(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년06월21일
(11) 등록번호 10-1869682
(24) 등록일자 2018년06월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *A61K 47/30* (2017.01)
A61K 9/08 (2006.01) *C07K 16/22* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-7003626
(22) 출원일자(국제) 2011년07월11일
심사청구일자 2016년07월11일
(85) 번역문제출일자 2013년02월13일
(65) 공개번호 10-2013-0079486
(43) 공개일자 2013년07월10일
(86) 국제출원번호 PCT/US2011/043511
(87) 국제공개번호 WO 2012/009254
국제공개일자 2012년01월19일
(30) 우선권주장
61/364,112 2010년07월14일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2009023540 A1*
WO1998056418 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
리제너론 파아마슈티컬스, 인크.
미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777
(72) 발명자
월시 스콧
미국 뉴욕주 10591 태리타운 워치 힐 드라이브 302
포토키 테라
미국 뉴욕주 10471 브롱크스 아파트먼트 19더블유 알링턴 애비뉴 5800
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 8 항 심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 **항-NGF 항체를 함유하는 안정화된 제형**

(57) 요 약

본 발명은 사람 신경 성장 인자(hNGF)에 특이적으로 결합하는 사람 항체를 포함하는 약제학적 제형을 제공한다. 당해 제형은 항-hNGF 항체 이외에, 적어도 하나의 비-이온성 표면활성제, 적어도 하나의 당, 및 아세테이트를 함유할 수 있다. 본 발명의 약제학적 제형은 수개월 동안 저장한 후 상당한 정도로 항체 안정성을 나타낸다.

(72) 발명자

딕스 대니얼

미국 뉴욕주 12540 라그레인지빌 메모리 트레일 55

시벤드란 레누카

미국 뉴욕주 10522 돕스 페리 아파트먼트 2알 브로드웨이 490

명 세 서

청구범위

청구항 1

(i) 서열번호 6, 8 및 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 상보성 결정 영역들을 포함하는 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 서열번호 14, 16 및 18의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 상보성 결정 영역들을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함하고, hNGF에 특이적으로 결합하는 사람 항체 0.2 내지 75 mg/mL;

(ii) 0.02 내지 0.5 %의 폴리소르베이트 20;

(iii) 8%의 슈크로즈; 및

(iv) 1 mM 내지 50 mM의 아세테이트

를 포함하는 약제학적 제형으로서, 상기 제형이 6개월 이상 동안 5℃ 이상에서 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC)에 의해 90% 이상의 항체가 검출되도록 안정성을 유지함을 특징으로 하고, 상기 제형이 이산화규소 피복된 유리 바이알에 함유되고, 상기 유리 바이알내 상부 공간 부분(headspace)이 불활성 가스로 충전되어 산소가 제거된 것인, 통증 완화(amelioration)를 위한 약제학적 제형.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 0.6 내지 60 mg/mL의 사람 항체 및 (ii) 0.05%의 폴리소르베이트 20을 포함하는, 약제학적 제형.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 불활성 가스가 아르곤 또는 질소인, 제형.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

제1항에 있어서, hNGF에 특이적으로 결합하는 상기 사람 항체가 (i) 서열 번호 20/22; 및 (ii) 서열 번호 4/12로 이루어진 그룹으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 영역(HCVR / LCVR) 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 약제학적 제형.

청구항 14

(i) 서열 번호 20/22의 중쇄 및 경쇄 가변 영역(HCVR / LCVR) 아미노산 서열 쌍을 포함하고, hNGF에 특이적으로 결합하는 사람 항체 0.1 내지 100 mg/mL; (ii) 0.05%의 폴리소르베이트 20; (iii) 8%의 슈크로즈; 및 (iv) 10 mM의 아세테이트를 포함하고, pH가 5.0인, 통증 완화를 위한 약제학적 제형.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 제형이 정맥내 또는 피하로 투여되는, 약제학적 제형.

청구항 18

제1항 또는 제14항에 있어서, 상기 통증이 신경성 통증, 신경병성 통증, 통각성 통증 또는 염증과 관련된 통증인, 약제학적 제형.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 통증이 삼차신경통, 대상포진후 신경통(post-herpetic neuralgia), 환상 사지 통증, 섬유근통, 반사교감신경이상증, 암 통증, 골관절염 또는 류마티스 관절염 통증, 하부 요통, 수술적 절개후 통증, 골절 통증, 골다공증성 골절 통증, 골다공증, 통풍 관절 통증, 당뇨병성 신경병증, 엉덩뼈신경통, 낫적혈구 발증(sickle cell crisis)과 관련된 통증 및 편두통으로 이루어진 그룹 중에서 선택되는 것인, 약제학적 제형.

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 발명의 분야

[0002] 본 발명은 치료용 항체 제형의 분야에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 발명은 사람 신경 성장 인자(NGF)에 특이적으로 결합하는 사람 항체를 포함하는 약제학적 제형의 분야에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 치료용 거대분자(예를 들면, 항체)는, 환자에게 투여하기에 적합한 분자들을 제조할 뿐 아니라 저장 동안 상기 분자들의 안정성을 유지하는 방식으로, 제형화되어야 한다. 예를 들면, 액체 용액 속의 치료용 항체는, 상기 용액이 적절히 제형화되지 않는 한 분해, 응집 및/또는 바람직하지 않은 화학적 변형을 겪기 쉽다. 액체 제형 속에서 항체의 안정성은 상기 제형에 사용된 부형제들의 종류 뿐만 아니라, 상기 부형제들 서로에 대한 상기 부형제의 양 및 비율에도 의존한다. 또한, 액체 항체 제형을 제조하는 경우 안정성을 제외한 다른 고려사항이 고려되어야 한다. 이러한 추가의 고려사항의 예는 용액의 점도 및 제공된 제형에 의해 수용될 수 있는 항체의 농도를 포함한다. 따라서, 치료용 항체를 제형화하는 경우, 제형이 안정하게 유지되고, 항체의 적절한 농도를 함유하고, 적합한 점도 및 또한, 제형이 환자에게 편리하게 투여되도록 할 수 있는 다른 특성들을 지닌 이러한 제형에 도달하도록 큰 주의를 기울여야 한다. 사람 신경 성장 인자(hNGF)에 대한 항체는 적절한 제형을 필요로 하는 치료학적으로 관련된 거대분자의 하나의 예이다. 항-NGF 항체는 골관절염, 좌골신경통과 같은 질환, 및 염증성 통증, 신경병성 통증, 및 암 통증과 같은 다른 병태의 치료 및/또는 예방에 임상적으로 유용하다.

[0004] 항-NGF 항체는 알려져 있지만, 충분히 안정하고 또한 환자에게 투여하기에 적합한, 항-hNGF 항체를 포함하는 신규한 약제학적 제형에 대해 당해 분야의 요구가 존재한다.

발명의 내용

[0005] 발명의 간단한 요약

[0006] 본 발명은 사람 신경 성장 인자(hNGF)에 특이적으로 결합하는 사람 항체를 포함하는 약제학적 제형을 제공함으로써 위에서 언급한 요구를 충족시킨다. 본 발명의 제형은 항-hNGF 항체 외에 부형제를 포함할 수 있다. 예를 들면, 특정 양태에서, 제형은 (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 사람 항체; (ii) 비-이온성 표면활성제; 및 (iii) 적어도 하나의 탄수화물을 포함할 수 있다. 비-이온성 표면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올리에이트, 및 폴리에틸렌 글리콜로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 하나의 양태에서, 비-이온성 표면활성제는 폴리소르베이트 20이다. 탄수화물은 예를 들면, 슈크로즈, 글루코즈, 만니톨, 소르비톨, 락토즈 또는 트레할로즈와 같은 당일 수 있다. 하나의 양태에서, 당은 슈크로즈이다.

[0007] 하나의 양태에서, 약제학적 제형은 (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 약 0.1 내지 100 mg/mL의 사람 항체; (ii) 약 0.01 내지 1.0%의 폴리소르베이트 20; 및 (iii) 약 1 내지 20%의 슈크로즈를 포함한다.

[0008] 하나의 양태에서, 약제학적 제형은 (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 약 0.2 내지 75 mg/mL의 사람 항체; (ii) 약 0.02 내지 0.5%의 폴리소르베이트 20; 및 (iii) 약 5 내지 10%의 슈크로즈를 포함한다.

[0009] 하나의 양태에서, 약제학적 제형은 (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 약 0.6 내지 60 mg/mL의 사람 항체; (ii)

약 0.05%의 폴리소르베이트 20; 및 (iii) 약 8%의 슈크로즈를 포함한다.

[0010] 특정 양태에서, 약제학적 제형은 약 1.0 mM 내지 약 50 mM의 아세테이트를 추가로 포함한다.

[0011] 하나의 양태에서, 약제학적 제형은 (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 약 1 내지 100 mg/mL의 사람 항체; (ii) 약 0.01 내지 1.0%의 폴리소르베이트 20; 및 (iii) 약 1 내지 20%의 슈크로즈를 포함한다. 특정 양태에서, 약제학적 제형은 약 1.0 mM 내지 약 50 mM의 아세테이트를 추가로 포함한다.

[0012] 하나의 양태에서, 약제학적 제형은: (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 약 5 내지 75 mg/mL의 사람 항체; (ii) 약 0.02 내지 0.5%의 폴리소르베이트 20; (iii) 약 5 내지 10%의 슈크로즈; 및 (iv) 약 5 내지 20 mM의 아세테이트를 포함한다.

[0013] 하나의 양태에서, 약제학적 제형은: (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 약 6 내지 60 mg/mL의 사람 항체; (ii) 약 0.05%의 폴리소르베이트 20; (iii) 약 8%의 슈크로즈; 및 (iv) 약 10 mM의 아세테이트를 포함한다.

[0014] 특정 양태에서, 제형은 또한 적어도 하나의 아미노산, 예를 들면, 히스티딘 또는 아르기닌을 함유할 수 있다. 특정 양태에서, 히스티딘 또는 아르기닌의 농도는 약 25 mM 내지 약 100 mM의 범위일 수 있다.

[0015] 본 발명의 특정 양태에 따라서, 제형은, pH를 약 pH 4.5 내지 약 pH 5.6의 범위로 유지시킬 수 있는 완충액, 예를 들면, 아세테이트 완충액 속에서 제조된다.

[0016] 본 발명의 특정 양태에서, 약제학적 제형은 약 15 cPoise 미만, 또는 약 12 cPoise 미만, 또는 약 9 cPoise 미만의 점도를 나타낸다.

[0017] 본 발명의 약제학적 제형 속에 함유된 항체는 hNGF에 특이적으로 결합하는, 어떠한 항체, 또는 융합 단백질 또는 트랩(trap)일 수 있다. 본 발명의 제형 속에 함유될 수 있는 예시적인 항체는 중쇄 가변 영역(HCVR) 및 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함하며, 여기서 HCVR은 서열 번호 6의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 1, 서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2, 및 서열 번호 10의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3을 포함하며, 여기서 LCVR은 서열 번호 14의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR) 1, 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2, 및 서열 번호 18의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3을 포함한다.

[0018] 특정 양태에서, 본 발명의 제형 속에 함유된 항체는 서열 번호 20의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함하는 항체 및 서열 번호 22의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는 항체이다.

[0019] 특정 양태에서, 본 발명의 제형내 함유된 항체는 서열 번호 4의 아미노산 서열을 갖는 HCVR 및 서열 번호 12의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는 항체이다.

[0020] 특정 양태에서, 약제학적 제형은 이를 필요로 하는 환자에게 정맥내 또는 피하내 투여할 수 있다. 따라서, 특정 양태에서, 본원에 기술된 바와 같은 약제학적 제형은 NGF 활성 또는 NGF 활성화와 관련된 모든 질환 또는 장애의 치료, 예방 및/또는 완화용 약제를 제조하는데 사용할 수 있다. 본 발명의 약제학적 제형의 투여에 의해 치료되고/되거나 예방될 수 있는 예시적인, 비-제한적 질환 및 장애는 신경성, 신경병성 또는 통각성 통증과 관련된 어떠한 병태로부터 생성되는 통증을 포함한다. 삼차신경통으로 언급되는 신경병성 통증의 특정 양태에서, 대상포진후 신경통(post-herpetic neuralgia), 환상 사지 통증, 섬유근통, 반사교감신경이상증 및 신경성 통증 병태가 치료된다. 다른 양태에서, 암 통증, 특히 골 암 통증, 골관절염 또는 류마티스 관절염 통증, 하부 요통, 수술적 절개후 통증, 골절 통증, 골다공증성 골절 통증, 골다공증, 통풍 관절 통증, 당뇨병성 신경병증, 엉덩뼈신경통, 낫적혈구 발증(sickle cell crises)과 관련된 통증, 편두통, 및 다른 신경병성 및/또는 통각성 통증이 본원에 기술된 제형으로 치료된다.

[0021] 본 발명의 항체 제형은 약제학적 제형을 저장하는데 유용한 어떠한 적합한 용기내에 함유될 수 있다. 이러한 적합한 용기의 예는 예를 들면, 유리 또는 플라스틱 바이알, 주사기(syringe) 및 카트릿지(cartridge)를 포함한다. 용기는 투명하거나 불투명(예를 들면, 호박색)일 수 있다. 특정 양태에서, 바이알 또는 주사기는 이산화실리콘과 같은 실리콘으로 피복된다. 특정 양태에서, 바이알내 상부 공간 부분(headspace)은 항체의 안정성에 부작용을 가질 수 있는 존재하는 어떠한 산소도 대체하기 위한 불활성 가스로 충전된다. 이러한 불활성 가스는 질소 또는 아르곤으로부터 선택될 수 있다.

[0022] 본 발명의 특정 국면에 따라서, 약제학적 제형은 제공된 온도에서 수일, 수개월 또는 수년 동안 저장한 후에도 비교적 안정하게 유지된다. 예를 들면, 본 발명의 특정의 예시적인 양태에서, 높은 퍼센트의 항체(예를 들면, 90%, 95%, 96% 이상)이 적어도 3, 6, 9 개월 이상의 저장 후에 이의 천연 형태로 유지된다. 항체의 천연 형태

의 퍼센트는 예를 들면, SE-HPLC, 또는 당해 분야에 공지된 다른 어떠한 방법에 의해서 측정될 수 있다. 항체의 안정성이 유지되는 저장 온도는 예를 들면, -80℃, -40℃, -30℃, -20℃, 0℃, 5℃, 25℃, 37℃, 45℃, 또는 그 이상일 수 있다.

[0023] 본 발명의 다른 양태는 다음의 상세한 설명의 고찰로부터 명백해질 것이다.

[0024] 상세한 설명

[0025] 본 발명을 기술하기 전에, 본 발명은, 기술된 특정한 방법 및 실험 조건이 변할 수 있으므로, 이러한 방법 및 실험 조건으로 한정되지 않음이 이해되어야 한다. 본원에 사용된 전문용어는 특수 양태만을 기술할 목적이며, 본 발명의 영역은 첨부된 특허청구범위에 의해서만 제한될 것이므로, 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

[0026] 달리 정의하지 않는 한, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는, 본 발명이 속한 당해 분야의 통상의 기술을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "약"은, 특수한 인용된 수치를 참조하여 사용되는 경우, 당해 값이 인용된 값으로부터 1% 미만으로 변할 수 있음을 의미한다. 예를 들면, 본원에 사용된 것으로서, 표현 "약 100"은 99 및 101 및 이들 사이의 모든 값(예를 들면, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, 등)을 포함한다.

[0027] 본원에 기술된 것과 유사하거나 동등한 모든 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질이 이제 기술된다.

[0028] 본 발명을 기술하기 전에, 본 발명은, 기술된 특정한 방법 및 실험 조건이 변할 수 있으므로, 이러한 방법 및 실험 조건에 제한되지 않음이 이해되어야 한다. 또한, 본원에 사용된 전문용어는 단지 특수 양태를 기술하기 위한 목적이며, 본 발명의 영역은 첨부된 특허청구범위에 의해서만 한정될 것이므로, 제한하는 것으로 의도되지 않는다.

[0029] 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학적 용어는, 본 발명이 속한 당해 분야의 통상의 기술을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "약"은, 특수한 인용된 수치를 참조하여 사용되는 경우, 당해 값이 인용된 값으로부터 1% 미만으로 변할 수 있음을 의미한다. 예를 들면, 본원에 사용된 것으로서, 표현 "약 100"은 99 및 101 및 이들 사이의 모든 값(예를 들면, 99.1, 99.2, 99.3, 99.4, 등)을 포함한다.

[0030] 본원에 기술된 것들과 유사하거나 동등한 모든 방법 및 물질이 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다고 해도, 바람직한 방법 및 물질이 이제 기술된다.

[0031] 약제학적 제형

[0032] 본원에 사용된 것으로서, 표현 "약제학적 제형"은 적어도 하나의 활성 성분(예를 들면, 사람 또는 비-사람 동물에서 생물학적 효과를 발휘할 수 있는 소 분자, 거대분자, 화합물 등), 및 활성 성분 및/또는 하나 이상의 추가의 불활성 성분과 조합되는 경우 사람 또는 비-사람 동물에게 대한 치료용 투여에 적합한 적어도 하나의 불활성 성분의 조합을 의미한다. 본원에 사용된 것으로서 용어 "제형"은 달리 구체적으로 나타내지 않는 한 "약제학적 제형"을 의미한다. 본 발명은 적어도 하나의 치료용 폴리펩타이드를 포함하는 약제학적 제형을 제공한다. 본 발명의 특정 양태에 따라서, 치료용 폴리펩타이드는 사람 신경 성장 인자(hNGF) 또는 이의 항원-결합 단편에 특이적으로 결합하는 항체이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 사람 항체; (ii) 비-이온성 표면활성제; 및 (iii) 적어도 하나의 탄수화물을 포함하는 약제학적 제형을 포함한다. 본 발명내에 포함된 구체적인 예시적인 성분 및 제형은 이하에 상세히 기술된다.

[0033] 본 발명의 특정 양태에서, "표면활성제"는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올리에이트, 및 폴리에틸렌 글리콜로 이루어진 그룹으로부터 선택된 비-이온성 표면활성제일 수 있다.

[0034] 본 발명의 약제학적 제형은 특정 양태에서, 유체 제형일 수 있다. 본원에 사용된 것으로서, 표현 "유체 제형"은 약 5℃ 내지 약 45℃에서 유체 상태로 주로 존재하는 적어도 2개의 성분의 혼합물을 의미한다. 유체 제형은 특히 액체 제형을 포함한다. 유체 제형은 이들의 특수 성분에 따라 저 점도, 중간 점도 또는 고 점도일 수 있다.

[0035] **hNGF에 특이적으로 결합하는 항체**

[0036] 본 발명의 약제학적 제형은 hNGF에 특이적으로 결합하는, 사람 항체, 또는 이의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "hNGF"는 서열 번호 1에 나타낸 핵산 서열에 의해 암호화된, 서열 번호 2로 나타낸 아미노산 서열을 갖는 사람 신경 성장 인자를 의미한다.

[0037] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "항체"는 4개의 폴리펩타이드 쇄, 즉 이황화 결합에 의해 상호 연결된 2개의 중(H) 쇄 및 2개의 경(L) 쇄, 및 또한 이의 다합체(예를 들면, IgM)를 포함하는 면역글로불린 분자를 말하는 것으로 일반적으로 의도되나; 중쇄만으로 이루어진(즉, 경쇄를 결여한) 면역글로불린 분자 또한 용어 "항체"의 정의 내에 포함된다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H로 약술됨) 및 중쇄 불변 영역을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, C_H1, C_H2 및 C_H3을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L로 약술함) 및 경쇄 불변 영역을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인(CL1)을 포함한다. V_H 및 V_L 영역은 또한 보다 보존된, 골격 영역(FR)으로 명명된 영역이 배치된, 상보성 결정 영역(CDR)으로 명명된, 고가변성의 영역으로 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 다음 순서: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4로 아미노-말단으로부터 카복시-말단까지 배열된, 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다.

[0038] 달리 구체적으로 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 것으로서, 용어 "항체"는 완전한 항체 분자 및 또한 이의 항원-결합 단편을 포함하는 것으로 의도되어야 한다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 항체의 "항원-결합 부위", "항원-결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 어떠한 천연적으로 존재하거나, 효소적으로 수득가능하거나, 합성의, 또는 유전적으로 가공된 폴리펩타이드 또는 당단백질을 포함한다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 항체의 "항원-결합 부위", 또는 "항체 단편"은 hNGF에 특이적으로 결합하는 능력을 보유한 항체의 하나 이상의 단편을 말한다.

[0039] 본원에 사용된 것으로서, "분리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체를 실질적으로 포함하지 않는 항체(예를 들면, hNGF에 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 hNGF 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 실질적으로 포함하지 않는다)를 말하는 것으로 의도된다.

[0040] 용어 "특이적으로 결합한다" 등은, 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 생리학적 조건하에서 비교적 안정한 항원과 복합체를 형성함을 의미한다. 특이적인 결합은 적어도 약 $1x10^{-6}$ M 이상의 해리 상수로 특징될 수 있다. 2개 분자가 특이적으로 결합하는지를 측정하는 방법은 당해 분야에 잘 공지되어 있으며 예를 들면, 평형 투석, 표면 플라스몬 공명 등을 포함한다. 그러나, hNGF에 특이적으로 결합하는 분리된 항체는 다른 종으로부터 NGF 분자와 같은 다른 항원에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 본 발명의 내용에서, hNGF 및 또한 하나 이상의 추가의 항원에 결합하는 다중-특이적인(예를 들면, 이-특이적인) 항체는 hNGF에 "특이적으로 결합"하는 것으로 여겨진다. 또한, 분리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질을 실질적으로 포함하지 않을 수 있다.

[0041] 본 발명의 약제학적 제형 속에 포함될 수 있는 예시적인 항-hNGF 항체는 미국 특허 출원 공보 제US 20090041717호에 설정되어 있다.

[0042] 본 발명의 특정 양태에 따라서, 항-hNGF 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 6의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 상보성 결정 영역(HCDR) 1, 서열 번호 8의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2, 및 서열 번호 10의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3을 포함한다.

[0043] 본 발명의 특정 양태에 따라서, 항-hNGF 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 14의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 상보성 결정 영역(LCDR) 1, 서열 번호 16의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2, 및 서열 번호 18의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3을 포함한다.

[0044] 특정 양태에서, 항-hNGF 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 6-8-10/서열 번호 14-16-18로 이루어진 그룹으로부터 선택된, HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 각각 포함한다.

[0045] 특정 양태에서, 항-hNGF 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 4, 및 20으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR)을 포함한다. 특정 양태에서, 항-hNGF 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 12 및 22로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함한다. 특정 양태에서, 항-hNGF 항체, 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 4/12; 및 20/22로 이루어진 그룹으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0046] 본원의 실시예에 사용된 비-제한적인, 예시적인 항체는 "mAb1"으로서 언급된다. 이러한 항체는 또한 US 20090041717에서와 같이 및 본원에 기술된 바와 같이 언급되며, 서열 번호 20/22를 갖는 HCVR/LCVR 아미노산 서

열 쌍, 및 서열 번호 6-8-10/서열 번호 14-16-18로 나타낸 HCDR1-HCDR2-HCDR3 / LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 포함한다.

[0047] 본 발명의 약제학적 제형내에 함유된 항체, 또는 이의 항원-결합 단편의 양은 제형의 바람직한 특수한 특성, 및 또한 제형이 사용되도록 의도된 목적 및 특수 상황에 따라 변할 수 있다. 특정 양태에서, 약제학적 제형은 약 0.01 mg/mL 내지 약 500 mg/mL의 항체; 약 1 mg/mL 내지 약 500 mg/mL의 항체; 약 5 mg/mL 내지 약 400 mg/mL의 항체; 약 5 mg/mL 내지 약 200 mg/mL의 항체; 약 25 mg/mL 내지 약 180 mg/mL의 항체; 약 25 mg/mL 내지 약 150 mg/mL의 항체; 또는 약 50 mg/mL 내지 약 180 mg/mL의 항체를 함유할 수 있다. 특정 양태에서, 약제학적 제형은 약 0.1 mg/mL 내지 약 100 mg/mL의 항체; 약 0.2 mg/mL 내지 약 75 mg/mL의 항체; 약 0.6 mg/mL 내지 약 60 mg/mL의 항체를 함유할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 제형은 약 0.1 mg/mL; 약 0.2 mg/mL; 약 0.6 mg/mL; 약 1 mg/mL; 약 2 mg/mL; 약 5 mg/mL; 약 10 mg/mL; 약 15 mg/mL; 약 20 mg/mL; 약 25 mg/mL; 약 30 mg/mL; 약 35 mg/mL; 약 40 mg/mL; 약 45 mg/mL; 약 50 mg/mL; 약 55 mg/mL; 약 60 mg/mL; 약 65 mg/mL; 약 70 mg/mL; 약 75 mg/mL; 약 80 mg/mL; 약 85 mg/mL; 약 86 mg/mL; 약 87 mg/mL; 약 88 mg/mL; 약 89 mg/mL; 약 90 mg/mL; 약 95 mg/mL; 약 100 mg/mL; 약 105 mg/mL; 약 110 mg/mL; 약 115 mg/mL; 약 120 mg/mL; 약 125 mg/mL; 약 130 mg/mL; 약 131 mg/mL; 약 132 mg/mL; 약 133 mg/mL; 약 134 mg/mL; 약 135 mg/mL; 약 140 mg/mL; 약 145 mg/mL; 약 150 mg/mL; 약 155 mg/mL; 약 160 mg/mL; 약 165 mg/mL; 약 170 mg/mL; 약 175 mg/mL; 약 180 mg/mL; 약 185 mg/mL; 약 190 mg/mL; 약 195 mg/mL; 또는 약 200 mg/mL의, hNGF에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함할 수 있다.

[0048] **부형제 및 pH**

[0049] 본 발명의 약제학적 제형은 하나 이상의 부형제를 포함한다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "부형제"는 바람직한 농도, 점도 또는 안정화 효과를 제공하기 위해 제형에 가해진 모든 비-치료용 제제를 의미한다.

[0050] 특정 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 약 4.5 내지 약 5.6 범위의 pH를 유지하기에 적합한 완충액을 포함한다. 본 발명의 제형에 사용하기에 적합한 예시적인 완충액은 예를 들면, 아세테이트 완충액을 포함한다. 하나의 양태에서, 아세테이트 완충액은 10mM의 농도에서 제조된다.

[0051] 본 발명의 약제학적 제형내에 함유된 아세테이트의 양은 약 1 mM 내지 약 50 mM; 약 2 mM 내지 약 20 mM; 약 3 mM 내지 약 12 mM; 또는 약 10 mM로 변할 수 있다.

[0052] 본 발명의 약제학적 제형은 또한 하나 이상의 탄수화물, 예를 들면, 하나 이상의 당을 포함할 수 있다. 당은 환원당 또는 비-환원당일 수 있다. "환원당"은 예를 들면, 케톤 또는 알데하이드 그룹을 지닌 당을 포함하며, 당이 환원제로서 작용하도록 하는 반응성 헤미아세탈 그룹을 함유한다. 환원당의 구체적인 예는 프럭토즈, 글루코즈, 글리세르알데하이드, 락토즈, 아라비노즈, 만노즈, 크실로즈, 리보스, 람노즈, 갈락토즈 및 말토즈를 포함한다. 비-환원당은, 아세탈이며 마일라드 반응(Maillard reaction)을 개시하기 위해 아미노산 또는 폴리펩타이드와 실질적으로 반응성이 아닌 아노머 탄소(anomeric carbon)를 포함할 수 있다. 비-환원 당의 구체적인 예는 슈크로즈, 트레할로즈, 소르보즈, 슈크랄로즈, 소르비톨, 멜레지토즈 및 라피노즈를 포함한다. 당 산(sugar acid)은 예를 들면, 당산(saccharic acid), 글루코네이트 및 다른 폴리하이드록시 당 및 이의 염을 포함한다.

[0053] 본 발명의 약제학적 제형내에 함유된 당의 양은, 제형이 사용되는 의도된 목적 및 특수 상황에 따라 변할 것이다. 특정 양태에서, 제형은 약 0.1% 내지 약 20%의 당; 약 0.5% 내지 약 20%의 당; 약 1% 내지 약 20%의 당; 약 2% 내지 약 15%의 당; 약 3% 내지 약 10%의 당; 약 4% 내지 약 10%의 당; 또는 약 5% 내지 약 10%의 당을 함유할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 약제학적 제형은 약 0.5%; 약 1.0%; 약 1.5%; 약 2.0%; 약 2.5%; 약 3.0%; 약 3.5%; 약 4.0%; 약 4.5%; 약 5.0%; 약 5.5%; 약 6.0%; 6.5%; 약 7.0%; 약 7.5%; 약 8.0%; 약 8.5%; 약 9.0%; 약 9.5%; 약 10.0%; 약 10.5%; 약 11.0%; 약 11.5%; 약 12.0%; 약 12.5%; 약 13.0%; 약 13.5%; 약 14.0%; 약 14.5%; 약 15.0%; 약 15.5%; 약 16.0%; 16.5%; 약 17.0%; 약 17.5%; 약 18.0%; 약 18.5%; 약 19.0%; 약 19.5%; 또는 약 20.0%의 당(예를 들면, 슈크로즈)을 함유할 수 있다.

[0054] 본 발명의 약제학적 제형은 또한 하나 이상의 표면활성제를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "표면활성제"는, 이것이 용해되는 유체의 표면 장력을 감소시키고/시키거나 오일과 물 사이에 계면 장력을 감소시키는 물질을 의미한다. 표면활성제는 이온성 또는 비-이온성일 수 있다. 본 발명의 제형 속에 포함될 수 있는 예시적인 비-이온성 표면활성제는 예를 들면, 알킬 폴리(에틸렌 옥사이드), 알킬 폴리글루코사이드(예를 들

면, 옥틸 글루코사이드 및 데실 말토사이드), 세틸 알코올 및 올레일 알코올과 같은 지방 알코올, 코카미드 MEA, 코카미드 DEA, 및 코카미드 TEA를 포함한다. 본 발명의 제형속에 포함될 수 있는 구체적인 비-이온성 표면활성제는 예를 들면, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 28, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 65, 폴리소르베이트 80, 폴리소르베이트 81, 및 폴리소르베이트 85와 같은 폴리소르베이트; 폴록사머 188, 폴록사머 407과 같은 폴록사머; 폴리에틸렌-폴리프로필렌 글리콜; 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다. 폴리소르베이트 20은 또한 트윈(TWEEN) 20, 소르비탄 모노라우레이트 및 폴리옥시에틸렌소르비탄 모노라우레이트로 공지되어 있다.

[0055] 본 발명의 약제학적 제형 속에 함유된 표면활성제의 양은, 제형의 바람직한 특이적인 특성, 및 또한 제형이 사용되도록 의도된 특수 상황 및 목적에 따라 변할 수 있다. 특정 양태에서, 제형은 약 0.01% 내지 약 10%의 표면활성제; 약 0.05% 내지 약 5%의 표면활성제; 또는 약 0.1% 내지 약 1%의 표면활성제를 함유할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 제형은 약 0.01%; 약 0.02%; 약 0.03%; 약 0.04%; 약 0.05%; 약 0.06%; 약 0.07%; 약 0.08%; 약 0.09%; 약 0.10%; 약 0.11%; 약 0.12%; 약 0.13%; 약 0.14%; 약 0.15%; 약 0.16%; 약 0.17%; 약 0.18%; 약 0.19%; 약 0.20%; 약 0.21%; 약 0.22%; 약 0.23%; 약 0.24%; 약 0.25%; 약 0.26%; 약 0.27%; 약 0.28%; 약 0.29%; 또는 약 0.30%의 표면활성제(예를 들면, 폴리소르베이트 20)를 포함할 수 있다.

[0056] 본 발명의 약제학적 제형은, pH가 약 4.0 내지 약 6.0일 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 제형은, pH가 약 4.2; 약 4.4; 약 4.6; 약 4.8; 약 5.0; 약 5.2; 약 5.4; 약 5.6; 약 5.8; 또는 약 6.0일 수 있다.

[0057] **예시적인 제형**

[0058] 본 발명의 하나의 국면에 따라서, 약제학적 제형은: (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 사람 항체(예를 들면, mAb1); (ii) 아세테이트; 및 (iii) 당(예를 들면, 슈크로즈)을 포함한다. 본 발명의 당해 국면에 포함된 구체적인, 비-제한적인 예시 양태는 표 1에 설정되어 있다.

[0059] [표 1]

[0060]

mAb1, 아세테이트 및 슈크로즈를 포함하는 예시적인 약제학적 제형																
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트(mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	6	6	6	6	8	8	8	8

[0061] 본 발명의 다른 국면에 따라서, 약제학적 제형은: (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 사람 항체(예를 들면, mAb1); (ii) 아세테이트; (iii) 당(예를 들면, 슈크로즈); 및 (iv) 표면활성제(예를 들면, 폴리소르베이트 20)를 포함한다. 본 발명의 당해 국면에 포함된 구체적인, 비-제한적인 예시 양태는 표 2a 및 2b에 설정된다.

[0062] [표 2a]

[0063]

mAb1, 아세테이트, 슈크로즈 및 폴리소르베이트 20 을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
폴리소르베이트 20 (%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

[0064] [표 2b]

[0065]

mAb1, 아세테이트, 슈크로즈 및 폴리소르베이트 20 을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
폴리소르베이트 20 (%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1

[0066] 본 발명의 다른 국면에 따라서, 약제학적 제형은: (i) hNGF에 특이적으로 결합하는 사람 항체 (예를 들면, mAb1); (ii) 아세테이트; (iii) 당 (예를 들면, 슈크로즈); (iv) 표면활성제(예를 들면, 폴리소르베이트 20); (v) 제1 아미노산(예를 들면, 히스티딘) 및 (v) 제2 아미노산(예를 들면, 아르기닌)을 포함한다. 본 발명의 당해 국면에 포함된 구체적인, 비-제한적인 예시 양태는 표 3a, 3b, 3c, 3d, 3e 및 3f에 설정된다.

[0067] [표 3a]

mAb1, 아세테이트, 히스티딘, 슈크로즈, 폴리소르베이트 20 및 아르기닌을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
히스티딘 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
폴리소르베이트 20 (%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
아르기닌 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

[0068]

[0069] [표 3b]

mAb1, 아세테이트, 히스티딘, 슈크로즈, 폴리소르베이트 20 및 아르기닌을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
히스티딘 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
폴리소르베이트 20 (%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
아르기닌 (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

[0070]

[0071] [표 3c]

mAb1, 아세테이트, 히스티딘, 슈크로즈, 폴리소르베이트 20 및 아르기닌을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
히스티딘 (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
폴리소르베이트 20 (%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
아르기닌 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

[0072]

[0073] [표 3d]

mAb1, 아세테이트, 히스티딘, 슈크로즈, 폴리소르베이트 20 및 아르기닌을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
히스티딘 (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	4	4	4	4	8	8	8	8
폴리소르베이트 20 (%)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
아르기닌 (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

[0074]

[0075] [표 3e]

mAb1, 아세테이트, 히스티딘, 슈크로즈, 폴리소르베이트 20 및 아르기닌을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
히스티딘 (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
폴리소르베이트 20 (%)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
아르기닌 (mM)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

[0076]

[0077] [표 3f]

[0078]

mAb1, 아세테이트, 히스티딘, 슈크로즈, 폴리소르베이트 20 및 아르기닌을 포함하는 예시적인 약제학적 제형												
mAb1 (mg/ml)	5	50	100	150	5	50	100	150	5	50	100	150
아세테이트 (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
히스티딘 (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
슈크로즈 (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
폴리소르베이트 20 (%)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
아르기닌 (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

[0079] 본 발명의 특정 국면에 따라서, 항체 제형은 약 5.0의 pH에서 약 10 mM 아세테이트, 및 약 1.0% 폴리에틸렌 글리콜 3350 (PEG 3350), 및 약 20% 슈크로즈 중의 약 20 mg/mL의 농도에서 항-hNGF 항체를 포함할 수 있다. 하나의 양태에서, 항체 제형은 정맥내 투여된다. 하나의 양태에서, 항체 제형은 피하 투여된다.

[0080] 본 발명에 포함된 약제학적 제형의 추가의 비-제한적 예는 하기 나타낸 작업 실시예를 포함하는, 본원에서 다른 곳에 설정된다.

[0081] **약제학적 제형의 안정성 및 점도**

[0082] 본 발명의 약제학적 제형은 전형적으로 고 수준의 안정성을 나타낸다. 약제학적 제형을 참조하여 본원에 사용된 것으로서 용어 "안정한"은, 약제학적 제형내 항체가 규정된 양의 시간 동안 저장 후 허용되는 정도의 구조 및/또는 기능 및/또는 생물학적 활성을 보유함을 의미한다. 내부에 함유된 항체가 규정된 양의 시간 동안 저장 후 이의 구조 및/또는 기능 및/또는 생물학적 활성의 100%를 유지하지 않는다고 할지라고 제형은 안정할 수 있다. 특정 상황에서, 규정된 양의 시간 동안 저장 후 항체의 구조 및/또는 기능 및/또는 생물학적 활성의 약 80%, 약 85%, 약 90%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98% 또는 약 99%의 유지는 "안정한" 것으로 고려될 수 있다.

[0083] 안정성은 특히, 제공된 온도에서 규정된 양의 시간 동안 저장 후 제형 속에 잔류하는 천연 항체의 퍼센트를 측정함으로써 측정할 수 있다. 천연 항체의 퍼센트는 특히, 크기 배제 크로마토그래피(예를 들면, 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피[SE-HPLC])에 의해 측정할 수 있다. 본원에 사용된 어구 "허용되는 정도의 안정성"은, 적어도 90%의 천연 형태의 항체가 규정된 양의 시간 동안 제공된 온도에서 저장 후 제형 속에서 검출될 수 있음을 의미한다. 특정 양태에서, 적어도 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%의 천연 형태의 항체가 규정된 양의 시간 동안 제공된 온도에서 저장 후 제형 속에서 검출될 수 있다. 안정성이 측정되는 규정된 양의 시간은 적어도 1 개월, 적어도 2 개월, 적어도 3 개월, 적어도 4 개월, 적어도 5 개월, 적어도 6 개월, 적어도 7 개월, 적어도 8 개월, 적어도 9 개월, 적어도 10 개월, 적어도 11 개월, 적어도 12 개월, 적어도 18 개월, 적어도 24 개월, 또는 그 이상일 수 있다. 안정성을 평가하는 경우 약제학적 제형이 저장될 수 있는 온도는 약 -80℃ 내지 약 45℃의 어떠한 온도, 예를 들면, 약 -30℃, 약 -20℃, 약 0℃, 약 5℃, 약 25℃, 약 37℃, 또는 약 45℃일 수 있다. 예를 들면, 약제학적 제형은, 5℃에서 3개월 저장 후, 약 90%, 95%, 96% 또는 97% 초과의 천연 항체가 SE-HPLC에 의해 검출되는 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다. 약제학적 제형은, 또한 5℃에서 6개월 저장 후, 약 90%, 95%, 96% 또는 97% 초과의 천연 항체가 SE-HPLC에 의해 검출되는 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다. 약제학적 제형은, 또한 5℃에서 9개월 저장 후, 약 90%, 95%, 96% 또는 97%초과의 천연 항체가 SE-HPLC에 의해 검출되는 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다. 약제학적 제형은, 또한 25℃에서 3개월 저장 후, 약 90%, 95%, 96% 또는 97% 초과의 천연 항체가 SE-HPLC에 의해 검출되는 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다. 약제학적 제형은, 또한 25℃에서 6개월 저장 후, 약 90%, 95%, 96% 또는 97% 초과의 천연 항체가 SE-HPLC에 의해 검출되는 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다. 약제학적 제형은, 또한 25℃에서 9개월 저장 후, 약 90%, 95%, 96% 또는 97% 초과의 천연 항체가 SE-HPLC에 의해 검출되는 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다.

[0084] 예를 들면 열 안정성을 측정하기 위한 차등 주사 열량측정법(DSC), 기계적 안정성을 측정하기 위한 조절된 교반, 및 용액 혼탁도를 측정하기 위한 약 350 nm 또는 약 405 nm에서 흡광도와 같은 다른 방법이 본 발명의 제형의 안정성을 평가하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 제형은, 약 5℃ 내지 약 25℃에서 6개월 이상 저장 후, 제형의 OD_{405}에서의 변화가 t=0에서 제형의 OD_{405}으로부터 약 0.05 미만(예를 들면, 0.04, 0.03,

0.02, 0.01 이하)인 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다.

[0085] 안정성은 또한 이의 표적에 대한 항체의 생물학적 활성 및/또는 결합 친화성을 측정함으로써 평가할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 제형은, 예를 들면, 5℃, 25℃, 37℃, 45℃ 등에서 규정된 양의 시간(예를 들면, 1 내지 12 또는 18 개월) 동안 저장 후, 제형내 함유된 항-hNGF 항체가 상기 저장 전 항체의 결합 친화성의 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 이상인 친화성으로 hNGF에 결합하는 경우 안정한 것으로 고려될 수 있다. 제형 속에서 항체의 안정성을 평가하기 위한 추가의 방법은 하기 나타낸 실시예들에서 제공된다.

[0086] 유체 형태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 특정 양태에서 낮은 수준의 점도 내지 중간 수준의 점도를 나타낼 수 있다. 본원에 사용된 것으로서 "점도"는 "동 점도(kinematic viscosity)" 또는 "절대 점도"일 수 있다. "동 점도"는 중력의 영향하에서 유체의 저항성 유동의 척도이다. 동일한 용적의 2개의 유체가 동일한 모세관 점도계내에 위치하여 중력에 의해 유동하도록 하는 경우, 점성 유체는 점성이 거의 없는 유체보다 모세관을 통해 유동하는 것이 더 오래 걸린다. 예를 들면, 하나의 유체가 이의 유동을 완료하는데 200초가 걸리고 다른 유체가 400초가 걸린 경우, 제2 유체가 동 점도 규모에서 첫번째 보다 2배 점성이다. 때때로 역학적 또는 단순 점도로 불리는 "절대 점도"는 동 점도 및 유체 밀도의 곱(product)이다(절대 점도 = 동 점도 x 밀도). 동 점도의 면적은 L^2/T이며, 여기서 L은 길이이고 T는 시간이다. 일반적으로, 동 점도는 센티스트로크(cSt)로 표시된다. 동 점도의 SI 단위는 mm^2/s이며, 이는 1 cSt이다. 절대 점도는 센티포이즈(cP)의 단위로 표시된다. 절대 점도의 SI 단위는 밀리파스칼-초(mPa-s)이며, 여기서 1 cP = 1 mPa-s이다.

[0087] 본원에 사용된 것으로서, 본 발명의 유체 제형을 참조하여, 저 수준의 점도는 약 20 센티포이즈(cP) 미만의 절대 점도를 나타낼 것이다. 예를 들면, 본 발명의 유체 제형은, 표준 점도 측정 기술을 사용하여 측정시, 제형이 약 19 cP, 약 18 cP, 약 17 cP, 약 16 cP, 약 15 cP, 약 14 cP, 약 13 cP, 약 12 cP, 약 11 cP, 약 10 cP, 약 9 cP, 약 8 cP, 약 7 cP, 약 6 cP, 약 5 cP, 약 4 cP 이하의 절대 점도를 나타내는 경우, "저 점도"를 갖는 것으로 고려될 것이다. 본원에 사용된 것으로서, 본 발명의 유체 제형을 참조하여, 중간 수준의 점도는 약 30 cP 내지 약 20 cP의 절대 점도를 나타낼 것이다. 예를 들면, 본 발명의 유체 제형은, 표준 점도 측정 기술을 사용하여 측정시, 제형이 약 30 cP, 약 29 cP, 약 28 cP, 약 27 cP, 약 26 cP, 약 25 cP, 약 24 cP, 약 23 cP, 약 22 cP, 약 21 cP 또는 약 20 cP의 절대 점도를 나타내는 경우 "중간 점도"를 갖는 것으로 고려될 것이다.

[0088] 하기 실시예 5에 나타낸 바와 같이, 본 발명자들은, 고 농도의 항-hNGF 항체 (예를 들면, 적어도 125 내지 150 mg/mL 이하)를 포함하는 저 내지 중간 점도 유체 제형이 25 mM 히스티딘 및 25 mM 내지 100 mM 아르기닌을 사용하여 항체를 제형함에 의해 수득될 수 있다는 놀라운 발견을 하였다. 또한, 제형의 점도는 슈크로즈 함량을 저하시킴에 의해 훨씬 더 큰 정도로 감소시킬 수 있었음을 추가로 발견하였다.

[0089] **약제학적 제형용 용기 및 투여 방법**

[0090] 본 발명의 약제학적 제형은 의약 및 다른 치료용 조성물의 저장에 적합한 어떠한 용기내에 함유될 수 있다. 예를 들면, 약제학적 제형은, 바이알, 앰플, 주사기, 카트릿지, 또는 병과 같은 정의된 용적을 갖는 밀봉되고 멸균된 플라스틱 또는 유리 용기속에 함유될 수 있다. 예를 들면, 투명 및 불투명(예를 들면, 호박색) 유리 또는 플라스틱 바이알을 포함하는 상이한 유형의 바이알을 사용하여 본 발명의 제형을 함유할 수 있다. 유사하게, 어떠한 유형의 주사기도 사용하여 본 발명의 약제학적 제형을 포함하고/하거나 투여할 수 있다. 용기내 약제학적 제형은 당해 분야에 공지된 어떠한 방법도 사용하여 처리함으로써 산소를 제거하여 필요한 경우 항체 안정성을 개선시킬 수 있다. 상부 공간 부분(밀폐된 용기내 액체 위의 가스 공간)내 산소는 질소 또는 아르곤과 같은 불활성 가스로 교체될 수 있다.

[0091] 본 발명의 약제학적 제형은 "표준 텅스텐" 주사기 또는 "저 텅스턴" 주사기내에 함유될 수 있다. 당해 분야의 통상의 숙련가에 의해 인식될 바와 같이, 유리 주사기를 제조하는 방법은 일반적으로 유리에 구멍을 내서 이로부터 액체가 빠져나와서 주사기로부터 배출되도록 기능하는 가열 텅스텐 막대의 사용을 포함한다. 당해 공정은 주사기의 내부 표면에 미량의 텅스텐의 침착을 초래한다. 후속적인 세척 및 다른 가공 단계를 사용하여 주사기내 텅스텐의 양을 감소시킬 수 있다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "표준 텅스텐"은 주사기가 10억당 500부(ppb) 초과의 텅스텐을 함유함을 의미한다. 용어 "저 텅스텐(low tungsten)"은, 주사기가 500 ppb 미만의 텅스텐을 함유함을 의미한다. 예를 들면, 본 발명에 따른 저 텅스텐 주사기는 약 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 또는 그 이하 ppb

미만의 텅스텐을 함유할 수 있다.

[0092] 주사기에 사용된 고무 플런저(rubber plunger), 및 바이알의 개구(opening)를 밀폐하는데 사용된 고무 스토퍼(rubber stopper)를 피복하여 주사기 또는 바이알의 의약 성분의 오염을 방지하고/하거나 이들의 안정성을 보존할 수 있다. 따라서, 특정 양태에 따르는, 본 발명의 약제학적 제형은 피복된 플런저를 포함하는 주사기내에, 또는 피복된 고무 스토퍼로 밀봉된 바이알내에 함유될 수 있다. 예를 들면, 플런저 또는 스토퍼는 플루오로카본 필름으로 피복될 수 있다. 본 발명의 약제학적 제형을 함유하는 바이알 및 주사기와 함께 사용하기에 적합한 피복된 스토퍼 및/또는 플런저의 예는 예를 들면, 미국 특허 제4,997,423호; 제5,908,686호; 제6,286,699호; 제6,645,635호; 및 제7,226,554호에 언급되어 있다. 본 발명의 내용에서 사용될 수 있는 특수한 예시적인 피복된 고무 스토퍼 및 플런저는 제조업자(West Pharmaceutical Services, Inc.: 펜실베니아주 라이언빌 소재)로부터 입수가능한, 상표명 "FluroTec®" 하에 시판되고 있다.

[0093] 본 발명의 특정 양태에 따라서, 약제학적 제형은 플루오로카본-피복된 플런저를 포함하는 저 텅스텐 주사기내에 함유될 수 있다. 그러나, 하기 실시예 단락에서 입증된 바와 같이, 본 발명의 항-NGF 항체는 시험된 주사기 및 플런저의 조합 중 어느 것에서도 안정한 것으로 여겨진다.

[0094] 약제학적 제형은 주사(예를 들면, 피하, 정맥내, 근육내, 복강내 등) 또는 경피, 점막, 비강, 폐 및/또는 경구 투여와 같은 비경구 경로에 의해 환자에게 투여될 수 있다. 다수의 재사용가능한 펜 및/또는 자가주사(autoinjector) 전달 장치를 사용하여 본 발명의 약제학적 제형을 피하 전달할 수 있다. 예는 몇개만 언급하자면, AUTOPEN™(제조원: Owen Mumford, Inc., 영국 우드스톡 소재), DISETRONIC™ 펜(제조원: Disetronic Medical Systems, 스위스 베르그도르프 소재), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜(제조원: Eli Lilly and Co., 인디아나주 인디아나폴리스 소재), NOVOPEN™ I, II 및 III(제조원: Novo Nordisk, 덴마크 코펜하겐 소재), NOVOPEN JUNIOR™(제조원: Novo Nordisk, 덴마크 코펜하겐 소재), BD™ 펜(제조원: Becton Dickinson, 뉴저지주 프랭클린 레이크스 소재), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ 및 OPTICLIK™(제조원: Sanofi-Aventis, 독일 프랑크푸르트 소재)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 약제학적 조성물의 피하 전달에 있어 적용을 갖는 1회용 펜 및/또는 자가주사 전달 장치의 예는 몇개만 언급하자면, SOLOSTAR™ 펜 (제조원: Sanofi-Aventis), FLEXPEN™(제조원: Novo Nordisk), 및 KWIKPEN™(제조원: Eli Lilly), SURECLICK™ 자가주사기(제조원: Amgen, 캘리포니아주 싸우전드 오크스 소재), PUSHCLICK™[제조원: Scandinavian Health, Ltd. (SHL) Group], PENLET™(제조원: Haselmeier, 독일 슈투트가르트 소재), EPIPEN(제조원: Dey, L.P.), 및 HUMIRA™ 펜(제조원: Abbott Labs, 일리노이주 애보트 파크 소재)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0095] 본 발명의 약제학적 제형을 전달하기 위한 미세주입기(microinfusor)의 사용이 또한 본원에서 고려된다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 "미세주입기"는 장시간(예를 들면, 약 10, 15, 20, 25, 30분 또는 그 이상)에 걸쳐 다량(예를 들면, 약 2.5 mL 이상 까지)의 치료용 제형을 서서히 투여하도록 설계된 피하 전달 장치를 의미한다[참조: 예를 들면, 미국 특허 제6,629,949호; 미국 특허 제6,659,982호; 및 Meehan *et al.*, *J. Controlled Release 46*:107-116 (1996)]. 미세주입기는 고 농도(예를 들면, 약 100, 125, 150, 175, 200mg/mL 또는 그 이상 mg/mL) 및/또는 점성 용액내 함유된 큰 용량의 치료용 단백질의 전달에 특히 유용하다.

[0096] **약제학적 제형의 치료학적 용도**

[0097] 본 발명의 약제학적 제형은 특히 NGF 활성과 관련된 어떠한 질환 또는 장애도 치료, 예방 및/또는 완화시키는데 유용하다. 본 발명의 약제학적 제형의 투여로 치료되고/되거나 예방될 수 있는 예시적인, 비-제한적인 질환 및 장애는 신경성, 신경병성 또는 통각성 통증과 관련된 어떠한 상태로부터 초래되는 통증을 포함한다. 신경병성 통증의 특정 양태에서, 언급된 삼차신경통, 후-대상포진 신경통, 환상 사지 통증, 섬유근통, 반사교감신경이상증 및 신경성 통증 병태가 바람직하게 치료된다. 다른 양태에서, 암 통증, 특히 골 암 통증, 골관절염, 또는 류마티스 관절염 통증, 하부 요통, 수술적 절개후 통증, 골절 통증, 골다공증성 골절 통증, 골다공증, 통풍 관절 통증, 당뇨병성 신경병증, 좌골신경통, 낫 세포 발증과 관련된 통증, 편두통, 및 다른 신경병성 및/또는 통각성 통증이 바람직하게 치료된다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 약제학적 제형의 사용을 통한 NGF 활성 또는

NGF 활성화(위에서 언급한 예시적인 질환, 장애 및 병태 중 어느 것도 포함)와 관련된 어떠한 질환 또는 장애를 치료, 예방 및/또는 완화시키는 방법을 포함한다. 본 발명의 치료학적 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 항-hNGF 항체를 포함하는 어떠한 제형도 투여함을 포함한다. 약제학적 제형이 투여되는 대상체는 예를 들면, 이러한 치료, 예방 및/또는 완화가 요구되거나, NGF 및/또는 NGF-매개된 활성의 억제 또는 약화로부터 달리 유리할 수 있는 어떠한 사람 또는 비-사람 동물일 수 있다. 예를 들면, 대상체는 위에서 언급한 질환 또는 장애 중 어느 것에 의해 영향받을 위험이 있는 것으로 진단되거나, 고려되는 개인일 수 있다. 본 발명은 또한 NGF 활성 또는 NGF 활성화와 관련된 어떠한 질환 또는 장애(위에서 언급한 예시적인 질환, 장애 및 병태 중 어느 것도 포함)의 치료, 예방 및/또는 완화를 위한 의약의 제조시 본원에 기재된 약제학적 제형 중 어느 것의 용도를 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0098] 실시예

[0099] 다음 실시예는 본 발명의 방법 및 조성물을 제조하고 사용하는 방법의 완전한 기재 및 기술을 당해 분야의 통상의 기술자에게 제공하기 위해 설정되며, 본 발명자들이 자신들의 발명으로 고려하는 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 사용된 수치(예를 들면, 양, 온도 등)와 관련하여 정확성을 보장하기 위한 노력들이 이루어져 왔지만 일부 실험적 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 나타내지 않는 한, 부는 중량부이며, 분자량은 평균 분자량이고, 온도는 섭씨이며, 압력은 대기압 또는 대기압 근처이다.

[0100] **실시예 1. 저온에서 저장 후 완전한 사람 항-사람 신경 성장 인자(NGF) 항체("mAb1")의 안정성**

[0101] 당해 실시예에서, 부형제가 들어있지 않은 항-사람 NGF 항체를 함유하는 각종 제형을 제조하였다. 당해 실시예 및 하기 설정된 모든 후속적인 실시예들에서 사용된 예시적인 항체는 서열 번호 20의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역(HCVR), 및 서열 번호 22의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역(LCVR)을 포함하는 항체이다. 당해 항체는 본원에서 "mAb1"으로 언급된다.

[0102] 예비 실험으로서, 액체 용액 속에서 mAb1의 안정성은 -30℃ 및 -80℃에서 동결된 저장시 다양한 시간 후 측정하였다. 당해 실시예에서 사용된 mAb1의 농도는 130 mg/mL이었다. 각종 시점에서, mAb1의 안정성은 크기 배제 고 성능 액체 크로마토그래피(SE-HPLC) 및 양이온 교환 고 성능 액체 크로마토그래피(CEX-HPLC)로 측정하였다. 안정성은 시료내에 잔류하는 천연의 mAb1의 퍼센트를 기초로(SE-HPLC에 의함; 표 4) 및 시료에서 관찰된 산성종(acidic species)의 퍼센트(CEX-HPLC에 의함; 표 5)에 의해 평가하였다. 퍼센트 산성 종에 있어서의 증가는 항체의 탈아미드화와 일치하므로 본 발명의 약제학적 제형과 관련하여 바람직하지 않은 현상으로 고려된다.

[0103] [표 4]

잔류하는 천연의 mAb % (SE-HPLC)		
	저장 온도	
시간(개월)	-80°C	-30°C
0	96.6	96.6
1	96.6	95.2
3	96.6	94.6
6	96.6	94.2
9	96.5	93.1
12	96.7	93.3

[0104]

[0105] [표 5]

산성 종 % (CEX-HPLC)		
	저장 온도	
시간(개월)	-80°C	-30°C
0	14.3	14.3
1	14.7	14.6
3	14.9	14.5
6	14.1	12.8
9	14.9	14.5
12	14.6	14.6

[0106]

[0107] 이들 결과는, mAb1이 -80℃에서 저장시 적어도 12개월 동안 130 mg/mL의 농도에서 안정하게 잔류할 수 있음을 나타낸다.

[0108] **실시예 2. 최소의 부형제를 함유하는 mAb1 제형의 안정성**

[0109] mAb1을 함유하는 6개의 상이한 제형들을 최소의 부형제(표 6에 나타낸 바와 같음, 또한 실시예 2 참조)와 함께 40 mg/mL의 농도에서 제조하고 다양한 기간 동안 -20℃ 또는 -30℃에서 저장하였다. 모든 제형은 10 mM의 아세테이트, pH 5.0을 함유한다. 표 7 (-30℃) 및 표 8(-20℃)은 SE-HPLC에 의해 측정한 바와 같이, 다양한 최소 부형제 제형 속에 잔류하는 천연의 mAb1의 퍼센트를 나타낸다.

[0110] [표 6]

[0111]

mAb1 최소 부형제 제형		
제형	부형제	mAb1 (mg/mL)
1	0.5%의 폴리에틸렌 글리콜 3350	40
2	1.0%의 폴리에틸렌 글리콜 3350	40
3	1% 슈크로즈	40
4	2% 슈크로즈	40
5	4% 슈크로즈	40
6	비함유	40

[0112] 위에 언급한 바와 같이, 제형을 -30℃ 및 -20℃에서 다양한 시간들 후 SE-HPLC에 의해 안정성에 대해 시험하였다. 잔류하는 천연의 mAb1의 퍼센트로 나타낸 결과를 표 7(-30℃ 저장) 및 표 8 (-20℃)에 나타낸다.

[0113] [표 7]

[0114]

-30°C 에서 저장 후 잔류하는 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)						
	제형 번호 (참조: 표 6)					
시간(개월)	1	2	3	4	5	6
0	98.3	98.1	98.0	97.9	98.1	98.0
1	98.0	98.1	98.0	98.0	98.0	97.0
3	97.8	97.9	98.0	98.0	97.9	96.0
6	98.2	98.4	98.5	98.4	98.4	95.9
9	98.2	98.3	98.5	98.5	98.8	95.1
12	98.2	98.4	98.4	98.4	98.5	95.7
18	97.7	98.2	98.1	98.1	98.4	94.5
24	97.9	98.1	98.3	98.5	98.5	94.5

[0115] [표 8]

[0116]

-20°C 에서 저장 후 잔류하는 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)						
	제형 번호 (참조: 표 6)					
시간(개월)	1	2	3	4	5	6
0	98.3	98.1	98.0	97.9	98.1	98.0
1	97.8	98.1	98.2	98.1	98.2	95.8
3	97.8	97.9	98.1	98.2	98.0	93.0
6	97.7	98.3	98.3	98.4	98.5	92.6
9	97.8	98.1	98.3	98.3	98.3	90.7
12	97.7	98.2	98.3	98.3	98.5	92.9
18	96.4	97.7	97.9	98.1	98.3	86.7
24	96.9	97.9	98.1	98.2	98.3	88.6

[0117] 당해 실시예에 나타낸 바와 같이, mAb1의 안정성은 -20℃ 및 -30℃에서 수개월 저장 후 제형 1, 2, 3, 4, 및 5에서 유의적인 정도로 유지되었다. 이들 결과는, -30℃에서 mAb1의 안정성이 적어도 1.0%의 슈크로즈, 또는 적어도 0.5%의 폴리에틸렌 글리콜 3350을 첨가하여 향상시킬 수 있다는 것을 나타낸다. 이들 결과는 또한, -20℃에서 mAb1의 안정성이 적어도 1.0%의 슈크로즈, 또는 적어도 1.0%의 폴리에틸렌 글리콜 3350의 첨가에 의해 향상될 수 있음을 나타낸다.

[0118] **실시예 3. mAb1의 안정화된 제형**

[0119] 다양한 농도의 mAb1을 함유하는 안정화된 제형을 하기 실시예 4 및 5에서 사용하기 위해 제조하였다. "제형 A"로 나타낸 당해 제형은 표 9에 나타낸다.

[0120] [표 9]

안정화된 mAb1 제형 "A"	
성분	제형 A
mAb1	6 – 100 mg/mL
아세테이트	10 mM
폴리소르베이트 20	0.05%
슈크로즈	8%
pH	5.0

[0121]

[0122] **실시예 4. 5℃에서 저장 후 제형 A의 안정성**

[0123] 6, 20 또는 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A (참조: 실시예 3)를 투명한 유리 바이알 속에서 5℃에서 수개월 저장 후 안정성에 대해 시험하였다. 안정성을 다음 매개변수에 의해 평가하였다: (a) 가시적인 외관; (b) 혼탁도(OD 405 nm); (c) pH; (d) RP-HPLC에 의해 측정된 바와 같이 회수된 총 mAb1의 퍼센트; (e) 회수된 천연의 mAb1의 퍼센트(SE-HPLC에 의해 측정함); (f) 회수된 주요 피크 mAb1의 퍼센트(CEX-HPLC에 의해 측정함); 및 (g) 회수된 산성 종 mAb1의 퍼센트(CEX-HPLC에 의해 측정함). 6, 20 및 100 mg/mL의 mAb1을 함유하는 제형 A에 대한 안정성 결과를 각각 표 10, 11 및 12에 요약한다.

[0124] [표 10]

유리 바이알 속에서 5°C 에서 저장 후 6 mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성 (0 내지 12 개월)							
	5°C 에서 저장 기간 (개월)						
매개변수	0	1	2	3	6	9	12
가시적인 외관	통과	통과	통과	통과	통과	통과	통과
혼탁도 (OD 405 nm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH	5.1	5.1	5.1	5.0	5.0	5.1	5.1
회수된 총 mAb1 %	100	96	101	99	102	107	107
회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	98.8	98.6	98.7	98.9	98.5	98.8	98.7
회수된 주요 피크 mAb1 % (CEX-HPLC)	44.8	46.3	46.4	45.4	41.2	46.2	45.0
회수된 산성 종 mAb1 % (CEX-HPLC)	16.6	16.5	17.4	17.7	15.2	15.9	16.5

[0125]

[0126] [표 11]

유리 바이알 속에서 5°C 에서 저장 후 20 mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성 (0 내지 18 개월)								
5°C 에서 저장 기간 (개월)								
매개변수	0	1	2	3	6	9	12	18
가시적 외관	통과	통과	통과	통과	통과	통과	통과	통과
혼탁도 (OD 405 nm)	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH	5.1	5.2	5.0	5.1	5.0	5.1	5.2	5.1
회수된 총 mAb1 %	100	96	99	100	100	104	101	102
회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	99.0	98.4	98.5	98.4	98.6	98.2	98.6	98.2
회수된 주요 피크 mAb1 % (CEX-HPLC)	44.0	44.0	44.1	43.8	44.3	43.8	44.9	43.6
회수된 산성 종 mAb1 % (CEX-HPLC)	15.8	15.5	15.8	15.5	15.5	15.2	15.9	15.3

[0127]

[0128] [표 12]

유리 바이알 속에서 5°C 에서 저장 후 100 mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성 (0 내지 18 개월)								
5°C 에서 저장 기간 (개월)								
매개변수	0	1	2	3	6	9	12	18
가시적 외관	통과	통과	통과	통과	통과	통과	통과	통과
혼탁도 (OD 405 nm)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
pH	5.0	5.1	5.0	5.1	5.0	5.1	5.0	5.2
회수된 총 mAb1 %	100	98	106	104	103	103	101	104
회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	98.2	97.9	97.5	97.8	98.2	97.4	98.1	97.6
회수된 주요 피크 mAb1 % (CEX-HPLC)	41.3	40.9	39.2	39.0	39.5	39.7	42.0	40.4
회수된 산성 종 mAb1 % (CEX-HPLC)	14.8	14.9	13.7	14.0	14.0	13.4	13.8	14.0

[0129]

[0130] 당해 실시예의 결과는, 6 mg/mL의 mAb1을 함유하는 제형 A가 투명한 유리 바이알 속에서 5℃에서 적어도 12개월 저장 동안 안정하게 잔류하였으며, 약 98.7% 이상의 천연 mAb1이 이러한 조건하에서 12개월 저장 후 시료 속에 잔류하였음을 입증한다. 당해 실시예의 결과는 또한, 20 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A가 투명한 유리 바이알 속에 5℃에서 적어도 18 개월 동안 안정하게 잔류하였으며, 약 98.2%의 천연의 mAb1이 이러한 조건하에서 18 개월 저장 후 시료 속에 잔류하였음을 입증한다. 또한, 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A는 투명한 유리 바이알 속에 5℃에서 적어도 18 개월 동안 안정하게 잔류하였으며, 약 97.6%의 천연 mAb1이 이러한 조건하에서 18 개월 저장 후 시료 속에서 잔류하였다. 또한, 산성 종의 퍼센트는 시험한 조건하에서 12 또는 18 개월 저장 후 0 시간으로부터 유의적으로 변하지 않았으므로, 제형의 안정성을 확인한다.

[0131] **실시예 5. mAb1을 함유하는 제형의 점도 및 안정성에 있어서 아르기닌, 히스티딘 및 슈크로즈 농도의 효과**

[0132] 100 mg/mL, 125 mg/mL 및 150 mg/mL mAb1 및 다양한 양의 히스티딘, 아르기닌 및 슈크로즈를 함유하는 수개의 제형들을 제조하였다. 점도 및 삼투질 농도(osmolality)를 각각의 제형에 대해 25℃에서 측정하였다. 당해 결과를 표 13에 요약한다.

[0133] [표 13]

mAb1 제형의 점도에 있어서 아르기닌, 히스티딘 및 슈크로즈의 효과 (모든 제형은 10 mM 의 아세테이트, pH 5.0, 및 0.2%의 폴리소르베이트 20 을 함유한다)

mAb1 (mg/mL)	[히스티딘] (mM)	[아르기닌] (mM)	[슈크로즈] (%)	점도 (cPoise)	삼투압 (mOsm)
100	0	0	10	~13.5	440
100	0	25	10	~9	510
100	25	0	10	~9	510
100	0	25	5	~7	270
100	0	50	10	~7	560
125	0	0	5	~20	~250
125	0	25	5	~11	290
125	25	0	5	~12	280
125	0	50	5	~9	340
125	25	25	5	~9	330
125	0	0	2	~16	150
150	0	0	5	~41	300
150	25	25	5	~19	360
150	25	25	2	~15	310
150	0	75	5	~14	450
150	0	100	5	~11	510

[0134]

[0135] 표 13에 나타낸 결과는, 25 mM의 농도에서 히스티딘 또는 아르기닌을 mAb1(100 mg/mL의 농도에서)에 첨가하는 경우 히스티딘 및 아르기닌을 함유하지 않는 항체 제형과 비교하여 제형의 점도를 유의적으로 감소시켰음을 나타낸다. 또한, 25 mM에서 아르기닌을 mAb1(100 mg/mL의 농도에서)에 첨가하는 동안, 슈크로즈 농도를 10%로부터 5%로 감소시키는 것은 점도의 추가의 감소를 초래하였다. mAb1 항체 농도가 125 mg/mL로 상승된 경우, 25 mM에서 히스티딘 및 아르기닌은 단독 또는 함께 사용되는 경우 점도에 있어 유의적인 감소를 초래하였다. 또한, 히스티딘 및 아르기닌 첨가와 함께 5%로부터 2%로의 슈크로즈 농도의 감소는 제형의 점도를 훨씬 더 큰 정도로 감소시켰다. mAb1 농도가 150 mg/mL로 증가한 경우, 히스티딘과 아르기닌의 각각 25 mM에서의 조합은 점도에 있어 유의적인 감소를 초래하였다. 5%로부터 2%로의 슈크로즈의 감소는 점도의 추가 감소를 초래하였다.

[0136] 적어도 부분적으로 상기한 사항을 기초로 하여, 표 14에 나타낸 바와 같은 다음 제형 "B"를 제조하였다.

[0137] [표 14]

성분	제형 B
mAb1	20 – 100 mg/mL
아세테이트	10 mM
폴리소르베이트 20	0.05%
슈크로즈	8%
아르기닌	25 mM
pH	5.0

[0138]

[0139] **실시예 6. 바이알 및 주사기 속에서 제조하는 경우 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A의 안정성**

[0140] 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A(참조: 표 9)를 2 mL의 유리 바이알 및 2개의 상이한 주사기들(표준 및 저 텅스텐)에서 제조하였다. 제제를 다양한 시간들 동안 5, 25 및 37℃에서 저장하였다. 저장 후 mAb1의 안정성을 SE-HPLC 및 CEX-HPLC로 측정하였다. 결과는 표 15에 나타낸다. (산성 종 퍼센트에 있어서의 증가는 항체의 탈아미드화와 일치하므로 본 발명의 약제학적 제형과 관련하여 바람직하지 않은 현상으로 고려된다). 당해 표에 나타낸 바와 같이, 유리 바이알 또는 주사기 속에서 5℃에서 저장된, 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A는 적어도 18개월 동안 비교적 안정하게 잔류하였으며, 시험한 이후 시간들에서 25℃ 또는 37℃에서 약간 덜 안정하였다.

[0141] [표 15]

바이알 및 주사기 속에서 100 mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성							
		2 mL 들이 유리 바이알		표준 주사기		저 텅스텐 주사기	
온도	시간	천연의 % (SE-HPLC)	산성 % (CEX-HPLC)	천연의 % (SE-HPLC)	산성 % (CEX-HPLC)	천연의 % (SE-HPLC)	산성 % (CEX-HPLC)
-	출발	98.2	14.4	98.2	14.1	98.2	14.3
37°C	7 일	97.6	13.9	97.6	14.0	97.8	13.9
37°C	14 일	97.2	14.7	97.3	14.6	97.3	14.7
37°C	28 일	96.7	15.7	96.6	15.5	96.5	15.5
25°C	1 개월	97.7	13.1	97.5	13.5	97.9	13.3
25°C	3 개월	97.3	14.9	97.2	14.9	97.1	14.8
25°C	6 개월	96.9	17.4	97.1	16.9	96.7	17.4
5°C	1 개월	97.9	14.8	98.1	13.7	98.0	14.0
5°C	3 개월	97.8	13.7	97.6	13.9	97.7	13.5
5°C	6 개월	98.2	14.0	98.1	13.5	98.0	13.7
5°C	9 개월	97.4	13.4	97.6	13.1	97.6	13.2
5°C	12 개월	98.1	13.8	98.1	13.5	98.2	13.1
5°C	18 개월	97.6	14.0	97.6	14.1	97.7	14.0

[0142]

[0143] **실시예 7. 바이알과 주사기내에서 제조하는 경우 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 B의 안정성**

[0144] 100 mg/mL의 mAb1을 함유하는 제형 B(참조: 표 14)를 2 mL 들이 유리 바이알과 2개의 상이한 주사기들(표준 및 저 텅스텐)에서 제조하였다. 당해 제제를 다양한 시간들 동안 5, 25 및 37℃에서 저장하였다. 저장 후 mAb1의 안정성을 SE-HPLC 및 CEX-HPLC로 측정하였다. 결과는 표 16에 나타낸다. (앞서 언급한 바와 같이, 산성 종 퍼센트에 있어서의 증가는 항체의 탈아미드화와 일치하므로 본 발명의 약제학적 제형과 관련한 바람직하지 않은 현상으로 고려된다). 당해 표에 나타낸 바와 같이, 유리 바이알 또는 주사기 속에서 5℃에서 저장된, 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 B는 적어도 12 개월동안 비교정 안정하게 잔류하였으며 시험한 모든 시점에서 25℃ 또는 37℃에서 약간 덜 안정하였다.

[0145] [표 16]

바이알 및 주사기 속에서 100 mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 B 의 안정성							
		2 mL 들이 유리 바이알		표준 주사기		저 텅스텐 주사기	
온도	시간	천연의 % (SE-HPLC)	산성 % (CEX-HPLC)	천연의 % (SE-HPLC)	산성 % (CEX-HPLC)	천연의 % (SE-HPLC)	산성 % (CEX-HPLC)
-	출발	98.2	14.2	98.1	14.4	98.2	14.3
37°C	7 일	97.4	14.3	97.4	14.3	97.6	14.1
37°C	14 일	97.0	14.9	96.9	14.8	96.9	14.8
37°C	28 일	96.4	16.3	96.4	16.2	96.4	15.9
25°C	1 개월	97.7	13.6	97.8	13.7	97.7	13.6
25°C	3 개월	96.7	14.7	96.9	14.7	96.8	14.8
25°C	6 개월	96.6	15.4	96.6	15.5	96.6	15.6
5°C	1 개월	98.1	13.6	98.0	13.7	98.1	13.5
5°C	2 개월	97.8	14.3	97.9	14.3	97.9	14.2
5°C	3 개월	97.7	14.3	97.3	14.4	97.4	14.2
5°C	6 개월	97.4	14.4	97.5	14.5	97.6	14.5
5°C	9 개월	97.8	14.2	97.8	14.1	97.7	14.1
5°C	12 개월	98.0	15.1	98.1	14.7	98.2	14.7
5°C	18 개월	97.7	14.3	97.7	39.8	97.7	14.1

[0146]

[0147] **실시예 8: 예비충전된 주사기 속에서 mAb1 제형의 안정성**

[0148] 일련의 실험을 수행하여 예비충전된 주사기 속에서 상이한 mAb1 제형의 안정성을 평가하였다. 이들 실험을 위해 다양한 루어(luer) 및 스테이키드 바늘(staked needle), 표준-텅스텐 및 저-텅스텐 주사기를 상이한 유형의 플런저(피복된 및 피복되지 않은) 및 팁-캡(tip-cap)과 함께 사용하였다. 제형을 예비충전된 주사기 속에서 37

℃, 25℃ 및 5℃에서 다양한 시간(시험한 조건에 따라 7일 내지 6 개월의 범위) 동안 저장 후 안정성에 대해 시험하였다.

[0149] mAb1의 다음 제형을 당해 실시예에서 예비충전된 주사기 속에서 안정성에 대해 시험하였다: (1) 표 17에 기술된 스테이키드 예비충전된 주사기 #1 속에 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A(참조: 표 9); (2) 표 18에 기술된 스테이키드 예비충전된 주사기 #2 속에 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A; (3) 표 19에 기술된 스테이키드 예비충전된 주사기 #1 속에 20 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A; (4) 표 20에 기술된 스테이키드 예비충전된 주사기 #2 속에 20 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A; (5) 표 21에 기술된 스테이키드 예비충전된 주사기 #3 속에 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A; 및 (6) 표 22에 기술된 스테이키드 예비충전된 주사기 #3 속에 6 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A.

[0150] 주사기 #1은 BD 1mL의 길이 29 게이지(gauge) x ½ 인치 피지올리스(Physiolis) 저 텅스텐 주사기이고; 주사기 #2는 Schott 1 mL의 길이 SN CF 29 게이지 x ½ 인치 주사기이며; 주사기 #3은 다이쿄 세이코(Daikyo Seiko) CZ®(Crystal Zenith) 1 mL의 std 30 게이지 x ½ 인치 주사기이다.

[0151] 안정성은 다음 매개변수에 의해 평가하였다: (a) 가시적 분석; (b) 혼탁도(OD_{405nm}); (c) RP-HPLC에 의한 회수 퍼센트; (d) SE-HPLC에 의한 천연의 mAb1의 퍼센트; (e) CEX-HPLC에 의한 주요 피크 mAb1의 퍼센트; 및 (f) CEX-HPLC에 의한 산성 종의 퍼센트.

[0152] 주사기 #1 속에서 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A의 안정성을 평가하는 대표적인 실험으로부터의 결과를 하기 표 17에 나타낸다.

[0153] [표 17]

스테이키드 바늘 예비충전된 주사기 #1 속에서 100mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성

주사기 #1 설명:	
주사기:	BD 1 mL 길이 29ga x 1/2" 피지올리스(Physiolis), 저 텅스텐
플런저:	Hypak FluroTec® 4023/50
팁 캡:	BD 260
규소화:	분무

온도	시간	가시적 분석	혼탁도 ($OD_{405\,nm}$)	회수 %	천연의 mAb1 %(SE-HPLC)	주요 피크 % (CEX-HPLC)	산성 종 % (CEX-HPLC)
--	출발	통과	0.00	100	98.2	40.2	14.2
37°C	7 일	통과	0.00	101	97.8	37.6	13.9
37°C	14 일	통과	0.00	100	97.3	37.0	14.7
37°C	28 일	통과	0.00	96	96.5	34.9	15.5
25°C	1 개월	통과	0.00	97	97.9	36.9	13.3
25°C	2 개월	통과	0.00	103	97.0	38.6	14.9
25°C	3 개월	통과	0.00	100	97.1	35.5	14.8
25°C	6 개월	통과	0.00	104	96.7	36.8	17.4
5°C	1 개월	통과	0.00	96	98.0	39.0	13.8
5°C	2 개월	통과	0.00	103	97.8	39.3	13.6
5°C	3 개월	통과	0.00	100	97.7	39.2	13.5
5°C	6 개월	통과	0.00	100	98.0	39.2	13.7
5°C	9 개월	통과	0.00	100	97.6	39.1	13.2
5°C	12 개월	통과	0.00	102	98.2	40.9	13.1
5°C	18 개월	통과	0.00	100	97.7	39.6	14.0

[0154]

[0155] 주사기 #2 속에서 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A의 안정성을 평가하는 대표적인 실험으로부터의 결과를 하기 표 18에 나타낸다.

[0156] [표 18]

스테이키드 바늘 예비충전된 주사기 #2 속에서 100mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성							
주사기 #2 설명:							
주사기:	Schott 1 mL 길이 SN CF 29ga x 1/2"						
플런저:	West FluroTec® 4023/50						
팁 캡:	Stelmi 4800 w/RNS						
규소화:	분무						
온도	시간	가시적 분석	혼탁도 ($OD_{405\ nm}$)	회수 %	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	주요 피크 % (CEX-HPLC)	산성 종 % (CEX-HPLC)
--	출발	통과	0.00	100	98.3	40.3	14.2
37°C	7 일	통과	0.00	102	97.5	37.8	14.0
37°C	14 일	통과	0.00	102	97.3	37.4	14.7
37°C	28 일	통과	0.00	97	96.6	34.6	15.4
25°C	1 개월	통과	0.00	98	97.8	36.8	13.4
25°C	2 개월	통과	0.00	103	97.1	38.8	14.9
25°C	3 개월	통과	0.00	101	97.1	35.6	14.8
25°C	6 개월	통과	0.00	103	96.8	37.4	17.5
5°C	1 개월	통과	0.00	97	97.8	39.8	13.8
5°C	2 개월	통과	0.00	103	97.8	39.4	13.9
5°C	3 개월	통과	0.00	101	97.6	39.8	13.8
5°C	6 개월	통과	0.00	101	98.1	40.0	13.9
5°C	9 개월	통과	0.00	102	97.6	39.7	13.4
5°C	12 개월	통과	0.00	100	98.2	41.1	13.0
5°C	18 개월	통과	0.00	102	97.7	39.4	13.9

[0157]

[0158] 주사기 #1 속에서 20 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A의 안정성을 평가하는 대표적인 실험으로부터의 결과를 하기 표 19에 나타낸다.

[0159] [표 19]

스테이키드 바늘 예비충전된 주사기 #1 속에서 20mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성							
주사기 #1 설명:							
주사기:	BD 1 mL 길이 29ga x 1/2" 피지올리스, 저 텅스텐						
플런저:	Hypak FluroTec® 4023/50						
팁 캡:	BD 260						
규소화:	분무						
온도	시간	가시적 분석	혼탁도 ($OD_{405\ nm}$)	회수 %	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	주요 피크 % (CEX-HPLC)	산성 종 % (CEX-HPLC)
--	출발	통과	0.00	100	98.9	44.5	15.9
37°C	7 일	통과	0.00	100	98.4	42.1	15.7
37°C	14 일	통과	0.00	99	98.3	41.8	16.2
37°C	28 일	통과	0.00	98	97.6	39.2	17.5
25°C	1 개월	통과	0.00	96	98.4	41.4	15.3
25°C	2 개월	통과	0.00	100	98.1	41.8	16.0
25°C	3 개월	통과	0.00	99	98.0	42.7	17.0
25°C	6 개월	통과	0.01	99	98.0	42.0	19.4
5°C	1 개월	통과	0.00	97	98.2	44.0	15.7
5°C	2 개월	통과	0.00	99	98.5	44.5	15.8
5°C	3 개월	통과	0.00	100	98.4	44.4	15.8
5°C	6 개월	통과	0.00	99	98.6	44.1	15.6
5°C	9 개월	통과	0.00	101	98.2	44.0	15.1
5°C	12 개월	통과	0.00	101	98.5	45.4	15.9
5°C	18 개월	통과	0.00	101	98.2	43.5	15.3

[0160]

[0161] 주사기 #2 속에서 20 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A의 안정성을 평가하는 대표적인 실험으로부터의 결과를 하기 표 20에 나타낸다.

[0162] [표 20]

스테이키드 바늘 예비충전된 주사기 #2 속에서 20mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성							
주사기 #2 설명:							
주사기:	Schott 1 mL 길이 SN CF 29ga x 1/2"						
플런저:	West FluroTec® 4023/50						
팁 캡:	Stelmi 4800 w/RNS						
규소화:	분무						
온도	시간	가시적 분석	혼탁도 ($OD_{405\ nm}$)	회수 %	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	주요 피크 % (CEX-HPLC)	산성 종 % (CEX-HPLC)
--	출발	통과	0.00	100	98.9	44.5	15.9
37°C	7 일	통과	0.00	101	98.4	42.1	15.6
37°C	14 일	통과	0.00	100	98.2	41.8	16.2
37°C	28 일	통과	0.00	98	97.6	39.3	17.4
25°C	1 개월	통과	0.00	97	98.3	41.5	15.2
25°C	2 개월	통과	0.00	99	98.2	41.9	16.0
25°C	3 개월	통과	0.00	100	98.0	42.7	16.9
25°C	6 개월	통과	0.00	99	97.9	42.1	19.5
5°C	1 개월	통과	0.00	96	98.4	44.7	15.6
5°C	2 개월	통과	0.00	99	98.5	44.3	15.9
5°C	3 개월	통과	0.00	99	98.4	44.7	15.7
5°C	6 개월	통과	0.00	100	98.7	44.2	15.5
5°C	9 개월	통과	0.00	102	98.4	43.8	15.1
5°C	12 개월	통과	0.00	102	98.6	45.2	15.9
5°C	18 개월	통과	0.00	102	98.3	43.2	15.2

[0163]

[0164] 주사기 #3 속에서 100 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A의 안정성을 평가하는 대표적인 실험으로부터의 결과를 하기 표 21에 나타낸다.

[0165] [표 21]

스테이키드 바늘 예비충전된 주사기 #3 속에서 100mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성							
주사기 #3 설명:							
주사기:	다이쿄 세이코 CZ 1 mL std 30ga x 1/2 "						
플런저:	피복된 Daikyo D-21-6-1 FluroTec®						
팁 캡:	7028						
규소화:	N/A						
온도	시간	가시적 분석	혼탁도 ($OD_{405\ nm}$)	회수 %	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	주요 피크 % (CEX-HPLC)	산성 종 % (CEX-HPLC)
--	출발	통과	0.00	100	97.5	38.5	13.6
37°C	7 일	통과	0.00	101	97.5	40.0	14.0
37°C	14 일	통과	0.00	102	97.3	39.5	15.2
37°C	28 일	통과	0.00	101	96.4	38.3	15.7
25°C	1 개월	통과	0.00	105	97.8	38.3	13.6
25°C	2 개월	통과	0.00	102	97.2	37.4	14.9
25°C	3 개월	통과	0.00	102	97.2	37.2	14.6
5°C	1 개월	통과	0.00	104	98.2	38.1	13.3
5°C	2 개월	통과	0.00	101	97.9	38.1	13.4
5°C	3 개월	통과	0.00	101	97.8	38.4	13.1
5°C	6 개월	통과	0.00	106	97.8	39.6	13.4
5°C	9 개월	통과	0.00	105	97.9	40.8	13.4
5°C	12 개월	통과	0.00	112	97.6	38.3	13.5

[0166]

[0167] 주사기 #3 속에서 6 mg/mL mAb1을 함유하는 제형 A의 안정성을 평가하는 대표적인 실험으로부터의 결과를 하기 표 22에 나타낸다.

[0168] [표 22]

스테이키드 바늘 예비충전된 주사기 #3 속에서 6mg/mL 의 mAb1 을 함유하는 제형 A 의 안정성							
주사기 #3 설명:							
주사기:	다이쿄 세이코 CZ 1 mL std 30ga x 1/2 "						
플런저:	피복된 Daikyo D-21-6-1 FluroTec®						
팁 캡:	7028						
규소화:	N/A						
온도	시간	가시적 분석	혼탁도 ($OD_{405\ nm}$)	회수 %	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)	주요 피크 % (CEX-HPLC)	산성 종 % (CEX-HPLC)
--	출발	통과	0.00	100	98.8	45.6	16.8
37ºC	7 일	통과	0.00	101	98.7	46.2	17.2
37ºC	14 일	통과	0.00	101	98.5	45.8	18.2
37ºC	28 일	통과	0.00	101	98.3	44.5	19.8
25ºC	1 개월	통과	0.00	106	98.8	45.7	17.3
25ºC	2 개월	통과	0.00	103	98.8	44.3	18.1
25ºC	3 개월	통과	0.00	101	98.3	42.9	18.6
5ºC	1 개월	통과	0.00	105	99.0	46.0	16.6
5ºC	2 개월	통과	0.00	102	98.8	45.6	16.8
5ºC	3 개월	통과	0.00	101	98.8	45.7	16.3
5ºC	6 개월	통과	0.00	105	98.5	46.7	16.5
5ºC	9 개월	통과	0.00	106	98.8	47.8	17.2
5ºC	12 개월	통과	0.00	115	97.8	47.6	17.5

[0169]

[0170] 당해 실험 세트로부터의 결과는, 상이한 제형들이, 특히 25℃ 이하의 온도에서 1개월 이상 동안 저장시, 예비충전된 주사기 속에서 비교적 안정하게 잔류함을 입증한다.

[0171]

[0172] **실시예 9: 유리 바이알 속에서 저 농도의 mAb1을 함유하는 제형의 안정성**

[0173] 0.2, 0.5, 1, 및 2 mg/mL의 mAb1의 실시간 및 가속화된 안정성을 유리 바이알 속에서 평가하며 이의 지금까지 결과를 표 23 내지 27에 나타낸다. 당해 실험을 위해, mAb1의 안정성을 Schott 사에서 제조한 Type 1, 보로실리케이트 유리 바이알 속에서 시험한다. 실시예 9 내지 12에서 사용된 mAb1의 제형은, 사용된 항체의 농도가 앞서 시험한 것보다 더 낮았으며 시험 기간 전체에서 변하는 것을 제외하고는, 표 9에 기술된 것과 유사하다. 각각의 실험에서 사용된 mAb1의 정확한 농도는 하기 각각의 표 내에서 언급된다. 제형을 45℃, 25℃ 및 5℃에서 다양한 시간들(시험한 조건에 따라 7일 내지 6개월의 범위) 동안 저장 후 안정성에 대해 시험하였다.

[0174] 지금까지 결과는 45℃에서 7 내지 14일 동안 항온처리 후 0.2 및 0.5 mg/mL의 제형의 증가된 분해[침전, 응집, 절단, 및 충전된 변이체(charge variant)]를 입증한다. 또한, 45℃에서 28일 동안 항온처리하는 경우 ≤2 mg/mL의 모든 농도에서 제형에 대한 응집이 증가하였다(> 15% vs 제형 ≥ 6 mg/mL의 경우 ~2%). 침전은, 0.2 mg/mL의 제형을 5℃에서 6 개월 동안 저장하는 경우 관찰되었다. 0.5, 1, 및 2 mg/mL의 제형을 5℃에서 6 개월 동안 저장한 경우 유의적인 분해/침전은 관찰되지 않았다.

[0175] [표 23]

유리 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (45 ºC 에서 항온처리)				
시간 (일)	회수된 mAb1 % (RP-HPLC)			
	mAb1 의 농도(mg/ml 의 바이알)			
	0.2	0.5	1.0	2.0
0	100	100	100	100
7	91	97	103	109
14	67	94	101	108
28	40	82	100	106
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0176]

[0177] [표 24]

유리 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (25 °C 에서 항온처리)				
시간 (일)	회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)			
	mAb1 의 농도 (mg/ml 의 바이알)			
	0.2	0.5	1.0	2.0
0	98.1	98.4	98.6	98.5
7	98.3	98.6	98.6	98.7
14	98.1	98.7	98.6	98.7
28	97.6	98.5	98.6	98.7
56	92.2	96.6	98.1	98.5
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0178]

[0179] [표 25]

유리 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (5 °C 에서 항온처리)				
시간 (개월)	회수된 mAb1 % (RP-HPLC)			
	mAb1 의 농도 (mg/ml 의 바이알)			
	0.2	0.5	1.0	2.0
0	100	100	100	100
1	101	97	105	109
2	99	100	107	110
3	105	99	105	111
6	80	97	102	106
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0180]

[0181] [표 26]

유리 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (5 °C 에서 항온처리)				
시간 (개월)	회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)			
	mAb1 의 농도 (mg/ml 의 바이알)			
	0.2	0.5	1.0	2.0
0	98.1	98.4	98.6	98.5
1	97.7	98.6	98.7	98.8
2	97.8	98.3	98.3	98.7
3	98.2	98.7	98.7	98.3
6	97.6	98.4	98.6	98.5
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0182]

[0183] [표 27]

PFS 주사기 또는 유리 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (45 °C 에서 항온처리)

A. 유리 바이알

시간 (일)	회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)			
	mAb1 의 농도 (mg/ml 의 바이알)			
	0.2	0.5	1.0	2.0
0	98.1	98.4	98.6	98.5
7	90.4	97.2	98.3	98.2
14	76.1	92.0	96.1	97.8
28	42.9	51.0	83.7	81.7
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

B. 주사기

시간 (일)	회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)			
	mAb1 의 농도 (mg/ml 의 바이알)			
	0.2	0.5	1.0	2.0
0	98.1	98.6	98.5	98.4
7	97.6	98.1	98.2	98.1
14	97.9	97.9	97.8	97.8
28	96.9	96.8	96.7	96.6
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0184]

[0185] 실시예 10: BD 및 Ompi 주사기 속에서 저 농도의 mAb1을 함유하는 제형의 안정성

[0186] 0.2 및 0.6 mg/mL의 mAb1의 실시간 및 가속화된 안정성을 BD 및 Ompi 주사기 속에서 평가한다. 주사기 둘다는, 크기가 1 mL 길이이며, 저 텅스텐으로 제조되고, 27 게이지 X ½ 인치의, 박벽(thin-walled)의 스테이키드 바늘을 갖는다. BD 주사기는 플랜지(flange)의 상단으로부터 분무하여 적용시킨 0.8 mg의 실리콘을 함유한다. Ompi 주사기는 0.5 mg의 실리콘을 함유하며 주사기 통의 길이를 따라 보다 균일한 피복물을 제공하는, 노즐 기술을 구동시켜 적용한다. 제형을 예비충전된 주사기 둘다에서 45℃, 25℃ 및 5℃로 다양한 시간들(시험한 조건에 따라, 7일 내지 6개월의 범위) 동안 저장 후 안정성에 대해 시험하였다.

[0187] 표 28 내지 30에 나타낸 결과는, BD 주사기 속에서 45℃에서 mAb1의 안정성이 RP-HPLC(침전) 및 SE-HPLC 분석(응집 및 분해 종)에 의해 측정된 것으로서 Type 1, 보로실리케이트 유리 바이알과 비교하여 현저히 개선됨을 입증하였다.

[0188] Ompi 주사기 속에서 45℃에서 mAb1의 안정성은 Type 1, 보로실리케이트 유리 바이알과 비교하여 개선되었지만, BD 주사기 속에서 항온처리와 비교하여 유의적으로 덜 안정하였다. 이들 데이타는, 실리콘이 유리 표면과의 제형의 상호작용을 차단함으로써 안정성을 개선시킬 수 있음을 제안한다. BD 주사기는 Ompi 주사기보다 유리 주사기 통을 따라 실리콘을 더 함유하므로, 이는 제형이 Ompi 주사기와 비교하여 BD 주사기 속에서 보다 안정한 이유를 설명할 수 있다.

[0189] mAb1을 BD 및 Ompi 주사기 속에서 5℃ 또는 25℃로 6 개월 동안 저장한 경우 SE-HPLC 및 CEX-HPLC 분석으로 측정된 것으로서 유의적인 분해가 관찰되지 않았다.

[0190] [표 28]

BD 주사기, Ompi 주사기 또는 유리 바이알 속에서 0.6 mg/mL 의 mAb1 의 안정성 (45 °C 에서 항온처리)

시간 (일)	회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC)		
	Type 1 유리 바이알	BD 주사기	Ompi 주사기
0	98.6	98.6	98.9
7	98.2	98.4	98.5
14	97.7	98.0	98.5
28	66.1	97.1	84.5
54	-	95.6	24.5
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0			

[0191]

[0192] [표 29]

BD 및 Ompi 주사기 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (5 °C 에서 항온처리; SE-HPLC)

시간 (개월)	회수된 천연의 mAb1 % (SE-HPLC) mAb1 의 농도 (mg/mL)					
	바이알		BD		Ompi	
	0.2	0.6	0.2	0.6	0.2	0.6
0	98.6	98.6	98.4	98.6	98.7	98.9
1	98.7	99.0	98.5	98.9	98.5	98.9
2	98.3	98.9	98.7	98.9	98.6	98.9
3	98.4	98.6	98.4	98.7	98.3	98.7
6	98.3	98.6	98.3	98.7	98.2	98.7
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0						

[0193]

[0194] [표 30]

바이알, BD 및 CZ 주사기 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (45 ºC 에서 항온처리; RP-HPLC)						
회수된 mAb1 % (RP-HPLC)						
	mAb1 의 농도 (mg/mL)					
시간 (일)	바이알		BD		CZ	
	0.2	0.6	0.2	0.6	0.2	0.6
0	100	100	100	100	100	100
7	92	103	96	107	99	106
14	88	96	96	99	104	100
28	39	94	85	99	104	101
42	-	-	61	-	94	-
56	-	-	55	-	96	-
62	-	-	-	88	-	98
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0						

[0195]

[0196] **실시예 11: 대안적인 저장 장치 속에서 저 농도의 mAb1을 함유하는 제형의 안정성**

[0197] West CZ 주사기(사이클릭 폴리올레핀), Schott Type 1 plus® 유리 바이알(Type 1의 내부 표면 상에 100 내지 200 nm의 SiO_2의 피복물, 보로실리케이트 유리 바이알), 및 질소 상부 공간 부분(공기는 바이알 상부 공간 부분으로부터 제거되고 N_2 가스로 교체됨)을 지닌 보로실리케이트 유리 바이알인 Schott Type 1을 포함하는, 다른 저장 장치 속에서 mAb1의 안정성을 시험하기 위해 연구들이 수행된다.

[0198] 표 31 내지 36에 나타낸 결과는, 45℃에서 안정성이 RP-HPLC 및 SE-HPLC에 의해 측정된 것으로서 BD 주사기와 비교하여 CZ 주사기에서 0.2 및 0.6 mg/mL의 제형의 경우 현저히 개선되었음을 입증한다.

[0199] 또한, 45℃에서 mAb1 제형의 안정성은 RP-HPLC 및 SE-HPLC에 의해 측정된 것으로서 Type 1 바이알과 비교하여 Type 1 plus® 유리 바이알 속에서 0.2 및 0.6 mg/mL의 농도에서 현저히 개선되었다.

[0200] SE-HPLC에 의한 유의적인 분해는 25℃ 또는 5℃에서 3 개월동안 항온처리하는 경우 Type 1 유리 바이알 속에서 0.2 mg/mL 제형에 대해 관찰되었다. 25℃ 또는 5℃에서 3 개월 동안 항온처리시 Type 1 plus® 유리 바이알 속에서 0.2 mg/mL 제형의 경우 유의적인 분해가 관찰되지 않았다.

[0201] 45℃에서의 안정성은 SE-HPLC에 의해 측정된 것으로서 공기 상부 공간 부분을 지닌 Type 1 유리 바이알과 비교하여 질소 오버레이(nitrogen overlay)된 Type 1 유리 바이알 속에서 0.2 mg/mL의 제형의 경우 현저히 개선되었다.

[0202] 상부 공간 부분으로부터의 산소의 제거는, 비록 분해의 증가율이 폴리소르베이트 20을 함유하지 않는 0.2mg/mL의 제형과 비교하여 여전히 관찰되었다고 해도 0.05% 폴리소르베이트 20(제형 A에서와 같이)을 사용하여 제형화된 0.2 mg/mL mAb1에서 최대 안정화 효과를 가졌다.

[0203] [표 31]

바이알, BD 및 CZ 주사기 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (45 °C 에서 항온처리; SE-HPLC)						
	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)					
	mAb1 의 농도 (mg/mL)					
시간 (일)	바이알		BD		CZ	
	0.2	0.6	0.2	0.6	0.2	0.6
0	98.8	98.7	98.5	98.5	98.7	98.6
7	96.5	98.3	97.6	98.3	97.0	98.3
14	82.0	97.2	95.8	97.2	97.1	97.0
28	58.2	64.5	70.6	95.8	96.1	96.2
42	-	-	48.8	-	93.3	-
56	-	-	36.4	-	89.6	-
62	-	-	-	93.4	-	90.3
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0						

[0204]

[0205] [표 32]

Type 1 plus® 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (45 °C 에서 항온처리; RP-HPLC)				
회수된 mAb1 % (RP-HPLC)				
시간 (일)	mAb1 의 농도 (mg/mL)			
	Type 1 바이알		Type 1 plus® 바이알	
	0.2	0.6	0.2	0.6
0	100	100	100	100
7	92	103	99	106
14	88	96	100	99
28	39	94	101	100
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0206]

[0207] [표 33]

Type 1 plus® 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (45 °C 에서 항온처리; SE-HPLC)				
천연의 mAb1 % (SE-HPLC)				
시간 (일)	mAb1 의 농도 (mg/mL)			
	Type 1 바이알		Type 1 plus® 바이알	
	0.2	0.6	0.2	0.6
0	98.8	98.7	98.7	98.6
7	96.5	98.3	97.3	98.3
14	82.0	97.2	97.4	97.2
28	58.2	64.5	70.6	95.2
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0208]

[0209] [표 34]

Type 1 plus® 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (25 °C 에서 항온처리; SE-HPLC)				
천연의 mAb1 % (SE-HPLC)				
시간 (개월)	mAb1 의 농도 (mg/mL)			
	Type 1 바이알		Type 1 plus® 바이알	
	0.2	0.6	0.2	0.6
0	98.8	98.7	98.7	98.6
1	98.7	98.7	98.6	98.8
2	98.2	98.6	98.2	98.6
3	92.5	97.2	97.5	97.4
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0210]

[0211] [표 35]

Type 1 Plus® 바이알 속에서 저 농도의 mAb1 의 안정성 (5 °C 에서 항온처리; SE-HPLC)				
천연의 mAb1 % (SE-HPLC)				
시간 (개월)	mAb1 의 농도 (mg/mL)			
	Type 1 바이알		Type 1 Plus® 바이알	
	0.2	0.6	0.2	0.6
0	98.8	98.7	98.7	98.7
1	98.9	98.9	98.5	98.7
2	98.7	98.9	98.6	98.6
3	96.5	97.7	97.9	97.7
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0				

[0212]

[0213] [표 36]

질소가 오버레이된 Type 1 바이알 속에서 0.2 mg/mL 의 mAb1 의 안정성 (45 °C 에서 항온처리; SE-HPLC)		
천연의 mAb1 % (SE-HPLC)		
시간 (개월)	공기 공간 부분	질소 공간 부분
0	97.5	97.1
7	95.2	95.7
14	84.6	96.6
21	60.9	96.7
28	53.9	96.7
56	-	92.4
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0		

[0214]

[0215] **실시예 12: 저 농도 mAb1의 안정성에 있어서 텅스텐의 효과**

[0216] 연구는, 여과되지 않은 텅스텐 핀 추출물로 스파이킹(spiking)되는 경우 mAb1의 안정성을 시험하기 위해 수행된다. 텅스텐 핀은 주사기 루어 속에 구멍을 형성시키기 위한 예비-충전된 주사기의 제조 공정에서 사용된다. BD에 의해 제조 라인에서 사용된 텅스텐 핀의 추출물은 mAb1 위약(mAb1을 함유하지 않는 제형 A와 유사)을 사용하여 제조하였다. 여과되지 않은 핀 추출물은 오염물(가용성 텅스텐 염 및 불용성 산화텅스텐)로서 주사기 속에 남아있을 수 있는 텅스텐의 모든 종을 함유한다.

[0217] 표 37 내지 38에 나타낸 바와 같은, SE-HPLC 결과는, 25℃에서의 안정성이 ≥500ppb의 텅스텐 수준을 함유하는 0.6 mg/mL의 제형에 대한 텅스텐을 함유하지 않은 대조군 바이알과 비교하여 감소하였다. 저 텅스텐 주사기는 전형적으로 < 500 ppb의 텅스텐을 함유하는 반면 표준 주사기는 2500 ppb와 같이 많은 텅스텐을 함유할 수 있다.

[0218] 5℃에서 6개월 동안 항온처리시 2500 ppb 이하의 텅스텐을 함유하는 0.6mg/mL의 제형의 경우 분해는 관찰되지 않았다.

[0219] [표 37]

여과되지 않은 텅스텐 핀 추출물 속에서 25 °C 에서 저장시 0.6 mg/mL 의 mAb1 의 안정성 (SE-HPLC)						
	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)					
시간 (주)	대조군 바이알	50 ppb W	100 ppb W	500 ppb W	1000 ppb W	2500 ppb W
0	98.7	98.8	98.9	98.8	98.8	98.7
1	98.7	98.6	98.7	98.6	98.7	98.7
2	98.6	98.6	98.6	98.4	98.4	98.4
4	98.5	98.5	98.5	98.6	98.2	98.5
8	98.6	98.7	98.6	98.2	98.3	98.6
26	97.4	97.8	97.5	78.6	76.5	74.8
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0 중 0.6 mg/mL 의 mAb1						

[0220]

[0221] [표 38]

여과되지 않은 텅스텐 핀 추출물 속에서 5°C 에서 저장시 0.6 mg/mL 의 mAb1 의 안정성 (SE-HPLC)						
	천연의 mAb1 % (SE-HPLC)					
시간 (주)	대조군 바이알	50 ppb W	100 ppb W	500 ppb W	1000 ppb W	2500 ppb W
0	98.7	98.8	98.9	98.8	98.8	98.7
1	98.5	98.5	98.6	98.7	98.6	98.4
3	97.7	98.0	98.2	98.2	98.2	98.2
6	98.8	98.6	98.7	98.7	98.8	98.4
제형: 8% 슈크로즈, 0.05% 폴리소르베이트 20, 10mM 아세테이트, pH5.0 중 0.6 mg/mL 의 mAb1						

[0222]

[0223] 본 발명은, 본원에 기술된 구체적인 양태에 의해 범위가 제한되지 않아야 한다. 실제로, 본원에 기술된 것들 외에 본 발명의 각종 변형이 앞서의 기술 및 첨부된 도면으로부터 당해 분야의 숙련가에게 명백할 것이다. 이러한 변형은 첨부된 특허청구범위의 영역내에 속하는 것으로 의도된다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> REGENERON PHARMACEUTICALS, INC

<120> STABILIZED FORMULATIONS CONTAINING ANTI-NGF ANTIBODIES

<130> 6066PCT

<150> 61/364,112

<151> 2010-07-14

<160> 31

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 847

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

agcgtccgga cccaataaca gttttaccaa gggagcagct ttctatcctg gccacactga 60

ggtgcatagc gtaatgtcca tgttgttcta cactctgatc acagcttttc tgatcggcat 120

acaggcggaa ccacactcag agagcaatgt ccctgcagga cacaccatcc cccaagccca 180

ctggactaaa cttcagcatt cccttgacac tgcccttcgc agagcccgca gcgccccggc 240

agcggcgata gctgcacgcg tggcggggca gacccgcaac attactgtgg accccaggct 300

gtttaaaaag cggcgactcc gttcaccccg tgtgctgttt agcacccagc ctccccgtga 360

agctgcagac actcaggatc tggacttcga ggtcggtggt gctgcccccct tcaacaggac 420

tcacaggagc aagcggtcat catcccatcc catcttccac aggggcgaat tctcggtgtg 480

tgacagtgtc agcgtgtggg ttggggataa gaccaccgcc acagacatca agggcaagga 540

ggtgatggtg ttgggagagg tgagcattaa caacagtgta ttcaaacagt actttttga 600

gaccaagtgc cgggacccaa atcccgttga cagcgggtgc cggggcattg actcaaagca 660

ctggaactca tattgtacca cgactcacac ctttgtcaag gcgctgacca tggatggcaa 720

gcaggctgcc tggcggttta tccggataga tacggcctgt atgtgtgtgc tcagcaggaa 780

ggctgtgaga agagcctgac ctgccgacac gctccctccc cctgcccctt ctacactctc 840

ctgggcc 847

<210> 2

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Ser Ser Ser His Pro Ile Phe His Arg Gly Glu Phe Ser Val Val Ser

1 5 10 15

Val Trp Val Gly Asp Lys Thr Thr Ala Thr Asp Ile Lys Gly Lys Glu

20 25 30

Val Met Val Leu Gly Glu Val Asn Ile Asn Asn Ser Val Phe Lys Gln

35 40 45

Tyr Phe Phe Glu Thr Lys Cys Arg Asp Pro Asn Pro Val Asp Ser Gly

50 55 60

Cys Arg Gly Ile Asp Ser Lys His Trp Asn Ser Tyr Cys Thr Thr Thr

65 70 75 80

His Thr Phe Ala Leu Thr Met Asp Gly Lys Gln Ala Ala Trp Arg Phe

85 90 95

Ile Arg Ile Asp Thr Ala Cys Val Cys Val Leu Ser Arg Lys Ala Val

100 105 110

Arg Arg Ala

115

<210> 3

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 3

caggtgcagc tggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc ccggcgcctc cgtgaaggtg 60

tcctgcaagg tgtccggctt caccctgacc gagctgtcca tgcactgggt gcggcaggcc 120

cccggcaagg gcctggagtg gatgggcggc ttcgaccccg aggacggcga gaccatctac 180

gcccagaagt tccagggccg ggtgaccatg accgaggaca cctccaccga caccgcctac 240

atggagctgt cctccctgcg gtccgaggac accgccgtgt actactgctc caccatcttc 300

ggcgtggtga ccaacttcga caactggggc cagggcaccc tggtgaccgt gtcctcc 357

<210> 4

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 4

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Thr Leu Thr Glu Leu

20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ser Thr Ile Phe Gly Val Val Thr Asn Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 5

ggattcaccc tcactgaatt atcc 24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 6

Gly Phe Thr Leu Thr Glu Leu Ser

1 5

<210> 7

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 7

tttgatcctg aagatggtga aaca 24

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 8

Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr

1 5

<210> 9

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 9

tcaacgattt ttggagtggt taccaacttt gacaac 36

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 10

Ser Thr Ile Phe Gly Val Val Thr Asn Phe Asp Asn

1 5 10

<210> 11

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 11

gacatccaga tgacccagtc cccctcctcc ctgtccgcct ccgtgggcga ccgggtgacc 60

atcacctgcc gggcctccca ggccatccgg aacgacctgg gctggtacca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaagcggct gatctacgcc gccttcaacc tgcagtccgg cgtgccctcc 180

cggttctccg gctccggctc cggcaccgag ttcaccctga ccatctcctc cctgcagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaaccggt acccctggac cttcggccag 300

ggcaccaagg tggagatcaa gcgg 324

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 12

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Arg Asn Asp
20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Phe Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 13

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 13

caggccatta gaaatgat 18

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 14

Gln Ala Ile Arg Asn Asp
1 5

<210> 15

<211> 9

<

212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 15

gctgcattc 9

<210> 16

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 16

Ala Ala Phe

1

<210> 17

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 17

caacagtata atagataccc gtggacg 27

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 18

Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 19

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 19

caggtgcagc tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg tttccggatt caccctcact gaattatcca ttcactgggt gcgacaggct 120

cctggaaaag ggcttgagtg gatgggaggt tttgatcctg aagatggtga aacaatctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accgaggaca catctacaga cacagcctac 240

atggagctga ccagcctgag atcggaagac acggccgtgt attactgttc aacgattttt 300

ggagtggtta ccaactttga caactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 20

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 20

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Phe Thr Leu Thr Glu Leu

20 25 30

Ser Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ser Thr Ile Phe Gly Val Val Thr Asn Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 21
<211> 324
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 21

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgcaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggccattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcattcaatt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agattcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagtag cctgcagcct 240
gaagatcttg caagttatta ctgtcaacag tataatagat acccgtggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 22
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 22

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Ala Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Phe Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Leu Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Arg Tyr Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 23

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(8)

<223> Xaa = Any amino acid

<400> 23

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(8)

<223> Xaa = Any amino acid

<400> 24

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 25

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(18)

<223> Xaa = Any amino acid

<400> 25

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

Xaa Xaa

<210> 26

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(6)

<223> Xaa = Any amino acid

<400> 26

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 27

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(3)

<223> Xaa = Any amino acid

<400> 27

Xaa Xaa Xaa

1

<210> 28

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(9)

<223> Xaa = Any amino acid

<400> 28

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 29

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 29

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 30
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 30

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 31

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 31

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325