

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7637618号
(P7637618)

(45)発行日 令和7年2月28日(2025.2.28)

(24)登録日 令和7年2月19日(2025.2.19)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	38/02 (2006.01)	A 6 1 K	38/02
A 6 1 K	9/10 (2006.01)	A 6 1 K	9/10
A 6 1 K	47/14 (2017.01)	A 6 1 K	47/14
A 6 1 K	47/10 (2017.01)	A 6 1 K	47/10
A 6 1 K	47/22 (2006.01)	A 6 1 K	47/22
請求項の数 11 (全37頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-527899(P2021-527899)	(73)特許権者	597160510
(86)(22)出願日	令和1年11月21日(2019.11.21)		リジェネロン・ファーマシューティカル
(65)公表番号	特表2022-532965(P2022-532965		ズ・インコーポレイテッド
	A)		REGENERON PHARMACE
(43)公表日	令和4年7月21日(2022.7.21)		UTICALS, INC.
(86)国際出願番号	PCT/US2019/062596		アメリカ合衆国10591-6707ニ
(87)国際公開番号	WO2020/106948		ューヨーク州タリータウン、オールド・
(87)国際公開日	令和2年5月28日(2020.5.28)		ソー・ミル・リバー・ロード777番
審査請求日	令和4年11月17日(2022.11.17)	(74)代理人	100083806
(31)優先権主張番号	62/770,337		弁理士 三好 秀和
(32)優先日	平成30年11月21日(2018.11.21)	(74)代理人	100095500
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 伊藤 正和
		(74)代理人	100111235
			弁理士 原 裕子
		(74)代理人	100195257
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 高濃度タンパク質製剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】
非水性高濃度タンパク質製剤であって、
a. 微細化固体タンパク質製剤として約200mg/mL～約600mg/mLの治療用タンパク質と、
b. Miglyol (登録商標) 812、Miglyol 810、CAPTEX (商標) 300、またはCAPTEX INJ 300を含む疎水性剤と、
c. エタノール、ベンジルアルコール、酢酸エチル、N-メチル-2-ピロリドン、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される粘度低下剤と、を含む、前記非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項2】
前記微細化固体タンパク質製剤が、噴霧乾燥された、請求項1に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項3】
前記微細化固体タンパク質製剤が、前記疎水性剤及び前記粘度低下剤中に、10,000mL中約1mg未満の溶解性を有する、請求項1に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項4】
前記微細化固体タンパク質製剤が、粉末の形態であり、好ましくは前記製剤において前記粉末がトリロイシンを含む、請求項1に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項5】

前記粉末と前記非水性高濃度タンパク質製剤との重量比（ w/w ）が、約 0.250 を超える、請求項 4 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項 6】

前記粉末が、前記治療用タンパク質、炭水化物、アミノ酸、または非イオン性界面活性剤を含む、請求項 4 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項 7】

前記炭水化物が、スクロース、マンニトール、またはトレハロースであり、および／または

前記アミノ酸が、ヒスチジンまたはプロリンであり、および／または

前記非イオン性界面活性剤が、ポリソルベートであり、好ましくは前記ポリソルベートがポリソルベート 20、ポリソルベート 40、ポリソルベート 60、ポリソルベート 80、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、

請求項 6 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項 8】

前記タンパク質の濃度（ $\%w/w$ ）が、少なくとも約 70%である、請求項 6 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項 9】

前記非水性高濃度タンパク質製剤が、約 50 ニュートン（N）未満の注射摺動力を有し、好ましくは前記注射摺動力が約 30 ニュートン（N）未満である、請求項 1 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項 10】

前記治療用タンパク質が、モノクローナル抗体である、請求項 1 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【請求項 11】

前記粘度低下剤がベンジルアルコールである、請求項 1～8 のいずれかに記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、治療用タンパク質の高濃度タンパク質製剤を作製する組成物及び方法に関する。

【背景技術】

【0002】

高濃度タンパク質製剤を含むバイオ医薬品の皮下投与を用いることには多くの利点がある。皮下投与製剤の利点としては、（i）自己投与が可能であること、（ii）使用しやすさ、（iii）入院費、ひいては治療費の削減、及び（iv）患者コンプライアンスの向上が挙げられる。これらの利点は、喘息、乾癬、または関節疾患などの慢性疾患の治療において特に重要である。結果として、皮下投与に依存する市販のバイオ医薬品が増加している。

【0003】

しかしながら、製剤の物理化学的特性、製剤中の治療用タンパク質の安定性、タンパク質の凝集と溶液濃度の相関関係、ならびに皮下薬物送達装置のための体積及び注射力（injection force）の物理的制限を含め、皮下投与のための高濃度タンパク質製剤の開発を成功させるには多くの課題がある。さらに、抗体及び受容体 Fc 融合タンパク質などの治療用タンパク質は、患者への投与に適した分子を作製するだけでなく、保管中及び投与部位でそれらの安定性を維持する方法で製剤化されるべきである。

【0004】

したがって、これまでタンパク質の体積寄与に基づいて高濃度タンパク質製剤の利用可能性を制限してきた課題を克服する必要がある。

【発明の概要】

【0005】

本発明は、治療用タンパク質の高濃度タンパク質製剤を作製する組成物及び方法に関する。より具体的には、本発明は、概して、約50ニュートン(N)未満の注射摺動力(injection glide force)を有し少なくとも200mg/mLの治療用タンパク質を有する高濃度タンパク質製剤を作製する組成物及び方法に関する。これらの製剤は、特に皮下投与に適している。

【0006】

本発明は、高濃度タンパク質製剤に従来付随してきた課題を克服することによって、少なくとも200mg/mLの治療用タンパク質を含む高濃度タンパク質製剤の必要性を満たす。本発明の高濃度タンパク質製剤は、治療用タンパク質に加えて適切なビヒクルを含み得る。例えば、本発明のある特定の実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i)治療用タンパク質と、(ii)疎水性剤と、(iii)粘度低下剤と、を含み得る。

【0007】

例えば、一例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i)少なくとも200mg/mLの治療用タンパク質と、(ii)25%~75%v/vの疎水性剤と、(iii)25%~75%v/vの粘度低下剤と、を含み得る。疎水性剤は、SASOL、ヒマワリ油、キャスター油、グリセロール、オレイン酸エチル、トリグリセリド、またはこれらの組み合わせから選択され得る。トリグリセリドは、グリセリルトリカプリレート/トリカプリレート(Miglyol(登録商標) 812、Miglyol 810、Miglyol 818、Miglyol 829、Miglyol 840、CAPTEX(商標) 300、CAPTEX INJ 300、CAPTEX INJ 335など)、グリセリルトリカプリレート、及びトリアセチン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。一例示的な実施形態では、疎水性剤は、Miglyol 812Nである。粘度低下剤は、エタノール、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、酢酸エチル、N-メチル-2-ピロリドン、乳酸エチル、PEG 400、またはこれらの組み合わせから選択され得る。一例示的な実施形態において、粘度低下剤は、ベンジルアルコールである。この実施形態の別の態様では、高濃度タンパク質製剤は、2つ以上のトリグリセリドを含み得る。

【0008】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、シリンジ通針性(syringability)及び/または安定性を最適化するために微細化(micronized)される。一例示的な実施形態では、微細化タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される。高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質粉末としてのタンパク質の濃度は、約200mg/mL~約600mg/mL、好ましくは約300mg/mL~約600mg/mL、より好ましくは約400mg/mL~約600mg/mLである。

【0009】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤に含まれる微細化タンパク質粉末中の治療用タンパク質は、賦形剤とともに製剤化される。例えば、高濃度タンパク質製剤中の賦形剤は、(i)炭水化物、(ii)アミノ酸、及び(iii)非イオン性界面活性剤を含み得る。炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、トレハロース、またはこれらの組み合わせから選択され得る。アミノ酸は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、L-ロイシン、トリ-ロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、L-スレオニン、2-フェニルアミン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20(PS-20)、ポリソルベート28、ポリソルベート40(PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80(PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド(Ri-O-(CH₂)_x-R(式中、Rは独立して、CH₃またはシクロヘキシル(C₆H₁₁)であり、Riは独立して、グルコースまたはマルトースであり、x=3~15)、Pluro

10

20

30

40

50

n i c F 1 2 7、またはこれらの組み合わせから選択され得る。

【0010】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤は、製剤の分散性を増加させるための添加剤を含んでもよい。添加剤は、ポリビニルアルコール、トリロイシン、または低水溶性の任意の他の既知ポリマー、またはこれらの組み合わせから選択される。

【0011】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、シリンジ通針性及び／または安定性を最適化するために微細化される。一例示的な実施形態では、微細化タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される。高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質粉末としてのタンパク質の濃度は、約200mg/mL～約600mg/mL、好ましくは約300mg/mL～約600mg/mL、より好ましくは約400mg/mL～約600mg/mLである。

【0012】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤に含まれる微細化タンパク質粉末中の治療用タンパク質は、賦形剤とともに製剤化される。例えば、高濃度タンパク質製剤中の賦形剤は、(i)炭水化物、(ii)アミノ酸、及び(iii)非イオン性界面活性剤を含み得る。炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、トレハロース、またはこれらの組み合わせから選択され得る。アミノ酸は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、L-ロイシン、トリ-ロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、L-スレオニン、2-フェニルアミン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20 (PS-20)、ポリソルベート28、ポリソルベート40 (PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80 (PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド (Ri-O-(CH₂)_x-R (式中、Rは独立して、CH₃またはシクロヘキシル (C₆H_n) であり、Riは独立して、グルコースまたはマルトースであり、x=3～15)、Pluronic F127、またはこれらの組み合わせから選択され得る。

【0013】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤は、約50N未満、または40N未満、または35N未満、または30N未満、または25N未満、または20N未満の注射力 (injection force) を示す。

【0014】

本発明の一例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i)少なくとも約200mg/mLの治療用タンパク質と、(ii)約25%～約75%のMiglyol 812Nと、(iii)約25%～約75%のベンジルアルコールと、を含む。

【0015】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、シリンジ通針性及び／または安定性を最適化するために微細化される。一例示的な実施形態では、微細化タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される。高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質粉末としてのタンパク質の濃度は、約200mg/mL～約600mg/mL、好ましくは約300mg/mL～約600mg/mL、より好ましくは約400mg/mL～約600mg/mLである。

【0016】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤に含まれる微細化タンパク質粉末中の治療用タンパク質は、賦形剤とともに製剤化される。例えば、高濃度タンパク質製剤中の賦形剤は、(i)炭水化物、(ii)アミノ酸、及び(iii)非イオン性界面活性剤を含み得る。炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、トレハロース、またはこれらの組み合わせから選択され得る。アミノ酸

10

20

30

40

50

は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、L-ロイシン、トリ-ロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、L-スレオニン、2-フェニルアミン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20 (PS-20)、ポリソルベート28、ポリソルベート40 (PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80 (PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド ($Ri-O-(CH_2)_x-R$ (式中、Rは独立して、 CH_3 またはシクロヘキシル (C_6H_n) であり、Riは独立して、グルコースまたはマルトースであり、 $x=3\sim 15$)、Pluronic F127、またはこれらの組み合わせから選択され得る。

10

【0017】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤は、約50N未満、または40N未満、または35未満、または30N未満、または25N未満、または20N未満の注射力を示す。

【0018】

本発明の別の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i) 少なくとも約200mg/mLの治療用タンパク質と、(ii) 約25%~約75%のMiglyol 812N、及び(iii) 約25%~約75%のエタノールと、を含む。

【0019】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、シリンジ通針性及び/または安定性を最適化するために微細化される。一例示的な実施形態では、微細化タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される。高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質粉末としてのタンパク質の濃度は、約200mg/mL~約600mg/mL、好ましくは約300mg/mL~約600mg/mL、より好ましくは約400mg/mL~約600mg/mLである。

20

【0020】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤に含まれる微細化タンパク質粉末中の治療用タンパク質は、賦形剤とともに製剤化される。例えば、高濃度タンパク質製剤中の賦形剤は、(i) 炭水化物、(ii) アミノ酸、及び(iii) 非イオン性界面活性剤を含み得る。炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、トレハロース、またはこれらの組み合わせから選択され得る。アミノ酸は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、L-ロイシン、トリ-ロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、L-スレオニン、2-フェニルアミン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20 (PS-20)、ポリソルベート28、ポリソルベート40 (PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80 (PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド ($Ri-O-(CH_2)_x-R$ (式中、Rは独立して、 CH_3 またはシクロヘキシル (C_6H_n) であり、Riは独立して、グルコースまたはマルトースであり、 $x=3\sim 15$)、Pluronic F127、またはこれらの組み合わせから選択され得る。

30

40

【0021】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤は、約50N未満、または40N未満、または35未満、または30N未満、または25N未満、または20N未満の注射力を示す。

【0022】

本発明の別の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i) 少なくとも約200mg/mLの治療用タンパク質と、(ii) 約25%~約75%のMiglyol

50

810Nと、(iii) 約25%～約75%のベンジルアルコールと、を含む。

【0023】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、シリンジ通針性及び／または安定性を最適化するために微細化される。一例示的な実施形態では、微細化タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される。高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質粉末としてのタンパク質の濃度は、約200mg/mL～約600mg/mL、好ましくは約300mg/mL～約600mg/mL、より好ましくは約400mg/mL～約600mg/mLである。

【0024】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤に含まれる微細化タンパク質粉末中の治療用タンパク質は、賦形剤とともに製剤化される。例えば、高濃度タンパク質製剤中の賦形剤は、(i) 炭水化物、(ii) アミノ酸、及び(iii) 非イオン性界面活性剤を含み得る。炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、トレハロース、またはこれらの組み合わせから選択され得る。アミノ酸は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、L-ロイシン、トリ-ロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、L-スレオニン、2-フェニルアミン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20 (PS-20)、ポリソルベート28、ポリソルベート40 (PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80 (PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド ($R_i - (CH_2)_x - R$ (式中、Rは独立して、 CH_3 またはシクロヘキシル (C_6H_{11}) であり、 R_i は独立して、グルコースまたはマルトースであり、 $x = 3 \sim 15$)、Pluronic F127、またはこれらの組み合わせから選択され得る。

【0025】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤は、約50N未満、または40N未満、または35N未満、または30N未満、または25N未満、または20N未満の注射力を示す。

【0026】

本発明の別の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i) 少なくとも約200mg/mLの治療用タンパク質と、(ii) 約25%～約75%のトリアセチンと、(iii) 約25%～約75%のベンジルアルコールと、を含む。

【0027】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、シリンジ通針性及び／または安定性を最適化するために微細化される。一例示的な実施形態では、微細化タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される。高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質粉末としてのタンパク質の濃度は、約200mg/mL～約600mg/mL、好ましくは約300mg/mL～約600mg/mL、より好ましくは約400mg/mL～約600mg/mLである。

【0028】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤に含まれる微細化タンパク質粉末中の治療用タンパク質は、賦形剤とともに製剤化される。例えば、高濃度タンパク質製剤中の賦形剤は、(i) 炭水化物、(ii) アミノ酸、及び(iii) 非イオン性界面活性剤を含み得る。炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、トレハロース、またはこれらの組み合わせから選択され得る。アミノ酸は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、L-ロイシン、トリ-ロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、L-スレオニン、2-フェニルアミン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20 (PS-20)、ポリソルベート28、

10

20

30

40

50

ポリソルベート40 (PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80 (PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド ($Ri-(CH_2)_x-R$ (式中、Rは独立して、 CH_3 またはシクロヘキシル (C_6H_{11}) であり、Riは独立して、グルコースまたはマルトースであり、 $x=3\sim15$)、Pluronic F127、またはこれらの組み合わせから選択され得る。

【0029】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤は、約50N未満、または40N未満、または35N未満、または30N未満、または25N未満、または20N未満の注射力を示す。

10

【0030】

本発明の別の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i) 少なくとも約200mg/mLの治療用タンパク質と、(ii) 約25%~約75%のトリグリセリドと、(iii) 約25%~約75%のベンジルアルコールと、を含む。

【0031】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、シリンジ通針性及び/または安定性を最適化するために微細化される。一例示的な実施形態では、微細化タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される。高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質粉末としてのタンパク質の濃度は、約200mg/mL~約600mg/mL、好ましくは約300mg/mL~約600mg/mL、より好ましくは約400mg/mL~約600mg/mLである。

20

【0032】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤に含まれる微細化タンパク質粉末中の治療用タンパク質は、賦形剤とともに製剤化される。例えば、高濃度タンパク質製剤中の賦形剤は、(i) 炭水化物、(ii) アミノ酸、及び(iii) 非イオン性界面活性剤を含み得る。炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、トレハロース、またはこれらの組み合わせから選択され得る。アミノ酸は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、L-ロイシン、トリ-ロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、L-スレオニン、2-フェニルアミン、またはこれらの組み合わせから選択され得る。非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20 (PS-20)、ポリソルベート28、ポリソルベート40 (PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80 (PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド ($Ri-(CH_2)_x-R$ (式中、Rは独立して、 CH_3 またはシクロヘキシル (C_6H_{11}) であり、Riは独立して、グルコースまたはマルトースであり、 $x=3\sim15$)、Pluronic F127、またはこれらの組み合わせから選択され得る。

30

【0033】

本実施形態の一態様では、高濃度タンパク質製剤は、約50N未満、または40N未満、または35N未満、または30N未満、または25N未満、または20N未満の注射力を示す。

40

【0034】

本発明の高濃度タンパク質製剤は、薬学的製剤を保管するのに有用な任意の好適な容器内に含有され得る。そのような好適な容器の例としては、例えば、ガラスまたはプラスチックバイアル、シリンジ、及びカートリッジが挙げられる。容器は、透明または不透明 (例えば、琥珀色) であってもよい。ある特定の例示的な実施形態では、バイアルまたはシリンジは、二酸化シリコンなどのシリコンでコーティングされる。ある特定の例示的な実施形態では、バイアル内の頭部空間は、抗体の安定性に悪影響を及ぼし得る存在する

50

酸素を置き換えるために不活性ガスで満たされる。かかる不活性ガスを、窒素またはアルゴンから選択してもよい。一例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、予め充填されたシリンジ内に含有されてもよい。

【0035】

本発明のこれら及び他の態様は、以下の記載及び添付の図面と併せて考慮されるときに、より認識され、理解されるであろう。以下の説明は、様々な実施形態及びその多数の具体的な詳細を示しながら、例証として与えられるが、限定するものではない。本発明の範囲内で、多くの置換、修正、追加、または再配置が行われ得る。

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図1】本発明の実施形態による、高濃度懸濁剤のタンパク質安定性及びシリンジ通針性に影響を与える因子の例示的な要約である。

【0037】

【図2】Miglyol 810N中の粘度低下剤（溶媒）を含むビヒクルの摺動力をニュートン（N）で示す折れ線グラフである。X軸は、ビヒクル中の粘度低下剤（溶媒）の割合（溶媒%として）を示す。閉ダイヤモンド形（◇）のデータ点は、Miglyol 810N中にNMPを含むビヒクルを表し、閉正方形（□）のデータ点は、Miglyol 810N中に酢酸エチルを含むビヒクルを表し、閉三角形（△）のデータ点は、Miglyol 810N中にエタノールを含むビヒクルを表す。Y軸は、分注力をニュートン（N）で示す。

【0038】

【図3】本発明の例示的な実施形態による疎水性剤及び粘度低下剤（例えば、溶媒）を含むビヒクルの分注力（dispensing force）（例えば、持続される力（sustained force））を示す折れ線グラフである。X軸は、ビヒクル中の粘度低下剤の割合（溶媒%として）を示す。閉正方形（□）のデータ点は、Miglyol 812N中にベンジルアルコールを含むビヒクルを表し、閉三角形（△）のデータ点は、Miglyol 812N中にオレイン酸エチルを含むビヒクルを表し、閉丸印（●）のデータ点は、Miglyol 812N中にエタノールを含むビヒクルを表し、十字（×）のデータ点は、25%のエタノール、25%のPEG400、及び50%のMiglyol 812Nを有するビヒクルを表し、開丸印（○）のデータ点は、Miglyol 810N中にエタノールを含むビヒクルを表す。Y軸は、分注力をニュートン（N）で示す。

【0039】

【図4】本発明の例示的な実施形態に従って調製されたmAb1を含有する高濃度懸濁液の分注力を示す散布図である。X軸は、ビヒクル中の粘度低下剤（溶媒）の割合（溶媒%として）を示す。閉丸印（●）のデータ点は、Miglyol 812N中にベンジルアルコールを含むビヒクルを表し、閉ダイヤモンド形（◆）のデータ点は、Miglyol 812N中にエタノールを含むビヒクルを表し、開ダイヤモンド形（◇）のデータ点は、Miglyol 810N中にエタノールを含むビヒクルを表す。Y軸は、分注力をニュートン（N）で示す。

【0040】

【図5】本発明の例示的な実施形態に従って調製されたmAb1を含有する高濃度懸濁液の分注力に対する微細化タンパク質粉末懸濁濃度の影響を例示する棒グラフである。X軸は、ビヒクル1mL当たりの噴霧乾燥粉末の重量をmgで表す。Y軸は、分注力をニュートン（N）で示す。

【0041】

【図6】シリンジ通針性に関して異なるタンパク質粉末の挙動を示す棒グラフである。Y軸は、分注力をニュートン（N）で示す。

【0042】

【図7】本発明の例示的な実施形態に従って調製された懸濁ビヒクル中のmAb1の物理的安定性を示す棒グラフである。X軸は、以下の異なる粘度低下剤（例えば、溶媒）を示

10

20

30

40

50

す：M i g l y o l 812Nを有するが粘度低下剤（例えば、溶媒）を有さない対照試料；M i g l y o l 812N中に25%エタノール（E t O H）を含むビヒクル；M i g l y o l 812N中に25%乳酸エチル（E L）を含むビヒクル；3つの独立した調製物としてM i g l y o l 812N中に25%安息香酸ベンジル（B B）を含むビヒクル；M i g l y o l 812N中に75%ベンジルアルコールを含むビヒクル。Y軸は、サイズ排除超高速クロマトグラフィー（S E C - U P L C）により、室温において1日で未変性（native）コンホメーション（予測される流体力学的半径）を有するタンパク質m A b 1の相対的割合を示す。

【0043】

【図8】本発明の例示的な実施形態に従って調製されたビヒクル中の治療用タンパク質の安定性を示す折れ線グラフである。X軸は、室温でのインキュベーション時間を時間単位で示す。開四角形（□）のデータ点は、50% v / v ベンジルアルコール及びM i g l y o l 812Nを含むビヒクル中のm A b 1の製剤を表し、閉ダイヤモンド形（◇）のデータ点は、50% v / v ベンジルアルコール及びM i g l y o l 812Nを含むビヒクル中のm A b 3の製剤を表し、閉丸印（○）のデータ点は、50% v / v ベンジルアルコール及びM i g l y o l 812Nを含むビヒクル中のm A b 2の製剤を表す。Y軸は、S E C - U P L Cによる、未変性コンホメーション（予測される流体力学的半径）を有するタンパク質m A b 1の相対的割合を示す。

【発明を実施するための形態】

【0044】

具体的な方法及び実験条件は変わり得るので、本発明は、記述された具体的な方法及び実験条件に限定されないことが理解される必要がある。本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるために、本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明する目的だけのためのものであり、限定することを意図するものではないことも理解されるべきである。

【0045】

バイオ医薬品の皮下投与を用いる多くの利点には、自己投与が可能であること、使用しやすさ、入院費の削減、ひいては、治療費の削減、及び患者コンプライアンスの向上などがある。さらに、タンパク質は、典型的には、溶液ではなく固体状態でより安定しており、固体状態ではタンパク質粒子間で分子相互作用が最小限になることが予想されるため、タンパク質は、同等に高濃度の溶液と比較して、このような高濃度懸濁液においてより安定していることが予想され得る。しかしながら、皮下投与のための高濃度タンパク質製剤の開発に成功するには多くの課題がある（D a s e t a l.（2015）“C o m m e r c i a l i z i n g H i g h - C o n c e n t r a t i o n m A b s.” B i o P h a r m I n t e r n a t i o n a l 29（11）：47-49；J o h n s o n, B., & R o s t o v t s e v, A（2017）“H i g h C o n c e n t r a t i o n B i o l o g i c F o r m u l a t i o n s : C h a l l e n g e s a n d S o l u t i o n s. D r u g D i s c o v. D e v e l o p.” p. O n l i n e ; S. J., S., S h a h r o k h, Z., & L i u, J.（2004）“C h a l l e n g e s i n t h e d e v e l o p m e n t o f h i g h p r o t e i n c o n c e n t r a t i o n f o r m u l a t i o n s.” J. P h a r m. S c i. 93（6）：1390-1402）。

【0046】

皮下投与の場合、実行可能な高濃度タンパク質製剤（例えば、200mg / mL超）のために、特に製造及び加工の考慮事項、保管安定性、ならびに予め充填されたシリンジ投与装置との適合性に関して、粘度及びタンパク質の安定性が主要な制限となり得る。例えば、製剤中の治療用タンパク質（例えば、抗体）は、溶液が適切に製剤化されない限り、分解、凝集、及び／または望ましくない化学修飾を受けやすい。製剤中のタンパク質の安定性は、製剤中で使用される賦形剤の種類だけでなく、可溶性タンパク質の濃度とともに、それらの賦形剤の互いに対する量及び割合に依存する。

【0047】

これらの課題のために、市販認可されているモノクローナル抗体薬物製品の大部分は、低濃度のタンパク質（例えば、100mg/ml未満）で製剤化され、特に腫瘍医学のための注射を通じて静脈内投与される（Wang（1999）“Instability, stabilization, and formulation of liquid protein pharmaceuticals.” Intl. J. Pharm. 185, 129–188; Shire（2004）“Formulation and manufacturability of biologics.” Curr. Opin. Biotechnol. 20（6）, 708–714; Garidel and Bassarab（2008）In Quality for Biologics: Critical Quality Attributes, Process and Change Control, Production Variation, characterization, Impurities and Regulatory Concerns pp. 94–113. Publishing, London, UK）。したがって、タンパク質の体積寄与に基づいてこれまで高濃度タンパク質製剤の利用可能性を制限してきた課題を克服する必要がある。（Garidel et al. “High-concentration protein formulations: how high is high?” Eur. J. Pharm. and Biopharm.（2017）119: 353–360; Johnson, B., & Rostovtsev, A（2017, 06 29）“High Concentration Biologic Formulations: Challenges and Solutions.” Drug Discov. Develop. p. Online）。

10

20

【0048】

治療用タンパク質の高濃度タンパク質製剤の開発には、注射力とともに、タンパク質の安定性、溶液粘度、ピヒクル毒性の評価が必要である。患者への皮下投与のための安定性を維持しながら、少なくとも200mg/mLのタンパク質を供給することができる、かかる高濃度タンパク質製剤に対する当該技術分野における必要性が依然として存在する。

【0049】

200mg/mLを超える高濃度タンパク質製剤の開発は、複数の課題と関連付けられ得、これらは、当該技術分野で広範囲に、例えば、次において、論じられてきた：Shire（2004）“Formulation and manufacturability of biologics.” Curr. Opin. Biotechnol. 20（6）, 708–714; Warne et al.（2011）Development of high concentration protein biopharmaceuticals: The use of platform approaches in formulation development. Eur. J. Pharm. Biopharm. 78, 208–212; Garidel et al.（2015）Prediction of colloidal stability of high concentration protein formulations. Pharm Dev. Technol. 20（3）, 367–374; Allmendinger et al.（2015）Sterile Filtration of Highly Concentrated Protein Formulations: Impact of Protein Concentration, Formulation Composition, and Filter Material. Pharm. Biotechnol. 104, 3319–3329）。

30

40

【0050】

高濃度タンパク質製剤を作製する組成物及び方法について考慮され得るいくつかの重要な因子がある。第1は、ピヒクルの選択である。ピヒクルは、高濃度タンパク質製剤のレオロジー及び注射針通過性特性に影響を及ぼし得る。ほとんどのピヒクルは、疎水性剤を粘度低下剤と組み合わせる。タンパク質の安定性を確保するためには、タンパク質及び製

50

剤賦形剤が両方の成分において無視可能な程度に可溶性であることが重要であり得る。ビヒクルの選択及び粘度低下剤対疎水性剤の比率は、タンパク質の安定性、溶液粘度、コロイド安定性、及びビヒクル毒性を含むいくつかの因子に依存し得る。

【0051】

本発明は、高濃度タンパク質製剤を調製するのに好適であり治療用タンパク質が安定するビヒクル組成物を同定することを含む。ビヒクルを評価するために使用される基準には、室温で3～24時間後のタンパク質の安定性及び回復（例えば、懸濁して投与するために必要な時間）、ならびに1mLのBD Hypak 予充填シリンジ（PFS）において27gのTW針を通して懸濁液を分注するのに必要な注射力（例えば、プラトーでの）が含まれる。限定された安定性についての原則は、少なくとも治療用タンパク質がビヒクル中で懸濁され投与されるときに安定でなければならないことである。製剤は理想的にはPFS内に充填され保管されるが、保管のために疎水性剤中に懸濁し投与の直前に粘度を低下させるために粘度低下剤を添加すること、またはカスタム装置を使用して投与の直前に疎水性剤／粘度低下剤ビヒクル中に懸濁することを含め、製剤化のために使用することができる他の可能性のあるアプローチもある。疎水性剤及び粘度低下剤を有するビヒクル組成は、明確な目的を果たす。疎水性剤は、保管中及び投与中の両方においてコロイド安定性を有する懸濁を確保し、粘度低下剤は粘度を低下させるように作用する。

【0052】

いくつかの例示的な実施形態では、疎水性剤は、SASOL、ヒマワリ油、キャスター油、グリセロール、オレイン酸エチル、トリグリセリド、またはこれらの組み合わせから選択される。いくつかの実施形態では、疎水性剤は、限定されないが、Miglyol 810N、Miglyol 812N、トリアセチン、またはこれらの組み合わせなどのトリグリセリドであり、粘度低下剤は、エタノール、ベンジルアルコール、酢酸エチル、N-メチル-2-ピロリドン、またはこれらの組み合わせから選択される。

【0053】

高濃度懸濁製剤を作製する組成剤及び方法のために考慮すべき第2の因子は、治療用タンパク質の物理的特性である。この文脈において最適化された製剤は、懸濁中でのタンパク質濃度を最大化するために、高いタンパク質含有量及び最小限の賦形剤を有する。高濃度タンパク質製剤のコロイド不安定性は、より高い濃度でより顕著である（Wagner et al. (2012) *Colloids and Surfaces: Physicochem. Eng. Aspects* 415, 421–430; Shire (2004) “*Formulation and manufacturability of biologics.*” *Curr. Opin. Biotechnol.* 20 (6), 708–714; Warne et al. (2011) “*Development of high concentration protein biopharmaceuticals: The use of platform approaches in formulation development.*” *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 78, 208–212; Garidel et al. (2015) “*Prediction of colloidal stability of high concentration protein formulations.*” *Pharm Dev. Technol.* 20 (3), 367–374; and Wagner et al. (2012) “*The electrokinetic potential of therapeutic proteins and its modulation: Impact on protein stability*” *Colloids and Surfaces: Physicochem. Eng. Aspects* 415, 421–430)。ある特定の場において、タンパク質安定性を克服するために、液体製剤の代替として高濃度製剤用に凍結乾燥製剤が開発された（Cao et al. (2013) “*Rational design of lyophilized high concentration protein formulations—mitigating the challenge of slow reconstitution with multidisciplinary*”

10

20

30

40

50

y strategies" Eur. J. Pharm. Biopharm. 85, 287-293)。しかしながら、凍結乾燥高濃度タンパク質製剤の再構成時間は、30分以上にも及び極めて長くなることが観察された (Garidel et al. (2015) "Stability of buffer-free freeze-dried formulations: A feasibility study of a monoclonal antibody at high protein concentrations" Eur. J. Pharm. Biopharm. 97, 125-139)。

【0054】

噴霧乾燥は、タンパク質を安定化するための実現可能なアプローチとして出現しているが、タンパク質を安定化するための他の方法もまた、利用することができる。タンパク質の物理的特性及び製剤の対応するコロイド特性は、噴霧乾燥などのプロセスに依存し得る。例えば、ミクロン範囲で粒子サイズを増加させることは、実際には、特により高い懸濁濃度において、注射力を低下させ得ることが示されており (例えば、米国特許第9,072,668号を参照されたい)、また、半球粒子は、所与の注射力に対して球状粒子よりも遅く分散すると予測され、同じサイズ及び組成の球状粒子よりも分注の際に針が詰まる可能性が高いことが、インシリコで実証されている。(Whitaker et al. (2011) "Particle size and shape effects in medical syringe needles: experiments and simulations for polymer microparticle injection." Mater Sci: Mater Med, 22:1975-1983)。これらの報告は、医療装置を通じて分注されるコロイド懸濁液を具体的に参照しているが、粉末特性、粒径、及び懸濁媒がコロイド懸濁液の流動体特性にどのように影響を与えるかについての様々な研究も存在する。例えば、学術誌Powder Technologyに掲載されたある論文は、浚渫装置に関連するコロイド懸濁液について研究しているが、15~40 µmの範囲で粒径を増加させると、懸濁粘度の固体含有量への依存性が低下し、高懸濁濃度でのずり粘稠化の傾向は、より小さな粒子(6 µm)を増加させると低下することを強調している。(Konijin et al (2014) "Experimental study of the viscosity of suspensions: effect of solid fraction, particle size and suspending liquid." Powder Technology 266:61-59)。

高濃度タンパク質製剤のタンパク質安定性及びシリンジ通針性に影響を及ぼす因子についてのまとめを図1に示す。

【0055】

いくつかの添加剤は、噴霧乾燥タンパク質粒子の分散性を改善することができ、これらの添加剤の選択は、治療用タンパク質及び製剤中のその量に依存する。例えば、添加剤は、アミノ酸、炭水化物、界面活性剤及び／または水溶性ポリマーを含んでもよい。

【0056】

具体的な方法及び実験条件は変わり得るので、本発明は、記述される特定の方法及び条件に限定されない。また、本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明する目的のためのものであり、限定することを意図するものではないと理解されるべきである。

【0057】

別段定義されない限り、本明細書で使用される技術用語及び科学用語はすべて、本発明の属する当該技術分野の当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に説明されるものと類似のまたは等価の任意の方法及び材料を実施または試験に使用することができるが、特定の方法及び材料について以下に説明する。言及されるすべての刊行物は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0058】

定義

本明細書で使用される用語は、文脈を提供するために以下の意味を付与されるものとし、本明細書の他の箇所に別段の指示がない限り、通常及び慣習的な意味を変更または限定

10

20

30

40

50

することを意図するものではない。

【0059】

用語「a」は、「少なくとも1つ」を意味すると理解されるべきであり、用語「約」及び「およそ」は、当業者によって理解されるような標準的なバリエーションを許容すると理解されるべきであり、範囲が提供される場合、エンドポイントは包含される。

【0060】

本明細書で使用される場合、用語「含む (include)」、「含む (includes)」、及び「含む (including)」は、非限定的であることを意味し、それぞれ「含む (comprise)」、「含む (comprises)」、及び「含む (comprising)」を意味すると理解される。

【0061】

高濃度タンパク質製剤の開発は、いくつかの製造、安定性、分析、及び送達の課題をもたらす。本発明の高濃度タンパク質製剤は、この課題を克服しようとする。

【0062】

高濃度タンパク質製剤

本明細書で使用される場合、「高濃度」という用語は、製剤中の治療用タンパク質の少なくとも約200 mg/mLの最終濃度を意味する。例示的な実施形態では、治療用タンパク質の高濃度は、約200 mg/mL以上であり得る。

【0063】

本明細書で使用される場合、「タンパク質製剤」という用語は、1つ以上の薬学的に許容されるビヒクルとともに製剤化される治療用タンパク質を指す。いくつかの実施形態では、治療用タンパク質は、治療レジメンにおいて投与に適切な単位用量で存在する。

【0064】

本明細書で使用される場合、「懸濁液」という用語は、一般に液体であるビヒクルである第2の相全体にわたって、無視可能な程度に可溶性な固体粒子が分散されている製剤を指す。懸濁液という用語は、固体材料の粒子サイズに関わらず分散体を表す。しかしながら、固体材料の粒子サイズは、その物理的挙動及び化学的挙動の両方に影響を及ぼし得るため、通常、最大約1 µmの粒子サイズ範囲を有するコロイドまたはコロイド懸濁液と、より大きな粒子を有する「粗 (coarse) 分散体」とが区別される。本明細書で使用される懸濁液という用語は、一般に約0.1 µm～約10 µmの範囲の固体粒子を有する懸濁液に加えて、これらの懸濁液の種類の両方を網羅する。懸濁液は、複数の粒子相互作用をもたらす複数の粒子から構成される。これらの相互作用は、ある程度、個々の粒子の周りの拡散層の相互作用と考えることができ、したがって、電氣的二重層が粒子間相互作用を理解するための基礎を提供する。懸濁液中の粒子の挙動は、2個だけの相互作用粒子が考慮される場合でさえも、複雑であり、その挙動は、究極的には、あらゆる分離距離における反発エネルギーと引力エネルギーとの相対的な寄与に依存している。粒子の半径は、引力エネルギーと反発エネルギーの両方に影響を与えると考えられる。それは、所望の小さな粒子サイズを達成するためにより大きな粒子を粉砕もしくは微細化することによって、または溶液から直接小さな粒子を生成することを意図した結晶工学技術によって、比較的容易に制御することができる。

【0065】

本明細書で使用される場合、「タンパク質」という用語は、アミド結合を介して共有結合した約50個を超えるアミノ酸を有するアミノ酸ポリマーを含む。タンパク質は、当該技術分野で「ポリペプチド」として一般に知られている1つ以上のアミノ酸ポリマー鎖を含有する。タンパク質は、単一の機能生体分子を形成するために1つ以上のポリペプチドを含み得る。「ポリペプチド」は、概して、50個以上のアミノ酸を含有するが、「ペプチド」は、概して、50個以下のアミノ酸を含有する。

【0066】

本明細書で使用される場合、「治療用タンパク質」は、タンパク質、研究または治療で使用される組み換えタンパク質、トラップタンパク質及び他のキメラ受容体Fc融合タン

10

20

30

40

50

パク質、キメラタンパク質、抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ヒト抗体、及び二重特異性抗体のうちのいずれをも含む。別の態様では、タンパク質は、抗体断片、ナノボディ、組み換え抗体キメラ、サイトカイン、ケモカイン、ペプチドホルモンなどを含み得る。タンパク質は、昆虫バキュロウイルス系、酵母系（例えば、*Pichia* sp.）、及び哺乳動物系（例えば、CHO細胞及びCHO-K1細胞などのCHO誘導体）などの組み換え細胞ベースの産生系を使用して産生され得る。生物製剤治療用タンパク質及びそれらの生成を論じる最近のレビューについては、Ghaderi et al., “Production platforms for biotherapeutic glycoproteins. Occurrence, impact, and challenges of non-human sialylation,” 28 Biotechnol Genet Eng. Rev. 147-75 (2012) を参照されたい。いくつかの例示的な実施形態では、タンパク質は、修飾、付加物、及び他の共有結合部分を含有する。それらの修飾、付加物、及び部分には、例えば、アビジン、ストレプトアビジン、ビオチン、グリカン（例えば、N-アセチルガラクトサミン、ガラクトース、ニューラミン酸、N-アセチルグルコサミン、フコース、マンノース、及び他の単糖類）、PEG、ポリヒスチジン、FLAGタグ、マルトース結合タンパク質（MBP）、キチン結合タンパク質（CBP）、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ（GST）myc-エピトープ、蛍光標識及び他の染料などが含まれる。

【0067】

「抗体」という用語には、本明細書で使用される場合、ジスルフィド結合によって相互接続された4つのポリペプチド鎖、2つの重（H）鎖及び2つの軽（L）鎖を含む免疫グロブリン分子、ならびにこれらの多量体（例えば、IgM）が含まれる。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではHCVRまたはV_Hと略される）及び重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、C_{H1}、C_{H2}、及びC_{H3}の3つのドメインを含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではLCVRまたはV_Lと略される）及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（C_{L1}）を含む。V_H領域及びV_L領域は、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細分化され得、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存された領域が散在する。各V_H及びV_Lは、アミノ末端からカルボキシ末端へと配置された3つのCDR及び4つのFR、すなわちFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4からなる。本発明の異なる例示的な実施形態では、抗big-E-T-1抗体（もしくはその抗原結合部分）のFRは、ヒト生殖系列配列と同一であってもよく、または天然にもしくは人工的に修飾されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2つ以上のCDRの並列分析に基づいて規定され得る。本明細書で 사용되는「抗体」という用語はまた、完全抗体分子の抗原結合断片を含む。抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」、及び同様の用語には、本明細書で使用される場合、天然に存在する、酵素処理で入手可能な、合成の、または遺伝子操作された、抗原を特異的に結合して複合体を形成するポリペプチドまたは糖タンパク質が含まれる。抗体の抗原結合断片は、例えば、抗体可変ドメイン及び任意選択で定常ドメインをコードするDNAの操作及び発現に関連するタンパク質消化技術または組み換え遺伝子操作技術などの任意の適切な標準的技術を使用して、完全抗体分子から誘導され得る。かかるDNAは既知であり、及び／または、例えば、市販の供給源、DNAライブラリー（例えば、ファジー抗体ライブラリーを含む）から容易に入手可能であるか、または合成することができる。DNAは、例えば、1つ以上の可変ドメイン及び／または定常ドメインを好適な構成へと配置するか、またはコドンを導入し、システイン残基を作成し、アミノ酸を修飾、付加、もしくは欠失などするために、化学的に、または分子生物学技術を使用することによって配列決定及び操作され得る。

【0068】

本明細書で使用される場合、「抗体断片」は、インタクト抗体の一部、例えば、抗体の抗原結合領域または可変領域を含む。抗体断片の例としては、Fab断片、Fab'断片、F(ab')₂断片、scFv断片、Fv断片、dsFv二重特異性抗体、dAb断片、F

d'断片、Fd断片、及び単離された相補性決定領域（CDR）領域、ならびに抗体断片から形成される三重特異性抗体、四重特異性抗体、直鎖抗体、一本鎖抗体分子、及び多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。Fv断片は、免疫グロブリン重鎖及び軽鎖の可変領域の組み合わせであり、ScFvタンパク質は、免疫グロブリン軽鎖及び重鎖可変領域がペプチドリンカーによって接続される組み換え単鎖ポリペプチド分子である。いくつかの例示的な実施形態では、抗体断片は、それが親抗体が結合するのと同じ抗原に結合する断片である親抗体の十分なアミノ酸配列を含有し、いくつかの例示的な実施形態では、断片は、親抗体のものと同等の親和性で抗原に結合し、及び／または抗原への結合について親抗体と競合する。抗体断片を、任意の手段によって生成してもよい。例えば、抗体断片を、インタクト抗体の断片化によって酵素的にまたは化学的に生成してもよく、及び／または部分抗体配列をコードする遺伝子から組み換えて生成してもよい。代替的にまたは追加的に、抗体断片を、全体的にまたは部分的に合成により生成してもよい。抗体断片は、任意選択で、単鎖抗体断片を含んでもよい。代替的にまたは追加的に、抗体断片は、例えば、ジスルフィド結合によって一緒に連結されている複数の鎖を含んでもよい。抗体断片は、任意選択で、多分子複合体を含んでもよい。機能性抗体断片は、典型的には、少なくとも約50個のアミノ酸を含み、より典型的には、少なくとも約200個のアミノ酸を含む。

【0069】

本発明のある特定の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i) 少なくとも200mg/mLの治療用タンパク質、及び(ii) ビヒクルを含む。「ビヒクル」は、治療用タンパク質が製剤化及び／または投与される担体であってもよい。ビヒクルは、疎水性剤、粘度低下剤、水、またはこれらの組み合わせを含み得る。

【0070】

本発明のある特定の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、(i) 少なくとも200mg/mLの治療用タンパク質、(ii) 疎水性剤、及び(iii) 粘度低下剤を含む。

【0071】

本明細書で使用される場合、「疎水性剤」という用語は、0～13の親水性－親油性バランス（HLB）値を有する材料を指す。例示的な疎水性剤は、植物油、8～24個の炭素を有する脂肪酸、ワックス、生分解性ポリマー、及び両親媒性材料である。例示的な植物油は、アーモンド油、アニス油、アプリコットカーネルオイル、ラッカセイ油、アルガン油、アボカド油、ルリジサ種子油、カユプテ油、カノラ油、キャラウェイ油、カシア油、ヒマシ油、シナモンオイル、シトロネラ油、クローブオイル、ココナッツオイル、コリアンダーオイル、コーンオイル、綿実油、ユーカリ油、月見草油、フェネル油、ゼラニウム油、グレープシードオイル、ヘーゼルナッツ油、麻実油、ホホバオイル、ジュニパーオイル、ラベンダーオイル、レモンオイル、マカダミアオイル、メイス油、メラルーカオイル、ニームオイル、ネロリ油、ニアウリオイル、ナツメグオイル、オリーブオイル、オレンジオイル、パームオイル、パームカーネルオイル、パインオイル、ケシ油、ペニーロイヤルオイル、パンプキンシードオイル、ナタネ油、ライスブランオイル、ローズヒップオイル、ローズマリーオイル、ルーオイル、サフラワーオイル、ごま油（SO）、スペアミント油、大豆油、ヒマワリ油、タイム油、くるみ油または小麦胚芽油である。例示的な脂肪酸は、鎖長が異なるカプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、リノール酸、ミリストレイン酸、パルミトレイン酸、サピエン酸、オレイン酸、 α -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、エルカ酸、ドコサヘキサエン酸、エイコサペンタエン酸、ドコサヘキサエン酸、ドコサペンタエン酸、及びグリセリド（モノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド）である。例示的な生分解性ポリマーは、ポリ乳酸（PLA）、ポリグリコール酸（PGA）、ポリ乳酸-コグリコール酸（PLGA）、ポリ ϵ -カプロラクトン（PCL）、ポリオルトエステル、ポリヒドロキシブチレート（PHB）、ポリジオキサノン、ポリ無水物、ポリトリメチレンカーボネート、及びポリホスファゼンである。例示的な両親媒性材料は、ポリエトキシ化ヒマシ油またはその誘導体（総称して「ポリエトキシ化ヒマシ油」と称

される)、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシエチレン、ポリエチレンオキシド(「PEO」)-ポリプロピレンオキシド(「PPO」)-PEOのブロックコポリマー、PPO-PEO-PPOのブロックコポリマー、(PEO-PPO)₂-(PPO-PEO)₂などのPEO-PPOの四官能性ブロックコポリマー、または(PPO-PEO)₂-(PEO-PPO)₂などのPPO-PEOの四官能性ブロックコポリマーである。製剤中に存在する疎水性剤の量は、約0.2%~99.9%、例えば1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の範囲であり得る。

【0072】

本明細書で使用される場合、「トリグリセリド」という用語は、グリセロール及び3つの脂肪酸に由来するエステルを指す。例示的なトリグリセリドは、グリセリルトリカプリレート／トリカプレート(Miglyol 812、Miglyol 810、Miglyol 818、Miglyol 829、Miglyol 840、CAPTEX 300、CAPTEX INJ 300、CAPTEX INJ 335など)、グリセリルトリカプリレート、及びトリアセチンである。

【0073】

本明細書で使用される場合、「粘度」は、「動粘度(kinematic viscosity)」または「絶対粘度」であり得る。「動粘度」は、重力の影響下での流体の抵抗流量の尺度である。等しい体積の2つの流体を同一のキャピラリー粘度計に配置し、重力によって流動するようにすると、粘性流体は粘度の低い流体よりもキャピラリーを流れるのに長い時間がかかる。例えば、1つの流体がその流れを完了するのに200秒かかり、別の流体が400秒かかる場合、第2の流体は、動粘度スケール上で第1の流体の2倍の粘度である。「絶対粘度」は、動的(dynamic)粘度または単純粘度と呼ばれることがあり、動粘度及び流体密度(絶対粘度=動粘度×密度)の積である。動粘度の次元は、 L^2/T であり、式中、Lは長さであり、Tは時間である。一般に、動粘度は、センチストーク(cSt)で表される。動粘度のSI単位は mm^2/s で、1cStである。絶対粘度は、センチポイズ(cP)の単位で表される。絶対粘度のSI単位は、millipascal-秒(mPa-s)であり、1cP=1mPa-sである。

【0074】

本明細書で使用される場合、「粘度低下剤」は、ビヒクルまたは製剤中に存在する場合、ビヒクルまたは製剤の粘度または注射力を、粘度低下剤を欠くビヒクルまたは製剤の粘度または注射力と比較して低下させる薬剤を指す。本発明の低下粘度ビヒクルまたは製剤中に存在する粘度低下剤の量は、製剤の約0.2%~約99.9%の範囲、例えば1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の範囲であり得る。粘度低下剤は、ビヒクルまたは製剤の粘度または注射力を少なくとも5%、例えば5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、または90%低減させ得る。非限定的な例示的な粘度低下剤は、セバシン酸ジエチル、ジエチレングリコールモノエチルエーテル、酢酸エチル、オレイン酸エチル(EO)、ミリスチン酸イソプロピル、リノール酸、プロピオン酸、クエン酸トリエチル、プロピレングリコール、エタノール、プロパノール、イソプロパノール、ポリエチレングリコール、ポリペフルオロエーテル、フルオロカーボン(ハロタン、メトキシフルラン、エンフルラン、イソフルラン、セボフルラン及びデスフルラン等)、フッ素化ケトン、ペフルオロデカリン、ペフルオロアクリレート、ペフルオロメタクリレート、ベンジルアルコール、ラウリルアルコール、ペフルオロデカリン、N-メチル-2-ピロリドン、グリコフロール、ポリエチレングリコール(PEG)、アルキルケトン、クエン酸の低級アルキルエステル、安息香酸ベンジル、安息香酸メチル、安息香酸エチル、安息香

酸 n-プロピル、安息香酸イソプロピル、安息香酸ブチル、安息香酸イソブチル、安息香酸 sec-ブチル、安息香酸 tert-ブチル、及び安息香酸イソアミルである。「溶媒」という用語は、本明細書で使用される場合、「粘度低下剤」と互換的に使用される。

【0075】

「非水性高濃度タンパク質製剤」、「高濃度タンパク質製剤」、「高濃度タンパク質製剤」、及び「高濃度懸濁製剤」という用語は、互換的に使用される。

【0076】

本発明のある特定の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、追加の成分または賦形剤を含んでもよい。「賦形剤」には、タンパク質の緩衝、可溶化、安定化、湿潤、及び／または保護、ならびに製剤の張度を維持または調整し、製剤を化学的に及び物理的に安定化させることを含む、様々な目的のために使用される様々な物質が含まれる。そのような賦形剤の例は当該技術分野で周知である。

【0077】

本発明のある特定の実施形態では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、ビヒクルに実質的に不溶性である。「実質的に不溶性」は、本明細書で使用される場合、10,000 mL中の約1 mg未満の溶解性を指す。

【0078】

高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質の分解は、これらの製剤の開発中に直面する主要な課題の1つである。タンパク質は、液体状態と比較して、コロイド状態で化学分解されにくい。結果として、固体状態で含まれる治療用タンパク質は、高濃度タンパク質製剤に、より高い安定性を提供する。本発明のある特定の実施形態では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、噴霧乾燥によって生成される微細化固体タンパク質製剤として存在する。タンパク質粒子は、微細化 (micronization) によってサイズを縮小することができる。本明細書で使用される場合、「微細化」という用語は、得られる粒子サイズ分布が約50 µm未満であるサイズ低減技術を表すために使用される。高濃度タンパク質製剤は、インサイチュでの微細化、粉碎、高圧均質化、噴霧乾燥、及び超臨界流体 (SCF) などの既知の微細化方法のうちのいずれかによって調製することができるが、これらに限定されない。本明細書で使用される場合、「微細化固体タンパク質製剤」という用語は、タンパク質を含む固体製剤であり、高濃度タンパク質製剤を調製するためにビヒクル中に懸濁され得る。「固体製剤」及び「微細化固体タンパク質製剤」という用語は、互換的に使用される。タンパク質に加えて、微細化固体タンパク質製剤は、溶媒、添加剤、アミノ酸、賦形剤、熱安定剤、及び希釈剤を含み得る。

【0079】

本明細書で使用される場合、「噴霧乾燥」は、流体状態を熱乾燥媒体中に噴霧することによって乾燥粒子形態に変換する技術である。噴霧乾燥は、単段噴霧乾燥機、2段噴霧乾燥機、ショートフォーム (short form) 噴霧乾燥機、及びトールフォーム (tall form) 噴霧乾燥機などの噴霧乾燥機によって行うことができるが、これらに限定されない。いくつかの例示的な実施形態は、噴霧乾燥によって生成される微細化固体タンパク質を含む製剤を含む。好ましい例示的な実施形態は、粉末の形態の噴霧乾燥タンパク質を含む。開示される微細化固体タンパク質の粉末は、懸濁安定性の向上、均一な粒径、及び改善された分散性を含むが、これらに限定されないいくつかの利点を提供する。タンパク質粒子の物理的特性、及び懸濁液の対応するコロイド特性は、噴霧乾燥プロセス及び製剤に大きく依存する (Vehring, R. (2008) "Pharmaceutical particle engineering via spray drying" 25 (5): 999-1022)。いくつかの例示的な実施形態では、微細化固体タンパク質製剤は、炭水化物、アミノ酸、及び界面活性剤を含む。例示的な炭水化物は、スクロース、マンニトール、ソルビトール、デキストラン、マルトデキストリン、またはトレハロースである。微細化固体タンパク質製剤中の炭水化物の量は、約0.01~約50%、例えば、約0.01%、約0.05%、約0.1%、約0.5%、約1%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、または約50%の範囲で

あり得る。例示的なアミノ酸は、プロリン、ヒスチジン、イソロイシン、メチオニン、システイン、グリシン、アルギニン、リジン、ロイシン、トリロイシン、アラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、スレオニン、及び2-フェニルアミンである。微細化固体タンパク質製剤中のアミノ酸の量は、約0.01~約20%、例えば、約0.01%、約0.05%、約0.1%、約0.5%、約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約10%、約15%、または約20%の範囲であり得る。例示的な非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート20 (PS-20)、ポリソルベート28、ポリソルベート40 (PS-40)、ポリソルベート65、ポリソルベート80 (PS-80)、ポリソルベート81、ポリソルベート85、ポロキサマー181、ポロキサマー188、ポロキサマー407、Triton X-100、Brij-35、Brij-30、Tween 20、Tween 80、ジギトニン、アルキルグリコシド ($Ri-O-(CH_2)_x-R$ であり、式中、Rは独立して、 CH_3 またはシクロヘキシル (C_6H_n) であり、Riは独立して、グルコースまたはマルトースであり、 $x=3\sim15$)、Pluronic F127、またはそれらの組み合わせである。微細化固体タンパク質製剤中の非イオン性界面活性剤の量は、約0.01%~約5%、例えば、約0.01%、約0.02%、約0.03%、約0.04%、約0.05%、約1%、約1%、約3%、約4%、または約5%の範囲であり得る。

【0080】

均一な高濃度タンパク質製剤を維持するために、微細化固体タンパク質製剤は、経時的にビヒクル中で分散可能に維持される必要がある。本明細書で使用される場合、「分散性」は、外部分散力の発揮時に粉末の個々の粒子または凝集塊へ分散する程度を表すために使用される。凝着性粉末の分散性を改善するための従来のアプローチは、それらを、粒子間力を緩和する賦形剤または添加剤と配合することである。いくつかの実施形態では、微細化固体タンパク質製剤は、噴霧乾燥タンパク質粉末を含み、これが噴霧乾燥粒子の分散性を改善するための添加剤を含む。噴霧乾燥粒子の分散性を改善する例示的な添加剤は、アミノ酸、レシチン、ステアリン酸マグネシウム、デンプン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、(PEG)、ポリビニルピロリドン (PVP)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、(HPMC)、ポリビニルアルコール (PVA)、 β -シクロデキストリン、マンニトール、キトサン、カラゲナン、ポリエチレンオキシド (PEO) / ポリプロピレングリコール (PPG) コポリマー、PEG修飾デンプン、酢酸ビニル / ビニルピロリドンランダムコポリマー、ポリアクリル酸及びポリアクリレート、炭酸アンモニウム、アルブミン、トリロイシン、界面活性剤、または炭水化物である。例示的な実施形態では、微細化固体タンパク質を噴霧乾燥タンパク質粉末の形態で調製するために使用される添加剤は、トリロイシン、アミノ酸、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコール、水溶性ポリマー、またはこれらの組み合わせから選択される。

【0081】

高濃度タンパク質製剤の安定性

高濃度タンパク質製剤の安定性は、化学的安定性、物理的安定性または機能的安定性を評価することを含み得る。本発明の製剤は、典型的に高レベルのタンパク質安定性を示す。「安定」という用語は、製剤に関して本明細書で使用される場合、製剤内のタンパク質が、本明細書で定義される例示的な条件下で保管された後に許容可能な程度の化学構造または生物学的機能を保持し得ることを意味する。製剤は、その中に含有されるタンパク質が、所定の時間保管された後に、たとえその化学構造または生物学的機能の100%を維持しないとしても、安定であり得る。ある特定の状況下では、所定の時間の保管後のタンパク質の構造または機能の約90%、約95%、約96%、約97%、約98%、または約99%の維持が「安定している」と見なされ得る。安定性は、とりわけ、所定の温度で所定の時間にわたり保管した後に製剤中に残る未変性 (native) タンパク質の割合を決定することによって測定され得る。未変性タンパク質の割合は、未変性が非凝集及び非分解を意味するように、とりわけ、サイズ排除クロマトグラフィー (例えば、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー [SE-HPLC]) によって決定され得る。「許容される安定

10

20

30

40

50

性の程度」は、この語句が本明細書で使用される場合、タンパク質の未変性形態の少なくとも90%が、所与の温度で所定の時間の保管後に製剤中で検出され得ることを意味する。ある特定の実施形態では、タンパク質の未変性形態の少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%が、所定の温度で所定の時間保管された後に、製剤中で検出され得る。安定性が測定される所定の時間は、少なくとも14日、少なくとも28日、少なくとも1ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも7ヶ月、少なくとも8ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも10ヶ月、少なくとも11ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、またはそれ以上であり得る。

【0082】

安定性を評価する際に薬学的製剤が保管され得る所定の温度は、約-80℃～約45℃の任意の温度であり得、例えば、約-80℃、約-30℃、約-20℃、約0℃、約4℃～8℃、約5℃、約25℃、約35℃、約37℃、または約45℃での保管であり得る。例えば、5℃で6ヶ月間保管した後、未変性タンパク質の約95%、96%、97%、または98%超がSE-HPLCによって検出される場合、薬学的製剤は安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、25℃で6ヶ月間保管した後、未変性タンパク質の約94%、95%、96%、97%、または98%超がSE-HPLCによって検出される場合、安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、45℃で28日間保管した後、未変性タンパク質の約91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、または98%超がSE-HPLCによって検出される場合、安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、-20℃で3ヶ月間保管した後、未変性タンパク質の約96%、97%、または98%超がSE-HPLCによって検出される場合、安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、-30℃で3ヶ月間保管した後、未変性タンパク質の約96%、97%、または98%超がSE-HPLCによって検出される場合、安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、-80℃で3ヶ月間保管した後、未変性タンパク質の約96%、97%、または98%超がSE-HPLCによって検出される場合、安定していると見なされ得る。

【0083】

安定性は、とりわけ、所定の温度で所定の時間保管した後に製剤内の凝集体中に形成されるタンパク質の割合を決定することによって測定され得、安定性は、形成される凝集体の割合に反比例する。この形態の安定性は、本明細書では「コロイド安定性」とも称される。凝集タンパク質の割合は、とりわけ、サイズ排除クロマトグラフィー（例えば、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー [SE-HPLC]）によって決定され得る。「許容される安定性の程度」は、この語句が本明細書で使用される場合、タンパク質の最大で6%が、所与の温度で所定の時間保管した後に製剤中で検出される凝集体であることを意味する。ある特定の実施形態では、許容可能な安定性の程度とは、所与の温度で所定の時間保管した後、最大で約6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%のタンパク質が製剤中の凝集体で検出され得ることを意味する。安定性が測定される所定の時間は、少なくとも2週間、少なくとも28日、少なくとも1ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも7ヶ月、少なくとも8ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも10ヶ月、少なくとも11ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、またはそれ以上であり得る。安定性を評価する際に薬学的製剤が保管され得る温度は、約-80℃～約45℃の任意の温度であり得、例えば、約-80℃、約-30℃、約-20℃、約0℃、約4℃～8℃、約5℃、約25℃、約35℃、約37℃、または約45℃での保管であり得る。例えば、5℃で6ヶ月間保管した後、タンパク質の約3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満が凝集体で検出される場合、薬学的製剤は安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、25℃で6ヶ月間保管した後、タンパク質の約4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満が凝集体で検出される場合、安定してい

ると見なされ得る。薬学的製剤はまた、45℃で28日間保管した後、タンパク質の約6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満が凝集形態で検出される場合、安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、タンパク質の約3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満の-20℃、-30℃、または-80℃での3ヶ月間の保管後に凝集形態で検出される場合、安定していると見なされ得る。

【0084】

安定性はまた、とりわけ、所定の温度で所定の時間保管した後に製剤内の凝集体中に形成されるタンパク質の割合を決定することによって測定することができ、安定性は、形成される凝集体の割合に反比例する。この形態の安定性は、本明細書では「コロイド安定性」とも称される。凝集タンパク質の割合は、特に、サイズ排除クロマトグラフィー（例えば、サイズ排除高速液体クロマトグラフィー [SE-HPLC]）によって決定され得る。「許容される安定性の程度」は、この語句が本明細書で使用される場合、タンパク質の最大で6%が、所与の温度で所定の時間保管した後に製剤中で検出される凝集形態であることを意味する。ある特定の実施形態では、許容可能な安定性の程度とは、所与の温度で所定の時間保管した後、タンパク質の最大で約6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%が製剤中の凝集体で検出され得ることを意味する。安定性が測定される所定の時間は、少なくとも2週間、少なくとも28日、少なくとも1ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも7ヶ月、少なくとも8ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも10ヶ月、少なくとも11ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、またはそれ以上であり得る。安定性を評価する際に薬学的製剤が保管され得る温度は、約-80℃～約45℃の任意の温度であり得、例えば、約-80℃、約-30℃、約-20℃、約0℃、約4℃～8℃、約5℃、約25℃、約35℃、約37℃、または約45℃での保管であり得る。例えば、5℃で6ヶ月間保管した後、タンパク質の約3%未満、2%未満、1%未満、0.5%未満、または0.1%未満が凝集形態で検出される場合、薬学的製剤は安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、25℃で6ヶ月間保管した後、タンパク質の約4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満が凝集形態で検出される場合、安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、45℃で28日間保管した後、タンパク質の約6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満が凝集形態で検出される場合、安定していると見なされ得る。薬学的製剤はまた、タンパク質の約3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満の-20℃、-30℃、または-80℃での3ヶ月間の保管後に凝集形態で検出される場合、安定していると見なされ得る。

【0085】

安定性は、とりわけ、イオン交換の際にタンパク質の主画分（「主電荷形態」）よりも酸性の画分（「酸性形態」）において移動するタンパク質の割合を決定することによって測定することもでき、安定性は、酸性形態のタンパク質の画分に反比例する。理論に束縛されることを望まないが、タンパク質の脱アミド化は、タンパク質をより負に荷電させ、したがって非脱アミド化タンパク質と比較してより酸性にさせ得る（例えば、Robinson, N. (2002) "Protein Deamidation" PNAS, 99 (8): 5283-5288) を参照されたい。「酸性化」タンパク質の割合は、とりわけ、イオン交換クロマトグラフィー（例えば、陽イオン交換高速液体クロマトグラフィー [CEX-HPLC]）によって決定することができる。この語句が本明細書で使用される場合、「許容される安定性の程度」は、最大で49%のタンパク質が、所定温度で所定の時間保管した後に製剤中で検出される、より酸性の形態であることを意味する。ある特定の例示的な実施形態では、許容される安定性の程度は、所与の温度で所定の時間保管した後、タンパク質の最大で約49%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%が製剤中で酸性形態で検出され得ることを意味する。安定性が測定される所定の時間は、少なくとも2週間、少なくとも28日、少なくとも1ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月

10

20

30

40

50

、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも7ヶ月、少なくとも8ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも10ヶ月、少なくとも11ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、またはそれ以上であり得る。

【0086】

安定性を評価する際に薬学的製剤が保管され得る温度は、約 -80°C ～約 45°C の任意の温度であり得、例えば、約 -80°C 、約 -30°C 、約 -20°C 、約 0°C 、約 4°C ～ 8°C 、約 5°C 、約 25°C 、または約 45°C での保管であり得る。例えば、 -80°C 、 -30°C 、または -20°C で3ヶ月間保管した後、タンパク質の約30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満がより酸性の形態である場合、薬学的製剤は安定していると見なされ得る。また、 5°C で6ヶ月間保管した後、タンパク質の約32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満がより酸性の形態である場合、薬学的製剤は安定していると見なされ得る。また、 25°C で6ヶ月間保管した後、タンパク質の約43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満がより酸性の形態である場合、薬学的製剤は安定していると見なされ得る。また、 45°C で28日間保管した後、タンパク質の約49%、48%、47%、46%、45%、44%、43%、42%、41%、40%、39%、38%、37%、36%、35%、34%、33%、32%、31%、30%、29%、28%、27%、26%、25%、24%、23%、22%、21%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、または0.1%未満がより酸性の形態で検出され得る場合、薬学的製剤は安定していると見なされ得る。

【0087】

他の方法、例えば、熱安定性を決定する示差走査熱量測定(DSC)、機械的安定性を決定する制御攪拌(controlled agitation)、及び溶液濁度を決定する約350nmまたは約405nmでの吸光度などが、本発明の製剤の安定性を評価するために使用され得る。例えば、本発明の製剤は、約 5°C ～約 25°C で6ヶ月間以上保管した後、製剤のOD405の変化が、時間ゼロでの製剤のOD405から約0.05未満(例えば、0.04、0.03、0.02、0.01、またはそれ未満)である場合、安定していると見なされ得る。タンパク質のその標的への生物活性または結合親和性を測定することも、安定性を評価するために使用され得る。例えば、本発明の製剤は、例えば、 5°C 、 25°C 、 45°C などで所定時間(例えば、1～12ヶ月間)保管した後、製剤内に含有されるタンパク質が、保管前のタンパク質の結合親和性の少なくとも90%、95%、またはそれ以上の親和性でその標的に結合する場合、安定していると見なされ得る。結合親和性は、例えば、ELISAまたはプラズモン共鳴によって決定され得る。生物学的活性は、例えば、タンパク質を発現する細胞をタンパク質を含む製剤と接触させるなど、タンパク質活性アッセイによって決定され得る。そのような細胞へのタンパク質の結合は、例えば、FACS分析によって直接的に測定され得る。あるいは、タンパク質系の下流活性が、タンパク質の存在下で測定され得、タンパク質の非存在下でのタンパク質系の活性と比較され得る。製剤中のタンパク質の安定性を評価するための追加の方法が、以下に提示される実施例において実証される。

【0088】

高濃度タンパク質製剤用容器

本発明の高濃度タンパク質製剤は、医薬品及び他の治療組成物の保管に好適な任意の容器内に含有され得る。例えば、薬学的製剤は、バイアル、アンプル、シリンジ、カートリッジ、またはボトルなどの所定容積を有する密封されかつ滅菌されたプラスチックまたはガラス容器内に含有され得る。本発明の製剤を含有するために、例えば透明な及び不透明な（例えば琥珀色の）ガラスまたはプラスチックバイアルを含め、異なる種類のバイアルが使用され得る。同様に、本発明の薬学的製剤を含有及び／または投与するために、任意の種類のシリンジを使用することができる。容器内の製剤は、必要に応じて、タンパク質の安定性を改善するために、酸素を除去するために当該技術分野で知られている任意の方法を使用して処理されてもよい。頭部空間（閉鎖容器内の液体の上の気体空間）内の酸素は、窒素またはアルゴンなどの不活性ガスに置換され得る。

10

【0089】

高濃度タンパク質製剤は、注射（例えば、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内など）または経皮、粘膜、鼻腔、肺及び／または経口投与などの非経口経路によって患者に投与され得る。本発明の薬学的製剤を皮下送達するために、数多くの再利用可能なペン送達デバイス及び／または自動注射送達デバイスを使用することができる。数例だけを挙げると、AUTOPEN（商標）（Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK）、DISETRONIC（商標）ペン（Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland）、HUMALOG MIX 75/25（商標）ペン、HUMALOG（商標）ペン、HUMALIN 70/30（商標）ペン（Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind.）、NOVOPENTM I、II及びIII（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、NOVOPEN JUNIOR（商標）（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、BD（商標）ペン（Becton Dickinson, Franklin Lakes, N. J.）、OPTIPEN（商標）、OPTIPEN PRO（商標）、OPTIPEN STARLET（商標）及びOPTICLIK（商標）（Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany）が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の薬学的組成物の皮下送達での適用性を有する使い捨てペン及び／または自動注射器送達装置を数例だけ挙げると、SOLOSTARTMペン（Sanofi-Aventis）、FLEXPEN（商標）（Novo Nordisk）、及びKWIKPEN（商標）（Eli Lilly）、SURCLICK（商標）Autoinjector（Amgen, Thousand Oaks, Calif.）、PUSHCLICK（商標）（Scandinavian Health Ltd. (SHL) Group）、PENLET（商標）（Haselmeier, Stuttgart, Germany）、EPIPEN（Dey, L. P.）、及びHUMIRATMペン（Abbott Labs, Abbott Park, Ill.）が挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0090】

本発明の高濃度タンパク質製剤を送達するためのマイクロインフューザーの使用もまた、本明細書に企図される。本明細書で使用される場合、「マイクロインフューザー」という用語は、長期間（例えば、約10、15、20、25、30分以上）にわたって大量（約2.5 mL以上にも及ぶ）の治療製剤をゆっくりと投与するように設計された皮下送達装置を意味する。例えば、全体が本明細書に組み込まれる、米国特許第6,629,949号、米国特許第6,659,982号、及びMeehan et al., J. Controlled Release 46:107-116 (1996)を参照されたい。マイクロインフューザーは、高濃度の（例えば、約100、125、150、175、200 mg/mL以上の）及び／または粘性溶液内に含まれる治療用タンパク質の大用量の送達に特に有用である。

40

【0091】

本発明のある特定の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤を送達するための予め充填されたシリンジも本明細書に企図される。Vetter GmbH, Ravens

50

burg, Germany; Hamilton Robotics, Nevada, United States of America; Terumo, Tokyo, Japan; または Becton, Dickinson and Company, New Jersey, United States of America から入手可能な例示的なシリンジ。本発明のいくつかの例示的な実施形態では、予め充填されたシリンジは、注射の前に懸濁液を形成するための二重チャンバを含んでもよい。いくつかの実施形態では、二重チャンバ内のチャンバの一方は疎水性剤及び粘度低下剤を含むことができ、他方は治療用タンパク質を含むことができる。いくつかの他の実施形態では、二重チャンバ内のチャンバの一方は、疎水性剤に懸濁された治療剤を含むことができ、他方は、粘度低下剤を含むことができる。

【0092】

本明細書で使用される場合、「シリンジ通針性 (syringeability)」とは、製剤が針を通過して流れる容易さを反映する、製剤の属性を指す。それは、既定のゲージ及び長さの針を介して所与の注射速度で溶液を注射するために必要な力として計算することができる。シリンジ通針性を説明するために使用される異なる力の用語は、シリンジ力 (syringe force)、最大シリンジ力 (syringe force maximum)、及びブレイクアウト力 (breakout force) である。本明細書で使用される場合、「シリンジ力」は、シリンジの内容物を排出するために一定の速度でのプランジャーの移動を維持するために必要な力を指す。「シリンジ力」、「持続される力 (sustained force)」、「摺動力 (glide force)」、「注射力 (injection force)」、及び「分注力 (dispensing force)」という用語は、互換可能に使用され得る。シリンジ力は、懸濁液中の固体濃度、粉末特性、及び分注速度に依存すると仮定されている。シリンジ力は、Instron のシステムに設置されたロードセルによって測定することができる。本明細書で使用される場合、「シリンジ摺動力」は、プランジャー運動をシリンジの前端までの過程で一定の速度で維持するために必要な時間平均力を指す。本明細書で使用される場合、「最大シリンジ力」は、プランジャーがシリンジの前端でその過程を終了する前に測定される最も高い力を指す。本明細書で使用される場合、「ブレイクアウト力」は、プランジャーの移動を開始するために必要な力を指す。実施例で例証されるように、高濃度タンパク質製剤のほとんどについて、Instron のデータから決定される最大シリンジ力とシリンジ力との間の直接相関がある。

【0093】

本発明のある特定の例示的な実施形態では、0.5 インチ 26 1/2 ゲージ針を装備した、0.25 インチ内径を有するリジッドニードルシールドガラスシリンジを通して 4 mm/秒の注射速度で高濃度タンパク質製剤を押すのに必要なシリンジ力は、約 50 N 未満、例えば、約 45 N 未満、約 40 N 未満、約 35 N 未満、約 25 N 未満、または約 25 N 未満である。好ましい実施形態では、シリンジ力は、約 30 N 未満である。

【0094】

薬学的製剤の治療的使用

本発明の薬学的製剤は、とりわけ、疾患または障害の治療、予防、及び／または改善に有用である。本発明の薬学的製剤の投与によって治療及び／または予防することができる例示的な非限定的な疾患及び障害としては、感染症；呼吸器疾患；神経原性、神経障害性、または侵害受容性疼痛に関連する任意の状態に起因する疼痛；遺伝性障害；先天性障害；がん；ヘルペス状；慢性特発性蕁麻疹；強皮症、肥厚性瘢痕形成；ホイップル病；良性前立腺肥大症；軽度、中度または重度の喘息などの肺障害、アレルギー反応；川崎病、鎌状赤血球症；チャグ・ストラウス症候群；グレーブス病；子癇前症；シェーグレン症候群；自己免疫性リンパ増殖性症候群；自己免疫性溶血性貧血；バレット食道；自己免疫性ブドウ膜炎；結核；ネフローゼ；慢性関節リウマチを含む関節炎；クローン病及び潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患；全身性エリテマトーデス；炎症性疾患；HIV 感染症；エイズ；LDL アフェレーシス；PCSK 9 活性化突然変異に起因する障害（機能獲得型変異、「GOF」）、ヘテロ接合性家族性高コレステロール血症 (heFH) に起因する障害；原発性高コレステロール血症；脂質異常症；胆汁鬱滞性肝疾患；ネフローゼ症候群；

甲状腺機能低下症；肥満；アテローム性動脈硬化；心血管疾患；神経変性疾患；新生児期発症多臓器性炎症性疾患（NOM ID／CINCA）；Muc k l e－W e l l s 症候群（MWS）；家族性寒冷自己炎症症候群（FCAS）；家族性地中海熱（FMF）；腫瘍壊死因子受容体関連周期熱症候群（TRAPS）；全身型若年性特発性関節炎（スティル病）；1型及び2型糖尿病；自己免疫疾患；運動ニューロン疾患；眼疾患；性感染症；結核；VEGFアンタゴニストによって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；PD－1阻害剤によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；インターロイキン抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；NGF抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；PCSK9抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；ANGPTL抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；アクチビン抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；GDF抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；F e l d 1抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；CD抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患もしくは状態；またはC5抗体によって改善される、阻害される、もしくは低減される疾患、もしくはこれらの組み合わせが挙げられる。

10

【0095】

例示的な製剤

本発明のある特定の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤は、少なくとも200mg／mLの治療用タンパク質を含む。例えば、これらの例示的な実施形態によって説明される製剤は、治療用タンパク質を、少なくとも、少なくとも約200mg／mL、少なくとも約210mg／mL、少なくとも約220mg／mL、少なくとも約230mg／mL、少なくとも約250mg／mL、少なくとも約250mg／mL、少なくとも約260mg／mL、少なくとも約270mg／mL、少なくとも約280mg／mL、少なくとも約290mg／mL、少なくとも約300mg／mL、少なくとも約320mg／mL、少なくとも約340mg／mL、少なくとも約350mg／mL、少なくとも約380mg／mL、少なくとも約400mg／mL、少なくとも約420mg／mL、少なくとも約450mg／mL、少なくとも約480mg／mL、少なくとも約500mg／mLの濃度で含む。

20

30

【0096】

本発明のある特定の例示的な実施形態では、高濃度タンパク質製剤中の治療用タンパク質は、微細化固体タンパク質製剤の形態である。好ましい実施形態では、微細化固体タンパク質製剤は、噴霧乾燥プロセスを使用して調製される。一態様では、微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質の濃度は、1％～99％の範囲である。別の態様では、微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質の濃度は、少なくとも約50％、例えば、少なくとも約51％、少なくとも約52％、例えば、少なくとも約53％、少なくとも約54％、例えば、少なくとも約55％、少なくとも約60％、少なくとも約65％、少なくとも約70％、少なくとも約75％、少なくとも約80％、少なくとも約85％、少なくとも約90％、少なくとも約95％、少なくとも約98％、少なくとも約99％、少なくとも約99.5％、少なくとも約99.9％である。

40

【0097】

噴霧乾燥プロセス中に添加剤を添加して、微細化固体タンパク質製剤の分散性を改善することができる。主題の微細化固体タンパク質製剤に含まれ得る添加剤としては、アミノ酸、炭水化物、界面活性剤、及び／または水溶性ポリマーが挙げられる。対象の微細化固体タンパク質製剤に含まれ得る炭水化物は、マンニトール、スクロース、トレハロース、マルトデキストリン、ソルビトール、またはこれらの組み合わせから選択される。微細化固体タンパク質製剤中の炭水化物の濃度は、約50％未満、例えば、約45％未満、約40％未満、約35％未満、約30％未満、約25％未満、約20％未満、約18％未満、約15％未満、約12％未満、約10％未満、約5％未満、約2％未満、約1％未満、約

50

0.5%未満、または約0.1%未満である。対象の微細化固体タンパク質製剤に含まれ得るアミノ酸は、天然に存在するアミノ酸及びその誘導体から選択される。好ましい実施形態では、アミノ酸は、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、トリロイシン、グリシン、またはこれらの組み合わせから選択される。微細化固体タンパク質製剤中のアミノ酸の濃度は、約20%未満、例えば、約18%未満、約15%未満、約12%未満、約10%未満、約5%未満、約3%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1.2%未満、約1.0%未満、約0.5%未満、約0.4%未満、約0.3%未満、約0.2%未満、約0.1%未満、または約0.05%未満である。対象の微細化固体タンパク質製剤に含まれ得る界面活性剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート80、ポリソルベート60、ポロキサマー、ポリエチレングリコール、またはこれらの組み合わせから選択される。微細化固体タンパク質製剤中の界面活性剤の濃度は、5%未満、例えば、約5%未満、約4.5%未満、約4%未満、約3.5%未満、約3%未満、約2.5%未満、約2%未満、約1.5%未満、約1%未満、約0.9%未満、約0.8%未満、約0.7%未満、約0.6%未満、約0.5%未満、約0.4%未満、約0.3%未満、約0.2%未満、または約0.1%未満である。

【0098】

本発明のある特定の例示的实施形態では、高濃度タンパク質製剤中の治療タンパク質は、非経口投与によって送達される。製剤は、皮下投与され得る。例示的な一実施形態において、製剤は、予め充填されたシリンジ中に含まれてもよい。例示的な予め充填されたシリンジは、Vetter GmbH、ラーヴェンスブルク、ドイツ；Hamilton Robotics、ネバダ、米国；Terumo、東京、日本；またはBecton, Dickinson and Company、ニュージャージー州、米国から入手可能である。製剤は、シリンジに予め充填され得、したがって、混合または再構成なしで注射の準備ができる。

【0099】

本明細書におけるすべての文献及び特許文献の引用は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0100】

本開示は以下の実施形態を含む。

実施形態1

非水性高濃度タンパク質製剤であって、

a. 微細化固体タンパク質製剤として少なくとも約200mg/mLの治療用タンパク質と、

b. 疎水性剤と、

c. 粘度低下剤と、を含む、前記非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態2

前記微細化固体タンパク質製剤が、噴霧乾燥によって生成されたものである、実施形態1に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態3

前記疎水性剤が、トリグリセリドである、実施形態1に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態4

前記疎水性剤が、Miglyol 810N、Miglyol 812N、トリアセチン、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態1に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態5

前記疎水性剤が、Miglyol 812Nである、実施形態1に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態6

前記疎水性剤が、Miglyol 810Nである、実施形態1に記載の非水性高濃度タ

10

20

30

40

50

ンパク質製剤。

実施形態 7

前記粘度低下剤が、エタノール、ベンジルアルコール、酢酸エチル、N-メチル-2-ピロリドン、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態 1 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 8

前記粘度低下剤が、エタノールである、実施形態 7 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 9

前記粘度低下剤が、ベンジルアルコールである、実施形態 7 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

10

実施形態 10

前記粘度低下剤が、酢酸エチルである、実施形態 7 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 11

前記微細化固体タンパク質製剤が、前記疎水性剤及び前記粘度低下剤中に無視可能な程度に可溶性である、実施形態 1 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 12

前記微細化固体タンパク質製剤が、粉末の形態である、実施形態 1 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

20

実施形態 13

前記粉末が、トリロイシンを使用して製剤化されている、実施形態 12 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 14

前記粉末の濃度が、約 200 mg/mL ~ 約 500 mg/mL である、実施形態 12 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 15

前記粉末と前記非水性高濃度タンパク質製剤との重量比 (w/w) が、約 0.250 を超える、実施形態 12 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 16

前記粉末が、前記治療用タンパク質、炭水化物、アミノ酸、または非イオン性界面活性剤を含む、実施形態 12 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

30

実施形態 17

前記炭水化物が、スクロース、マンニトール、またはトレハロースである、実施形態 16 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 18

前記アミノ酸が、ヒスチジンまたはプロリンである、実施形態 16 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 19

前記非イオン性界面活性剤が、ポリソルベートである、実施形態 16 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

40

実施形態 20

前記ポリソルベートが、ポリソルベート 20、ポリソルベート 40、ポリソルベート 60、ポリソルベート 80、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態 19 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 21

前記タンパク質の濃度 (%w/w) が、少なくとも約 70% である、実施形態 16 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 22

前記非水性高濃度タンパク質製剤が、約 50 ニュートン (N) 未満の注射摺動力を有す

50

る、実施形態 1 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 2 3

前記注射撹動力が、約 3 0 ニュートン (N) 未満である、実施形態 2 2 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 2 4

前記治療用タンパク質が、モノクローナル抗体である、実施形態 1 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 2 5

非水性高濃度タンパク質製剤であって、

a. 微細化固体タンパク質製剤として少なくとも約 2 0 0 m g / m L の治療用タンパク質と、

b. M i g l y o l 8 1 2 N と、

c. ベンジルアルコールと、を含む、前記非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 2 6

前記微細化固体タンパク質製剤が、噴霧乾燥によって生成されたものである、実施形態 2 5 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 2 7

前記微細化固体タンパク質製剤が、疎水性剤及び粘度低下剤中に無視可能な程度に可溶性である、実施形態 2 5 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 2 8

前記微細化固体タンパク質製剤が、粉末の形態である、実施形態 2 5 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 2 9

前記粉末が、トリロイシンを使用して製剤化されている、実施形態 2 8 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 0

前記粉末の量が、約 2 0 0 m g / m L ~ 約 5 0 0 m g / m L である、実施形態 2 8 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 1

前記粉末と前記非水性高濃度タンパク質製剤との重量比 (w / w) が、約 0 . 2 5 0 を超える、実施形態 2 8 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 2

前記粉末が、治療用タンパク質、炭水化物、アミノ酸、または非イオン性界面活性剤を含む、実施形態 2 8 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 3

前記炭水化物が、スクロース、マンニトール、またはトレハロースである、実施形態 3 2 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 4

前記アミノ酸が、ヒスチジンまたはプロリンである、実施形態 3 2 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 5

前記非イオン性界面活性剤が、ポリソルベートである、実施形態 3 3 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 6

前記ポリソルベートが、ポリソルベート 2 0、ポリソルベート 4 0、ポリソルベート 6 0、ポリソルベート 8 0、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、実施形態 3 5 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

実施形態 3 7

前記タンパク質の濃度 (% w / w) が、少なくとも約 7 0 % である、実施形態 3 2 に記載の非水性高濃度タンパク質製剤。

10

20

30

40

50

実施形態 38

非水性高濃度タンパク質製剤であって、

a. 微細化固体タンパク質製剤として少なくとも約 200 mg/mL の治療用タンパク質と、

b. Miglyol 810N、Miglyol 812N、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される疎水性剤と、

c. エタノール、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、酢酸エチル、N-メチル-2-ピロリドン、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される粘度低下剤と、を含む、前記非水性高濃度タンパク質製剤。

本発明は、以下の実施例を参照することによってより十分に理解されるであろう。しかしながら、それらは、本発明の範囲を限定するものとして解釈すべきではない。

10

【実施例】

【0101】

実施例 1：懸濁液配合及びローディング

以下の実施例は、本発明の方法及び組成物をどのように作製及び使用するかに関する完全な開示及び説明を当業者に提供するために提示されており、本発明者らが本発明と見なすことの範囲を限定することを意図するものではない。

【0102】

異なるビヒクルを含むいくつかの製剤（表 1）を、以下に記載される手順に従って調製した。製剤中で使用される例示的な治療用タンパク質は、3つのモノクローナル抗体である。

20

30

40

50

【表 1】

ビヒクル	タンパク質	製剤
75% Miglyol 812 N、25%ベンジルアルコール	mAb 1	(390 mg/mLの微細化固体タンパク質製剤; 噴霧乾燥粉末中82%のタンパク質)
50%Miglyol 812 N、50%ベンジルアルコール		
75%Miglyol 812 N、25%エタノール		
50%Miglyol 812 N、50%エタノール		
75%Miglyol 810 N、25%エタノール		
50%Miglyol 810 N、50%エタノール		
25%Miglyol 810 N、75%エタノール		
50%Miglyol 812 N、50%ベンジルアルコール	mAb 1	(397 mg/mLの微細化固体タンパク質製剤)
50%Miglyol 812 N、50%ベンジルアルコール	mAb 1	(516 mg/mLの微細化固体タンパク質製剤)
50%Miglyol 812 N、50%ベンジルアルコール	mAb 1	(35% w/vの微細化固体タンパク質製剤)
50%Miglyol 812 N、50%ベンジルアルコール	mAb 2	(29% w/vの微細化固体タンパク質製剤)
50%Miglyol 812 N、50%ベンジルアルコール	mAb 3	(36% w/vの微細化固体タンパク質製剤)
75%Miglyol 812 N、25%ベンジルアルコール	mAb 3	(製剤中のタンパク質274 mg/mL; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.82 w/w; 高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質製剤0.335 w/w)
50%Miglyol 812 N、50%ベンジルアルコール	mAb 3	(製剤中のタンパク質304 mg/mL; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.82 w/w; 高濃度中の微細化固体タンパク質製剤0.355 w/w)
75% Miglyol 812 N、25%ベンジルアルコール	mAb 1	(製剤中のタンパク質231 mg/mL; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.82 w/w; 高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質製剤0.291 w/w)
50%Miglyol 812 N、	mAb 1	(製剤中のタンパク質232 mg/mL)

10

20

30

40

50

ビヒクル	タンパク質	製剤
50%ベンジルアルコール		L ; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.82w/w ; 高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質製剤0.286w/w)
50%Miglyol 812N、 50%ベンジルアルコール	mAb1	(製剤中のタンパク質278mg/mL ; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.82w/w ; 高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質製剤0.342w/w)
50%Miglyol 812N、 50%ベンジルアルコール	mAb2	(製剤中のタンパク質232mg/mL ; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.80w/w ; 高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質製剤0.285w/w)
Miglyol 812N	mAb1	400~500mg/mL w 微細化固体タンパク質製剤 (82% w/w mAb1)
75%Miglyol 812N、 25%エタノール		
75%Miglyol 812N、 25%オレイン酸エチル		
75%Miglyol 812N、 25%ベンジルアルコール		
75%Miglyol 812N、 25%安息香酸ベンジル		
50%Miglyol 812N、 50%ベンジルアルコール		
25%Miglyol 812N、 75%ベンジルアルコール		
75%Miglyol 812N、 25%ベンジルアルコール	mAb3	(製剤中のタンパク質274mg ; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.78w/w ; 高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質製剤0.335w/w+トリロイシン0.05w/w)
50%Miglyol 812N、 50%ベンジルアルコール	mAb3	(製剤中のタンパク質304mg ; 微細化固体タンパク質製剤中のタンパク質含有量0.78w/w ; 高濃度タンパク質製剤中の微細化固体タンパク質製剤0.355w/w+トリロイシン0.05w/w)

10

20

30

40

【0103】

油及び溶媒からなるビヒクルを、体積に基づいて標的組成に配合した。ビヒクルは、蒸発による溶媒の損失がないことを確実にするために毎日新鮮に調製した。

【0104】

噴霧乾燥タンパク質を丸底Eppendorf 2mL遠心チューブに秤量した。ビヒクル1mL当たりの固体の目標質量に従って、適切なビヒクルを体積に基づいて噴霧乾燥タンパク質に添加した。

【0105】

噴霧乾燥粉末を、強力なボルテックス処理（ボルテックス、反転、ボルテックス、繰り

50

返し)によってビヒクルに混合した。ボルテックス後、試料を遠心分離器内に短時間入れ、チューブの壁から底部に懸濁液を沈降させた。懸濁液の相分離を防止するために、過度の遠心分離を回避した。遠心分離後、試料を1～2分間超音波処理し、必要に応じて混合手順を繰り返した。

【0106】

懸濁液を、より粘度の高いペースト状懸濁液のためにはスパチュラ、またはより粘度の低い懸濁液のためにはピペットの、いずれかを使用して、1 mLのガラスシリンジに後ろから充填した。Instronを使用する分注の場合、距離は約10 mmを目標とし、したがって、分注される10 mmの距離を可能にするのに適切な量の懸濁液を目標とした。シリンジにバックロードした後、針キャップを取り外して、プランジャーを利用して空気を除去し、シリンジの底部に懸濁液を押し込んだ。これは、より粘性の高い懸濁液（スパチュラでバックロードした場合、シリンジバレルの側面に付着する傾向があった）にとっては特に重要であった。分注を行うに先立って、充填プロセスの際にストッパーのリッジに懸濁液が留まらなかったかについて、プランジャー上のストッパーを点検した。懸濁液がストッパーのリッジに付着していた場合は、ストッパーをクリーンなストッパーに交換した。

【0107】

実施例2：皮下投与のための高濃度タンパク質懸濁液のビヒクルとして好適である適切な非水性溶媒系の特定。

この一連の実験では、すべての評価は、モデルタンパク質としてのmAb1、及び27 g TW BD針が装着され4 mm/sで分注される1 mLのガラスシリンジを通したシリンジ通針性に基づいて実施された。予備評価のためにMiglyol 810 Nを使用した。適切な溶媒系の基準は、シリンジ力、ビヒクル中の懸濁液から再構成されたタンパク質の純度（UP-SEC）、及び皮下注射のためのFDA承認済み生成物中のビヒクル成分の使用に基づいていた。FDA承認済み製品での使用（表2）に基づいて、N-メチル-2-ピロリドン及びエタノールを適切な溶媒として特定した。

【表2】

溶剤	油	濃度範囲（v/v 溶媒）	FDA承認製品
酢酸エチル	Miglyol 810 N	25%～100%	なし
N-メチル-2-ピロリドン	Miglyol 810 N	25%～100%	Atregel（0.375 mLのN-メチル-2-ピロリドン）；
エタノール	Miglyol 810 N	25%～100%	Faslolex（100 mg/mLのエタノール×5 mL）

【0108】

摺動力を試験するために、12個の例示的製剤を評価した（図2）。この試験は、コロイド不安定性及びタンパク質不安定性のため、単体（neat）での溶媒がビヒクルとして好適ではない可能性があることを示した。3つすべての溶媒が、25～50%でシリンジ力の同様の減少を示し、エタノール及びN-メチル-2-ピロリドンが組成物の50%超で摺動力を減少させるさらなる利益を示した。酢酸エチル-Miglyolの最大粘度低下効果は25%酢酸エチルで観察された。酢酸エチル溶液ではブレイクポイント後の距離にわたる摺動力のわずかな増加が観察されたが、N-メチル-2-ピロリドンまたはエタノ

ール溶液、及びMiglyol単独では安定したプラトーが観察された。シリンジ力に基づくと、3つすべての溶媒系が好適であった。酢酸エチル／Miglyolについては、25%超の酢酸エチルを必要とせず、N-メチル-2-ピロリドンまたはエタノールについては、溶媒濃度を可能な限り増加させることがシリンジ力を低減するために最適であった。

【0109】

実施例3：シリンジ力の決定

Instronを使用して、27gTW針を装着した1mLのガラスシリンジを通して懸濁液を分注するために必要なシリンジ力を決定した。特に断りのない限り、分注速度は4mm/sであり、シリンジ力は、分注に必要な持続される力として報告された。実施例1に従って調製した製剤では、持続される力及び最大力は多くの場合等価であり、これらのシリンジが充填された方法については、ブレイクアウト力は観察されなかった。

【0110】

異なるビヒクルについてのシリンジ力の初期評価を、100%Miglyol 810N、100%Miglyol 812N、100%エタノール、Miglyol 812N中25%v/vベンジルアルコール、Miglyol 812N中75%v/vベンジルアルコール、Miglyol 812N中25%v/vオレイン酸エチル、Miglyol 812N中75%v/vオレイン酸エチル、Miglyol 812N中25%v/vエタノール、Miglyol 812N中75%v/vエタノール、Miglyol 810N中25%v/vエタノール、Miglyol 810N中50%v/vエタノール、Miglyol 810N中75%v/vエタノール、及びMiglyol 812N中25%v/vPEG400を有する25%v/vエタノールを使用して行った。Miglyol 810NはMiglyol 812Nよりも粘度が低かったが、Miglyol 812Nは、複数のFDA承認された市販製剤におけるその前例のために好ましかった。エタノール、ベンジルアルコール、及びオレイン酸エチルはすべて、Miglyol 812Nのシリンジ力（すなわち粘度）を低減することにおいて同等に効果的であった（図3）。

【0111】

高濃度タンパク質製剤についての分注力も、粘度低下剤及びその濃度の選択に依存していることが見出された。一組の実験では、エタノールは、同じ溶媒濃度のベンジルアルコールよりも、懸濁液におけるシリンジ力を低減することにおいてより効果的であった（図4）。同じ溶媒含量での結果の可変性は、懸濁液における不均一な混合及び／または標的固体含有量に対する実際の含有量に起因し得る。

【0112】

高濃度タンパク質製剤の分注力は、治療用タンパク質の固体濃度に依存することがさらに見出された（図5）。一組の実験では、Miglyol 812N中の50%v/vベンジルアルコール中のmAb1懸濁液は、固体濃度の増加とともにより高い分注力を示した。

【0113】

高濃度タンパク質製剤の分注力は、分子依存性であり得る粉末特性に依存していることも見出された（図6）。分注力の違いは、分子の粉末特性及び／または噴霧乾燥粒子のサイズ、サイズ分布、及び形態の違いに起因し得る。一組の実験では、同じビヒクル（ベンジルアルコール＋Miglyol（50/50v/v））中のmAb1、mAb2、及びmAb3は、異なる分注力を示した。29%の固体濃度でのmAb2は、34%の固体濃度でのmAb1よりも高い分注力を示した。したがって、シリンジ力は、懸濁液中の固体濃度、分子依存性であり得る粉末特性、及びビヒクルに依存し得る（表3）。

10

20

30

40

50

【表 3】

例示的製剤のシリンジ力

分子	ビヒクル	懸濁液濃度 (w/w)	固体中の タンパク 質含有量 (w/w)	懸濁液密度 (分 注される体積あ たりの質量、g /mL)	懸濁液中の有 効タンパク質 濃度(mg/mL)	注 射 力 (N) *
mAb 3	25% B A	0.335	0.82	1.0 (測定)	274	54
mAb 3	50% B A	0.355	0.82	1.0 (測定)	304	43
mAb 1	25% B A	0.291	0.82	1.0 (理論)	231	35
mAb 1	50% B A	0.286	0.82	1.0 (理論)	232	20. 5
mAb 1	50% B A	0.342	0.82	1.0 (理論)	278	31
mAb 2	50% B A	0.285	0.82	1.0 (理論)	232	27

* 27g TW BD Hypak 1mLシリンジを介する4mm/sでの注射力。

【0114】

実施例 3：タンパク質回収及び安定性

実施例 1 で使用するために調製した高濃度タンパク質製剤のタンパク質回収及び安定性を、長期安定性について評価した。配合中に決定された懸濁液の w/w タンパク質含有量及び懸濁試料の重量に基づいて示される合計 10mg/mL または 50mg/mL を標的とするように、注射用水 (WFI) を懸濁液に添加した。WFI を懸濁試料に添加後、試料を旋回／反転させることによって穏やかに混合して、噴霧乾燥タンパク質を水相に抽出して溶解させた。混合した後、試料を遠心分離して、水相及び油相を分離した (Miglyol の場合、油は水よりも密度が低く、上層を生成する)。水相からの試料を取り出し、UPLC により分析する前に 0.22 µm フィルターを通して濾過して不溶性油滴または粒子状物質を除去した。

【0115】

一組の実験において、懸濁ビヒクルにおける物理的安定性の試験は、凝集が、観察された分解の主な経路であることを実証した (図 7)。mAb 1 の 400 ~ 500 mg/mL 噴霧乾燥粉末 (81.9% w/w の mAb 1) を使用して mAb 1 製剤を製剤化した。WFI を使用して再構成を実施した。全試料において、完全なタンパク質回収が観察された。mAb 1 は、所与の溶媒濃度について、エタノールよりもベンジルアルコールを含有するビヒクルにおいて安定していた。

【0116】

別の一連の実験では、懸濁液における安定性は分子特異的であった (図 8)。mAb 2 は、より低い懸濁液濃度にもかかわらず、環境条件下で 1 時間超、50% BA ビヒクル中で安定でいられず、それは、同じビヒクルにおける mAb 1 よりも高い分注力を必要とした。

【0117】

「タンパク質回収」は、懸濁液の非均一性 (試料中のタンパク質の実際の含有量と理論的含有量との違いをもたらす)、ならびに油相における不可逆的な沈殿または捕捉に起因

するタンパク質の喪失の両方によって影響を受けた。一般に、この方法は、タンパク質の完全回収（例えば、 $\geq 90\%$ ）をもたらし、油相からタンパク質を抽出するこの方法が好適であることを示唆していた。

【0118】

実施例4：ビヒクル中の懸濁液から再構成されたタンパク質の純度（UP-SEC）及び回収率。

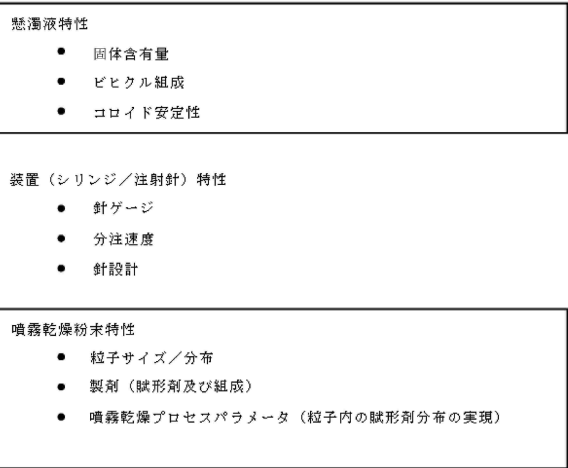
例示的な製剤についての純度及びタンパク質回収を、 350 mg/mL のmAb1を含む製剤で実施し、これらを 10 mg/mL の濃度でpH7.4のPBSを使用して再構成した（表4）。N-メチル-2-ピロリドン、タンパク質が再構成時に不可逆的に沈殿し、UP-SECによってさらに分析されなかったため、結果に含まれなかった。酢酸エチル及びエタノールは、単体溶媒としてはタンパク質凝集を引き起こしたが、 75% Miglyolの存在下では、溶媒はタンパク質の明らかな物理的分解を引き起こさなかった（表4）。タンパク質の純度に基づいて、 25% 酢酸エチル/ 75% Miglyol及び 25% エタノール/ 75% Miglyolを好適な溶媒系として選択した。エタノール-Miglyolは、評価のための3つの基準のすべてを満たす溶媒系の1つであった。

【表4】

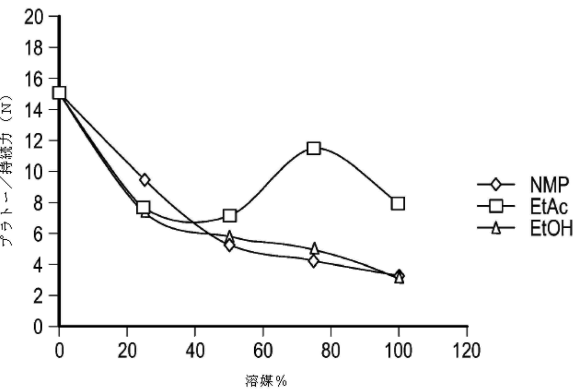
ビヒクル	未変性%	回収率%
WF I	94.6%	95
Miglyol 810N	95.0%	95
酢酸エチル	90.0%	90
酢酸エチル25%、Miglyol 75%	94.0%	121
WF I	95.8%	96
エタノール	91.3%	96
25%エタノール/ 75% Miglyol	95.5%	95

【図面】

【図 1】

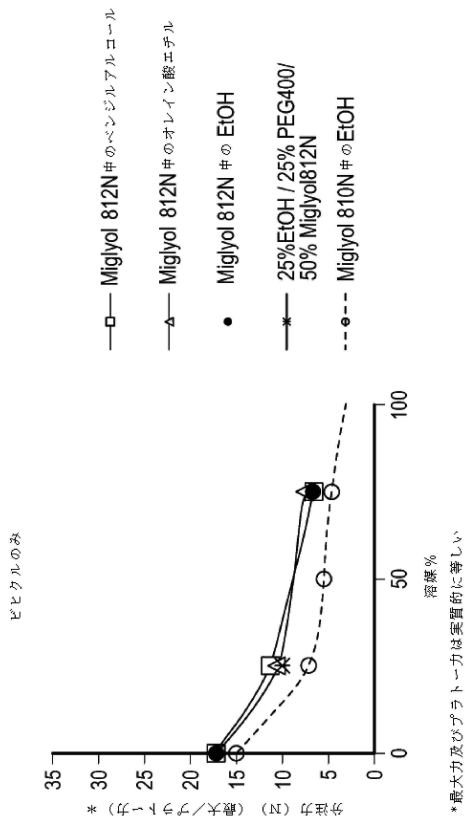


【図 2】

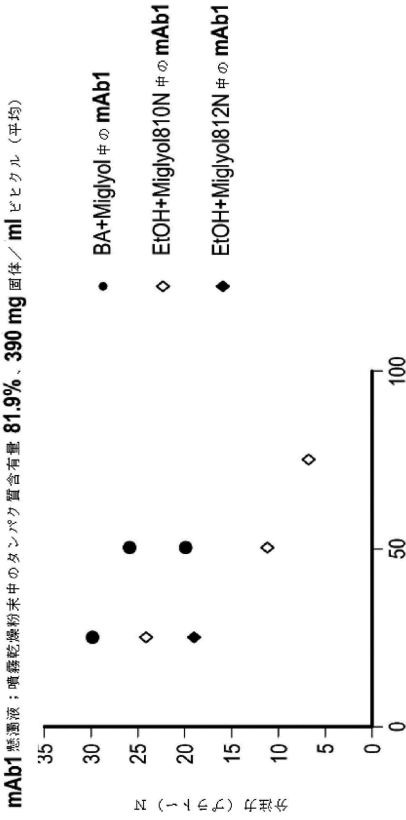


10

【図 3】



【図 4】



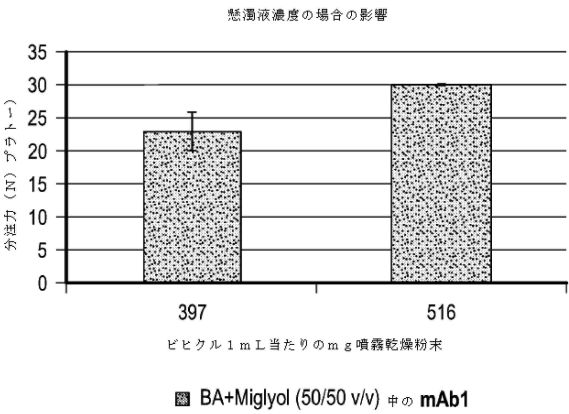
20

30

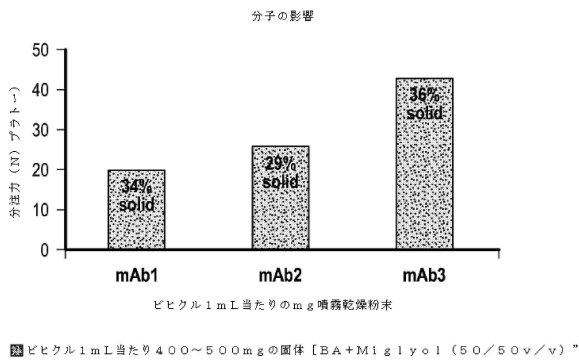
40

50

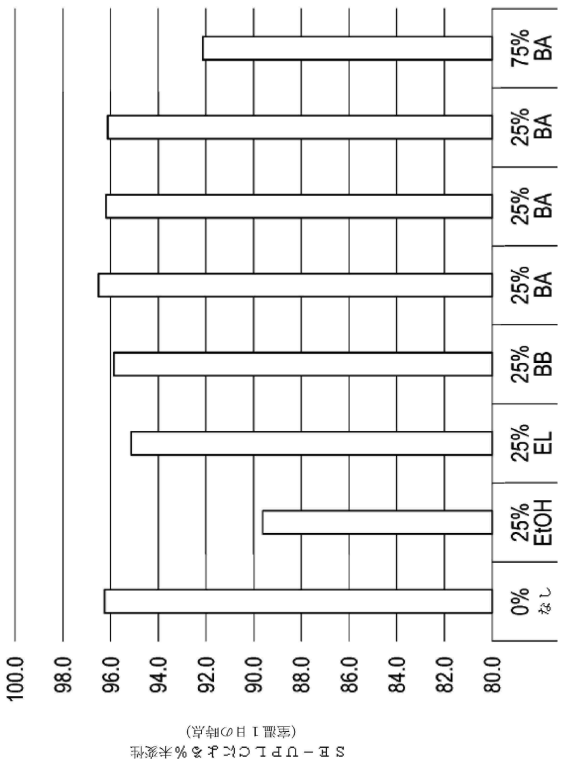
【図 5】



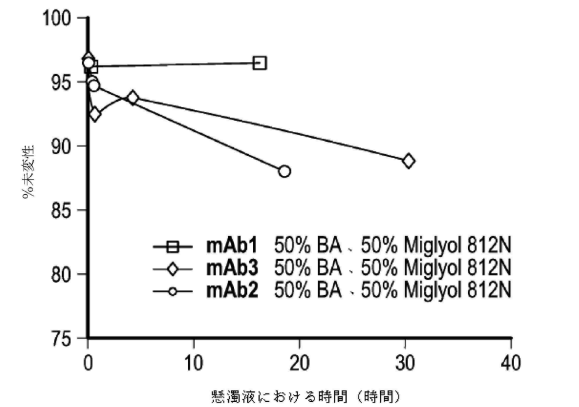
【図 6】



【図 7】



【図 8】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	47/26	(2006.01)	A 6 1 K	47/26	
A 6 1 K	47/18	(2017.01)	A 6 1 K	47/18	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	

弁理士 大淵 一志

(72)発明者 チェン、 ハンター

アメリカ合衆国 1 0 5 9 1 ニューヨーク州 タリータウン オールド ソー ミル リバー ロード
7 7 7

(72)発明者 シュレジンジャー、 エリカ

アメリカ合衆国 9 7 7 5 9 オレゴン州 シスターズ キャンプ ポーク ロード 6 9 3 8 9

審査官 池上 文緒

(56)参考文献

特表 2 0 1 5 - 5 2 0 1 6 4 (J P , A)

特表 2 0 0 4 - 5 1 5 4 6 7 (J P , A)

特表 2 0 1 4 - 5 1 0 0 7 7 (J P , A)

特開昭 5 5 - 0 6 2 0 2 1 (J P , A)

J. Pham. Sci., 2008年, vol.97, no.1, p.287-302

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K 3 8 / 0 2

A 6 1 K 3 9 / 3 9 5

A 6 1 K 4 7 / 1 4

A 6 1 K 4 7 / 1 0

A 6 1 K 4 7 / 2 2

A 6 1 K 4 7 / 4 2

A 6 1 K 4 7 / 2 6

A 6 1 K 4 7 / 1 8

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)