



등록특허 10-2362829



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년02월15일
(11) 등록번호 10-2362829
(24) 등록일자 2022년02월09일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/12 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01) *A61K 47/22* (2017.01)
A61K 47/26 (2017.01) *C07K 16/24* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 47/12 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7010005(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년09월06일
심사청구일자 2021년05월04일
- (85) 번역문제출일자 2021년04월05일
- (65) 공개번호 10-2021-0040470
- (43) 공개일자 2021년04월13일
- (62) 원출원 특허 10-2015-7008873
원출원일자(국제) 2013년09월06일
심사청구일자 2018년09월05일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/058618
- (87) 국제공개번호 WO 2014/039903
국제공개일자 2014년03월13일
- (30) 우선권주장
61/698,138 2012년09월07일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2012065072 A2

- (73) 특허권자
코히러스 바이오사이언시즈, 인코포레이티드
미국 캘리포니아 94065 레드우드 시티 수트 200
레드우드 쇼어스 파크웨이 201
- (72) 발명자
매닝 마크
미국 콜로라도주 80534 존스타운 소렐 레인 4630
페인 로버트 더블유.
미국 콜로라도주 80526 포트 콜린스 스트립 코트
3819
- (74) 대리인
장훈

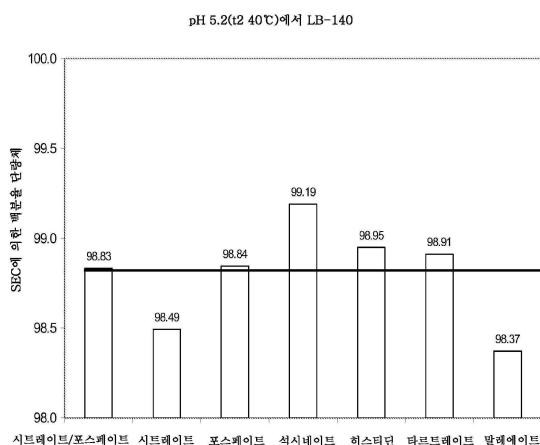
전체 청구항 수 : 총 17 항

심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 아달리무맙의 안정한 수성 제형

(57) 요 약

본 발명은, 아달리무맙의 장기간 저장에 적합한 수성 약제학적 아달리무맙 조성물, 이들 조성물의 제조 방법, 투여 방법, 및 이를 포함하는 키트를 제공한다.

대 표 도 - 도1

(52) CPC특허분류

A61K 47/183 (2013.01)
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 47/26 (2013.01)
C07K 16/241 (2013.01)

(30) 우선권주장

61/769,581 2013년02월26일 미국(US)
61/770,421 2013년02월28일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

- (i) 30 mg/ml 내지 100 mg/ml의 아달리무맙; 및
- (ii) 메티오닌을 포함하는 안정제

를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물로서, 상기 조성물은 완충제를 함유하지 않고 pH 5 내지 6을 갖는, 안정한 수성 약제학적 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 조성물의 삼투질농도가 180 내지 420 mOsM인, 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 조성물이 단일 투여형으로 대상체에게 투여하기에 적합한, 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 조성물이 30 내지 50mg/ml의 아달리무맙을 포함하는, 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 조성물이 40mg/ml의 아달리무맙을 포함하는, 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 조성물이 50mg/ml의 아달리무맙을 포함하는, 조성물.

청구항 7

제3항에 있어서, 상기 단일 투여형이 10 내지 80 mg의 아달리무맙을 포함하는, 조성물.

청구항 8

제3항에 있어서, 상기 단일 투여형이 30 내지 50 mg의 아달리무맙을 포함하는, 조성물.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 단일 투여형이 40mg의 아달리무맙을 포함하는, 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 아달리무맙의 농도가 50mg/ml 이고 상기 단일 투여형이 40 mg의 아달리무맙을 포함하는, 조성물.

청구항 11

대상체의 염증성 질환을 치료하는 방법에 사용하기 위한 조성물로서, 상기 방법이 제1항의 약제학적 조성물의 치료 유효량을 투여함을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 조성물이 만니톨 및 트레할로스를 함유하지 않는, 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 조성물이 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 20 및 플루로닉 F-68을 함유하지 않는, 조

성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 조성물이 만니톨, 트레할로스, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 20 및 플루로닉 F-68을 함유하지 않는, 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 조성물이 폴리소르베이트 80을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 조성물이 솔비톨을 추가로 포함하는, 조성물.

청구항 17

제11항에 있어서, 상기 염증성 질환이 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 베게너병(육아종증), 크론병(또는 염증성장질환), 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), C형 간염, 자궁내막증, 천식, 악액질, 건선 및 아토피 피부염을 포함하는, 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 발명의 분야

[0002] 본 발명은, 아달리무맙(시판되는 아달리무맙의 "바이오시밀러(biosimilar)" 또는 "바이오-베터(bio-better)" 변형물로서 고려되거나 의도되는 항체 단백질을 포함함)의 장기간 저장에 적합한 수성 약제학적 조성물, 상기 조성물의 제조 방법, 이의 투여 방법, 및 이를 포함하는 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 발명의 배경

[0004] 종양 괴사 인자 알파(TNF α)는 내독소 또는 다른 자극에 반응하여 단핵구 및 대식세포를 포함하는 다양한 세포 타입에 의해 생성되는, 자연 발생 포유동물 사이토킨이다. TNF α 는 염증, 면역, 및 생리병리학적 반응의 주요 매개자이다[참조: Grell, M., et al. (1995) Cell, 83: 793-802].

[0005] 가용성 TNF α 는 전구체 막관통 단백질의 절단[참조: Kriegler, et al. (1988) Cell 53: 45-53], 및 가용성 동형삼량체(homotrimer) 복합물로 조립되는 분비된 17kDa 폴리펩티드들[참조: Smith, et al. (1987), J. Biol. Chem. 262: 6951-6954; TNF의 평가를 위해 다음을 참조함: Butler, et al. (1986), Nature 320:584; Old

(1986), *Science* 230: 630]에 의해 형성된다. 이어서, 이들 복합물은 다양한 세포에서 발견되는 수용체에 결합된다. 결합은, (i) 다른 전염증성 사이토킨, 예를 들면, 인터류킨(IL)-6, IL-8, 및 IL-1의 방출, (ii) 매트릭스 메탈로프로테이나제의 방출 및 (iii) 내피 부착 분자의 발현의 상향-조절을 포함하는 다수의 전염증성 효과를 생성하고, 추가로 백혈구를 혈관외 조직으로 유인하여 염증 및 면역 캐스케이드를 추가로 증폭시킨다.

[0006] TNF α 의 상승된 수준과 관련하여 다수의 장애가 있다. 예를 들면, TNF α 는 다수의 사람 질환에서 상향-조절되는 것으로 나타났고, 상기 질환은 만성 질환, 예를 들면, 류마티스 관절염(RA), 크론병 및 케양성 대장염을 포함하는 염증성 장 질환, 패혈증, 울혈성 심부전, 기관지 천식 및 다발성 경화증을 포함한다. TNF α 는 또한 전염증성 사이토킨으로서 언급된다.

[0007] 생리학적으로, TNF α 는 또한 특정 감염으로부터의 보호와 관련된다[참조: Cerami. et al. (1988), *Immunol. Today* 9:28]. TNF α 는, 그램-음성 박테리아의 지질폴리락카라이드에 의해 활성화되는 대식세포에 의해 방출된다. 그와 같이, TNF α 는 박테리아 패혈증 관련 내독소 쇼크의 발병 및 병인에 관련된 가장 중요한 영향력이 있는 내인성 매개자인 것으로 나타난다.

[0008] 아달리무맙(Humira®, AbbVie, Inc.)은 사람 TNF에 특이적인 재조합 사람 IgG1 모노클로날 항체이다. 이러한 항체는 또한 D2E7로서 공지되어 있다. 아달리무맙은 1330개의 아미노산으로 이루어지고, 대략 148킬로달톤의 분자량을 갖는다. 아달리무맙은 미국 특허 제6,090,382에 개시되고 특허청구되어 있으며, 이러한 개시는 본원에 이의 전문이 인용에 의해 포함되어 있다. 아달리무맙은 보통 포유동물 세포 발현 시스템, 예를 들면, 중국햄스터 난소 세포(Chinese Hamster Ovary cells)에서 재조합 DNA 기술에 의해 생성된다. 아달리무맙은 특정하게 TNF α 에 특이적으로 결합하고, p55 및 p75 세포 표면 TNF 수용체와 이의 상호작용을 차단하여 TNF의 생물학적 기능을 중화시킨다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 아달리무맙의 다양한 제형은 당해 기술 분야에 공지되어 있다. 예를 들면, 미국 특허 제8,216,583호 및 제8,420,081호를 참조한다. 효능의 실질적인 손실 없이 장기간 저장을 가능하게 하는 아달리무맙의 안정한 액체 제형이 여전히 요구된다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명의 요지

[0011] 본 발명은, 장기간 저장을 가능하게 하는 아달리무맙을 포함하는 안정한 수성 제형을 제공한다.

[0012] 제1 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙; 폴리올 및 계면활성제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원을 포함하는 안정제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 완충제는 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 포함하지 않고, 바람직하게는 어떤 시트레이트 완충제도 포함하지 않는다. 이러한 양태에서, 상기 안정제는 바람직하게는 폴리올 및 계면활성제 둘 다를 포함한다.

[0013] 제2 양태에서, 단일 완충 시스템을 이용하여, 본 발명은, 아달리무맙, 폴리올, 계면활성제, 및 단일 완충제를 포함하는 완충 시스템을 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 상기 단일 완충제는 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 또는 말레이트로부터 선택되지만, 상기한 것들의 배합물을 포함하지 않고; 여기서, 상기 제형의 pH는 약 4 내지 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이다. 히스티딘 및 석시네이트가 단일 완충제로서 사용하기 위해 특히 바람직하다. 본원에 사용되는 용어 완충제, 완충 시스템, 또는 완충제 등의 전문 용어는, 단백질 자체에 의해 제공되는 임의의 완충 능력에 추가하여 제형에서 완충 능력을 도입하는 완충제 성분을 나타내는 것을 의도하고, 이에 따라, 용어 "완충제" 등은 단백질 자체를 자가 완충 실체(entity)로서 포함하는 것을 의도하지 않는다.

[0014] 제3 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 폴리올 및 계면활성제로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원을 포함하는 안정제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 조성물은 완충제를 실질적으로 함유하지 않는다.

[0015]

제4 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 폴리올; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 조성물은 계면활성제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 바람직하게는, 상기 조성물은 (i) 시트레이트와 포스페이트의 완충제 배합물을 함유하지 않고; (ii) 상기 완충제는 히스티딘 및 석시네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원이고; (iii) 상기 폴리올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0016]

제5 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 계면활성제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다. 바람직하게는, 상기 조성물은 (i) 시트레이트와 포스페이트의 완충제 배합물을 함유하지 않고; (ii) 상기 완충제는 히스티딘 및 석시네이트(이들의 배합물을 포함함)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원이다.

[0017]

상기 논의된 제5 양태들 각각에서, 상기 조성물은 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 임의로 추가로 포함할 수 있다. 상기 아미노산 안정제는 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 염 안정제는 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 금속 이온 안정제는 아연, 마그네슘 및 칼슘으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는, 상기 언급된 안정제를 포함하는 아달리무맙 제형은 또한 완충 시스템을 함유하지 않고, 여기서, 포스페이트 완충제 및 시트레이트 완충제는 배합되어 존재하고, 가장 바람직하게는 시트레이트 완충제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는 완충 시스템을 함유한다. 특히 바람직한 양태들에서, (i) 이러한 양태에 존재하는 상기 임의의 추가 안정제는 염화나트륨이 아니거나, 약 100mM을 초과하지 않는 양으로 존재하는 염화나트륨을 포함하고, 아르기닌 및 글리신 중 적어도 하나(상기 2개의 아미노산의 배합물을 포함함)를 포함하고; (ii) 상기 완충제는, 존재하는 경우, 시트레이트를 함유하지 않거나, 적어도 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 함유하지 않지만, 대신에 히스티딘 및 석시네이트(이들의 배합물을 포함함) 중 적어도 하나이고; (iii) 상기 안정제는 폴리올을 포함하는 경우, 바람직하게는 약 150mM을 초과하는 양의 만니톨이다.

[0018]

추가의 양태들에서, 본 발명은, 아달리무맙 및 완충제를 포함하는 수성, 완충된 약제학적 조성물을 지시하고, 여기서, (i) 상기 조성물은 시트레이트 완충제 및 포스페이트 완충제 둘 다를 포함하는 완충제 배합물을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고; (ii) 상기 조성물은 장기간 안정성을 나타낸다.

[0019]

본 발명의 또 다른 양태는 장기간 안정성을 나타내는 수성, 완충된 약제학적 조성물에 관한 것이고, 상기 조성물은: (i) 아달리무맙; (ii) 히스티딘 완충제, 석시네이트 완충제, 및 이들의 배합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제; (iii) 폴리소르베이트 또는 폴록사마 계면활성제, 또는 이들의 배합물; 및 (iv) 하기한 것들 중 하나 또는 둘 다를 포함한다: (a) 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌, 메티오닌, EDTA, 염화나트륨, 황산나트륨, 금속 이온, 및 이들의 배합물로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제; 및 (b) 소르비톨, 만니톨, 및 트레할로스, 또는 이들의 배합물로부터 선택되는 폴리올. 임의로, 상기 제형은 또한 당, 예를 들면, 수크로스를 포함할 수 있다.

[0020]

추가의 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙 및 완충제를 포함하는 수성, 완충된 약제학적 조성물이고, 여기서, (i) 상기 조성물은 폴리올을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고; (ii) 상기 조성물은 장기간 안정성을 나타낸다.

[0021]

다른 추가의 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙 및 완충제를 포함하는 수성, 완충된 약제학적 조성물에 관한 것이고, 여기서, (i) 상기 조성물은 계면활성제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고; (ii) 상기 조성물은 장기간 안정성을 나타낸다.

[0022]

본 발명의 또 다른 양태들은 아달리무맙을 포함하는 수성 약제학적 조성물에 관한 것이고, 여기서: (i) 상기 조성물은 완충제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고; (ii) 상기 조성물은 장기간 안정성을 나타낸다.

[0023]

또다른 양태에서, 본 발명의 아달리무맙 제형은 아달리무맙, 상기 제형 중 단독 완충제로서 히스티딘 완충제, 앞서 인용된 비-계면활성제 안정제 중에서 단독 안정제로서 글리신(또는 아르기닌, 또는 이들의 배합물), 및 폴리소르베이트 80을 포함하거나, 이들로서 이루어지거나, 이들로서 본질적으로 이루어진다. 이러한 제형에서,

아달리무맙의 양은 20 내지 150mg/ml이고; 히스티딘 완충제의 양은 약 50mM 이하이고; 글리신의 양은 약 300mM 이하이고; 폴리소르베이트 80의 양은 약 0.01 내지 약 0.2wt%의 범위내이다. 임의로, 이러한 제형은 약 100mM 이하의 NaCl을 포함할 수 있다. 본 발명은, 또한 히스티딘 완충제를 시트레이트, 아세테이트, 포스페이트, 말레이트, 타르트레이트 완충제 중 하나 이상과 배합하는 이러한 제형의 변형물을 고려한다.

[0024] 또한 또다른 양태에서, 본 발명의 아달리무맙 제형은 아달리무맙, 단독 완충제로서의 히스티딘 완충제, 만니톨(또는 소르비톨 또는 트레할로스), 및 폴리소르베이트 80을 포함하거나, 이들로서 이루어지거나, 이들로서 본질적으로 이루어지고, 추가로 상기 인용된 비-계면활성제 안정제(예: 글리신, 아르기닌 등)을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 이러한 제형에서, 아달리무맙의 양은 20 내지 150mg/ml이고; 히스티딘 완충제의 양은 약 50mM 이하이고; 폴리올의 양은 약 300mM 이하이고; 폴리소르베이트 80의 양은 약 0.01 내지 약 0.2wt%의 범위이다. 임의로, 이러한 제형은 약 100mM 이하의 NaCl을 포함할 수 있다. 본 발명은, 또한 상기 히스티딘 완충제를 시트레이트, 아세테이트, 포스페이트, 말레이트, 타르트레이트 완충제 중 하나 이상과 배합하여 이러한 제형의 변형을 고려한다.

[0025] 방법 측면에서, 본 발명은, 수성, 완충된 아달리무맙 제형에서 장기간 안정성을 증진시키는 방법을 지시하고, 다음 중 하나 이상의 단계를 포함한다: (a) 히스티딘 완충제, 석시네이트 완충제, 또는 이들의 배합물을, 이러한 완충제가 다른 완충제 또는 완충제 배합물보다 더 큰 정도로 상기 제형의 안정성에 기여함을 나타내는 실험 데이터에 기초하여, 상기 제형 중에 도입하는 단계; 또는 (b) 상기 제형 중에 안정제로서 글리신, 아르기닌 또는 이들의 배합물을, 이러한 안정제가 다른 안정제보다 큰 정도로 상기 제형의 안정성에 기여함을 나타내는 실험 데이터에 기초하여, 도입하는 단계; 또는 (c) 시트레이트 완충제를 포함하는 완충제 또는 완충제 배합물(특히 시트레이트 및 포스페이트 둘 다를 포함하는 완충제 배합물)의 존재를, 이러한 완충제 또는 완충제 배합물이 다른 완충제과 비교하여 상기 제형의 안정화에 관하여 불량하게 기능한다는 실험 데이터에 기초하여, 실질적으로 배제하는 단계. 상기 방법은 계면활성제로서 PS 80의 선택을 추가로 포함할 수 있다(실험 데이터에 기초하여, PS 80은 다른 계면활성제(PS 20을 포함함) 보다 아달리무맙 제형의 보다 우수한 열 안정성을 제공함을 나타낸다). 상기 방법은 상표 Humira®하에 판매되는 시판되는 아달리무맙 제형에 필적하거나 이보다 더 우수한 장기간 안정성을 나타내는 아달리무맙의 제형을 수득하기 위해 유용하다.

[0026] 추가의 방법 측면에서, 본 발명은, 본원에 기재된 아달리무맙 제형 양태들 중 어느 것을 이러한 대상체에게 투여함을 포함하는, 대상체에서 염증성 질환을 치료하기 위한 방법을 지시하다.

[0027] 상기 언급된 안정제가 제형에서 포함될 수 있는 상기 양태들에서, 이러한 안정제가 폴리올 및 계면활성제 둘 다 대신에 사용되는 경우, 만족스러운 안정화가 획득될 수 있다는 것이 추가로 발견되고, 이에 따라 본 발명의 안정화된 제형은 폴리올 및 계면활성제 둘 다를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않을 수 있다. 이에 따라, 제6 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 임의로 완충제; 아미노산, 염, EDTA, 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 조성물은 폴리올 및 계면활성제 둘 다 어느 것도 실질적으로 함유하지 않는다. 완충제가 이러한 양태로 존재하는 경우, (i) 상기 완충제는 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 포함하지 않고; (ii) 상기 완충제는 히스티딘 및 석시네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; (iii) 상기 안정제는 염화나트륨을 포함하지 않지만, 대신에 아르기닌 및 글리신으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원인 것이 특히 바람직하다.

[0028] 특정한 양태들에서 본 발명의 중요한 측면들은 다음을 포함한다: (i) 소르비톨 및 트레할로스는, 만니톨이 약 200 내지 300mM 초과의 농도로 사용되지 않는 한, 만니톨 보다 아달리무맙 제형의 상당히 더 우수한 안정제인 것으로 발견되었고, 이러한 경우, 상기 세개 성분은 일반적으로 등가량이고; (ii) 아르기닌 및 글리신(및 배합물)은 염화나트륨 보다 아달리무맙 제형의 상당히 더 우수한 안정제인 것으로 발견되고; (iii) 완충제가 상기 제형 중에 사용되는 경우, 시트레이트와 포스페이트의 배합물은 놀랍게도 다른 완충제, 예를 들면, 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트 및 타르트레이트 보다 아달리무맙을 안정화시키는데 상당히 불량하다는 것을 발견한다. 시트레이트와 포스페이트의 완충제 배합물의 비교적 불량한 성능은 미국 특허 제8,216,583호에서 시트레이트/포스페이트 배합된 완충제의 사용에서 기인된 명백한 중요성을 고려할 때 다소 예상밖이다. 이와 반대로, 본 발명자들은, 본 발명에 이르러 포스페이트/시트레이트 완충제 배합물이 안정된 아달리무맙 제형을 수득하기 위해 최적 선택이 아니라는 것을 발견하였고, 사실상, 본 발명의 기본원리는 이러한 배합물이 다른 완충 시스템을 위하여 완전히 회피되어야 한다는 것을 발견이다.

[0029] 바람직하게는, 폴리올은 당 알코올이고; 및 더욱 보다 바람직하게는, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트

레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 그러나, 만니톨 및 소르비톨 사이에, 본 발명은, 상기 언급한 바와 같이, 만니톨이 약 200mM 초과의 농도로 사용되지 않는 한, 만니톨 대신 소르비톨 또는 트레할로스를 사용할 때 분명한 안정화 이점을 발견하였고, 이러한 경우, 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스는 일반적으로 등가물이다. 약 200mM 아래의 농도에서, 만니톨은 아달리무맙 제형에서 소르비톨 또는 트레할로스 보다 더 열악한 안정제인 것으로 발견되었다.

[0030] 바람직하게는, 계면활성제는 폴리소르베이트 또는 폴록사머; 및 더욱 보다 바람직하게는 PS 80, PS 40, PS20, Pluronic F-68 및 이들의 배합물이다. 본 발명자들은, PS-20 대신 PS 80의 선택시 분명하고 놀라운 열적 안정화 이점을 발견하였다.

[0031] 이들 측면들 및 다른 측면들은, 이의 변형 및 개질이 기재내용의 새로운 개념의 취지 및 범위를 벗어나지 않고 영향을 줄 수 있지만, 하기한 다양한 양태들의 기재로부터 명백하게 될 것이다.

[0032] 상기 일반적인 설명 및 하기의 상세한 설명 둘 다는 단지 예시적이고 설명하기 위한 것이며, 청구된 본 발명을 제한하지 않는다는 것을 이해하여야 한다. 추가의 대표적인 양태들은 상세한 설명에 보고된 다수의 제형 연구, 뿐만 아니라, 여기에 첨부되고 이의 부분으로 만들어진 부록 A, B 및 C에 열거된 다양한 양태들에서 제시된다.

도면의 간단한 설명

[0033] 도 1은 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 측정된 다양한 아달리무맙 제형의 안정성의 막대 그래프(bar chart)이다.

도 2는 역상 (RP) 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)로 측정된 다양한 아달리무맙 제형의 안정성의 막대 그래프이다.

도 3은 안정성에 대한 시트레이트/포스페이트의 효과를 나타내는 최소 부분 자승법(PLS) 모델 1의 그래프이다.

도 4는 안정성에 대한 시트레이트/포스페이트의 효과를 나타내는 PLS 모델 2의 그래프이다.

도 5는 안정성에 대한 히스티딘/글리신의 효과를 나타내는 PLS 모델 1의 그래프이다.

도 6은 안정성에 대한 아르기닌/소르비톨의 효과를 나타내는 PLS 모델 1의 그래프이다.

도 7은 안정성에 대한 pH/히스티딘의 효과를 나타내는 PLS 모델 1의 그래프이다.

도 8은 안정성에 대한 pH/히스티딘의 효과를 나타내는 PLS 모델 2의 그래프이다.

도 9는 안정성에 대한 트레할로스/PS 80의 효과를 나타내는 PLS 모델 2의 그래프이다.

도 10은 안정성에 대한 만니톨/PS 80의 효과를 나타내는 PLS 모델 2의 그래프이다.

도 11은 안정성에 대한 만니톨/NaCl의 효과를 나타내는 PLS 모델 1의 그래프이다.

도 12는 안정성에 대한 EDTA/메티오닌의 효과를 나타내는 PLS 모델 1의 그래프이다.

도 13은 안정성에 대한 시트레이트 및 포스페이트의 효과를 나타내는 PLS 모델 A의 그래프이다.

도 14는 안정성에 대한 pH 및 히스티딘 완충제의 효과를 나타내는 PLS 모델 A의 그래프이다.

도 15는 안정성에 대한 글리신 및 아르기닌의 효과를 나타내는 PLS 모델 A의 그래프이다.

도 16은 안정성에 대한 NaCl 및 폴리소르베이트 80(PS 80)의 효과를 나타내는 PLS 모델 A의 그래프이다.

도 17은 안정성에 대한 시트레이트 및 포스페이트의 효과를 나타내는 PLS 모델 B의 그래프이다.

도 18은 안정성에 대한 pH 및 히스티딘 완충제의 효과를 나타내는 PLS 모델 B의 그래프이다.

도 19은 안정성에 대한 아르기닌 및 글리신의 효과를 나타내는 PLS 모델 B의 그래프이다.

도 20은 안정성에 대한 PS 80 및 만니톨의 효과를 나타내는 PLS 모델 B의 그래프이다.

도 21은 안정성에 대한 EDTA 및 NaCl의 효과를 나타내는 PLS 모델 B의 그래프이다.

도 22는 안정성에 대한 석시네이트 완충제 및 히스티딘 완충제의 효과를 나타내는 PLS 모델 B의 그래프이다.

도 23은 안정성에 대한 시트레이트 및 포스페이트의 효과를 나타내는 PLS 모델 C의 그래프이다.

도 24는 안정성에 대한 pH 및 히스티딘 완충제의 효과를 나타내는 PLS 모델 C의 그래프이다.

도 25는 안정성에 대한 아르기닌 및 글리신의 효과를 나타내는 PLS 모델 C의 그래프이다.

도 26은 안정성에 대한 만니톨 및 PS 80의 효과를 나타내는 PLS 모델 C의 그래프이다.

도 27은 안정성에 대한 PS 80 및 NaCl의 효과를 나타내는 PLS 모델 C의 그래프이다.

도 28은 안정성에 대한 pH 및 단백질 농도의 효과를 나타내는 PLS 모델 C의 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034]

발명의 상세한 설명

[0035]

본 발명의 다양한 양태들을 상세하게 설명한다. 명세서에서 및 특허청구범위에 걸쳐서 사용되는 바와 같이, 하나("a", "an"), 및 상기("the")의 의미는, 문맥에서 명백하게 기재되지 않는 경우, 복수 언급을 포함한다. 또한, 명세서에서 및 특허청구범위에 걸쳐서 사용되는 바와 같이, ~에서("in")의 의미는, 문맥에서 명백하게 기재되지 않는 경우, ~에서("in") 및 ~에 대해("on")를 포함한다. 추가로, 본 명세서에 사용된 몇몇 용어는 하기에도 구체적으로 정의된다.

[0036]

정의

[0037]

본 명세서에 사용된 용어는 일반적으로 본 발명의 문맥 내에서, 및 각각의 용어가 사용되는 특정 문맥에서, 당해 기술 분야에서의 일반적인 의미를 갖는다. 본 발명을 기재하기 위해 사용되는 특정 용어는 본 발명의 기재에 대하여 전문가에게 추가의 안내를 제공하기 위해, 하기에도 명세서 내의 다른 곳에서 논의한다. 특정 용어의 동의어가 제공된다. 하나 이상의 동의어의 나열은 다른 동의어의 사용을 배제하지 않는다. 본원에 논의된 임의의 용어의 예를 포함하는 본 명세서 어디에서든지 예의 사용은 단지 예시적이며, 어떠한 방식으로든 본 발명의 또는 임의의 예시되는 용어의 범위 및 의미를 제한하지 않는다. 본 발명은, 본 명세서에서 제공된 다양한 양태들에 제한하지 않는다.

[0038]

달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용되는 모든 기술적 과학적 용어는 본 발명이 적용되는 당해 기술 분야의 일반적인 숙련가가 통상 이해하고 있는 것과 동일한 의미를 갖는다. 상충되는 경우, 정의를 포함하는 본 문서가 규제할 것이다.

[0039]

"근방(around)", "약(about)" 또는 "대략(approximately)"은 일반적으로 주어진 값 또는 범위의 20% 이내, 10% 이내, 5, 4, 3, 2 또는 1% 이내인 것을 의미하여야 한다. 제공된 수치 양은 대략적이고, 용어 "근방" "약" 또는 "대략"이 분명히 기재되지 않는 경우 추론할 수 있음을 의미한다.

[0040]

용어 "아달리무맙"은 Humira® 중 활성 약제학적 성분과 동의어이고, 뿐만 아니라 이의 바이오시밀러 또는 바이오-베터 변형체로서 고려되고 의도되는 단백질이다. 아달리무맙은 사람 TNF에 대해 특이적인 재조합 사람 IgG1 모노클로날 항체이다. 아달리무맙은 또한 D2E7로 공지되어 있다. 아달리무맙은 2개의 경쇄(각각 대략 24킬로 달톤(kDa)의 분자량을 가짐) 및 2개의 IgG1 중쇄(각각 대략 49kDa의 분자량을 가짐)를 갖는다. 각각의 경쇄는 214개의 아미노산 잔기로 이루어지고, 각각의 중쇄는 451개의 아미노산 잔기로 이루어진다. 따라서, 아달리무맙은 1330개의 아미노산으로 이루어지고, 대략 148kDa의 총 분자량을 갖는다. 용어 아달리무맙은 또한, 시판되는 Humira®에서 사용되는 아달리무맙 단백질의 소위 바이오-시밀러 또는 바이오-베터 변형물을 포함하는 것으로 의도된다. 예를 들면, 시판 Humira®의 변형물은, 변형물이 특정 물리적 성질, 예를 들면, 당화 프로필을 나타낼 수 있지만(Humira®와 동일하지 않는 경우 유사할 수 있음), 시판되는 Humira®와 본질적으로 동일한 약리학적 효과를 갖는 경우, FDA에서 받아들여질 수 있다.

[0041]

본 출원의 목적을 위해, 용어 "아달리무맙"은 또한, 아미노산 구조가 약간 개질된 아달리무맙(아미노산의 결실, 첨가, 및/또는 치환)을 또는 당화 특성이 약간 개질된 아달리무맙을 포함하고, 이들은 폴리펩티드의 기능에 상당히 영향을 주지 않는다. 용어 "아달리무맙"은 Humira®의 모든 형태 및 제형을 포함하고, 농축된 제형, 주사 가능한 즉시사용형(ready-to-use) 제형; 물, 알코올, 및/또는 기타 성분으로 재구성되는 제형, 및 기타를 비제한적으로 포함한다.

[0042]

본원에 사용된 용어 "사람 TNF α "(이는 hTNF α , 또는 간단히 hTNF로서 축약될 수 있음)는 사람 사이토킨을 언급하는 것을 의도하고, 이는 17kD 분비된 형태 및 26kD 멤브레인 결합된 형태, 비공유 결합된 17kD 분자의 삼량체로 이루어진 생물학적 활성 형태로서 존재한다. hTNF α 의 구조는, 예를 들면, 문헌에 추가로 기재되어 있다[참

조: Pennica, D., et al. (1984) *Nature* 312:724-729; Davis, J. M., et al. (1987) *Biochemistry* 26:1322-1326; 및 Jones, E. Y., et al. (1989) *Nature* 338:225-228]. 용어 사람 TNF α 는 재조합 사람 TNF α (rhTNF α)를 포함하는 것을 의도하고, 이는 표준 재조합 발현 방법으로 제조될 수 있거나 시판되는 것을 구입할 수 있다(R & D Systems, Catalog No. 210-TA, Minneapolis, Minn.).

[0043] 본원에 사용된 용어 "항체"는, 디설파이드 결합으로 상호연결된 4개의 폴리펩티드 쇄, 2개의 중(H) 쇄 및 2개의 경(L) 쇄로 이루어진 면역글로불린 분자를 언급한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 VH로 축약됨) 및 중쇄 불변 영역으로 이루어진다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 이루어진다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 VL로서 축약됨) 및 경쇄 불변 영역으로 이루어진다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인, CL로 이루어진다. VH 및 VL 영역들은 상보성 결정 영역(CDR)들로 언급되는 초가변성(hypervariability) 영역들로 추가로 세분될 수 있고, 이들은 프레임워크 영역(FR)들로 언급되는 더 잘 보존되는 영역들 사이사이에 배치된다. 각각의 VH 및 VL은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 이루어지고, 아미노-말단에서 카복시-말단까지 다음 순서로 배치된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 발명의 하나의 양태에서, 제형은 미국 특허 제6,090,382호; 제6,258,562호, 제8,216,583호에 기재된 것과 같이 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열을 갖는 항체를 포함한다.

[0044] 항체 또는 이의 항원-결합 부분은, 항체 또는 항체 부분과 하나 이상의 기타 단백질 또는 웨타이드와의 공유 또는 비공유 회합에 의해 형성된 거대 면역부착(immunoadhesion) 분자의 부분일 수 있다. 이러한 면역부착 분자의 예는 4량체 scFv 분자를 제조하기 위한 스트렙타비딘 코어 영역의 사용[참조: Kipriyanov, S. M., et al. (1995) *Human Antibodies and Hybridomas* 6:93-101] 및 2가 바이오티닐화 scFv 분자를 제조하기 위한 시스테인 잔기, 마커 웨타이드 및 C-말단 폴리히스티딘 태그의 사용[참조: Kipriyanov, S. M., et al. (1994) *Mol. Immunol.* 31:1047-1058]을 포함한다. 항체 부분, 예를 들면, Fab 및 F(ab')₂ 단편은, 전체 항체로부터 통상의 기술, 예를 들면, 전체 항체의 파파인 또는 웨신 소화 각각을 사용하여 제조할 수 있다. 추가로, 항체, 항체 부분 및 면역부착 분자를 본원에 기재된 표준 재조합 DNA 기술을 사용하여 수득할 수 있다.

[0045] 본원에 사용된 용어 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체를 실질적으로 함유하지 않는 항체를 언급한다(예: hTNF α 에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 hTNF α 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체를 실질적으로 함유하지 않는다). hTNF α 에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는, 그러나, 다른 항원, 예를 들면, 기타 종으로부터의 TNF α 분자에 대해 교차-반응성을 가질 수 있다. 또한, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질을 실질적으로 함유할 수 있다.

[0046] 용어 "글리신"은 코돈이 GGT, GGC, GGA, 및 GGG인 아미노산을 언급한다.

[0047] 용어 "아르기닌"은 코돈이 CCU, CCC, CCA, 및 CCG인 α -아미노산을 언급한다.

[0048] 용어 "알라닌"은 코돈이 GCT, GCC, GCA, 및 GCG인 아미노산을 언급한다.

[0049] 용어 "메티오닌"은 코돈이 ATG인 아미노산을 언급한다.

[0050] 용어 "글루타메이트"는 코돈이 GAA 및 GAG인 아미노산을 언급한다.

[0051] 용어 "당"은 모노삭카라이드, 디삭카라이드, 및 폴리삭카라이드를 언급한다. 당의 예는, 수크로스, 글루코스, 덱스트로스, 및 기타를 비제한적으로 포함한다.

[0052] 용어 "폴리올"은 다중 하이드록실 그룹을 포함하는 알코올을 언급한다. 폴리올의 예는, 만니톨, 소르비톨, 및 기타를 비제한적으로 포함한다.

[0053] 용어 "금속 이온"은 순(net) 양전하 또는 음전하를 갖는 금속 원자를 언급한다. 본 출원의 목적을 위해, 용어 "금속 이온"은 또한, 금속 염을 비제한적으로 포함하는 금속 이온의 공급원을 포함한다.

[0054] 용어 "장기간 저장" 또는 "장기간 안정성"은 약제학적 조성물이 3개월 이상 동안, 6개월 이상 동안, 및 바람직 하게는 1년 이상 동안, 가장 바람직하게는 적어도 2년의 안정한 최소 저장 수명 동안 저장할 수 있음을 의미하는 것으로 이해한다. 일반적으로 말하면, 용어 "장기간 저장" 및 "장기간 안정성"은 추가로, 제형이 이의 의도된 약제학적 적용에 부적합하게 될 수 있는 안정성의 손실이 없이, 아달리무맙의 현재 시판 제형에 통상적으로 요구되는 안정한 저장과 적어도 비슷하거나 더 우수한 안정한 저장 기간을 포함한다. 장기간 저장은 또한, 약제학적 조성물을 액체로서 2 내지 8°C에서 저장하거나, 예를 들면, -20°C에서 또는 더 차게해서 냉동시킴을 의미하는 것으로 이해한다. 이는 또한, 조성물이 1회 이상 냉동되고 해동될 수 있는 것을 고려한다.

- [0055] 장기간 저장에 대하여 용어 "안정한"은, 약제학적 조성물에 함유된 아달리무맙이 저장 초기의 조성물의 활성에 비하여 이의 활성을 20% 초과, 또는 보다 바람직하게는 15% 초과, 더욱 보다 바람직하게는 10% 초과, 및 가장 바람직하게는 5% 초과로 손실하지 않음을 의미하는 것으로 이해한다.
- [0056] 용어 "실질적으로 함유하지 않는(substantially free)"은 어떠한 물질도 존재하지 않나, 상기 물질의 단지 최소의 미량이 조성물의 특성에 실질적으로 어떠한 영향을 미치지 않으면서 존재하는 것을 의미한다. 물질의 양이 없는 것으로 언급되는 경우, "검출불가능한 양"으로 이해하여야 한다.
- [0057] 용어 "포유동물"은, 사람을 비제한적으로 포함한다.
- [0058] 용어 "약제학적으로 허용되는 담체"는 비-독성 고체, 반고체 또는 액체 충전제, 희석제, 캡슐화 물질, 제형 보조제, 또는 임의의 통상적인 유형의 부형제를 언급한다. 약제학적으로 허용되는 담체는 사용되는 용량(dosage) 및 농도에서 복용자에게 비-독성이고, 제형의 다른 성분과 혼화성이다.
- [0059] 용어 "조성물"은, 담체, 예를 들면, 약제학적으로 허용되는 담체, 또는 부형제를 통상적으로 함유하는 혼합물을 언급하고, 이는 당해 기술 분야에 통상적이고, 치료학적, 진단학적, 또는 예방학적 목적을 위해 대상체에게 투여하기에 적합하다. 이는 세포 배양물을 포함할 수 있고, 여기서, 상기 세포 또는 배양 배지 내에 폴리펩티드 또는 폴리누클레오티드가 존재한다. 예를 들면, 경구 투여용 조성물은 용액제, 혼탁제, 정제, 알약, 캡슐제, 지연 방출 제형, 경구 린스 또는 분말을 형성할 수 있다.
- [0060] 용어 "약제학적 조성물" 및 "제형"은 상호교환적으로 사용된다.
- [0061] 용어 "치료"는 포유동물에서 질환에 대한 치료법의 임의의 투여 또는 적용을 언급하고, 예를 들면, 퇴행을 야기하거나, 손상, 손실 또는 결핍 기능을 회복시키거나 복구하거나; 비효율적인 과정을 자극하여, 질환을 억제하고, 이의 발병을 저지하고, 질환을 완화시킴을 포함한다. 상기 용어는 목적하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 수득하는 것을 포함하고, 포유동물에서 병리학적 상태 또는 장애의 임의의 치료를 포함한다. 효과는 장애 또는 이의 증상의 완전한 또는 부분적 예방에 관하여 예방적일 수 있고/있거나, 장애 및/또는 장애에 기인하는 악영향의 부분적 또는 완전한 치유에 관하여 치료학적일 수 있다. 이는, (1) 장애에 취약할 수 있지만 아직 증상이 없는 대상체에서 발생되거나 재발되는 장애를 예방하고, (2) 장애를 억제하고, 예를 들면, 이의 발생을 저지하고, (3) 장애 또는 적어도 이의 관련된 증상을 정지시키거나 종결시켜, 숙주가 더이상 장애 또는 이의 증상으로 고통받지 않도록 하고, 예를 들면, 장애 또는 이의 증상의 퇴행을 야기하고, 예를 들면, 손상, 손실 또는 결핍 기능을 회복시키거나 복구하거나, 비효율적인 과정을 자극하고, 또는 (4) 장애, 또는 이와 관련된 증상을 완화, 경감 또는 개선시킴을 포함하고, 여기서, 개선은 넓은 의미에서 적어도 파라미터(예를 들면, 염증, 통증 및/또는 종양 크기)의 규모 감소를 언급하는데 사용된다.
- [0062] 용어 "질환"은, 의학적 개입을 필요로 하거나 의학적 개입이 바람직한 임의의 상태, 감염, 장애 또는 증후군을 언급한다. 이러한 의학적 개입은 치료, 진단 및/또는 예방을 포함할 수 있다.
- [0063] 용어 "치료학적 유효량"은, 살아있는 대상체에게 투여되는 경우, 살아있는 대상체에서 목적하는 효과를 성취하는 양을 언급한다. 예를 들면, 살아있는 대상체에게 투여하기 위한 본 발명의 폴리펩티드의 유효량은, 인테그린 $\alpha v \beta 3$ -매개된 질환을 예방 및/또는 치료하는 양이다. 정확한 양은 치료의 목적에 좌우될 수 있고, 공지된 기술을 사용하여 당해 기술분야의 숙련가에 의해 확인될 수 있을 것이다. 당해 기술 분야에 공지된 바와 같이, 전신 대 국소 전달을 위한 조절, 연령, 체중, 일반 건강, 성별, 식이, 투여 시간, 약물 상호작용 및 상태의 종증도가 필수적일 수 있고, 당해 기술 분야의 숙련가가 일반적인 실험으로 확인할 것이다.
- [0064] 본 발명의 양태들
- [0065] 아달리무맙(Humira®)의 수성 및 동결건조된 제형을 포함하는, 아달리무맙을 함유하는 약제학적 조성물이 장기간 기준으로 저장되는 경우, 아달리무맙의 활성은 응집 및/또는 분해로 인해 손실되거나 감소될 수 있다. 따라서, 본 발명은, 아달리무맙의 안정한 장기간 저장을 가능하게 하여, 아달리무맙이 액체 또는 냉동된 상태로 저장 과정에 걸쳐서 안정한, 아달리무맙의 수성 제형을 제공한다. 상기 제공된 제형은 임의의 추가의 단계, 예를 들면, 재수화를 필요로 하지 않는다.
- [0066] 본 발명의 다양한 양태들은 하기에 보다 상세하게 설명한다.
- [0067] 아달리무맙
- [0068] 본 발명의 조성물 모두는 아달리무맙을 포함한다. 본 출원의 배경 섹션에서 설명한 바와 같이, 아달리무맙은

사람 종양 괴사 인자(TNF)에 특이적인 재조합 사람 IgG1 모노클로날 항체이다. 이러한 항체는 또한 D2E7로 공지되어 있다. 아달리무맙은 1330개의 아미노산으로 이루어지고, 대략 148킬로달톤의 분자량을 갖는다. 아달리무맙은 미국 특히 제6,090,382호에 개시되고 특허청구되었다. 용어 "아달리무맙"은 또한 시판되는 Humira®에 존재하는 활성 아달리무맙 단백질의 소위 "바이오-시밀러" 및 "바이오-베터" 버전을 의미하는 것을 의도한다.

[0069] 본 발명의 약제학적 조성물에서 저장에 적합한 아달리무맙은 당해 기술 분야에 공지된 표준 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들면, 미국 특히 제6,090,382호 및 제8,216,583호는 숙련된 기술자가 본 발명의 제형에서 사용하기 위한 아달리무맙 단백질을 제조하는데 사용할 수 있는 다양한 방법을 기재한다. 이들 방법은 본원에 인용에 의해 포함된다. 예를 들면, 아달리무맙은 숙주 세포에서 면역글로불린 경쇄 및 중쇄 유전자의 재조합 발현으로 제조될 수 있다.

[0070] 발현된 아달리무맙의 정제는 임의의 표준 방법으로 수행될 수 있다. 아달리무맙이 세포내에서 생성되는 경우, 미립자 데브리스(debris)를, 예를 들면, 원심분리 또는 한외여과로 제거한다. 아달리무맙이 배지 내에서 분비되는 경우, 이러한 발현 시스템으로부터의 상청액은 표준 폴리펩티드 농도 필터를 사용하여 먼저 농축될 수 있다. 프로테아제 억제제는 또한 단백질분해를 억제하기 위해 첨가할 수 있고, 항생제는 미생물의 성장을 방지하기 위해 포함될 수 있다.

[0071] 아달리무맙은, 예를 들면, 하이드록시아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기 영동, 투석, 및 친화성 크로마토그래피, 및 공지되거나 이미 발견된 임의의 정제 기술의 조합[단백질 A 크로마토그래피, 이온-교환 컬럼 상 분별(fractionation), 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상 크로마토그래피, 헤파린 SEPHAROSET® 상 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 크로마토그래피(예를 들면, 폴리아스파르트산 컬럼), 크로마토포커싱(chromatofocusing), SDS-PAGE, 및 황산암모늄 침전을 비제한적으로 포함함]을 사용하여 정제될 수 있다.

I 폴리올 및/또는 계면활성제를 함유하고 시트레이트/포스페이트 완충제를 함유하지 않는 아달리무맙의 제형

[0072] 제1 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙; 폴리올 및 계면활성제로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원을 포함하는 안정제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 완충제는 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 포함하지 않는다. 이러한 양태에서, 상기 안정제는 바람직하게는 폴리올 및 계면활성제 둘 다를 포함한다. 약제학적 조성물은, 시트레이트 및 포스페이트 둘 다를 포함하지 않는 한, 하나의 완충제 또는 2개 이상의 완충제의 임의의 배합물을 포함할 수 있다. 상기 계면활성제는 임의의 약제학적으로 허용되는 계면활성제, 바람직하게는 폴리소르베이트(예: 폴리소르베이트 80) 또는 폴록사머(예: Pluronic F-68)일 수 있다.

II 단일 완충 시스템을 사용하는 아달리무맙의 제형

[0073] 제2 양태에서, 단일 완충 시스템을 사용하여, 본 발명은, 아달리무맙, 폴리올, 계면활성제, 및 단일 완충제를 포함하는 완충 시스템을 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 상기 단일 완충제는 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 또는 말레이트로부터 선택되지만, 상기한 것들의 배합물을 포함하지 않고; 여기서, 상기 제형의 pH는 약 4 내지 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이다. 히스티딘 및 석시네이트는 단일 완충제로서 사용하기 위해 특히 바람직하다. 놀랍게도, 단지 하나의 완충제(2개 이상의 완충제과 대조적으로)을 포함하는 아달리무맙 조성물이, 시트레이트 완충제 및 포스페이트 완충제 둘 다를 포함하는 아달리무맙 조성물보다 더 안정하다는 것을 밝혀내었다. 상기 단일 완충제 양태에서, 아달리무맙은 약 20 내지 약 150mg/ml, 보다 바람직하게는 약 20 내지 약 100mg/ml, 및 더욱 보다 바람직하게는 약 30 내지 약 50mg/ml의 농도로 존재할 수 있다. 상기 완충제는 약 5mM 내지 약 50mM의 농도로 존재한다. 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이다. 본 발명의 단일 완충제 조성물은 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌, 가장 바람직하게는 글리신, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 본 발명의 조성물은 계면활성제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 계면활성제는 폴리소르베이트 계면활성제 또는 폴록사머 계면활성제이다. 폴리소르베이트 계면활성제는 폴리소르베이트 80, 폴리소르베이트 40 및 폴리소르베이트 20을 포함한다. 바람직한 폴리소르베이트 계면활성제는 폴리소르베이트 80이다. 폴록사머 계면활성제는 폴록사머 188(또한 Pluronic F-68로서 시판됨)을 포함한다. 가장 바람직하게는, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트 80이다. 상기 단일 완충제 조성물은 폴리올을 추가로 포함할 수 있다. 바람직하게는, 상기 폴리올은 당 알코올이고; 더욱 보다 바람직하게는, 상기

당 알코올은 만니톨, 소르비톨 또는 트레할로스이다. 상기 단일 완충제 아달리무맙 조성물은 또한 당, 바람직하게는 수크로스, 글루코스 또는 텍스트로스를 포함할 수 있다.

[0076] 단일 완충제 아달리무맙 제형의 하나의 양태에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 석시네이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 어떠한 다른 완충제도 실질적으로 함유하지 않는다.

[0077] 단일 완충제 아달리무맙 제형의 또다른 양태에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 히스티딘을 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 다른 완충제를 실질적으로 함유하지 않는다.

[0078] 단일 완충제 아달리무맙 제형의 추가의 양태에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 타르트레이트, 말레이트 또는 아세테이트 중 어느 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 어떠한 다른 완충제도 실질적으로 함유하지 않는다.

III 완충제를 배제한 아달리무맙의 제형

[0080] 제3 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 폴리올 및 계면활성제로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원을 포함하는 안정제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 조성물은 완충제를 실질적으로 함유하지 않는다. 용어 "완충제 비함유(free of buffer)"는 단백질 자체의 고유한 완충 효과를 포함할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 완충제 비함유 제형에서, 상기 언급된 안정제는 또한 존재할 수 있다(예: 글리신, 아르기닌 및 이들의 배합물).

IV 계면활성제를 배제한 아달리무맙의 제형

[0082] 제4 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 폴리올; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 계면활성제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 바람직하게는, 상기 조성물은 (i) 시트레이트와 포스페이트의 완충제 배합물을 함유하지 않고; (ii) 상기 완충제는 히스티딘 및 석시네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원이고; (iii) 상기 폴리올은 약 150mM 미만 농도의 만니톨이 아니지만, 대신에 약 150mM을 초과하는 농도의 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

V 폴리올을 배제한 아달리무맙의 제형

[0084] 제5 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 계면활성제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다. 바람직하게는, 상기 조성물은 (i) 시트레이트와 포스페이트의 완충제 배합물을 함유하지 않고; (ii) 상기 완충제는 히스티딘 및 석시네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원이다.

[0085] 양태들 I 내지 V에서 유용한 추가 안정제. 임의로, 상기 요약된 5개의 양태들 각각에서, 상기 조성물은 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 아미노산 안정제는 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 염 안정제는 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 금속 이온 안정제는 아연, 마그네슘 및 칼슘으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 바람직하게는, 상기 언급된 안정제를 함유하는 아달리무맙 제형은 또한 완충 시스템을 함유하지 않고, 여기서, 포스페이트 완충제 및 시트레이트 완충제는 배합물로 존재한다. 가장 바람직하게는 (i) 이러한 양태에 존재하는 임의의 추가 안정제는 염화나트륨이 아니고, 아르기닌 및 글리신 중 적어도 하나 또는 둘 다를 포함하고; (ii) 완충제는, 존재하는 경우, 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 함유하지 않지만, 대신 히스티딘 및 석시네이트 중 적어도 하나이고; (iii) 상기 안정제는, 폴리올을 포함하는 경우, 만니톨이 아니고(약 150mM 초과 양의 경우는 제외), 트레할로스 및 소르비톨을 또한 포함할 수 있다. 바람직하게는 만니톨의 양은 약 150mM 초과, 및 가

장 바람직하게는 약 200mM 초과이다.

[0086] VI 계면활성제 및 폴리올 둘 다를 다른 안정제로 교체한 아달리무맙의 제형

상기 언급된 안정제가 폴리올 및 계면활성제 둘 다 대신에 사용되는 경우, 만족스러운 안정화가 획득될 수 있다는 것이 추가로 발견되었고, 이에 따라, 제6 양태에서, 본 발명은, 아달리무맙, 임의로 완충제; 아미노산, 염, EDTA, 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 4 내지 약 8, 및 바람직하게는 약 5 내지 약 6이고, 여기서, 상기 조성물은 폴리올 및 계면활성제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 완충제가 이러한 양태로 존재하는 경우, (i) 상기 완충제는 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 포함하지 않고; (ii) 상기 완충제는 히스티딘 및 석시네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되고; (iii) 상기 안정제는 염화나트륨을 포함하지 않지만, 대신에 아르기닌 및 글리신으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원인 것이 특히 바람직하다. 완충제는 시트레이트 완충제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는 것이 또한 바람직한데, 이는 본 발명자들이 일반적으로 안정성 기여에 관하여 다른 완충제, 예를 들면, 히스티딘 및 석시네이트 보다 더 열악하다는 것을 발견하였기 때문이다.

상기 양태들 각각에서, 하기 유리한 조건 중 적어도 하나가 임의로 존재할 수 있다(필요한 것으로 기재되지 않는 한): (i) 상기 완충제는 바람직하게는 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 함유하지 않거나, 시트레이트 완충제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고; (ii) 상기 완충제는 바람직하게는 히스티딘 및 석시네이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원이고; (iii) 상기 안정제는 바람직하게는 염화나트륨을 포함하지 않거나, 존재하는 경우, 약 100mM 미만 수준까지 제어되고; (iv) 상기 안정제는 아르기닌 및 글리신(이들의 배합물을 포함함)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 구성원이고; (v) 상기 폴리올은 바람직하게는 만니톨이 아니지만(만니톨이 약 150mM 초과 및 바람직하게는 약 200mM 초과의 양으로 존재하지 않는 한), 소르비톨 및 트레할로스를 포함할 수 있다. 안정화를 위해 폴리올을 사용하는 경우, 만니톨이 일반적으로 약 150 내지 200mM 초과의 양으로 존재하지 않는 한, 만니톨은 소르비톨 및 트레할로스와 비교하여 탈안정성(destabilizing)이 되는 것으로 발견된다. 다른 안정제를 사용하는 경우, 염화나트륨은, 아르기닌 또는 글리신과 비교하여 탈안정성이 되지만, 본 발명자들은, 염화나트륨의 수준을 약 100mM 미만 및 바람직하게는 약 75mM 미만으로 제어하는 경우, 약간의 안정화가 관찰된다는 것을 본 발명에서 발견한다.

[0089] 바람직하게는, 아달리무맙은 본 발명의 조성물 중에 약 20 내지 약 150mg/ml, 보다 바람직하게는 약 20 내지 약 100mg/ml, 및 더욱 보다 바람직하게는 약 30 내지 약 50mg/ml의 농도로 존재한다.

[0090] 완충제는, 존재하는 경우, 약 5mM 내지 약 50mM의 농도로 존재한다.

[0091] 계면활성제는, 존재하는 경우, 바람직하게는 폴리소르베이트(PS)이다. 더욱 보다 바람직한 양태에서, 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80(PS 80)이다. 폴록사며 계면활성제가 또한 적합하다(예: Pluronic® F-68).

[0092] 상기 폴리올은, 존재하는 경우, 당 알코올이다. 더욱 보다 바람직한 양태에서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택되고, 가장 바람직하게는 소르비톨 및 트레할로스이다.

[0093] 바람직하게는, 상기 폴리올은 약 1 내지 약 10%, 보다 바람직하게는, 약 2 내지 약 6%, 및 더욱 보다 바람직하게는 약 3 내지 5%의 농도로 존재하고, 여기서, 상기 값은 총 조성물의 용적에 대한 질량(w/v)이다.

[0094] 안정제는, 존재하는 경우, 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로 이루어진 그룹으로부터 선택될 수 있다. 글리신 및 아르기닌이 특히 바람직한 안정제이다.

[0095] 아연, 마그네슘 및 칼슘은, 안정화를 위해 존재하는 경우, 약 1mM 내지 약 100mM, 및 보다 바람직하게는 약 1 내지 약 10mM의 농도로 존재할 수 있다.

[0096] 글리신, 또는 아르기닌, 또는 이들의 배합물은, 안정화를 위해 존재하는 경우, 총 농도 약 300mM 이하, 및 바람직하게는 약 150 내지 300mM로 존재한다.

[0097] 메티오닌은, 안정화를 위해 존재하는 경우, 약 1 내지 약 10mg/ml, 보다 바람직하게는 약 1mg/ml 내지 약 5mg/ml의 농도로 존재한다.

- [0098] 염화나트륨은, 안정화를 위해 존재하는 경우, 약 5 내지 약 150mM, 보다 바람직하게는, 약 20 내지 약 140mM, 및 더욱 보다 바람직하게는 약 100mM 미만의 농도로 존재한다.
- [0099] 황산나트륨은, 존재하는 경우 안정화를 위해 존재하는 경우, 약 5 내지 약 150mM, 보다 바람직하게는, 약 20 내지 약 120mM, 및 더욱 보다 바람직하게는 약 60 내지 약 100mM의 농도로 존재한다.
- [0100] EDTA는, 안정화를 위해 존재하는 경우, 약 0.01% 내지 약 0.05%, 보다 바람직하게는 약 0.05% 내지 약 0.25%, 및 더욱 보다 바람직하게는 약 0.08% 내지 약 0.2%의 농도로 존재한다.
- [0101] 바람직하게는, 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5; 및 더욱 보다 바람직하게는 약 5.2 내지 5.4이다.
- [0102] 상기 양태 I 및 II의 예에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 10%(w/v; weight by volume) 농도의 소르비톨 또는 트레할로스, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 내지 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이트 또는 시트레이트 완충제 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 단, 상기 조성물은 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 추가로, 본 발명자들은, 시트레이트를 완충제 중 가장 열악한 것으로 순위매김(rank)하고, 바람직하게는, 시트레이트가, 시트레이트 완충제를 포함하는 아달리무맙의 안정한 제형을 제형화하기 위한 본 발명의 범위 내에 여전히 존재함에도 불구하고, 포스페이트와의 배합물이 아닌 경우, 시트레이트를 회피한다.
- [0103] 양태 IV의 예에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 소르비톨 또는 트레할로스, 및 약 5mM 내지 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이트 또는 시트레이트 완충제 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고, 임의로, 바람직하게는, 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0104] 양태 VI의 예에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 20 내지 약 200mM 농도의 글리신, 및 약 5mM 내지 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이트 또는 시트레이트 완충제 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고; 계면활성제(예: PS8)는 바람직하게는, 그러나 임의로 존재하고; 상기 조성물은, 임의로, 바람직하게는, 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0105] 양태 VI의 추가의 예에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 250mM 농도의 아르기닌 또는 글리신, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이트 또는 시트레이트 완충제 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다. 계면활성제(예: PS 80)는 바람직하게는 그러나 임의로 존재하고, 상기 조성물은, 임의로 그리고 바람직하게는, 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0106] 양태 VI의 추가의 예에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 5 내지 약 150mM 농도의 염화나트륨, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이트 또는 시트레이트 완충제 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다. 계면활성제(예: PS 80)는 바람직하게는 그러나 임의로 존재하고; 상기 조성물은, 임의로 그리고 바람직하게는, 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0107] 양태 V의 예에서, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 5 내지 약 150mM 농도의 염화나트륨, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이트 또는 시트레이트 완충제 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고, 임의로, 바람직하게는, 시트레이트/포스페이트 완충제를 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0108] 양태들 I 및 II의 예에서, 추가의 안정화에 따라, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 약 10%(w/v) 농도의 소르비톨 또는 트레할로스, 약 0.01%

내지 약 0.5% 농도의 EDTA, 및 단독 완충제로서 약 5mM 및 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이이트 또는 시트레이트 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.

[0109] 양태들 I 및 II의 추가의 예에서, 추가의 안정화에 따라, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 약 10%(w/v) 농도의 소르비톨 또는 트레할로스, 약 1 내지 약 10mg/ml 농도의 메티오닌, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 석시네이트, 히스티딘, 포스페이트, 타르트레이트, 말레이이트 또는 시트레이트 중 적어도 하나를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 어떠한 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물도 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.

[0110] 양태들 I 및 II의 추가의 예에서, 추가의 아미노산 안정화에 따라, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 약 10%(w/v) 농도의 만니톨, 소르비톨 또는 트레할로스(바람직하게는 소르비톨), 및 바람직하게는 (a) 약 1 내지 약 250mg/ml 농도의 아르기닌, 및 (b) 약 20 내지 200mg/ml 농도의 글리신 중 하나 또는 이들 둘 다인 아미노산, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 히스티딘 완충제 또는 석시네이트 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고; 상기 조성물은 어떠한 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물도 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.

[0111] 양태 IV의 추가의 예에서, 추가의 아미노산 안정화에 따라, 본 발명은, 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 약 250mg/ml 농도의 아르기닌, 약 20 내지 200mg/ml 농도의 글리신, 및 약 5mM 내지 약 50mM 농도의 히스티딘 완충제 또는 석시네이트 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물을 제공하고, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고; 임의로, 상기 조성물은 바람직하게는 어떠한 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물도 함유하지 않는다.

[0112] 본 발명의 아달리무맙 제형의 다양한 양태들은 "블록 A" 내지 "블록 H"로서 본원에 언급된 8개의 개별적인 실험 블록에 제조되었다. 각 블록은 가속화된 저장 조건, 40°C에서 1주 및 25°C에서 2주에 노출되는 12 내지 16개의 상이한 제형을 가졌다. 각 시점에 대해, 아달리무맙 단백질의 화학적 및 물리적 안정성을 SEC, RP, UV, pH, CE-IEF 및 CE-SDS로 측정하였다.

물질 및 방법

1. 제형 연구에 사용되는 장치

장치	제조원	모델	일련 번호
저울	Sartorius	CPA124S	23350022
pH 미터	Denver Instrument	Model 250	E25006B100
UV	Cary	Bio 100	EL07103025
HPLC	Dionex 3	Ultimate 3000 UPLC	8047439
HPLC	Dionex 2	Ultimate 3000, UPLC	8036991
Beckman CE	Beckman	P/ACE	455436
Agilent CE	Agilent	3DCE 1600A	3546G00736
로커 플레이트	Labnet	Orbit P4	8091840

[0115]

[0116]

2. 제형 연구에 사용되는 화학물질 및 물질

화학 물질/ 물질	제조원	순도	로트 번호:
시트레이트	Mallinckrodt	ACS	H28475
포스페이트	Fisher	FCC	103372
	Fisher	ACS	113670
석시네이트	Spectrum	시약	ZM0462
히스티딘	Spectrum	USP	XV0239
	Spectrum	USP	ZG0216
타르트레이트	Spectrum	FCC	1BC0152
말레이이트	TCI	>99%	206-738-1
만니톨	BDH	USP	57910
글리신	Spectrum	FCC	YM3312
	Spectrum	FCC	1BJ0243
	Fisher	조직 등급	070082
아르기닌	Spectrum	USP	2AK0238
	Spectrum	USP	1CB0771
염화나트륨	Mallinckrodt	ACS	J52619
	Macron	USP	26434
폴리소르베이트 80	Sigma-Aldrich	저 퍼옥사이드	028K5309
소르비톨	Spectrum	NF	1AH0521
트레할로스	Spectrum	N/A	1AE0739
아세테이트	Mallinckrodt	FCC	H31613
EDTA	Sigma	98.5%	057K00071
메티오닌	Spectrum	USP	ZF0377
F-68	Sigma	세포 배양	057K00331
폴리소르베이트 20	Spectrum	NF	1AE0882
나트륨 도데실 살레이트	Fluka	ACS	1344034
트리스 베이스	Fisher	ACS	S61374
2-머캅토에탄올	Fisher	전기영동	107667

[0117]

물질/시약	파트 번호	공급자
Slide-A-Lyzers 7K 컷오프	66373	Thermo
미니 투석 단위	69550	Thermo
Millex®-GV 0.22 μ M, 필터	SLGV004SL	Millipore
1 mL 바이알	4500050375	SCHOTT
cIEF 젤 중합체 용액	477497	Beckman Coulter
pl 마커 키트	A58481	Beckman Coulter
Pharmalyte 3-10 양쪽성 물질	17-0456-01	GE Healthcare
발연 실리카 모세관 (50 μ m i.d.)	TSP050375	Polymicro
SDS-MW 젤 완충액	A10663	Beckman
10 kD 내부 표준	A26487	Beckman

[0118]

[0119]

3. 제형 연구에 사용되는 HPLC 컬럼

컬럼	회사	파트 #	로트
Poroshell 300SB-C8, 2.1x75mm, 5um	Agilent	660750-906	USZW0030 83
Poroshell 300SB-C8, 2.1x75mm, 5um	Agilent	660750-906	USZW0030 73
ACQUITY UPLC BEH200 SEC, 1.7 um 컬럼, 4.6 x 150 mm	Waters	186005225	138123331
ACQUITY UPLC BEH200 SEC, 1.7 um 컬럼, 4.6 x 150 mm	Waters	186005225	014711309 51

[0120]

[0121]

Humira®의 처리. 블록 A 실험은 시판되는 Humira®에 존재하는 아달리무맙을 사용하였다. Humira® 물질은 다음과 같이 투석되었다: 100 μ l의 Humira®를 3.5 MWCO를 갖는 미니 투석 단위(Mini Dialysis units)에 놓고, 1L의 제형 완충제를 24시간 동안 4 내지 8°C에서 투석하였다. 소수의 샘플들은 투석으로 인해 용적의 소폭 증가를 경험하였지만, 폴리소르베이트 80의 농도가 CMC(임계 미셀 농도) 아래로 떨어지는 범위까지는 절대 아니었다.

[0122]

각각의 제형에 대한 단백질 농도를, UV 흡광도 분광법에 의해, Humira®의 기록된 농도, 50mg/ml를 기준으로 하여 계산된 실험 물 흡광도를 사용하여, 측정하였다. 다수의 제형에 대해, 단백질 농도를 스픈 농축기(spin concentrator)를 사용하여 조절하였다. 샘플을 스픈 농축기에 놓고, 14,000RPM에서 30 초 내지 60초 동안 회전시켰다. 이어서, 단백질 농도를 UV로 체크하였다. 목적하는 단백질 농도인 50mg/ml 근방에 도달한 후, 샘플들을 0.22 μ M 멸균 필터를 통하여 멸균 바이알 내로 생물 안전 후드(biosafety hood)에서 여과하였다. 이어서, 샘플들을 40°C에서 1주 및 2주 동안 안정성 상태로 방치하였다.

[0123]

상표등록된 아달리무맙 단백질의 처리. 본원에 기재된 제형 연구는, 폴리소르베이트 80을 포함하지 않는 상표등록된 아달리무맙 바이오시밀러 단백질을 사용하였다. 상기 물질을 7,000 MWCO Slide-A-Lyzers를 사용하여 상이한 제형 완충제 중에서 24시간 동안 4 내지 8°C의 온도 범위에서 투석하였다. 투석 후, 단백질 농도를 UV로 측정하고, 샘플 pH를 측정하였다. 샘플들의 표적 농도는 50 ± 2.5mg/ml이었고, 이는 샘플 농도가 상기 범위 밖으로 떨어지는 경우 조절된다. 샘플들의 몇몇은, 희석으로 인해 샘플 용적의 증가를 경험하였고, 이는 단백질의 농도의 증가를 필요로 한다. 이들 샘플들에 대해, 단백질 농도를 스픈 농축기를 보통 14,000rpm에서 30 내지 60초 동안 사용하여 증가시켰다. 다수의 샘플들의 pH를, 1M NaOH 또는 1M HCl을 사용하여 목표 pH인 5.2로 도달하도록 조절하였다.

[0124]

샘플들의 목적하는 단백질 농도 및 pH가 실험 파라미터 내에 존재하는 것을 측정한 후, 샘플들을 생물 안전 후드에서 멸균 바이알 내로 0.22 μ M 멸균 필터를 통과시켜 여과하였다. 이어서, 샘플들을 40°C에서 1주 동안 및 25°C에서 2주 동안 안정성 상태로 방치하였다.

[0125]

냉동-해동 조건: 냉동 해동 샘플들을 분석일에 준비하고 t=0에 매칭하였다. 샘플들을 -80°C에서 3 내지 7분 동안 냉동하였다. 이어서 냉동된 샘플을 모든 얼음이 해동될 때까지 실온에서 해동하였다. 냉동 및 해동 주기를 각각의 샘플에 대해 5회 반복하였다.

[0126]

교반 연구. 샘플들을 150rpm에서 24시간 동안 4°C에서 로커 플레이트(rocker plate)에서 합하였다. 대조군을 제조하고, 교반을 수행한 각각의 샘플에 대해 로커 플레이트 옆에 놓았다.

[0127]

pH 측정. 각각의 샘플의 pH를 마이크로-pH 프로브를 사용하여 측정하였다. 분석을 시작하기 전에, pH 프로브를 fisher로부터 주문한 3개의 pH 표준으로 보정하였다. 안정성 샘플들의 pH 값을 각각의 안정성 샘플 60 μ l를 100 μ l PCR 튜브로 이동시켜 측정하였다. 이어서, 마이크로-pH 프로브를 샘플 내로 침수시키고, 값을 안정화시킨 후, 기록하였다.

[0128]

UV 흡광 분광법. UV 분광법을 샘플들에서 단백질 농도를 측정하는데 사용하였다. 벌크 물질을 위한 280nm에서의 물 흡광 계수는 1.6355mg/ml이었고, 이는 실험으로 측정하였다. LB-140에 대한 모든 제형의 단백질 농도는 0.0096cm의 셀 경로 길이를 사용하여 측정하였다. LB-140에 대해 사용된 분석 파라미터는 아래와 같다.

[0129]

주사 범위: 400 내지 200nm

[0130]

평균 시간 (min): 0.1

- [0131] 테이트 인터벌(Date Interval) (nm): 1
- [0132] 주사 속도 (nm/min): 600
- [0133] 사이클 카운트: 5
- [0134] 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 방법. LB-140 안정성 샘플들을 분석하기 위해 사용되는 SEC 방법을 Legacy BioDesign에서 개발하였다. LB-140 샘플들의 분석에 대해 사용되는 SEC 방법 파라미터의 간단한 요지는 아래와 같다.
- [0135] 방법 파라미터
- [0136] 컬럼 정보: ACQUITY UPLC BEH200 SEC, 1.7 μ m 컬럼, 4.6 x 150mm
- [0137] 분석 완충제: 50mM 포스페이트, 250mM NaCl, pH 6.8
- [0138] 유속: 0.3mL/min
- [0139] 컬럼 온도: 30°C
- [0140] 검출: 280nm
- [0141] 주입 용적: 2 μ l
- [0142] 샘플 온도: 대략 5°C
- [0143] RP HPLC 방법. RP HPLC 방법이 안정성 지시자(stability indicating)인 것으로 발견하였고, LB-140 안정성 샘플들을 분석하는데 사용하였다. LB-140의 분석에 사용되는 RP 방법 파라미터의 요지는 다음과 같다.
- [0144] 방법 파라미터
- [0145] 컬럼 정보: Poroshell 300SB-C8, 2.1x75mm, 5 μ m
- [0146] 이동상 A: 98%(v/v) H₂O/ 2%(v/v) IPA/0.1%(v/v) TFA
- [0147] 이동상 B: 10%(v/v) H₂O/ 70%(v/v) IPA/20%(v/v) ACN /0.1%(v/v) TFA
- [0148] 유속: 0.25mL/min
- [0149] 컬럼 온도: 80°C
- [0150] 검출: 225nm
- [0151] 주입 용적: 1 μ l
- [0152] 샘플 온도: 약 5°C
- [0153] 실행 시간: 15분
- [0154] 구배:
- | 시간 | % A | % B |
|------|-----|-----|
| 0 | 100 | 0 |
| 10 | 50 | 50 |
| 10.1 | 100 | 0 |
| 15 | 100 | 0 |
- [0155] CE-IEF 분석. 모세관 등전 포커싱(cIEF: Capillary isoelectric focusing)은 벡크먼 콜터(Beckman Coulter)에 의해 발행된 PA 800 플러스 적용 가이드에 기재된 바와 같이 수행하였다. 보다 상세한 설명은 마크(Mack) 등에 의해 발행된 연구 논문에서 발견할 수 있다¹. 모든 분석은, 주위 온도에서 30cm 총 길이(20cm 유효) 중성 모세관(neutral capillary)을 사용하여 작동되는 벡크먼 콜터 P/ACE MDQ 시스템(Beckman Coulter, Inc.; Brea, CA)을 사용하여 수행하였다. 중성 모세관은 가오(Gao) 등에 의해 기재된 방법을 사용하여 폴리(아크릴아미드)를 모세관 벽으로 고정시켜 제조하였다². cIEF 샘플들을 홍미로운 단백질을 0.25mg/ml로 3M 우레아-cIEF 겔 함유 양쪽성 물질(ampholyte), 환원전극 안정제, 산화전극 안정제, 및 pI 마커(marker)의 혼합물과 함께 혼합하여 제조하였다. 샘플을 9.5psi에서 모세관 내로 4.1분 동안 압력 주입하고, 이 시간 후, 25kV의 전압을 15분 동안

분석물과 환원전극액 사이에 인가하여 포커싱하였다. 이러한 단계는 30 kV에서 30분 동안 분석물과 화학적 가동화제(mobilizer) 사이에서 화학적 가동화(mobilization)에 의해 후속된다. pI 마커 및 흥미로운 단백질은 동원 단계 동안 280nm에서 흡광도로 검출되었다. 단백질의 pI는 수득된 pI의 회귀 방정식 대 pI 표준으로부터 수득된 첫번째 피크 모멘트로부터 계산하였다.

[0157]

CE-SDS 분석. CE-SDS에 의한 분석은, IgG 순도/불균질성(heterogeneity)을 측정하기 위해 백크먼-콜터에 의해 발행된 SOP로부터 개조된 방법을 사용하여 감소된 조건하에 수행하였다. 간단히, 항체를 DDI 물로 6mg/ml까지 회석시키고, 샘플 완충제(0.1M Tris/1.0% SDS, pH 8.0)을 첨가하여 변성시키고, 2-머캅토에탄올을 첨가하여 환원시키고; 최종 항체 농도는 1.2mg/ml이었다. 변성 및 환원은 샘플을 70°C에서 10분 동안 가열하여 실행하였다. 샘플을 분석 전에 10분 동안 실온에서 냉각하였다. 원심분리 단계(300g, 5분)를 샘플을 가열하기 전에 그리고 샘플을 냉각한 직후에 사용하였다. CE 분석을, 주위 온도에서 30cm 총 길이(20cm 유효, 50μm i.d.) 모세관을 사용하여 작동하는, 백크먼 콜터 P/ACE MDQ 시스템을 사용하여 수행하였다. 샘플 도입 전에, 모세관을 0.1 M NaOH, 0.1M HCl, DDI 물, 및 SDS-겔 완충제 용액으로 연속적으로 세정하였다. 샘플을 5 kV에서 30초 동안 동전기적으로(electrokinetically) 주입하고, 이어서, 30 kV에서 30분 동안 분리하였다. 주입 및 분리 둘 다에 대해, 장치는 역극성 모드로 작동하였다. 항체 단편을 214nm에서 흡광도(4 Hz 수집) 및 측정된 피크에 대해 기록된 시간-정규화 면적을 사용하여 검출하였다.

[0158]

블록 A 제형 연구

[0159]

블록 A 연구는 상이한 완충 시스템을 시험하였고, 이를 연구를 위해 재처리된 시판되는 아달리무맙 물질을 사용하였다. 본 발명자들은, 미국 특허 제8,216,583호가 pH 5.2에서의 시트레이트/포스페이트 완충 시스템의 사용과 비교하여 아달리무맙 제형의 안정성을 언급하고, 사실상 상기 특허가 이러한 완충제 배합물의 사용을 요구한다는 것을 주목한다. 본 발명자들이 이를 반영하여 수행한 실행은, 시트레이트/포스페이트가 사실상, 다른 것, 예를 들면, 히스티딘 및 석시네이트와 비교하여, 다소 열악한 완충제 선택이라는 것을 나타낸다. 하기 블록 A 연구에서, pH는 5.2에서 일정하게 유지되었다. 만니톨 및 폴리소르베이트 80의 농도도 또한 일정하게 유지되었다. 샘플들을 40°C에서 2주 동안 정지하였다. 연구 설계를 하기 표에 요약한다.

[0160]

표 A

블록 A 연구 설계

제형 번호	API	시트레이트 (mM)	포스페이트 (mM)	석시네이트 (mM)	히스티딘 (mM)	타르트레이트 (mM)	말레이트 (mM)	만니톨 (mM)	PS 80 (%)
1	Humira®	8	18	0	0	0	0	12	0.1
2	Humira®	10	0	0	0	0	0	12	0.1
3	Humira®	0	10	0	0	0	0	12	0.1
4	Humira®	0	0	10	0	0	0	12	0.1
5	Humira®	0	0	0	10	0	0	12	0.1
6	Humira®	0	0	0	0	10	0	12	0.1
7	Humira®	0	0	0	0	0	10	12	0.1

[0161]

SEC에 의한 분석은, 시트레이트 단독을 갖는 제형이 완충제 배합물보다 열악하게 기능함(표 A)을 나타내었고, 이는 포스페이트가 상기 배합물에서 주요한 안정제인 것을 지시한다. 이는, 이러한 pH가 포스페이트의 정상 완충 능력 범위 밖이지만, 시트레이트에 대한 완충 범위 내에 양호하게 있기 때문에, 놀랍고 예상치 못한 것이었다. 더욱이, 석시네이트, 히스티딘, 및 타르트레이트는 시트레이트/포스페이트 배합물만큼 우수하거나 이보다 더 우수하였고, 이는 다른 완충 시스템이 아달리무맙에 대해 동일하거나 우월한 안정성을 제공할 수 있다는 것을 나타낸다. 이에 따라, 본 발명은, 이의 양태들 중 하나에서 장기간 안정성을 나타내는 아달리무맙 제형을 지시하고, 여기서, 시트레이트와 포스페이트의 완충제 배합물은, 히스티딘, 포스페이트, 석시네이트 및 타르트레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 완충제를 위하여 회피된다. 아세테이트는 또한 시트레이트 포스페이트 완충제 배합물에 대한 적합한 대체물이다.

[0163]

이들 저장된 샘플들의 순도를 RP HPLC를 사용하여 체크하였다(도 2). SEC에서와 같이, 시트레이트 제형은 가장 열악한 안정성을 나타내는 반면, 다른 완충제 모두는 시판되는 아달리무맙(Humira®)에서 발견되는 완충제 배합물만큼 우수하거나 이보다 더 우수하였다는 것을 나타내었다. 이들 결과는, 완충제를 변경하는 것(즉, 시판 아달리무맙의 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물을 회피함)이 아달리무맙의 안정성 프로필을 개선시킬 수 있다는 발명자들의 발견을 입증한다.

[0164]

블록 B 제형 연구.

[0165]

두번째 연구("블록 B")를 단지 완충제 종류의 변화를 시험하기 위해 수행하였고, 여기서, "블록 B 연구 설계"로 하기 표지된 표에 개략된 바와 같이, pH(5.2)는 변화되지 않았다. 이러한 경우에, Humira®에 대해 시판되는 제형을 대조군으로서 사용한 반면, 기타 제형 모두는 상표등록된 아달리무맙 바이오시밀러 단백질을 사용하였다. 하기 표 B-1은 블록 B 제형에 대한 백분율 단량체를 요약한다(또한 아달리무맙 단백질의 단편인 분순물의 백분율 양을 측정하였다).

[0166]

표 B

블록 B 연구 설계

제형 번호	API	시트레이트 (mM)	포스페이트 (mM)	석시네이트 (mM)	히스티딘 (mM)	터트트레이트 (mM)	말레이이트 (mM)	만나톨 (mM)	PS 80 (%)
1	Humira®	8	18	0	0	0	0	0	12
2	아달리무맙 바이오시밀러	10	0	0	0	0	0	0	12
3	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	0	0	0	0	12
4	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	10	0	0	0	0	12
5	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	0	0	0	12
6	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	0	10	0	0	12
7	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	0	0	10	10	12

[0167]

[0168]

표 B-1

t0에서 및 40°C에서 2주(t2) 후 블록 B 제형에 대한 백분율 단량체

제형 번호	API	완충액	단량체(t0)	단량체(t2)	단편(t0)	단편(t2)
1	Humira®	시트레이트/포스페이트	99.34		0.26	
2	아달리무맙 바이오시밀러	시트레이트	98.71	97.92	0.62	0.40
3	아달리무맙 바이오시밀러	포스페이트	99.21	98.07	0.05	0.30
4	아달리무맙 바이오시밀러	석시네이트	99.19	98.04	0.04	0.31
5	아달리무맙 바이오시밀러	히스티딘	99.19	98.41	0.07	0.23
6	아달리무맙 바이오시밀러	터트레이트	99.13	98.10	0.04	0.29
7	아달리무맙 바이오시밀러	말레이이트	98.91	97.90	0.36	0.76

[0169]

[0170]

상기 표 B-1로부터 알 수 있는 바와 같이, 2주 동안 40°C에서 저장시, 단량체 함량은, 히스티딘(His) 완충제를 함유하는 것을 제외하고는, 블록 B에서 모든 샘플들에 대해 1% 초과로 감소한다(표 B-1). 이러한 연구로부터 본 발명자들은, His가 아달리무맙에 대한 우월한 완충 시스템일 수 있다는 가능성을 발견하였다. (본 발명자들은, 제형 2에 대해 보고된 SEC로 측정된 단편 수준이, 다른 초기 단편 수준 모두가 0.1% 미만이기 때문에, 부정확하게 나타난다는 것에 주목한다.)

[0171]

블록 C 제형 연구.

[0172]

대규모 제형 선별 연구를 블록 C에서 수행된 연구에서 수행하였다(하기 표 C 참조). 샘플들을 1주 동안 40°C에서(이후에 "t1"로 언급함) 또는 25°C에서 2주 동안(이후에 "t2"로 언급함) 저장하였다. 이를 상태는 본 발명자들의 남은 연구 동안 사용되었고, 따라서, 이러한 전문 용어는 본 발명의 상세한 논의를 통해 사용될 수 있다. 블록 C는 블록 B에서 수행된 완충제 평가를 확장하기 위해 설계되었다. 추가로, 이는 만니톨 및/또는 NaCl 대신에 가능한 안정제로서 글리신(Gly) 및/또는 아르기닌(Arg)을 시험하였다(표 C). Humira® 제품에서 사용된 완충 시스템은, 블록 C의 제형 1의 조성물인 8mM 시트레이트/18mM 포스페이트 완충제를 사용한다는 것을 주의한다. 이러한 경우에, 상표등록된 아달리무맙 바이오시밀러 단백질이, 시판되는 Humira®로부터 수득되는 아달리무맙 단백질 대신에, 블록 C의 제형 1을 위하여 사용되었다.

[0173]

표 C

블록 C 연구 설계

제형 번호	API	시트레이트	포스페이트	석시네이트	히스티딘	글리신	아르기닌	만나톨	NaCl
1	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	0	0	65	100
2	아달리무맙 바이오시밀러	18	8	0	0	0	0	65	100
3	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	0	0	65	100
4	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	0	0	100
5	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	0	0	100
6	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	0	65	0	100
7	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	0	65	0	100
8	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	20	0	65	0	0	100
9	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	20	0	0	65	0	100
10	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	20	65	0	0	100
11	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	20	0	65	0	100
12	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	0	130	0	35
13	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	20	0	0	130	0	35

[0174]

14	아델리무맙 바이오시밀러	0	0	0	20	0	130	0	35
15	아델리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	130	0	0	60
16	아델리무맙 바이오시밀러	0	20	0	20	130	0	0	60

[0175]

[0176]

표 C-1

t0 및 t1 (1 주, 40°C)에서 블록 C 체형에 대한 측정된 pH

체형 번호	시트레이트	포스페이트	석시비아트	히스티딘	글리신	아르기닌	만나톨	NaCl	pH t0	pH t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	5.51	5.57
2	18	8	0	0	0	0	65	100	5.46	5.43
3	20	0	0	0	0	0	65	100	5.28	5.27
4	20	0	0	0	65	0	0	100	5.27	5.24
5	0	20	0	0	65	0	0	100	5.43	5.44
6	20	0	0	0	0	65	0	100	5.29	5.29
7	0	20	0	0	0	65	0	100	5.28	5.32
8	0	0	20	0	65	0	0	100	5.22	5.17
9	0	0	20	0	0	65	0	100	5.19	5.16
10	0	0	0	20	65	0	0	100	5.28	5.30
11	0	0	0	20	0	65	0	100	5.26	5.29
12	0	20	0	0	0	130	0	35	5.24	5.24
13	0	0	20	0	0	130	0	35	5.18	5.16
14	0	0	0	20	0	130	0	35	5.28	5.35
15	0	20	0	0	130	0	0	60	5.31	5.31
16	0	20	0	20	130	0	0	60	5.36	5.40

[0177]

[0178]

표 C-2

**t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서
불특 C에서의 체적률에 대한 SEC에 의한 단량체 험량**

제형 번호	시트레이트	포스페이트	석시네이트	His	Gly	Arg	만나톨	NaCl	t0	t1	t2	
1	8	18	0	0	0	0	65	100	98.75	97.90	98.06	
2	18	8	0	0	0	0	65	100	99.26	98.22	98.80	
3	20	0	0	0	0	0	65	100	99.28	98.32	98.78	
4	20	0	0	0	0	0	0	100	99.36	98.45	99.03	
5	0	20	0	0	65	0	0	100	99.25	98.20	98.77	
6	20	0	0	0	0	65	0	100	99.42	98.68	99.10	
7	0	20	0	0	0	65	0	100	99.39	98.59	99.13	
8	0	0	20	0	65	0	0	100	99.41	98.51	99.04	
9	0	0	0	20	0	0	65	0	100	99.36	98.52	98.96
10	0	0	0	20	65	0	0	100	99.41	98.66	99.15	
11	0	0	0	20	0	65	0	100	99.37	98.70	99.15	
12	0	20	0	0	0	130	0	35	99.41	98.66	99.14	
13	0	0	20	0	0	130	0	35	99.42	98.71	99.17	
14	0	0	0	20	0	130	0	35	99.40	98.75	99.26	
15	0	20	0	0	0	130	0	60	99.32	98.53	99.05	
16	0	20	0	20	130	0	0	60	99.40	98.66	99.19	

[0179]

[0180]

표 C-3

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서
블록 C에서의 제형에 대한 RP HPLC에 의한 펩타이드 순도

제형 번호	시트레이트	포스페이트	석시네이트	His	Gly	Arg	만나톨	NaCl	t0	t1	t2	
1	8	18	0	0	0	0	65	100	98.04	97.92	98.10	
2	18	8	0	0	0	0	65	100	97.94	97.83	98.03	
3	20	0	0	0	0	0	65	100	98.03	97.92	98.00	
4	20	0	0	0	65	0	0	100	97.94	97.75	97.98	
5	0	20	0	0	65	0	0	100	97.98	97.69	97.95	
6	20	0	0	0	0	65	0	100	97.89	97.72	97.92	
7	0	20	0	0	0	65	0	100	97.80	97.70	97.91	
8	0	0	20	0	65	0	0	100	97.98	97.77	98.01	
9	0	0	0	20	0	0	65	0	100	97.98	97.73	97.94
10	0	0	0	20	65	0	0	100	97.98	97.76	98.00	
11	0	0	0	20	0	65	0	100	97.87	97.78	97.97	
12	0	20	0	0	0	130	0	35	97.88	97.71	97.95	
13	0	0	20	0	0	130	0	35	97.95	97.62	97.93	
14	0	0	0	20	0	130	0	35	97.98	97.72	98.04	
15	0	20	0	0	130	0	0	60	97.91	97.72	97.96	
16	0	20	0	20	130	0	0	60	98.00	97.79	97.78	

[0181]

[0182]

표 C-4

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서

블록 C에서의 제형의 cIEF 프로필에서 나타난 주요 대역의 백분율

제형 번호	pH	t0	t1	t2
1	8.59	1.94	1.97	1.82
	8.43	11.76	11.30	12.49
	8.27	58.29	49.88	51.54
	8.20		7.18	7.59
	8.05	21.49	22.38	19.79
	7.86	6.53	5.35	4.66
	2	8.60	1.96	1.84
2	8.44	12.08		10.89
	8.29	51.70		47.63
	8.22	9.74		12.32
	8.09	16.29		18.25
	7.91	3.50		3.64
	3	8.60	1.83	1.12
3	8.43	11.58	9.67	10.40
	8.27	45.80	32.99	44.04
	8.20	12.44	22.27	18.68
	8.01	17.57	16.21	14.40
	7.86	4.39		3.61
	4	8.57	2.31	2.04
4	8.41	12.94	11.51	12.62
	8.25	33.37	59.98	61.97
	8.20	23.03		
	8.02	15.21	18.33	16.07
	7.88	3.45	5.32	3.70
	5	8.58	2.40	2.00
5	8.41	13.01	11.02	12.34
	8.25	42.09	46.32	37.30
	8.21	15.58	10.65	15.80
	8.03	18.48	20.58	16.80
	7.86	3.74	6.13	4.83
	6	8.57		2.83
6	8.38	13.17		13.23
	8.23	32.66		31.18
	8.18	17.52		18.54
	8.02	17.48		13.82
	7.91	5.30		5.83
	7	8.58	2.08	2.41
7	8.44	13.42	12.64	12.63
	8.27	56.79	52.48	54.76

[0183]

	8.16	5.36	6.16	6.38
	8.04	16.91	20.09	18.45
	7.94	5.44	4.12	5.15
8	8.57	1.76	2.37	1.55
	8.44	14.41	12.13	11.61
	8.29	60.01	48.87	52.94
	8.19		7.07	10.66
	8.10	16.22	16.55	17.10
	7.95	7.61	5.02	4.55
9	8.58	2.19	2.06	0.99
	8.41	11.69	10.64	12.73
	8.26	50.07	44.21	60.33
	8.19	10.66	10.39	
	8.01	15.62	21.51	17.79
	7.87	4.67	5.37	8.16
10	8.57	1.78	2.64	1.62
	8.41	10.55	10.95	8.11
	8.25	43.82	42.93	36.11
	8.21	15.96	15.24	17.66
	8.02	14.63	14.58	14.22
	7.88	3.82	4.21	3.95
11	8.58	1.59	1.81	1.89
	8.41	12.98	11.58	12.86
	8.23	62.74	29.63	12.00
	8.19		22.86	34.77
	8.02	17.15	19.52	17.06
	7.87	5.54	5.56	4.77
12	8.61	0.35	1.57	1.47
	8.35	13.24	13.41	8.83
	8.19	43.18	60.12	26.52
	8.15	15.43	20.46	25.60
	7.98	16.74		17.38
	7.88	4.96	4.44	4.99
13	8.58	1.71		1.67
	8.41	11.63		10.01
	8.26	49.19		42.65
	8.20	14.25		16.64
	8.03	17.35		18.12
	7.86	4.28		4.18
14	8.56	1.64	1.79	1.73
	8.39	13.17	10.45	10.96
	8.25	58.68	46.06	45.60
	8.21		11.03	13.34
	8.07	14.10	20.24	14.50
	7.92	2.10	5.13	4.28
15	8.57	1.74	1.22	1.60
	8.41	10.49	15.21	10.78
	8.25	46.06	55.05	44.98

	8.20	14.46		13.79
	8.02	13.90	20.31	10.79
	7.89	4.23	4.90	3.43
16	8.56	1.96	1.08	
	8.40	9.25	12.23	12.58
	8.24	38.08	31.03	58.61
	8.20	19.02	22.08	21.50
	8.03	12.00	13.24	7.31
	7.89	4.73	4.82	

[0184]

[0185]

[0186]

표 C-5

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서

블록 C에서의 제형에 대한

경쇄 (LC), 중쇄 (HC), 비-당화된 HC, 및 기타 종에 대한 대역의 백분율

제형 번호	시간	LC	HC	ngHC	기타
1	t0	35.87	63.20	0.51	0.42
	t1	29.71	63.08	0.37	6.84
	t2	31.01	67.83	0.54	0.61
2	t0	29.50	69.57	0.56	0.37
	t1	30.51	67.28	0.56	1.65
	t2	32.32	65.51	0.56	1.61
3	t0	32.53	66.45	0.54	0.47
	t1	33.04	65.34	0.55	1.07
	t2	31.94	66.60	0.57	0.90
4	t0	33.40	64.90	0.46	1.24
	t1	30.96	67.16	0.52	1.36
	t2	32.08	65.84	0.56	1.52
5	t0	34.17	63.89	0.49	1.45
	t1	33.60	64.27	0.56	1.57
	t2	32.15	66.20	0.48	1.17
6	t0	37.91	60.35	0.54	1.19
	t1	34.80	62.88	0.73	1.59
	t2	32.90	65.62	0.50	0.99
7	t0	32.17	66.80	0.55	0.49
	t1	29.83	68.33	0.59	1.25
	t2	33.32	65.97	0.55	0.15
8	t0	33.83	65.51	0.49	0.17
	t1	30.37	68.48	0.58	0.57
	t2	32.86	66.40	0.55	0.19
9	t0	30.69	69.31	0.00	0.00
	t1	34.30	64.24	0.52	0.94
	t2	29.08	69.87	0.62	0.43
10	t0	38.68	59.95	0.57	0.80
	t1	36.52	58.65	0.00	4.83
	t2	43.68	54.39	1.92	0.00
11	t0	35.25	59.00	1.75	4.00
	t1	30.71	67.58	0.66	1.05
	t2	30.18	67.14	0.47	2.21
13	t0	44.58	55.42	0.00	0.00
	t1	37.73	60.75	0.25	1.28
	t2	38.05	61.44	0.52	0.00
14	t0	32.50	66.66	0.60	0.24
	t1	30.91	67.77	0.61	0.70

[0187]

	t2	29.14	70.32	0.23	0.31
15	t0	30.07	68.95	0.63	0.35
	t1	30.14	68.49	0.62	0.75
	t2	31.57	67.55	0.62	0.26
16	t0	30.54	68.61	0.63	0.22
	t1	29.81	68.81	0.63	0.75
	t2	29.46	69.14	0.59	0.81

[0188]

블록 C 결과의 논의

[0189]

상기 표 C-1과 관련하여, pH를 측정하였고, 모든 제형에 대해 비교적 안정하다는 것을 발견하였다. 그러나, 초기 pH 값은 시트레이트/포스페이트 제형의 경우 약간 더 높다. SEC 분석에 의한 최소로 안정한 제형은 제형 1인 것으로 나타나고, 이는 Humira® 완충 시스템을 사용한다. 그에 비해, 본 발명자들은, 완충제로서 His를 사용하는 제형 및/또는 Gly 또는 Arg를 함유하는 제형이 가장 큰 안정성을 나타내는 것을 발견하였다(표 C-2 참조). 유사한 경향이 RP HPLC에 의한 순도를 고려하는 경우 나타난다(표 C-3 참조). 전체적으로 볼 때, RP HPLC 방법이 안정성-지시자인 것으로 나타나지만, SEC가 RP HPLC보다 더 우수한 안정성-지시 방법일 수 있다는 것을 나타낸다. 상기 요약된 블록 C 데이터에 기초하여, 본 발명자들은, 히스티딘이 제형 안정성에 관련하여 바람직한 완충제로서 적합하고, 글리신 또는 아르기닌, 또는 이들의 배합물이 또한 아달리무맙 제형에 포함시키기 위한 안정성 개선 성분인 것을 발견하였다.

[0191]

저장된 샘플들을 cIEF에 의해 t1 및 t2에서 추가로 분석하였다(상기 표 C-4). 상표등록된 아달리무맙 물질은 1% 정도를 초과하는 통합 강도들(integrated intensities)을 갖는 4 내지 5개의 피크를 나타낸다. 일반적으로, 저장시 주요 피크의 강도의 약간의 소폭 감소가 있다. 이를 손실은 보통 t2에서보다 t1에서 크다. 여전히, 유의한 새로운 피크는 관찰되지 않고, 이는 단백질의 총 전하의 변화를 야기할 수 있는 화학적 분해 발생이 아주 적음을 시사한다. 데이터에서 분산은, 이러한 방법이, 특성규명에 유용하지만, 안정성-지시를 나타내지 않음을 보여준다.

[0192]

아달리무맙 제형의 안정성을 평가하는데 사용되는 최종 분석 방법은 CE-SDS이고, 이는 본질적으로 SDS-PAGE 평판 겔의 CE 버전이다. 이러한 방법은, LC 피크의 상대적 면적이 승온에서 저장되는 경우 감소하는 반면(표 C-5), 새로운 피크의 양(점증적으로 '기타(Other)'로 언급됨)이 증가된다는 것을 나타낸다. 전적으로, 이들 변화는 보통, 제형 중 어느 것에 대해 2% 미만이다. '기타'의 백분율이 4 내지 6% 범위인 몇몇 샘플들이 존재하지만, 이들은 인공물(artifacts)인 것 같다.

[0193]

블록 D 제형 연구

[0194]

또다른 세트의 제형을 "블록 D"로서 평가하였다. 16개의 제형을, 만니톨에 대한 대안물(예를 들면, 소르비톨 및 트레할로스)로서 다른 안정제를 평가하기 위해 설계하였다(표 D 참조). 블록 D는 또한 만니톨 또는 NaCl을 단독 등장화제(tonicity agent)로서 사용하여(상기 2개의 부형제의 혼합물을 사용하는 대신에) 시험하였다. 실제 초기 pH 값이 몇몇 제형의 경우 목표 pH 보다 약간 낮지만, 제형의 pH 안정성은 폐 우수하였다(표 D-1).

[0195]

표 D

블록 D 연구 설계

제형 번호	API	시트레이트	포스페이트	소르비톨	트레하로스	만니톨	NaCl	PS 80
1	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0.1
2	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0
3	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0.1
4	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0
5	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0.1
6	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0
7	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	65	0	0	100	0.1
8	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	65	0	100	0.1
9	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	65	0	0	100	0.1
10	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	0	240	0	0.1
11	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	240	0	0	0	0.1
12	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	240	0	0	0.1

[0196]

13	아달리무 ^부 바이오시밀러	10	0	0	0	0	150	0.1
14	아달리무 ^부 바이오시밀러	10	0	0	0	0	150	0
15	아달리무 ^부 바이오시밀러	0	10	0	0	0	150	0.1
16	아달리무 ^부 바이오시밀러	0	10	0	0	0	150	0

[0197]

[0198] **표 D-1**

t0 및 t1 (1 주, 40 °C)에서 볼류 D 체계에 대한 측정된 pH

체계 번호	API	시트레이트	포스페이트	소르비톨	트레할로스	만니톨	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0.1	5.09	5.17	5.12
2	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0	5.12	5.16	5.16
3	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0.1	5.11	5.16	5.14
4	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0	5.13	5.17	5.18
5	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0.1	5.19	5.25	5.24
6	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0	5.16	5.24	5.17
7	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	65	0	0	100	0.1	5.14	5.17	5.18
8	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	65	0	100	0.1	5.15	5.21	5.16
9	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	65	0	0	100	0.1	5.19	5.29	5.28
10	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	0	240	0	0.1	5.23	5.28	5.27
11	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	240	0	0	0	0.1	5.45	5.35	5.33
12	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	240	0	0	0.1	5.44	5.32	5.31

[0199]

13	아달리무밥 바이오시밀러	10	0	0	0	0	0	150	0.1	5.30	5.25	5.23
14	아달리무밥 바이오시밀러	10	0	0	0	0	0	150	0	5.39	5.20	5.18
15	아달리무밥 바이오시밀러	0	10	0	0	0	0	150	0.1	5.35	5.30	5.22
16	아달리무밥 바이오시밀러	0	10	0	0	0	0	150	0	5.41	5.33	5.28

[0200]

[0201]

표 D-2

t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서
블록 D에서의 재형에 대한 SEC에 의한 단량체 함량

재형 번호	API	시트레이트	포스페이트	소르비톨	트레할로스	만나톨	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	아탈리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0.1	99.28	98.21	98.96
2	아탈리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0	99.25	98.11	98.85
3	아탈리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0.1	99.25	98.16	98.86
4	아탈리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0	99.27	98.26	98.92
5	아탈리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0.1	99.24	98.16	98.84
6	아탈리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0	99.21	98.23	98.82
7	아탈리무맙 바이오시밀러	8	18	65	0	0	100	0.1	99.30	98.19	98.94
8	아탈리무맙 바이오시밀러	8	18	0	65	0	100	0.1	99.28	98.14	98.85
9	아탈리무맙 바이오시밀러	0	20	65	0	0	100	0.1	99.29	98.23	98.90
10	아탈리무맙 바이오시밀러	0	10	0	0	240	0	0.1	97.93	98.54	-
11	아탈리무맙 바이오시밀러	0	10	240	0	0	0	0.1	99.32	98.65	99.00
12	아탈리무맙 바이오시밀러	0	10	0	240	0	0	0.1	99.32	98.53	98.96

[0202]

13	아달리무맙 바이오시밀러	10	0	0	0	0	0	150	0.1	99.29	98.12	98.84
14	아달리무맙 바이오시밀러	10	0	0	0	0	0	150	0	99.28	98.28	98.90
15	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	0	0	0	150	0.1	99.26	97.99	98.83
16	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	0	0	0	150	0	99.20	97.76	98.62

[0203]

[0204]

제 D-3

**t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서
불록 D에서의 체형에 대한 RP HPLC에 의한 백분율 순도**

체형 번호	API	시트레이트	포스페이트	소르비톨	트레히로스	만니톨	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0.1	98.17	97.75	98.02
2	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	65	100	0	98.09	97.84	98.08
3	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0.1	98.03	97.81	98.19
4	아달리무맙 바이오시밀러	20	0	0	0	65	100	0	98.17	97.85	98.06
5	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0.1	98.11	97.88	98.18
6	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	0	0	65	100	0	98.21	97.77	98.10
7	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	65	0	0	100	0.1	98.11	97.80	98.14
8	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	65	0	100	0.1	98.06	97.73	98.03
9	아달리무맙 바이오시밀러	0	20	65	0	0	100	0.1	98.09	97.80	98.07
10	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	0	240	0	0.1	98.13	97.82	98.08
11	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	240	0	0	0	0.1	98.10	97.90	98.06
12	아달리무맙 바이오시밀러	0	10	0	240	0	0	0.1	98.13	97.95	98.14

[0205]

13	아달리무밥 바이오시밀러	10	0	0	0	0	0	150	0.1	98.07	97.79	98.02
14	아달리무밥 바이오시밀러	10	0	0	0	0	0	150	0	98.13	97.78	98.14
15	아달리무밥 바이오시밀러	0	10	0	0	0	0	150	0.1	98.17	97.80	98.10
16	아달리무밥 바이오시밀러	0	10	0	0	0	0	150	0	98.14	97.79	98.06

[0206]

[0207]

표 D-4

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서

블록 D에서의 제형의 cIEF 프로필에서 나타난 주요 대역의 백분율

제형 번호	pH	t0	t1	t2
1	8.56	2.26		1.81
	8.41	13.84	12.88	11.73
	8.25	62.27	59.80	56.15
	8.14			6.48
	8.04	15.71	22.93	13.73
	7.99	5.92	4.39	4.13
2	8.55	2.08		1.58
	8.40	12.89		12.58
	8.24	60.15		53.24
	8.14	5.98		6.69
	8.03	11.92		9.72
	7.98	3.65		5.67
3	8.57	1.58	2.10	1.89
	8.41	11.87	11.83	11.99
	8.26	54.93	54.45	54.51
	8.16	9.10	6.31	8.24
	8.05	9.21	11.16	10.22
	7.91	7.60	4.16	5.26
4	8.57	3.57	1.82	1.05
	8.40	11.12	10.66	10.83
	8.24	49.37	47.85	42.34
	8.14	3.01	1.83	3.68
	8.03	10.11	10.06	17.12
	7.90	2.78	4.72	3.84
5	8.55	2.30	2.18	2.13
	8.40	7.63	8.86	8.63
	8.25	33.90	14.41	16.64
	8.20	23.41	33.90	33.75
	8.03	10.14	20.39	19.42
	7.99	6.76	5.42	4.63
6	8.59	1.87		1.39
	8.42	11.25	11.18	11.89
	8.27	50.07	61.72	64.17
	8.20	12.43	22.08	19.18
	8.03	10.20		
	7.91	2.70	5.01	3.38
7	8.55			
	8.40			
	8.25			
	8.20			

[0208]

	8.03			
	7.99			
8	8.59	1.46	2.64	1.16
	8.39	13.52	13.62	7.37
	8.22	60.79	50.83	55.40
	8.08	5.21	11.28	9.78
	8.02	15.24	8.55	11.94
	7.91	3.79	3.02	5.18
9	8.53	2.64	3.25	1.94
	8.38	13.83	12.72	11.67
	8.25	64.97	51.32	54.14
	8.17	8.33	11.21	8.61
	8.06	11.75	9.98	9.03
	8.01	5.79	4.80	7.31
10	8.54	1.78	3.26	
	8.38	13.04	11.19	
	8.21	60.53	44.83	
	8.15	19.60	10.95	
	7.99		9.41	
	7.90	5.05	4.27	
11	8.52	1.95	2.11	1.89
	8.36	11.24	12.43	12.43
	8.21	48.64	54.10	59.90
	8.13	11.69		6.31
	8.00	10.30	21.14	11.14
	8.01	5.27	5.64	8.32
12	8.51	1.85		
	8.29	11.31	11.38	
	8.18	63.11	45.14	
	8.14	2.54		
	8.05	16.16	22.03	
	7.94	5.03	6.88	
13	8.62	3.51		3.05
	8.44	12.44		12.30
	8.29	65.10		51.44
	8.21			12.18
	8.06	15.37		17.25
	7.91	3.58		3.77
14	8.61		2.74	1.73
	8.43		10.60	12.19
	8.27		46.23	41.11
	8.21		13.97	10.49
	8.05		18.56	17.52
	7.91		5.15	
15	8.62			
	8.35	12.40	10.91	8.34
	8.21	31.87	30.32	36.39
	8.20	41.14	25.57	30.62

	8.02	12.42	13.72	18.26
	7.89	2.18	5.44	3.86
16	8.61			
	8.48	12.96	12.86	13.19
	8.34	34.40	31.45	39.25
	8.31	27.74	20.29	18.81
	8.05		22.76	19.35
	7.89	8.17	7.69	4.83

[0209]

[0210]

[0211]

표 D-5

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서

블록 D에서의 제형에 대한

경쇄 (LC), 증쇄 (HC), 비-당화된 HC, 및 기타 종에 대한 대역의 백분율

제형 번호	시간	LC	HC	ngHC	기타
1	t0				
	t1	34.11	62.58	0.58	2.73
	t2	33.19	64.28	0.60	1.92
2	t0	30.25	66.81	0.64	2.31
	t1	30.61	65.79	0.54	3.07
	t2	29.22	67.04	0.64	3.10
3	t0	27.48	68.51	0.59	3.42
	t1	30.84	67.27	0.54	1.35
	t2	30.30	68.13	0.58	0.99
4	t0	30.88	68.33	0.60	0.19
	t1	29.76	68.32	0.57	1.34
	t2	31.49	66.95	0.55	1.01
5	t0	33.77	64.50	0.56	1.17
	t1	31.59	66.54	0.52	1.34
	t2	29.19	69.16	0.59	1.06
6	t0	30.90	68.08	0.56	0.47
	t1	29.32	69.88	0.54	0.26
	t2	31.08	67.58	0.54	0.79
7	t0	30.41	68.60	0.56	0.43
	t1	30.87	66.95	0.55	1.63
	t2	30.14	68.28	0.55	1.03
8	t0	31.68	67.41	0.60	0.31
	t1				
	t2				
9	t0	29.62	68.12	0.51	1.75
	t1				
	t2	29.46	68.10	0.61	1.83
10	t0	29.80	67.99	0.58	1.64
	t1	30.04	65.53	0.45	3.98
	t2	30.41	66.27	0.53	2.80
11	t0	29.85	67.63	0.61	1.91
	t1	29.02	68.18	0.60	2.20
	t2	30.44	67.14	0.58	1.84
12	t0	29.38	68.11	0.55	1.96
	t1	30.16	65.55	0.49	3.80
	t2	28.20	69.19	0.59	2.02
13	t0	31.38	66.28	0.55	1.79
	t1	33.67	64.10	0.56	1.67
	t2	29.72	67.99	0.58	1.71
14	t0	37.34	60.53	0.52	1.62
	t1	33.03	63.46	0.53	2.97
	t2	34.39	63.62	0.54	1.45
15	t0	30.20	68.42	0.59	0.79
	t1	28.67	69.42	0.58	1.33
	t2	29.96	68.24	0.56	1.24
16	t0	31.62	66.95	0.58	0.85
	t1	30.48	66.36	0.55	2.61
	t2	27.94	70.17	0.60	1.29

[0212]

블록 D의 결과

[0213]

pH 안정성은 이들 제형에 대해 평 우수하였다(표 D-1). 다시 한번, 시판 아달리무맙(Humira®) 제형을 대조군으로서 사용하였다(그러나, API로서 상표등록된 아달리무맙 바이오시밀러 단백질을 사용함). 시판 제형은 다시, SEC에 의해, 포스페이트 및 His와 같은 단일 완충제를 사용하는 것들보다, 더 열악한 안정성을 나타내었다(표 D-2 참조). Humira®에서 사용된 2개의 완충제 중에서, 본 발명자들은, 본 발명에 이르러, 포스페이트가 더 우수한 안정제라는 것을 발견하였다. 이는, 포스페이트가 사실상 pH 5.2에서 완충 능력이 없는 반면, 시트레이트 완충제는 이러한 pH에서 완충 능력이 양호하기 때문에 놀랍다. 이는 안정성 프로필에서 차이가, 완충제의 단백질과의 직접적인 상호작용으로 인해, 시판 Humira® 제형의 경우, 본 발명자들이 고려할 때, 이전에 이해하거나 인지하지 못했던 현상일 수 있다는 것을 시사한다. 이에 따라, 아달리무맙 제형 중 완충제로서 포스페이트를 선택하는 것의 상대적인 이점은, 시트레이트/포스페이트 배합물의 선택과 비교하여 제형에서의 우월한 안정성 때문에, 본 발명의 중요한 측면들 중 하나를 구성한다.

[0215]

소르비톨 및 트레할로스 둘 다는, 이들 제형 중 단독 등장화제로서 사용되는 경우, 만니톨보다 더 우수한 안정성 프로필을 나타낸다. 또한, 폴리소르베이트 80(PS 80)의 제거는 안정성을 다소 감소시키는 것으로 나타난다. SEC에 의한 최상의 안정성 프로필은, 높은 농도의 소르비톨 또는 트레할로스를 만니톨/NaCl 대신에 함유하는 제형 10 및 11의 경우인 것으로 나타난다(표 D-2). 이들 결과는 본 본 발명자들에게, 제형으로부터 NaCl를 제거하는 것, 또는 이의 농도를 특정한 목적하는 수준 아래(예를 들면, 약 100mM 미만)로 제한하는 것이, 안정성에

유리할 수 있다는 것을 나타낸다. (본 발명자들은, 만니톨이 그러나 바람직하게는 150 초과, 및 가장 바람직하게는 수준에서 안정성 성분인 것으로 나타난다는 것에 주목한다.)

[0216] RP 데이터는, 시트레이트 또는 포스페이트 중 어느 것이 Humira®에서 사용된 배합물보다 더 우수한 안정성을 제공한다는 것을 나타낸다(표 D-3). 다시, 시트레이트/포스페이트 배합물의 회피는 본 발명의 중요한 특징을 나타낸다. 시트레이트 단독, 또는 포스페이트 단독은 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 포함하는 시판 완충시스템보다 더 우수한 제형 안정성을 제공할 수 있다는 것은 공지되어 있지 않거나 예상할 수 없었다.

[0217] cIEF 분석은 블록 D 샘플들에 대한 수행이었다(상기 표 D-4). 앞서와 같이, 주요 피크의 강도의 소폭 감소가 존재하지만, 어떠한 새로운 피크도 관찰되지 않는다. 몇몇의 경우, 보다 산성 피크의 강도의 소폭 증가가 있다. 주요 피크의 감소는 t2에서보다 t1에서 더 큰 것으로 나타나고, 이는 5°C에서의 분해가 거의 감지할 수 없다는 것을 시사한다. 여전히, 전반적으로 5% 미만(및 아마도 5% 훨씬 미만)이 cIEF에 의해 측정된 바와 같이 분해되는 것 같다(표 D-4). 또한, 약간의 분해가 CE-SDS에 의해 나타난다(표 D-5). 기껏해야 2 내지 4% 분해가 나타나지만, 상기 방법의 변동성은, 이들이 실제 변화인지 아닌지를 결정하는 것을 어렵게 만든다. 제형 1 및 2 및 10 내지 14의 경우 더 높은 불순물 수준(기타)인 것으로 나타난다.

블록 E 제형 연구

[0219] 제형의 이러한 블록은 상이한 pH 수준에서 제형의 안정성을 평가하기 위해 설계되었다. 완충제가 명시되지 않는 경우, 아세테이트 완충제(10mM)을 사용하였다(표 E). 이차적인 목적은, Gly 및 Arg를 더 높은 농도에서 그리고 만니톨 및 NaCl에 대한 대안적인 안정제로서 배합하여 평가하는 것이다.

표 E

제형 번호	API	pH	시트레이트	포스페이트	소르비톨	Gly	Arg	만니톨	NaCl	PS 80
1	아달리무맙 비아이오시밀러	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1
2	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1
3	아달리무맙 비아이오시밀러	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1
4	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1
5	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1
6	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	0	0	0	0	0	130	0	0
7	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	0	0	0	0	0	130	0	0
8	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	0	0	0	0	0	240	0	0
9	아달리무맙 비아이오시밀러	5.2	0	0	0	0	0	240	0	0
10	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	0	0	0	0	0	100	0	0
11	아달리무맙 비아이오시밀러	5.2	0	0	0	0	0	100	0	0
12	아달리무맙 비아이오시밀러	3.5	0	0	0	0	0	150	50	0

[0221]

[0222]

E-1

t0 및 t1 (1 주, 40°C)에서 불투 E 재료에 대한 측정된 pH

재료 번호	pH	시트레이트	포스페이트	소르비톨	Gly	Arg	만나톨	NaCl 80	PS	t0	t1	t2
1	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	5.15	5.11	5.21
2	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1	3.36	3.49	3.50
3	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1	5.13	5.24	5.24
4	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1	3.31	3.43	3.45
5	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1	3.30	3.48	3.42
6	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0.1	3.24	3.52	3.42
7	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0	3.27	3.59	3.48
8	3.5	0	0	0	240	0	0	0	0	3.27	3.33	3.39
9	5.2	0	0	0	240	0	0	0	0	5.05	5.25	5.20
10	3.5	0	0	0	100	100	0	0	0	3.30	3.45	3.41
11	5.2	0	0	0	100	100	0	0	0	5.20	5.38	5.39
12	3.5	0	0	0	150	50	0	0	0	3.24	3.38	3.37

[0223]

[0224]

E-2

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서

블록 E에서의 계통에 대한 SEC에 의한 단량체 함량

제형 번호	pH	시트레이트	포스페이트	소르비톨	Gly	Arg	만니톨	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	99.23	98.20	98.85
2	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1	98.82	44.15	86.37
3	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1	99.30	98.37	99.02
4	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1	95.85	33.51	76.21
5	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1	97.37	26.21	77.80
6	3.5	0	0	0	0	0	130	0	0	0.1	97.79	35.67
7	3.5	0	0	0	0	0	130	0	0	0	99.00	55.51
8	3.5	0	0	0	240	0	0	0	0	0	99.24	75.60
9	5.2	0	0	0	240	0	0	0	0	0	99.08	98.63
10	3.5	0	0	0	100	100	0	0	0	0	99.28	51.03
11	5.2	0	0	0	100	100	0	0	0	0	99.32	98.54
12	3.5	0	0	0	150	50	0	0	0	0	99.29	45.86
												93.06

[0225]

[0226]

E-3

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서
블록 E에서의 체형에 대한 RP HPLC에 의한 펩타민 순도

체형 번호	pH	시트레이트	포스페이트	소르비톨	Gly	Arg	만나톨	NaCl	PS 80	t0	t1	t2
1	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	98.58	96.88	96.91
2	3.5	8	18	0	0	0	65	100	0.1	98.51	90.29	95.99
3	5.2	0	0	0	0	0	65	100	0.1	98.50	96.90	96.83
4	3.5	0	0	0	0	0	65	100	0.1	98.56	91.18	95.55
5	3.5	0	0	65	0	0	0	100	0.1	98.45	90.96	95.71
6	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0.1	98.71	93.28	95.38
7	3.5	0	0	0	0	130	0	0	0	98.40	90.65	96.54
8	3.5	0	0	0	240	0	0	0	0	98.03	93.94	96.82
9	5.2	0	0	0	240	0	0	0	0	98.23	97.19	97.12
10	3.5	0	0	0	100	100	0	0	0	98.13	91.10	96.67
11	5.2	0	0	0	100	100	0	0	0	98.13	97.17	97.12
12	3.5	0	0	0	150	50	0	0	0	98.07	93.40	96.48

[0227]

[0228]

표 E-4

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서

블록 E에서의 제형에 대한

경쇄 (LC), 중쇄 (HC), 비-당화된 HC, 및 기타 종에 대한 대역의 백분율

제형 번호	시간	LC	HC	ngHC	기타
1	t0	29.97	68.80	0.59	0.64
	t1	28.49	70.07	0.60	0.81
	t2	28.21	70.29	0.59	0.90
2	t0	28.50	68.67	0.52	2.31
	t1	29.69	50.92	0.30	19.09
	t2	28.76	69.64	0.60	1.00
3	t0	24.30	74.01	0.60	1.09
	t1	28.27	69.63	0.60	1.51
	t2	28.17	69.89	0.54	1.40
4	t0	29.45	68.73	0.56	1.26
	t1	29.52	51.33	0.30	18.86
	t2	27.92	65.73	0.52	5.83
5	t0	35.59	63.85	0.56	0.00
	t1	32.47	48.72	0.30	18.52
	t2	34.98	60.88	0.46	3.68
6	t0	34.33	63.39	0.51	1.77
	t1				
	t2	35.32	61.31	0.45	2.92
7	t0	30.13	68.87	0.60	0.40
	t1	28.13	54.79	0.59	16.49
	t2	34.39	63.32	0.53	1.76
8	t0	33.27	64.97	0.55	1.21
	t1	33.20	52.62	0.33	13.85
	t2	33.25	65.26	0.58	0.92
9	t0	32.28	66.34	0.57	0.81
	t1	31.81	65.76	0.57	1.86
	t2	31.23	66.81	0.57	1.39
10	t0	35.66	63.36	0.43	0.56
	t1	24.96	58.61	0.33	16.10
	t2	33.44	66.03	0.53	0.00
11	t0	29.75	69.08	0.60	0.57
	t1	27.67	70.83	0.61	0.89
	t2	28.81	69.86	0.59	0.73
12	t0	30.23	49.07	0.26	20.44
	t1	28.14	70.11	0.58	1.18
	t2	29.75	69.08	0.60	0.57

[0229]

[0230]

표 E-5

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서

블록 E에서의 제형에 대한

cIEF 프로필에서 나타난 주요 대역의 백분율

제형 번호	pH	t0	t1	t2
1	8.56			
	8.37		12.52	12.65
	8.23		51.77	50.04
	8.14			
	8.03		21.54	12.40
	7.93		14.17	16.26
			1.88	1.49
2	8.37	10.07	17.66	14.15
	8.21	37.52	32.26	33.88
	8.13	19.03	9.96	
	8.01	16.57		28.70
	7.93	4.12	7.45	
4	8.54	1.04	2.67	
	8.38	10.50	9.32	
	8.21	68.34	31.91	
	8.13		28.52	
	8.02	16.55	10.05	
	7.88	3.57	8.67	
5				
6				
7				
8				

[0231]

9	8.60	1.40	2.60	3.26
	8.43	10.04	12.33	12.03
	8.26	62.39	63.19	63.89
	8.14			
	8.03	15.00	16.95	16.57
	7.88	7.08	4.93	4.25

[0232]

블록 E 연구의 결과

[0233]

pH 안정성은 보통이고, pH 증가가 t1에서 다수의 제형에서, 특히 낮은 pH에서 아세테이트로 완충된 것들에서 일어났다(상기 표 E-1). 샘플들 중 2개(제형 6 및 12)는 t1에서 겔화되었다.

[0234]

pH 3.5 샘플들에서 단량체 함량의 상당히 큰 손실이 있지만(표 E-3), 반면 pH 5.2 샘플들은 이전 블록에서 나타낸 것들과 비슷한 안정성을 나타내었다. 시간 기간의 2배 동안 저장함에도 불구하고, 분해는 25°C에서보다 40°C에서 훨씬 더 확인하였다는 것이 또한 명백하였다. 사실상, 제형 8은 t2에서 1% 미만의 단량체를 손실하였다(표 E-2). Gly 및 Arg 제형 모두는 우수한 안정성을 나타내었고, 단, pH는 5.2로 유지되었다. 이러한 연구의 블록에서의 데이터는, 글리신 또는 아르기닌, 또는 이의 혼합물이 아달리무맙 제형에서 우수한 안정제라고 하는

본 발명자들의 발견을 확인해 준다.

[0236] RP HPLC 데이터는, 결코 SEC에 의한 단량체 순실의 경우 만큼 크지는 않지만, 순도의 대폭 감소를 나타낸다(표 E-3). 이는 화학적 탈안정성이 물리적 탈안정성 보다 적다는 것을 시사한다. SEC 결과에서와 같이, 안정성의 순상은 t₂에서보다 t₁에서 보다 확연하다.

[0237] CE-SDS 결과는 신규 피크의 대폭 증가를 나타내고, 기타 범주는 t₁에서 낮은 pH 샘플들에 대해 15 내지 20%까지 증가한다(표 E-4). CE-SDS에 의해 가장 안정한 제형은 제형 11인 것으로 나타나고, 이는 Gly 및 Arg 둘 다를 등장성 변형제(tonicity modifier)/안정제로서 함유한다.

[0238] 본 발명자들은, 블록 E 샘플들 중 다수에 대해 cIEF를 수행하는데 곤란을 당하였다. 그러나, pH 3.5에서 명백하게 열등한 안정성을 제공하는 경우, cIEF가 안정성 프로필에 대한 어떠한 신규한 정보도 제공할 수 없는 것 같다. 예를 들면, 제형 4(pH 3.5)는 t₁에서 주요 피크의 스플릿팅(splitting)을 나타낸다.

블록 F 제형 연구

[0240] 블록 F 연구는 단독 장성 변형제로서 만니톨, Gly 또는 Arg 중의 어느 하나를 사용하는 His-함유 제형에 대한 안정성을 조사하는 것을 의도한다(하기 표 F). 이는 또한 느린 산화에 효과적일 수 있는 첨가제, 예를 들면, EDTA 및 메티오닌(Met)을 평가하는 기회로서 제공되었다. 추가로, 하나의 높은 시트레이트 농도 및 하나의 높은 포스페이트 농도 제형을 시험하였다.

표 F

블록 F 연구 설계

제형 번호	API	pH	시트레이트	포스페이트	His	Gly	Arg	만니톨	NaCl	PS 80	EDTA	Met
1	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0	0
2	아달리무맙 비이오시밀러	5.2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0.5	0
3	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	10	0	150	0	0	0	0.1	0
4	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	10	0	150	0	0	0	0.5	0
5	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0
6	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	10	0	0	240	0	0	0	10
7	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	10	0	0	240	0	0	0	50
8	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0
9	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0
10	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0
11	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0
12	아달리무맙 바이오시밀러	5.2	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0

[0242]

[0243]

F-1

t0 및 t1 (1주, 40 °C)에서 블록 F 쟈켓에 대한 측정된 pH

제형 번호	시트레이트	포스페이트	His	Gly	Arg	만나톨	NaCl 80	PS 80	EDTA	Met	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0	0	4.67	4.88	4.77
2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0.5	0	5.05	5.15	5.20
3	0	0	10	0	150	0	0	0	0.1	0	5.11	5.22	5.27
4	0	0	10	0	150	0	0	0	0.5	0	4.95	5.06	5.15
5	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0	5.12	5.25	5.29
6	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0	10	4.45	4.74
7	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0	50	5.03	5.24
8	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0	5.09	5.18	5.22
9	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0	5.13	5.25	5.32
10	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0	5.08	5.24	5.24
11	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	5.01	5.17	5.18
12	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	5.06	5.20	5.19

[0244]

[0245]

F-2

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서
불록 F에서의 재형에 대한 SEC에 의한 단량체 함량

제형 번호	시트레이트	포스페이트	His	Gly	Arg	만나톨	NaCl 80	PS EDTA	Met	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	65	100	0.1	0	0	97.69	94.75	96.06
2	8	18	0	0	65	100	0.1	0.5	0	99.25	98.14	98.92
3	0	0	10	0	150	0	0	0.1	0	99.30	98.54	99.16
4	0	0	10	0	150	0	0	0.5	0	99.28	98.31	99.14
5	0	0	10	0	240	0	0	0	0	99.17	98.64	99.14
6	0	0	10	0	240	0	0	0	0	10	99.07	98.50
7	0	0	10	0	240	0	0	0	0	50	99.29	98.92
8	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0	99.28	98.40
9	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0	99.30	98.50
10	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0	99.31	98.60
11	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	99.27	98.64
12	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	99.29	98.51

[0246]

[0247]

F-3

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서 블록 F에서의 차형에 대한

RP HPLC에 의한 백분율 순도

차형 번호	시트레 이트	포스프 아이트	His	Gly	Arg	만나톨	NaCl 80	PS EDTA	Met	t0	t1	t2	
1	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0	97.47	96.89	97.98	
2	8	18	0	0	0	65	100	0.1	0.5	0	97.33	97.02	97.99
3	0	0	10	0	150	0	0	0	0.1	0	97.64	97.14	98.04
4	0	0	10	0	150	0	0	0	0.5	0	97.59	97.00	97.97
5	0	0	10	0	0	240	0	0	0	0	97.11	97.30	98.03
6	0	0	10	0	0	240	0	0	0	10	97.61	97.27	98.03
7	0	0	10	0	0	240	0	0	0	50	97.55	97.37	98.08
8	30	0	0	240	0	0	0	0	0	0	97.48	97.51	98.05
9	0	30	0	240	0	0	0	0	0	0	97.64	97.58	98.03
10	0	0	30	240	0	0	0	0	0	0	97.68	97.41	98.06
11	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	97.67	97.18	98.03
12	0	0	20	0	25	120	0	0.1	0	0	97.68	97.33	98.02

[0248]

[0249]

표 F-4

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서

블록 F에서의 제형에 대한

경쇄 (LC), 중쇄 (HC), 비-당화된 HC, 및 기타 종에 대한 대역의 백분율

제형 번호	시간	LC	HC	ngHC	기타
1	t0	27.36	71.86	0.60	0.17
	t1				
	t2	25.34	73.18	0.63	0.86
2	t0	27.80	71.07	0.60	0.53
	t1	28.29	71.08	0.63	0.00
	t2	27.53	70.97	0.64	0.86
3	t0	27.78	70.62	0.65	0.95
	t1	28.26	70.85	0.66	0.23
	t2	28.26	70.50	0.63	0.61
4	t0	28.20	70.24	0.60	0.96
	t1	29.17	69.30	0.74	0.80
	t2	29.17	70.27	0.56	0.00
5	t0	27.50	70.74	0.59	1.17
	t1	29.56	65.79	0.41	4.24
	t2	28.24	69.90	0.58	1.28
6	t0	29.10	68.84	0.54	1.52
	t1	28.58	69.18	0.54	1.70
	t2	27.47	70.39	0.54	1.60
7	t0	27.87	70.28	0.55	1.30
	t1				
	t2				
8	t0	34.72	64.87	0.41	0.00
	t1	34.94	64.53	0.53	0.00
	t2	33.21	65.76	0.50	0.52
9	t0	31.96	68.04	0	0
	t1	48.51	51.49	0	0
	t2	33.15	65.82	0.57	0.46
10	t0	27.81	71.27	0.51	0.40
	t1	29.59	68.46	0.53	1.43
	t2	31.25	67.89	0.50	0.36
11	t0	27.33	70.80	0.61	1.26
	t1	26.54	71.00	0.64	1.82
	t2	29.46	69.85	0.69	0.00
12	t0	24.18	71.21	0	4.61
	t1				
	t2	28.95	68.98	0.59	1.46

[0250]

[0251]

표 F-5

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서

블록 F에서의 제형의 cIEF 프로필에 나타난 주요 대역의 백분율

제형 번호	pH	t0	t1	t2
1	8.65			2.11
	8.31	13.07	11.43	34.17
	8.24	64.66	67.99	28.67
	8.14			2.29
	8.08	16.13	17.73	15.98
	7.95	6.14		4.80
	8.60	1.56	1.93	1.12
2	8.48	12.95	11.26	11.12
	8.24	58.99	55.85	60.37
	8.13	20.98	22.43	18.77
	7.93	3.56	6.41	6.09
	8.60	1.56	1.93	1.12
	8.56		1.56	1.69
3	8.34	10.88	12.85	10.83
	8.18	66.93	55.35	62.00
	8.02	17.28	19.04	20.13
	7.89	4.91	11.21	5.35
	8.58	1.86	1.68	
4	8.45	13.79	10.61	12.84
	8.27	65.06	51.89	61.94
	8.06	19.29	18.85	25.22
	7.96	6.28	4.91	
	8.60	1.35	1.78	1.45
5	8.45	12.35	13.63	8.59
	8.27	60.12	55.07	64.28
	8.07	20.50	20.35	19.73
	7.94	5.69	9.17	5.95
	8.55	1.30	1.30	1.08
6	8.43	13.29	13.26	13.23
	8.24	54.83	56.88	61.67
	8.08	20.76	19.79	17.19
	7.96	9.82	8.76	6.84
	8.57	1.28	1.41	2.40
7	8.44	12.08	12.63	13.05
	8.27	61.50	55.33	60.70
	8.08	17.55	19.48	17.43
	7.94	5.93	8.92	4.25
	8.55	1.32	0.90	
8	8.43	11.51	12.47	10.09
	8.24	62.99	54.09	63.81
	8.05	15.43	22.71	20.91
	8.59			

[0252]

	7.90	8.75	9.83	5.19
9	8.59	1.35		1.63
	8.45	11.59	13.67	11.40
	8.28	63.60	52.70	63.11
	8.06	17.98	24.08	18.57
	7.94	2.28	7.05	5.29
	8.57	1.56	2.50	2.08
	8.45	13.22	11.93	12.90
10	8.28	61.86	55.12	61.87
	8.08	17.87	20.99	18.74
	7.97	5.50	4.71	4.41
	8.59	1.43	1.19	
	8.45	12.25	11.42	9.85
11	8.28	58.83	59.88	64.13
	8.08	18.18	22.06	17.46
	7.97	9.61	5.45	6.97
	8.56	1.64	1.39	0.94
	8.39	15.30	13.07	15.71
12	8.21	63.76	59.71	62.92
	8.02	16.72	20.51	16.60
	7.97	2.58	4.21	3.85
	8.59			

[0253]

[0254] 블록 F의 결과

[0255] 제형의 이러한 블록에서, pH 값은 모두 pH 5.2의 목표 값보다 약간 더 적었다(표 F-1). 추가로, pH는 t1에서 측정되는 경우 제형의 대부분에 대해 약 0.1 단위 만큼 변화한다. 이들 차이는, 하기 논의된 바와 같이, 데이터의 수학적 모델을 구성하는 경우에 고려되었다.

[0256] EDTA의 첨가는 가장 나쁜 제형에 대해 안정성을 개선시키는 것으로 나타난다(제형 1). 안정성을 증가시키는지의 여부는 일반적으로, SEC 데이터에 기초하여, 덜 명확하였다(표 F-2). 높은 농도의 Arg 또는 Gly를 함유하는 제형은 모두 저장시 꽤 약호하게 기능하였다(표 F-2).

[0257] RP HPLC에 의한 초기 순도는 일반적으로 이들 제형에 대해 예상된 것 보다 더 적었다(표 F-3). t1 및 t2에서 저장시, 몇몇의 약간의 차이가 존재하는데, Gly-계 및 Arg-계 제형은 가장 큰 안정성을 나타낸다. RP HPLC 데이터에 기초하여, EDTA는 유의한 안정제가 아닌 것으로 나타난다(표 F-3). 또한, Met의 효과는, RP HPLC 또는 SEC에 의해 측정된 바와 같이, 최고 Met 농도에 대한 단량체 함량을 제외하고는, 안정성에 대해 최소인 것으로 나타낸다(표 F-2, 제형 7).

[0258] CE-SDS에 의한 분석은, 매우 소폭 분해가 저장시 일어남을 나타낸다(보통 '기타' 1% 미만 증가)(표 F-4). 그러나, 더 높은 '기타' 함량으로 시작하는 몇몇 제형이 존재한다(예를 들면, 제형 4 내지 7). 높은 농도의 만니톨(240mM)을 사용하는 모든 제형이 존재한다. 120mM 만니톨을 함유하는 제형에 대해 사실인 것이 동일한 것 같다.

[0259] cIEF에 의한 분석에서와 같이, 적어도 안정성 경향을 인식할 수 있게 하는 체계적인 방식으로, 주요 피크의 상대적 강도의 소폭 변화가 존재한다(표 F-5). 일반적으로, 상기 변화는 t1에서보다 t2에서 더 적다.

[0260] 블록 G 제형 연구

[0261] 블록 G 제형 연구는 주요한 안정제로서 Gly 및 Arg의 배합물을 갖는 다양한 제형을 시험하였다(표 XXXIV). 추가로, 2개의 다른 계면활성제(Pluronic F-68 및 폴리소르베이트 20, PS 20)를 PS 80에 추가하여 평가하였다. 최종적으로, PS 80의 농도의 범위를 평가하였다.

[0262]

표 G

블록 G 연구 설계

체형 번호	API	시트레이트 이트	포스프 이트	석시네 이트	HIS	Gly	Arg	만나풀	NaCl	F68	PS20	PS80
1	이달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1
2	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0
3	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0
4	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1
5	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05
6	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01
7	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05
8	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0
9	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05
10	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0
11	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01
12	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0

[0263]

[0264]

표 G-1

t0, t1 (1 주, 40°C), 및 t2 (2 주, 40°C)에서 블록 G 체형에 대한 측정된 pH

체형 번호	시트레 이트	포스페 이트	석시네 이트	His	Gly	Arg	만나톨	NaCl	F68	FS20	PS80	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1	5.19	5.38	5.25
2	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0	5.23	5.28	5.24
3	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0	5.22	5.26	5.20
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1	5.20	5.33	5.29
5	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05	5.23	5.34	5.29
6	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01	5.19	5.40	5.27
7	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0	5.23	5.39	5.42
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	5.19	5.38	5.41
9	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05	5.19	5.27	5.24
10	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0	5.23	5.28	5.24
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01	5.23	5.33	5.27
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0	5.22	5.29	5.29

[0265]

[0266]

표 G-2

t0, t1 (40 °C에서 1 주), 및 t2 (25 °C에서 2 주)에서 블록 G에서의 체형에 대한 SEC에 의한 단량체 협동

체형 번호	시트레 이트	포스페 이트	석시네 이트	His	Gly	Arg	만나톨	NaCl	F68	PS20	PS80	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0	0.1	99.17	97.45
2	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0	0	99.11	97.78
3	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0	0	98.99	97.74
4	0	0	0	0	10	120	0	0	0	0	0	0.1	99.12	98.67
5	0	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05	99.05	98.57
6	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0	0.01	99.05	98.66
7	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0	0	99.04	98.63
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	0	99.11	98.64
9	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0.05	99.12	98.56	98.98
10	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0	0	99.10	98.49
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0.01	99.07	98.76	98.45	98.88
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0	0	99.11	98.48

[0267]

[0268]

회 G-3

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서 블록 G에서의 체 혼에 대한 RP HPLC에 의한 백분율 순도

체 혼 번호	시트레 이트	포스페 이트	석시네 이트	HS	Gly	Arg	만나톨	NaCl	F68	PS20	PS80	t0	t1	t2
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0	0.1	99.74	99.66
2	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0	0	99.59	99.66
3	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0	0	99.58	99.60
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0	0.1	99.62	99.62
5	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0	0.05	99.70	99.61
6	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0	0.01	99.60	99.66
7	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0	0	99.71	99.65
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	0	99.70	99.61
9	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05	99.71	99.60
10	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0	0	99.72	99.60
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01	99.72	99.61	99.05
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0	0	99.61	99.04

[0269]

[0270]

표 G-4

t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서**블록 G에서의 제형에 대한****경쇄 (LC), 중쇄 (HC), 비-당화된 HC, 및 기타 종에 대한 대역의 백분율**

제형 번호	시간	LC	HC	ngHC	기타
1	t0	28.55	70.77	0.50	0.17
	t1	29.71	69.42	0.57	0.30
	t2	30.32	68.80	0.53	0.35
2	t0	37.14	62.38	0.49	0.00
	t1	30.31	69.38	0.28	0.03
	t2	31.60	67.87	0.53	0.00
3	t0	28.95	70.40	0.65	0.00
	t1	28.17	70.26	0.58	0.99
	t2	27.32	71.52	0.56	0.59
4	t0	29.56	69.02	0.65	0.77
	t1	32.19	66.09	0.53	1.19
	t2	31.58	66.03	0.57	1.81
5	t0	36.54	62.48	0.56	0.42
	t1	28.77	69.28	0.62	1.33
	t2	23.76	74.49	0.60	1.16
6	t0	29.60	68.61	0.58	1.21
	t1	30.37	67.42	0.59	1.61
	t2	32.27	66.08	0.59	1.06
7	t0	31.90	65.50	0.63	1.97
	t1	31.26	66.66	0.56	1.51
	t2	31.37	66.64	0.67	1.31
8	t0	31.04	67.38	0.54	1.04
	t1	30.34	67.99	0.62	1.05
	t2	30.21	67.63	0.68	1.48
9	t0	33.12	65.34	0.61	0.94
	t1	34.01	63.97	0.56	1.46
	t2	34.47	63.77	0.57	1.19
10	t0	36.78	61.61	0.54	1.07
	t1	39.25	58.66	0.53	1.56
	t2	32.83	65.42	0.55	1.21
11	t0	36.37	61.97	0.54	1.11
	t1				
	t2	34.97	63.14	0.54	1.36
12	t0	34.26	64.16	0.52	1.05
	t1				
	t2	34.90	63.35	0.56	1.19

[0271]

[0272]

표 G-5

t0, t1 (40 °C에서 1 주), 및 t2 (25 °C에서 2 주)에서
블록 G에서의 제형의 cIEF 프로필에서 나타난 주요 대역의 백분율

제형 번호	pH	t0	t1	t2
1	8.53	1.24		1.21
	8.36	14.30	12.69	13.67
	8.24	64.03	53.50	60.30
	8.14			
	8.01	15.77	9.32	19.12
	7.86	3.73	3.35	4.48
	8.52	1.06	1.37	0.88
	8.35	13.10	13.30	12.53
	8.16	66.28	59.68	57.99
2	7.97	17.14	19.60	21.55
	7.83	2.42	4.78	4.92
	8.51	0.65	0.65	1.03
	8.34	13.31	14.00	15.31
	8.16	65.13	59.04	60.70
	8.14			
	7.98	17.26	18.90	17.56
	7.82	2.89	5.68	4.16
	8.36	1.87	2.43	1.00
	8.19	7.74	10.89	11.69
4	7.99	61.91	54.27	59.10
	7.82	20.94	22.72	19.81
	7.66	6.35	7.98	6.92
	8.44	1.79	0.95	0.71
	8.26	13.33	12.85	10.43
	8.06	61.67	59.94	60.12
	7.88	17.49	21.08	20.82
	7.69	4.02	4.50	6.50
6	8.36	1.71	4.76	
	8.21	12.37	12.93	10.95
	8.04	62.53	54.16	56.48
	7.87	19.24	26.08	17.97
	7.64	4.15	2.07	6.50
7	8.54	0.77	1.19	0.79
	8.34	7.15	12.32	13.15
	8.17	54.73	42.64	60.58
	8.02	22.18	29.90	17.28
	7.83	7.12	11.47	4.77
	7.69	1.41	2.48	2.11
8	8.55		1.04	2.11

[0273]

제형 번호	pH	t0	t1	t2
	8.39	7.28	10.69	14.82
	8.23	64.01	57.42	55.68
	8.05	20.81	23.86	23.76
	7.96	6.79	5.37	5.74
9	8.54			
	8.48	10.99	7.91	
	8.31	53.85	61.43	
	8.17	31.58	23.83	
	7.99		8.82	
	7.85	3.58	3.27	
10	8.50	0.95	2.16	
	8.36	9.10	10.65	15.79
	8.18	59.02	55.35	58.56
	8.02	23.76	24.79	25.66
	7.87	5.63	7.05	
11	8.58		2.08	1.68
	8.40	9.74	10.05	9.67
	8.21	62.70	56.96	57.36
	8.05	21.39	24.14	25.18
	7.99	5.24	6.77	6.11
12	8.54	1.67		
	8.37	15.99		
	8.22	63.18		
	8.02	15.41		
	7.82	3.75		

[0274]

F/T 및 교반 연구를 위한 블록 G 연구 설계

제형 번호	API	시트레이트	포스페이트	석시네이트	HIS	Gly	Arg	만니톨	NaCl	F68	PS20	PS80
1	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0.1
2	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0.1	0
3	아달리무맙 바이오시밀러	8	18	0	0	0	0	65	100	0.1	0	0
4	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.1
5	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.05
6	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0.01
7	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0.05	0
8	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0
9	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	10	0	120	120	0	0	0	0	0.05
10	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	20	0	150	100	0	0	0	0.05	0
11	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0.01
12	아달리무맙 바이오시밀러	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0.01	0

[0277]

표 G-7

비치리되거나(Q, 진형 중단), 5 F/T 주기를 주거나, 24 시간 동안의 교반에 적용되는

블록 G에서의 선택 계형에 대한 SEC에 의한 단량체 협량

제형 번호	시트레이 이트	포스페이 이트	석산비 이트	His	Gly	Arg	만나 톨	NaCl	F68	PS20	PS80	Q	F/T	교반	
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0	0.1	99.15	99.03	99.14
4	0	0	0	10	120	120	0	0	0	0	0	0.1	99.21	99.11	99.18
8	0	0	0	10	120	120	0	0	0.1	0	0	0	99.18	99.14	99.17
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0	0.01	99.16	99.09	99.13
12	0	0	0	20	120	120	0	0	0	0	0.01	0	0	99.10	

[0278]

[0279]

표 G-7

제형 번호	시트레 이트	포스페이 트	석시네 이트	His	Gly	Arg	만니톨	NaCl	F68	PS20	PS80	Q	F/T	교반	
1	8	18	0	0	0	0	65	100	0	0	0	0.1	99.60	99.72	99.76
4	0	0	0	10	120	0	0	0	0	0	0	0.1	99.56	99.70	99.59
8	0	0	0	10	120	0	0	0.1	0	0	0	0	99.58	99.57	99.73
11	0	0	0	20	150	100	0	0	0	0	0	0.01	99.72	99.59	99.65
12	0	0	0	0	20	120	0	0	0	0	0.01	0	99.75	99.56	

[0280]

블록 G의 결과

[0282]

pH 값 모두는 목표 값(표 G-1)에 근접하였고, 상대적으로 소폭 변화가 저장시 발생하였다. 안정성에 관하여서는, F-68에 더하여 폴리소르베이트에 관하여 SEC에 의해 측정된 바와 같이 몇몇 선호도(preference)가 있다는 것이 나타났다(표 G-2). 그러나, 상기 차이는 비교적 작다. 석시네이트 제형(제형 9 및 10)이 단량체 함량이 보유될 때까지는 합리적으로 양호한 것으로 나타난다.

[0283]

RP HPLC 데이터는 모두 매우 근접하여서, 안정성 차이의 어떠한 측정도 사실상 불가능하게 된다(표 G-3). 이들 데이터는 오직 선별 연구의 블록 모두 대규모 상황에서 시험하는 경우에만 해결가능할 수 있다.

[0284]

CE-SDS 결과는, PS 20이 Humira® 제형의 경우 0.1% 농도에서 최상의 안정제임을 시사한다(제형 1 내지 3)(표 G-4). 그렇지 않으면, 상기 차이는 어떠한 일반적인 결론을 내리기에는 매우 작고 가변적인 것으로 나타난다.

[0285]

상기에 나타낸 바와 같이, cIEF 데이터에 대한 결과는 해석하기 곤란할 정도로 충분히 가변적이다(표 G-5). 상기 변화는 만니톨과 같은 다른 안정제를 사용하는 제형에서 보다 Gly/Arg 제형에서 더 작다는 것을 나타낸다. 여전히, 전반적으로, cIEF에 의한 안정성은 이러한 연구에서 다수의 제형에 대해 꽤 우수한 것으로 보여진다.

[0286]

블록 G(F/T 및 교반) 연구.

[0287]

액체 제형에 대해, 계면 응력에 대한 민감도를 평가하는 것이 중요하다. 2개 종류의 응력 연구를 선택하였다. 첫번째는 오비탈 진탕기에서 150 rpm에서 24시간 동안 2 내지 8°C에서 교반하는 것이다. 두번째는 냉동 및 해동(F/T)의 5회 연속 주기이고, 여기서, 이러한 주기는, 단백질이 계면 손상에 민감한 경우, 손상 단백질의 양의 증가를 생성하여야 한다. 블록 G로부터의 4개 제형은 평가를 위해 선택되었고, 이들은 표 G-6에서 청색 볼드체로 강조표시된다.

[0288]

반복된 F/T 주기시, 시험된 제형 모두에 대해 단량체 함량의 매우 소폭 감소가 존재한다(표 G-7). 따라서, 이러한 응력을 형성하는 약간의 계면 민감성이 존재하고, PS 80의 존재가 보호를 위해 중요하지 않은 것 같다. 교반된 샘플들에서와 같이, 이러한 손실은 훨씬 더 작다. RP HPLC 데이터에서의 경향은 본질적으로 동일하다(표 G-7). 계면 응력에 노출시, 만약에 있다고 하더라도, 적은 순도의 손실이 존재한다.

[0289]

블록 H 제형 연구

[0290]

블록 H 제형은 아달리무맙 제형의 3개의 측면들에 중점을 두었다: (1) 더 높은 단백질 농도, (2) (단백질 이외에) 존재하는 완충제가 없는 제형, 및 (3) 시트레이트-포스페이트 외에 다양한 완충제 배합물의 사용(표 H 참조).

[0291]

표 H

제형 번호	API	단백질	시트레이트	포스페이트	석시네이트	HIS	아세테이트	Gly	Arg	만니톨	NaCl	PS80	
												100	0.1
1	***	100	0	0	0	10	0	120	0	0	0	0	0.1
2	***	100	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0	0.1
3	***	50	0	0	0	0	0	120	0	0	0	0	0.1
4	***	50	0	0	0	0	0	120	0	0	0	0	0.1
5	***	50	0	0	0	0	0	120	0	0	0	0	0.1
6	***	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0	0.1
7	***	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0	0.1
8	***	50	0	10	0	0	0	0	0	65	100	0	0.1
9	***	50	0	0	0	10	0	0	0	65	100	0	0.1
10	***	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0	0.1
11	***	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0	0.1
12	***	50	0	0	10	10	0	0	0	120	100	0	0.1

***는 상표 등록된 아달리무맙 바이오시밀러를 나타낸다.

[0292]

[0293]

H-1

t0, t1 (1 주, 40°C), 및 t2 (2 주, 40°C)에서 블록 H에서의 체액에 대한 측정된 pH

체액 번호	단백질	시트레 이트	포스파 이트	석시네 이트	아세트 이트	호스티 러	Gly	Arg	만나톨	NaCl	PS80	t0	t1	t2
1	100	8	18	0	0	0	0	0	65	100	0.1	5.19	5.30	5.29
2	100	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0.1	5.20	5.19	5.15
3	50	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0.1	5.21	5.23	5.21
4	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0.1	5.21	5.41	5.46
5	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0	5.21	5.30	5.39
6	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0.1	5.20	5.28	5.28
7	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0.1	5.21	5.24	5.24
8	50	0	10	0	10	0	0	0	65	100	0.1	5.20	5.17	5.16
9	50	0	0	10	0	10	0	0	65	100	0.1	5.21	5.24	5.29
10	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0.1	5.20	5.24	5.26
11	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0.1	5.21	5.24	5.26
12	50	0	0	10	10	0	120	100	0	0	0.1	5.21	5.26	5.29

[0294]

[0295]

H-2

t0, t1 (40°C에서 1주), 및 t2 (25°C에서 2주)에서
블록 H에서의 재현율 대처 SEC에 의한 단백질 혼합

제형 번호	단백질	시트레 이트	포스페 이트	석시네 이트	호스티딘 이-세트아이트	Gly		Arg	만나톨	NaCl	PS80	t0	t1	t2
						이	트							
1	100	8	18	0	0	0	0	0	65	100	0.1	99.25	98.36	98.42
2	100	0	0	0	10	0	120	0	0	0	0.1	99.19	98.88	98.47
3	50	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0.1	99.06	98.81	98.74
4	50	0	0	0	0	0	120	0	0	0	0.1	99.19	99.06	98.99
5	50	0	0	0	0	0	120	0	0	0	0	99.26	99.03	98.96
6	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0.1	99.26	98.92	98.86
7	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0.1	99.14	98.98	98.93
8	50	0	10	0	10	0	0	0	65	100	0.1	99.11	98.93	98.66
9	50	0	0	10	0	10	0	0	65	100	0.1	99.16	98.79	98.63
10	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0.1	99.10	98.79	98.49
11	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0.1	99.21	98.93	98.18
12	50	0	0	10	10	0	120	100	0	0	0.1	99.30	99.22	98.65

[0296]

[0297]

H-3

t0, t1 (40 °C에서 1 주), 및 t2 (25 °C에서 2 주)에서 블록 F에서의 제형에 대한 RP HPLC에 의한 백분율 순도

제형 번호	단백질 아이트	시트레 아이트	포스페 이트	석시네 이트	히스티딘	아세테이트	Gly	Arg	만나톨	NaCl	PS80	t0	t1	t2	
1	100	8	18	0	0	0	0	0	65	100	0.1	99.36	99.64	99.64	
2	100	0	0	0	10	0	120	120	0	0	0.1	99.37	99.68	99.74	
3	50	0	0	0	0	0	0	0	65	100	0.1	99.45	99.47	99.70	
4	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0.1	99.50	99.69	99.59	
5	50	0	0	0	0	0	120	120	0	0	0	0	99.47	99.71	99.56
6	50	0	0	0	10	10	0	0	65	100	0.1	99.48	99.56	99.72	
7	50	0	0	10	10	0	0	0	65	100	0.1	99.43	99.45	99.72	
8	50	0	10	0	10	0	0	0	65	100	0.1	99.43	99.51	99.72	
9	50	0	0	10	0	10	0	0	65	100	0.1	99.47	99.55	99.72	
10	50	10	0	10	0	0	0	0	65	100	0.1	99.48	99.53	99.67	
11	50	10	0	0	10	0	0	0	65	100	0.1	99.45	99.69	99.60	
12	50	0	0	10	10	0	120	100	0	0	0.1	99.44	99.54	99.72	

[0298]

[0299]

표 H-4

**t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서
블록 H에서의 제형에 대한
경쇄 (LC), 중쇄 (HC), 비-당화된 HC, 및 기타 종에 대한 대역의 백분율**

제형 번호	시간	LC	HC	ngHC	기타
1	t0	32.87	65.48	0.54	1.11
	t1	28.08	70.09	0.58	1.25
	t2	52.57	47.43	0.00	0.00
2	t0	36.20	62.40	0.55	0.86
	t1	29.64	68.68	0.57	1.11
	t2	43.09	55.23	0.57	1.10
3	t0	34.70	63.55	0.57	1.18
	t1	28.24	69.72	0.61	1.57
	t2	34.25	63.97	0.67	1.11
4	t0	41.04	57.61	0.51	0.84
	t1	27.58	70.65	0.62	1.15
	t2	34.14	64.01	0.60	1.26
5	t0	37.64	60.77	0.50	1.09
	t1	28.07	70.02	0.61	1.30
	t2	37.67	60.76	0.55	1.02
6	t0	31.64	66.46	0.55	1.34
	t1	27.67	70.19	0.50	1.64
	t2	34.07	63.49	0.62	1.81
7	t0	30.38	69.10	0.53	0.00
	t1	27.14	70.55	0.62	1.69
	t2	46.41	51.21	0.00	2.38
8	t0	28.46	71.19	0.35	0.00
	t1	30.05	68.71	0.55	0.69
	t2	34.14	63.97	0.63	1.25
9	t0	27.74	70.63	0.60	1.03
	t1	27.48	70.48	0.61	1.43
	t2	36.56	61.59	0.49	1.36
10	t0				
	t1	27.69	70.46	0.60	1.24
	t2				
11	t0	27.64	70.83	0.57	1.13
	t1	31.85	66.08	0.61	1.46
	t2	38.58	59.26	0.52	1.64
12	t0	29.48	68.55	0.58	1.40
	t1	29.53	68.68	0.58	1.40
	t2	30.64	68.20	0.70	0.46

[0300]

[0301]

표 H-5

**t0, t1 (40°C에서 1 주), 및 t2 (25°C에서 2 주)에서
블록 H에서의 제형의 cIEF 프로필에서 나타난 주요 대역의 백분율**

제형 번호	pH	t0	t1	t2
1	8.55	1.20	1.17	1.21
	8.39	9.57	5.57	8.23
	8.23	46.84	38.18	39.78
	7.99	13.67	12.64	11.62
	7.81	6.93	4.61	3.70
2	8.43	1.17	1.06	1.38
	8.26	8.97	8.15	8.38
	8.09	45.46	40.27	39.95
	7.87	13.37	16.45	6.77
	7.72	5.47	5.39	9.55
	7.56	1.64	1.52	3.33
3	8.36	0.80	0.74	0.61
	8.16	6.02	6.03	7.30
	7.98	35.60	35.58	37.24
	7.83	11.75	14.10	13.15
	7.64	2.17	4.78	2.00
	7.51	1.23	1.81	
4	8.40	0.82	0.74	0.30
	8.22	7.87	7.38	6.29
	8.04	42.46	34.42	35.89
	7.89	14.44	13.71	11.34
	7.71	3.18	3.31	2.69
	7.56	0.98	0.95	
5	8.42	0.82		1.02
	8.25	7.22		5.09
	8.07	34.68		28.99
	7.91	2.67		3.63
	7.86	10.63		7.83
	7.72	2.52		2.05
6	8.42	1.17	1.28	1.22
	8.23	9.88	8.56	7.90
	8.09	45.26	40.45	40.80
	7.94	13.23	16.50	13.28
7	8.59	1.79	1.45	1.90
	8.45	11.74	11.32	11.51
	8.28	59.90	61.63	56.22
	8.05	20.34	19.49	22.98
	7.92	6.24	6.11	7.39
8	8.58	1.59	2.94	1.38
	8.44	11.86	12.83	12.12

[0302]

	8.26	61.08	60.20	63.05
	8.05	20.21	24.03	23.45
	7.88	5.25		6.55
9	8.61	1.22	1.42	1.21
	8.48	12.47	12.36	11.00
	8.33	56.64	54.59	55.34
	8.10	23.37	23.81	25.31
	7.94	6.30	7.83	

[0303]

블록 H의 결과

[0304]

이들 제형의 pH 안정성은, 제형 4 및 5를 제외하고는, 허용가능하였다(< 0.1 단위). 안정제로서 Gly 및 Arg를 사용하는 완충제-비함유 제형이 존재한다(표 H-1). 또한, 제형 1에 대해 약간의 pH 상승이 있었다(100mg/ml 단백질 농도에서의 Humira® 제형).

[0305]

블록 H 제형의 안정성은 SEC 및 RP HPLC를 사용하여 모니터링되었다. 단량체 함량의 약간의 순실이 있고, 제형 1은 SEC에 의해 최소로 안정한 것으로 나타난다(표 H-2). 100mg/ml의 아달리무맙 바이오시밀러 API에서, Gly 및 Arg를 함유하는 히스티딘-완충된 제형은 꽤 안정한 것으로 나타난다. 일반적으로, 최상의 완충제 배합물은

His-석시네이트인 것으로 나타난다(제형 7 및 12). Gly 및 Arg를 갖는 완충제-비함유 제형은 또한 허용되는 안정성을 나타낸다(표 H-2). RP HPLC 데이터는, 완충제-비함유 제형(4 및 5)이 또한 SEC(표 H-3)에 의해 나타낸 바와 같이, 순도의 측정가능한 감소를 가져서, 꽤 양호하지 않을 수 있지만, 장기간 안정성을 갖는 제형을 수득하기 위해 만족스러운 것으로 고려된다.

[0307] CE-SDS 데이터는 His-석시네이트 제형인 제형 12에서 최소 변화를 검출한다(표 H-4). t1에서의 가장 큰 변화는 제형 7에서 일어나고, 당해 제형은 또한 His-석시네이트 제형이지만, 만니톨 및 NaCl을 장성 변형제로서 사용한다.

PLS 모델링

PLS 방법

[0310] 블록 A 내지 H에서의 아달리무맙 제형에 대한 데이터를 최소 부분 자승법(PLS)으로 언급되는 화학측정법 (chemometric method)을 사용하여 함께 분석하였다.

[0311] PLS 모델링의 상세한 설명은 공개되었다. 예를 들면, 문헌을 참조한다[참조: Katz, M.H. Multivariate Analysis: A Practice Guide for Clinicians. Cambridge University Press, New York, pp. 158-162 (1999); Stahle, L., Wold, K., Multivariate data analysis and experimental design in biomedical research. Prog. Med. Chem. 1988, 25: 291-338; Wold S. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. Chemom. Intell. Lab. Syst. 2001, 58: 109-130; 및 Martens, H.; Martens, M. Multivariate Analysis of Quality: An Introduction, Wiley and Sons, Chichester, UK (2001)].

[0312] 값의 임의의 거대 매트릭스(matrix)에 대해, 상당수의 샘플들(함께 소위 X-매트릭스를 형성함)이 존재하는 경우, 수학적 모델은 흥미로운 의존 변수(들)에서 분산의 가장 큰 양을 설명하도록 구성될 수 있다(Y-매트릭스). X-매트릭스에서의 변수와 종점(Y 매트릭스) 간의 상관관계의 최상의 단일 기술은 제1 주요 성분(principal component), PC1으로 언급된다. 다음으로 중요한(Y-매트릭스에서 분산을 기술하는 것에 관하여) 성분은 두번째 주요 성분, PC2 등으로 언급된다. 꽤 자주, 단지 하나 또는 2개의 PC가 Y-매트릭스에서의 분산의 대부분을 설명하기 위해 요구된다. 각각의 이들 PC는 X-매트릭스에서 변수 각각으로부터의 약간의 기여(contribution)를 포함한다. X-매트릭스 내의 변수가 제공된 PC의 구성에 크게 기여하는 경우, 이에 따라, 이는 유의한 것으로 순위매김된다. 사실상, 회귀 계수는 주어진 모델에 대한 X-매트릭스에서의 각각의 변수에 대해 계산할 수 있고, 여기서, 모델은 Y-매트릭스의 적합한 기술을 제공하기 위해 특정한 다수의 PC의 합성(composite)이다. 요약하면, PLS는 X-매트릭스로부터의 정보를 수집하고, PC의 목적하는 수치를 계산하고, 적합한 모델을 구성한다. 모든 샘플들을 포함하는 상기 모델은 보정(calibration) 모델로 언급된다[1,2]. 전반적인 측정 계수(r^2)는 모델의 품질을 나타낸다. 모든 PLS 산출은 Unscrambler[®] 소프트웨어(CAMO, Corvallis, OR)를 사용하여 수행하였다. Y-매트릭스에서 단일 변수로 수행된 PLS 분석은 PLS1 분석으로 언급된다. Y-매트릭스에서 다중 변수를 피팅하는 모델을 구축하는 것은 PLS2 분석으로 언급된다.

[0313] 완전한 교차 검증(cross validation)을 표준 기술을 사용하여 모든 보정 모델에서 수행하였다. 간단히, 하나의 샘플을 한번에 제거하고, 데이터 세트을 재보정하고, 신규 모델을 구성한다. 이러한 과정을 모든 보정 샘플들을 한번에 제거하고, 검증(validation) 모델로서 정량화할 때까지 반복한다. 따라서, 모든 샘플들을 포함하는 제1 세트는 보정 세트로서 언급되고, 교차-검증 후 상기 하나는 검증 세트로서 언급된다. 잭-나이프 알고리즘(jack-knife algorithm)(참조: Martens 등)을 상기한 PLS 모델을 구성하는데 사용되는 임의의 인자에 대한 통계적 유의성을 측정하는데 사용하였다.

아달리무맙 제형의 PLS 모델링

(블록 B, C 및 D)

(도 3 내지 12 참조)

[0317] 주의: 도 3 내지 12에 도시된 PLS 표면 그래프(surface graph)는 블록 B, C 및 D로부터 수득된 데이터를 기초로 한다. 다음은 도 3 내지 12에 나타낸 PLS 표면 플롯(surface plot)에서 반영되는 발견의 논의이다.

PLS 모델 1-도 3.

[0319] 도 3은 시트레이트 및 포스페이트 농도의 함수로서 t1에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 1). pH는 5.2에서 고정되었다. 상기 모델은 포스페이트 및 시트레이트 자체가, 타르트레이트 및 말레이트와 마찬가지로,

약한 탈안정제였음(통계적 유의성 없음)을 나타낸다. 그에 비해, 시트레이트, 타르트레이트 및 말레이트와 구조적으로 유사한 석시네이트는 약한 안정제였다. 유의한 안정제인 것으로 밝혀진 유일한 완충제는 히스티딘이었다. 이를 발견 중 어느 것도 각각의 완충제의 화학적 구조의 문헌 또는 시험을 기초로 하여 예측할 수 없었다. 상기 모델은 또한 시트레이트 및 포스페이트 완충제가 함께 사용되는 경우, 상기 제형은 최소로 안정하다는 것을 나타내었다. 단지 하나가 단일 완충제, 특히 포스페이트를 사용하는 경우, 안정성이 개선된다. 이는, 포스페이트가 pH 5.2에서 완충 능력이 작거나 없고 동시에, 시트레이트 완충제도 그러하기 때문에 놀랍다. 어떠한 이러한 거동도 당해 기술분야에 공지된 것을 기초로 하여 예측될 수 없었다.

[0320] PLS 모델 2-도 4.

도 4는 t2에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 2). 또한, 모델은 종점으로서 t2에서 SEC에 의한 단량체 함량을 사용하여 구성하였다. 이러한 모델은 또한, 시트레이트 및 포스페이트가 함께 사용되는 경우 안정성이 최저라는 것을 입증하였다. 최저 안정성은, 시트레이트가 10mM 초파이고 포스페이트가 5 내지 15mM인 경우 나타났다. 안정성은, 시트레이트 농도가 낮아지고/낮아지거나, 포스페이트 농도가 낮아지거나 상승되는 경우, 개선된다. 이를 발견은 단일 완충제 조성물이 바람직하다는 것을 시사한다. 완충제 안정화에서 동일한 경향은 PLS 모델 1에서와 같이 나타나고, 시트레이트 및 포스페이트는 약한 안정제(통계학적으로 유의하지 않음)인 반면, 히스티딘은 강한 안정제(통계학적으로 유의함)이다.

[0321] PLS 모델 1-도 5.

도 5는 제형의 안정성에 대한 히스티딘 및 글리신의 효과를 나타내는 PLS 모델 1이다. 이는 t1에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 1). 이러한 모델은, 히스티딘과 글리신의 배합물이 매우 우수한 안정성 결과를 수득한다는 것을 나타내었다. 히스티딘(His) 및 글리신(Gly) 둘 다는 안정제인 것으로 측정되었다. 반응 표면(response surface) 상의 최저 안정성(청색으로 나타냄)은 His 및 Gly의 최저 농도인 경우이다. 안정성에 대한 His의 효과가 더 크고, 20mM His는 120mM Gly와 비슷한 안정화를 제공한다(그래프의 반대편 코너를 주목한다). 상기 모델은, 둘 다의 부형제를 사용함에 의해 안정성에 추가의 이익이 있을 수 있다는 것을 나타내고, 최고 안정성은 His 농도가 20mM이고 Gly 농도가 120mM인 경우에 발생한다.

[0322] PLS 모델 1-도 6.

도 6은 제형의 안정성에 대한 아르기닌 및 소르비톨의 효과를 나타내는 PLS 모델 1이다. 이는 t1에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 1). 이러한 모델은, 아르기닌이 우수한 안정제인 반면, 소르비톨이 열악한 안정제라는 것을 나타내었다. 또한, 아르기닌(Arg)은 Gly에 대해 발견된 것과 유사한 안정화도를 제공한다. 이러한 모델에 의해 나타나는 가장 열악한 안정성은, Arg 농도가 낮고 소르비톨 농도가 낮은 경우이다(그래프의 청색 영역). 각각의 부형제의 농도를 증가시키면, t1에서 단량체 함량은 증가한다. 소르비톨의 효과는 농도에 대해 거의 선형이지만, Arg의 효과는 농도가 60mM을 초과하면 보다 급속하게 증가하는 것으로 나타난다. 소르비톨이 보유된 단량체 함량에 관하여 아달리무맙의 안정성을 증가시키는 것으로 예측되지만, 안정성을 증가시키는 이의 능력은 Gly 및 Arg에서 발견되는 것보다 낮다(몰 기준).

[0323] PLS 모델 1-도 7.

도 7은 제형의 안정성에 대한 pH 및 히스티딘의 효과를 나타내는 PLS 모델 1이다. 이는 t1에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 1). 이러한 모델은, 히스티딘이 최상의 완충제인 것으로 나타나는 반면, pH는 바람직하게는 최상의 안정성을 위해 5 이상이어야 한다는 것을 나타내었다.

[0324] PLS 모델 2-도 8.

도 8은 제형의 안정성에 대한 pH 및 히스티딘의 효과를 나타내는 PLS 모델 2이다. 이는 t2에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 2). 이러한 모델은, 히스티딘이 최상의 완충제인 것으로 나타나는 반면, pH는 바람직하게는 최상의 안정성을 위해 5 이상이어야 한다는 것을 나타내었다. 결과는 최적의 pH가 거의 5.2라는 것을 나타낸다. 시험된 모든 완충제 중에서, 히스티딘은 가장 큰 안정화도를 제공한다. 이러한 반응 표면은 2개의 중요한 포인트를 예시한다. 첫번째로, 안정성은 최대 거의 pH 5.2인 것으로 나타나고, 더 높은 pH 및 더 낮은 pH에서 줄어든다(falling off). 두번째로, 히스티딘은 안정성의 유의한 증가를 제공하는 것으로 나타난다. 히스티딘이 20mM에서 사용되는 경우, 더 낮은 완충제 농도에 걸쳐서 현저한 안정성 증가를 제공한다. 사실상, 효과는 비-선형인 것으로 나타나고, 0 내지 10mM에서보다 10 내지 20mM에서 더 큰 안정화가 발생한다. 추가로, 안정성 손실은 더 높은 pH에서 및 더 낮은 pH에서 더 급작스럽다.

[0330] PLS 모델 2-도 9.

도 9는 제형의 안정성에 대한 트레할로스 및 PS 80의 효과를 나타내는 PLS 모델 2이다. 이는 t2에서 단량체 함량의 도시를 포함한다. 이러한 모델은, 트레할로스가 약한 안정제인 것으로 나타나는 반면, PS 80은 열 안정성을 개선시킨다. 도 9에 나타난 반응 표면은, PS 80이 열 응력에 대항하여 아달리무맙을 보호하기 위한 잠재적 안정제임을 나타내고, 0.1%의 농도에서 최대 안정성을 제공한다. PS 80의 농도는 0 및 0.1% 이외로는 변화되지 않았다. 그에 비해, 이러한 모델은, 트레할로스의 안정성 효과가 꽤 작으며, 소르비톨로 보여지는 것 보다 분명히 더 작다는 것을 나타낸다.

[0332] PLS 모델 2-도 10.

도 10은 제형의 안정성에 대한 만니톨 및 PS 80의 효과를 나타내는 PLS 모델 2이다. 이는 t2에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 2). 이러한 모델은, 만니톨이 탈안정제인 것으로 나타나는 반면, PS 80은 열 안정성을 개선시킨다는 것을 나타낸다. t2에서 SEC에 의한 단량체 함량을 사용하는 PLS 모델은, 모델에 포함되는 인자들 중 어느 것의 상대적 효과를 시험할 수 있게 한다. 만니톨 농도를 증가시킬 수록, 전반적인 안정성은 감소한다. 그에 비해, 안정성에 대한 PS 80의 영향은 다소 작다.

[0334] PLS 모델 1-도 11.

도 11은 제형의 안정성에 대한 만니톨 및 NaCl의 효과를 나타내는 PLS 모델 1이다. 이는 t1에서 단량체 함량의 도시를 포함한다(모델 1). 이러한 모델은, 만니톨 및 NaCl 둘 다가 탈안정제인 것으로 나타남을 나타낸다. 안정성은, t1에서 단량체 함량에 의해 나타난 바와 같이, 만니톨 농도가 150mM 아래 어느 곳이든 최저이다. 또한, NaCl의 첨가는 또한 아달리무맙의 안정성을 약화시킨다.

[0336] PLS 모델 1-도 12.

도 12는 제형의 안정성에 대한 EDTA 및 메티오닌의 효과를 나타내는 PLS 모델 1이다. t1에서 단량체 함량의 도시를 포함한다. EDTA의 경우에서, 안정성은 이러한 첨가제의 농도가 증가함에 따라 약간 감소한다. 대조적으로, Met의 첨가는 안정성을 개선시키는 것으로 나타난다.

[0338] 볼록 B 내지 G에 대한 아달리무맙 제형의 PLS 모델링

[0339] (도 13 내지 28 참조)

[0340] 제1 PLS 모델("PLS 모델 A")

제1 PLS 모델(PLS 모델 A)은 종점으로서 t1에서의 단량체 함량의 차이를 사용하였다. 상기 모델은 3개의 PC를 사용하였고, 0.83의 보정 세트에 대한 상관 계수 및 검증 세트에 대한 0.67의 r^2 값을 가졌다. 이는 pH-완충제 및 완충제-완충제 상호작용 조건을 포함하는 이차 모델이었다.

[0342] 표 J[0343] PLS "모델 A" 계수

주의: 각각의 선형 인자에 대한 전체 상관 계수는 종점으로서 t1에서 SEC에 의한 단량체 함량의 차이를 사용하는 제1 PLS 모델(PLS 모델 A)에서 포함한다. 통계학적으로 유의한 것으로 간주되는 인자는 볼드체로 강조표시된다.

인자	r-값
pH t0	0.041
단백질	-0.025
시트레이트	+0.123
phos	+0.267
석시네이트	-0.089
히스티딘	-0.174
아세테이트	-0.053
글리신	-0.190
아르기닌	-0.128
소르비톨	-0.003
트레할로스	+0.020
만니톨	-0.104
NaCl	+0.250
F68	+0.018
PS 20	+0.021
PS 80	-0.152
EDTA	+0.112
Met	-0.062

[0345]

상기 모델 품질은 보정의 상관 계수 및 검증 세트를 고려하면 허용가능하다. 모델에서 포함되는 다양한 인자에 대한 전체 상관 계수는 표 J에 요약된다. 이차 및 상호작용 조건이 본원에 기재되어 있지 않음을 주의한다. 종점이 단량체 함량의 차이이므로, 이러한 값을 최소화하는 것이 희망된다. 따라서, 안정제는 네가티브 상관 계수를 나타내는 반면, 탈안정제는 포지티브 r-값을 갖는다. 만니톨 및 석시네이트가 또한 안정성 효과를 갖지만, 안정제 중에서, His, Gly, Arg, 및 PS 80은 가장 잠재적이다(표 J). 그 동안, 몇몇의 유의한 탈안정제, 예를 들면, NaCl, 시트레이트, 및 포스페이트가 존재한다. 이들 모델이 제형의 다양한 블록 A 내지 H에 걸쳐서 모아진 안정성 데이터 모두의 합성이고, 개별적인 제형이 모델에 따라 가변적일 수 있다는 것을 유념한다. 상관 계수의 표가 다양한 인자의 효과를 측정하는데 도움이 되지만, 이들은 비-선형 및 상호작용 효과를 포착하지 못하고, 따라서, 도 13 내지 28에서 재현된 반응 표면에 나타낸 바와 같이, 다양한 파라미터의 효과를 더 상세하게 조사하기 위해 반응 표면을 살펴보는데 도움이 된다.

[0347]

PLS 모델 A의 논의--도 13 및 14.

크라우스(Krause)에 의한 상기 '583 특허는, 시트레이트-포스페이트 완충 시스템을 제품 안정성에 필수적인 것으로 기재한다. 본 발명의 연구는 이것이 사실 그러하지 않다는 것을 나타낸다. 이러한 모델에 따르면, 가장 열악한 안정성은 이들 두 완충제가 배합되어 사용된 경우 일어날 수 있고, 효과는 완충제 농도가 증가하면 더 나빠질 수 있다(도 13[1]). 반응 표면은, 수개의 이전 관찰과는 반대로, 포스페이트 및 시트레이트가 동일하게 탈안정성임을 나타내지만, 그러나, 이들 표면의 정량적 특성은, 이들이 블록 B 내지 H로부터 제형 모두로부터의 데이터를 포함하기 때문에, 약간 주의깊게 고려되어야 한다.

[0349]

pH 및 His의 효과는 도 14에 나타난다. 이는, His가 낮은 pH에서 탈안정성임을 나타내고, 여기서, 이는 명백하게 His의 완충 능력 밖이다. 다시, 이러한 결과는, 단지 His을 포함하는 것(이는 수행될 수 있음에도 불구하고)이 아닌, 이러한 연구에서 모든 pH 관찰값의 함수이다. 이러한 반응 표면에 따라서, 최적의 pH는, 표면이 이러한 영역에 걸쳐서 비교적 편평하지만, 5.2보다는 5.4에 더 근접할 수 있고, 얇은 반응 표면은 pH 5 내지 5.4에서 나타낸다(도 14).

[0350]

PLS 모델 A의 논의--도 15

Gly 및 Arg에 대한 반응 표면은 도 15에 나타난다. 연구는 반복적으로, 이들 2개의 아미노산이 아달리무맙의 잠재적 안정제일 수 있음을 나타낸다. 단량체 함량의 최소의 차이(즉, 표면의 청색 부분)가 100mM Arg에서, 그러나 200mM Gly에서 도달함을 주목하고, 이는 Arg가 pH 5.2에서 아달리무맙에 대해 더 우수한 안정제일 수 있다는 것을 시사한다.

[0352]

PLS 모델 A의 논의--도 16

PLS 모델 A에 대해 나타낸 최종 반응 표면은 NaCl 및 PS 80의 효과에 대한 것이다(도 16). 아달리무맙의 안정성은 NaCl의 첨가(특히 100mM 초과)시 감소한다는 것을 나타낸다. 그 동안, PS 20은 0.04% 초과로 사용되는 경우 유의한 안정성을 제공한다.

[0354]

두번째 PLS 모델(PLS 모델 B)

[0355] 두번째 PLS 모델(PLS 모델 B)은 t1에서의 및 종점으로서 t2에서의 단량체 함량을 사용하였다. 상기 모델은 4개의 PC를 사용하였고, 0.82의 보정 세트에 대한 상관 계수 및 검증 세트에 대해 0.67의 r-값을 가졌다. 이는 pH-완충제 및 완충제-완충제 상호작용 조건을 포함하는 이차 모델이었다. 모델 품질에 관하여, 이는 상기한 제1 PLS 모델 A와 비슷하다.

표 K (L)

PLS "모델 B" 상관 계수

인자	$r_{\text{회복}}$
pH	-0.086
단백질	+0.030
시트레이트	-0.079
phos	-0.157
석시네이트	+0.060
히스티딘	+0.185
아세테이트	+0.063
글리신	+0.126
아르기닌	+0.150
소르비톨	+0.025
트레할로스	+0.006
만니톨	+0.014
 <u>NaCl</u>	
	-0.215
F68	-0.044
PS 20	-0.028
 <u>PS 80</u>	
	+0.227
EDTA	-0.097
Met	+0.096

[0358]

PLS 모델 B에 대한 종점은 t1 및 t2 둘 다에서 총 단량체 함량이다. 따라서, 이를 값을 최대화하는 것이 희망될 것이다. 이는, 안정제가 포지티브 상관 계수를 가질 것이고, 탈안정제가 네가티브 r-값을 나타낼 것임을 의미한다(표 K). 이전 모델에서와 같이, 시트레이트, 포스페이트, 및 NaCl은 유의한 탈안정제이다. 반면, His, Gly Arg, 및 PS 20은 잠재적 안정제이다. 이러한 모델에서, 트레할로스, 소르비톨 및 만니톨은 거의 미미한 효과를 갖는다. 주요한 차이는 pH가 지금 유의한 인자이고, EDTA가 유의한 탈안정제인 것이고, 동시에 Met는 또한 안정제인 것으로 나타난다.

PLS 모델 B의 논의 - 도 17

[0361] 이러한 모델은, 시트레이트의 첨가가, 포스페이트가 부재한 경우, 안정성에 대해 미미한 효과를 갖는다는 것을 시사한다(도 5의 반응 표면의 후방 가장자리 참조). 반면, 첨가된 포스페이트는 단량체 함량을 감소시키고(우측 가장자리 참조), 배합물은 더욱 보다 탈안정성이다(도 5). 따라서, 시트레이트-포스페이트 완충제 배합물은, 상기 '583 특허에 의해 교시된 것과 반대로, 아달리무맙의 안정화에 효과적이지 않다. 이러한 모델에 따라서, 포스페이트의 탈안정성 효과는, 시트레이트에서 보다 약 3배 더 크다.

PLS 모델 B의 논의 - 도 18

[0363] 낮은 pH에서 His의 사용은 미미하거나 유해한 효과를 갖는다(도 18[6]). 그러나, pH 5.2 이상에서 사용되는 경우, His는 안정성의 유의한 증가를 제공한다(SEC에 의한 단량체 함량에 의해 측정된 바와 같음).

PLS 모델 B의 논의 - 도 19

[0365] Gly 및 Arg에 대한 반응 표면은 도 19에 나타낸다. 높은 농도에서 안정제 둘 다를 포함하는 것은 안정성에 대해 유리할 수 있지만, 등장성의 이유 때문에 비현실적이다. Arg이 이러한 모델에서 Gly와 비교하여 더 잠재적 안정제인 것으로 나타나고, 여기서, Arg의 75mM 농도는 약 120mM Gly에서와 동일한 효과를 갖는다. 상기 모델은, 하나 단독이 잘 작동할 수 있거나, 배합물이 또한 효과적일 수 있다는 것을 나타낸다.

PLS 모델 B의 논의 - 도 20

[0367] PLS 모델 B는 안정성에 대한 만니톨의 보통의(modest) 효과를 나타내는 반면, PS 80은 0.05% 근처의 농도 초과

에서 효과적인 안정제이다(도 20). 따라서, 이러한 데이터로부터, 안정한 제형이 pH 5.2에서 240mM 만니톨 및 0.1% PS 80로 구성될 수 있다는 결론을 내릴 수 있다.

[0368] PLS 모델 B의 논의 - 도 21

상기 프로젝트 동안 내내, 이러한 반응 표면에서 나타난 바와 같이, NaCl이, 특히 농도가 100mM 이상에 도달하는 경우, 아달리무맙의 탈안정제인 것이 나타난다(도 21). 단지 소수의 제형이 EDTA를 포함하여 시험되는 동안, 이러한 부형제는, 농도가 약 0.1%이 아닌 한, 탈안정성인 것으로 나타난다. 본 발명자들은, 또한, Met의 효과가 안정성에 대해서 유리하였지만, 아마도 비교적 소수의 실시예를 평가하였기 때문에 유의한 효과가 존재하는 것을 증명하지 못하였음을 주목한다.

[0370] PLS 모델 B의 논의 - 도 22

고려되는 PLS 모델 B로부터의 최종 반응 표면은 석시네이트 및 His의 효과이다(도 22). 상기 모델은 모든 관련 완충제-완충제 상호작용을 포함하였다. 이러한 표면은, 석시네이트가 자체로 미미한 효과 또는 심지어 유해한 효과를 갖는다는 것을 나타낸다(플롯의 전방 가장자리를 참조함). 그러나, 이는, His와 함께, 전체 안정성을 증가시킴을 증명한다(예: 표면의 후방 가장자리를 주목함). 따라서, His-석시네이트 완충 시스템은 지금까지 시험된 완충제 배합률 모두에 가장 유익한 것으로 나타난다.

[0372] 세번째 PLS 모델(PLS 모델 C)

세번째 PLS 모델 C는 종점으로서 t1에서 RP HPLC에 의한 백분율 순도의 차이를 사용하였다. 상기 모델은 2개의 PC를 사용하였고, 0.86의 보정 세트에 대한 상관 계수 및 검증 세트에 대해 0.67의 r -값을 가졌다. 이는 pH-완충제 및 완충제-완충제 상호작용 조건을 포함하는 이차 모델이었다. 모델 품질에 관하여, 이는 이전 모델과 매우 유사하다.

[0374] 표 L

[0375] PLS "모델 C" 상관 계수

인자	r -값
pH	-0.115
단백질	-0.139
시트레이트	+0.014
포스페이트	+0.084
석시네이트	-0.051
히스티딘	-0.075
아세테이트	+0.159
글리신	-0.096
아르기닌	-0.045
소르비톨	+0.029
트레할로스	+0.020
만니톨	-0.060
NaCl	+0.068
F68	-0.047
PS 20	-0.067
PS 80	-0.028
EDTA	+0.099
Met	-0.015

[0376]

PLS 모델 C는, RP HPLC가, 민감성이 SEC에서 경우보다 낮을 수 있지만, 안정성-지시자라는 것을 입증한다. 상기 모델은, 포스페이트 및 시트레이트 둘 다가 탈안정성이고, 포스페이트의 효과는 통계학적으로 유의하다는 것을 발견한다(표 L1). 또한, 아세테이트는 EDTA 만큼 강한 탈안정제이다. Gly 및 Arg 둘 다는 안정제인 것으로 나타나지만, 효과는 통계학적으로 유의하지 않는 것으로 간주된다. 단지 His만이 유의한 안정제인 것으로 발견되었다(단백질 농도와 마찬가지로).

[0378] PLS 모델 C의 논의--도 23

pH 5.2에서 시트레이트 및 포스페이트에 대한 반응 표면은 도 23에 나타낸다[11]. 완충제 둘 다는 탈안정성이다(플롯의 전방 및 좌측 가장자리를 따라감). 약 10mM의 농도 초과에서, 배합률은 꽤 탈안정성이 된다. 전체적으로, 포스페이트는 이러한 모델에 따라 더 탈안정성인 것으로 예측된다(도 11).

[0380] PLS 모델 C의 논의--도 24

이전 모델에서 나타난 바와 같이, 아달리무맙의 안정성은 pH가 5.0 미만으로 감소됨에 따라 감소된다(도 12). 이러한 모델에서, His의 안정성 효과는 모든 pH 값에 걸쳐서 나타나지만, pH가 더 낮은 경우 가장 확연하다.

[0382] PLS 모델 C의 논의--도 25

Gly 및 Arg의 효과는 도 25에 나타낸다. 부형제 둘 다는, 농도가 증가됨에 따라 순도의 손실이 감소되고, 이들은, 반응 표면의 가장자리에 따른 기울기에 의해 판단되는 바와 같이, 거의 동등한 효력(equipotent)인 것으로 예측된다. 그렇지 않으면, Gly(약 200mM) 보다 더 낮은 Arg(75mM)가 순도의 최적 손실(그래프의 청색 영역)을 성취하는 것으로 나타난다.

[0384] PLS 모델 C의 논의--도 26

만니톨 및 PS 80의 효과는 도 26에서 반응 표면에서 나타난다[14]. 화학적 안정성이, PS 80을 특히 0.04% 초과의 농도로 첨가하여 크게 개선되는 것은 명백하다. 그 동안, 만니톨은 또한 안정성이지만, 심지어 240mM 만니톨은 소량의 계면활성제 보다 더 적은 효과를 갖는다.

[0386] PLS 모델 C의 논의--도 27

만니톨은, 이러한 모델(도 27[15] 참조) 및 이전 PLS 모델 둘 다에서, Humira® 제형에서 안정체인 것으로 여겨지는 반면, NaCl는 명백하게 탈안정제이다. 상기 효과는 NaCl 농도가 75mM 정도를 초과하는 경우에 상당하다.

[0388] PLS 모델 C의 논의--도 28

PLS 모델 C로부터의 최종 반응 표면은 pH 및 단백질 농도의 효과를 기재하는 도 28[16]에서 나타난다. 상기 나타낸 바와 같이, 안정성은, pH가 4.8 또는 5.0 초과인 경우, 최상이다. 단백질 효과에서와 같이, 이러한 모델은, RP HPLC을 기초로 한 안정성이 더 높은 단백질 농도에서 더 우수하다는 것을 예측한다. 유사한 경향은, 상당히 약한 것일지라도, SEC 데이터에서 나타난다(t_1 에서 및 t_2 에서 단량체 함량). 따라서, 50mg/ml에서 수득할 수 있는 것과 같이, 100mg/ml에서의 농도에서 유사한 안정성 프로필을 성취할 수 있다.

[0390] 블록 A 내지 H에 대한 발견의 요지

블록 A 내지 H에서의 제형 연구는, 승온에서 저장되고 40°C에서 1주 또는 25°C에서 2주 동안 유지된 아달리무맙 제형을 평가하였다. 안정성은 SEC, RP HPLC, cIEF 및 CE-SDS를 사용하여 모니터링하였다.

최적의 pH는 5.2 ± 0.2인 것으로 나타난다. 시험된 모든 완충제 조성물 중에서, 시트레이트-포스페이트 배합물은 거의 평가된 임의의 다른 완충 시스템 보다 열등하고, 이에 따라, 본 발명의 중요한 측면은 이러한 배합된 완충 시스템을 전적으로 회피한다. 최상의 단일 완충제는 His인 것으로 나타나는 반면, His-석시네이트 완충제는 또한 매우 우수한 안정성을 제공한다. 제형을 완충시키는 단백질의 능력에 의존하는 완충제-비함유 시스템 조차도, 가속화된 스트레스 조건하에서 허용되는 안정성 프로필을 갖는 것으로 나타난다.

평가된 모든 안정체/장성 변형제 중에서, Arg 및 Gly 둘 다는 아달리무맙의 매우 우수한 안정화를 유도한다. 이들 둘 다는 만니톨 보다 더 우수하게 작용한다. 만니톨은 안정제인 것으로 나타나지만, 그러나, 본 발명자들은, 사용되는 경우, 이는 최고 가능한 농도에서, 그러나, 임의의 경우 약 150mM 초과, 및 가장 바람직하게는 약 200mM 이상으로 존재하여야 하는 것을 발견하였다. 그에 비해, NaCl은, 특히 농도가 75 내지 100mM을 초과하는 경우, 명백하게 탈안정제이고; 따라서, NaCl은, 존재하는 경우, 약 75mM 아래 수준으로 제어되어야 한다. 다른 폴리올, 예를 들면, 소르비톨 및 트레할로스는 만니톨과 마찬가지로 잘 작용하는 것으로 나타나고, 따라서 목적하는 경우 만니톨을 대체할 수 있다.

놀랍게도, 폴리소르베이트 80(PS 80)은 열 응력에 대항하여 유의한 보호를 제공한다. 안정화 메카니즘은 공지되어 있지 않은 반면, 시험된 다른 계면활성제(PS 20 및 F-68)는, 거의 PS 80 만큼 효과적이지는 않은 것으로 나타난다. 따라서, PS 80 대 PS 20의 선택은 본 발명의 바람직한 특성이다. 본 발명에 따른 제형은 바람직하게는 적어도 0.04%(w/v) PS 80을 포함한다.

블록 A 내지 H의 제형 연구에서의 발견을 기초로 하여, 다음은 본 발명에 따른 특히 바람직한 아달리무맙 제형이다.

[0396]

표 M

선택된 제형

제형 번호	pH	His (mM)	석시네이트 (mM)	Gly (mM)	Arg (mM)	만니톨 (mM)	NaCl (mM)	PS 80 (wt %)
A	5.2	30	0	240	0	0	0	0.1
B	5.2	30	0	240	0	0	0	0.02
C	5.2	30	0	0	0	240	0	0.1
D	5.2	30	15	0	0	220	0	0.1
E	5.2	30	0	90	0	150	0	0.1
F	5.2	30	0	240	0	0	0	0
G	5.2	20	0	0	0	240	0	0
H	5.4	30	0	240	0	0	0	0.02
I	5.2	30	0	120	80	0	0	0.1
J	5.2	30	15	90	80	0	0	0.1
K	5.2	30	0	0	0	240	0	0.1
L	5.2	30	0	0	0	50	160	0
M	5.2	30	0	90	100	0	0	0.1
N	5.2	20	0	120	90	0	0	0.1
O	5.4	30	0	120	80	0	0	0.1
P	5.2	30	0	120	0	0	50	0.01
Q	5.2	30	0	0	0	240	0	0.02

[0397]

상기 제공된 약제학적 조성물의 추가 성분

[0399]

본 발명의 제형은 또한 다른 완충제(본 발명의 구체적인 양태들의 설명에서 특정하게 배제되지 않는 한), 장성 변형제, 부형제, 약제학적으로 허용되는 담체 및 통상적으로 사용되는 약제학적 조성물의 다른 불활성 성분을 포함할 수 있다.

[0400]

장성 변형제는 용액의 삼투질농도(osmolality)에 기여하는 분자이다. 약제학적 조성물의 삼투질농도는 바람직하게는 활성 성분의 안정성을 최대로 하기 위해 및/또는, 투여시 환자에게 불편함을 최소로 하기 위해 조절된다. 이는 일반적으로, 약제학적 조성물이 혈청과 등장성인 것(즉, 동일하거나 유사한 삼투질농도를 가짐)이 바람직하고, 이는 장성 변형제를 첨가하여 성취된다.

[0401]

바람직한 양태에서, 상기 제공된 제형의 삼투질농도는 약 180 내지 약 420 mOsm이다. 그러나, 삼투질농도가 특정 상태가 요구되는 경우 더 높거나 낮을 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

[0402]

삼투질농도를 변경하는데 적합한 장성 변형제의 예는, 이로써 제한되는 것은 아니지만, 아미노산(아르기닌을 포함하지 않음)(예: 시스테인, 히스티딘 및 글리신), 염(예: 염화나트륨 또는 염화칼륨) 및/또는 당/폴리올(예: 수크로스, 소르비톨, 말토스, 및 락토스)을 포함한다.

[0403]

바람직한 양태에서, 제형 중 장성 변형제의 농도는 바람직하게는 약 1mM 내지 약 1M, 보다 바람직하게는 약 10mM 내지 약 200mM이다. 장성 변형제는 당해 기술 분야에 잘 공지되어 있고, 공지된 방법으로 제조되고, 공급원으로부터 이용가능하다.

[0404]

적합한 장성 변형제는, 본 발명의 특정 양태들의 설명에서 특정하게 배제되지 않는 한, 본 발명의 조성물에 존

재할 수 있다.

[0405] 용액(또한 건조되거나 냉동된 형태) 중 폴리펩티드를 안정화시키는 화학적 첨가제, 공-용질, 또는 공-용매로서 또한 언급되는 부형제는, 또한 약제학적 조성물에 첨가될 수 있다. 부형제는 당해 기술 분야에 잘 공지되어 있고, 공지된 방법으로 제조되고, 공급원으로부터 이용가능하다.

[0406] 적합한 부형제의 예는, 이로써 제한되는 것은 아니지만, 당/폴리올, 예를 들면: 수크로스, 락토스, 글리세롤, 자일리톨, 소르비톨, 만니톨, 말토스, 이노시톨, 트레할로스, 글루코스; 중합체, 예를 들면: 혈청 알부민(소 혈청 알부민(BSA), 사람 SA 또는 재조합 HA), 텍스트란, PVA, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC), 폴리에틸렌 이민, 젤라틴, 폴리비닐파리돌(PVP), 하이드록시에틸셀룰로스(HEC); 비-수성 용매, 예를 들면: 다가 알코올, (예: PEG, 에틸렌 글리콜 및 글리세롤) 디메틸설폐사이드(DMSO) 및 디메틸포름아미드(DMF); 아미노산, 예를 들면: 프롤린, L-세린, 나트륨 글루탐산, 알라닌, 글리신, 리신 하이드로클로라이드, 사르코신 및 감마-아미노부티르산; 계면활성제, 예를 들면: Tween®-80(폴리소르베이트 80), Tween®-20(폴리소르베이트 20), SDS, 폴리소르베이트, 폴록사미; 및 다양한 부형제, 예를 들면: 칼륨 포스페이트, 나트륨 아세테이트, 황산암모늄, 황산마그네슘, 황산나트륨, 트리메틸아민 N-옥사이드, 베타인, CHAPS, 모노라우레이트, 2-0-베타-만노글리세레이트 또는 상기한 것의 임의의 병용물을 포함한다.

[0407] 적합한 부형제는, 이들이 본 발명의 특정 양태들의 설명에서 특정하게 배제되지 않는 한, 본 발명의 조성물에 존재할 수 있다.

[0408] 본 발명의 제형 중 하나 이상의 부형제의 농도는 바람직하게는 약 0.001 내지 5중량%, 보다 바람직하게는 약 0.1 내지 2중량%이다.

치료 방법

[0409] 또다른 양태에서, 본 발명은, 치료학적 유효량의 본 발명의 약제학적 조성물을 포유동물에게 투여함을 포함하는 포유동물의 치료 방법을 제공하고, 여기서, 포유동물은 아달리무맙으로 유익하게 치료될 수 있는 질환 또는 장애를 갖는다.

[0410] 바람직한 양태에서, 포유동물은 사람이다.

[0411] [0412] 상기 제공된 조성물로 치료될 수 있는 질환 또는 장애는 이로써 제한되는 것은 아니지만, 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 베게너병(육아종증), 크론병(또는 염증성장질환), 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), C형 간염, 자궁내막증, 천식, 악액질, 건선, 및 아토피 피부염을 포함한다. 본 발명의 조성물로 치료될 수 있는 추가의 질환 또는 장애는 본원에 인용에 의해 포함된 미국 특허 제6,090,382호 및 제8,216,583호의 관련 부분에 기재된 것을 포함한다.

[0413] 상기 제공된 약제학적 조성물은 치료를 필요로 하는 대상체에게 주사에 의해 전신으로, 예를 들면, 정맥내 주사에 의해; 또는 관련 부위로의 주사 또는 도포에 의해, 예를 들면, 부위로의 직접 주사, 또는 직접 도포에 의해(부위가 수술에서 노출되는 경우); 또는 국소 도포에 의해 투여될 수 있다.

[0414] 하나의 양태에서, 본 발명은, 이를 필요로 하는 포유동물에게 치료학적 유효량의 상기 제공된 아달리무맙 조성물 중 하나를 투여함을 포함하는 류마티스 관절염의 치료 및/또는 예방 방법을 제공한다.

[0415] 상기 제공된 조성물에서 아달리무맙의 치료학적 유효량은 치료될 상태, 상태의 중증도, 이전 요법, 및 환자의 임상 이력 및 치료제에 대한 반응에 좌우될 수 있다. 적합한 용량은 담당 의사의 판단에 따라 조절될 수 있고, 이에 따라, 환자에게 1회 또는 일련의 투여를 통해 투여될 수 있도록 한다.

[0416] 하나의 양태에서, 성인 용량당 효과적인 아달리무맙 양은 약 1 내지 500mg/m², 또는 약 1 내지 200mg/m², 또는 약 1 내지 40mg/m² 또는 약 5 내지 25mg/m²이다.

[0417] 대안적으로, 고른(flat) 용량이 투여될 수 있고, 이의 양은 2 내지 500mg/용량, 2 내지 100mg/용량 또는 약 10 내지 80mg/용량의 범위일 수 있다.

[0418] 용량이 1주당 1회 초과로 투여되는 것이 의도되는 경우, 예시적인 용량 범위는 상기한 용량 범위와 동일하거나 그 이하이고, 바람직하게는 1주당 2회 이상 용량당 25 내지 100mg/용량 범위로 투여된다.

[0419] 또다른 양태에서, 주사에 의해 투여하기 위해 허용되는 용량은 80 내지 100mg/용량을 포함하거나, 대안적으로, 용량당 80mg을 포함한다.

- [0420] 용량은 주 1회, 격주로, 또는 수주로 분리되어(예를 들면, 2 내지 8) 투여될 수 있다.
- [0421] 하나의 양태에서, 아달리무맙은 40mg으로 단독 피하(SC) 주사에 의해 투여된다.
- [0422] 몇몇의 경우, 환자 상태의 개선은 약제학적 조성물의 약 100mg 이하의 용량을 적어도 3주의 기간에 걸쳐 1주당 1회 내지 3회 투여하여 수득될 수 있다. 장기간 치료는 목적하는 정도의 개선을 유도하는데 필수적일 수 있다. 난치성 만성 상태의 경우, 용법은 무기한으로 지속할 수 있다. 소아 환자(4세 내지 17세)의 경우, 적합한 용법은 0.4mg/kg 내지 5mg/kg의 아달리무맙의 용량을, 1주당 1회 이상 투여함을 포함할 수 있다.
- [0423] 또다른 양태에서, 본 발명의 약제학적 제형은 보통의 벌크 제형으로 제조될 수 있고, 약제학적 조성물의 성분은 투여에 요구될 수 있는 것 보다 높게 조절되고, 투여 전에 적합하게 희석된다.
- [0424] 약제학적 조성물은 단독 치료제로서 또는 필요한 추가 요법과 병용하여 투여될 수 있다. 따라서, 하나의 양태에서, 상기 제공된 치료 및/또는 예방 방법은 또다른 활성제의 치료학적 유효량의 투여와 함께 사용된다. 다른 활성제는 본 발명의 약제학적 조성물의 투여 전, 투여 동안, 또는 투여 후에 투여될 수 있다. 또다른 활성제는 상기 제공된 조성물의 부분으로서, 또는 대안적으로, 개별적인 제형으로서 투여될 수 있다.
- [0425] 상기 제공된 약제학적 조성물의 투여는, 비경구, 경구, 협측, 코, 직장, 복강내, 피내, 경피, 피하, 정맥내, 동맥내, 심장내, 뇌실내, 두개내, 기관내, 수막강내 투여, 근육내 주사, 유리질내(intravitreous) 주사, 및 국소도포를 포함하는, 다양한 방식으로 성취될 수 있다.
- [0426] 본 발명의 약제학적 조성물은 비경구 투여, 즉, 피하, 근육내, 정맥내, 복강내, 뇌척수내, 관절내, 활액내, 및/ 또는 수막강내 투여에 특히 유용하다. 비경구 투여는 볼루스(bolus) 주사 또는 연속 주입에 의한 것일 수 있다. 주사용 약제학적 조성물은 단위 투여형으로, 예를 들면, 앰풀로 또는 다중-용량 용기로, 추가된 보존제와 함께 존재할 수 있다. 추가로, 다수의 최신 약물 전달 접근법이 개발되었고, 본 발명의 약제학적 조성물은 이를 신규한 방법, 예를 들면, Inject-ease®, Genject®, 주사기 펜, 예를 들면, GenPen®, 및 바늘없는 장치, 예를 들면, MediJector® 및 BioJector®를 사용하는 투여에 적합하다. 본 발명의 약제학적 조성물은 또한 앞으로 투여 방법을 발견하여 개조될 수 있다. 또한 문헌을 참조한다[참조: Langer, 1990, Science, 249:1527-1533].
- [0427] 상기 제공된 약제학적 조성물은 또한 데포(depot) 제제로서 제형화될 수 있다. 이러한 장시간 작용하는 제형은 이식(예를 들면, 피하 또는 근육내) 또는 근육내 주사로 투여될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 제형은 적합한 중합체성 또는 소수성 물질(예를 들면, 허용되는 오일 중 에멀젼으로서)로 또는 이온 교환 수지로, 또는 난용성 유도체로서, 예를 들면, 난용성 염으로서 개질될 수 있다.
- [0428] 상기 약제학적 조성물은, 목적하는 경우, 바이알, 팩(pack) 또는 활성 성분을 포함하는 하나 이상의 단위 투여형을 함유할 수 있는 디스펜서 장치로 존재할 수 있다. 하나의 양태에서, 디스펜서 장치는 주사용으로 준비된 액체 제형의 단일 용량을 가진 시린지를 포함할 수 있다. 시린지는 투여를 위한 지시서를 동반할 수 있다.
- [0429] 또다른 양태에서, 본 발명은, 본 발명의 수성 약제학적 조성물을 함유하는 키트 또는 용기를 지시한다. 수성 약제학적 조성물 중 폴리펩티드의 농도는 광범위한 범위에 걸쳐서 변할 수 있지만, 일반적으로 수성 제형의 약 0.05 내지 약 20,000마이크로그램 페 밀리리터($\mu\text{g}/\text{mL}$)의 범위이다. 키트는 또한 사용 지시서를 동반할 수 있다.
- [0430] 블록 A 내지 H의 제형 연구에 참조된 제형에 더하여, 하기 추가의 실시예는, 본 명세서의 부분으로서 이해되는 부록 A 내지 C에 포함된 대표적인 양태들로 제공되는 바와 같이, 본 발명의 추가의 양태들로서 제공된다:
- [0431] 실시예 1
- [0432] 폴리올을 함유하는 안정화된 아달리무맙 제형(단일 완충제);
- [0433] 계면활성제 비합유
- [0434] 아달리무맙을 함유하고, 단일 완충제를 사용하고, 계면활성제를 실질적으로 함유하지 않는, 안정한 수성 약제학적 조성물을 다음과 같이 제조할 수 있다:
- [0435] 각각의 고체 제형 성분을 제형 완충제의 주어진 용적에 대해 요구되는 양으로 청량할 수 있다. 이어서, 이들 성분을 제형 완충제의 제공된 용적을 포함하고 측정할 수 있는 비이커 또는 용기 내로 배합할 수 있다. 목적하는 제공된 제형 완충제의 대략 $\frac{3}{4}$ 과 동등한 탈이온수의 용적은 비이커에 첨가될 수 있고, 성분은 자석 교반 바

의 사용을 통하여 용해될 수 있다. 완충제의 pH를 1molar 수산화나트륨 및/또는 1molar 염화수소를 사용하여 목적하는 제형 pH를 조절할 수 있다. 이어서, 최종 제형 완충제 용적을 탈이온수의 첨가를 통하여 목적하는 용적으로 상승시킬 수 있다. 이어서, 용액을 최종 물 첨가 후 자석 교반 바로 혼합할 수 있다. 이어서, 아달리무맙 용액은 투석 물질 하우징(예를 들면, Thermo Scientific Slide-A-Lyzer MINI Dialysis unit 10,000 MWCO)에서 정착될 수 있고, 이어서, 12시간 동안 4°C에서 목적하는 제형 완충제과 접촉하여 정착될 수 있다. 제형 완충제 용적 대 단백질 용액 용적 비는 1000:1 미만으로 존재하지 않아야 한다. 이어서, 투석 하우징 및 이를 함유하는 단백질 용액을, 두번째, 동일한 용적의 제형 완충제에 추가로 12시간 동안 4°C에서 정착할 수 있다.

[0436] 이어서, 수득된 아달리무맙 용액은 투석 물질 하우징으로부터 제거될 수 있고, 이어서, 아달리무맙의 농도는 자외선 분광법을 사용하여 측정할 수 있다. 이어서, 아달리무맙 농도는 원심분리(예를 들면, Amicon Ultra 10,000 MWCO Centrifugal Concentrators) 및/또는 제형 완충제로의 회석을 사용하여 목적하는 수준으로 조절될 수 있다.

[0437] 본 발명의 샘플 조성물을 하기 표 1에 나타낸다:

표 1

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
만니톨 (불활성 성분)	4%
시트레이트 (pH 5.2) (단일 완충액)	15 mM

[0438]

표 1에 기재된 조성물은 시트레이트와 포스페이트 완충제의 배합물을 함유하지 않는다. 또한, 계면활성제의 존재를 필요로 하지 않는다.

[0440] 실시예 2

폴리올 또는 계면활성제를 함유하지 않는 안정화된 아달리무맙 제형(단일 완충제)

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
시트레이트 (pH 5.2)	15 mM
글리신 (불활성 성분)	100 mM

[0442]

실시예 3

[0444] 폴리올을 함유하고 계면활성제 함유하지 않는 안정화된 아달리무맙 제형(단일 완충제)

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
만니톨 (불활성 성분)	4%
시트레이트 (pH 5.2)	15 mM

[0445]

실시예 2 및 3의 조성물은 장기간 안정성을 갖고, 시트레이트와 포스페이트 완충제의 배합물을 함유하지 않고, 계면활성제의 존재를 요구하지 않는다.

[0447] 실시예 4

계면활성제를 함유하는 안정화된 아달리무맙 제형(단일 완충제);

[0449] 폴리올 비함유

[0450]

4A

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
(폴리올 성분 비함유)	---
히스티딘 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	20 mM
글리신 (안정화제)	50 mM
아르기닌 (안정화제)	130 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0451]

[0452]

4B

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
(폴리올 성분 비함유)	---
히스티딘 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	20 mM
글리신 (안정화제)	120 mM
아르기닌 (안정화제)	100 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0453]

[0454]

4C

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
(폴리올 성분 비함유)	---
히스티딘 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	10 mM
글리신 (안정화제)	50 mM
아르기닌 (안정화제)	130 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0455]

[0456]

4D

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
(폴리올 성분 비함유)	---
석시네이트 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	20 mM
글리신 (안정화제)	50 mM
아르기닌 (안정화제)	130 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0457]

[0458]

4E

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
(폴리올 성분 비함유)	---
석시네이트 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	20 mM
글리신 (안정화제)	120 mM
아르기닌 (안정화제)	100 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0459]

[0460]

4F

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
(폴리올 성분 비함유)	---
석시네이트 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	10 mM
글리신 (안정화제)	50 mM
아르기닌 (안정화제)	130 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0461]

[0462]

상기 실시예 4(a) 내지 4(f)에 기재된 조성물은, 폴리올을 필요로 하지 않고 배합된 완충 시스템을 필요로 하지 않고, 안정성을 수득할 것이다. 본 발명에서 미국 특허 제8,216,583호에서 요구되는 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물이 본 발명에 따른 아달리무맙 제형의 안정화에 요구되지 않는다는 것을 발견하였다는 것에 있어서, 당해 기술 분야의 숙련가들은, 실시예 4(a) 내지 4(f)의 수행시, 추가의 완충제가 본원에 기재된 히스티딘 및 석시네이트 완충제(예: 아세테이트, 시트레이트, 말레이트, 타르트레이트, 및 포스페이트 완충제)과 배합하여 사용될 수 있다는 것을 인지할 수 있다; 단, 제형은 시트레이트와 포스페이트의 완충제 배합물을 사용하지 않는다.

[0463]

실시예 5

[0464]

계면활성제 및 폴리올을 함유하는 안정화된 아달리무맙 제형(단일 완충제);

[0465]

5A

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
소르비톨	65 mM
히스티딘 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	20 mM
아르기닌 (안정화제)	130 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0466]

5B

성분	농도
아달리무맙 (활성 성분)	50 mg/ml
소르비톨	65 mM
석시네이트 완충액 (pH 5.2) (단독 완충액)	20 mM
아르기닌 (안정화제)	130 mM
폴리소르베이트 80	0.1 (wt %) (w/v)

[0468]

- [0469] 블록 연구 A 내지 H에서, 상기 실시예에서, 및 부록 A 내지 C에서, 본 발명의 예시적인 양태들의 상기 기술은 단지 예시 및 설명을 위한 목적으로 제공하고, 본 발명을 기재된 정확한 형태로 완전하게 하거나 한정하지 않음을 의도한다. 다수의 개질 및 변형이 상기 교시를 고려하여 가능하다.
- [0470] 본 발명의 다른 양태들은 본원에 기재된 본 발명의 상세한 설명 및 실시를 고려하여 당해 기술 분야의 숙련가들에게 명백할 것이다. 명세서 및 실시예는 하기 특허청구범위에 의해 지시된 본 발명의 진정한 범위 및 취지를 포함하는 단지 예시로서 고려되는 것을 의도한다.
- [0471] 부록 A
- [0472] 추가의 대표적인 양태들
- [0473] (우선권 주장 출원 USSN 제61/698,138호에 기재됨)
- [0474] A. 아달리무맙, 폴리올, 계면활성제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 완충제는 시트레이트 및 포스페이트 둘 다를 포함하지 않는다.
- [0475] B. 아달리무맙, 폴리올, 및 계면활성제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 완충제를 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0476] C. 양태들 A 내지 B 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 내지 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0477] D. 양태들 A 내지 C 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 내지 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0478] E. 양태들 A 내지 D 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 30 내지 약 50mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0479] F. 양태들 A 내지 E 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 내지 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0480] G. 양태들 A 내지 F 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 내지 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0481] H. 양태들 A 내지 G 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 내지 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0482] I. 양태들 A 내지 G 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.
- [0483] J. 양태 I의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.
- [0484] K. 양태들 A 내지 J 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0485] L. 양태 K의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0486] M. 양태 L의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0487] N. 양태들 L 내지 M 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0488] O. 양태들 L 내지 N 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0489] P. 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함하는 양태들 A 내지 O 중 어느 것의 조성물.
- [0490] Q. 양태 P의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0491] R. 양태 P의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0492] S. 양태 P의 조성물, 여기서, 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로부터 선택된다.
- [0493] T. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서,

상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 포스페이트를 실질적으로 함유하지 않는다.

- [0494] U. 아달리무맙, 폴리올; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 계면활성제를 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0495] V. 양태 U의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0496] W. 양태들 U 내지 V 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0497] X. 양태들 U 내지 V 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0498] Y. 양태들 U 내지 Y 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0499] Z. 양태들 U 내지 Y 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0500] AA. 양태들 U 내지 Z 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0501] BB. 양태들 U 내지 AA 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0502] CC. 양태 BB의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0503] DD. 양태 CC의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0504] EE. 양태들 CC 내지 DD 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0505] FF. 양태들 CC 내지 EE 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0506] GG. 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함하는, 양태들 CC 내지 FF 중 어느 것의 조성물.
- [0507] HH. 양태 GG의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0508] II. 양태 GG의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0509] JJ. 양태 GG의 조성물, 여기서, 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로부터 선택된다.
- [0510] KK. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 계면활성제를 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0511] LL. 아달리무맙, 완충제; 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0512] MM. 양태 LL의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0513] NN. 양태들 LL 내지 MM 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0514] OO. 양태들 LL 내지 NN 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0515] PP. 양태들 LL 내지 OO 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0516] QQ. 양태들 LL 내지 PP 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0517] RR. 양태들 LL 내지 QQ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.

- [0518] SS. 양태 LL의 조성물, 여기서, 상기 안정제는 아미노산, 염, EDTA 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0519] TT. 양태 SS의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌 및 아르기닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0520] UU. 양태 SS의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0521] VV. 양태 TT의 조성물, 여기서, 상기 글리신은 약 20 내지 약 200mM의 농도로 존재한다.
- [0522] WW. 양태 VV의 조성물, 여기서, 상기 글리신은 약 50 내지 약 200mM의 농도로 존재한다.
- [0523] XX. 양태 SS의 조성물, 여기서, 상기 아르기닌은 약 1 내지 약 250mM의 농도로 존재한다.
- [0524] YY. 양태 XX의 조성물, 여기서, 상기 아르기닌은 약 20 내지 약 200mM의 농도로 존재한다.
- [0525] ZZ. 양태 YY의 조성물, 여기서, 상기 아르기닌은 약 20 내지 약 100mM의 농도로 존재한다.
- [0526] AAA. 양태 UU의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 5 내지 약 150mM의 농도로 존재한다.
- [0527] BBB. 양태 AAA의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 20 내지 약 140mM의 농도로 존재한다.
- [0528] CCC. 양태 BBB의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 75 내지 약 125mM의 농도로 존재한다.
- [0529] DDD. 양태 UU의 조성물, 여기서, 상기 황산나트륨은 약 5 내지 약 150mM의 농도로 존재한다.
- [0530] EEE. 양태 UU의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 20 내지 약 120mM의 농도로 존재한다.
- [0531] FFF. 양태 EEE의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 60 내지 약 100mM의 농도로 존재한다.
- [0532] GGG. 계면활성제를 추가로 포함하는 양태들 LL 내지 FF 중 어느 것의 조성물.
- [0533] HHH. 양태 GGG의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.
- [0534] III. 양태 HHH의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.
- [0535] JJJ. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 20 내지 약 200mM 농도의 글리신, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0536] KKK. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 250mM 농도의 아르기닌, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0537] LLL. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 5 내지 약 150mM 농도의 염화나트륨, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0538] MMM. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 5 내지 약 150mM 농도의 염화나트륨, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0539] NNN. 아달리무맙, 폴리올, 계면활성제; 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이다.
- [0540] 000. 양태 NNN의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 포함하지 않는다.
- [0541] PPP. 양태 NNN의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0542] QQQ. 양태들 NNN 내지 PPP 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0543] RRR. 양태들 NNN 내지 QQQ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존

재한다.

- [0544] SSS. 양태들 NNN 내지 RRR 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0545] TTT. 양태들 NNN 내지 SSS 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0546] UUU. 양태들 NNN 내지 TTT 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0547] VVV. 양태들 NNN 내지 UUU 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.
- [0548] WWW. 양태 VVV의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.
- [0549] XXX. 양태들 NNN 내지 WWW 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0550] YYY. 양태 XXX의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0551] ZZZ. 양태 XXX의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0552] AAAA. 양태들 XXX 내지 ZZZ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0553] BBBB. 양태들 YYY 내지 AAAA 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0554] CCCC. 양태들 NNN 내지 BBBB 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 안정제는 EDTA이다.
- [0555] DDDD. 양태 CCCC의 조성물, 여기서, 상기 EDTA는 약 0.01% 내지 약 0.5%의 농도로 존재한다.
- [0556] EEEE. 양태 DDDD의 조성물, 여기서, 상기 EDTA는 약 0.05% 내지 약 0.25%의 농도로 존재한다.
- [0557] FFFF. 양태 EEEE의 조성물, 여기서, 상기 EDTA는 약 0.08% 내지 약 0.2%의 농도로 존재한다.
- [0558] GGGG. 양태들 NNN 내지 BBBB 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 안정제는 메티오닌이다.
- [0559] HHHH. 양태 GGGG의 조성물, 여기서, 상기 메티오닌은 약 1 내지 약 10mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0560] IIII. 양태 GGGG의 조성물, 여기서, 상기 메티오닌은 약 1 내지 약 5mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0561] JJJJ. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 약 0.01% 내지 약 0.5% 농도의 EDTA, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이다.
- [0562] KKKK. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 약 1 내지 약 10mg/ml 농도의 메티오닌, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이다.
- [0563] LLLL. 아달리무맙, 폴리올; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 3.5이다.
- [0564] MMMM. 양태 LLLL의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0565] NNNN. 양태들 LLLL 내지 MMMM 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0566] 0000. 양태들 LLLL 내지 NNNN 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0567] PPPP. 양태들 LLLL 내지 0000 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.

- [0568] QQQQ. 양태들 LLLL 내지 PPPP 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0569] RRRR. 양태들 LLLL 내지 QQQQ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0570] SSSS. 양태들 LLLL 내지 RRRR 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0571] TTTT. 양태 SSSS의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0572] UUUU. 양태 TTTT의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 약 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0573] VVVV. 양태들 TTTT 내지 UUUU 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 약 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0574] WWWW. 양태들 TTTT 내지 VVVV 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 약 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0575] XXXX. 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함하는, 양태들 LLLL 내지 WWWW 중 어느 것의 조성물.
- [0576] YYYY. 양태 XXXX의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0577] ZZZZ. 양태 XXXX의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0578] AAAAA. 양태 XXXX의 조성물, 여기서, 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로부터 선택된다.
- [0579] BBBBB. 계면활성제를 추가로 포함하는 양태들 TTTT 내지 AAAAA 중 어느 것의 조성물.
- [0580] CCCCC. 양태 BBBBB의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.
- [0581] DDDDD. 양태 CCCCC의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.
- [0582] **부록 B**
- [0583] 추가의 대표적인 양태들
- [0584] (우선권 주장 출원 USSN 제61/770,421호에 기재됨)
- [0585] A. 아달리무맙, 폴리올, 계면활성제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 완충제는 시트레이트 및 포스페이트 둘 다를 포함하지 않는다.
- [0586] B. 아달리무맙, 폴리올, 및 계면활성제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 완충제를 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0587] C. 양태들 A 내지 B 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 내지 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0588] D. 양태들 A 내지 C 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 내지 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0589] E. 양태들 A 내지 D 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 30 내지 약 50mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0590] F. 양태들 A 내지 E 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 내지 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0591] G. 양태들 A 내지 F 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 내지 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0592] H. 양태들 A 내지 G 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 내지 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0593] I. 양태들 A 내지 H 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.

- [0594] J. 양태 I의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.
- [0595] K. 양태들 A 내지 J 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0596] L. 양태 K의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0597] M. 양태 L의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0598] N. 양태들 L 내지 M 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0599] O. 양태들 L 내지 N 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0600] P. 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함하는, 양태들 A 내지 O 중 어느 것의 조성물.
- [0601] Q. 양태 P의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0602] R. 양태 P의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0603] S. 양태 P의 조성물, 여기서, 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로부터 선택된다.
- [0604] T. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 포스페이트를 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0605] U. 아달리무맙, 폴리올; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 히스티딘, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 계면활성제를 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0606] V. 양태 U의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0607] W. 양태들 U 내지 V 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0608] X. 양태들 U 내지 W 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0609] Y. 양태들 U 내지 X 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0610] Z. 양태들 U 내지 Y 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0611] AA. 양태들 U 내지 Z 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0612] BB. 양태들 U 내지 AA 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0613] CC. 양태 BB의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0614] DD. 양태 CC의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0615] EE. 양태들 CC 내지 DD 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0616] FF. 양태들 CC 내지 EE 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0617] GG. 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함하는, 양태들 U 내지 FF 중 어느 것의 조성물.
- [0618] HH. 양태 GG의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이

루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0619] II. 양태 GG의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0620] JJ. 양태 GG의 조성물, 여기서, 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로부터 선택된다.

[0621] KK. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 계면활성제를 실질적으로 함유하지 않는다.

[0622] LL. 아달리무맙, 완충제; 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.

[0623] MM. 양태 LL의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.

[0624] NN. 양태들 LL 내지 MM 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.

[0625] OO. 양태들 LL 내지 NN 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존재한다.

[0626] PP. 양태들 LL 내지 OO 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.

[0627] QQ. 양태들 LL 내지 PP 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.

[0628] RR. 양태들 LL 내지 QQ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.

[0629] SS. 양태 LL의 조성물, 여기서, 상기 안정제는 아미노산, 염, EDTA 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0630] TT. 양태 TT의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌 및 아르기닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0631] UU. 양태 TT의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0632] VV. 양태 TT의 조성물, 여기서, 상기 글리신은 약 20 내지 약 200mM의 농도로 존재한다.

[0633] WW. 양태 VV의 조성물, 여기서, 상기 글리신은 약 50 내지 약 200mM의 농도로 존재한다.

[0634] XX. 양태 TT의 조성물, 여기서, 상기 아르기닌은 약 1 내지 약 250mM의 농도로 존재한다.

[0635] YY. 양태 XX의 조성물, 여기서, 상기 아르기닌은 약 20 내지 약 200mM의 농도로 존재한다.

[0636] ZZ. 양태 YY의 조성물, 여기서, 상기 아르기닌은 약 20 내지 약 100mM의 농도로 존재한다.

[0637] AAA. 양태 UU의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 5 내지 약 150mM의 농도로 존재한다.

[0638] BBB. 양태 AAA의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 20 내지 약 140mM의 농도로 존재한다.

[0639] CCC. 양태 AAA의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 75 내지 약 125mM의 농도로 존재한다.

[0640] DDD. 양태 UU의 조성물, 여기서, 상기 황산나트륨은 약 5 내지 약 150mM의 농도로 존재한다.

[0641] EEE. 양태 UU의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 20 내지 약 120mM의 농도로 존재한다.

[0642] FFF. 양태 EEE의 조성물, 여기서, 상기 염화나트륨은 약 60 내지 약 100mM의 농도로 존재한다.

[0643] GGG. 계면활성제를 추가로 포함하는 양태들 LL 내지 FF 중 어느 것의 조성물.

[0644] HHH. 양태 GGG의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.

[0645] III. 양태 HHH의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.

[0646] JJJ. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 20 내지 약 200mM 농도의 글리신, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.

- [0647] KKK. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 250mM 농도의 아르기닌, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0648] LLL. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 5 내지 약 150mM 농도의 염화나트륨, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0649] MMM. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 5 내지 약 150mM 농도의 염화나트륨, 약 1 내지 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0650] NNN. 아달리무맙, 폴리올, 계면활성제; 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이다.
- [0651] 000. 양태 NNN의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 시트레이트와 포스페이트의 배합물을 포함하지 않는다.
- [0652] PPP. 양태 NNN의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0653] QQQ. 양태들 NNN 내지 PPP 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0654] RRR. 양태들 NNN 내지 QQQ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0655] SSS. 양태들 NNN 내지 RRR 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0656] TTT. 양태들 NNN 내지 SSS 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0657] UUU. 양태들 NNN 내지 TTT 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0658] VVV. 양태들 NNN 내지 UUU 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.
- [0659] WWW. 양태 VVV의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.
- [0660] XXX. 양태들 NNN 내지 WWW 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0661] YYY. 양태 XXX의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0662] ZZZ. 양태 YYY의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0663] AAAA. 양태들 YYY 내지 ZZZ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0664] BBBB. 양태들 YYY 내지 AAAA 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0665] CCCC. 양태들 NNN 내지 BBBB 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 안정제는 EDTA이다.
- [0666] DDDD. 양태 CCCC의 조성물, 여기서, 상기 EDTA는 약 0.01% 내지 약 0.5%의 농도로 존재한다.
- [0667] EEEE. 양태 DDDD의 조성물, 여기서, 상기 EDTA는 약 0.05% 내지 약 0.25%의 농도로 존재한다.
- [0668] FFFF. 양태 EEEE의 조성물, 여기서, 상기 EDTA는 약 0.08% 내지 약 0.2%의 농도로 존재한다.
- [0669] GGGG. 양태들 NNN 내지 BBBB 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 안정제는 메티오닌이다.
- [0670] HHHH. 양태 GGGG의 조성물, 여기서, 상기 메티오닌은 약 1 내지 약 10mg/ml의 농도로 존재한다.

- [0671] IIII. 양태 GGGG의 조성물, 여기서, 상기 메티오닌은 약 1 내지 약 5mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0672] JJJJ. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 약 0.01% 내지 약 0.5% 농도의 EDTA, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이다.
- [0673] KKKK. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 10%(w/v) 농도의 만니톨, 약 1 내지 약 10mg/ml 농도의 메티오닌, 약 5mM 및 약 50mM 농도의 시트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이다.
- [0674] LLLL. 아달리무맙, 폴리올; 및 시트레이트, 포스페이트, 석시네이트, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 3.5이다.
- [0675] MMMM. 양태 LLLL의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0676] NNNN. 양태들 LLLL 내지 MMMM 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 100mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0677] 0000. 양태들 LLLL 내지 NNNN 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 및 약 40mg/ml의 농도로 존재한다.
- [0678] PPPP. 양태들 LLLL 내지 0000 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 50mM의 농도로 존재한다.
- [0679] QQQQ. 양태들 LLLL 내지 PPPP 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0680] RRRR. 양태들 LLLL 내지 QQQQ 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 10mM 및 약 20mM의 농도로 존재한다.
- [0681] SSSS. 양태들 LLLL 내지 RRRR 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.
- [0682] TTTT. 양태 SSSS의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 만니톨, 소르비톨 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0683] UUUU. 양태 TTTT의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 1 내지 약 10%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0684] VVVV. 양태들 TTTT 내지 UUUU 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 2 내지 약 6%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0685] WWWW. 양태들 TTTT 내지 VVVV 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 만니톨은 전체 조성물의 약 3 내지 약 5%(w/v)의 농도로 존재한다.
- [0686] XXXX. 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함하는 양태들 LLLL 내지 WWWW 중 어느 것의 조성물.
- [0687] YYYY. 양태 XXXX의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0688] ZZZZ. 양태 XXXX의 조성물, 여기서, 상기 염은 염화나트륨 및 황산나트륨으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0689] AAAAA. 양태 XXXX의 조성물, 여기서, 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로부터 선택된다.
- [0690] BBBBB. 계면활성제를 추가로 포함하는 양태들 LLLL 내지 AAAAA 중 어느 것의 조성물.
- [0691] CCCCC. 양태 BBBBB의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.
- [0692] DDDDD. 양태 CCCCC의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.
- [0693] EEEEE. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80; 약 1 내지 약 10%(w/v) 농도의 소르비톨, 만니톨 또는 트레할로스로부터 선택되는 폴리올, 및 (a) 약 1 내지 약 250mg/ml

농도의 아르기닌 및 (b) 약 20 내지 200mg/ml 농도의 글리신으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 적어도 하나의 아미노산 안정제, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 히스티딘 완충제 또는 석시네이트 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이다.

[0694] FFFFF. 양태 EEEEE의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 소르비톨이고, 상기 조성물은 어떠한 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물도 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않고, 상기 제형은 아르기닌 또는 글리신을 포함하지만, 둘 다 포함하지 않는다.

[0695] GGGGG. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 약 1 내지 약 50 μ M 농도의 폴리소르베이트 80, 약 1 내지 약 250mg/ml 농도의 아르기닌, 약 20 내지 200mg/ml 농도의 글리신, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 히스티딘 완충제 또는 석시네이트 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 폴리올을 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.

[0696] HHHHH. 양태 GGGGG의 조성물, 여기서, 상기 조성물은 어떠한 시트레이트/포스페이트 완충제 배합물도 함유하지 않거나 실질적으로 함유하지 않는다.

부록 C

[0698] 추가의 대표적인 양태들

[0699] (우선권 주장 출원 USSN 제61/769,581호에 기재됨)

[0700] A. 아달리무맙 및 단일 완충제를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물.

[0701] B. 양태 A의 조성물, 여기서, 상기 단일 완충제는 석시네이트, 히스티딘, 시트레이트, 포스페이트, 타르트레이트 및 말레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0702] C. 이전 양태들 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 6이다.

[0703] D. 이전 양태들 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 약제학적 조성물에 함유된 상기 아달리무맙은, 저장 초기의 조성물의 활성에 비하여 이의 활성을 20% 초과로 손실하지 않는다.

[0704] E. 계면활성제를 추가로 포함하는, 이전 양태들 중 어느 것의 조성물.

[0705] F. 양태 E의 조성물, 여기서, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트이다.

[0706] G. 양태 F의 조성물, 여기서, 상기 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80이다.

[0707] H. 폴리올을 추가로 포함하는, 이전 양태들 중 어느 것의 조성물.

[0708] I. 양태 H의 조성물, 여기서, 상기 폴리올은 당 알코올이다.

[0709] J. 양태 I의 조성물, 여기서, 상기 당 알코올은 소르비톨이다.

[0710] K. 당을 추가로 포함하는, 이전 양태들 중 어느 것의 조성물.

[0711] L. 양태 K의 조성물, 여기서, 상기 당은 수크로스 및 트레할로스로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0712] M. 이전 양태들 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 아달리무맙은 약 20 내지 약 150mg/ml의 농도로 존재한다.

[0713] N. 이전 양태들 중 어느 것의 조성물, 여기서, 상기 완충제는 약 5mM 내지 약 50mM의 농도로 존재한다.

[0714] O. 아미노산, 염, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 금속 이온으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 안정제를 추가로 포함하는 양태들 A 내지 N 중 어느 것의 조성물.

[0715] P. 양태 O의 조성물, 여기서, 상기 아미노산은 글리신, 알라닌, 글루타메이트, 아르기닌 및 메티오닌으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

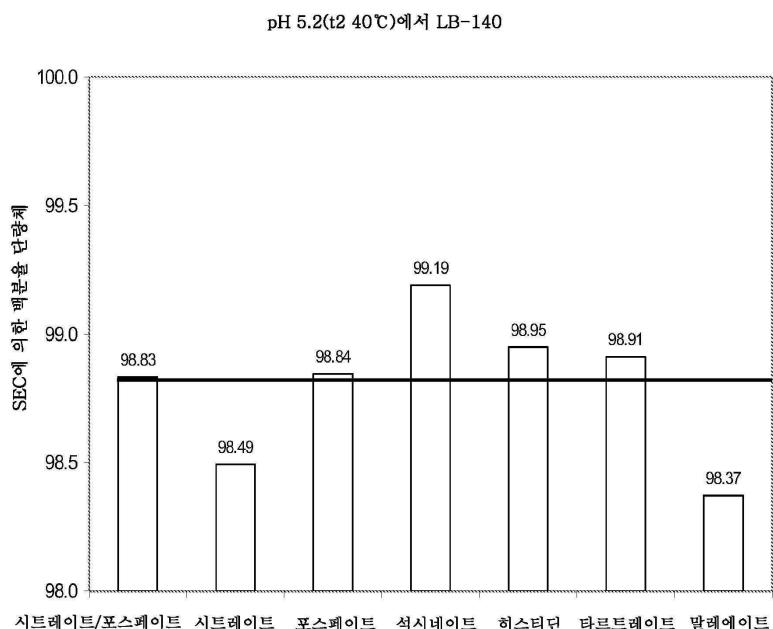
[0716] Q. 양태 O의 조성물, 여기서, 상기 금속 이온은 아연, 마그네슘 및 칼슘으로부터 선택된다.

[0717] R. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 전체 제형의 중량을 기준으로 하여 약 0.01% w/v 내지 0.5% w/v 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 석시네이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 어떠한 다른 완충제도 실질적으로 함유하지 않는다.

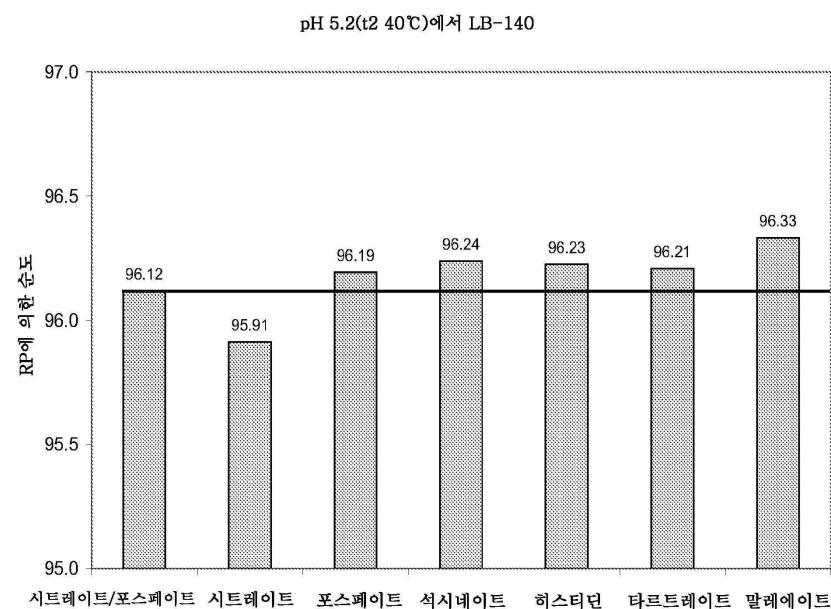
- [0718] S. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 전체 제형의 중량을 기준으로 하여 약 0.01% w/v 내지 0.5% w/v 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 히스티딘을 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 어떠한 다른 완충제도 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0719] T. 약 20 및 약 150mg/ml 농도의 아달리무맙, 전체 제형의 중량을 기준으로 하여 약 0.01% w/v 내지 0.5% w/v 농도의 폴리소르베이트 80, 및 약 5mM 및 약 50mM 농도의 타르트레이트를 포함하는 안정한 수성 약제학적 조성물, 여기서, 상기 조성물의 pH는 약 5 내지 약 5.5이고, 상기 조성물은 어떠한 다른 완충제도 실질적으로 함유하지 않는다.
- [0720] U. 이전 양태들 중 어느 것의 조성물의 치료학적 유효량을 상기 포유동물에게 투여함을 포함하는, 포유동물의 치료 방법, 여기서, 상기 포유동물은 아달리무맙으로 유익하게 치료될 수 있는 질환 또는 장애를 갖는다.
- [0721] V. 양태 U의 방법, 여기서, 상기 질환 또는 장애는 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 베게너병 (육아종증), 크론병(또는 염증성장질환), 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), C형 간염, 자궁내막증, 천식, 악액질, 건선, 및 아토피 피부염으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

도면

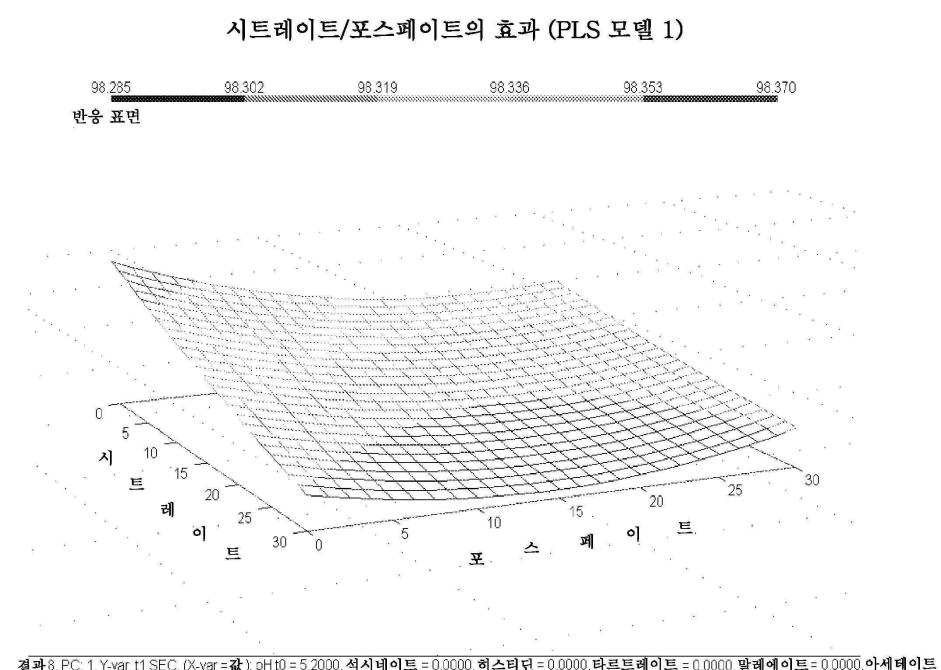
도면1



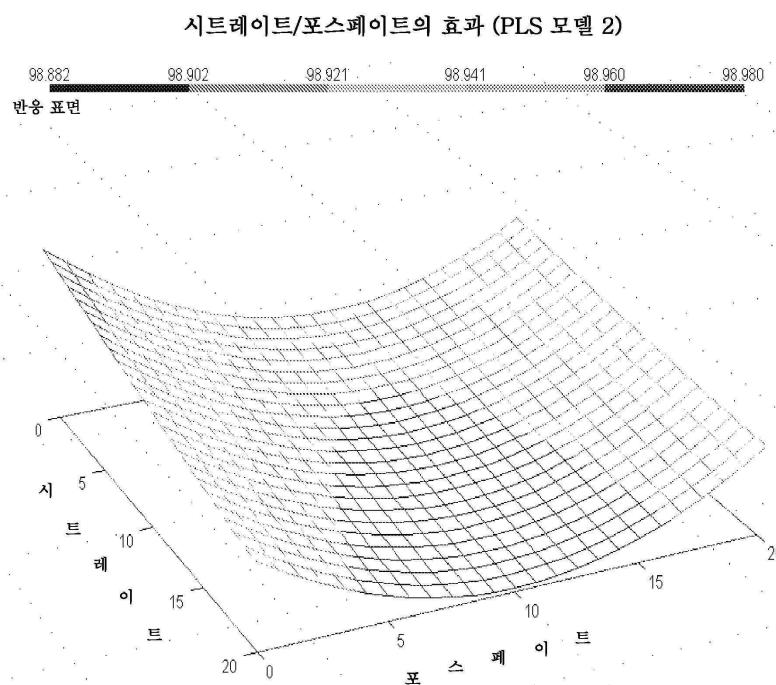
도면2



도면3

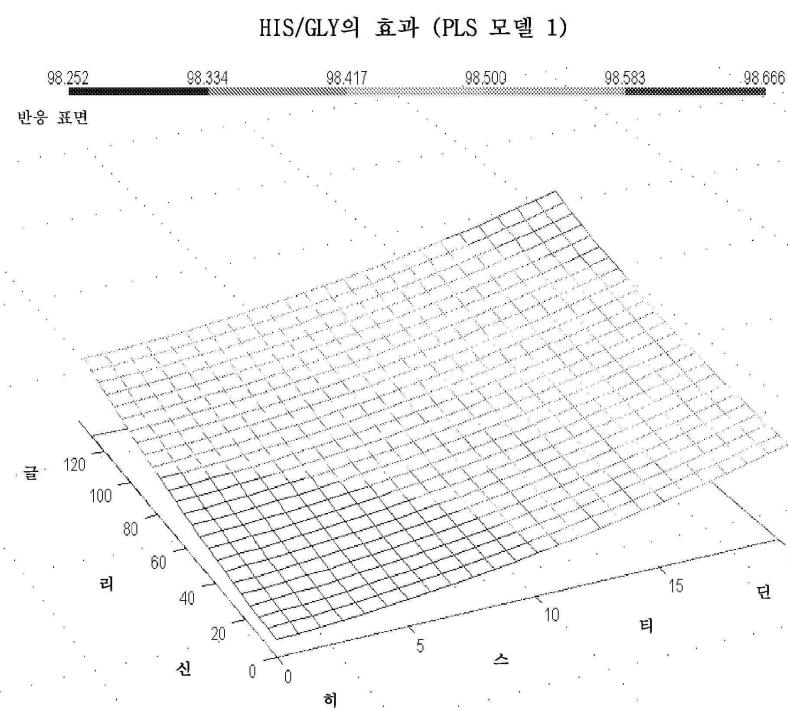


도면4



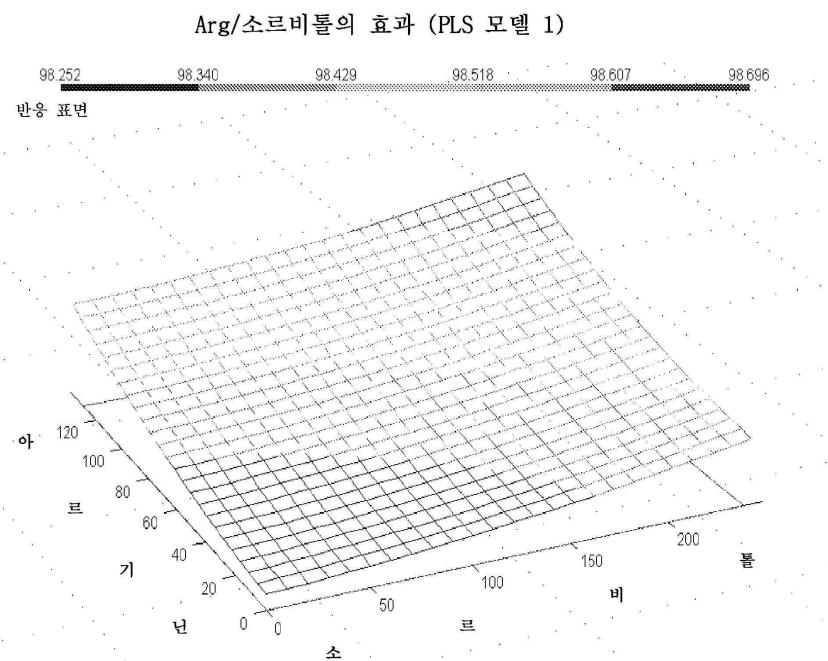
LB-140 블록 B..., PC: 1, Y-var: t2 SEC, (X-var = 값) pHt0 = 5.2000, 석시네이트 = 0.0000, 히스티딘 = 0.0000, 아세테이트 = 0.0000, 글리신 = 0.0000

도면5



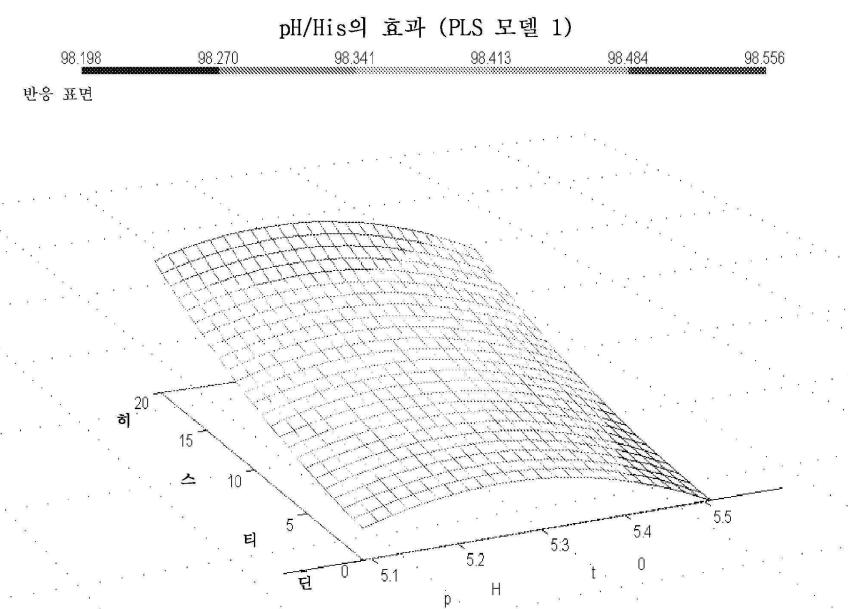
LB-140 SEC t1 M..., PC: 1, Y-var: t1 SEC, (X-var = 값) pHt0 = 5.2000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 타르트레이트 = 0.0000, m...

도면6



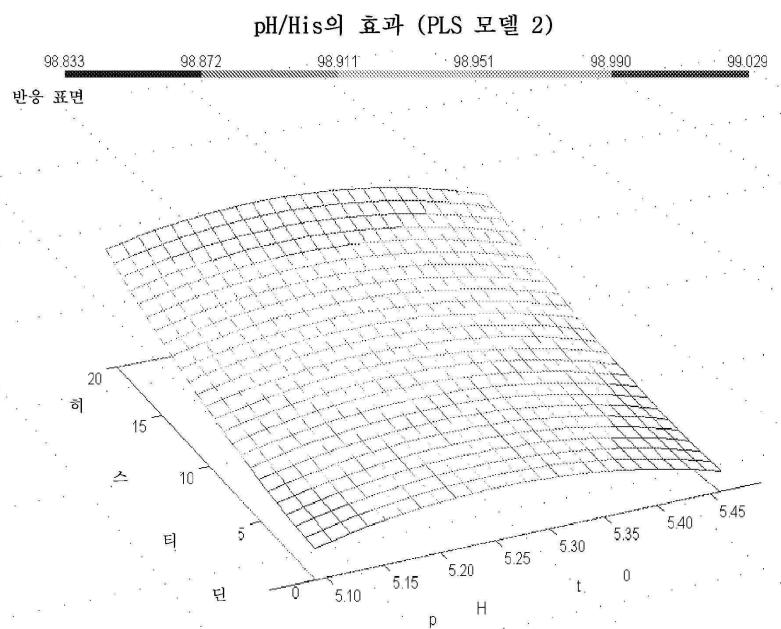
LB-140 SEC t1 M... PC: 1, Y-var: t1 SEC, (X-var = 欲) pH t0 = 5.2000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 히스티딘 = 0.0000, t

도면7



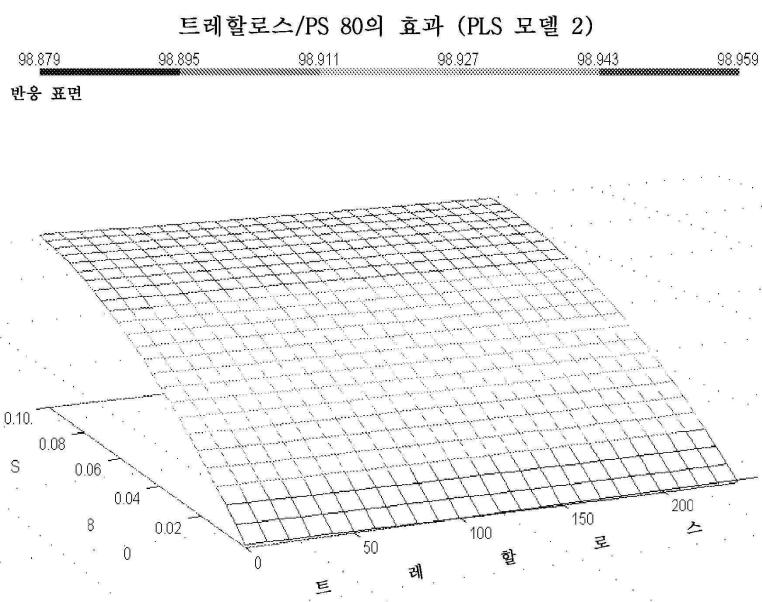
LB-140 Block BC... PC: 1, Y-var: t1 SEC, (X-var = 欲) 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 타르트레이트 = 0.0000, 말레이트 = 0.0000,

도면8



LB-140 SEC t2 M... PC: 1, Y-var: t2 SEC, (X-var = 값): 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 글리신 = 0.0000, 아르기닌 = 0.0000,

도면9

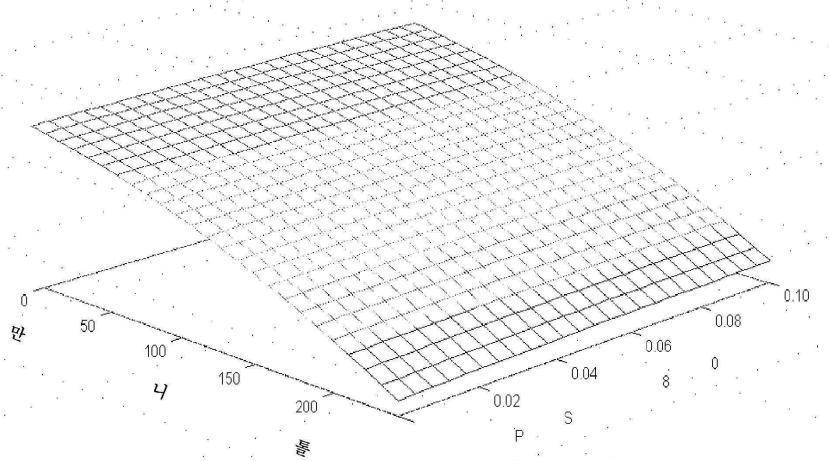


LB-140 SEC t2 M... PC: 1, Y-var: t2 SEC, (X-var = 값): pH t0 = 5.2000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 히스티딘 = 0.0000, 씽

도면10

만니톨/PS 80(pH 5.2)의 효과 (PLS 모델 2)

98.681 98.744 98.806 98.869 98.932 98.995
반응 표면

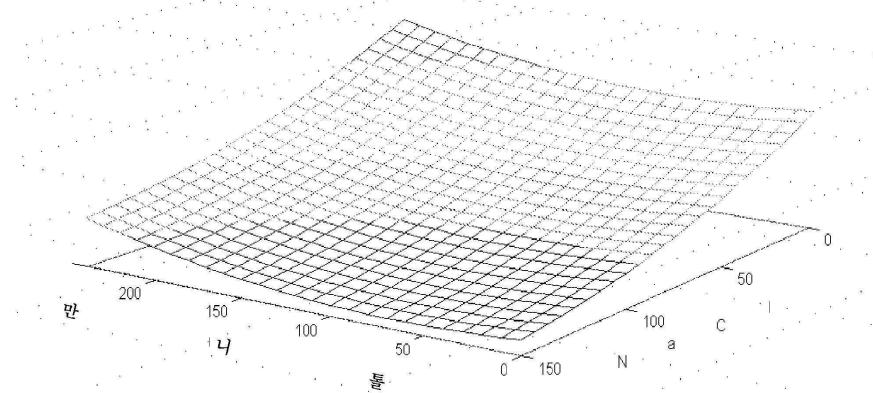


LB-140 블록 B... PC: 1, Y-var: t2 SEC, (X-var = pH): pH t0 = 5.2000, 시트레이트=0.0000, 포스페이트=0.0000, 석시네이트=0.0000, 헤스티딘=0.0000, 아

도면11

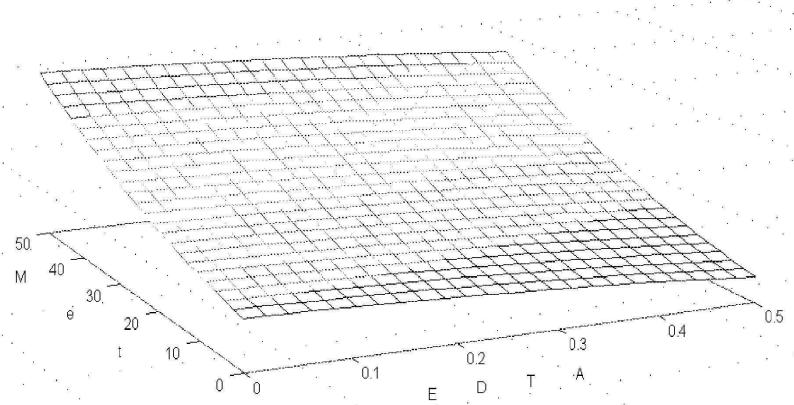
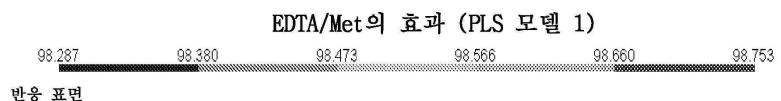
만니톨/NaCl(pH 5.2)의 효과 (PLS 모델 1)

98.213 98.254 98.295 98.335 98.376 98.417
반응 표면



결과8, PC: 1, Y-var: t1 SEC, (X-var = pH): pH t0 = 5.2000, 시트레이트=0.0000, 포스페이트=0.0000, 석시네이트=0.0000, 헤스티딘=0.0000, 타르트레이트=0

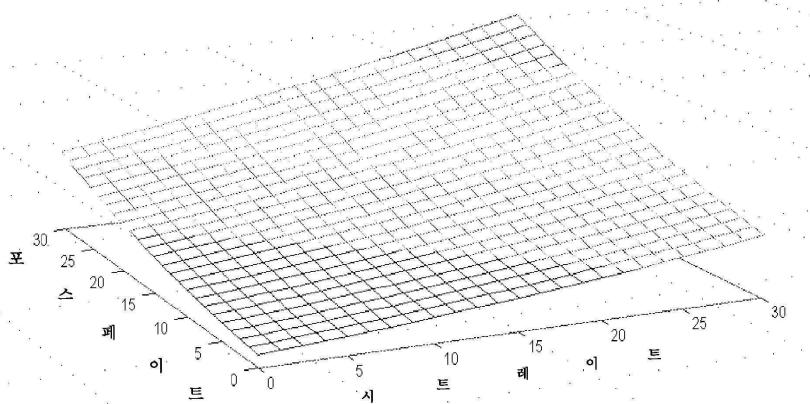
도면12



결과 8, PC: 1, Y-var: t1 SEC, (X-var = 값) pH t0 = 5.2000, 시트레이트=0.0000, 포스페이트=0.0000, 석시네이트=0.0000, 히스티딘=0.0000, 타르트레이트=0

도면13

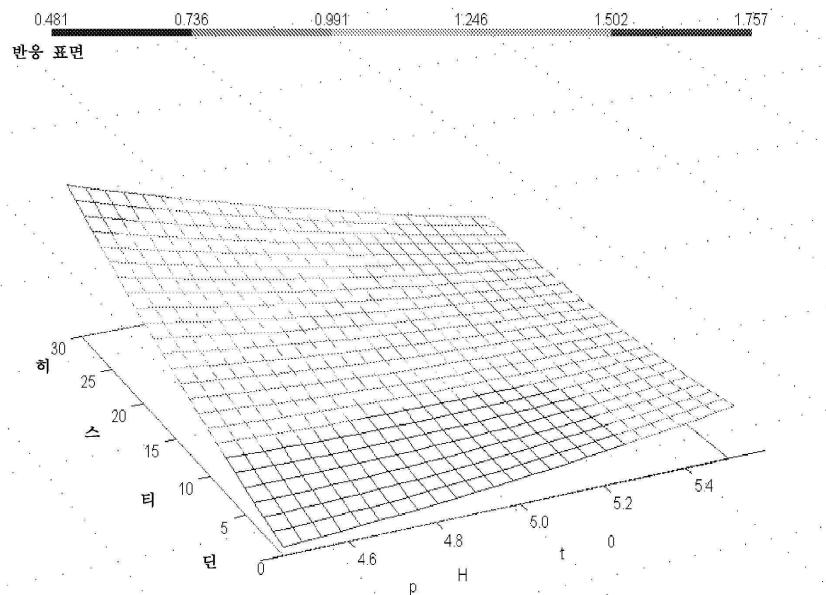
종점으로서 t1에서의 단량체 함량의 차이를 사용하는 PLS 모델 A에 따른 시트레이트 및 포스페이트의 효과. pH는 5.2에서 고정되고, 단백질은 50mg/ml에서 고정된다.



결과 2, PC: 3, Y-var: SEC diff, (X-var = 값) pH t0 = 5.2000, 단백질 = 50.0000, 석시네이트=0.0000, 히스티딘=0.0000, 아세테이트=0.0000, glycine

도면14

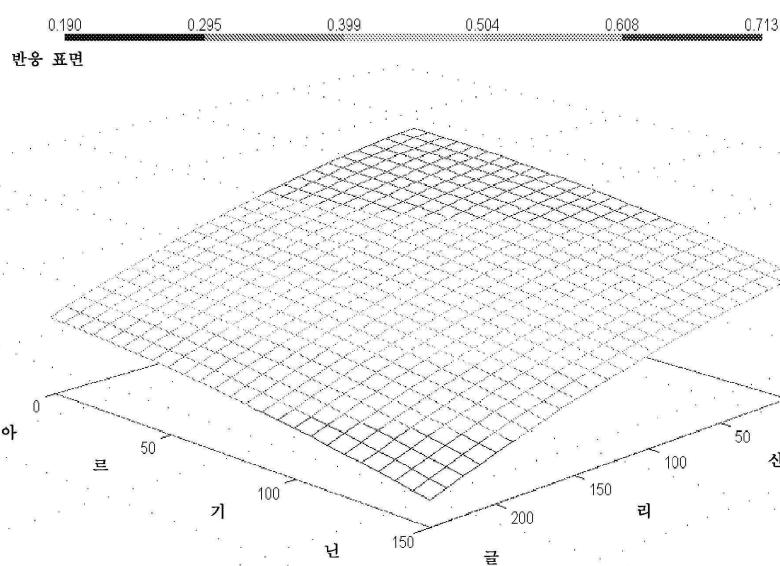
종점으로서 t1에서의 단량체 함량의 차이를 사용하는
PLS 모델 A에 따르는 pH 및 His의 효과. 단백질 농도는
50mg/ml에서 고정된다.



결과 2, PC: 3, Y-var: SEC diff, (X-var = 값) 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 아세테이트 = 0.0000, 글리신

도면15

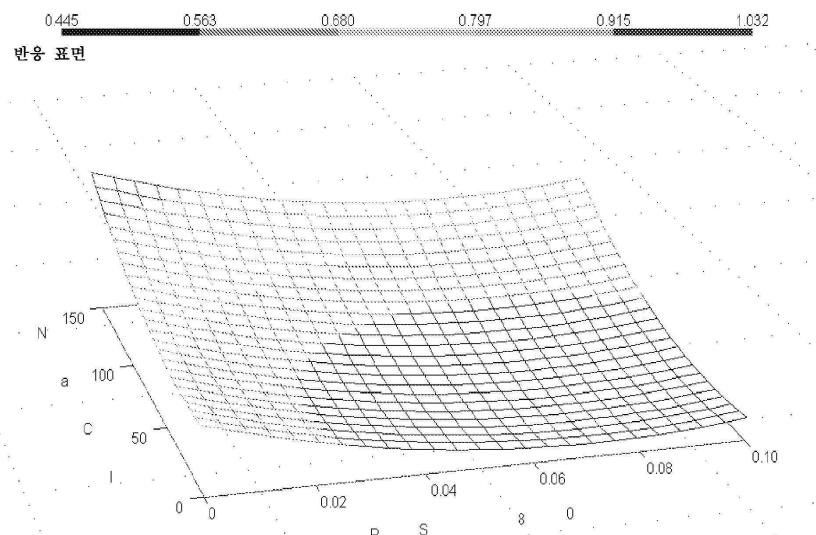
종점으로서 t1에서의 단량체 함량의 차이를 사용하는
PLS 모델 A에 따르는 Gly 및 Arg의 효과. pH는 5.2에서
고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



결과 2, PC: 3, Y-var: SEC diff, (X-var = 값) pH t0=5.2000, 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 히스티딘 :

도면16

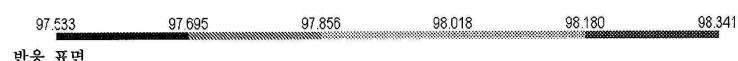
종점으로서 t_1 에서의 단량체 함량의 차이를 사용하는
PLS 모델 A에 따르는 NaCl 및 폴리소르베이트 80 (PS 80)의 효과.
 pH 는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



결과 2, PC: 3, Y-var: SEC diff, (X-var = NaCl), $\text{pH} t_0 = 5.2000$, 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 시트레이트 = 0.0000, 히스티딘 = 0.0000

도면17

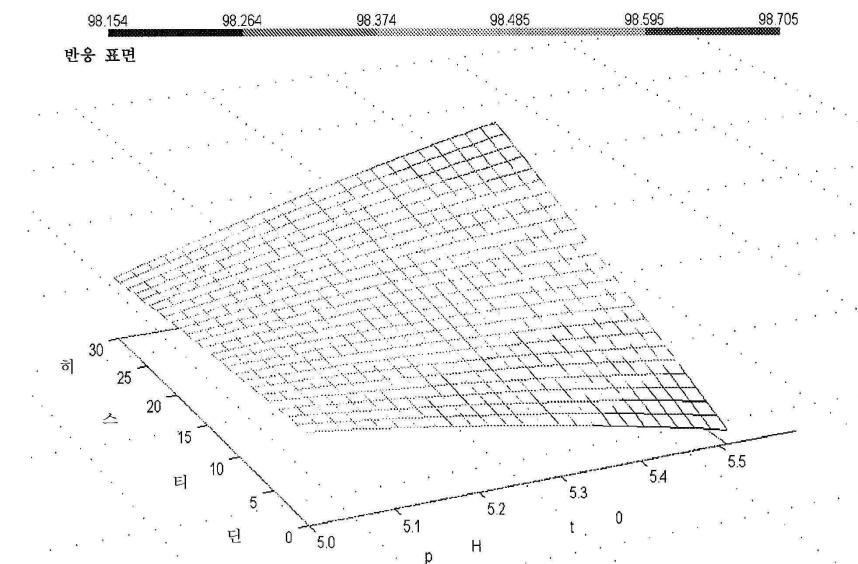
종점으로서 t_1 및 t_2 에서의 단량체 함량을 사용하는
PLS 모델 B에 따르는 시트레이트 및 포스페이트의 효과.
 pH 는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



LB-140 PLS2 SEC..., PC: 4, Y-var: t1 SEC, (X-var = Citrate), $\text{pH} t_0 = 5.2000$, 단백질 = 50.0000, 석시네이트 = 0.0000, 히스티딘 = 0.0000, 아세테이트 = 0.0000

도면18

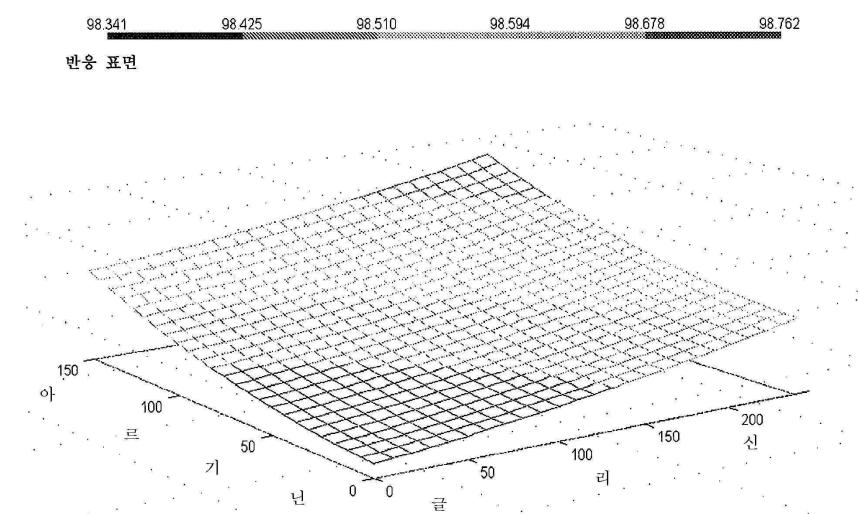
종점으로서 t1 및 t2에서의 단량체 함량을 사용하는 PLS 모델
B에 따르는 pH 및 His의 효과.
단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



LB-140 PLS2 SEC..., PC. 4, Y-var. t1 SEC, (X-var = 액), 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 아세테이트 = 0.0000

도면19

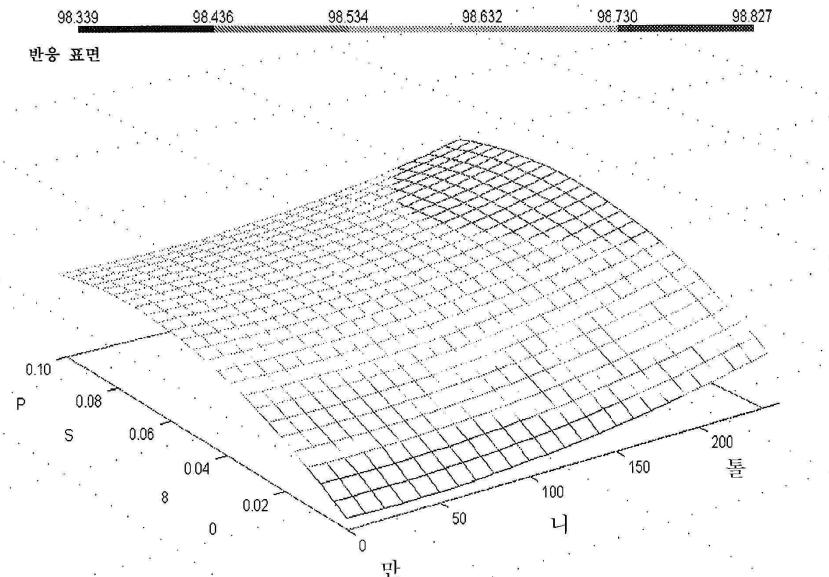
종점으로서 t1 및 t2에서의 단량체 함량을 사용하는 PLS 모델
B에 따르는 Arg 및 Gly의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



LB-140 PLS2 SEC..., PC. 4, Y-var. t1 SEC, (X-var = 액), pH t0 = 5.2000, 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000,

도면20

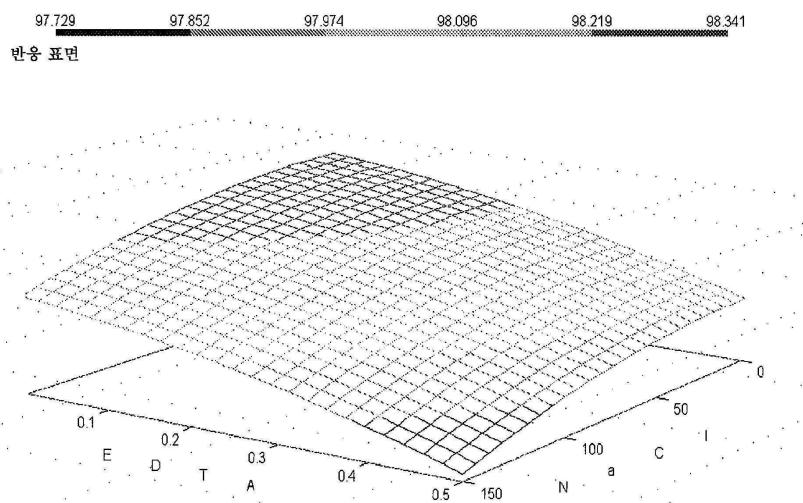
종점으로서 t1 및 t2에서의 단량체 함량을 사용하는 PLS 모델 B에 따르는 PS 80 및 만니톨의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



LB-140 PLS2 SEC... PC: 4, Y-var: t1 SEC, (X-var = β); pH t0 = 5.2000, 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000,

도면21

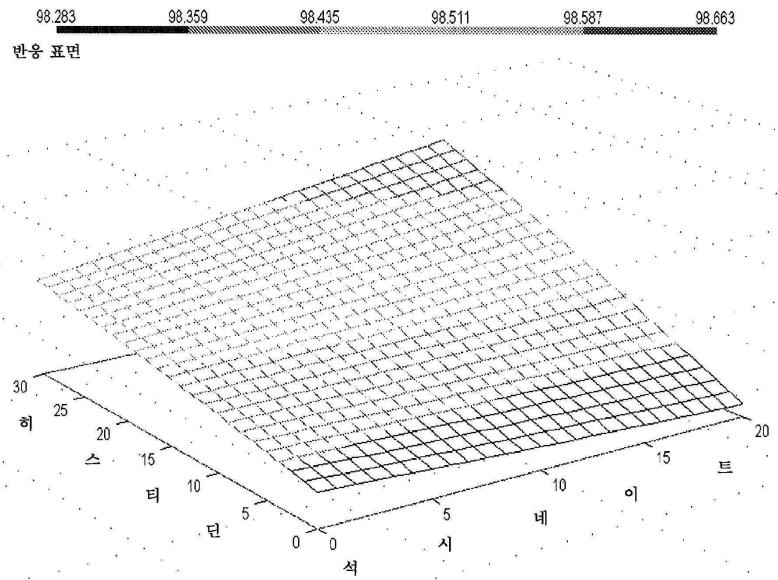
종점으로서 t1 및 t2에서의 단량체 함량을 사용하는 PLS 모델 B에 따르는 EDTA 및 NaCl의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



LB-140 PLS2 SEC... PC: 4, Y-var: t1 SEC, (X-var = β); pH t0 = 5.2000, 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000,

도면22

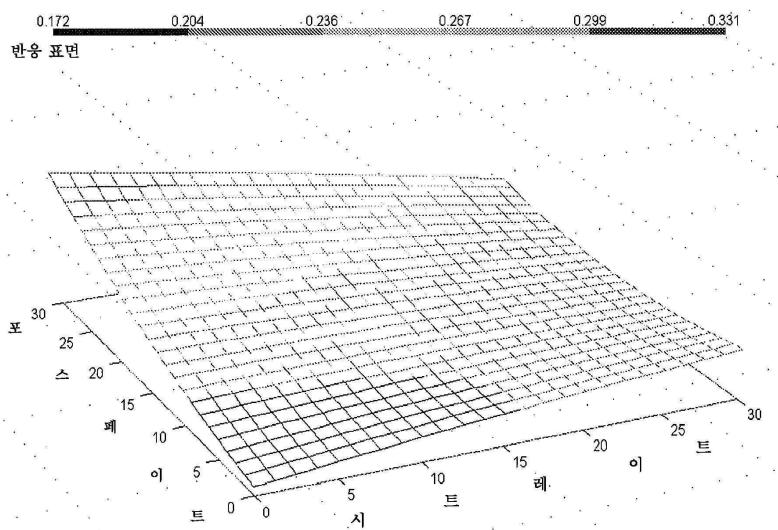
종점으로서 t1 및 t2에서의 단량체 함량을 사용하는 PLS 모델 B에 따르는
석시네이트 및 His의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



LB-140 PLS2 SEC..., PC: 4, Y-var: t1 SEC, (X-var = 矢); pHt0 = 5.2000, 단백질=50.0000, 시트레이트=0.0000, 포스페이트=0.0000, 석시네이트=0.0000, gl

도면23

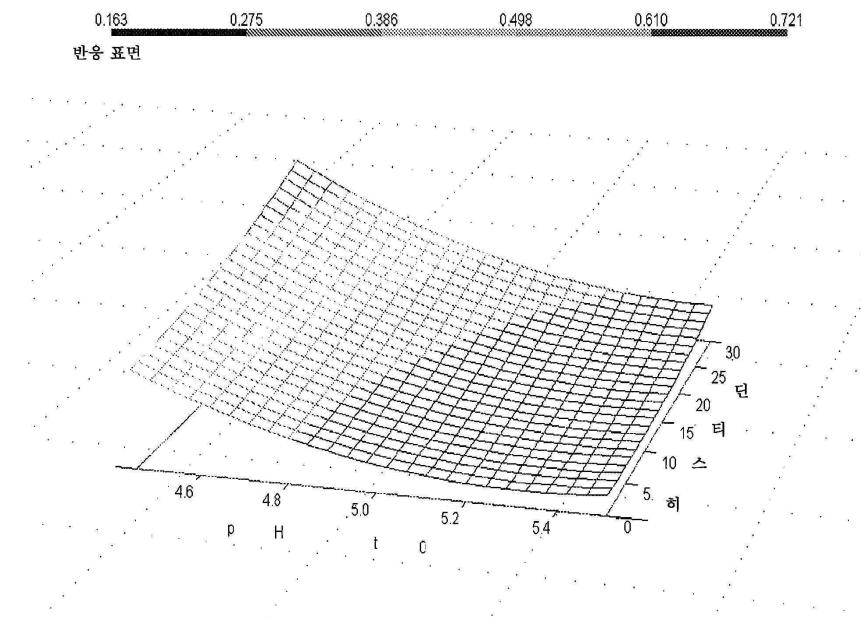
종점으로서 t1에서의 RP HPLC에 의한 순도의 차이를 사용하는 PLS
모델 C에 따르는 포스페이트 및 시트레이트의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



결과 14, PC: 2, Y-var: t1 RP diff, (X-var = 矢); pHt0 = 5.2000, 단백질=50.0000, 석시네이트=0.0000, 히스티딘=0.0000, 아세테이트=0.0000, gl

도면24

종점으로서 t1에서의 RP HPLC에 의한 순도의 차이를 사용하는 PLS 모델 C에 따르는 pH 및 His의 효과.
단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.

결과14, PC: 2, Y-var: t1 RP diff, (X-var = 값) 단백질=50.0000, 시트레이트=0.0000, 포스페이트=0.0000, 석시네이트=0.0000, 아세테이트=0.0000, 글리신

도면25

종점으로서 t1에서의 RP HPLC에 의한 순도의 차이를 사용하는 PLS 모델 C에 따르는 Arg 및 Gly의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.

반응 표면

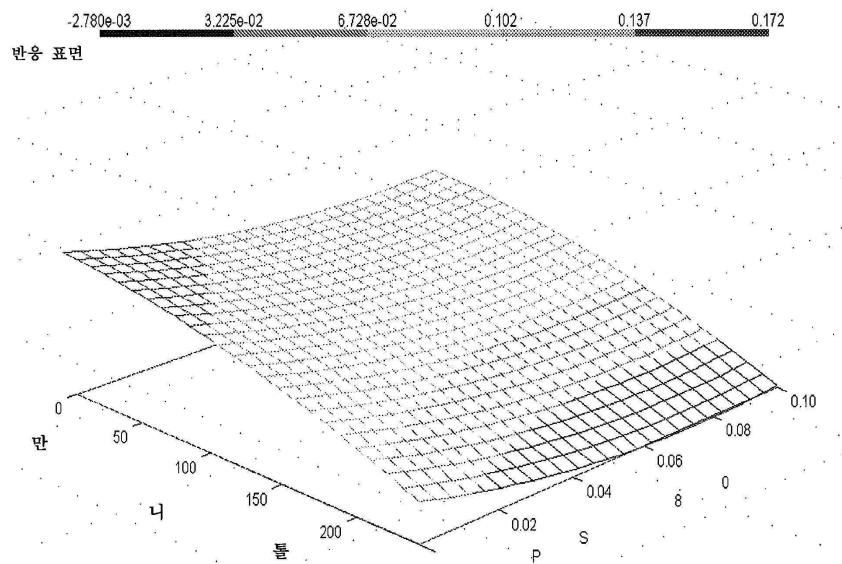
반응 표면

결과 14, PC: 2, Y-var: t1 RP diff, (X-var = 값) pH 10 = 5.2000, 단백질 = 50.0000, 시트레이트 = 0.0000, 포스페이트 = 0.0000, 석시네이트 = 0.0000, 히스티딘

- 106 -

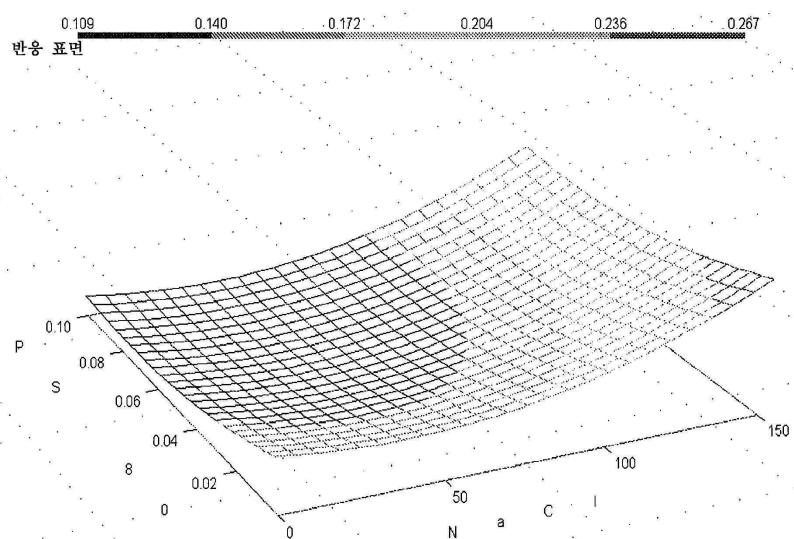
도면26

종점으로서 t1에서의 RP HPLC에 의한 순도의 차이를 사용하는
PLS 모델 C에 따르는 만니톨 및 PS 80의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



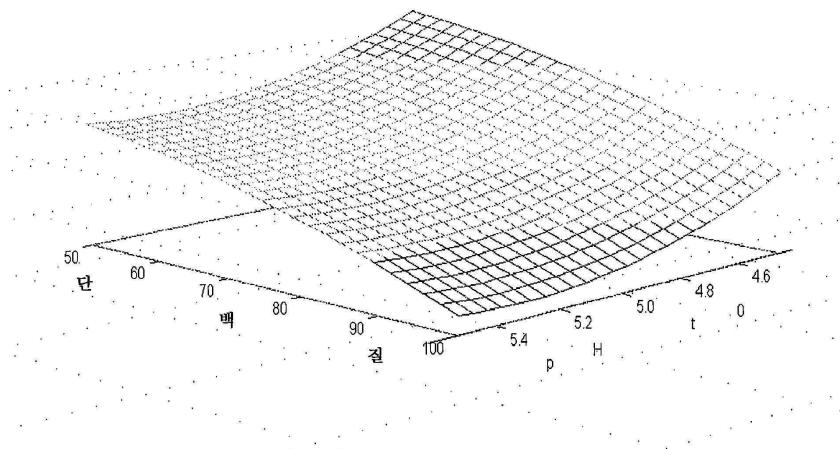
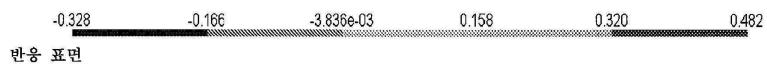
도면27

종점으로서 t1에서의 RP HPLC에 의한 순도의 차이를 사용하는 PLS 모델
C에 따르는 PS 80 및 NaCl의 효과.
pH는 5.2에서 고정되고, 단백질 농도는 50mg/ml에서 고정된다.



도면28

종점으로서 t1에서의 RP HPLC에 의한 순도의 차이를 사용하는
PLS 모델 C에 따르는 pH 및 단백질 농도의 효과.



결과 7, PC: 2, Y-var: t1 RP diff, (X-var = pH): 시트레이트=0.0000, 포스페이트=0.0000, 석시네이트=0.0000, 히스티딘=0.0000, 아세테이트=0.0000, 글리신