점막 경로를 통한 주사에 의해, 또는 바람직하게는 경구 또는 안구 투여에 의해, 분무에 의해 동물에게 투여될 수 있다. 하지만, 이와 같이 재구성된 즉시 사용 가능한 항원성 조성물 또는 백신 조성물의 투여는 또한 비강내, 피부외 또는 국소 투여를 포함할 수 있다.

[0171] 하기 실시예는, 각종 감염성 질환에 대해 대상을 면역화하는데 사용되는 경우의, 본 발명의 백신 조성물의 제조 및 효능을 예시한다. 각종 백신 제형에 대한 압축 동결건조된 정제 형태의 역가 분석을 이용한 안정성 평가가 또한 제시된다. 본 발명의 조성물의 제조는 US 2003/0026813 및 WO 01/13896 (이들 문헌은 그 전문이 본원에 참조로서 인용됨) 의 교시에 따라 당업자에 의해 이루어질 수 있다.

[0172] 실시예는 본 발명을 추가로 예시하고 설명하기 위하여 제시된 것으로, 어떠한 면에 있어서도 제한적인 것으로서 간주되어서는 안된다. 실시예 및 명세서와 청구범위의 다른 부분에서 달리 제시되지 않는 한, 모든 부 및 백분율 (%) 은 중량 기준이다. 온도는 섭씨 온도이다.

### [0173] 안정성 연구

[0174] 백신 조성물의 안정성에 대한 만니톨의 영향을 또한 연구하였다. 포말 조절제 (만니톨) 가 6 개월 및 9 개월 간격에서 제형의 안정성에 어떠한 부정적인 영향도 미치지 않았다는 것을 나타내기 위하여, 6 개의 상이한 제형을 표 1 에 기재된 바와 같이 제조하였다. 제형으로부터 제조된 정제를, 희석제 중에 재구성하기 전의 기간 동안 약 5℃ 에서 표준 밀봉된 알루미늄 블리스터 팩에 저장하고, 역가를 측정하였다. 동결-건조된 백신의 바이러스 역가의 측정을, 동일한 백신에 대하여 반복된 3 회의 적정의 평균 역가의 계산으로 수행하였다. 역가 결과는 표 2 에 제시되어 있다.

표 1:

	제형 1	제형 2	제형 3	제형 4	제형 5	제형 6
100 kg 의 제형						
동결 건조된 항원 및 안정화제	30.00 kg	35.00 kg	33.00 kg	40.00 kg	25.00 kg	35.00 kg
소듐 바이카르보네이트	41.02 kg	28.92 kg	39.25 kg	19.50 kg	43.97 kg	28.92 kg
만니톨	0	15.00 kg	0	26.00 kg	0	15.00 kg
무수 시트르산	28.48 kg	20.08 kg	27.25 kg	13.50 kg	30.53 kg	20.08 kg
마그네슘 스테아레이트	0.50 kg	1.00 kg	0.50 kg	1.00 kg	0.50 kg	1.00 kg
정제 특징						
직경	12 mm	12 mm	15 mm	15 mm	12 mm	12 mm
경도	70 - 200 N	70 - 200 N	70 - 200 N	70 - 200 N	70 - 200 N	70 - 200 N
중량 (g)	0.74 - 0.90	0.63 - 0.77	1.10 - 1.34	0.90 - 1.10	0.74 - 0.90	0.527 - 0.645
두께 (mm)	4.5 - 4.9	< 5	4.5 - 4.9	< 5	4.5 - 4.9	3.5 - 3.9

[0175]

표 2 - 역가 결과:

제형 #	항원	안정화제	평균 역가 (0 개월)	평균 역가 (3 개월)	평균 역가 (6 개월)	평균 역가 (9 개월)
1	뉴캐슬병 바이러스 균주 VG/GA	단백질 가수분해물 포타슘 글루타메이트 소 알부민	9.4	9.0	9.0	9.1
2	뉴캐슬병 바이러스 균주 VG/GA	단백질 가수분해물 포타슘 글루타메이트 소 알부민	9.5	9.3	9.2	9.4
3	감염성 기관지염 바이러스 균주 CR88121	단백질 가수분해물	7.6	7.1	7.3	7.0
4	감염성 기관지염 바이러스 균주 CR88121	단백질 가수분해물	7.9	7.8	7.8	7.8
5	감염성 기관지염 바이러스 균주 H120	단백질 가수분해물	9.4	7.1	7.4	-
6	감염성 기관지염 바이러스 균주 H120	단백질 가수분해물	7.5	7.6	7.7	-

[0176]

[0177]

역가의 단위: Log10 DICC50/cp

[0178]

결과는, 5℃ 에서의 장기 저장 기간 동안 만니톨 함유 제형의 매우 양호한 안정성을 보여준다.

[0179]

#### 포말 조절 연구

[0180]

#### a) 포말 조절제의 농도:

[0181]

용액 중 발포 감소에 대한 포말 조절제 양의 영향을 조사하기 위하여, 3 개의 제형을 표 3 에 제시된 바와 같이 제조하였다. 이러한 제형을 발포성 정제의 제조를 위한 통상의 수단을 사용하여 정제화하였다. 정제를 실온에서 물 중에 혼합하고, 최대 발포 시 발포를 측정하였다. 소듐 바이카르보네이트 및 시트르산은 발포제로서 작용하여, 물 중에서의 조성물의 혼합을 돕는다. 도 1 에 제시된 결과는, 제형 II (15% 만니톨 함유), 및 제형 III (33% 만니톨 함유) 이, 제형 I (대조군, 0% 만니톨 함유) 에 비해 적은 포말 형성을 갖는다는 것을 나타낸다. 이는, 조성물 중 만니톨 양이 증가함에 따라 포말 형성이 감소함을 나타낸다.



표 3:

조성	제형 I	제형 II	제형 III
플라세보 및 안정화제	33%	33%	33%
소듐 바이카르보네이트 및 무수 시트르산	66%	51%	33%
만니톨	0%	15%	33%
마그네슘 스테아레이트	1%	1%	1%

[0182]

[0183]

[0184]

b) 상이한 백신 조성물에 대한 만니톨 영향의 조사:

6 개의 백신 조성물을 표 4 에 제시된 바와 같이 제조하였다. 이러한 조성물을 발포성 정제의 제조를 위한 통상의 수단을 사용하여 정제화하였다. 정제를 실온에서 물 중에 혼합하고, 최대 발포 시 발포를 측정하였다. 소듐 바이카르보네이트 및 시트르산은 발포제로서 작용하여, 물 중에서의 조성물의 혼합을 돕는다. 도 2 에 제시된 결과는, 제형 B (15% 만니톨 함유) 가 제형 A (0% 만니톨 함유) 에 비해 약 50% 적은 포말을 갖는다는 것을 나타낸다. 도 3 은, 제형 D (15% 만니톨) 가 제형 C (0% 만니톨 함유) 에 비해 약 60% 적은 포말을 갖는다는 것을 나타낸다. 도 4 는, 제형 E (26% 만니톨 함유) 가 제형 F (0% 만니톨 함유) 에 비해 약 80% 적은 포말을 갖는다는 것을 나타낸다.

표 4:

조성	제형 A	제형 B	제형 C	제형 D	제형 E	제형 F
동결 건조된 항원 및 안정화제	뉴캐슬병 바이러스 균주 VG/GA (30%)	뉴캐슬병 바이러스 균주 VG/GA (35%)	감염성 기관지염 바이러스 균주 H120 (25%)	감염성 기관지염 바이러스 균주 H120 (35%)	감염성 기관지염 바이러스 균주 CR88121 (40%)	감염성 기관지염 바이러스 균주 CR88121 (33%)
소듐 바이카르보네이트 무수 시트르산	69%	49%	74%	49%	33%	66%
만니톨	0%	15%	0%	15%	26%	0%
마그네슘 스테아레이트	1%	1%	1%	1%	1%	1%

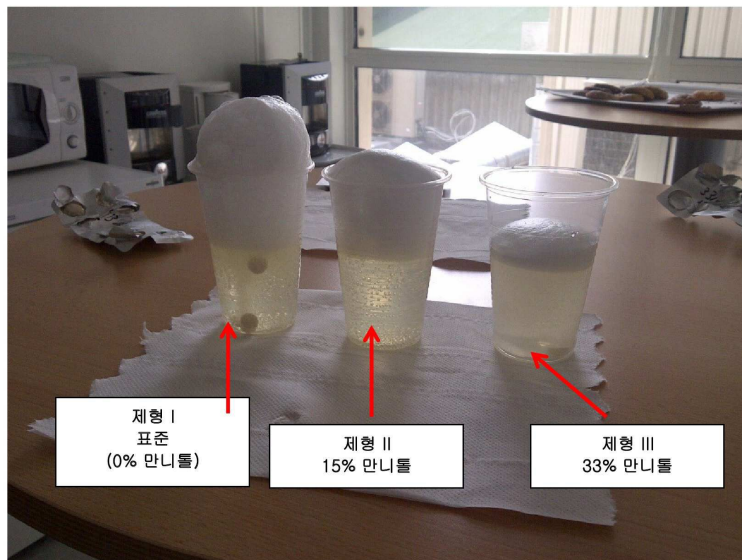
[0185]

[0186]

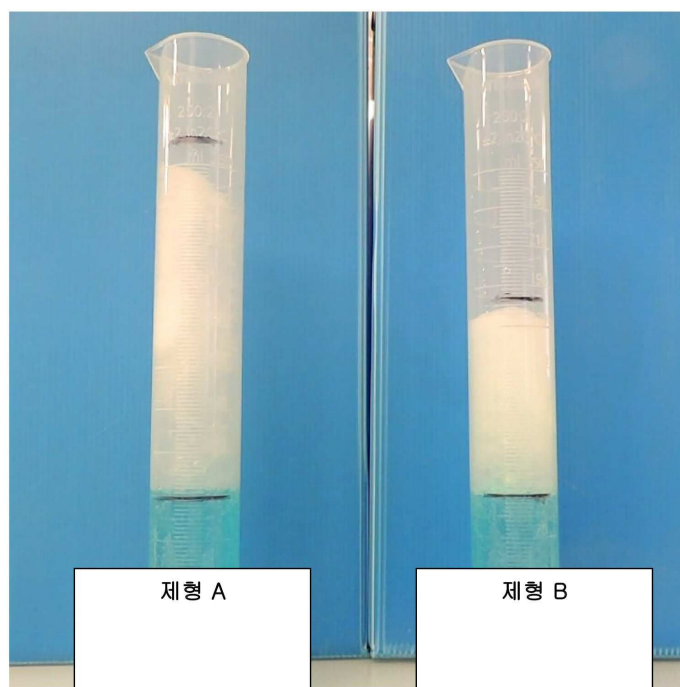
본 발명의 바람직한 실시예가 상기와 같이 상세하게 기재되었지만, 첨부된 청구범위에 의해 정의되는 본 발명은, 상기 설명에 제시된 특정한 상세 설명에 의해 제한되지 않으며, 본 발명의 의미 또는 범위를 벗어나지 않는 한 다수의 명백한 변형이 이루어질 수 있다고 이해되어야 한다.

도면

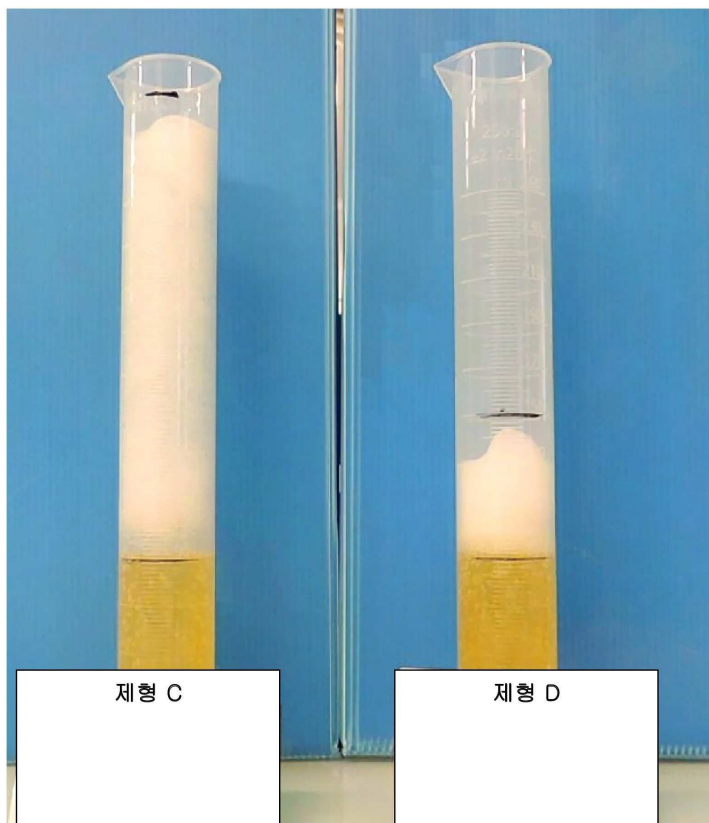
도면1



도면2



도면3



도면4

