

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6113176号
(P6113176)

(45) 発行日 平成29年4月12日 (2017. 4. 12)

(24) 登録日 平成29年3月24日 (2017. 3. 24)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 39/395 (2006. 01)
 A 6 1 K 9/08 (2006. 01)
 A 6 1 K 47/26 (2006. 01)
 A 6 1 P 29/00 (2006. 01)

A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 K 9/08
 A 6 1 K 47/26
 A 6 1 P 29/00

請求項の数 17 (全 24 頁)

(21) 出願番号 特願2014-537222 (P2014-537222)
 (86) (22) 出願日 平成24年10月18日 (2012. 10. 18)
 (65) 公表番号 特表2014-530863 (P2014-530863A)
 (43) 公表日 平成26年11月20日 (2014. 11. 20)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/060745
 (87) 国際公開番号 W02013/059410
 (87) 国際公開日 平成25年4月25日 (2013. 4. 25)
 審査請求日 平成27年10月7日 (2015. 10. 7)
 (31) 優先権主張番号 61/669, 480
 (32) 優先日 平成24年7月9日 (2012. 7. 9)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/548, 518
 (32) 優先日 平成23年10月18日 (2011. 10. 18)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 514097509
 コヒラス・バイオサイエンシズ・インコー
 ポレイテッド
 アメリカ合衆国、94065 カリフォル
 ニア州、レッドウッド・シティ、ツイン・
 ドルフィン・ドライブ、333、スウィー
 ト・600
 (74) 代理人 110001173
 特許業務法人川口国際特許事務所
 (72) 発明者 マニング、マーク
 アメリカ合衆国、コロラド・80534、
 ジョンズタウン、ソレル・レイン・463
 O

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キシリトールによって安定化されたエタネルセプト製剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

エタネルセプトならびにエタネルセプトの不安定性、ミスフォールディング、凝集およ
 び/またはフラグメント化を阻止するための安定剤を含み、アルギニンを含まない、安定
 化された水性医薬組成物であって、安定剤が、キシリトールまたはキシリトールおよびメ
 グルミンの組合せからなる、組成物。

【請求項 2】

緩衝剤、等張性調整剤および賦形剤から選択される、1つ以上の追加的なコンポーネン
 トを更に含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

90%超のモノマー含量、3重量%未満の凝集体含量および5重量%未満のエタネルセ
 プト分子の一以上の断片により表される画分含量である M3 または T2 または T4 におけ
 る SEC 分析、ならびに、

短縮型を含む HIC クロマトグラムのピークにより表された組成物の量が3重量%未満
 であり、生物学的に活性な TNFR : Fc からなる HIC クロマトグラムのピークにより
 表された組成物の量が80重量%超であり、異常な折り畳み構造の産物を含む HIC クロ
 マトグラムのピークにより表された組成物の量が20重量%未満である、M3 または T2
 または T4 における HIC 分析

の少なくとも1つを特徴とする、長期的な貯蔵安定性を示す、請求項 2 に記載の組成物。

【請求項 4】

10

20

約 25 mg / ml から約 75 mg / ml までのエタネルセプトならびにエタネルセプトの不安定性、凝集および / またはフラグメント化を阻止するための安定剤を含み、請求項 2 に記載の組成物であって、安定剤が、組成物の最大 10 重量 % を占める量のキシリトールであり、組成物が、80 重量 % 超のモノマー含量、3 重量 % 未満の凝集体含量および 6 重量 % 未満の エタネルセプト分子の一以上の断片により表される画分含量である M3 または T2 または T4 における SEC 分析を特徴とし、6.0 から 6.6 までの pH を有する、組成物。

【請求項 5】

(a) 90 重量 % 超のモノマー含量および 3 重量 % 未満の凝集体含量である M3 または T2 または T4 における SEC 分析、ならびに、

10

(b) 短縮型を含む HIC クロマトグラムのピークにより表された組成物の量が 4 重量 % 未満であり、生物学的に活性な TNFR : Fc からなる HIC クロマトグラムのピークにより表された組成物の量が 80 重量 % 超であり、異常な折り畳み構造の産物を含む HIC クロマトグラムのピークにより表された組成物の量が 20 重量 % 未満である、M3 または T2 または T4 における HIC 分析；および
を特徴とする、長期的な貯蔵安定性を示す、請求項 4 に記載の組成物。

【請求項 6】

短縮型を含む HIC クロマトグラムのピークにより表された組成物の量が 1 重量 % 未満であり、生物学的に活性な TNFR : Fc からなる HIC クロマトグラムのピークにより表された組成物の量が 95 重量 % 超であり、異常な折り畳み構造の産物を含む HIC クロマトグラムのピークにより表された組成物の量が 3 重量 % 未満である、M3 または T2 または T4 における HIC 分析を有する、請求項 3 に記載の組成物。

20

【請求項 7】

約 25 mg / ml から 75 mg / ml までのエタネルセプト、1 重量 % から 10 重量 % までのキシリトール、1 mM から 30 mM までのリン酸ナトリウム、場合によって最大約 5 重量 % のメグルミン、場合によって最大約 100 mM の NaCl および場合によって最大約 5 重量 % のスクロースを含む、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 8】

約 1 mM から 100 mM までの NaCl、1 重量 % から 5 重量 % までのスクロースを含む、請求項 7 に記載の組成物であって、安定剤が、組成物の 1 重量 % から 5 重量 % までの量のメグルミンを更に含む、組成物。

30

【請求項 9】

約 50 mg / ml のエタネルセプト、約 10 重量 % のキシリトールおよび 10 mM から 30 mM までのリン酸ナトリウムを含む、請求項 7 に記載の組成物であって、製剤が、85 重量 % 超のモノマー含量である M3 または T2 または T4 における SEC 分析を特徴とする、組成物。

【請求項 10】

約 50 mg / ml のエタネルセプト、10 mM から 30 mM までのリン酸ナトリウム、1 重量 % から 3 重量 % までのキシリトールおよび 1 重量 % から 3 重量 % までのメグルミンを含む、請求項 7 に記載の組成物であって、製剤が、85 重量 % 超のモノマー含量である M3 または T2 または T4 における SEC 分析を特徴とする、組成物。

40

【請求項 11】

50 mg / ml のエタネルセプト、約 10 mM から 30 mM までのリン酸ナトリウム、1 重量 % から 3 重量 % までのキシリトール、1 重量 % から 3 重量 % までのメグルミン、1 mM から 100 mM までの塩化ナトリウムおよび 1 重量 % から 4 重量 % のスクロースを含む、請求項 7 に記載の組成物であって、製剤が、85 重量 % 超のモノマー含量である M3 または T2 または T4 における SEC 分析を特徴とする、組成物。

【請求項 12】

約 50 mg / ml のエタネルセプト、約 6 重量 % のキシリトールおよび 10 mM から 30 mM までのリン酸ナトリウムを含む、請求項 7 に記載の組成物であって、製剤が、85

50

重量%超のモノマー含量であるM3またはT2またはT4におけるSEC分析を特徴とする、組成物。

【請求項13】

約50mg/mlのエタネルセプト、10mMから30mMまでのリン酸ナトリウム、2重量%から3重量%までのキシリトール、約5%のスクロースを含む、請求項7に記載の組成物であって、製剤が、85重量%超のモノマー含量であるM3またはT2またはT4におけるSEC分析を特徴とする、組成物。

【請求項14】

生物学的に活性なTNFR:FcからなるHICクロマトグラムのピークにより表された組成物の量が95重量%以上であり、異常な折り畳み構造の産物を含むHICクロマトグラムのピークがHICクロマトグラムに存在する場合、異常な折り畳み構造の産物を含むHICクロマトグラムのピークにより表された組成物の量が1重量%以下である、M3またはT2またはT4におけるHIC分析を特徴とする、長期的な貯蔵安定性を示す、請求項3に記載の組成物。

10

【請求項15】

M3またはT2またはT4において1mL当たり平均で10,000個以下の5μm超のサイズを有する顕微鏡を使わなければ見えない粒子を有する、請求項3に記載の組成物。

【請求項16】

約25mg/mlから75mg/mlまでのエタネルセプト、1重量%から10重量%までのキシリトール、1mMから30mMまでのリン酸ナトリウム、場合によって最大約5重量%のマンノシルグリセレート、マンノシルラクテート、マンノシルグリコレートまたはジグリセロールホスフェート、場合によって最大約100mMのNaClおよび場合によって最大約5重量%のスクロースを含む、請求項3に記載の組成物。

20

【請求項17】

請求項1に記載の組成物であって、M3またはT2またはT4における組成物が、下記の基準：

(A)(i)組成物中の凝集体、モノマーおよびエタネルセプト分子の一以上の断片により表される画分量のSEC分析ならびに(ii)HICクロマトグラムの短縮型を含むピーク、生物学的に活性なTNFR:FcからなるHICクロマトグラムのピークおよび異常な折り畳み構造の産物を含むHICクロマトグラムのピークに対応する組成物中の材料の量のHIC分析で測定して、エンブレル(登録商標)の商標で販売されている市販のエタネルセプトと同等またはより良好な安定性、ならびに、

30

(B)(i)異常な折り畳み構造の産物を含むHICクロマトグラムのピークが存在しないまたは本質的に存在せず、(ii)生物学的に活性なTNFR:FcからなるHICクロマトグラムのピークが組成物の95重量%超を表すHICクロマトグラム、凝集体に対応するピークを本質的に含まないSECクロマトグラム、およびモノマー含量が組成物の少なくとも95重量%を表すSECクロマトグラム

の片方または両方を満足する長期的な貯蔵安定性を示す、組成物。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

本発明は、エタネルセプトの長期的な貯蔵のためにキシリトールによって安定化された水性医薬組成物、この組成物の製造方法、これらの投与方法およびこれを内包するキットに関する。本発明は、安定化のためにアルギニンを必要としないエタネルセプト製剤を含む。

【背景技術】

【0002】

ポリペプチドは、しばしば、これらの使用前に貯蔵しておかなければならない。長期間貯蔵された場合、ポリペプチドは、溶液中では大抵不安定である(Manningら、1

50

989年、Pharm. Res. 6: 903 - 918)。これらの貯蔵寿命を延長するために、乾燥、例えば凍結乾燥等、追加的な加工ステップが開発されてきた。しかしながら、凍結乾燥された医薬組成物は、使用するにはあまり便利ではない。

【0003】

ポリペプチド安定性を改善するための典型的な行為は、製剤に用いる要素の濃度を変更することにより実行でき、または賦形剤を加えて製剤を改質することにより実行できる（例えば、米国特許第5,580,856号および第6,171,586号を参照されたい）。しかしながら、添加剤の使用は依然として、不活性ポリペプチドを生じさせ得る。更に、凍結乾燥の場合、再水和ステップは、例えば凝集または変性によりポリペプチドの不活性化を生じさせ得る（Horrら、1992年、Pharm. Res.、9: 33 - 36; Liuら、1991年、Biotechnol. Bioeng.、37: 177 - 184）。ポリペプチドの凝集は免疫原性を生じさせ得るため、望ましくない（Clellandら、1993年、Crit. Rev. Therapeutic Drug Carrier System、10: 307 - 377; およびRobbinsら、1987年、Diabetes、36: 838 - 845）。

10

【0004】

ポリペプチド安定性を改善するための別の方法は、特定の濃度でL-アルギニンを使用することである（米国特許第7,648,702号）。

【0005】

使用前に最大2年間貯蔵されるポリペプチドの1つがエタネルセプト（エンブレル（登録商標）、Immunex Corporation）であり、エタネルセプトは、ヒトIgG1のFc部分に連結した75キログルトン（p75）のヒト腫瘍壊死因子受容体（TNFR）の細胞外リガンド結合部分からなる二量体型融合ポリペプチドである。エタネルセプトは、934個のアミノ酸からなり、大体150キログルトンという見かけの分子量を有する（Physicians Desk Reference、2002年、Medical Economics Company Inc.）。エタネルセプトのFcコンポーネントは、定常重鎖2（CH2）ドメイン、定常重鎖3（CH3）ドメインおよびヒンジ領域を内包するが、ヒトIgG1の定常重鎖1（CH1）ドメインは内包しない。Fcドメインは、上述したドメインの1つまたはすべてを内包し得る。エタネルセプトは、通常は組換えDNA技術により、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）の哺乳類細胞発現系中で産生される。

20

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】米国特許第5,580,856号明細書

【特許文献2】米国特許第6,171,586号明細書

【特許文献3】米国特許第7,648,702号明細書

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Manningら、1989年、Pharm. Res. 6: 903 - 918

40

【非特許文献2】Horrら、1992年、Pharm. Res.、9: 33 - 36

【非特許文献3】Liuら、1991年、Biotechnol. Bioeng.、37: 177 - 184

【非特許文献4】Clellandら、1993年、Crit. Rev. Therapeutic Drug Carrier System、10: 307 - 377

【非特許文献5】Robbinsら、1987年、Diabetes、36: 838 - 845

【非特許文献6】Physicians Desk Reference、2002年、Medical Economics Company Inc.

50

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、その長期的な貯蔵を可能にする、エタネルセプトの新規で安定な液体製剤を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0009】

(発明の要旨)

本発明は、エタネルセプトならびにエタネルセプトの不安定性、ミスフォールディング凝集および/またはフラグメント化を阻害するための安定剤を含む、安定化された水性医薬組成物であり、ここで、安定剤がキシリトールまたはキシリトールおよびメグルミンの組合せを含む。

【0010】

下記の論述で使用されている様々な専門用語は後で、「定義」という題名の部分および本明細書の残り部分の至る所において規定されている。

【0011】

本発明の安定化されたエタネルセプト製剤は、場合によっておよび好ましくはアルギニンを含んでおらず、(1)約90%超のモノマー含量、約3重量%未満の凝集体含量および約5重量%未満のフラグメント3含量である M_3 または T_2 または T_4 におけるSEC分析、ならびに、(2)HICクロマトグラムのピーク1により表された組成物の量が約3重量%未満であり、HICクロマトグラムのピーク2により表された組成物の量が80重量%超であり、HICクロマトグラムのピーク3により表された組成物の量が約20重量%未満である、 M_3 または T_2 または T_4 におけるHIC分析の少なくとも1つを特徴とする、長期的な貯蔵安定性を示す。

【0012】

安定化された製剤の好ましい態様において、製剤は、HICクロマトグラムのピーク2により表された組成物の量が約95重量%以上であり、ピーク3がHICクロマトグラムに存在する場合には、ピーク3により表された組成物の量が約3重量%以下である、 M_3 または T_2 または T_4 におけるHIC分析を特徴とする、長期的な貯蔵安定性を示す。

【0013】

上記で要約した安定化されたエタネルセプト製剤は、場合によって好ましくは、アルギニンを含まないかまたはアルギニンを本質的に含んでいない。

【0014】

本発明の製剤は、貯蔵の1ヶ月後、2ヶ月後または3ヶ月後に5で実施される、SEC(サイズ排除クロマトグラフィー)およびHIC(疎水性相互作用クロマトグラフィー)分析により測定される、優れた安定性を有する。これらの製剤は、アルギニンが必須コンポーネントである市販のエタネルセプトの製剤と同等でありまたはより良好である。したがって、本発明は、上記で要約したように、アルギニンを含まないかまたはアルギニンを本質的に含んでいない、安定化されたエタネルセプトの製剤であって、 M_3 または T_2 または T_4 において評価される組成物が、下記の基準の片方または両方を満たしている長期的な貯蔵安定性を示す、エタネルセプトの製剤を更に対象としている：(A)(i)(本明細書中で規定された)組成物中の凝集体、モノマーおよびフラグメント3の量のSEC分析ならびに(ii)(本明細書中で規定された)HICクロマトグラムのピーク1、ピーク2およびピーク3に対応する組成物中の材料の量のHIC分析により測定される、エンブレル(登録商標)の商標で販売されている市販のエタネルセプトと同等またはより良好な安定性、ならびに、

(B)(i)ピーク3が存在しないまたは本質的に存在せず、(ii)ピーク2が約95重量%超の組成物を表すHICクロマトグラム、凝集体に対応するピークを本質的に含まないSECクロマトグラム、およびモノマー含量が組成物の少なくとも約95重量%を表すSECクロマトグラム。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 5 】

好ましい一態様において、本発明の製剤は、約 2.5 mg/ml から約 7.5 mg/ml のエタネルセプトならびにエタネルセプトの不安定性、凝集および/またはフラグメント化を阻止するための安定剤を含み、ここで、安定剤が、組成物の最大約 10 重量%を占める量のキシリトールであり、組成物が、約 80 重量%超のモノマー含量、約 3 重量%未満の凝集体含量および約 6 重量%未満のフラグメント 3 含量である M₃ または T₂ または T₄ における SEC 分析を特徴とし、6.0 から 6.6 の pH を有する。これらの分析基準を満たしている製剤は、安定化のためにアルギニンを必要としない。

【 0 0 1 6 】

更なる好ましい一実施形態において、安定化されたエタネルセプト製剤は、(a) 約 90 重量%超のモノマー含量および約 3 重量%未満の凝集体含量である M₃ または T₂ または T₄ における SEC 分析、ならびに、(b) HIC クロマトグラムのピーク 1 により表された組成物の量が約 4 重量%未満であり、HIC クロマトグラムのピーク 2 により表された組成物の量が約 80 重量%超であり、HIC クロマトグラムのピーク 3 により表された組成物の量が約 20 重量%未満である、M₃ または T₂ または T₄ における HIC 分析を更に特徴とする。これらの分析基準を満たしている製剤は、安定化のためにアルギニンを必要としない。

【 0 0 1 7 】

本発明のエタネルセプト組成物は、許容されるレベルの顕微鏡を使わなければ見えない粒子を含有する製剤を提供する能力を更に与える。したがって、本発明は、M₃ または T₂ または T₄ において 1 mL 当たり平均で約 10,000 個以下の 5 μm 超のサイズを有する顕微鏡を使わなければ見えない粒子を有する、安定化されたエタネルセプト製剤を更に対象としている。

【 0 0 1 8 】

本発明の安定化されたエタネルセプト組成物は、(a) 約 90 重量%超のモノマー含量および約 3 重量%未満の凝集体含量である M₃ または T₂ または T₄ における SEC 分析ならびに (b) HIC クロマトグラムのピーク 1 により表された組成物の量が約 3 重量%未満であり、HIC クロマトグラムのピーク 2 により表された組成物の量が 80 重量%超であり、HIC クロマトグラムのピーク 3 により表された組成物の量が約 20 重量%未満である、M₃ または T₂ または T₄ における HIC 分析により更に特徴付けられ、ここで、製剤がアルギニンを含まないまたは本質的に含んでいない。

【 0 0 1 9 】

製剤の安定性は、組成物が、場合によって、アルギニンを含まないまたは本質的に含んでいない HIC クロマトグラムのピーク 1 により表された組成物の量が約 1%未満であり、HIC クロマトグラムのピーク 2 により表された組成物の量が約 95 重量%超であり、HIC クロマトグラムのピーク 3 により表された組成物の量が約 3 重量%未満である、M₃ または T₂ または T₄ における HIC 分析を示すことで、更に特徴付けられ得る。

【 0 0 2 0 】

好ましくはアルギニンを含んでいないまたは本質的に含んでいない、好ましい本発明の安定化された組成物は、HIC クロマトグラムのピーク 1 により表された組成物の量が約 2%未満であり、または好ましくは約 1%未満であり、HIC クロマトグラムのピーク 2 により表された組成物の量が約 95 重量%超であり、好ましくは約 97%超であり、HIC クロマトグラムのピーク 3 により表された組成物の量が約 1 重量%未満であり、好ましくは 0%から 1%までである、M₃ または T₂ または T₄ における HIC 分析を示す。これらの分析基準を満たしている製剤は、安定化のためにアルギニンを必要としない。

【 0 0 2 1 】

安定化されたエタネルセプト製剤は、キシリトールに加えて、更なる場合による成分、メグルミン、スクロースおよび塩化ナトリウムを含有していてもよい。したがって、本発明は、約 2.5 mg/ml から 7.5 mg/ml のエタネルセプト、約 1 - 10 重量%のキシリトール、約 1 mM から 30 mM のリン酸ナトリウム、場合によって最大約 5 重量%のメ

10

20

30

40

50

グルミン、場合によって最大約 5 mM の NaCl および場合によって最大約 5 重量 % のスクロースを含む組成物を更に対象としている。

【 0 0 2 2 】

アルギニン含有製剤にして提供される市販のエタネルセプトと差異化されているように、本発明者らは、本明細書中で説明および例示したエタネルセプトの製剤実施形態が、長期的な安定化のためにアルギニンを必要とせず、しかし、所望ならばアルギニンを依然として加えてもよいという点が、米国特許第 7,648,702 号に照らして驚異的であることを見出した。アルギニンをを用いないで安定化されたエタネルセプト製剤を提供する能力は、安定化のためにアルギニンを必要とする現行の市販エタネルセプト製剤（すなわち、エンブレル（登録商標））に比較してより低いコストで入手可能になり得るエタネルセプトの代替製剤を患者および医療供給者に提供することにより、医療制度に關した潜在的に顕著な利益を意味している。

10

【 0 0 2 3 】

本明細書中で使用されるとき、「不安定性」という用語または同様の用語は、望ましくない種々の転換を貯蔵中に受けてしまうという、エタネルセプトモノマーの傾向を表す。このような転換は、本質的に無傷のエタネルセプトモノマーの複数のコピーが種々の非共有結合式吸引（例えば、静電氣的相互作用）を介して相互に不可逆的に会合することになる、オリゴマーおよび高分子量凝集体（以降「凝集体」と呼称される）の形成を含む。貯蔵中の望ましくない転換はまた、より小さなフラグメントおよび／または短縮化された種々のエタネルセプトモノマーの分解も含み得る。理想的には、エタネルセプトの製剤は、貯蔵中にエタネルセプトの凝集体、ミスフォールドされた蛋白質、オリゴマーおよび／またはフラグメントの形成を起こすという製剤の傾向を、可能な上限まで最小化すべきである。望ましくない凝集体またはフラグメントの形成を低減する能力から生じる重要な利益は、薬物の潜在的な毒性および／または免疫原性の低減である。

20

【 0 0 2 4 】

本発明のエタネルセプト製剤は、場合によって好ましくは、アルギニンを含んでいないまたは本質的に含んでいない。「アルギニンを本質的に含んでいない」という用語は、アルギニンが、たとえ存在していたとしても製剤中のエタネルセプトモノマーの安定化に、安定化の観点から当業者がその存在を有益または必要だと判断するほどには寄与していないことを意味するように意図されている。

30

【 0 0 2 5 】

これらの態様およびその他の態様は、下記の説明から明確になるが、本開示における新規な概念の精神および発明の範囲から逸脱することなく理解できる。

【 0 0 2 6 】

前述の概略的な説明および下記の明細書の記載は、例示的および説明的なものにすぎず、特許請求の範囲に記載したように、本発明を限定するものではないことを理解されたい。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 7 】

本発明の様々な実施形態が、ここで詳細に説明される。本明細書および特許請求の範囲全体で使用される単数形は、特に記載がない限り、複数形も含む。また、本明細書中および特許請求の範囲を通して使用されるとき、「in」の意味は、特に記載がない限り、「in」および「on」を含む。更に、本明細書中で使用されている幾つかの用語は、以下でより具体的に規定されている。

40

【 0 0 2 8 】

定義

本明細書中で使用されている用語は一般に、本発明に関する文脈内および各用語が使用されている特定の文脈中において、当分野におけるこれらの通常の意味を有する。本発明を説明するために使用されている特定の用語は、本発明の説明に關する実務者に追加的な手引きを提供するために後述されており、または本明細書中の別の場所で説明されている

50

。特定の用語に関する同義語が、提供されている。1つ以上の同義語についての詳述は、その他の同義語の使用を排除しない。本明細書中で論述した任意の用語の例を含めて、本明細書中のどこであっても例の使用は説明的なものにすぎず、本発明または例示された任意の用語の範囲および意味を決して限定しない。本発明は、本明細書中で与えられた様々な実施形態に限定されはしない。

【0029】

特に定められていない限り、本明細書中で使用されたすべての専門用語および科学技術用語は、本発明が属する分野における当業者により一般的に理解されるものと同じ意味を有する。矛盾がある場合は、定義を含めて本明細書が優先するものとする。

【0030】

「およそ」、「約」または「大体」は一般に、所与の値または範囲の20パーセント以内、10パーセント以内、5、4、3、2または1パーセント以内を意味するものとする。与えられている数量は大体のものであり、「およそ」、「約」または「大体」という用語が、特に記載がなければ推定できることを意味する。

【0031】

「エタネルセプト」または「エタネルセプトモノマー」または「モノマー」という用語は、エンブレル（登録商標）と同義である。これは、ヒトIgG1のFc部分に連結した75キロダルトン（p75）のヒト腫瘍壊死因子受容体（TNFR）の細胞外リガンド結合部分からなる二量体型融合ポリペプチドである、ポリペプチドを指す。これは、934個のアミノ酸からなり、大体150キロダルトンという見かけの分子量を有する。本出願の目的に関しては、「エタネルセプト」という用語はまた、エタネルセプトの機能、効力またはアビディティに顕著に影響しないアミノ酸構造の小さな改質（アミノ酸の欠失、付加および/または置換を含める）を有するエタネルセプトも包摂する。「エタネルセプト」という用語は、エンブレル（登録商標）のすべての形態および製剤を包摂しており、限定されはしないが濃縮製剤、既成注射製剤（injectable ready-to-use formulation）、水、アルコールおよび/またはその他の成分によって戻される製剤等が挙げられる。

【0032】

「糖」という用語は、単糖、二糖および多糖を指す。糖の例には、限定されはしないがスクロース、トレハロース、デキストロース等が挙げられる。

【0033】

「メグルミン」という用語は、1-デオキシ-1-メチルアミノソルビトール、N-メチル-d-グルカミンおよび1-デオキシ-1-メチルアミノ-D-グルシトールとしても知られている、化学式 $H_3NHCH_2(CHOH)_4CH_2OH$ を有する化合物を指す。

【0034】

「マンノシルグリセレート」、「マンノシルラクテート」、「マンノシルグリコレート」および「ジグリセロールホスフェート」という用語は当分野において周知であり、それらの一般的に受け入れられている意味を有する。次の参考文献は、これらの化合物をある程度詳細に説明している：Fariaら、Carbohydrate Res. 2008年、343：3025-3033；Borgesら、Extremophiles 2002年、6：209-216；Fariaら、ChemBioChem 2003年、4：734-741；Sawangwanら、Biotechnol. J. 2010年、5：187-191；およびPaisら、J. Mol. Biol. 2009年、394：237-250。本出願は、これらの参考文献に収載されているこれらの化合物に関する説明を参照により組み込む。

【0035】

「ポリオール」という用語は、複数のヒドロキシル基を内包するアルコールを指す。ポリオールの例には、限定されはしないがマンニトール、ソルビトール等が挙げられる。

【0036】

「長期的な貯蔵」という用語は、医薬組成物が3ヶ月以上の間、6ヶ月以上の間、好ましくは1年間以上の間貯蔵され得ることを意味すると理解されている。長期的な貯蔵はまた、医薬組成物が、2 - 8 の液体として貯蔵されること、または、例えば - 20 において冷凍されることもしくはより冷たくして冷凍されることを意味するとも理解されている。組成物が1回以上冷凍および融解され得ることもまた、予期されている。

【0037】

長期的な貯蔵に関する「安定な」または「安定化された」という用語は、医薬組成物中に含有されたエタネルセプトが、貯蔵の開始における組成物の活性に対するその活性の20%超、またはより好ましくは15%超、または更により好ましくは10%超、最も好ましくは5%超を喪失しないことを意味すると理解されている。

10

【0038】

「哺乳類」という用語は、限定されはしないがヒトを含める。

【0039】

「医薬として許容される担体」という用語は、無毒性で固体、半固体または液体の充填剤、希釈剤、カプセル化材料、製剤助剤、または、任意の慣例的な種類の賦形剤を指す。医薬として許容される担体は、採用された投薬量および濃度でレシピエントに対して無毒性であり、製剤のその他の成分と適合性である。

【0040】

「組成物」という用語は、当分野において慣例的であり治療目的、診断目的または予防目的での対象内への投与に適した、医薬として許容される担体または賦形剤等の担体を通常は含有する混合物を指す。組成物は、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドが細胞中または培養媒体中に存在する、細胞培養物を含み得る。例えば、経口投与用の組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、丸剤、カプセル剤、徐放性製剤、口腔用リンス液または散剤を形成し得る。

20

【0041】

「医薬組成物」および「製剤」という用語は、互換可能に使用される。

【0042】

「処置」という用語は、哺乳類における疾患用の治療薬の任意の投与または施用を指し、例えば、退縮を起こすことまたは喪失した、欠如したもしくは欠損した機能を回復もしくは修復することまたは非効率的なプロセスを刺激することにより疾患を阻害すること、その進行を停止させること、疾患を軽減することを含める。この用語は、所望される薬理学的効果および/または生理学的効果を得ることを含み、哺乳類における病理学的な状態または障害のあらゆる処置を包含する。上記効果は、障害もしくはその症状を完全もしくは部分的に予防する観点から予防的であり得、ならびに/または、障害および/もしくは障害に起因し得る悪影響に対する部分的または完全な治療の観点から治療的であり得る。上記効果は、(1) 障害にかかりやすくなっている恐れがあるが症候性にはまだなっていない対象内で、障害が発生または再発するのを予防すること、(2) 障害を阻害すること、例えばその進行を停止させること、(3) 例えば、喪失した、欠如したもしくは欠損した機能を回復もしくは修復することまたは非効率的なプロセスを刺激することにより障害またはその症状の退縮を起こすこと等、障害または少なくともその付随症状を停止または終結させ、その結果、宿主が障害またはその症状にもはや苦しまなくすること、または(4) 障害またはそれに伴う症状を軽減すること、緩和することまたは改善することを含み、ここで、改善することは、炎症、疼痛および/または腫瘍サイズ等のパラメータの規模の低減を少なくとも指すために広義の意味で使用される。

30

40

【0043】

「疾患」という用語は、医療介入を必要とするまたは医療介入が望ましくなる任意の状態、感染、障害または症候群を指す。このような医療介入は、処置、診断および/または予防を含み得る。

【0044】

「治療的有效量」という用語は、生きた対象に投与された場合、生きた対象に所望の効

50

果をもたらす量を指す。例えば、生きた対象への投与に関する本発明のポリペプチドの有効量は、インテグリン $\alpha 3$ 介在疾患を予防および/または処置する量である。正確な量は処置の目的に依存し、当業者ならば公知の技術を用いて確認することができる。当分野で公知のように、局所的送達に対し全身の送達の調節、年齢、体重、全体的健康感、性別、食事、投与時間、薬物の相互作用および状態の重症度が必要であり得、当業者ならば通例の実験により確認することができる。

【0045】

「 T_1 」という用語は、エタネルセプト製剤が約1週間40℃で貯蔵された時点を示す

「 T_2 」という用語は、エタネルセプト製剤が約2週間40℃で貯蔵された時点を示す

「 T_4 」という用語は、エタネルセプト製剤が約4週間40℃で貯蔵された時点を示す

10

【0046】

「 M_3 」という用語は3つの時点をもとめて指し、特に、5℃の貯蔵温度における約1ヶ月、約2ヶ月または約3ヶ月のいずれかの貯蔵の持続期間後にエタネルセプト製剤に関して観察された分析結果を示す。例えば、 M_3 において実施された分析についての本明細書中での言及は、このような分析が、エタネルセプト製剤が約1ヶ月、約2ヶ月または約3ヶ月から選択される持続期間の間貯蔵された時点で行われることを意味すると理解すべきである。したがって、エタネルセプト製剤が M_3 における特定の分析値または測定値を示すという、本明細書中での要件は、次の貯蔵持続期間：5℃における大体1ヶ月、大体2ヶ月または大体3ヶ月の貯蔵、の少なくとも1つに対応する時点で必須値が観察されるならば、満足される。

20

【0047】

HICクロマトグラフィー結果の論述に関して本明細書中で使用されたときの「ピーク1」、「ピーク2」および「ピーク3」という用語は、米国特許第7,294,481号で論述されたのと同じピーク1、ピーク2およびピーク3を指す。

【0048】

本発明の実施形態

エタネルセプトの水性製剤および凍結乾燥製剤を含めるエタネルセプト（エンブレル（登録商標））を含有する医薬組成物が長期的に貯蔵された場合、エタネルセプトの活性は、凝集によるエタネルセプトモノマーの不安定性および/またはフラグメントおよびオリゴマーの形成を含める化学分解のため、喪失し得るまたは低下し得る。したがって、本発明は、エタネルセプトの安定で長期的な貯蔵を可能にし、その結果、エタネルセプトが液体状態または冷凍状態のいずれかでの貯蔵の間安定になる、エタネルセプトの水性製剤の幾つかの実施形態を提供する。提供される製剤には、限定されはしないが、アルギニンを含む再水和等の余分なステップを全く必要としない製剤が挙げられる。

30

【0049】

これらの実施形態は、以下でより詳細に説明される。

【0050】

エタネルセプト

本発明の組成物のすべては、エタネルセプト（エンブレル（登録商標））を含む。本出願の背景技術の部分で説明したように、エタネルセプトは、ヒトIgG1のFc部分に連結した75キログルトン（p75）のヒト腫瘍壊死因子受容体（TNFR）の細胞外リガンド結合部分からなる二量体型融合ポリペプチドである。エタネルセプトは、934個のアミノ酸からなる。エタネルセプトのFcコンポーネントは、ヒトIgG1の定常重鎖2（CH2）ドメイン、定常重鎖3（CH3）ドメインおよびヒンジ領域を内包する。Fcドメインは、上述したドメインの1つまたはすべてを内包し得る。

40

【0051】

本医薬組成物中での貯蔵に適したエタネルセプトは、抗体の場合におけるハイブリドーマ等、エタネルセプトを発現する生きた宿主細胞により産生することができ、または、融合ポリペプチドまたは抗体の場合におけるポリペプチドを産生するように遺伝子操作され

50

た宿主細胞により産生することができる。細胞を遺伝子操作してポリペプチドを産生する方法は、当分野では周知である。例えば、Ausubel ら、eds. (1990年)、Current Protocols in Molecular Biology (Wiley, New York) を参照されたい。このような方法は、ポリペプチドの発現をコードして可能にする核酸を、生きた宿主細胞中に導入することを含む。これらの宿主細胞は、培養物中で増殖された細菌細胞、真菌細胞、または好ましくは動物細胞であり得る。細菌宿主細胞には、限定されはしないが、エスキリア・コリ (Escherichia coli) 細胞が挙げられる。適切な E. コリ株の例には、HB101、DH5、GM2929、JM109、KW251、NM538、NM539、および、外来 DNA を開裂することがない任意の E. コリ株が挙げられる。使用することができる真菌宿主細胞には、限定されはしないが、サッカロマイセス・セレビシエ (Saccharomyces cerevisiae) 細胞、ピキア・パストリス (Pichia pastoris) 細胞およびアスペルギルス (Aspergillus) 細胞が挙げられる。使用可能な動物細胞系の幾つかの例は、CHO、VERO、BHK、HeLa、Cos、MDCK、293、3T3 および W138 である。新しい動物細胞系は、当業者に周知の方法を用いて (例えば、転換、ウイルス感染および/または淘汰により) 確立され得る。場合によって、エタネルセプトは、宿主細胞により媒体中に分泌され得る。

【0052】

発現したエタネルセプトの精製は、任意の標準法により実施することができる。エタネルセプトが細胞内に産生された場合、粒状残屑は、例えば遠心分離または限外濾過により除去される。エタネルセプトが媒体中に分泌された場合、このような発現系からの上清は、最初に、標準的なポリペプチド濃縮用フィルターを用いて濃縮することができる。プロテアーゼ阻害薬もまた、蛋白質分解を阻害するために加えられ得るし、抗生物質が、微生物の増殖を予防するために含まれ得る。

【0053】

エタネルセプトは、例えば、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析およびアフィニティークロマトグラフィー、ならびに、限定されはしないがプロテイン A クロマトグラフィー、イオン交換カラムによる分画、エタノール沈殿、逆相 HPLC、シリカによるクロマトグラフィー、ヘパリン SEPHAROSE T (登録商標) によるクロマトグラフィー、アニオン交換またはカチオン交換樹脂クロマトグラフィー (ポリアスパラギン酸カラム等)、クロマトフォーカシング (chromatofocusing)、SDS-PAGE および硫酸アンモニウム沈殿が挙げられる公知の精製技術または未発見の精製技術の任意の組合せを用いて、精製することができる。

【0054】

キシリトールによって安定化されたエタネルセプト

本発明は、エタネルセプトならびにエタネルセプトの不安定性、凝集および/またはフラグメント化を阻止するための安定剤を含む、安定化された水性医薬組成物であって、安定剤がキシリトールまたはキシリトールおよびメグルミンの組合せを含む、組成物を提供する。

【0055】

いかなる特定の理論にも拘束されることは望まないが、キシリトールは、望ましくない三元複合体または四元複合体中で会合するというエタネルセプトの傾向を低減し、したがって、エタネルセプトの凝集を低減すると考えられている。推測によると、キシリトールが配座安定剤として作用し、それによりエタネルセプトの凝集する傾向を低減する。凝集の低減は、長期間、例えば2年間以上続くと考えられている。キシリトールの安定化効果は凝集体の低減に限定されないが、エタネルセプトの安定化のその他の態様を含み得る。

【0056】

安定化のためにキシリトールを取り込んで安定化された好ましいエタネルセプト製剤は、安定化がキシリトールおよびメグルミンの組合せにより実現される、エタネルセプトである。

【 0 0 5 7 】

本発明の医薬組成物は、精製されたエタネルセプトをキシリトール、またはメグルミンと組み合わせたキシリトールと組み合わせることにより調製できる。更に、緩衝剤、等張性調整剤および更なる賦形剤およびその他の一般的に使用される不活性成分が、必要に応じて加えられ得る。簡潔性のために、これらは、本明細書において後でより完全に論述される。当業者ならば、組成物中に含まれることになる様々なコンポーネントを組み合わせることは、任意の適切な順番で行うことができることを理解している。例えば、緩衝剤は最初、中間または最後に加えることができ、等張性調整剤も最初、中間または最後に加えることができる。当業者ならば、これらの化学物質の幾つかは、特定の組合せにおいて不適合性であり得、したがって、同様の特性を有する相異なる化学物質により容易に置換されるが、適切な混合物中では適合性であることもまた理解している。

10

【 0 0 5 8 】

本発明のキシリトールにより安定化されたエタネルセプト製剤は、約 25 mg / ml から 75 mg / ml のエタネルセプト、約 1 - 10 重量%のキシリトール、約 1 mM から 30 mM のリン酸ナトリウム、場合によって最大約 5 重量%のメグルミン、場合によって最大約 5 mM の NaCl および場合によって最大約 5 重量%のスクロースを含み得る。

【 0 0 5 9 】

メグルミン、塩化ナトリウムおよびスクロースを更に含有する、キシリトールにより安定化されたエタネルセプト製剤は、キシリトールに加えて、約 1 mM から 100 mM の NaCl、約 1 重量%から 5 重量%のスクロースおよび組成物の約 1 - 5 重量%の量のメグルミンも含み得る。

20

【 0 0 6 0 】

メグルミンの代わりに、本発明はまた、マンノシルグリセレート、マンノシルラクテート、マンノシルグリコレートおよびジグリセロールホスフェートの使用も企図している。

【 0 0 6 1 】

更なる一実施形態において、キシリトールにより安定化されたエタネルセプト製剤は、約 25 mg / ml から約 75 mg / ml のエタネルセプトならびにエタネルセプトの不安定性、凝集および/またはフラグメント化を阻止するための安定剤を含み得、ここで、安定剤が、組成物の最大約 10 重量%を占める量のキシリトールであり、組成物が、約 80 重量%から約 95 重量%のモノマー含量である T_2 における SEC 分析、約 4 重量%未満の、好ましくは約 3 重量%未満の凝集体含量である T_2 における SEC 分析および約 8 重量%未満の、好ましくは約 6 重量%未満のフラグメント 3 含量である T_2 における SEC 分析を特徴とし、組成物が、約 6.0 の pH から約 pH 7.0 の、より好ましくは約 6.0 から約 6.6 の、最も好ましくは約 6.3 から約 6.5 の pH を有する。

30

【 0 0 6 2 】

キシリトールまたはメグルミンと組み合わせたキシリトールを含有する上記で言及したエタネルセプト製剤等、安定化されたエタネルセプト製剤において、製剤は、より好ましくは、

(a) 約 90 重量%超、91 重量%超、92 重量%超、93 重量%超、94 重量%超、95 重量%超、96 重量%超または 97 重量%超のモノマー含量および約 3 重量%未満、2 重量%未満または 1 重量%未満の凝集体含量である T_4 における SEC 分析、ならびに、

40

(b) HIC クロマトグラムのピーク 1 により表された組成物の量が約 3 重量%未満、2 重量%未満または 1 重量%であり、HIC クロマトグラムのピーク 2 により表された組成物の量が 80 重量%超、81 重量%超、82 重量%超、83 重量%超、84 重量%超または 85 重量%超であり、HIC クロマトグラムのピーク 3 により表された組成物の量が約 20 重量%未満、19 重量%未満、18 重量%未満、17 重量%未満、16 重量%未満、15 重量%未満、14 重量%未満または 13 重量%である、 T_2 における HIC 分析、ならびに、

(c) HIC クロマトグラムのピーク 1 により表された組成物の量が約 3 重量%未満、2 重量%未満または 1 重量%未満であり、HIC クロマトグラムのピーク 2 により表された

50

組成物の量が 80 重量%超、81 重量%超、82 重量%超、83 重量%超、84 重量%超または 85 重量%超であり、HIC クロマトグラムのピーク 3 により表された組成物の量が 20 重量%未満、19 重量%未満、18 重量%未満、17 重量%未満、16 重量%未満、15 重量%未満、14 重量%未満または 13 重量%である、 T_4 における HIC 分析を特徴とする。

【0063】

「SEC」、「 T_2 」、「 T_4 」、「HIC」、「モノマー含量」、「凝集体」および「フラグメント 3」、「ピーク 1」、「ピーク 2」および「ピーク 3」という用語は、以下の実施例において規定されている。

【0064】

キシリトールまたはメグルミンと組み合わせたキシリトールを含有する特に好ましい製剤は、HIC クロマトグラムのピーク 1 により表された組成物の量が約 1%未満であり、HIC クロマトグラムのピーク 2 により表された組成物の量が約 95 重量%超であり、好ましくは約 99 重量%超であり、HIC クロマトグラムのピーク 3 により表された組成物の量が約 1 重量%未満である、 T_4 または T_2 における HIC 分析を有することを特徴とする。具体的なキシリトールにより安定化された製剤は、詳細な例において提供されている。

【0065】

本発明はアルギニンの使用を排除しないが、本発明による安定化用のキシリトールを含むエタネルセプト製剤は、アルギニンを含まないまたは本質的に含んでいない。

【0066】

提供される医薬組成物の更なるコンポーネント

本発明の製剤はまた、緩衝剤、等張性調整剤、賦形剤、医薬として許容される担体およびその他の一般的に使用される医薬組成物の不活性成分も含み得る。簡潔性のために、これらは、本出願において後でより完全に論述される。

【0067】

緩衝剤は、pH を所望の範囲に維持する。適切な緩衝剤には、ヒスチジン、リン酸カリウム、クエン酸ナトリウムまたはクエン酸カリウム、マレイン酸、酢酸アンモニウム、トリス - (ヒドロキシメチル) - アミノメタン (トリス)、様々な形態のアセテートおよびジエタノールアミンが挙げられる。製剤中での緩衝剤の濃度は、好ましくは約 1 mM から約 1 M の間であり、より好ましくは約 10 mM から約 200 mM の間である。緩衝剤は当分野では周知であり、公知の方法により製造され、販売業者から入手することもできる。

【0068】

適切な緩衝剤の例は、ホスフェート、ヒスチジン、シトレート、マレエート、タルトレート、スクシネート、アセテート、トリス - (ヒドロキシメチル) - アミノメタン (トリス)、ピカルボネートである。

【0069】

好ましい一実施形態において、緩衝剤はリン酸ナトリウムである。

【0070】

好ましい一実施形態において、医薬組成物の pH は、生理的レベルになっているまたは付近にある。したがって、好ましくは、提供される組成物の pH は、約 5.8 から約 8.4 の間であり、更により好ましくは約 6.2 から約 7.4 の間である。当業者ならば、pH は、特定の製剤中でのエタネルセプトの安定性および溶解度を最大化するために、必要に応じて調節され得ることを理解している。したがって、生理的範囲外だが患者が耐えられる pH のエタネルセプト製剤もまた、本発明の範囲内である。

【0071】

等張性調整剤は、溶液の質量オスモル濃度に寄与する分子である。医薬組成物の質量オスモル濃度は、好ましくは、有効成分の安定性を最大化し、および/または投与の際の患者への不快感を最小化するように調節される。一般には、医薬組成物が血清と等張であること、すなわち、等張性調整剤の添加により実現される同一または同様の質量オスモル濃

10

20

30

40

50

度を有することが好ましい。

【 0 0 7 2 】

好ましい一実施形態において、提供される製剤の質量オスモル濃度は、約 1 8 0 m O s M から約 4 2 0 m O s M までである。しかしながら、質量オスモル濃度は、特定の条件の要求に応じて、より高くなることまたはより低くなることのいずれもあり得ると理解すべきである。

【 0 0 7 3 】

質量オスモル濃度を調整するのに適した等張性調整剤の例には、限定されはしないが、アミノ酸（アルギニンを含めない）（例えば、システイン、ヒスチジンおよびグリシン）、塩（例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウムおよびクエン酸ナトリウム）および／または糖類（例えば、スクロース、グルコースおよびマンニトール）が挙げられる。

【 0 0 7 4 】

好ましい等張性調整剤は、グリシン、アラニン、塩化ナトリウム、塩化カリウムおよび硫酸ナトリウムである。

【 0 0 7 5 】

好ましい一実施形態において、製剤中での等張性調整剤の濃度は、好ましくは約 1 m M から約 1 M の間であり、より好ましくは約 1 0 m M から約 2 0 0 m M までである。等張性調整剤は当分野では周知であり、公知の方法により製造され、販売業者から入手することもできる。

【 0 0 7 6 】

溶液になっていても（同様に乾燥された形態または冷凍された形態になっていても）ポリペプチドを安定化する、化学添加剤、共溶質または共溶媒とも呼ばれる賦形剤もまた、医薬組成物に加えてよい。賦形剤は当分野では周知であり、公知の方法により製造され、販売業者から入手することもできる。

【 0 0 7 7 】

適切な賦形剤の例には、限定されはしないが、スクロース、ラクトース、グリセロール、キシリトール、ソルビトール、マンニトール、マルトース、イノシトール、トレハロース、グルコース等の糖／ポリオール、血清アルブミン（ウシ血清アルブミン（B S A）、ヒト S A または組換え H A）、デキストラン、ポリ（ビニアルコール）P V A、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）、ポリエチレンイミン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン（P V P）、ヒドロキシエチルセルロース（H E C）等のポリマー、多価アルコール（例えば、P E G およびグリセロール）およびジメチルホルムアミド（D M F）等の非水性溶媒、プロリン、L - セリン、グルタミン酸ナトリウム、アラニン、グリシン、リシンヒドロクロリド、サルコシンおよび - アミノ酪酸等のアミノ酸、T w e e n（登録商標）- 8 0（ポリソルベート 8 0）、T w e e n（登録商標）- 2 0（ポリソルベート 2 0）、S D S、ポリソルベート、ポロキサマー等の界面活性剤、ならびに、リン酸カリウム、酢酸ナトリウム、硫酸アンモニウム、硫酸マグネシウム、硫酸ナトリウム、トリメチルアミン N - オキシド、ベタイン、金属イオン（例えば、亜鉛、カルシウムおよびマグネシウム）、C H A P S、モノラウレート、2 - O - - マンノグリセレート等の種々の賦形剤、または上記の任意の組合せが挙げられる。

【 0 0 7 8 】

好ましい賦形剤は、スクロース、ラクトース、グリセロール、キシリトール、ソルビトール、マンニトール、マルトース、イノシトール、トレハロース、グルコース、ウシ血清アルブミン（B S A）、ヒト血清アルブミン（H S A）、組換えアルブミン、デキストラン、P V A、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）、ポリエチレンイミン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン（P V P）、ヒドロキシエチルセルロース（H E C）、ポリエチレングリコール、エチレングリコール、グリセロール、アラニン、グリシン、リシンヒドロクロリド、サルコシン、S D S、ポリソルベート 2 0、ポリソルベート 8 0、ポロキサマー 1 8 8、トリメチルアミン N - オキシド、ベタイン、亜鉛イオン、カルシウムイオン、マグネシウムイオン、C H A P S、スクロースモノラウレートおよび 2 - O -

- マンノグリセレートである。

【0079】

本発明の製剤中での1つ以上の賦形剤の濃度は、好ましくは約0.001重量パーセントから5重量パーセントの間であり、より好ましくは約0.1重量パーセントから2重量パーセントまでである。

【0080】

処置の方法

別の実施形態において、本発明は、治療的有效量の本発明の医薬組成物を哺乳類に投与することを含む、哺乳類を処置する方法を提供し、ここで、哺乳類が、エタネルセプトによって有益に処置され得る疾患または障害を有する。

10

【0081】

好ましい一実施形態において、エタネルセプトは、組成物によって処置しようとするものと同じ種の哺乳類に由来する。

【0082】

好ましい一実施形態において、哺乳類はヒトである。

【0083】

提供される組成物によって処置され得る疾患または障害には、限定されはしないが、関節リウマチ、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、ウェゲナー疾患（肉芽腫症）、クローン病（または炎症性腸疾患）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、C型肝炎、子宮内膜症、喘息、悪液質、乾癬およびアトピー性皮膚炎が挙げられる。本発明の組成物によって処置され得る追加的な疾患または障害には、WO00/62790、WO01/62272、米国特許出願第2001/0021380号米国および特許7,648,702B2で説明されたものが挙げられ、これらの関連部分は、参照により本明細書に組み込む。

20

【0084】

提供される医薬組成物は、処置を必要としている対象に対して、静脈注射等の注射により全身に投与することもできるし、または、適切な部位への注射もしくは施用により投与することもできるし、例えば部位が手術を受けている場合における部位への直接注射もしくは直接施用により投与することもできるし、または局所的施用により投与することもできる。

【0085】

一実施形態において、本発明は、それを必要としている哺乳類に、治療的有效量の提供されるエタネルセプト組成物の1つを投与することを含む、関節リウマチの処置および/または予防の方法を提供する。

30

【0086】

提供される組成物中でのエタネルセプトの治療的有效量は、処置しようとする状態、状態の重症度、先行療法ならびに患者の病歴および治療剤への応答に依存する。適当な用量は、患者に1回投与され得るまたは一連の投与にわたって投与され得るように、担当医の判断に従って調節することができる。

【0087】

一実施形態において、成人用量当たりの効果的なエタネルセプト量は、約1-500mg/m²までであり、または約1-200mg/m²までであり、または約1-40mg/m²までであり、または約5-25mg/m²までである。

40

【0088】

代替的には、固定用量が投与され得、その量は、2-500mg/用量、2-100mg/用量または約10-80mg/用量の範囲であり得る。

【0089】

用量が1週間当たり1回より多く投与されることになるならば、例示的な用量範囲は、前述した用量範囲と同じでありまたはより低く、好ましくは、用量当たり25-100mg/用量の範囲において1週間当たり2回以上投与される。

【0090】

50

別の実施形態において、注射による投与に関して許容される用量は、80 - 100 mg / 用量を含み、または代替的には、用量当たり80 mgを含む。

【0091】

用量は、毎週投与してもよいし、隔週で投与してもよいし、または数週間（例えば2週間から8週間）隔てて投与してもよい。

【0092】

一実施形態において、エタネルセプトは、単回皮下（SC）注射により、25 mg / ml から75 mg / ml までで投与される。

【0093】

ある場合において、患者の状態の改善は、最大約100 mgの用量の医薬組成物を、1週間当たり1回から3回までで、少なくとも3週間の期間にわたって投与することにより得られる。より長い期間の処置が、所望の改善度を誘起するために必要になり得る。不治の慢性状態に関しては、レジメンは無期限に継続され得る。小児科患者（4 - 17歳）に関しては、適切なレジメンは、0.4 mg / kg から5 mg / kgの用量のエタネルセプトを、1週間当たり1回以上投与することを含み得る。

【0094】

別の実施形態において、本発明の医薬製剤は、バルク製剤にして調製することもでき、したがって、医薬組成物のコンポーネントは、投与に必要とされることになるものより高く調節され、投与前に適切に希釈される。

【0095】

医薬組成物は、必要に応じて、単独の治療薬として投与してもよいし、または追加的な療法と組み合わせて投与してもよい。したがって、一実施形態において、提供される処置および/または予防の方法は、治療的有效量の別の活性作用物質の投与と組み合わせて使用される。他の活性作用物質は、本発明の医薬組成物の投与前、投与中または投与後に投与され得る。別の活性作用物質は、提供される組成物の一部として投与してもよいし、または代替的には別個の製剤として投与してもよい。

【0096】

提供される医薬組成物の投与は、様々な方法で実現され得、非経口投与、経口投与、口腔内投与、舌下投与、経鼻投与、直腸投与、腹腔内投与、皮内投与、経皮投与、皮下投与、静脈内投与、動脈内投与、心臓内投与、脳室内投与、頭蓋内投与、気管内投与、脊髄内投与、筋肉内注射、硝子体内注射および局所的施用が挙げられる。

【0097】

本発明の医薬組成物は、非経口投与、すなわち皮下投与、筋肉内投与、静脈内投与、腹腔内投与、脳脊髄内投与、関節内投与、滑液嚢内投与、硝子体内投与および/または脊髄内投与に関して特に有用である。非経口投与は、大量注射または連続注入によるものであり得る。注射用の医薬組成物は、更なる保存剤と一緒に単位剤形中で提供してもよく、例えば、アンプル中または多回用量容器中で提供してもよい。更に、近年幾つかの薬物送達手法が開発されてきており、本発明の医薬組成物は、これらの新しい方法、例えば、Inject-ease（登録商標）、Genject（登録商標）、GenPen（登録商標）等の注入ペン、ならびにMedijector（登録商標）およびBiojector（登録商標）等の無針デバイスを用いた投与に適している。本医薬組成物はまた、未発見の投与方法にも適合され得る。Langer、1990年、Science、249：1527 - 1533もまた参照されたい。

【0098】

提供される医薬組成物はまた、デポ製剤として処方することもできる。このような長時間作用型製剤は、移植（例えば皮下移植または筋肉内移植）または筋肉内注射により投与することができる。したがって、例えば、製剤は、適切なポリマー材料または疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂、またはやや難溶の誘導体として、例えばやや難溶の塩として改質してもよい。

【0099】

医薬組成物は、所望ならば、有効成分を含有する1つ以上の単位剤形を内包し得るバイアル、パックまたは分注デバイスに入れて提供され得る。一実施形態において、分注デバイスは、注射用に準備された単回用量の液体製剤を有する注射器を含み得る。注射器は、投与に関する説明書が付随していてもよい。

【0100】

別の実施形態において、本発明は、本発明の水性医薬組成物を内包するキットまたは容器を対象としている。水性医薬組成物中でのポリペプチドの濃度は幅広い範囲であり得るが、一般には、水性製剤1ミリリットル当たり約0.05マイクログラムから約20,000マイクログラム($\mu\text{g}/\text{ml}$)の範囲内である。キットはまた、使用に関する説明書を伴っていてもよい。

10

【0101】

本発明は、その中での数多くの修正および変更が当業者には明白であるため説明的なものにすぎないとして意図された下記の実施例において、より詳細に説明される。

【実施例】

【0102】

キシリトールによって安定化されたエタネルセプト

好ましくはアルギニンを用いず、キシリトールによって安定化されたエタネルセプト製剤は、以下に概ね説明されている手順を用いて調製および試験することができる。

【0103】

各固体製剤コンポーネントは、所与の体積の製剤緩衝剤のために必要とされる量に計量する。これらのコンポーネントは、所与の体積の製剤緩衝剤の運搬および測定ができるビーカーまたは容器中に合わせて入れられる。目標の所与の製剤緩衝剤の大体3/4に等しい体積の脱イオン水がビーカーに加えられ、コンポーネントが次いで可溶化される。緩衝剤のpHは、1Mの水酸化ナトリウムおよび/または1Mの塩化水素を用いて、目標の製剤pHに調節される。最終的な製剤緩衝剤体積は次いで、脱イオン水の添加により目標の体積まで増大された。エタネルセプト蛋白質溶液は、透析材料製ハウジング(Thermo Scientific Slide-A-Lyzer MINI 透析装置10,000MWCO等)に入れられ、エタネルセプト蛋白質溶液は次いで、4で12時間所望の製剤緩衝剤と接触させる。製剤緩衝剤体積と蛋白質溶液体積との比は、1000:1以上にすべきである。透析ハウジングおよびそれを含む蛋白質溶液は次いで、4で更に12時間、等しい体積の第2の製剤緩衝剤中に入れられる。得られた蛋白質溶液は、透析材料製ハウジングから除去され、蛋白質の濃度が紫外分光法を用いて測定される。蛋白質濃度は、遠心分離(Amicon Ultra10,000MWCO遠心濃縮器等)および/または製剤緩衝剤による希釈を用いて、所望のレベルに調節される。

20

30

【0104】

組成物は、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)、変性SEC(dSEC)、疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)、ナトリウムドデシルスルフェートポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)により、長期的な安定性に関して試験することができるし、様々な時点における結合および生体活性に関して試験することもできる。生体活性は、任意の数の周知のアッセイにより測定することができる。

40

【0105】

例えば、サイズ排除クロマトグラフィーの技術は、Haweら、Pharm. Res. 2011年、28:2302および/またはvan Marrschalk erweerdら、Eur. J. Pharm. Biopharm. 2011年、78:213で説明されている。同様に、変性サイズ排除クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィーおよびナトリウムドデシルスルフェート-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の技術もまた、当業者には周知である。

【0106】

組成物は、2年間以上の期間にわたって安定と考えられている。以下に例示された組成物は、アルギニンを含有しない。

50

【 0 1 0 7 】

【 表 1 】

(製剤1:17)

| 成分 | 濃度 |
|---------------------|------------|
| エタネルセプト(有効成分) | 50 mg/ml |
| リン酸ナトリウム、pH6.3(不活性) | 25 mM |
| キシリトール(不活性) | 10 % (w/v) |

10

【 0 1 0 8 】

【 表 2 】

(製剤2:10)

| 成分 | 濃度 |
|----------------------|-----------|
| エタネルセプト(有効成分) | 50 mg/ml |
| リン酸ナトリウム、pH6.31(不活性) | 25 mM |
| キシリトール(不活性) | 6 % (w/v) |

20

【 0 1 0 9 】

【 表 3 】

(製剤2:11)

| 成分 | 濃度 |
|---------------------|-------------|
| エタネルセプト(有効成分) | 50 mg/ml |
| リン酸ナトリウム、pH6.3(不活性) | 25 mM |
| キシリトール(不活性) | 2.5 % (w/v) |
| スクロース(不活性成分) | 5 % (w/v) |

30

【 0 1 1 0 】

【 表 4 】

(製剤2:18)

| 成分 | 濃度 |
|---------------------|-------------|
| エタネルセプト(有効成分) | 50 mg/ml |
| リン酸ナトリウム、pH6.4(不活性) | 25 mM |
| キシリトール(不活性) | 2.5 % (w/v) |
| メグルミン(不活性) | 2.5 % (w/v) |

40

【 0 1 1 1 】

【表 5】

(製剤2:19)

| 成分 | 濃度 |
|----------------------|-------------|
| エタネルセプト(有効成分) | 50 mg/ml |
| リン酸ナトリウム、pH6.24(不活性) | 10 mM |
| キシリトール(不活性) | 2.5 % (w/v) |
| メグルミン(不活性) | 2.5 % (w/v) |
| NaCl(不活性) | 2.5 % (w/v) |
| スクロース(不活性) | 1 % (w/v) |

10

【 0 1 1 2 】

[実施例 2]

エタネルセプトの調製

ステップ 1 . 細胞増殖。 当分野で公知の方法により、産生バイオリアクターの播種のために十分な数の細胞を産生するのに必要な細胞増殖が、エタネルセプト融合蛋白質を発現する CHO 細胞のクローンを用いて実施される。この発現プロセスの産生物（採取した細胞培養液）は、更なる不純物と一緒に、正確に折り畳まれたエタネルセプトの混合物、ならびに正確に折り畳まれたエタネルセプトおよび / または凝集したエタネルセプトを生じさせる。このような蛋白質混合物を含む採取した細胞培養液は、界面活性剤によるウイルス不活性化を施される。

20

【 0 1 1 3 】

ステップ 2 . アフィニティークロマトグラフィー。 アフィニティークロマトグラフィーは、上記のステップ 1 の慣例的なプロテイン A アフィニティークラムを用いて周知の方法により得られて採取した細胞培養物に対して実施される。産生物回収は大体 85 % である。得られた産生物は、正確に折り畳まれたエタネルセプト、不正確に折り畳まれたエタネルセプト、ならびに / または正確に折り畳まれたエタネルセプトおよび / もしくは不正確に折り畳まれたエタネルセプトの凝集体、または蛋白質フラグメントを含む、複合蛋白質混合物である。このプロテイン A アフィニティークラム精製ステップから得られた産生物は、pH 3 . 5 に調節され、次いでウイルス不活性化ステップを施される。ウイルス不活性化の後、産生物は pH 5 . 5 に調節され、購入したカプセルフィルターを用いた公知の方法により更に澄清化される。

30

【 0 1 1 4 】

ステップ 3 A . ミックスモードカチオン交換クロマトグラフィー。 31 . 8 L (45 cm の直径 x 20 cm の層高さ) 充填層 GE Healthcare Canto MM C クロマトグラフィーカラムが、上記のステップ 2 で得られた産生物を精製するために使用される。使用前に、カラムは、2 CV の 25 mM アセテート pH 5 . 5 によって平衡にされ、2 CV の 0 . 1 N NaOH、1 M NaCl で消毒され、2 CV の 25 mM アセテート、0 . 7 M NaCl、pH 5 . 5 で中和される。カラムは次いで、流出液が pH 5 . 5 および 3 . 5 mS / cm になるまで、8 - 10 CV の 25 mM アセテート pH 5 . 5 によって平衡にされる。上記のステップ 2 からのプロテイン A プールは、WFI によって 6 mS / cm に希釈され、各サイクルのために最大 15 g / 媒体 L のカラム充填に適用される。カラムは、200 cm / h の線速度において動作して、6 分間の滞留時間を与える。充填後、カラムは、2 CV の 25 mM アセテート pH 5 . 5 で洗浄される。産生物は次いで、8 . 5 CV の、25 mM アセテート pH 5 . 5 から、25 mM アセテート、0 . 7 M NaCl、pH 5 . 5 で 15 % から 85 % のグラジエントで溶離される。産生物収集は、0 . 15 OD (A280、1 . 0 cm の経路長) で始まり、収集は、ピー

40

50

ク最大値の50%で終了する。溶出液体積は大体5CVである。残留している産生物および汚染物質は、2CVの10mM Tris、1M NaCl、pH8.0によってカラムから取り除かれ、廃棄される。ミックスモードカラムから得られた産生物は、Millipore Opticap XL10、0.22µm Duraporeカプセルフィルター(0.69m²)を用いて濾過される。このステップから得られた産生物は、ステップ2で得られたプロテインA材料の約70%の回収を表す。

【0115】

ステップ3B. ミックスモードアニオン交換クロマトグラフィー。 27.0L(45cmの直径×17cmの層高さ)充填層GE Healthcare Canto Adhere クロマトグラフィーカラムが、上記のステップ3Aで得られた産生物を更に精製するために使用される。使用前に、カラムは、2CVの25mM Tris、pH8.0によって平衡にされ、2CVの0.1N NaOH、1M NaClで消毒され、2CVの25mM Tris、pH8.0で中和されて平衡にされる。産生物充填の前に、カラムは、3CVの10mM Tris、pH8.0によって平衡にされる。上記のステップ3AからのCanto MMCプールは、プール1kg当たり約0.045kgの1M Tris、pH8.3によって、pH8.1に調節される。上記のステップ3Aからの産生物は、伝導率を12.0mS/cmおよびpH8.0に調節するために、WFIによって1:3.8においてインライン希釈された。得られた材料は次いで、最大15g/媒体Lのカラム充填に適用される。カラムは、170cm/hの線速度において動作して、6分の滞留時間を与える。充填後、カラムは、2CVの25mM Tris、pH8.0で洗浄される。産生物は次いで、10CVの25mM Tris、pH8.0から、10mM Tris、1M NaCl、pH8.0グラジエント(20%から90%まで)で溶離される。産生物収集は、0.15OD(A280、1.0cmの経路長)で始まり、収集は、ピーク最大値の25%で終了する。溶出液体積は4-6CVである。溶離された産生物は、市販のカプセルフィルターを用いて濾過され、次いで公知の方法により、ウイルス濾過ステップおよびタンジェンシャルフロー濾過ステップを施される。ステップ3Bからの全体的な産生物回収(最後のウイルス濾過ステップおよびタンジェンシャルフロー濾過ステップを含める)は、大体68%だった。濾過ステップ前に測定された産生物回収は、約75%だった。このステップからの溶出画分に関して得られたHICデータの概略図は、図12で表されている。

【0116】

分析: この例で得られる最後の濾過産生物は、HICにより測定された約90重量%超の正確に折り畳まれたエタネルセプト、HICにより測定された5重量%未満の不正確に折り畳まれたエタネルセプト種、HIC分析による約3重量%未満の短縮化された材料(そのTNFR部分が切り落とされているエタネルセプトのフラグメントであると考えられる)、ならびに、サイズ排除クロマトグラフィーにより測定された95重量%超の正確に折り畳まれたエタネルセプトおよび不正確に折り畳まれたエタネルセプトの合計量を有することが見出される。

【0117】

エタネルセプト製剤の分析

【0118】

A. 熱安定性貯蔵

透析および濃縮の後、上記で例示したエタネルセプト製剤の試料は、バイオセーフティキャビネット内で濾過滅菌された。滅菌されたピペットおよびオートクレーブ処理されたピペット先端を用いて、エタネルセプト製剤の試料は、予めラベル付けされてオートクレーブ処理された1mL凍結乾燥バイアルに移された。バイアルは、無菌ブチルストッパーで栓をされ、アルミニウムキャップで圧着された。すべてのバイアルは次いで、熱安定性オープンに移された。試料は、(1)40で2週間および(2)25で4週間という、2つの熱安定性レジームを施された。本明細書を通して、これらの2つの温度レジームは、それぞれ「T₂」および「T₄」と表される。

【0119】

B．サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）

本明細書中で開示されたエタネルセプト製剤は、分析物がサイズにより分離されるサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）、高速液体クロマトグラフィー法の周知の技術を用いて分析された（Rogner, M. (2000). *Size Exclusion Chromatography. Protein Liquid Chromatography*. M. Kastner. Amsterdam, Elsevier. 61: 89 - 145を参照されたい。）。上述したエタネルセプトの試料の熱安定性を評価するために、試料は、文献（van Maarschalkerweerd, A., G. J. Wolbinkら (2011). 「Comparison of analytical methods to detect instability of etanercept during thermal stress testing.」 *European Journal of Pharmaceuticals and Biopharmaceutics* 78 (2): 213 - 221）に基づいたSEC方法により検査された。移動相緩衝剤は、50 mMのリン酸ナトリウム塩基性水和物および150 mMのアルギニンを含むように調製された。pHは、1 MのHClを用いて6.5に調節された。すべての分離は、Tosoh TSK - ゲルG4000 SWx1 7.8 mM x 30 cm（型番8542）に線形に取り付けられた、Tosoh TSK - ゲル SWx1 6 mM x 4 cmガードカラム（型番8543）を用いて実施された。分離を実施するために、カラムは室温（23℃）にされ、0.5 mL / 分の流量で移動相によって平衡にされた。5マイクロリットルの50 mg / mLエタネルセプト製剤が、オートサンプラを用いてカラムに注入された。分離は、0.5 mL / 分の流量で30分間かけて達成された。カラム溶離液は、この時間中に280 nmの波長で監視された。

【0120】

C．サイズ排除クロマトグラフィークロマトグラムの統合

すべての統合は、Chromeleonソフトウェア（Dionex）を用いて実施された。統合前に、エタネルセプトを含むしない緩衝剤に関するSECクロマトグラムは、すべてのクロマトグラムから差し引かれた。すべての統合は、12分間の保持時間と26分間の保持時間の間に実施された。幾つかのパラメータが、ピークを規定するために使用された。検出されたピークに関する最小面積は、0.05 mAu * minにセットされた。ピーク検出に関する二次元感度は、0.01 mAuおよび75秒にセットされた。ピークの肩部分は、手動式統合ツールを用いて手動により加えられた。すべての検出されたピークは、2つのステップで手動により調節された。最初に、ピークベースライン（ピークの底部境界）が水平に調節された。二番目に、ピークベースラインの垂直位置が、クロマトグラムベースラインの垂直位置に調節された。クロマトグラムベースライン値は、分析物が存在しないときのシグナルとして規定された。分析物が存在しないときのシグナルは、12分間の保持時間でのmAuにおける吸光度として規定された。

【0121】

D．エタネルセプト製剤のSEC画分

上述したエタネルセプト製剤のSEC分析では、3つのSECクロマトグラフィー画分が、同定されて研究された。分析された画分は、SECカラムからの溶離の順番において、（1）無傷のエタネルセプト分子間の非共有結合式静電的吸引を介しておそらくは集合した、無傷のエタネルセプトTNFR : FC融合蛋白質の凝集体（以下、「凝集体」または凝集体含量）を表す高分子量画分、（2）無傷のエタネルセプトTNFR : FC融合蛋白質を表すモノマー含量（以下、「モノマー含量」の「モノマー」と呼ぶ）、（3）分子のヒンジ領域における融合蛋白質のFab部分のアームの喪失の際に、TNFR : 分子融合蛋白質の一部がモノマーから開裂されることになった、1個のフラグメントまたはエタネルセプト分子のフラグメントの母集団をおそらくは表す画分だった。SECにより測定される最も一般的なフラグメントまたは短縮化された種は、フラグメント3と呼ばれる。SEC分析を実施した際、凝集体が最初に溶離し、続いてモノマーが溶離し、続

いてフラグメント3が溶離するのが観察される。

【0122】

下記の表は、上述したSEC分析により測定された凝集体、モノマーおよびフラグメント3の相対量を示している。

【0123】

【表6】

表1

モノマーのSEC分析

注記:表1、表2および表3で報告された量は、重量によるパーセンテージである

10

$T_0=5^\circ\text{C}$ に維持しておいて生成の24時間以内に分析された製剤。

$T_1=40^\circ\text{C}$ で1週間貯蔵された製剤

$T_2=40^\circ\text{C}$ で2週間貯蔵された製剤

| 製剤番号 | t_0 | t_1 | t_2 |
|-----------------------|-------|-------|--------------|
| 商用エンブレル (比較用)[1:2] | 98.81 | 92.58 | 87.64 |
| 1:17 | 98.02 | 93.90 | 87.53 |
| 2:10 | 98.09 | — | 87.56 |
| 2:11 | 98.10 | — | 88.03 |
| 2:18 | 98.10 | — | 89.19 |
| 2:19 | 98.19 | — | 89.63 |

20

【0124】

【表7】

30

表2

凝集体のSEC分析

| 製剤番号 | t_0 | t_1 | t_2 |
|------------------|-------|-------|-------|
| 商用エンブレル (比較用) | 0.09 | 0.59 | 1.02 |
| 1:17 | 0.31 | 0.70 | 2.17 |
| 2:10 | 0.29 | — | 2.57 |
| 2:11 | 0.31 | — | 1.68 |
| 2:18 | 0.29 | — | 1.53 |
| 2:19 | 0.26 | — | 1.24 |

40

【0125】

【表 8】

表3

フラグメント3の分析

| 製剤番号 | t_0 | t_1 | t_2 |
|------------------|-------|-------|-------------|
| 商用エンブレル (比較用) | 0.00 | 3.30 | 6.29 |
| 1:17 | 0.00 | 2.33 | 4.10 |
| 2:10 | 0.00 | — | 5.10 |
| 2:11 | 0.00 | — | 5.68 |
| 2:18 | 0.00 | | 4.24 |
| 2:19 | 0.00 | | 4.34 |

10

【 0 1 2 6 】

エタネルセプト製剤の H I C 分析

H I C クロマトグラフィーは、当分野で公知であり参照により本明細書に組み込む米国特許 7, 2 9 4, 4 8 1 において概ね説明された方法により、実施することができる。試料は、 t_0 (5 における調製の 2 4 時間以内) で評価され、2 5 における貯蔵の 2 週間 (t_2) または 2 5 における貯蔵の 4 週間後のいずれかで再び評価される。本発明の製剤の H I C クロマトグラムにおいて、H I C クロマトグラム中のピーク 1 は、S E C データについての論述において上記で言及されたように、S E C を用いて同定されて定量化される「フラグメント 3」であるまたはこれを含むと考えられており、ピーク 2 は、S E C データについての論述において上記で言及されたエタネルセプトモノマーであり、ピーク 3 は、S E C データについての論述において上記で言及された「凝集体」を含む。更に、ここで使用される「ピーク 1」、「ピーク 2」および「ピーク 3」という用語はまた、参照により本明細書に組み込む米国特許 7, 2 9 4, 4 8 1 の図 4 で言及して開示された H I C ピーク 1、ピーク 2 およびピーク 3 への参照も成していると理解すべきである。

20

30

【 0 1 2 7 】

本発明のその他の実施形態は、本明細書中で開示された特許明細書および本発明の実施を考慮すれば当業者には明らかであろう。本明細書および実施例は、例示的なものにすぎず、本発明の範囲および精神は、下記の特許請求の範囲により示されている。

フロントページの続き

(72)発明者 マーフィ, ブライアン

アメリカ合衆国、コロラド・80526、フォート・コリンズ、ウェスト・プロスペクト・1708

審査官 伊藤 基章

(56)参考文献 特表2005-527503(JP, A)

特表2010-529999(JP, A)

国際公開第2006/132363(WO, A1)

国際公開第2012/165917(WO, A1)

国際公開第2013/006454(WO, A1)

国際公開第2012/143418(WO, A1)

特表2014-522402(JP, A)

特表2014-518276(JP, A)

特表2014-519484(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00

A61K 9/00

A61K 47/00

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)