



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2021년07월05일  
(11) 등록번호 10-2272568  
(24) 등록일자 2021년06월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
A61K 39/395 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61K 47/06 (2017.01) A61K 9/00 (2006.01)  
C07K 16/28 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
A61K 39/395 (2013.01)  
A61K 47/06 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2016-7001802  
(22) 출원일자(국제) 2014년07월23일  
심사청구일자 2019년07월19일  
(85) 번역문제출일자 2016년01월21일  
(65) 공개번호 10-2016-0034307  
(43) 공개일자 2016년03월29일  
(86) 국제출원번호 PCT/EP2014/065840  
(87) 국제공개번호 WO 2015/011199  
국제공개일자 2015년01월29일  
(30) 우선권주장  
13177699.9 2013년07월23일  
유럽특허청(EPO)(EP)  
(56) 선행기술조사문헌  
WO2013110621 A1  
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자  
노바리크 게엠베하  
독일, 하이델베르크 69120, 임 노이엔하이머 펠트 515  
(72) 발명자  
군터, 베른하르트  
독일, 도센하임 69221, 슈리스하이머스트라세 19  
쉐러, 디터  
스위스, 라우펜 체하-4242, 임 참볼 18  
(뒷면에 계속)  
(74) 대리인  
강명구, 이경민

전체 청구항 수 : 총 14 항

심사관 : 강태현

(54) 발명의 명칭 **안정화 항체 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 부분 불소화 알칸에서 선택되는 액상 비히클에 기반한 항체의 신규 조성물을 제공한다. 이들 비히클의 용도는 항체들 및 그들의 유도체의 개선된 안정성 및 저장 수명(shelf-life)을 제공한다. 조성물은 국부 투여 또는 비경구 주사에 유용하다.

(52) CPC특허분류

*A61K 9/0019* (2013.01)

*C07K 16/28* (2013.01)

*A61K 2039/505* (2013.01)

(72) 발명자

**페티그루, 안토니**

독일, 하이델베르크 69120, 군돌프스트라세 18

**그라프, 게쾨**

독일, 벤스하임 64625, 게르트루트-아이졸트-스트  
라세 5

(56) 선행기술조사문헌

US20100008996 A1

WO2005099752 A1

Graefe's archive for clinical and experimental  
ophthalmology, 243(4), pp.345-358

Immunotechnology, 2(3), pp.219-228(1996)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

단클론 항체, 다클론 항체, 항체 단편, 항체 단편을 포함한 융합 단백질, 항체-약물 접합체 및 이의 임의의 조합에서 선택된 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질, 및

액상 비히클을 포함한 조성물에 있어서, 액상 비히클은 다음 화학식의 부분 불소화 알칸을 포함하고:

RFRH

여기서 RF는 4 내지 12개 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기이고;

항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 분산액 또는 현탁액을 형성하도록 조성물에 편입되고, 그리고

상기 조성물은 실온 내지 40℃의 온도에서 6개월의 저장 동안 이의 초기 항원-결합 활성의 적어도 85%를 보유하는, 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 항체 단편은 항원-결합 단편 (Fab), 단쇄 가변 단편 (scFv), 단일-도메인 항체, 미니바디 (minibody), 또는 디아바디(diabody)인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 3

제1항에 있어서, 단클론 항체는 키메라 항체, 인간화 항체, 또는 인간 항체인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 적어도 90 kDa의 분자 질량을 갖는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 부분 불소화 알칸은 F4H5, F4H6, F4H8, F6H4, F6H6, 및 F6H8에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 물이 없는 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 적어도 0.5 mg/mL의 농도인 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 약제로서의 사용하기 위한 것임을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 9

제8항에 있어서, 약제는 피하, 진피, 근육내, 국소영역 주사에 의한 비경구 투여를 위한 것을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 10

항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 안정화하는 방법에 있어서,

항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 단클론 항체, 다클론 항체, 항체 단편, 항체 단편을 포함한 융합 단백질,

항체-약물 접합체 또는 이의 임의의 조합이고,

상기 방법은 다음 화학식의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클과 상기 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 혼합하는 단계를 포함하며:

RFRH

여기서 분산액 또는 현탁액을 형성하도록, RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 11

제10항에 있어서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 실온 내지 40℃의 온도에서 6개월의 저장 동안 초기 항원-결합 활성의 적어도 85%를 보유하는 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 12

제10항에 있어서, 먼저 동결건조 또는 스프레이-건조에 의해 상기 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 제조하는 단계를 포함함을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 13

청구항 8에 있어서, 상기 약제는 암 치료용이며, 상기 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 알렘투주맵(alentuzumab), 베바시주맵(bevacizumab), 세특시맵(cetuximab), 쯔투주맵, 이필리무맵(ipilimumab), 이브리투모맵, 니모투주맵(nimotuzumab), 오파투무맵(ofatumumab), 파니투무맵(panitumumab), 리투시맵(rituximab), 토시투모맵, 및 트라스투주맵(trastuzumab)에서 선택된 단클론 항체 또는 항체 단편임을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 14

청구항 8에 있어서, 상기 약제는 자가면역 또는 염증 질환 치료용이며, 상기 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 아달리무맵(adalimumab), 알렘투주맵, 벨리무맵(belimumab), 브리아키누맵(briakinumab), 카나키누맵(canakinumab), 에쿨리주맵(eculizumab), 에프라투주맵(epratuzumab), 에팔리주맵(efalizumab), 골리무맵(golimumab), 인플리시맵(infliximab), 메폴리주맵(mepolizumab), 나탈리주맵(natalizumab), 오파투무맵, 오크렐리주맵(ocrelizumab), 오텔리시주맵(otelixizumab), 오말리주맵, 레슬리주맵(reslizumab), 리투시맵, 테플리주맵(teplizumab), 토실리주맵(tocilizumab), 우스테키누맵(ustekinumab), 및 베돌리주맵(vedolizumab)에서 선택된 단클론 항체 또는 항체 단편임을 특징으로 하는 조성물.

#### 청구항 15

삭제

### 발명의 설명

#### 기술 분야

[0001] 분야

[0002] 본 발명은 항체 조성물, 특히 치료학적 또는 진단학적 용도를 위한 제약학적 제제로서 유용한 조성물의 분야이다.

#### 배경 기술

[0003] 배경

[0004] 항체-기반 요법은 항체 조작 및 생산 기술에서 다수의 새로운 개발과 함께, 암 또는 자가면역 질환과 같은 수많은 질환에 대한 효과적인 치료 선택으로서 수년간 주목을 받아왔다.

[0005] 항체 제제 및 전달과 연관된 주요 도전들 중 하나는 특히 장기간 보관 및 수송을 위해, 항체 치료의 안정성 및 형태를 유지하는 것이다. 다른 유형의 단백질-기반 치료제와 같은 항체는 동결융해법(freeze-thawing)으로부터 또는 수송 동안 온도 변화, 빛에 노출, 산소 또는 화학물질/용매, 전단 스트레스, 및 pH 스트레스와 같은 스트

레스 조건 하에 물리적 및 화학적 불안정성에 영향을 받기 쉽다.

- [0006] 그들은 변성 (삼차 및/또는 이차 구조의 손실)을 겪게 되거나 상호작용하여 응집물을 형성할 수 있다. 항체 응집은 액체 및 고체 상태 모두에서 발생할 수 있지만, 액상 제제, 특히 고농도의 항체에서는 특히 문제가 있다. 전형적으로, 항체는 상대적으로 고용량에서 치료학적으로 효과적이다. 이에 따라, 용량 부피를 최소화하고 더욱 환자-친화적으로 투여 (가령, 감소된 주사 횟수, 정맥내 주입 대신 피하 주사)하도록 높은 항체 농도는 제약학적 제제에서 일반적으로 바람직하다.
- [0007] 사실상, 응집은 활성 항체 치료의 손실을 초래하여, 신뢰할 수 없고 효과적이지 않은 투약을 초래할 수 있다. 더욱 유의적으로, 응집물은 또한 독성을 나타낼 수 있고 바람직하지 않거나 심각한 면역성 반응을 촉발할 수 있다. 유통을 방해하는 거대 미립자의 침전을 야기하는 응집은 어떠한 종류의 비경구 적용에도 바람직하지 않다.
- [0008] 화학적 경로, 가령 산화, 탈아미드화, 이성질체화, 디설파이드 결합 형성 및 다른 비가역 가교 반응을 통한 항체 변형 및 분해는 또한 시간에 걸쳐 일어날 수 있고 그리고 항체의 비활성화를 초래하고, 이뿐만 아니라 응집을 촉발할 수 있다. 응집과 함께, 이들 반응은 종종 상승된 온도에서 가속된다; 결과적으로 냉동은 거의 항상 선행조건이 된다. 수많은 이들 화학 반응에서, 물은 또한, 가령 아미도 결합의 가수분해 절단에서 반응 중간체로서 또는 매개자로서 유의적인 역할을 한다. 따라서, 고체-상태 분말 제제를 형성하기 위한, 가령 동결건조, 또는 냉동-건조에 의한, 물의 제외는 항체 치료의 안전한 제제를 제조하는 것에 대하여 효과적인 조치가 될 수 있다.
- [0009] 시판되는 치료학적 항체 또는 항체 유도체/단편의 제제들 중 몇 가지는 훈련 받은 의료 또는 준의료 종사자에 의한 투여 직전에 수성 매체와 멸균 조건 하에 복원되어야 할 필요가 있는 동결건조 분말 제제에 기반한다. 예를 들어, 오말리주맵(omalizumab) (가령, Genentech에 의해 시판되는 Xolair<sup>®</sup>)은 일회용 유리병내 동결건조 분말로서 이용가능하다.
- [0010] 하지만, 실제 투여에 앞서 추가 단계로서 멸균 수성 매체내 동결건조 항체의 복원은 오염뿐만 아니라, 부적절한 처리 (가령, 진탕) 또는 투약의 위험을 수반한다. 수성 매체의 pH 또는 온도가 차선이고, 재수화를 허용하는 시간이 너무 짧고, 또는 용해 단계 동안에 유리병이 너무 과도하게 진탕된다면 복원 단계 스스로 응집을 촉발할 수 있다. 권고되는 시간 기간 내에 동결건조 항체 산물을 적절하게 용해시키는 것에 대한 실패는 폐기되어야 하는 샘플을 주로 요구하기 때문에, 소모에 대한 경향이 또한 더 높다.
- [0011] 동결건조 공정 단계 스스로 응집 및/또는 분해를 유도할 수 있다는 점에 주목해야 한다. 추가적인 안정화 부형제, 가령 사카라이드 또는 폴리올은 종종, 증량제와 같은 다른 부형제와 함께, 전-동결건조 조성물에 첨가된다. 다른 부형제의 첨가는 또한, 항체의 더 긴 저장 수명 (shelf-life)을 뒷받침하기 위하여 동결건조 후 요구되어, 최종 제제에서 성분의 수를 늘릴 수 있다.
- [0012] 즉시 사용 가능한 액상 제제는 일반적으로, 투여를 위한 제조물의 용이성으로 인하여, 사용자에게 선호될 것이다. 안정하다면, 액상 제제는 시간 소모적이고 약물 개발 및 일과적인 제조 동안에 고비용인, 동결건조의 회피로 인하여, 제약학적 제조자에게 있어 또한 매력적이다. 실제로, 항체 또는 항체 유도체의 많은 시판 제제는 수성-기반 용액이다. 수성 제제와 함께, 매체의 pH는 다양한 분해성 화학 반응의 가능성을 촉진하거나 감소시키는 것에 관하여, 항체의 안정성에 유의적인 영향을 가질 수 있다. 결과적으로, 항체에 대한 안정을 제공하고 시간에 걸쳐 수성 환경에서의 저장 동안에 일어날 수 있는 여러 가지 가능한 분해 공정에 반작용하기 위하여, 다른 제제 부형제, 가령 항산화 자유-라디칼 소거제, 계면활성제 및 다른 항-응집 첨가제, 또는 보존제와 함께, 최적화된 완충 시스템이 항상 요구된다.
- [0013] 동결건조 및 수성 용액에 대한 대안적인 제제 선택, 가령 담체 비히클로서 비-수성 액체의 용도가 공지된다. 예를 들어, W02012/121754는 소수성 비히클, 가령 참깨유, 및 점성-완화제, 가령 에틸 올레이트, 그리고 항-TNF α 항체를 포함한 비-수성, 고농도 현탁 제제를 설명한다. 이들 조성물은 주사에 대해 더욱 다루기 쉬운 오일 담체를 만들기 위하여, 담체에서 완전히 혼합성인 점성-완화제의 첨가를 요구한다. 일반적으로, 지질 및 오일의 비경구 이용은 주사 부위에서 고통 및 바람직하지 않은 다른 부작용을 야기할 수 있다. 이들 유형의 화합물은 또한 치료제의 방출을 늦출 수 있고, 그러므로 신속하거나 즉시 생체이용가능성이 바람직하다면 이는 이상적인 것이 아니다.
- [0014] 과불소화 화합물은 또한, 단백질 및 펩티드와 같은 생물학적으로 활성인 물질의 가능성 있는 비-수성 액상 담체로서 설명되었다. 예를 들어, US6458376은 안과 적용 (가령, 국부적으로 적용되는 점안약)을 위해 제안되는 조성물을 설명하고, 여기서 올리고펩티드 및 단백질 성장 인자를 비롯한, 치료학적/진단학적 화합물은 과불화탄소

또는 불소화 실리콘 오일에서 그리고 적어도 하나의 계면활성제의 존재에서 현탁된다. 하지만, 항체 또는 항체 단편 및 유도체를 포함하는 이러한 조성물에 대한 언급은 없다.

[0015] US6730328은 열에 안정한 제제를 설명하고 여기서 비-수성, 소수성, 비-반응성 비히클, 가령 미네랄 오일, 퍼플루오로데칼린, 메톡시플루란, 퍼플루오로트리부틸아민 및 테트라데칸은 단백질, 단백질성 화합물 및 핵산을 포함한 현탁 조성물에 이용된다. 제제는 비경구, 경피, 점막, 경구 및 장 투여 방법, 그리고 장기간 지속적인 투여를 위한 그들의 용도 및 이식형 장치를 통한 전달을 위해 제안된다. 하지만, 이러한 비히클내 항체 또는 항체 단편 또는 유도체의 현탁액에 대한 어떠한 특정 예시도 개시되지 않고, 3개월의 시점이 지나고 상승된 온도에서 이러한 조성물의 안정성에 관하여 어떠한 교시도 나오지 않는다. 이들 유형의 조성물의 실제 조직 양립성도 역시 입증되지 않았다.

[0016] WO 2011/073134는 선택적으로 에탄올과 같은 공용매의 존재에서 부분 불소화 알칸내 1202.31의 분자량을 가진 환형 폴리펩티드인, 시클로스포린의 용액을 개시한다. 현탁액 및 에멀전이 선택적인 대안으로서 언급되긴 하지만, 이러한 유형의 조성물, 또는 킬로달톤 범위에서의 고분자량 단백질성 중, 가령 항체 또는 항체 단편 또는 유도체를 포함한 임의의 조성물에 대해 어떠한 특정한 개시도 나타나지 않는다.

[0017] 이에 따라, 해당 분야에서 현재 공지되는 제제와 연관된 임의의 제한 및 단점을 극복하는 신규한 항체 조성물을 도입하는 것이 본 발명의 목적이다.

**발명의 내용**

[0018] 발명의 요약

[0019] 첫 번째 측면에서, 본 발명은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질, 그리고 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클의 신규 조성물을 제공하고, 여기서 RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기이다. 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 분산액 또는 현탁액을 형성하도록 조성물에 편입된다.

[0020] 또 다른 측면에서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 단클론 항체, 항체 단편, 다클론 항체, 항체 단편을 포함한 융합 단백질, 또는 항체-약물 접합체에서 선택될 수 있다.

[0021] 추가적인 측면에 있어서, 본 발명은 질환 또는 질병의 치료, 예방 또는 진단을 필요로 하는 환자에서 질환 또는 질병의 치료, 예방 또는 진단을 위한 방법을 제공하고, 상기 방법은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질, 그리고 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클을 포함한 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기이고, 그리고 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 분산액 또는 현탁액을 형성하도록 조성물에 편입된다.

[0022] 또 다른 구체예에서, 본 발명은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 안정화하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클과 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 혼합하는 단계를 포함하고, 여기서 분산액 또는 현탁액을 형성하도록, RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0023] 본 발명의 상세한 설명

[0024] 첫 번째 측면에서, 본 발명은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 그리고 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클을 포함한 조성물을 제공하고, 여기서 RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소를 가진 선형 알킬기이다. 더욱이, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 분산액 또는 현탁액을 형성하도록 조성물에 편입된다; 즉 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 액상 비히클에서 분산되거나 현탁된다.

[0025] 부분 불소화 알칸은 제약학적 관점으로부터 다수의 이점을 제공한다. 그들은 실질적으로 비-독성이고 국부적으로 또는 비경구로 투여될 때 다양한 유형의 인간 및 동물 조직에 의해 잘-용인되는 것으로 밝혀진다. 추가로, 그들은 화학적으로 불활성이고 일반적으로 제약학적 제제에서 활성 및 비활성 성분과 양립가능하다. 또한 그들은 아마도 그들의 내재하는 양친매성으로 인하여, 매우 다양한 화합물, 가령 소분자 활성 성분 및 다수의 일반적인 제약학적으로 허용되는 부형제를 용해시킬 수 있다. 더욱이, 부분 불소화 알칸은, 녹지 않거나 불완전하게

녹는 화합물 (가령, 항원-결합 단백질 또는 폴리펩티드)에 대한 비히클로서 작용할 때, 매우 유용한 물리적인 또는 제약학적 특성을 갖는, 즉 고체, 비-분산 침전물을 형성하는 경향이 거의 없는 분산액 또는 현탁액을 형성한다.

- [0026] 항원-결합 단백질 또는 폴리펩티드를 포함한 조성물에서 액상 비히클로서 부분 불소화 알칸의 존재는 이들 성분에 주목할만한 안정화 영향을 미친다는 점이 발명자에 의해 밝혀졌다. 특히, 액상 비히클로서 부분 불소화 알칸을 포함한 조성물은 그들의 응집을 실질적으로 예방하거나 저해할 수 있고 그리고 생물학적 활성의 손실 없이, 실질적인 기간의 시간에 걸쳐, 실온에서, 그리고 심지어 더 높은 온도, 가령 40°C에서 화학적 분해를 감소시킬 수 있다.
- [0027] 부분 불소화 알칸에서 항원-결합 단백질 분산액 및 현탁액은 주목할만한 정도의 물리적 안정성을 나타낸다는 점이 또한 밝혀졌다. 부유 또는 침강의 발생은 친천히 일어나, 분산액 또는 현탁액을 포함한 용기 (가령, 유리 병)의 부드러운 진탕 또는 스월링(swirling) 후 용량의 회수를 위한 충분한 시간을 남겨둔다. 부분 불소화 알칸에서 항원-결합 단백질 입자는 그들의 원래 입도 분포를 대개 유지하는 것으로 나타나고, 그리고 쉽게 재분산될 수 있다; 불완전하게 재분산되는 응집물은 형성되는 것으로 나타나지 않는다. 중요하게도, 이것은 정확성과 재현성에 관하여 더 높은 수준의 투약 정확도를 제공한다.
- [0028] 대조적으로, 다른 화학적 불활성 비히클에서 현탁액 또는 분산액은 불안정한 경향이 있는데, 이는 밀집되고 불완전하게 재분산되는 응집물의 형성을 초래하고, 정확한 투약을 요하고, 또는 몇몇 경우에는 불가능한 경향이 있는데, 이는 가령, 피하 주사에 전형적으로 이용되는 미세-게이지 바늘의 막힘을 초래한다. 응집된 단백질 입자는 또한, 부정적인 면역성 반응을 촉발하는 것에 대해 높은 위험성을 나타낸다.
- [0029] 불안정한 현탁액 또는 분산액은 분산상 및 연속상의 상대적인 밀도에 따라, 분산상의 부유에 의해, 또는 이의 침강에 의해 재빠르게 분리되는 경향이 있다. 이러한 작용은 밀집되고 불완전하게 재분산되는 응집물의 신속한 형성을 주로 수반한다. 신속한 부유 또는 침강은 불가능하지 않지만, 정확하고 재현가능한 투약을 요한다. 예를 들어, 주사용 또는 안과용 현탁액은 진탕 후 재빠르게 가라앉았다면, 그리고 전체 용기로부터 첫 번째 용량이 진탕 후 바로 회수되지 않는다면, 회수되는 용량은 의도한 것보다 적은 수의 약물 입자를 함유할 수 있다 (또는 용기를 거꾸로 둔다면, 의도한 것보다 더 큰 용량이 분산될 것이다). 그 다음, 동일한 용기로부터 회수되는 추후 용량은 또한, 부피당 매우 높거나 매우 낮은 약물-용량을 함유할 것이다. 불완전하게 재분산되는 응집물을 재분산시키기 위한 시도에서 항원-결합 폴리펩티드 및 단백질의 격렬한 진탕은 또한, 그들의 추가적인 응집과 악화를 추가로 촉발할 수 있다.
- [0030] 본 발명의 주요 이점은 조성물에서 부분 불소화 알칸의 존재로 액상 비히클로서의 기능을 야기한다. 부분 불소화 알칸-기반 현탁액의 유리한 특성은 우수한 제약학적 질 및 성능 특징을 야기하고, 그리고 또한 환자 및/또는 의료인을 위해 이용의 편의성을 증가시킨다.
- [0031] 부분 불소화 알칸은 선형 또는 분지형 알칸이고 이들 중 몇 가지의 수소 원자는 불소로 대체되었다. 본 발명에서 이용되는 부분 불소화 알칸 (SFA)에서, 하나의 선형 비-불소화 탄화수소기 및 하나의 선형 과불소화 탄화수소기 존재한다. 따라서 이들 화합물은 일반적인 화학식  $F(CF_2)_n(CH_2)_mH$ 를 따른다. 본 발명에 따르면, n은 4 내지 12의 범위에서 선택되고, 그리고 m은 4 내지 8의 범위에서 선택된다.
- [0032] 부분 불소화 알칸에 대해 자주 사용되는 명명법은 RF로서 과불소화 탄화수소기 그리고 RH로서 비-불소화 그룹을 명시한다. 대안으로, 화합물은 각각,  $F_nH_m$  및  $F_nH_m$ 을 나타낼 수 있고, 여기서 F는 과불소화 탄화수소기를 의미하고, H는 비-불소화 그룹을 의미하고, 그리고 n 및 m은 개별적인 그룹의 탄소 원자수를 정의한다. 예를 들어, F3H3은 퍼플루오로프로필프로판,  $F(CF_2)_3(CH_2)_3H$ 에 대해 사용된다. 더욱이, 이 유형의 명명법은 주로 선형 그룹을 갖는 화합물에 대해 사용된다. 이에 따라, 달리 명시되지 않는 한, F3H3은 2-퍼플루오로프로필프로판, 1-퍼플루오로이소프로필프로판 또는 2-퍼플루오로이소프로필프로판 보다는 1-퍼플루오로프로필프로판을 의미한다는 것으로 추정되어야 한다.
- [0033] 바람직한 부분 불소화 알칸은 특히 화합물 F4H5, F4H6, F4H8, F6H4, F6H6, F6H8, 및 F6H10을 포함한다. F4H5, F4H6, F6H6 및 F6H8이 본 발명을 수행하는 데에 있어 특히 바람직하다. 특히 바람직한 또 다른 구체예에서, 본 발명의 조성물은 F6H8을 포함한다.
- [0034] 선택적으로, 조성물은 하나 초과 SFA를 포함할 수 있다. 예를 들어, 특정한 표적 특성, 가령 특정한 밀도 또는 점성을 성취하기 위하여, SFA를 조합하는 것이 유용할 수 있다. SFA의 혼합물이 이용된다면, 혼합물은 F4H5,

F4H6, F6H4, F6H6, F6H8, 및 F6H10 중 적어도 하나, 특히 F4H5, F4H6, F6H6 및 F6H8 중 하나를 포함한다는 점이 더욱이 바람직하다. 또 다른 구체예에서, 혼합물은 F4H5, F4H6, F6H4, F6H6, F6H8, 및 F6H10에서 선택되는 적어도 2개의 구성원, 특히 F4H5, F6H6 및 F6H8에서 선택되는 적어도 2개의 구성원을 포함한다.

- [0035] 액상 SFA는 화학적으로 그리고 생리학적으로 불활성이고 무색이며 안정하다. 그들의 전형적인 밀도는 범위가 1.1 내지 1.7 g/cm<sup>3</sup>이고, 그리고 그들의 표면 장력은 19 mN/m만큼 낮을 수 있다. RFRH 유형의 SFA는 물에서 불용성이지만 또한 어느 정도 양친매성이고, 여기서 증가한 지질친화성은 비-불소화 그룹의 증가한 크기와 연관이 있다.
- [0036] RFRH 유형의 액상 SFA는 유리체 대체물 (H. Meinert et al., European Journal of Ophthalmology, Vol. 10(3), pp. 189-197, 2000)로서, 그리고 유리체-망막 수술 후 잔여 실리콘 오일에 대한 세척 용액으로서 장기간 압전 동안 망막을 피고 재적용하기 위해 상업적으로 이용되고 있다. 실험으로, 그들은 또한, 혈액 대체물로서 이용되었다 (H. Meinert et al., Biomaterials, Artificial Cells, and Immobilization Biotechnology, Vol. 21(5), pp. 583-95, 1993). 이들 적용은 생리학적으로 잘 용인되는 화합물로서 SFA를 확립하였다. 다른 한편으로, SFA는 오늘부로 승인된 약물 산물내 부형제로서 이용되었다.
- [0037] 본 발명의 조성물은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한다. 일반적으로 폴리펩티드 및 단백질은 펩티드 결합에 의해 서로 연결된 아미노산 단위의 중합체를 나타낸다. 폴리펩티드와 단백질을 구별하는 데에 종종 이용되는 규모 경계는 어느 정도 임의적이므로, 이들 분자의 두 가지 표현은 -본 발명의 맥락 내에서 - 상호간에 배타적인 것으로 이해되어서는 안 된다: 폴리펩티드는 또한, 단백질로 나타낼 수 있고, 그리고 반대로도 나타낼 수 있다. 전형적으로, 용어 "폴리펩티드"는 단일 중합체 사슬만 나타내고, 반면에 표현 "단백질"은 비-공유 결합에 의해 서로 연결되는 2개 이상의 폴리펩티드 사슬도 나타낼 수 있다.
- [0038] 더욱 구체적으로, 그리고 본 발명의 맥락 내에서 이용되는 바와 같이, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 그들의 단량체, 또는 중합 형태로 전장 및 전체 항체 (면역글로불린으로도 또한 공지됨) 그리고 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 전장 항체로부터 유래된 임의의 단편, 사슬, 도메인 또는 임의의 변형을 나타낸다. 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 IgG, IgA, IgD, IgE, 또는 IgM 면역글로불린 동형 또는 종류들 중 어느 하나에 속할 수 있다. 항원 및 항체-약물 접합체에 특이적으로 속할 수 있는 항체 단편을 포함한 융합 단백질은 또한, 본 명세서에서 이용되는 바와 같은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질의 정의 내에 또한 있다.
- [0039] 전장 항체는 Fc (단편 결정성) 도메인 및 Fab (단편 항원 결합) 도메인을 가진 일반적인 구조로 구성된 Y-형 글리코 단백질이다. 구조적으로, 이들은 Y-형 구조를 형성하기 위해 디설파이드 결합을 통해 연결되는 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L) 폴리펩티드 구조로부터 구성된다. 사슬의 유형 각각은 가변 영역 (V) 및 불변 영역 (C)를 포함한다; 중쇄는 가변 사슬 영역 (V<sub>H</sub>) 그리고 여러 가지 불변 영역 (가령, C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> 등)을 포함하고 경쇄는 가변 사슬 영역 (V<sub>L</sub>) 및 불변 영역을 포함한다. V 영역은 추가적인 서브-도메인/영역, 즉 더욱 보존된 아미노산 잔기를 포함한 프레임워크 (FR) 영역 그리고 아미노산 잔기에 관하여 증가된 가변성의 영역으로 구성된 초가변 영역 (HV) 또는 상보적 결정 영역 (CDR)으로 추가로 특징될 수 있다. 사슬의 가변 영역은 항체의 결합 특이성을 결정하고 항체의 항원-결합 Fab 도메인을 형성한다.
- [0040] 본 발명의 바람직한 구체예에서, 조성물은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함하고, 여기서 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 단클론 항체, 다클론 항체, 항체 단편, 항체 단편을 포함한 융합 단백질, 항체-약물 접합체, 또는 이의 임의의 조합에서 선택된다.
- [0041] 본 발명의 특정하게 바람직한 구체예에서, 조성물은 단클론 항체 (mAb)에서 선택된 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한다. 단클론 항체는 항원 상의 결합 부위 또는 단일 에피토프에 대하여 특이적인 항체의 균질 모집단으로부터 선택된 항체를 나타낸다. 단클론 항체는 해당 분야에 공지된 항체 조작 기술, 가령 하이브리도마 또는 재조합 DNA 방법을 이용하여 생성될 수 있다.
- [0042] 또한 항원-결합 폴리펩티드 및 단백질의 범위 내에, 단클론 항체는 항체 단편이다. 본 명세서에서 정의된 바와 같이, 항체 단편은 항체의 임의의 영역, 사슬, 도메인, 또는 항원과 상호작용하고 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 구조체 또는 이의 접합체를 포함하고, 그리고 결합 능력에 관하여 1가, 2가, 또는 심지어 다가일 수 있다. 이러한 항체 단편은 해당 분야에서 공지된 방법, 예를 들어, 전장 고유 항체의 해부 (가령, 단백질 분해에 의한), 단백질 합성, 유전적 조작/DNA 재조합 공정, 화학적 가교 또는 이들의 임의의 조합으로부터 생성될 수 있다. 항체 단편은 전장 항체의 가변적인 V 영역에서 특징되는 다양한 도메인 또는 영역의 조합으로부터 일반적



으로 유래된다.

- [0043] 본 발명의 구체예에서, 조성물은 항체 단편에서 선택된 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함하고, 여기서 항체 단편은 단편 항원-결합 (Fab), 단쇄 가변 단편 (scFv), 단일-도메인 항체, 미니바디(minibody), 또는 디아바디(diabody)이다.
- [0044] 특정하게 바람직한 항체 단편은 디설파이드 링키지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편으로 구성된 단편 항원-결합 도메인 (Fab, 또한 Fab'으로도 언급됨) 또는 Fab 이량체이다. Fab의 예시는 압시시맙(abciximab), 세르톨리주맙(certolizumab), 디지팍(digifab), 및 라니비주맙(ranibizumab)이다. 바람직한 Fab은 폴리에틸렌 글리콜에 접합된 재조합 인간화 항체 Fab' 단편인, 세르톨리주맙 (또한 세르톨리주맙 페골(certolizumab pegol)로도 언급됨)이다. 세르톨리주맙은 91 kDa의 분자 질량을 갖고 그리고 종양 괴사 인자 알파 (TNF α)를 표적으로 한다.
- [0045] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 조성물은 단쇄 가변 단편 (scFv), 가령 링커 또는 이의 복합된 다중결합/다가 구조체, 예를 들어 디아바디 (2가 이량체), 트리아바디 (3가 삼량체), 또는 테트라바디 (4가 사량체)에 의해 연결된 중쇄 (V<sub>H</sub>) 및 단쇄 (V<sub>L</sub>) 가변 도메인으로 구성된 것들을 포함할 수 있다. 다중결합 항체 단편은 또한 다중 특이적일 수 있는데, 예를 들어, 이중특이적 디아바디는 상이한 항원에 대한 특이성을 가진 2개의 단편 각각으로 구성될 수 있다. 추가로 바람직한 항체 단편은 단일 도메인 항체 (daBs), 가령 항원에 특이적으로 결합할 수 있는 단일 V<sub>H</sub> 또는 V<sub>L</sub> 도메인을 포함한 것들을 포함한다. 본 발명의 범위 내에 있는 항체 단편은 또한, scFv-C<sub>H</sub> 이량체 구조체, 즉 미니바디를 포함한다.
- [0046] 추가적인 구체예에 따르면, 조성물은 적어도 10 kDa, 적어도 15 kDa, 적어도 35kDa, 적어도 50 kDa, 적어도 70 kDa, 또는 적어도 90 kDa에서 선택된 분자 질량을 갖는 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한다. 또한, 적어도 100 kDa, 가령 100-150 kDa의 분자 질량, 또는 심지어 150 kDa 보다 높은 분자 질량을 갖는 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질이 바람직하다. 70kDa 내지 160 kDa의 범위의 분자 질량을 갖는 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질이 특히 바람직하다.
- [0047] 본 발명의 추가적인 구체예에서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 항체 단편을 포함한 융합 단백질에서 선택될 수 있다. 항체 단편은 또 다른 생활성 단백질 또는 폴리펩티드 단편, 예를 들어, 폴리펩티드 독소, 효소, 사이토카인, 막 단백질 등과 융합될 수 있다. 항체 단편을 포함한 융합 단백질의 예시는 에타네르셉트(etanercept) 및 아타시셉트(atacicept)를 포함한다. 에타네르셉트는 150 kDa의 분자 질량을 갖는 재조합 인간 단백질이고, 이는 IgG1의 Fc 부분과 융합된 75 kDa 종양 괴사 인자 수용체 (TNFR)의 리간드 결합 부분을 포함한다.
- [0048] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 항체-약물 접합체에서 선택될 수 있고, 여기서 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 예를 들어, 링커를 통해 공유 결합되거나 소분자 약물 또는 방사능표지된 성분, 가령 방사성핵종에 화학적으로 가교된다. 항체-약물 접합체의 예시는 겐투주맙 오조가미신(gemtuzumab ozogamicin), 브렌투시맙 베도틴(brentuximab vedotin), <sup>90</sup>Y-표지된 이브리투모맙 티옥세탄(ibrutinomab tiuxetan), <sup>131</sup>I-표지된 토시투모맙(tositumomab), <sup>90m</sup>Tc-표지된 아르시투모맙(arcitumomab)을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 항체-약물 접합체는 예를 들어, 실질적으로, 페길화(PEGylation) (가령 세르톨리주맙 페골, 인간화 TNF 저해제 단클론 항체의 페길화된 Fab') 또는 지질화에 의해 화학적으로 변형된 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 또한 나타낼 수 있다.
- [0049] 본 명세서에서 이해되는 바와 같이, 항원-결합 폴리펩티드 및 단백질은 키메라, 인간화 또는 인간의 것일 수 있다. 예를 들어, 키메라 단클론 항체는 하나 보다 많은 종으로부터의 항체 서열, 예를 들어 쥐와 및 인간 항체 서열로부터 유래된 중쇄 또는 경쇄의 도메인 또는 영역을 포함한 하이브리드 단클론 항체를 나타낸다. 인간화 단클론 항체는 적어도 85-95% 인간-유래된 서열의 기여도를 일반적으로 갖는 인간 항체 서열로부터 구조적으로 유래된 것들을 나타내고, 반면에 용어 인간은 인간 생식세포 계열 항체 서열로부터 단독으로 유래된 것들을 나타낸다. 바람직한 구체예에서, 조성물은 단클론 항체로부터 선택된 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질로 구성되고, 반면에 단클론 항체는 키메라 항체, 인간화 항체, 또는 인간 항체이다.
- [0050] 또 다른 구체예에서, 조성물은 다클론 항체, 또는 항원의 에피토프보다 더 잘 인식될 수 있는 항체의 외생 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0051] 바람직한 구체예에서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 치료학적 또는 진단학적 화합물 또는 백신이다. 본

명세서에서 이용되는 바와 같이, 치료학적 화합물은 질환 또는 질병을 예방하기 위해, 질환 또는 질병의 임의의 증상을 완화시키기 위해, 임의의 질환 또는 질병을 개선시키기 위해, 질환 또는 질병의 진행을 늦추는 데에 유용한 화합물이다. 진단학적 화합물은 유기체의 상태를 결정하기 위해 또는 질환, 질병, 증상, 또는 환자 표현형을 진단하는 데에 유용하다. 치료학적 화합물은 환자에게 투여되어야 하는 반면에, 진단학적 물질은 특이한 경우에 따라, 생체 내에서 또는 시험관 내에서 이용될 수 있다. 의혹을 회피하기 위하여, 치료학적 또는 진단학적 화합물은 치료학적 또는 진단학적 유효량으로 본 발명의 조성물 내에 편입된다.

[0052] 특정하게 바람직한 구체예에서, 본 발명의 조성물은 치료학적 유효한 또는 질환 또는 질병, 가령 자가면역 질환 또는 염증 질병, 신경 장애, 또는 암의 치료를 위해 투여될 수 있는 단클론 항체 또는 항체 단편을 포함한다. 암의 치료를 위한 예시적인 단클론 항체 또는 항체 단편은 알렘투주맙(alentuzumab), 베바시주맙(bevacizumab), 세특시맙(cetuximab), 쯔투주맙, 이필리무맙(ipilimumab), 이브리투모맙, 니모투주맙(nimotuzumab), 오파투무맙(ofatumumab), 파니투무맙(panitumumab), 리톡시맙(rituximab), 토시투모맙, 및 트라스투주맙(trastuzumab)을 포함한다. 자가면역 또는 염증 질병의 치료를 위한 예시적인 단클론 항체 또는 항체 단편은 아달리무맙(adalimumab), 알렘투주맙, 벨리무맙(belumumab), 브리아키누맙(briakinumab), 카나키누맙(canakinumab), 에쿨리주맙(eculizumab), 에프라투주맙(epratuzumab), 에팔리주맙(efalizumab), 골리무맙(golimumab), 인플리시맙(infliximab), 메폴리주맙(mepolizumab), 나탈리주맙(natalizumab), 오파투무맙, 오크렐리주맙(ocrelizumab), 오텔리시주맙(otelixizumab), 오말리주맙, 레슬리주맙(reslizumab), 리톡시맙, 테플리주맙(teplizumab), 토실리주맙(tocilizumab), 우스테키누맙(ustekinumab), 및 베돌리주맙(vedolizumab)을 포함한다. 질환 또는 질병의 치료, 예방 또는 진단을 위해 투여될 수 있는 단클론 항체 또는 항체 단편의 추가적인 예시는 바실리시맙(basiliximab), 다클리주맙(daclizumab), 데노수맙(denosumab), 에쿨리주맙, 팔리비주맙(palivizumab), 및 모타비주맙(motavizumab)을 포함한다.

[0053] 본 발명에 따른 현탁액 또는 분산액 조성물은 특히, 항원결합 폴리펩티드 또는 단백질 가령, 단클론 항체, 다클론 항체, 항체 단편, 항체 단편을 포함한 융합 단백질, 항체-약물 접합체, 또는 이의 임의의 조합에서 선택된 암 치료제 그리고 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클을 포함할 수 있고, 여기서 RF는 여기서 RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소를 가진 선형 알킬기이다. 혈관신생 저해제로서 작용하거나 종양 세포 증식을 저해할 수 있는 (항-증식제) 항원 결합 폴리펩티드 또는 단백질이 특히 적절하다. 항체 단편은 단편 항원-결합 (Fab), 단쇄 가변 단편 (scFv), 단일-도메인 항체, 미니바디, 또는 디아바디일 수 있다.

[0054] 예를 들어, 본 발명에 따른 조성물은 베바시주맙 및 액상 비히클로 구성될 수 있고, 여기서 액상 비히클은 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함하고, RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소 단편이고, RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기이고; 그리고 베바시주맙은 분산액 또는 현탁액의 형태로 조성물에 편입된다. 베바시주맙의 항원-결합 단편도 또한 고려된다. 베바시주맙 (상표명 Avastin<sup>®</sup>)은 VEGF-A (혈관 내피 성장 인자 A)를 표적하는 그리고 혈관신생 저해제로서 작용하는 인간화 쥐과 항체이다. 베바시주맙을 포함한 본 발명의 조성물은 결장암, 폐암, 유방암, 신장암 또는 뇌암 (교아종), 그리고 연령-관련 황반 변성 (AMD)와 같은 눈 질병과 같은 질환 및 질병의 치료 또는 예방에 이용될 수 있다.

[0055] 추가적인 조성물은 파이프라인 명칭(pipeline name) 하에 Fsn0503 및 Fsn1006으로서 공지된 항체를 포함할 수 있다. Fsn1006은 인간 EGFR (표피 성장 인자 수용체) 리간드 암피레굴린(amphiregulin) 및 HB-EGF (헤파린-결합 표피 성장 인자)에 결합할 수 있는, 그리고 세포-증식을 저해하는 데에 작용할 수 있는 이중-특이적 항체이다. Fsn1006은 인간화 IgG1/카파 동형이다. Fsn1006은 세포의 K-ras 돌연변이 상태와는 관계없이 작동하고 따라서 세특시맙과 같은 현재 EGFR 표적 특성보다 유의적인 이점을 갖는다는 점이 입증되었다. Fsn0503도 또한, 인간 카텡신(Cathepsin) S의 단백질 가수분해 활성을 표적하여 저해하는 인간화 IgG1/카파 항체이다. Fsn0503은 암, 그리고 다른 혈관신생 관련 질환, 특히 세포외 매트릭스의 카텡신 S-매개 리모델링이 수반되는 질환의 치료에서 이용될 수 있다.

[0056] 추가로 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 현탁액 또는 분산액 조성물은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질, 가령 단클론 항체, 다클론 항체, 항체 단편, 항체 단편을 포함한 융합 단백질, 항체-약물 접합체, 또는 이의 임의의 조합에서 선택된 TNF 저해제, 그리고 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클을 포함할 수 있고, 여기서 RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기이다. 예시적인 TNF 저해제는 인플리시맙, 에타네르셉트(etanercept) 및 세르톨리주맙 그리고 그들의 바이오시밀러(biosimilar)이다. 본 발명의 조성물은 이들 TNF 저해제 및 액상 비히클을 포함할

수 있고, 여기서 액상 비히클은 F4H5, F4H6, F4H8, F6H4, F6H6, F6H8, 및 F6H10에서 선택된 부분 불소화 알칸으로 구성된다. 특히, 이들 조성물은 위장계에 영향을 주는 자가면역 질환, 가령 크론병, 궤양성 대장염, 또는 관절과 피부에 영향을 주는 질병, 가령 류마티스 관절염, 건성 관절염, 강직성 척추염 및 판상형 건선의 치료법에서 이용될 수 있다.

[0057] 또 다른 구체예에서, 본 발명의 조성물은 바람직하게 적어도 0.5mg/mL, 가령 0.5-10 mg/ml의 농도에서 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한다. 추가로 바람직한 구체예에서, 농도는 적어도 1 mg/mL, 적어도 5 mg/mL, 적어도 10 mg/mL, 적어도 15 mg/mL, 적어도 25 mg/mL 또는 적어도 35 mg/mL이다.

[0058] 추가적인 측면에서, 본 발명은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 안정화하는 방법을 나타내고, 상기 방법은 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클과 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 혼합하는 단계를 포함한다. 부분 불소화 알칸은 화학식 RFRH의 것이고, 여기서 RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소 기이고, 그리고 RH는 4 내지 8개의 탄소 원자를 가진 선형 알킬기이다. 상기 방법에 따라, 액상 비히클과 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 혼합하는 단계는 현탁액 또는 분산액을 형성하도록 수행된다. 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 안정화하는 이러한 방법은 질환 또는 질병의 치료, 예방 또는 진단을 필요로 하는 환자에서 질환 또는 질병의 치료, 예방 또는 진단에서와 같이, 약물로서 사용하기 위한 조성물의 제조에 유용할 수 있다. 선택적으로, 안정화의 이러한 방법은 또한, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질의 제조, 제작 또는 합성에 이용될 수 있다.

[0059] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 용어 안정성은 일정 기간에 걸쳐 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질의 화학적 또는 물리적 통합 및/또는 생물활성의 유지로서 정의된다. 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 안정화하는 것은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질이 이의 생물학적으로 및/또는 치료학적으로 활성 형태에서 불활성으로 의 형태로 분해 또는 저하되는 것을 방지 또는 지연하는 것을 포함한다. 불안정성은 응집, 변성, 단편화, 또는 화학적 변형, 가령 산화, 가교, 탈아미드화 및 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한 조성물에서 특징되는 다른 성분과의 반응과 같은 사건에서 생길 수 있다.

[0060] 조성물에서 항원-결합 단백질 또는 폴리펩티드의 안정성은 면역어세이 기술, 가령 ELISA, 또는 순도 또는 항원-결합 단백질 또는 폴리펩티드로의 물리적/화학적 변화를 결정하는 다른 기술, 가령 크기 배제 크로마토그래피, 모세관 겔 전기영동, 원편광이색성(circular dichroism), 또는 질량 분석법으로 항원-결합 활성과 같은 생물학적 활성의 측정을 포함하지만, 이에 제한되지 않는, 해당 분야의 공지된 방법을 이용하여 특징될 수 있다. 안정성은 초기 시점, 가령 조성물의 조제 또는 제조의 시간에서 특징화 방법의 이들 유형을 통해 얻은 측정, 그리고 나중 시점에, 즉 주어진 환경 또는 조건에서 저장 후 얻은 측정의 비교에 의해 결정된다.

[0061] 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클에서 항원-결합 단백질은 적어도 6개월 동안 25°C에서 안정하게 유지된다는 점이 발명자에 의해 밝혀졌다. 더욱 놀랍게도, 항원-결합 단백질은 동일한 기간의 시간에 걸쳐 40°C의 온도에서 저장될 때 동등하게 안정하였다. 즉, 항원-결합 단백질을 포함한 조성물은 이의 초기 항원-결합 활성과 동일하거나 유사한 항원-결합 활성을 효과적으로 보유하였다.

[0062] 바람직한 구체예에서, 본 발명의 조성물은 25°C에서 또는 실온에서, 또는 실온과 40°C 사이의 온도에서 3개월의 저장 동안에 그들의 초기 항원-결합 활성의 적어도 85% 또는 적어도 90%, 가령 90-95%, 또는 심지어 95% 초과를 보유한다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 조성물은 본 발명의 조성물은 25°C에서, 또는 실온 (RT)에서, 또는 RT 및 40°C 사이의 온도에서 6개월의 저장 동안에, 그들의 초기 항원-결합 활성의 적어도 85% 또는 적어도 90%, 가령 90-95%, 또는 심지어 95% 초과를 보유한다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 조성물은 RT 및 40°C 사이에서 그리고 50-75% 사이의 상대적인 습도에서 6개월의 저장 동안에, 그들의 초기 항원-결합 활성의 적어도 85%를 보유한다. 다른 구체예에서, 저장 기간은 4-6주, 6-12주, 또는 3-6개월 또는 6-12개월일 수 있다. 추가 구체예에서, 저장 동안에 습도 (RH)는 적어도 40% 또는 적어도 50%, 또는 적어도 65% 또는 적어도 75%일 수 있다.

[0063] 언급된 바와 같이, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 분산액 또는 현탁액을 형성하도록 조성물에 편입된다. 다시 말해, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클에서 분산되거나 현탁된다. 현탁액이 액상 담체에서 항원-결합 단백질을 분산시키자마자 형성되는지에 대한 것은 가령, 항원-결합 단백질의 성질, 담체내 이의 농도, 및 선별된 SFA(들)에 의존한다.

[0064] 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 현탁액은 분산의 유형, 즉 적어도 하나의 연속상 (또는 간섭상) 및 연속상에서 분산된 적어도 하나의 불연속상 (또는 내부상)을 갖는 시스템으로서 정의될 수 있다. 현탁액에서, 분산상은 고체 상태에 있다. 본 발명의 실시예에 유용한 현탁액은 적어도 생리학적 온도에서 액체이고, 이는 연속상이

액체라는 점을 의미한다. 전형적으로, 현탁액은 실온에서 또한 액체이다. 현탁액 외에, 용어 분산액은 항원-결합 단백질 및 폴리펩티드가 액체상에서 미세하게 분산되는 콜로이드계를 포함한 것으로 이해된다. 몇몇 구체예에서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질은 또한, 적어도 부분적으로 용매화된다.

[0065] 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질의 안정화된 현탁액 또는 분산액은 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클과 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질을 혼합하는 단계를 포함한 방법을 통해 제조된다. 결과적 현탁액 또는 분산액의 안정성은 예를 들어, 해당 분야에 공지된 것들과 같은 이러한 방법을 이용하여, 현탁된 입자의 재-분산성, 입도 분포 및 시간이 지남에 따른 입자 크기 성장을 포함하지만, 이제 제한되지 않는 다양한 물리적 기여의 측정으로 특징될 수 있다.

[0066] 한 가지 특정한 구체예에서, 조성물은 오로지, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 및 하나 이상의 SFA를 포함하는데, 즉 조성물은 상기 정의된 바와 같은 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 및 하나 이상의 SFA로 구성된다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 및 하나 이상의 SFA를 포함한 조성물은 효과적으로 또는 실질적으로 물이 없는데, 즉 조성물은 아마도 다른 고체 또는 액체 성분 또는 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 자체를 통해 도입된 물의 잔여량을 제외하고, 물을 포함하지 않는다. 다른 경우에, 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 및 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클을 포함한 현탁액 또는 분산액 조성물은 물이 없을 수도 있다.

[0067] 선행 기술에서 공지된 몇 가지 다른 현탁액 또는 분산액과 대조적으로, 본 발명의 제제는 계면활성제를 필요로 하지 않고, 또는 그들의 물리적 안정화를 위하여, 오로지 소량의 계면활성제만 필요로 한다. 이것은, 계면활성제가 특히, 눈에 점적 주입으로 또는 피하 또는 근육내 주사로 투여될 때 자극 또는 국부적인 독성에 대한 실질적인 잠재성을 가지기 때문에, 유의적인 이점이 된다. 바람직한 구체예들 중 하나에 따르면, 본 발명의 조성물은 실질적으로 계면활성제가 없다. 추가적인 구체예에서, 전체량의 계면활성제 또는 계면활성제들은 하나 초과 의 계면활성제가 편입된다면, 각각, 많아야 약 10 wt.-%, 특히 많아야 약 5 wt.-%, 또는 바람직하게는 많아야 약 2 wt.-%이다. 추가적인 바람직한 구체예에서, 양은 각각, 많아야 약 1 wt.-%, 또는 많아야 약 0.5 wt.-%이다. 이 맥락에서, 본 명세서에서 설명된 바와 같은 SFA는 비록 그들이 상이한 정도의 지질 친화성으로 특징되는 불소화 및 비-불소화 알킬 (또는 알킬렌) 기를 포함하는 그들의 화학적인 구조로 인하여 몇 가지 양친매성 특성을 가짐에도 불구하고, 계면활성제의 범위 내에 속하는 것으로 이해되지 않는다.

[0068] 부재하거나 오로지 소량으로만 존재하는 계면활성제는 가령 습윤제, 에멀전화제, 분산제, 가용화제 등으로서 다양한 유형의 제약학적 조성물에서 부형제로서 일반적으로 이용되는 바와 같은 비-이온성, 양이온성, 음이온성, 및 양성이온 계면활성제를 포함한다. 잠재적으로 유용한 것으로 간주되는 계면활성제의 예시는 티록사폴, 플록사머, 가령 Pluronic F68LF 또는 Lutrol F68, Pluronic L-G2LF 및 Pluronic L62D, 폴리소르베이트, 가령 폴리소르베이트 20 및 폴리소르베이트 80, 폴리옥시에틸렌 피마자유 유도체, 소르비탄 에스테르, 폴리옥실 스테아레이트, 레시틴, 정제된 또는 합성 인지질, 및 이의 2개 이상의 혼합물을 포함한다.

[0069] 본 발명의 조성물은 예를 들어, 액상 비히클의 특성, 가령 점도를 변형시키기 위하여, 비-불소화 유기 액체를 선택적으로 포함할 수 있다. 이러한 다른 액체는 글리세라이드 오일, 액상 왁스, 및 액상 파라핀에서 선택된 오일, 또는 고도의 생체적합성을 나타내는 유기성 용매, 또는 하나 초과 의 액상 부형제의 혼합물일 수 있다.

[0070] 하나 이상의 SFA와 조합하여 이용될 수 있는 잠재적으로 유용한 유성의 부형제의 예시는 트리글리세라이드 오일 (즉, 대두유, 올리브유, 참깨유, 면실유, 피마자유, 편도유), 미네랄 오일 (즉, 페트롤라툼 및 액상 파라핀), 중간 사슬 트리글리세라이드 (MCT), 유성 지방산, 이소프로필 미리스테이트, 유성 지방 알코올, 소르비톨 및 지방산의 에스테르, 유성 수크로오스 에스테르, 또는 눈에 의해 생리학적으로 용인되는 임의의 다른 유성 물질을 포함한다.

[0071] 잠재적으로 유용한 유기 용매의 예시는 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 및 에탄올을 포함한다. 공용매의 농도는 바람직하게도, SFA 또는 SFA 혼합물의 것과 비교하여 낮아야 한다. 에탄올과 같은 유기 용매가 이용된다면, 대략 5 wt.-%의 수준 아래로 이를 유지시키는 것이 권고될 만하다. 더욱 바람직하게, 에탄올의 함량은 약 0.1 내지 약 2 wt.-%, 그리고 더욱 바람직하게는 많아야 약 1 wt.-%이다.

[0072] 조성물은 당연히, 요구되거나 유용한 바와 같은 제약학적 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 잠재적으로 유용한 부형제는 산, 염기, 항산화제, 안정화제, 상승제, 착색제, 증점제, 그리고 - 특정한 경우에 요구된다면 - 보존제를 포함한다. 하지만, 일반적으로, 본 발명은 미생물학적으로 안정한 비-수성 조성물을 조제하는 수단을 제공한다. 이것은 SFA가 통상적으로는 미생물에 의한 오염의 경향이 없다는 사실 때문이다. 따라서, 다용도 용기에

채워져야 할 무-보존제 조성물을 조제하는 것이 가능하다. 무-보존제 조성물은 다수의 환자에 의해 더 잘 용인 되고 그리고 최종 제품의 비용을 더 낮출 수 있다.

- [0073] 본 발명의 액상 현탁액은 종래의 방법으로 제조될 수 있다. 원칙적으로, 유효 성분을 포함한 고형 입자는 SFA를 포함한 액상 비히클에서 분산될 수 있다. 대안으로, 입자는 제어된 조건 하에 유효 성분 (그리고, 선택적으로, 하나 이상의 고형 부형제)의 - 전형적으로 유기성인 - 용액을 SFA-기반 비히클에 첨가함으로써 원 위치에 침전될 수 있다.
- [0074] 고형 입자는 항원-결합 단백질 또는 입자의 용액의 동결건조 또는 스프레이-건조에 의해 제조될 수 있다. 용액은 수성 또는 비-수성일 수 있고 유용하거나 요구될 수 있는 것과 같은 제약학적 부형제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0075] 분산상의 입자 크기는 또한, 입자가 액상 비히클과 조합되기 전 또는 후에 조정될 수 있다. 바람직한 구체예들 중 하나에서, 적절하게 선별된 입자 크기를 이미 가진 유효 성분의 입자가 제공된다. 이러한 선별된 입자 크기를 가진 분말은 표준 장비, 가령 볼 밀(ball mill), 해머 밀(hammer mill), 롤러 밀(roller mill), 콜로이드 밀(colloidal mill), 제트 밀(jet mill) 등을 이용하는 종래의 분쇄 및 체분 방법에 의한 합성 후 또는 결정 공학에 의한 각각의 화합물의 합성으로부터 바로 얻을 수 있다. 입자 크기가 현탁액의 제조 후 감소되어야 한다면, 초음파 처리, 이뿐만 아니라 콜로이드 밀 또는 고압 균질기와 같은 여러 가지 유형의 균질기가 이용될 수 있다.
- [0076] 본 발명은 또한, 질환 또는 질병을 치료하고, 예방하고, 또는 진단하는 것을 필요로 하는 환자에서 질환 또는 질병을 치료하고, 예방하고, 또는 진단하기 위한 방법에 대해 제공하고, 상기 방법은 환자에게 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 및 액상 비히클을 포함한 조성물을, 바람직하게는 현탁액 또는 분산액의 형태로, 투여하는 단계를 포함하고, 여기서 액상 비히클은 부분 불소화 알칸을 포함한다. 본 발명에 따라 현탁액의 보다 더 우수한 물리적 특성은 이들 조성물을 주사에 의한 비경구적으로, 또는 환자의 눈으로의, 귀, 코 또는 폐로의 국소 투여에 특히 유용하게 만든다. 예를 들어, 본 발명의 조성물은 국소 적용 또는 주사에 의해 환자의 눈에 투여될 수 있다. 주사의 바람직한 방식은 진피, 피하, 근육내, 그리고 국소부위 주사를 포함한다. 투여의 피하 및 근육내 경로가 가장 바람직하다.
- [0077] 실시예
- [0078] 실시예 1
- [0079] 25°C 및 40°C에서 F6H8에서의 항-ECSCR (내피 세포-특이적 주화성 조절자) 단클론 항체 (클론 id 13G11 1A31 A7, 내피 마커 ECSCR에 결합하는 하이브리도마 세포로부터 발현된 쫓과 IgG/k 항체)의 안정성을 6개월의 기간에 걸쳐 연구하였다.
- [0080] 항-ECSCR 단클론 항체 (원래 PBS 완충액에서 -80°C에서 저장됨)의 동결건조 0.25 mg 샘플을 F6H8에서 1 mg/mL의 농도까지 복원하였다. 25°C/60% RH 및 40°C/75% RH에서 주름 유리병에 복원된 샘플을 저장하였다. 저장 3개월 및 6개월 후에 이들 샘플의 결합 활성을 결정하였다.
- [0081] 제1 대조로서 역할하기 위하여, 동결건조 항체의 다른 샘플을 -80°C에서 동결건조 형태로 저장하였다. 분석에 앞서 이들을 오로지 PBS에서만 복원시켰다. 제2 대조는 한 번도 동결건조되지 않았지만, 4°C의 냉장고에 보관해 두었던 PBS내 항체의 샘플로 구성되었다.
- [0082] ECSCR 항원에 대한 항체 샘플의 결합 활성을 다음 프로토콜을 이용한 ELISA로 결정하였다:
- [0083] ECSCR 항원 및 관련 없는 음성 항원으로 코팅함으로써 Nunc MaxiSorp™ 평저 Elisa 플레이트를 준비하였다. 항원을 1 µg/mL의 농도로 코팅 완충액에서 희석시키고 4°C에서 하룻밤 동안 플레이트와 함께 인큐베이션하였다. 이후 플레이트를 200 µL의 3% 차단 용액으로 차단시키고 그리고 1-2시간 동안 진탕기(shaker) 상에서 RT로 인큐베이션하였고, 그 다음 PBS-트윈 20 용액으로 3회 세척하고 흡수지로 건조시켰다. 항체 샘플을 PBS에서 1 µg/mL까지 희석시켰다. 100 ng 또는 10 ng의 각각의 희석된 샘플을 ECSCR 항원으로 코팅된 웰(well) 그리고 음성 대조 항원으로 코팅된 웰에 첨가하였다. 플레이트를 진탕기 상에서 1시간 동안 RT로 인큐베이션하였고, 그 다음 PBS-트윈 20으로 세척하고 흡수지로 건조시켰다. PBS에서 1:5000 희석에서의 염소-항-생쥐 IgG-HRP 이차 항체 접합체 (Biorad, Catalogue Nr. 170-6516)로 항체 분취량을 프로빙하였다. 플레이트를 진탕기 상에서 RT로 1시간 동안 인큐베이션하였고, 그 다음 PBS-트윈 20 용액으로 3회 세척하고 흡수지로 건조시켰다. 플레이트를 100 µL의 TMB (3, 3', 5, 5'-테트라메틸벤지딘)와 10분 동안 37°C에서 인큐베이션하였고, 그 다음 50 µL/웰의 1M

HCl를 첨가하였다. 분광 광도계로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

- [0084] 결합 활성에 대한 비교는 복원의 초기 시점에서 결정하였고 그리고 대조 샘플은 25℃에서 또는 심지어 더 높은 온도의 40℃에서 저장된 F6H8내 항체의 결합 활성 (3개의 샘플의 평균으로부터 결정)이 6개월의 기간에 걸쳐 저장 후 유지된다는 점을 보여준다 (도 1). 결합 활성은 -80℃에서 저장된 동결건조 항-ECSCR 단클론 항체 샘플 (대조 1, 도 1)에 대해 그리고 PBS에서 4℃에서 저장된 동결건조된 적이 없는 샘플에 대해 관찰된 것과 필적한다.
- [0085] 실시예 2
- [0086] 베바시주맙, Fsn1006 및 Fsn0503의 안정성을 4주의 기간에 걸쳐 25℃, 50℃, 및 70℃에서 연구하였다.
- [0087] 동결건조 프로토콜: 상기 열거된 항체 각각의 스톡(stock) 용액을 얻었다; PBS내 용액으로서 Fsn1006 및 Fsn0503, 이의 상업적 저장 완충액내 베바시주맙 (상표명 Avastin®). 80 mg의 베바시주맙의 당량을 >7000 MWCO 투석 튜빙(dialysis tubing)에 옮겼고 그리고 3 x 2L 부피의 PBS에 대해 72시간 동안 투석시켰다. 항체 용액을 PBS에서 0.5 mg/ml까지 희석시켰고 그리고 500 µl의 용액 각각을 동결건조를 위해 개별적인 5-ml 제약 등급 앰버(amber) 유리병 내로 등분하였다. 48시간의 주기에 걸쳐 동결건조를 수행하였다.
- [0088] 동결건조 항체의 재현탁: 조심스럽게 와동하면서 0.5 mg/mL의 농도로 F4H5, F6H8, F6H8내 50% vol F4H5, PBS (137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.8 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH = 7.4)에서 동결건조 항체를 현탁하였다. PBS에서 동결건조 항체를 재현탁하는 것은 용액을 형성하는 반면, 부분 불소화 알칸으로 현탁액이 형성되었다. 결과적인 현탁액 및 용액을 4주 (28일)동안 25℃ 및 50℃에서 앰버 유리병에 저장하였다. 제23일 후, 50℃ 샘플을 70℃ 조건으로 바꾸었다.
- [0089] t = 0 (재현탁 후 즉시), t = 2주 및 t = 4주에 ELISA 검사로 항체 샘플의 결합 활성을 결정하였다. 대조로서, 한 번도 재현탁되지 않았던 동결건조 항체 샘플 (-80℃에서 저장됨) 그리고 한 번도 동결건조되지 않았던 PBS내 항체의 용액 (4℃에서 저장됨)을 이용하였다.
- [0090] ELISA 프로토콜: 각각의 항체의 ELISA 검사를 위하여, 100 µl 0.2 M 카보네이트 완충액, pH 9.5에서 100 ng/웰의 적절한 항원을 첨가함으로써, Nunc Maxisorp 96 웰 플레이트를 표적 항원으로 코팅하였고 그리고 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 0.1% 트윈 20 (PBS-T)을 함유한 PBS로 세척한 후, PBS에서 200 µl 4% 분유를 첨가함으로써 그리고 진탕기 상에서 2시간 동안 실온에서 인큐베이션함으로써 플레이트를 차단시켰다. 추가로 세척한 후, 항체 샘플을 적용하였다. 각각의 비-수성 유리병에 1 ml의 x0.5 PBS를 첨가하였다. 5분 동안 부드럽게 흔들으로써 항체를 용액 내로 추출하였다. 이후 1 µl의 수성층을 999 µl PBS를 함유한 유리병으로 옮겼다 (50 ng/웰의 명목값을 제공하기 위함). 이후, 100 µl의 각각의 샘플 유리병을 100 µl의 6회 반복실험으로 도말하였다. 플레이트를 4℃에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 세척 후, PBS에서 1:60,000 희석으로 이차 항체를 적용하였다 (염소 항-인간 HRP 접합체); 100 µl를 각각의 웰에 첨가하였고 플레이트를 진탕하면서 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이후, 플레이트를 3 부피의 PBS-T로 세척하고 그 다음 2 부피의 PBS로 세척하였다. 이후 100 µl의 TMB용액을 적용하였고 플레이트를 37℃에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 50 µl의 1M HCl의 첨가로 반응을 중지시켰다. 각각의 웰에 대해 λ = 450 nm에서의 흡광도를 판독하였다.

표 1

베바시주담 활성 (450 nm 에서 평균 OD  $\pm$  2SD)

25℃				
주	F4H5	F6H8	F6H8 내 50% vol. F4H5	PBS
0	3.15 $\pm$ 0.19	3.26 $\pm$ 0.11	3.12 $\pm$ 0.12	3.04 $\pm$ 0.03
2	3.23 $\pm$ 0.05	2.34 $\pm$ 0.09	3.05 $\pm$ 0.10	2.12 $\pm$ 0.07
4	2.16 $\pm$ 0.36	2.23 $\pm$ 0.46	2.03 $\pm$ 0.56	0.30 $\pm$ 0.54

50℃ (마지막 5일은 70℃)				
주	F4H5	F6H8	F6H8 내 50% vol. F4H5	PBS
0	3.16 $\pm$ 0.01	3.26 $\pm$ 0.11	3.14 $\pm$ 0.05	3.00 $\pm$ 0.05
2	3.27 $\pm$ 0.09	3.19 $\pm$ 0.10	3.06 $\pm$ 0.19	3.16 $\pm$ 0.08
4	1.63 $\pm$ 0.62	1.69 $\pm$ 0.34	1.64 $\pm$ 0.54	0.05 $\pm$ 0.003

[0091]

표 2

Fsn1006 활성 (450 nm 에서 평균 OD  $\pm$  2SD)

25℃				
주	F4H5	F6H8	F6H8 내 50% vol. F4H5	PBS
0	2.57 $\pm$ 0.20	2.47 $\pm$ 0.94	2.12 $\pm$ 0.21	2.63 $\pm$ 0.21
2	3.27 $\pm$ 0.13	3.32 $\pm$ 0.15	3.26 $\pm$ 0.10	2.99 $\pm$ 0.10
4	2.54 $\pm$ 0.30	2.43 $\pm$ 0.45	2.45 $\pm$ 0.38	0.62 $\pm$ 1.26

50℃ (마지막 5일은 70℃)				
주	F4H5	F6H8	F6H8 내 50% vol. F4H5	PBS
0	2.56 $\pm$ 0.27	2.47 $\pm$ 0.94	2.26 $\pm$ 0.20	2.56 $\pm$ 0.24
2	3.32 $\pm$ 0.04	3.28 $\pm$ 0.04	2.81 $\pm$ 0.04	2.79 $\pm$ 0.13
4	2.01 $\pm$ 0.40	1.97 $\pm$ 0.24	1.80 $\pm$ 0.91	0.05 $\pm$ 0.01

[0092]

표 3

Fsn0503 활성 (450 nm 에서 평균 OD ± 2SD)

25℃				
주	F4H5	F6H8	F6H8 내 50% vol. F4H5	PBS
0	3.07 ± 0.10	3.06 ± 0.08	2.98 ± 0.22	3.11 ± 0.16
2	3.22 ± 0.23	3.22 ± 0.09	3.20 ± 0.08	2.01 ± 1.23
4	2.70 ± 0.19	2.43 ± 0.19	2.87 ± 0.24	0.72 ± 1.98

50℃ (마지막 5일은 70℃)				
주	F4H5	F6H8	F6H8 내 50% vol. F4H5	PBS
0	3.09 ± 0.08	3.06 ± 0.08	3.07 ± 0.08	3.11 ± 0.07
2	3.26 ± 0.10	3.22 ± 0.12	3.18 ± 0.14	3.10 ± 0.21
4	2.64 ± 0.22	2.19 ± 0.18	2.73 ± 0.19	0.65 ± 1.91

[0093]

[0094]

F4H5, F6H8 및 F6H8내 50% vol F4H5내 현탁액으로서 저장된 베바시주맙, Fsn1006 및 Fsn0503의 활성은 25℃ 그리고 마지막 5일 동안 50℃ 샘플에 대해 저장 온도를 70℃까지 증가를 비롯한, 50℃에서 4주 동안에 실질적으로 일정하였다. 대조적으로 PBS 완충액내 이들 항체의 용액에 의해 입증된 결합 활성은 저장 온도와 관계없이 4주 기간의 끝 무렵에 유의적으로 저하되었다.

[0095]

실시예 3

[0096]

50℃ 내지 80℃의 온도에서 SFA 및 PBS 완충액내 저장된 베바시주맙, Fsn1006, 및 Fsn0503의 결합 활성을 검사하였다.

[0097]

조심스럽게 작동하면서 0.5 mg/ml의 농도로 F4H5, F6H8, 및 PBS에서 동결건조 항체 베바시주맙, Fsn1006, 및 Fsn0503 (상기 실시예 2에서 제조된 바와 같음)을 재현탁하였다. PBS에서 이들 동결건조 항체를 재현탁하는 것은 용액을 산출하는 반면, SFA로 현탁액이 형성되었다.

[0098]

현탁액/용액 샘플을 2시간 동안 각각 50℃, 55℃, 60℃, 65℃, 70℃, 75℃, 및 80℃의 온도에 두었고 그 다음 상기 실시예 2에서 설명된 바와 같은 ELISA 방법을 이용하여 PBS 완충 추출 및 활성 어세이에 앞서 10℃까지 냉각시켰다. 각각의 실험은 삼중복으로 수행하였다. 40℃에서 가열된 샘플을 대조로서 이용하였다.

[0099]

F4H5 및 F6H8내 베바시주맙 (도 2), Fsn1006 (도 3) 및 Fsn0503 (도 4) 현탁액은 수성 완충액내 샘플과 비교하여 열 변성에 대한 유의적인 안정성을 입증하였다는 점이 밝혀내었다. 결합 활성은 이들 부분 불소화 알칸에서 만들어진 항체에 대한 50℃ 내지 80℃에서 꽤 일정하게 남아 있었다. 대조적으로, 수성 PBS 완충액내 저장된 이들 항체의 활성은 60℃ 위의 온도에서 급격히 저하되었다.

[0100]

실시예 4

[0101]

인플리시맙 (인간 불변 영역 및 찢과 가변 영역을 가진 키메라 단클론 항체, 그리고 149 kDa의 분자 질량), 융합 단백질 에타네르셉트 (IgG1의 Fc 부분에 융합된 75 kDa TNFR (종양 괴사 인자 수용체) 의 리간드 결합 부분을 포함한 150 kDa의 분자 질량을 갖는 재조합 인간 단백질), 및 세르톨리주맙 (대략 40kDa 폴리에틸렌 글리콜에 접합된 재조합 Fab'를 포함한, 91 kDa의 분자 질량을 갖는 항체 단편) 또는 이의 바이오시밀러에서 선택된 항원-결합 폴리펩티드 또는 단백질 및 화학식 RFRH의 부분 불소화 알칸을 포함한 액상 비히클을 포함한 조성물의 안정성을 연구하고 상이한 매체내 제제와 비교하였고, 여기서 RF는 4 내지 12개의 탄소 원자를 가진 선형 과불소화 탄화수소기이고, 그리고 RH는 4 내지 8개의 탄소를 가진 선형 알킬기 (예를 들어 F4H5 및 F6H8)이다.

[0102]

항체를 동결건조시키고 부분 불소화 알칸에서 재현탁한다. 비교 현탁액/용액을 또한 다른 매체에서 제조한다.



이들 제제에서 다음 안정성 검사를 수행한다:

[0103]

● ICH 조건 (25 및 40°C) 하에 저장 안정성.

[0104]

● ICH 조건의 외에서 온도 안정성, 즉 열 변성.

[0105]

이들은 실시예 1-3에서 설명된 방법과 유사하게 수행한다. 이들 항원-결합 폴리펩티드의 안정성을 어세이하기 위해 적합한 분석 방법을 수행한다. 항체의 활성 및 효력을 모니터링하고, 이뿐만 아니라 상기 열거된 안정성 실험의 과정을 통하여 응집 수준을 모니터링하기 위한 어세이는 상기 실시예 1-3에서 설명된 바와 같은 프로토콜과 유사한 ELISA와 같은 기술을 포함한다.

[0106]

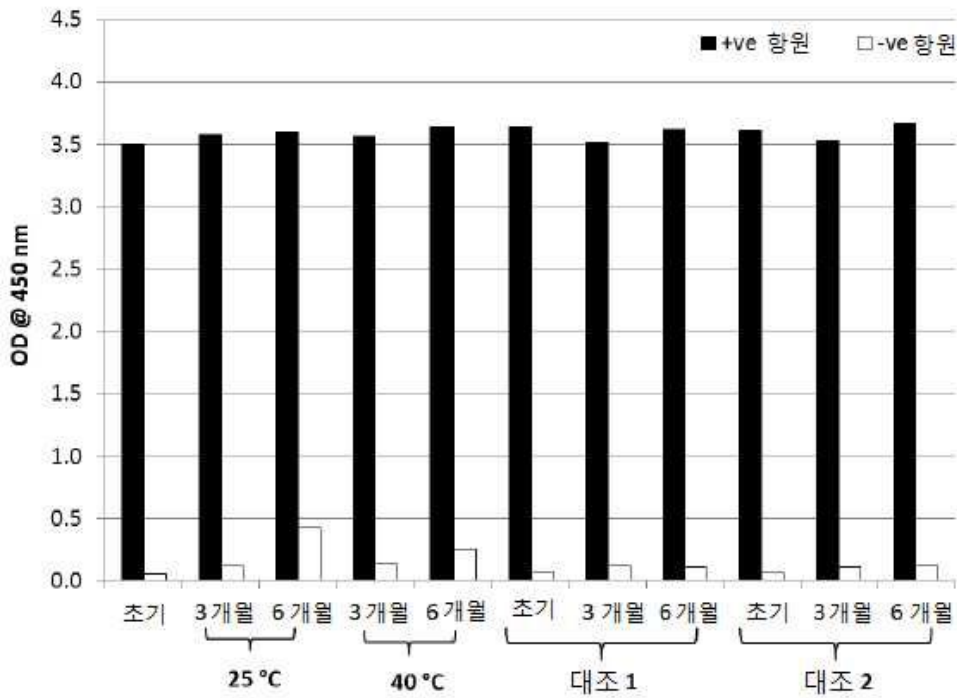
수성 완충 추출인 샘플 상에서, 분석 기술에 따라 또는 항체 현탁액으로부터 직접 얻은 샘플로 분석 방법을 수행한다.

[0107]

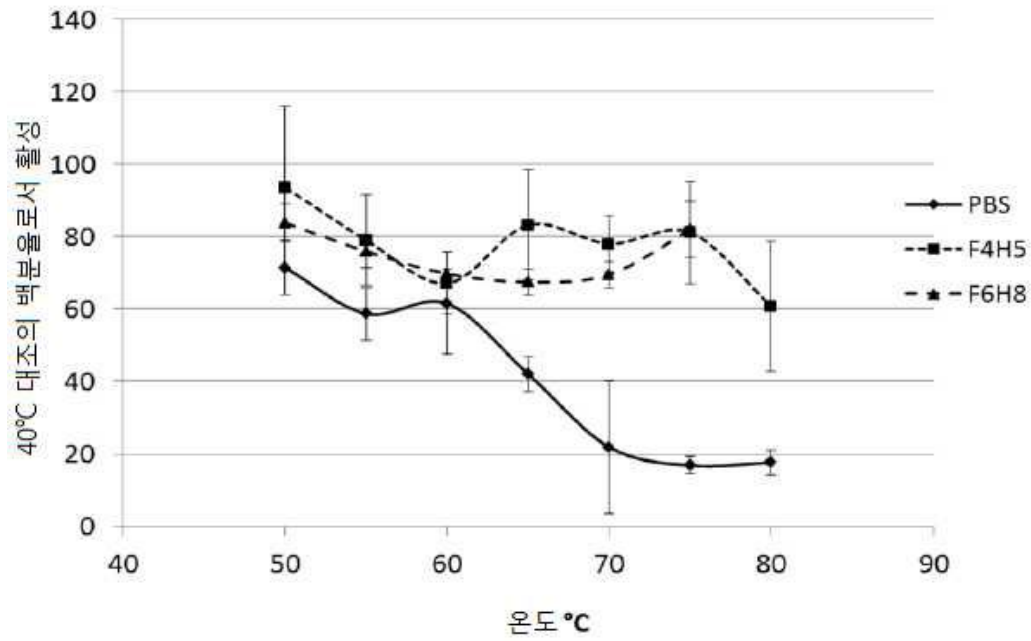
항원 결합 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한 조성물은 응집물 형성에 대하여 감소된 경향과 개선된 안정성을 나타낼 것이라는 점이 예상된다.

**도면**

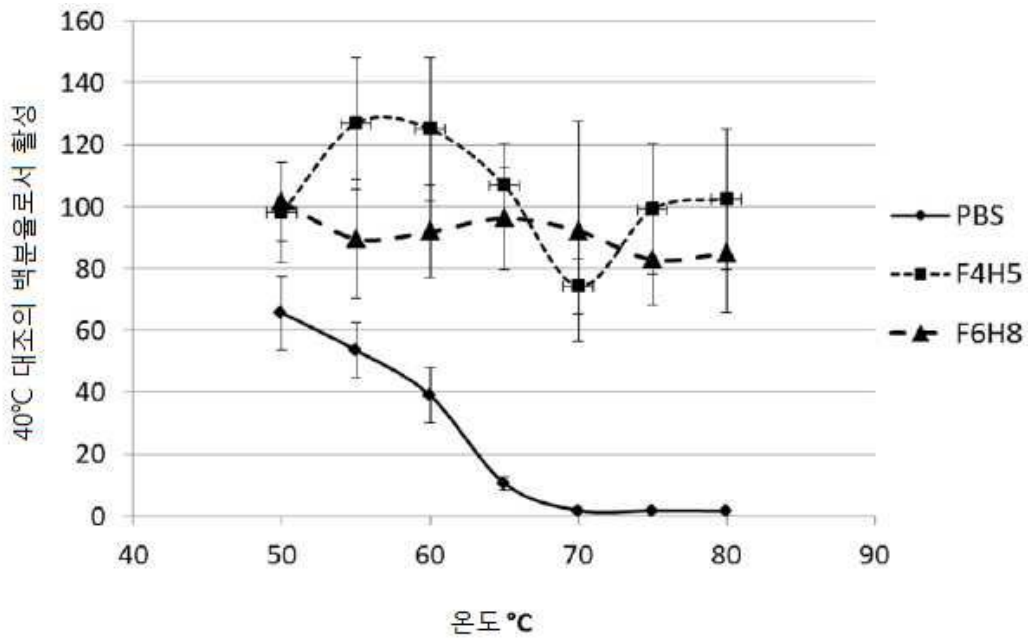
**도면1**



도면2



도면3



도면4

