명세서

발명의 명칭: 안정한 액체 약제학적 제제

기술분야

[1] 본 발명은 안정한 액체 약제학적 제제에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] 종양 괴사 인자-α(TNF-α)는 전신성 염증에 관여하는 세포 신호화 단백질(사이토킨)이며, 급성 단계 반응을 형성하는 사이토킨 중 하나이다. TNF-α는 패혈증, 감염, 자가면역 질환 및 이식 거부를 포함하는 다양한 질환 및 장애에 연관되어 있다. TNF-α는 면역 반응을 촉진하며, 이것은 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 궤양성 대장염, 성인 크론병, 소아 크론병, 건선, 건선성 관절염 등과 같은 자가면역 이상과 관련된 많은 임상적 문제를 일으킨다. 이러한 이상은 TNF-α 억제제를 사용함으로써 치료될 수 있다.

[4] 인플릭시맵은 상기 TNF-α 억제제의 역할을 수행할 수 있는 키메라 단일클론항체의 일종이다. 이 항체를 포함하는 종래 제제는 동결 건조 분말로 제조되며 이를 재용해 및 희석하여 각 질환의 투여 용법 및 용량에 맞춰 정맥에 주사하는 방식이었다.

[5] 예를 들어, 레미케이드 라벨은 인플릭시맵, 수크로스, 폴리소르베이트 80 및 인산나트륨을 포함하는 동결건조제제를 개시하며, 정맥 주사를 위해, 동결건조제제에 주사용수를 추가하는 재용해(reconstitution) 단계 및 재용해제제를 염화나트륨을 포함하는 주사용 식염수로 희석하는 단계를 개시한다.

[6] 그러나, 상기와 같은 종래 제제의 투여방식(동결 건조->재용해->희석->정맥 투여)에는 비용이 많이 들고, 번거롭고, 빈번한 투여로 인해 환자의 불편, 거부감 및 부작용이 발생하고, 투여자가 의료 교육을 받은 사람으로 제한되는 문제점이 있다.

[7] 아달리무맵도 상기 TNF-α 억제제의 역할을 수행할 수 있는 인간 단일클론항체의 일종이다. 아달리무맵을 포함하는 액상 제형은, 예를 들어, 휴미라 라벨에 개시되어 있다. 또한, 한국 공개특허공보 제10-2014-0134689호는 아달리무맵, 인산나트륨, 시트르산나트륨, 시트르산, 만니톨, 염화나트륨 및 폴리소르베이트 80을 포함하는 액상 제형(실시예 1)과, 이를 개량한 것으로서 아달리무맵, 인산나트륨, 시트르산나트륨, 시트르산, 만니톨, 아르기닌, 염화나트륨 및 폴리소르베이트 80을 포함하는 액상 제형(실시예 2)을 개시한다.

[8] 그러나, 상기 액체 약제학적 제형과 같이, 등장화제로서 NaCl 또는 KCl을 포함하는 경우 침전 및 젤라틴화와 같은 문제가 발생할 수 있고, 항체 농도가 50 mg/ml 정도로 낮은 경우 투여횟수 및 투여주기가 제한될 수 있다

[9] 따라서, 상기 종래 액체 약제학적 제제의 문제점을 해결할 수 있고 TNF-α 억제제로서 항체, 특히 인플릭시맵을 포함하는 안정한 액체 약제학적 제제에 대한 필요성이 존재한다.

[10]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[11] 본 발명의 목적은 항체를 고함량으로 포함하면서 낮은 점도를 갖는 안정한 액체 약제학적 제제를 제공하는 것이다.

[12] 본 발명의 다른 목적은 가속 조건 및 가혹 조건에서의 우수한 안정성을 바탕으로 장기간 보관 안정성이 우수한 액체 약제학적 제제를 제공하는 것이다.

[13] 본 발명의 또 다른 목적은 피하 투여가 가능한 안정한 액체 약제학적 제제를 제공하는 것이다.

[14]

과제 해결 수단

[15] 본 발명의 일 구현예에 따른 안정한 액체 약제학적 제제는 (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) 당 또는 이의 유도체; 및 (D) 완충제를 포함한다.

[16] 본 발명의 일 구현예에서, (A) 항체는 TNF-α에 결합하는 항체를 포함할 수 있다.

[17] 본 발명의 일 구현예에서, (A) 항체는 인플릭시맵, 아달리무맵, 세토리주맵 페골, 골리무맵, 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[18] 본 발명의 일 구현예에서, (A) 항체는 키메라 인간-마우스 IgG 단일클론 항체를 포함할 수 있다.

[19] 본 발명의 일 구현예에서, (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함할 수 있다.

[20] 본 발명의 일 구현예에서, (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함할 수 있다.

[21] 본 발명의 일 구현예에서, (A) 항체는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함할 수 있다.

[22] 본 발명의 일 구현예에서, (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 10 내지 200 mg/ml일 수 있다.

[23] 본 발명의 일 구현예에서, (B) 계면활성제는 폴리소르베이트, 폴록사머 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[24] 본 발명의 일 구현예에서, (B) 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함할 수 있다.

[25] 본 발명의 일 구현예에서, (B) 계면활성제는 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[26] 본 발명의 일 구현예에서, (B) 계면활성제의 농도는 0.02 내지 0.1 %(w/v)일 수 있다.

[27] 본 발명의 일 구현예에서, (C) 당은 단당류, 이당류, 올리고당, 다당류 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함하고, (C) 당의 유도체는 당 알코올, 당 산 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[28] 본 발명의 일 구현예에서, (C) 당 또는 이의 유도체는 소르비톨, 만니톨, 트레할로스, 수크로오스 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함할 수 있다.

[29] 본 발명의 일 구현예에서, (C) 당 또는 이의 유도체의 농도는 1 내지 10 %(w/v)일 수 있다.

[30] 본 발명의 일 구현예에서, (D) 완충제는 아세테이트 또는 히스티딘을 포함할 수 있다.

[31] 본 발명의 일 구현예에서, (D) 완충제의 함량은 1 내지 50 mM일 수 있다.

[32] 본 발명의 일 구현예에서, pH가 4.0 내지 5.5일 수 있다.

[33] 본 발명의 일 구현예에서, 아스파르트산, 리신, 아르기닌 또는 이들의 혼합물을 포함하지 않을 수 있다.

[34] 본 발명의 일 구현예에서, NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na_2SO_4, NaSCN, K_2SO_4 또는 이들의 혼합물을 포함하지 않을 수 있다.

[35] 본 발명의 일 구현예에서, 킬레이트제를 포함하지 않을 수 있다.

[36] 본 발명의 일 구현예에서, 40 ℃ ± 2 ℃에서 1달간 보관한 후 측정한 점도가 0.5 cp 내지 10 cp이거나, 5 ℃ ± 3 ℃에서 6달간 보관한 후 측정한 점도가 0.5 cp 내지 5 cp일 수 있다.

[37] 본 발명의 일 구현예에 따른 안정한 액체 약제학적 제제는 (A) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) 당 또는 이의 유도체; 및 (D) 아세테이트 또는 히스티딘을 포함하는 완충제를 포함할 수 있다.

[38] 본 발명의 일 구현예에 따른 안정한 액체 약제학적 제제는 (A) 서열번호 1의

아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편 90 내지 145 mg/ml; (B) 계면활성제 0.02 내지 0.1 %(w/v); (C) 당 또는 이의 유도체 1 내지 10 %(w/v); 및 (D) 아세테이트 또는 히스티딘을 포함하는 완충제 1 내지 50 mM을 포함할 수 있다.

[39] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 피하 투여용일 수 있다.

[40] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 사용 전에 재용해(reconstitution) 단계, 희석(dilution) 단계 또는 이들 모두를 거치지 않을 수 있다.

[41] 본 발명의 일 구현예에 따른 프리-필드 시린지(pre-filled syringe)는 상기 안정한 액체 약제학적 제제가 충진된다.

[42] 본 발명의 일 구현예에 따른 자동 주사기(auto-injector)는 상기 프리-필드 시린지가 그 내부에 포함된다.

[43]

발명의 효과

[44] 본 발명에 따른 안정한 액체 약제학적 제제는 항체를 고함량으로 포함하면서 낮은 점도를 가지고, 가속 조건 및 가혹 조건에서의 우수한 안정성을 바탕으로 장기간 보관 안정성이 우수하고, 피하 투여가 가능하다.

[45]

발명의 실시를 위한 형태

[46] **[안정한 액체 약제학적 제제]**

[47] 본 발명에 따른 안정한 액체 약제학적 제제는 (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) 당 또는 이의 유도체; 및 (D) 완충제를 포함한다.

[48] 본 출원의 명세서에서 용어 "포함하지 않음"은 해당 성분을 전혀 포함하지 않는 것을 의미한다. 또한, 해당 용어는 해당 성분을 실질적으로 포함하지 않는 것, 즉 항체의 활성, 액체 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 영향을 주지 않는 범위로 포함하는 것, 예를 들어 액체 약제학적 제제의 전체 중량을 기준으로 0 내지 1 %(w/v), 0 내지 1 ppm(w/v) 또는 0 내지 1 ppb(w/v)로 포함하는 것을 의미한다.

[49]

[50] **(A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편**

[51] 항체는 2개의 중쇄(Heavy Chain) 및 2개의 경쇄(Light Chain)가 디설파이드

결합에 의해 서로 연결되어 있는 4개의 폴리펩타이드쇄로 이루어진 면역글로불린 분자를 가리킨다. 기타 변화된 구조를 갖는 자연 발생 항체, 예를 들어 카멜리드 항체도 이 정의에 포함된다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 및 중쇄 불변 영역으로 이루어진다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인(CH1, CH2 및 CH3)으로 이루어진다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 및 경쇄 불변 영역으로 이루어진다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인(CL)으로 이루어진다. 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 골격 영역(FR)으로 불리는 보다 보존된 영역과 함께 배치된, 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 초가변성 영역으로 더욱 세분될 수 있다. 각각의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 3개의 CDR 및 4개의 FR로 이루어지고, 이들은 아미노 말단에서 카복시 말단까지 하기의 순서로 배열되어 있다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

[52] 본 발명의 일 구현예에서, 항체로서 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, 재조합 항체, 단일쇄 항체, 하이브리드 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 이들의 단편을 포함할 수 있다. 키메라 항체는 어느 한 종으로부터의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열과 다른 종으로부터의 불변 영역 서열을 포함하는 항체를 의미한다. 본 발명의 일 구현예에서, 항체로서 키메라 인간-마우스 IgG 단일클론 항체를 포함할 수 있다. 키메라 인간-마우스 IgG 단일클론 항체는 마우스 중쇄 및 경쇄 가변 영역과 이에 결합된 인간 중쇄 및 경쇄 불변 영역으로 이루어진다. 키메라 인간-마우스 IgG 단일클론 항체는 당해 기술분야에서 공지된 방법으로 제조할 수 있다. 예를 들어, 인플릭시맵의 경우, 미국 특허 제6,284,471호에 기재된 방법으로 제조할 수 있다.

[53] 본 발명의 일 구현예에서, 항체로서 TNF-α 또는 TNF-α의 에피토프에 결합하는 항체를 포함할 수 있다. TNF-α 또는 TNF-α의 에피토프에 결합하는 항체로서 인플릭시맵, 아달리무맵, 세토리주맵 페골, 골리무맵, 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 항체로서 인플릭시맵을 포함할 수 있다.

[54] 본 발명의 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함할 수 있다.

[55] 본 발명의 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함할 수 있다.

[56] 본 발명의 일 구현예에서, 항체는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함할 수 있다.

[57] 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 본 발명에 따른 안정한 액체 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 10 내지 200 mg/ml일 수 있다. 본 발명의 다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 50 내지 200 mg/ml일 수 있다. 본 발명의 또 다른 구현에에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 80 내지 150 mg/ml일 수 있다. 본 발명의 또 다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도가 90 내지 145 mg/ml일 수 있다. 본 발명의 또 다른 구현예에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도가 110 내지 130 mg/ml일 수 있다. 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도가 이 범위내인 경우, 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 고함량에 따라 투여 용량 및 투여 주기의 자유도를 높일 수 있고, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낼 수 있다.

[58]

[59] **(B) 계면활성제**

[60] 계면활성제의 예는 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르 (예를 들면, 폴리소르베이트), 폴리옥시에틸렌알킬에테르 (예들 들면, Brij), 알킬페닐폴리옥시에틸렌에테르 (예를 들면, Triton-X), 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 코폴리머 (예를 들면, Poloxamer, Pluronic), 나트륨 도데실 설페이트 (SDS) 등을 포함하지만, 이에 한정되는 것은 아니다.

[61] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 계면활성제는 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르 (폴리소르베이트)를 포함할 수 있다. 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함할 수 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 본 발명의 다른 구현예에서, 폴리소르베이트는 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[62] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 계면활성제의 농도는 본 발명에 따른 안정한 액체 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다. 예를 들어, 계면활성제의 농도는 0.001 내지 5 %(w/v), 0.01 내지 1 %(w/v), 또는 0.02 내지 0.1 %(w/v)일 수 있다. 계면활성제의 농도가 이 범위내인 경우, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낼 수 있다.

[63]

[64] **(C) 당 또는 당의 유도체**

[65] 당은 단당류, 이당류, 올리고당, 다당류 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함할 수 있다. 단당류의 예로는 글루코스, 프룩토스, 갈락토스 등이 있으며 이에 제한되지 않는다. 이당류의 예로는 수크로오스, 락토스, 말토스, 트레할로스 등이 있으며 이에 제한되지 않는다. 올리고당의 예로는 프룩토올리고당, 갈락토올릭고당, 만난올리고당 등이 있으며 이에 제한되지 않는다. 다당류의

예로는 전분, 글리코겐, 셀룰로스, 키틴, 펙틴 등이 있으며 이에 제한되지 않는다.

[66] 당의 유도체는 당 알코올, 당 산 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다. 당 알코올의 예로는 글리세롤, 에리스리톨, 트레이톨, 아라비톨, 자이리톨, 리비톨, 만니톨, 소르비톨, 갈락티톨, 푸시톨, 이디톨, 이노시톨, 볼레미톨, 아이소말트, 말티톨, 락티톨, 말토트리이톨, 말토테트라이톨, 폴리글리시톨 등이 있으며 이에 제한되지 않는다. 당 산의 예로는 알돈산(글리세르산 등), 울로손산(뉴라민산 등), 우론산(글루쿠론산 등), 알다르산(타르타르산 등) 등이 있으며 이에 제한되지 않는다

[67] 본 발명의 일 구현예에서, 당 또는 이의 유도체로서 소르비톨, 만니톨, 트레할로스, 수크로오스 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함할 수 있다.

[68] 본 발명의 일 구현예에서, 당 또는 이의 유도체의 농도는 본 발명에 따른 액체 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다. 예를 들어, 당 또는 이의 유도체의 농도는 0.1 내지 30 %(w/v), 1 내지 20 %(w/v) 또는 1 내지 10 %(w/v)일 수 있다. 당 또는 이의 유도체의 농도가 이 범위내인 경우, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낼 수 있다.

[69]

[70] **(D) 완충제**

[71] 완충제는 산이나 알칼리에 의한 pH의 변화를 최소화시키는 중화성 물질이며, 완충제의 예로는 포스페이트(phosphate), 아세테이트(acetate), 숙시네이트(succinate), 글루코네이트(gluconate), 글루타메이트(glutamate), 시트레이트(citrate), 히스티딘(histidine) 등이 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 완충제는 아세테이트 또는 히스티딘을 포함할 수 있다. 완충제로서 아세테이트 및 히스티딘을 모두 포함하는 경우 안정성이 저하될 수 있다.

[72] 본 발명의 일 구현예에서, 완충제는 아세테이트를 포함할 수 있다. 아세테이트의 예로는 아세트산나트륨, 아세트산아연, 아세트산알루미늄, 아세트산암모늄, 아세트산칼륨 등이 있으며 이에 제한되지 않는다. pH 조절을 위해 산, 예를 들어 아세트산을 추가로 포함할 수 있다. 완충제로서 아세테이트를 포함하는 것이, pH 조절 및 안정성 면에서 가장 바람직할 수 있다.

[73] 본 발명의 일 구현예에서, 완충제는 히스티딘을 포함할 수 있다. 완충제로서 히스티딘을 사용하는 경우, 히스티딘염, 예를 들어, 히스티딘 클로라이드, 히스티딘 아세테이트, 히스티딘 포스페이트, 히스티딘 설페이트 등이 포함될 수 있다. pH 조절을 위해 산, 예를 들어 염산, 아세트산, 인산, 황산 등을 포함할 수 있다.

[74] 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 제제는 시트레이트(시트르산염), 포스페이트(인산염) 또는 이들의 혼합물을 포함하지 않을 수 있다.

[75] 본 발명의 일 구현예에서, 완충제(또는 완충제의 음이온)의 함량은 본 발명에

따른 액체 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다. 예를 들어, 완충제 또는 이의 음이온의 함량은 1 내지 50 mM, 5 내지 30 mM 또는 10 내지 25 mM일 수 있다. 완충제 또는 이의 음이온의 함량이 이 범위내인 경우, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낼 수 있다.

[76]

[77] **(E) pH**

[78] 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 조성물의 pH는 4.0 내지 5.5 또는 4.7 내지 5.3일 수 있다. pH가 이 범위내인 경우, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낼 수 있다. pH는 완충제를 이용하여 조절할 수 있다. 다시 말해서, 완충제를 소정의 함량으로 포함하는 경우 별도의 pH 조절제 없이도 상기 범위의 pH를 나타낼 수 있다. 시트레이트, 포스페이트 또는 이들의 혼합물을 완충제로 사용하는 경우 상기 범위의 pH를 나타내는 것이 어려울 수 있다. 별도의 pH 조절제로서 산(예를 들어, 염산) 또는 염기(예를 들어, 수산화나트륨)를 추가로 포함하는 경우, 항체의 안정성이 저하될 수 있다.

[79]

[80] **(F) 기타 성분**

[81] 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 제제는 아스파르트산, 리신, 아르기닌 또는 이들의 혼합물을 포함하지 않을 수 있다. 이들 아미노산을 포함하는 경우, 그 제제가 고체 상태가 될 수 있다. 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 제제는 상기 3종의 아미노산을 제외한 나머지 아미노산들 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 이 경우, 상기 아미노산을 5 %(w/v) 이내의 범위, 예를 들어, 0.001 내지 5 %(w/v)의 범위, 0.001 내지 1 %(w/v)의 범위, 0.01 내지 5%(w/v)의 범위, 0.01 내지 1%(w/v)의 범위, 0.1 내지 5%(w/v)의 범위, 또는 0.1 내지 1%(w/v)의 범위로 포함할 수 있다.

[82] 본 발명의 다른 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 제제는 타우린을 포함할 수 있다. 이 경우, 상기 타우린을 5 %(w/v) 이내의 범위, 예를 들어, 0.001 내지 5 %(w/v)의 범위, 0.001 내지 1 %(w/v)의 범위, 0.01 내지 5%(w/v)의 범위, 0.01 내지 1%(w/v)의 범위, 0.1 내지 5%(w/v)의 범위, 또는 0.1 내지 1%(w/v)의 범위로 포함할 수 있다.

[83] 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 제제는 금속염으로서 NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na_2SO_4, NaSCN, K_2SO_4 등을 포함하지 않을 수 있다. 이들 금속염을 포함하는 경우 침전 현상이 발생하고 그 제제가 젤라틴의 형상을 가질 수 있고 안정성이 열악할 수 있다.

[84] 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 제제는 킬레이트제(예를 들어, EDTA)를 포함하지 않을 수 있다. 킬레이트제를 포함하는 경우 산화율이 증가할 수 있다.

[85] 본 발명의 일 구현예에서, 안정한 액체 약제학적 제제는 보존제를 포함하지

않을 수 있다. 보존제의 예로는 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 페놀, 부틸 알코올, 벤질 알콜, 알킬 파라벤, 카테콜, 레소르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올, m-크레졸 등이 있다. 보존제를 포함하는 경우 안정성 개선에 도움이 되지 않을 수 있다.

[86] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명의 안정한 액체 약제학적 제제에 있어서 항체의 활성, 제제의 안정성 및 저점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 당해 기술분야에서 공지된 첨가제를 더 포함할 수 있다. 예를 들어, 수성 담체, 산화방지제, 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 더 포함할 수 있다. 수성 담체는 제약상 허용되고(인간에게 투여시 안전하고 무독성이고), 액체 약제학적 제제의 제조에 유용한 담체이다. 수성 담체의 예로는 멸균 주사용수(SWFI), 정균성 주사용수(BWFI), 멸균 염수 용액, 링거 용액, 덱스트로스 등이 있으며 이에 제한되지 않는다. 산화방지제는 아스코르브산 등이 있으며 이에 제한되지 않는다.

[87]

[88] **(G) "안정한" 액체 약제학적 제제**

[89] 본 발명의 "안정한" 액체 약제학적 제제에서 용어 "안정한"은 본 발명에 따른 항체가 제조 공정 동안 및/또는 보관/저장 시에 이의 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 실질적으로 보유하는 것을 의미한다. 항체의 안정성을 측정하는 다양한 분석학적 기술은 당해 기술분야에서 용이하게 이용할 수 있다.

[90] 물리적 안정성은 당해 기술분야에 공지된 방법으로 평가할 수 있으며, 이러한 방법은 광(흡광 또는 광학 밀도)의 샘플 겉보기 감쇠 측정을 포함한다. 이러한 광 감쇠 측정은 제제의 탁도와 관련된다. 또한, 물리적 안정성에 대해 고분자량 성분 함량, 저분자량 성분 함량, 온전한 단백질량, 불용성 이물 입자수 등을 측정할 수 있다.

[91] 화학적 안정성은, 예를 들어, 화학적으로 변화된 형태의 항체를 검출하고 정량함으로써 평가할 수 있다. 화학적 안정성은, 예를 들어 이온 교환 크로마토그래피에 의해 평가될 수 있는 하전 변화 (예: 탈아미드화 또는 산화의 결과로서 발생)를 포함한다. 화학적 안정성에 대해 전하 변형체(산성 또는 염기성 피크) 등을 측정할 수 있다.

[92] 생물학적 활성은 당해 기술분야에 공지된 방법으로 평가할 수 있으며, 예를 들어 ELISA를 통해 항원 결합 친화도를 측정할 수 있다.

[93] 본 발명의 일 구현예에서, 액체 약제학적 제제는 장기간 동안 안정할 수 있다.

[94] 본 발명의 일 구현예에서, 용어 "안정한" 액체 약제학적 제제는 다음 중 하나 이상을 만족하는 액체 약제학적 제제를 의미한다.

[95]

[96] **탁도**

[97] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 분광 광도계로 측정한 흡광도 A_{600}이 0 내지 0.0300 또는 0 내지 0.0700인 액체 약제학적 제제;

[98] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75 ± 5 %, 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 분광 광도계로 측정한 흡광도 A_{600}이 0 내지 0.0300 또는 0 내지 0.0700인 액체 약제학적 제제;

[99]

[100] **주성분 함량**(메인 피크)

[101] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 SE-HPLC로 측정한 주성분이 98 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[102] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75 ± 5 % 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 SE-HPLC로 측정한 주성분이 98 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[103]

[104] **고분자량 성분**(메인 피크(온전한 IgG)를 기준으로 체류 시간(retention time)이 앞쪽인 피크)

[105] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 12개월 동안 보관한 후 SE-HPLC로 측정한 고분자량 성분이 0 내지 1.00 %인 액체 약제학적 제제;

[106] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃, 및 밀폐 조건에서 12개월 동안 보관한 후 SE-HPLC로 측정한 고분자량 성분이 0 내지 1.00 %인 액체 약제학적 제제;

[107]

[108] **저분자량** 성분(메인 피크(온전한 IgG)를 기준으로 체류 시간(retention time)이 뒷쪽인 피크)

[109] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 12개월 동안 보관한 후 SE-HPLC로 측정한 저분자량 성분이 0 내지 0.40 %인 액체 약제학적 제제;

[110] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃ 및 밀폐 조건에서 12개월 동안 보관한 후 SE-HPLC로 측정한 저분자량 성분이 0 내지 0.40 %인 액체 약제학적 제제;

[111]

[112] **온전한 면역글로불린 G의 함량**

[113] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 12개월 동안 보관한 후 비환원 CE-SDS로 측정한 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)이 94.0 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[114] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃ 및 밀폐 조건에서 12개월 동안 보관한 후 비환원 CE-SDS로 측정한 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)이 94.0 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[115] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 비환원 CE-SDS로 측정한 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)이 94.0 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[116] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75 ± 5 % 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 비환원 CE-SDS로 측정한 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)이 94.0 %

내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[117]

[118] **온전한** 중쇄 및 경쇄의 함량

[119] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 12개월 동안 보관한 후 환원 CE-SDS로 측정한 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)이 99.0 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[120] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃, 및 밀폐 조건에서 12개월 동안 보관한 후 환원 CE-SDS로 측정한 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)이 99.0 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[121] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 환원 CE-SDS로 측정한 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)이 98.0 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[122] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75 ± 5 %, 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 환원 CE-SDS로 측정한 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)이 98.0 % 내지 100 %인 액체 약제학적 제제;

[123]

[124] **불용성 이물 입자수**

[125] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 12개월 동안 보관한 후 HIAC으로 측정한 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <400.00㎛)의 개수는 0 내지 1,000개인 액체 약제학적 제제;

[126] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃, 및 밀폐 조건에서 12개월 동안 보관한 후 HIAC으로 측정한 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <400.00㎛)의 개수는 0 내지 1,000개인 액체 약제학적 제제;

[127] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 MFI로 측정한 불용성 이물 입자(1.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 0 내지 30,000개인 액체 약제학적 제제;

[128] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 MFI로 측정한 불용성 이물 입자(1.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 0 내지 30,000개인 액체 약제학적 제제;

[129] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 MFI로 측정한 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 0 내지 200개인 액체 약제학적 제제;

[130] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75±5 %, 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 MFI로 측정한 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 0 내지 200개인 액체 약제학적 제제;

[131] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 6주 동안 보관한 후 MFI로 측정한 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 0 내지 500개인 액체 약제학적 제제;

[132] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75±5 %, 및 밀폐 조건에서 6주 동안 보관한 후 MFI로 측정한 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 0 내지 500개인 액체 약제학적 제제;

[133]

[134] **산화율**

[135] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 LC-MS로 측정한 중쇄 Met 255의 산화율이 0 % 내지 2.5 %인 액체 약제학적 제제;

[136] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75 ± 5 %, 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 LC-MS로 측정한 중쇄 Met 255의 산화율이 0 % 내지 2.5 %인 액체 약제학적 제제;

[137]

[138] **전하 변형체**

[139] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 IEC-HPLC로 측정한 산성 피크가 20% 내지 35%인 액체 약제학적 제제;

[140] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75 ± 5 %, 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 IEC-HPLC로 측정한 산성 피크가 20 % 내지 35 %인 액체 약제학적 제제;

[141] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 4주 동안 보관한 후 IEC-HPLC로 측정한 염기성 피크가 33 % 내지 40 %인 액체 약제학적 제제;

[142] - 온도 40 ℃ ± 2 ℃, 상대습도 75 ± 5 %, 및 밀폐 조건에서 4주 동안 보관한 후 IEC-HPLC로 측정한 염기성 피크가 33 % 내지 40 %인 액체 약제학적 제제;

[143]

[144] **TNF-α 결합 친화도**

[145] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 12개월 동안 보관한 후 ELISA로 측정한 TNF-α 결합 친화도가 80 % 내지 120 %인 액체 약제학적 제제; 및

[146] - 온도 5 ℃ ± 3 ℃ 및 밀폐 조건에서 12개월 동안 보관한 후 ELISA로 측정한 TNF-α 결합 친화도가 80 % 내지 120 %인 액체 약제학적 제제.

[147] 본 발명의 일 구현예에서, 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 1달 후 측정한 점도가 0.5 cp 내지 10.0 cp일 수 있다. 본 발명의 다른 구현예에서, 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 6달 후 측정한 점도가 0.5 cp 내지 5.0 cp일 수 있다.

[148]

[149] **[안정한 액체 약제학적 제제의 제조방법]**

[150] 본 발명의 안정한 액체 약제학적 제제는 공지된 방법을 이용하여 제조할 수 있으며, 특정 방법으로 제한되지 않는다. 예를 들어, 계면활성제 및 당 또는 이의 유도체를 포함하는 용액에 완충제를 첨가하면서 pH를 조절한 후, 이 혼합 용액에 항체를 넣어 액체 약제학적 제제를 제조할 수 있다. 또한, 정제 공정의 최종 단계에서 일부 부형제를 포함하는 용액을 제조한 후 나머지 성분을 첨가하여 액체 약제학적 제제를 제조할 수 있다. 예를 들어, 정제 공정의 최종 단계에서 항체, 완충제 및 당 또는 이의 유도체를 포함하는 용액을 제조한 후, 이 용액에 계면활성제를 첨가하여 액체 약제학적 제제를 제조할 수 있다.

[151] 또한, 상기 제제는 제조시 동결 건조 공정을 포함하지 않을 수 있거나 동결 건조 공정을 포함할 수 있다.

[152] 동결 건조 공정을 포함하지 않은 경우, 예를 들어, 본 발명의 액체 약제학적 제제를 제조하고 멸균 등의 처리 후 바로 밀폐 용기에 담을 수 있다.

[153] 동결 건조 공정을 포함하는 경우, 예를 들어, 본 발명의 액체 약제학적 제제를 제조하고 동결 건조한 후, 또는 본 발명의 액체 약제학적 제제를 제조하고 동결 건조하고 보관/저장한 후, 동결 건조 및/또는 보관/저장에 의해 제거되었거나 변형된 성분을 보충하거나 교체하여 본 발명에 따른 액체 약제학적 제제를 제조할 수 있다. 또한, 본 발명의 액체 약제학적 제제 중에서 동결 건조 및/또는 보관/저장에 의해 제거되거나 변형될 수 있는 성분들이 제외된 성분들만을 동결 건조한 후, 또는 그 성분들만을 동결 건조하고 보관/저장한 후, 상기 제외되었던 성분들을 첨가하여 본 발명에 따른 액체 약제학적 제제를 제조할 수 있다.

[154]

[155] **[안정한 액체 약제학적 제제의 사용방법]**

[156] 본 발명에 따른 안정한 액체 약제학적 제제는 TNF-α의 활성이 유해한 질병을 치료하는데 사용될 수 있다. TNFα의 활성이 유해한 질병의 예로는 패혈증, 자가면역 질환, 감염성 질환, 이식, 악성 암, 폐 장애, 장 장애, 심장 장애 등이 있으며 이에 제한되지 않는다.

[157] 본 발명의 일 구현예에서, TNF-α의 활성이 유해한 질병은 류마티스 관절염, 강직성 척추염, 궤양성 대장염, 성인 크론병, 소아 크론병, 건선 및 건선성 관절염으로부터 선택될 수 있다.

[158] 본 발명에 따른 안정한 액체 약제학적 제제는 1회, 수회 또는 자가 피하 투여용으로 사용될 수 있다.

[159] 상기 액체 약제학적 제제 내의 항체를 비롯한 다른 성분들의 농도는 상술한 바와 같으며, 액체 약제학적 제제의 전체 부피는 0.2 내지 2.0 ml일 수 있다.

[160] 상기 액체 약제학적 제제의 투여량 및 투여시기는 질병의 종류, 질병의 중증도 및 경과상태, 환자의 건강 및 치료에 대한 반응, 및 치료하는 의사의 판단에 따라 달라질 수 있으며, 특정 투여량 및 투여시기로 제한되지 않는다. 예를 들어, 상기 액체 약제학적 제제를 포함하는 1개 또는 수개의 제품으로 항체 농도를 기준으로 1 내지 10 mg/kg을 투여한 후 동일 또는 상이한 투여량을 매주, 격주, 3주마다, 매월, 2개월 또는 3개월마다 투여할 수 있다.

[161] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 사용 전에 재용해(reconstitution) 단계, 희석(dilution) 단계 또는 이들 모두를 거치지 않을 수 있다.

[162]

[163] **[치료방법 및 안정화 방법]**

[164] 본 발명은 또한 TNF-α의 활성이 유해한 질병을 갖는 환자에게 (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) 당 또는 이의 유도체; 및 (D) 완충제를 포함하는 안정한 액체 약제학적 제제를 투여하는 것을 포함하는 TNF-α의 활성이 유해한 질병을 치료하는 방법을 제공한다.

[165] 본 발명은 또한 (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) 당 또는 이의 유도체; 및 (D) 완충제를 포함하는 안정한 액체 약제학적 제제를 제조하는

것을 포함하는 항체를 액체 약제학적 제제 내에서 안정화하는 방법을 제공한다.

[166] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (A) 항체는 TNF-α에 결합하는 항체를 포함할 수 있다.

[167] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (A) 항체는 인플릭시맵, 아달리무맵, 세토리주맵 페골, 골리무맵, 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[168] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (A) 항체는 키메라 인간-마우스 IgG 단일클론 항체를 포함할 수 있다.

[169] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함할 수 있다.

[170] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함할 수 있다.

[171] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (A) 항체는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함할 수 있다.

[172] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 10 내지 200 mg/ml일 수 있다.

[173] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (B) 계면활성제는 폴리소르베이트, 폴록사머 또는이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[174] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (B) 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함할 수 있다.

[175] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (B) 계면활성제는 폴리소르베이트 80을 포함할 수 있다.

[176] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (B) 계면활성제의 농도는 0.02 내지 0.1 %(w/v)일 수 있다.

[177] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (C) 당은 단당류, 이당류, 올리고당, 다당류 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함하고, (C) 당의 유도체는 당 알코올, 당 산 또는 이들의 혼합물을 포함할 수 있다.

[178] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (C) 당 또는 이의 유도체는 소르비톨, 만니톨, 트레할로스, 수크로오스 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 포함할 수 있다.

[179] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (C) 당 또는 이의 유도체의

농도는 1 내지 10 %(w/v)일 수 있다.

[180] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (D) 완충제는 아세테이트 또는 히스티딘을 포함할 수 있다.

[181] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, (D) 완충제의 함량은 1 내지 50 mM일 수 있다.

[182] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제의 pH가 4.0 내지 5.5일 수 있다.

[183] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 아스파르트산, 리신, 아르기닌 또는 이들의 혼합물을 포함하지 않을 수 있다.

[184] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 NaCl, KCl, NaF, KBr, NaBr, Na_2SO_4, NaSCN, K_2SO_4 또는 이들의 혼합물을 포함하지 않을 수 있다.

[185] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 킬레이트제를 포함하지 않을 수 있다.

[186] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 보존제를 포함하지 않을 수 있다.

[187] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 수성 담체, 산화방지제, 또는 이들 중 2 이상의 혼합물을 더 포함할 수 있다.

[188] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 1달 후 측정한 점도가 0.5 cp 내지 10.0 cp이거나, 5 ℃ ± 3 ℃에서 6달 후 측정한 점도가 0.5 cp 내지 5.0 cp일 수 있다.

[189] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 (A) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) 당 또는 이의 유도체; 및 (D) 아세테이트 또는 히스티딘을 포함하는 완충제를 포함할 수 있다.

[190] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 (A) 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 도메인, 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR2 도메인 및 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하는 CDR3 도메인을 포함하는

중쇄 가변영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원 결합 단편 90 내지 145 mg/ml; (B) 계면활성제 0.02 내지 0.1 %(w/v); (C) 당 또는 이의 유도체 1 내지 10 %(w/v); 및 (D) 아세테이트 또는 히스티딘을 포함하는 완충제 1 내지 50 mM을 포함할 수 있다.

[191] 상기 치료방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제를 피하로 투여할 수 있다.

[192] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 사용 전에 재용해(reconstitution) 단계, 희석(dilution) 단계 또는 이들 모두를 거치지 않을 수 있다.

[193] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 사용 전에 프리-필드 시린지(pre-filled syringe) 내에 충진될 수 있다.

[194] 상기 치료방법 또는 안정화 방법의 일 구현예에서, 상기 프리-필드 시린지는 사용 전에 자동 주사기(auto-injector) 내에 포함될 수 있다.

[195]

[196] **[제품]**

[197] 본 발명은 또한 상기 안정한 액체 약제학적 제제; 및 상기 안정한 액체 약제학적 제제를 밀폐된 상태로 수용하는 용기를 포함하는 제품을 제공한다.

[198] 상기 안정한 액체 약제학적 제제는 상술한 바와 같다.

[199] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 용기는 유리, 폴리머(플라스틱), 금속 등의 물질로부터 형성될 수 있으며, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 일 구현예에서, 상기 용기는 병, 바이알, 카트리지, 주사기(프리-필드 시린지, 자동 주사기), 또는 튜브이며, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 일 구현예에서, 상기 용기는 유리 또는 폴리머 바이알, 또는 유리 또는 폴리머 프리-필드 시린지일 수 있다.

[200] 상기 바이알, 카트리지, 프리-필드 시린지, 자동 주사기 등의 구체적인 제품형태와 상기 안정한 액체 약제학적 제제를 상기 바이알, 카트리지, 프리-필드 시린지, 자동 주사기 등에 충진하는 방법은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 용이하게 입수하거나 실시할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제4,861,335호, 제6,331,174호 등은 프리-필드 시린지의 구체적인 제품형태 및 충진방법을 개시한다. 예를 들어, 미국 특허 제5,085,642호, 제5,681,291호 등은 자동 주사기의 구체적인 제품형태 및 조립방법을 개시한다. 상기 바이알, 카트리지, 프리-필드 시린지, 자동 주사기 등으로서 상용화된 제품을 그대로 이용하거나, 상기 안정한 액체 약제학적 제제의 물성, 투여부위, 투여량 등을 고려하여 별도로 주문 제작한 제품을 이용할 수 있다.

[201] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 용기의 내부에 실리콘 오일이 코팅되어 있지 않을 수 있다. 실리콘 오일이 코팅되어 있는 경우 안정성이 저하될 수 있다. 상기 용기는 1회 투여용 또는 수회 투여용 용기일 수 있다.

[202] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 제품은 상기 안정한 액체 약제학적 제제의

사용방법, 보관방법 또는 이들 모두를 제공하는 지시사항을 더 포함할 수 있다. 상기 사용방법은 TNF-α의 활성이 유해한 질병의 치료법을 포함하고, 투여경로, 투여량 및 투여시기를 포함할 수 있다.

[203] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 제품은 상업적 및 사용자 관점에서 필요한 기타 도구, 예를 들어 바늘, 주사기 등을 포함할 수 있다.

[204] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

[205]

[206] **실시예**

[207] 아래 실험예에서 사용된 항체와 관련하여, 시판중인 램시마주(제조사: 셀트리온)로부터 정제된 인플릭시맵을 사용하였다.

[208] 아래 실험예에서 사용된 액체 약제학적 제제의 물리적 안정성, 화학적 안정성 및 생물학적 활성의 측정방법으로서 다음과 같은 방법을 사용하였다.

[209] - 탁도(Turbidity)

[210] UV-Vis 분광 광도계를 이용하여 600 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

[211] - 주성분 함량

[212] 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(Size Exclusion HPLC)를 이용하여 주성분 함량(main peak; %)을 측정하였다.

[213] - 고분자량 성분 함량

[214] 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(Size Exclusion HPLC)를 이용하여 고분자량 성분의 함량(pre-peak; %)을 측정하였다.

[215] - 저분자량 성분 함량

[216] 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(Size Exclusion HPLC)를 이용하여 저분자량 성분의 함량(post-peak; %)을 측정하였다.

[217] - 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)

[218] 비환원 모세관 전기이동 나트륨 도데실 설페이트(Non-Reduced Capillary Electrophoresis-Sodium Dodecyl Sulfate; NR CE-SDS)를 이용하여 온전한 면역글로불린 G의 함량(%)을 측정하였다.

[219] - 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)

[220] 환원 모세관 전기이동 나트륨 도데실 설페이트(Reduced Capillary Electrophoresis-Sodium Dodecyl Sulfate; R CE-SDS)를 이용하여 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(%)을 측정하였다.

[221] - 불용성 이물 입자(Sub-visible particles)의 수

[222] 실험예 1-4: 마이크로 플로우 이미징 (Micro Flow Imaging; MFI)을 이용하여 불용성 이물 입자의 수를 측정하였다.

[223] 실험예 5: 광 차폐형 미립자 계수기 (모델명: HIAC 9703)을 이용하여 불용성 이물 입자의 수를 측정하였다.

[224] - 산화율(Oxidation)

[225] 질량분석을 통한 액체 크로마토그래피(LC-MS)로 펩티드 매핑(Peptide mapping)을 통해 중쇄 Met 255의 산화율(%)을 측정하였다.

[226] - 전하 변형체

[227] 이온 교환 크로마토그래피-고성능 액체 크로마토그래피(Ion Exchange Chromatography-High Performance Liquid Chromatography; IEC-HPLC)로 산성 및 염기성 피크(%)를 측정하였다.

[228] - TNF-α 결합 친화도

[229] 효소결합면역흡착 분석법(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay; ELISA)으로 TNF-α 결합 친화도(%)를 측정하였다.

[230] - 점도

[231] 플로우 셀(B05 센서형, 50μm 셀 깊이)이 장착된 마이크로-모세관 유동계(겉보기 전단율 범위: 10^3~10^5 s^{-1}) 장비를 이용하여, 25 ℃ ± 0.1 ℃에서 500 μℓ 시린지에 담아 측정하였다.

[232]

[233] **실험예** 1: 당 알코올과 NaCl의 비교; 아세테이트/히스티딘 완충제와 시트레이트/포스페이트**완충제의 비교; pH 4-5.5와 pH 6-7의 비교**

[234] 실험예 1에서 사용된 액체 약제학적 제제와 관련하여, 각 완충액을 각 pH에 맞게 제조한 뒤 소르비톨 또는 NaCl을 첨가하고, 이에 항체를 첨가하고, 계면활성제를 첨가하여 표 1의 시료들을 제조하였다. 각 성분의 구체적인 함량은 표 1에 기재된 바와 같다. 완충제의 농도는 해당 화합물의 분자/음이온의 농도를 의미한다. 전체 용량은 1 ml였다.

[235] [표1]

구분	항체 함량(mg/ml)	계면활성제	당 알코올 또는 NaCl	완충제	pH
실시예 1	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0
실시예 2	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	히스티딘 10 mM	5.5
실시예 3	100	폴리소르베이트 20 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	히스티딘 10 mM	5.5
비교예 1	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	NaCl 140 mM	아세트산나트륨 10 mM	4.0
비교예 2	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	NaCl 140 mM	시트르산나트륨 10 mM	5.0
비교예 3	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	시트르산나트륨 10 mM	5.0
비교예 4	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	NaCl 140 mM	히스티딘 10 mM	5.5
비교예 5	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	NaCl 140 mM	인산나트륨 10 mM	6.0
비교예 6	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	인산나트륨 10 mM	6.0
비교예 7	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	NaCl 140 mM	인산나트륨 10 mM	7.0
비교예 8	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	인산나트륨 10 mM	7.0

[236] 실시예 1-3 및 비교예 1-8에 따라 제조된 액체 약제학적 제제를 40 ± 2 ℃의 온도 및 75 ± 5 %의 상대습도에서 2주 동안 보관하였다. 그 결과, NaCl을 함유하는 모든 제제(비교예 1, 2, 4, 5 및 7)는 침전 및 젤라틴과 같은 형상을 나타내었다. 또한, 소르비톨을 함유하지만, 시트르산나트륨을 포함하는 비교예 3 및 인산나트륨을 포함하는 비교예 8도 젤라틴과 같은 형상을 나타내었다.

[237] 소르비톨을 함유하는 제제 중 실시예 1, 2, 3, 및 비교예 6만이 젤라틴 형상을 나타내지 않았으며, 이들에 대해 5 ± 3 ℃의 온도에서 0주 후, 2주 후, 4주 후의 안정성 그리고 40 ± 2 ℃의 온도 및 75 ± 5 %의 상대습도에서 2주 후 및 4주 후의

안정성을 측정하였으며, 그 결과를 표 2-9에 나타내었다.

[238]

[239] **탁도**

[240] [표2]

구분	5±3℃, 0주 후	5±3℃, 2주 후	5±3℃, 4주 후	40±2℃, 2주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	0.0082	0.0060	0.0087	0.0364	0.0263
실시예 2	0.0099	0.155	0.0082	0.0291	0.0562
실시예 3	0.0112	0.0059	0.0082	0.0358	0.0643
비교예 6	0.0120	0.0228	0.0138	0.1127	0.3113

[241] 표 2를 보면, pH가 4이고 완충제로서 아세테이트를 포함하는 실시예 1이 탁도 면에서 제일 우수함을 알 수 있고, 특히 40 ℃에서 4주 후에도 흡광도가 0.0300 이하임을 알 수 있다. 또한, pH가 5.5이고 완충제로서 히스티딘을 포함하는 실시예 2-3도 40 ℃에서 4주 후에 흡광도가 0.0700 이하임을 알 수 있다.

[242] 반면, pH가 6이고 완충제로서 포스페이트를 포함하는 비교예 6의 경우 40 ℃에서 2주 및 4주 후에 탁도가 현저히 증가하였음을 알 수 있다.

[243]

[244] **고분자량 성분 함량**

[245] [표3]

구분	5±3℃, 0주 후	5±3℃, 2주 후	5±3℃, 4주 후	40±2℃, 2주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	0.4	0.8	0.6	0.8	0.7
실시예 2	0.6	1.1	0.9	1.6	1.4
실시예 3	0.6	1.1	0.8	1.4	1.3
비교예 6	0.8	1.5	1.2	2.4	2.3

[246] 표 3을 보면, 실시예 1이 모든 조건에서 고분자량 성분을 가장 적게 포함함을 알 수 있다. 특히, 실시예 1이 40 ℃의 온도에서 4주 후 고분자량 성분을 1.0 % 이하로 포함함을 알 수 있다. 또한, 실시예 2 및 3도 40 ℃의 온도에서 4주 후 고분자량 성분을 1.5 % 이하로 포함함을 알 수 있다.

[247]

[248] **온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)**

[249] [표4]

구분	5±3℃, 0주 후	5±3℃, 2주 후	5±3℃, 4주 후	40±2℃, 2주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	97.7	98.8	98.0	96.9	94.5
실시예 2	97.4	98.7	98.2	97.4	94.6
실시예 3	97.2	98.9	97.8	97.4	94.4
비교예 6	97.2	98.6	98.3	97.1	93.6

[250] 표 4를 보면, 실시예 1-3이 40℃의 온도에서 4주 후 온전한 면역글로불린 G의 함량이 94.0% 이상으로 비교예 6보다 높음을 알 수 있다.

[251]

[252] **온전한** 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)

[253] [표5]

구분	5±3℃, 0주 후	5±3℃, 2주 후	5±3℃, 4주 후	40±2℃, 2주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	99.5	99.6	99.5	99.2	98.3
실시예 2	99.5	99.6	99.4	99.3	98.0
실시예 3	99.6	99.6	99.4	99.3	98.3
비교예 6	99.6	99.6	99.4	99.3	97.6

[254] 표 5를 보면, 실시예 1-3이 40℃의 온도에서 4주 후 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량이 98.0% 이상으로 비교예 6보다 높음을 알 수 있다.

[255]

[256] **산화율**(중쇄 Met 255)

[257] [표6]

구분	40±2℃, 0주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	2.2	2.4
실시예 2	2.0	2.5
실시예 3	2.1	2.5
비교예 6	2.2	4.1

[258] 표 6을 보면, 실시예 1-3이 40℃의 온도에서 4주 후 중쇄 Met 255의 산화율이 2.5% 이하로 비교예 6보다 낮음을 알 수 있다.

[259]

[260] **전하** 변형체(산성 피크)

[261] [표7]

구분	5±3℃, 0주 후	5±3℃, 2주 후	5±3℃, 4주 후	40±2℃, 2주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	20.5	20.5	20.5	27.0	33.5
실시예 2	20.6	20.8	20.6	27.9	34.5
실시예 3	20.3	20.9	20.8	27.5	34.4
비교예 6	20.4	20.9	20.9	30.3	38.6

[262] 표 7을 보면, 실시예 1-3이 40℃의 온도에서 4주 후 산성 피크가 35% 이하로 비교예 6보다 낮음을 알 수 있으며, 이는 산성피크 증가의 주요원인인 탈아미노화가 적게 일어나는 안정적인 제형임을 알 수 있다.

[263]

[264] **전하** 변형체(염기성 피크)

[265] [표8]

구분	5±3℃, 0주 후	5±3℃, 2주 후	5±3℃, 4주 후	40±2℃, 2주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	40.6	40.1	40.2	37.4	34.4
실시예 2	40.5	39.8	39.8	36.3	33.1
실시예 3	40.4	39.6	39.8	36.5	33.3
비교예 6	40.4	39.8	40.0	35.1	30.9

[266] 표 8을 보면, 실시예 1-3이 40℃의 온도에서 4주 후 염기성 피크가 33% 이상으로 비교예 6보다 높음을 알 수 있다.

[267]

[268] **불용성 이물 입자의 수(1.00㎛≤, <100.00㎛)**

[269] [표9]

구분	5±3℃, 0주 후	5±3℃, 4주 후	40±2℃, 4주 후
실시예 1	1527	7645	7005
실시예 2	4405	14257	29500
실시예 3	4525	1493	26923
비교예 6	13282	6688	2319386

[270] 표 9를 보면, 실시예 1-3이 40℃의 온도에서 4주 후 불용성 이물 입자(1.00㎛≤, <100.00㎛)의 수가 30,000개 이하로 비교예 6보다 적음을 알 수 있다.

[271]

[272] **실험예** 2: 아미노산 영향

[273] 실험예 2에서 사용된 액체 약제학적 제제와 관련하여, 아세트산나트륨으로 각 pH에 맞게 완충액을 제조한 뒤 소르비톨을 첨가하고, 이에 항체를 첨가하고, 계면활성제와 아미노산/타우린을 첨가하여 표 10의 시료들을 제조하였다. 각 성분의 농도는 표 10에 기재된 바와 같다. 완충제의 농도는 아세테이트 음이온의 농도를 의미한다. 전체 용량은 1 ml였다.

[274] [표10]

구분	항체 함량(mg/ml)	계면활성제	당 알코올 또는 NaCl	완충제	pH	아미노산/타우린[1)]
실시예 1	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	-
참고예 1	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-알라닌
참고예 2	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-아스파라긴
참고예 3	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-글루타민
참고예 4	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-글루탐산
참고예 5	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-글리신
참고예 6	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-이소루신
참고예 7	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-루신
참고예 8	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-메티오닌
참고예 9	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-페닐알라닌
참고예	100	폴리소르베이트	소르비톨	아세트산나	4.0	L-프롤린

10		80 0.05 %(w/v)	4 %(w/v)	트륨 10 mM		
참고예 11	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-세린
참고예 12	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-트레오닌
참고예 13	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-트립토판
참고예 14	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-티로신
참고예 15	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	발린
참고예 16	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	타우린
비교예 9	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-아스파르트산
비교예 10	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-히스티딘
비교예 11	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-리신
비교예 12	100	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 4 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	4.0	L-아르기닌

[275] 1) 아미노산 또는 타우린은 5 %(w/v) 이내로 첨가하였다.

[276] 각각 아스파르트산, 히스티딘, 리신 및 아르기닌을 첨가한 비교예 9, 10, 11 및 12의 경우 50 ± 2 ℃ 에서 24시간 후 고체 상태가 되었다.

[277] 나머지 아미노산 또는 타우린을 함유하는 제제에 대해 5 ± 3 ℃ 및 50 ± 2 ℃에서 24시간 후의 안정성을 각각 측정하였으나, 이들 사이에 그리고 이들과 실시예 1 사이에 큰 차이는 없었다.

[278]

[279] **실험예** 3: 단백질 농도; 계면활성제 농도; 당 종류

[280] 실험예 3에서 사용된 액체 약제학적 제제와 관련하여, 아세트산나트륨으로 각 pH에 맞게 완충액을 제조한 뒤 소르비톨 또는 만니톨 또는 트레할로스 또는 수크로스를 첨가하고, 이에 항체를 첨가하고, 계면활성제를 첨가하여 표 11의 시료들을 제조하였다. 각 성분의 함량은 표 11에 기재된 바와 같다. 완충제의 농도는 아세테이트 음이온의 농도를 의미한다. 전체 용량은 1 ml였다.

[281] [표11]

구분	항체 함량(mg/ml)	계면활성제	당	완충제	pH
실시예 4	125	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 5	110	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 6	90	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 7	145	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 8	110	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 9	110	폴리소르베이트 80 0.1 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 10	110	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	만니톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 11	110	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	트레할로스 10 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0
실시예 12	110	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	수크로스 10 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0

[282] 상기 제제에 대해 5±3℃의 온도에서 0주 후, 2주 후, 4주 후의 안정성 그리고 40±2℃의 온도 및 75±5%의 상대습도에서 2주 후 및 4주 후의 안정성을 측정하였으며, 그 결과를 표 12-17에 나타내었다.

[283]

[284] **단백질 농도**

[285] **고분자량 성분 함량**

[286] [표12]

구분	항체 함량(mg/ml)	0주 후	5℃, 2주 후	5℃, 4주 후	40℃, 2주 후	40℃, 4주 후
실시예 6	90	1.0	1.1	1.1	0.8	0.8
실시예 5	110	1.1	1.1	1.2	1.0	1.0
실시예 4	125	1.1	1.2	1.2	1.2	1.2
실시예 7	145	1.2	1.2	1.3	1.3	1.3

[287] 표 12를 보면, 항체 농도의 상승에 따라, 고분자량 성분이 많아지나, 항체 농도 90 내지 145 mg/ml의 범위 내에서 5℃ 및 40℃에서 4주 후 고분자량 성분이 대체로 낮음을 알 수 있다.

[288]

[289] **계면활성제 농도**

[290] **불용성 이물 입자의 수(1.00㎛≤, <100.00㎛)**

[291] [표13]

구분	계면활성제	0주 후	40℃, 2주 후	40℃, 4주 후
실시예 8	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	590	9235	5581
실시예 5	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	6076	3957	6458
실시예 9	폴리소르베이트 80 0.1 %(w/v)	997	2678	1672

[292] 표 13을 보면, 계면활성제 0.02 내지 0.1 %(w/v)의 범위 내에서 40℃에서 4주 후 불용성 이물 입자의 수(1.00㎛≤, <100.00㎛)가 10,000개 이하임을 알 수 있다.

[293]

[294] **당 종류**

[295] **주성분 함량(main peak)**

[296] [표14]

구분	당	0주 후	40℃, 2주 후	40℃, 4주 후
실시예 5	소르비톨 5 %(w/v)	98.9	98.5	98.1
실시예 10	만니톨 5 %(w/v)	98.9	98.6	98.2
실시예 11	트레할로스 10 %(w/v)	98.9	98.6	98.2
실시예 12	수크로스 10 %(w/v)	98.9	98.6	98.1

[297] 표 14를 보면, 당으로서 소르비톨, 만니톨, 트레할로스 또는 수크로스를 사용한 경우, 40℃에서 4주 후 주성분 함량이 98% 이상임을 알 수 있다.

[298]

[299] **전하 변형체(산성 피크)**

[300] [표15]

구분	당	0주 후	40℃, 2주 후	40℃, 4주 후
실시예 5	소르비톨 5 %(w/v)	19.6	27.2	33.9
실시예 10	만니톨 5 %(w/v)	19.7	27.2	33.7
실시예 11	트레할로스 10 %(w/v)	19.6	27.3	34.0
실시예 12	수크로스 10 %(w/v)	19.7	27.3	33.8

[301] 표 15를 보면, 당으로서 소르비톨, 만니톨, 트레할로스 또는 수크로스를 사용한 경우, 40℃에서 4주 후 산성 피크가 35% 이하임을 알 수 있다.

[302]

[303] **불용성 이물 입자의 수(1.00㎛≤, <100.00㎛)**

[304] [표16]

구분	당	0주 후	40℃, 2주 후	40℃, 4주 후
실시예 5	소르비톨 5 %(w/v)	6076	3957	6458
실시예 10	만니톨 5 %(w/v)	1055	865	4595
실시예 11	트레할로스 10 %(w/v)	2803	1572	3554
실시예 12	수크로스 10 %(w/v)	1246	2416	11230

[305]

[306] **불용성 이물 입자의 수(10.00㎛≤, <100.00㎛)**

[307] [표17]

구분	당	0주 후	40℃, 2주 후	40℃, 4주 후
실시예 5	소르비톨 5 %(w/v)	128	11	115
실시예 10	만니톨 5 %(w/v)	36	37	84
실시예 11	트레할로스 10 %(w/v)	42	13	56
실시예 12	수크로스 10 %(w/v)	40	42	118

[308] 표 16 및 17을 보면, 당으로서 소르비톨, 만니톨, 트레할로스 또는 수크로스를 사용한 경우, 40℃에서 4주 후 불용성 이물 입자의 수(1.00㎛≤, <100.00㎛)가 15,000개 이하이고, 불용성 이물 입자의 수(10.00㎛≤, <100.00㎛)가 200개 이하임을 알 수 있다.

[309]

[310] **실험예 4**: 계면활성제 종류, 킬레이트제 영향

[311] 실험예 4에서 사용된 액체 약제학적 제제와 관련하여, 아세트산나트륨으로 각 pH에 맞게 완충액을 제조한 뒤 소르비톨을 첨가하고, 이에 항체를 첨가하고, 계면활성제 또는 계면활성제와 킬레이트제를 첨가하여 표 18의 시료들을 제조하였다. 각 성분의 함량은 표 18에 기재된 바와 같다. 완충제의 농도는 아세테이트 음이온의 농도를 의미한다. 전체 용량은 1 ml였다.

[312] [표18]

구분	항체 함량(mg/ml)	계면활성제	당	완충제	pH	킬레이트제(EDTA)
실시예 13	120	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0	-
실시예 14	120	폴리소르베이트 20 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0	-
실시예 15	120	폴록사머 188 0.8 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0	-
비교예 13	120	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0	0.05 mg/ml
비교예 14	120	폴리소르베이트 20 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0	0.05 mg/ml
비교예 15	120	폴록사머 188 0.8 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 10 mM	5.0	0.05 mg/ml

[313] 상기 제제에 대해 5±3℃의 온도, 25±2℃의 온도/60±5%의 상대습도, 및 40±2℃의 온도/75±5%의 상대습도의 조건 및 밀폐 조건에서 0주 후, 3주 후, 6주 후의 안정성을 측정하였으며, 그 결과를 표 19-20에 나타내었다.

[314]

[315] **계면활성제 종류**

[316] **불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <100.00㎛)**

[317] [표19]

구분	계면활성제	5℃, 0주 후	5℃, 3주 후	5℃, 6주 후	25℃, 3주 후	25℃, 6주 후	40℃, 3주 후	40℃, 6주 후
실시예 13	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	50	149	46	34	182	249	55
실시예 14	폴리소르베이트 20 0.05 %(w/v)	581	309	103	54	90	185	279
실시예 15	폴록사머 188 0.8 %(w/v)	208	67	86	172	56	344	2050

[318] 표 19를 보면, 계면활성제로서 폴리소르베이트 80을 사용한 실시예 13의 경우, 40℃에서 6주 후 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 100 개 이하로 제일 적었으며, 폴록사머 188을 사용한 실시예 15의 경우 40℃에서 6주 후 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <100.00㎛)의 개수는 2,000개 이상으로 가장 많았음을 알 수 있다.

[319]

[320] **킬레이트제**(EDTA) 영향

[321] **산화율(중쇄 Met 255)**

[322] [표20]

구분	킬레이트제(EDTA)	5℃, 0주 후	5℃, 3주 후	5℃, 6주 후	40℃, 3주 후	40℃, 6주 후
실시예 13	-	1.9	1.9	1.9	2.3	2.5
실시예 14	-	2.0	1.9	1.9	2.2	2.4
실시예 15	-	1.9	1.9	1.9	2.3	2.5
비교예 13	0.05 mg/ml	1.9	1.8	1.8	2.9	3.3
비교예 14	0.05 mg/ml	2.3	1.8	2.0	2.8	3.3
비교예 15	0.05 mg/ml	1.8	1.9	1.9	2.8	3.4

[323] 표 20을 보면, 킬레이트제(EDTA)를 포함한 비교예 13-15는 킬레이트제(EDTA)를 포함하지 않은 실시예 13-15에 비해 40℃에서 6주 후 중쇄 Met 255의 산화율이 증가하였음을 알 수 있다.

[324]

[325] **실험예** 5: 장기간 안정성

[326] 실험예 5에서 사용된 액체 약제학적 제제와 관련하여, 아세트산나트륨으로 pH

5.0에 맞게 완충액을 제조한 뒤 소르비톨을 첨가하고, 이에 항체를 첨가하고, 계면활성제를 첨가하여 표 21의 시료를 제조하였다. 각 성분들의 함량은 표 21에 기재된 바와 같다. 완충제의 농도는 아세테이트 음이온의 농도를 의미한다. 전체 용량은 1 ml였다.

[327] [표21]

구분	항체 함량(mg/ml)	계면활성제	당	완충제	pH
실시예 16	120	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	소르비톨 5 %(w/v)	아세트산나트륨 25 mM	5.0

[328] 상기 제제에 대해 5±3℃의 온도 및 밀폐 조건에서 0달 후, 3달 후, 6달 후의 안정성을 측정하였으며, 그 결과를 표 22-27에 나타내었다.

[329]

[330] **불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <400.00㎛)**

[331] [표22]

구분	5℃, 0달 후	5℃, 3달 후	5℃, 6달 후	5℃, 9달 후	5℃, 12달 후
실시예 16	35	26	48	32	43

[332] 표 22를 보면, 실시예 16은 5℃에서 12달 후 불용성 이물 입자(10.00㎛≤, <400.00㎛)의 수가 100개 이하로 낮음을 알 수 있다.

[333]

[334] **온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact** IgG%)

[335] [표23]

구분	5℃, 0달 후	5℃, 3달 후	5℃, 6달 후	5℃, 9달 후	5℃, 12달 후
실시예 16	94.6	93.9	94.3	94.4	94.4

[336] 표 23을 보면, 실시예 16은 5℃에서 12달 후 온전한 면역글로불린 G의 함량이 94% 이상으로 높음을 알 수 있다.

[337]

[338] **온전한** 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)

[339] [표24]

구분	5℃, 0달 후	5℃, 3달 후	5℃, 6달 후	5℃, 9달 후	5℃, 12달 후
실시예 16	99.7	99.5	99.6	99.4	99.4

[340] 표 24를 보면, 실시예 16은 5℃에서 12달 후 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량이 99% 이상으로 높음을 알 수 있다.

[341]

[342] **고분자량 성분 함량**

[343] [표25]

구분	5℃, 0달 후	5℃, 3달 후	5℃, 6달 후	5℃, 9달 후	5℃, 12달 후
실시예 16	0.5	0.9	0.9	0.8	0.7

[344] 표 25를 보면, 실시예 16은 5℃에서 12달 후 고분자량 성분 함량이 1.0% 이하로 낮음을 알 수 있다.

[345]

[346] **저분자량 성분 함량**

[347] [표26]

구분	5℃, 0달 후	5℃, 3달 후	5℃, 6달 후	5℃, 9달 후	5℃, 12달 후
실시예 16	0.0	0.1	0.1	0.1	0.3

[348] 표 26을 보면, 실시예 16은 5℃에서 12달 후 저분자량 성분 함량이 0.4% 이하로 낮음을 알 수 있다.

[349]

[350] **TNF**-α 결합 친화도

[351] [표27]

구분	5℃, 0달 후	5℃, 3달 후	5℃, 6달 후	5℃, 9달 후	5℃, 12달 후
실시예 16	95	98	116	101	97

[352] 표 27을 보면, 실시예 16은 5℃에서 12달 후 TNF-α 결합 친화도가 95% 이상으로 높음을 알 수 있다.

[353] 상기 제제에 대해 40±2℃의 온도 및 밀폐 조건에서 0달 후, 0.5달 후, 1달 후, 2달 후, 3달 후의 점도 및 5±3℃의 온도 및 밀폐 조건에서 6달 후의 점도를 측정하였으며, 그 결과를 표 28에 나타내었다.

[354]

[355] **점도(cP)**

[356] [표28]

구분	0달 후	40℃, 0.5달 후	40℃, 1달 후	5℃, 6달 후
실시예 16	4.1	5.6	8.0	4.0

[357] 표 28을 보면, 실시예 16은 온도 40 ℃ ± 2 ℃에서 1달 후 점도가 8.0 cp로 낮게 유지됨을 알 수 있고, 온도 5 ℃ ± 3 ℃에서 6달 후 점도가 4.0 cp로 낮게 유지됨을 알 수 있다.