



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0032347
(43) 공개일자 2023년03월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) A61K 47/10 (2017.01)
A61K 47/18 (2017.01) A61K 47/20 (2017.01)
A61K 47/22 (2017.01) A61K 47/26 (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) A61K 9/08 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 39/39591 (2013.01)
A61K 47/10 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-0115096
(22) 출원일자 2021년08월30일
심사청구일자 2022년03월30일

(71) 출원인
(주)셀트리온
인천광역시 연수구 아카데미로 23 (송도동)
(72) 발명자
노지원
인천광역시 연수구 아카데미로 23
김광우
인천광역시 연수구 아카데미로 23
(뒷면에 계속)

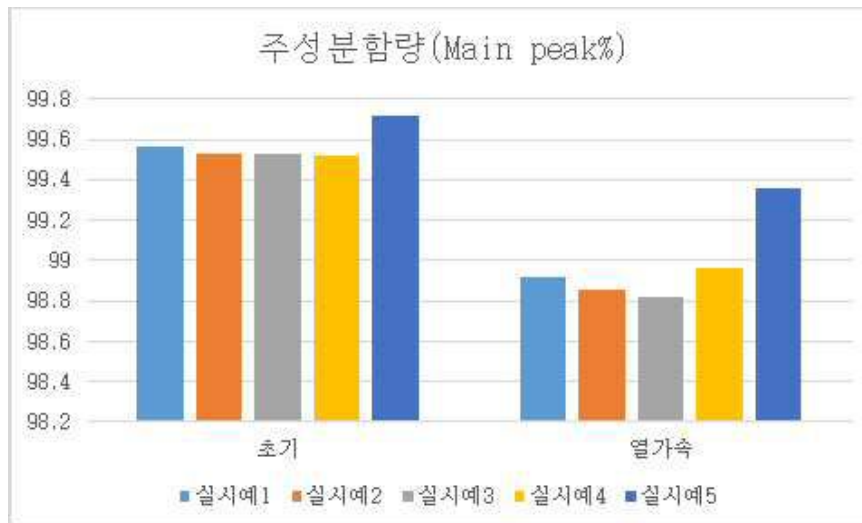
전체 청구항 수 : 총 30 항

(54) 발명의 명칭 **안정한 약제학적 제제**

(57) 요약

본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는 (A) 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor)에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) 안정화제; 및 (D) 완충제를 포함한다. 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는 항체를 포함, 특히 항체를 고농도로 포함하는 경우에도 낮은 점도를 가지고, 가속 조건 및 가혹 조건에서의 우수한 안정성을 바탕으로 장기간 보관 안정성이 우수하며, 정맥 또는 피하 투여가 가능하다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/183 (2013.01)
A61K 47/20 (2013.01)
A61K 47/22 (2013.01)
A61K 47/26 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)
A61K 9/08 (2013.01)
C07K 16/2866 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)

(72) 발명자

김수정

인천광역시 연수구 아카데미로 23

신연경

인천광역시 연수구 아카데미로 23

오준석

인천광역시 연수구 아카데미로 23

이재빈

인천광역시 연수구 아카데미로 23

한원용

인천광역시 연수구 아카데미로 23

명세서

청구범위

청구항 1

- (A) 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor)에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편;
- (B) 계면활성제;
- (C) i) 아미노산 또는 아미노산 유도체, ii) 당 또는 당알코올 또는 이들의 혼합물인 안정화제; 및
- (D) 완충제를 포함하고,

상기 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 포함하는, 안정한 약제학적 제제.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함하는, 안정한 약제학적 제제.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는, 안정한 약제학적 제제.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 토실리주맙(Tocilizumab)인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 약제학적 제제는 액상인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 약제학적 제제는 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor) 관련 질병의 치료 효과를 나타내는, 안정한 약제학적 제제.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor) 관련 질병은 류마티스 관절염, 성인 스틸병, 전신형 소아 특발성 관절염, 다관절형 소아 특발성 관절염, 캐슬만병, 거대세포 동맥염, 타카야수 동맥염, 전신 경화증, 전신 경화증 관련 간질성 폐질환, 사이토카인 방출 증후군, 손 골관절염, 류마티스성 다발근통, 항중성구 세포질 항체 관련 혈관염, 재발성 다발 연골염, 제2형 당뇨병, 강직성 척추염, 축성 척추관절염, 건선, 건선성 관절염,

염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 갑상선 관련 눈병, 류마티스 관절염 관련 심혈관 질환, 급성이식편대속주병, 비ST분절 상승형 심근경색, 전신 홍반성 루푸스, 정신분열증, 포도막염, 난소암, 시신경 척수염, 사구체신염, 만성사구체신염, 결장 직장암, 폐렴 및 폐암으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 1 내지 300 mg/ml인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 계면활성제는 폴리소르베이트, 폴록사머 또는 이들의 혼합물인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80 또는 이들의 혼합물인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 계면활성제는 폴리소르베이트 80인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 12

제1항에 있어서,

상기 계면활성제의 농도는 0.001 내지 1%(w/v)인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 13

제1항에 있어서,

상기 i) 아미노산 또는 아미노산 유도체는 트레오닌, 메티오닌, 아르기닌, 프롤린, 류신, 글리신, 및 타우린으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 14

제1항에 있어서,

상기 ii) 당 또는 당알코올은 수크로스, 트레할로스, 및 소르비톨로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 15

제1항에 있어서,

상기 i) 아미노산 또는 아미노산 유도체의 농도는 10 내지 500 mM인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 16

제1항에 있어서,

상기 ii) 당 또는 당알코올의 농도는 0.1 내지 30%(w/v)인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 17

제1항에 있어서,

상기 안정화제는 트레오닌 및 메티오닌의 혼합물인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 트레오닌 및 메티오닌의 혼합물의 농도 비율은 1:1 내지 10:1인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 19

제17항에 있어서,

상기 트레오닌의 농도는 5 내지 300 mM이며,

상기 메티오닌의 농도는 5 내지 200 mM인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 20

제1항에 있어서,

상기 완충제는 히스티딘 또는 이의 염, 아세트산 또는 이의 염, 인산 또는 이의 염, 시트르산 또는 이의 염, 속신산 또는 이의 염 또는 이들의 혼합물인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 21

제1항에 있어서,

상기 완충제의 함량은 0.1 내지 50 mM인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 22

제1항에 있어서,

상기 약제학적 제제의 pH가 5 이상 내지 7 미만인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 23

(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 1 내지 300 mg/ml;

(B) 계면활성제 0.001 내지 1 %(w/v);

(C) 안정화제로 아미노산 또는 아미노산 유도체 10 내지 500 mM; 및

(D) 완충제 0.1 내지 50 mM

을 포함하는, 안정한 약제학적 제제.

청구항 24

(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 1 내지 300 mg/ml;

(B) 계면활성제 0.001 내지 1 %(w/v);

(C) 안정화제로 당 또는 당알코올 0.1 내지 30%(w/v); 및

(D) 완충제 0.1 내지 50 mM
을 포함하는, 안정한 약제학적 제제.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 약제학적 제제는 정맥 투여 또는 피하 투여용인, 안정한 약제학적 제제.

청구항 26

제25항에 있어서,
상기 피하 투여용 제제에 희석(Dilution) 단계를 거쳐 정맥 투여용 제제로 사용함을 특징으로 하는, 안정한 약제학적 제제.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 기재된 안정한 약제학적 제제가 충전된 바이알(Vial).

청구항 28

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 기재된 안정한 약제학적 제제가 충전된 카트리지(Cartridge).

청구항 29

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 기재된 안정한 약제학적 제제가 충전된 프리-필드 시린지(Pre-filled syringe).

청구항 30

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 기재된 프리-필드 시린지(pre-filled syringe)가 그 내부에 포함된 자동 주사기(Auto-injector).

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 Receptor, IL-6R)에 결합하는 항체를 포함하는 안정한 약제학적 제제에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인터루킨-6(Interleukin 6, IL-6)는 급성 염증 반응 조절, B 세포 분화, T 세포 활성화, 골대사, 혈전증, 면역 반응 등에 관여하는 사이토카인 중 하나이다. 인터루킨-6(Interleukin 6, IL-6)는 다양한 자가 면역 질환, 염증성 질환, 악성 종양 등에 연관되어 있다. 이러한 이상 질환은 인터루킨-6 수용체(Interleukin 6 Receptor, IL-6R)에 결합하는 항체를 사용함으로써 치료할 수 있다.

[0003] 항체는 2개의 중쇄(Heavy Chain) 및 2개의 경쇄(Light Chain)가 디설파이드 결합에 의해 서로 연결되어 있는 4개의 폴리펩타이드쇄로 이루어진 면역글로불린 분자를 가리킨다. 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.

[0004] 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 Receptor)에 결합하는 항체는 불안정한 단백질이다. 이들 항체는 열 스트레스, 빛 스트레스 등에 의해 물리적 또는 화학적 변화가 발생하기 쉽다. 따라서, 생성물이 저장된 후, 특

히 장시간 동안 저장된 후에는, 안정성 및/또는 활성이 저해될 수 있다.

[0005] 즉, 항체와 같은 생리 활성 단백질을 포함하는 약제학적 조성물은 단백질 활성이 적정 시간 동안 유지 가능하게끔 안정성을 확보하면서 제제화시키기 어렵다는 문제가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor)에 결합하는 항체를 포함하는, 안정한 약제학적 제제를 제공하는 것이다.

[0007] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 상기 약제학적 제제가 충전된 바이알(Vial)을 제공하는 것이다.

[0008] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 상기 약제학적 제제가 충전된 카트리지(Cartridge)를 제공하는 것이다.

[0009] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 상기 약제학적 제제가 충전된 프리-필드 시린지(Pre-filled syringe)를 제공하는 것이다.

[0010] 본 발명이 해결하고자 하는 다른 과제는 상기 프리-필드 시린지가 그 내부에 포함된 자동 주사기(Auto-injector)를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명자들은 상술한 문제점을 극복하고자 연구를 거듭한 결과, 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor)에 결합하는 항체를 포함하는 안정한 제형을 개발하였다.

[0012] 본 발명은 (A) 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor)에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편; (B) 계면활성제; (C) i) 아미노산 또는 아미노산 유도체, ii) 당 또는 당알코올 또는 이들의 혼합물인 안정화제; 및 (D) 완충제를 포함하고, 상기 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 포함하는, 안정한 약제학적 제제를 제공한다.

[0013] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 약제학적 제제는 액상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[A] 항체 또는 이의 항원 결합 단편

[0016] 본 발명에 있어, 용어 "항체"는 2개의 중쇄(Heavy Chain) 및 2개의 경쇄(Light Chain)가 디설파이드 결합에 의해 서로 연결되어 있는 4개의 폴리펩타이드쇄로 이루어진 면역글로불린 분자로, 기타 변화된 구조를 갖는 자연 발생 항체, 예를 들어 카멜리드 항체를 포함할 수 있다.

[0017] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 폴리클로날 항체, 모노클로날 항체, 재조합 항체, 단일쇄 항체, 하이브리드 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 이의 단편(항원 결합 단편)일 수 있으며, 바람직하게는 모노클로날 항체 또는 이의 단편일 수 있다.

[0018] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간화 모노클로날 항체 또는 이의 단편, 가장 바람직하게는 인간화 이뮤노글로불린(Immunoglobulin G, IgG) 모노클로날 항체일 수 있으며, 당해 기술분야에서 공지된 방법으로 제조될 수 있다.

[0019] 본 발명에 있어, 상기 항원 결합 단편은 복합체를 형성하도록 항원에 특이적으로 결합하는 임의의 자연 발생, 효소로 수득 가능한, 합성 또는 유전 조작된 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함하며, 일 예로는 나노바디(Nanobodies) 등이 있다.

[0020] 본 발명에 있어, 상기 인간화 항체는 재구성(Reshaped) 인간 항체로도 불리며, 인간 이외의 포유동물, 예를 들어 마우스 항체의 상보성 결정영역 (Complementarity Determining Region, CDR)을 인간 항체의 상보성 결정영역에 이식한 것일 수 있고, 그 외 일반적으로 알려진 유전자 재조합 수법으로 제조될 수 있다.

- [0021] 본 발명에 있어, 상기 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.
- [0022] 본 발명에 있어, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변영역; 및 서열번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변영역을 포함할 수 있다.
- [0023] 본 발명에 있어, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호: 9의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄; 및 서열번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함할 수 있다.
- [0024] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 토실리주맙(Tocilizumab), 사릴루맙(Sarilumab), 사펠리주맙(Sapelizumab), 보바릴리주맙(Vobarilizumab) 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 바람직하게는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 토실리주맙, 사펠리주맙, 보바릴리주맙 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 가장 바람직하게는, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 토실리주맙일 수 있다.
- [0025] 본 발명에 있어, 상기 '토실리주맙(Tocilizumab)'은 국제공개번호 제W01992-019759호 내 기재된 hPM-1, 당해 기술 분야에 잘 알려진 바와 같은 원조 약물 물질, 또는 그의 바이오시밀러(Biosimilar)일 수 있다.
- [0026] 본 발명에 있어, 상기 '사릴루맙(Sarilumab)'은 KEVZARA[®]로도 알려진 인터루킨-6 수용체 결합 항체 또는 그의 바이오시밀러일 수 있다.
- [0027] 본 발명에 있어, 상기 '사펠리주맙(Sapelizumab)'은 SA-237 또는 사트랄리주맙(Satralizumab)로도 알려진 인터루킨-6 수용체 결합 항체 또는 그의 바이오시밀러일 수 있다.
- [0028] 본 발명에 있어, 상기 '보바릴리주맙(Vobarilizumab)'은 ALX-0061로도 알려져 있으며, 항-인간 혈청 알부민(Serum albumin) 나노바디에 연결된 인터루킨-6 수용체 결합 나노바디 또는 그의 바이오시밀러일 수 있다.
- [0029] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도는 1 내지 300 mg/ml, 바람직하게는 20 내지 250 mg/ml, 더욱 바람직하게는 50 내지 220 mg/ml, 가장 바람직하게는 100 내지 200 mg/ml일 수 있다. 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 농도가 상술한 범위 내인 경우, 투여 용량 및 투여 주기의 자유도를 높일 수 있고, 장기간 안정성 및 저점도(1 cP 내지 15 cP, 바람직하게는 1 cP 내지 10 cP)를 우수하게 나타낸다.
- [0030] 본 발명의 다른 구현예에서, (A) 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 50 mg/ml 이상의 고농도로 포함될 수 있다. 예를 들어, 단클론항체(monoclonal antibody, mAb) 약물을 고농도로 포함하는 제제는 분자 자체의 복잡성과 다양한 분자간 상호 작용으로 인하여 낮은 단백질 농도에서의 제형과 다른 안정성 및 콜로이드 특성을 갖게 되며, 단백질 농도가 높아질수록 응집과 분해가 촉진되어 안정한 의학적 제제 개발에 어려움이 있다. 또한, 가역적인 자가 결합이 발생되어 점도 증가 등에 영향을 미치고 안정한 제제 개발 및 의약품 제조 과정에 어려움이 발생된다. 본 발명자들은 상술한 어려움이 있음에도, 본 발명의 제제가 고농도에서 안정함을 실험을 통하여 확인하였다.
- [0031]
- [0032] **(B) 계면활성제**
- [0033] 본 발명에 있어, 용어 "계면활성제"는 소수성 또는 유성 물질의 수용해도를 현저히 증가시키거나 상이한 소수성을 갖는 두 물질의 혼화성을 증가시키는 데 사용될 수 있는 물질을 의미한다.
- [0034] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 계면활성제는 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르 (예를 들어, 폴리소르베이트 등), 폴리옥시에틸렌알킬에테르 (예를 들어, Brij[®] 등), 알킬페닐폴리옥시에틸렌에테르 (예를 들어, Triton-X 등), 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 코폴리머 (예를 들어, 플록사머, Pluronic[®] 등), 나트륨 도데실 설페이트(Sodium Dodecyl Sulfate, SDS) 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0035] 본 발명에 있어, 상기 계면활성제는 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르, 폴리옥시에틸렌알킬에테르, 알킬페닐폴리옥시에틸렌에테르, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 코폴리머, 나트륨 도데실 설페이트 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 상기 계면활성제는 바람직하게는 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 코폴리머 또는 이들의 혼합물, 더욱 바람직하게는 폴리옥시에틸렌소르비탄지방산에스테르일 수 있다.

다.

- [0036] 본 발명에 있어, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트, 폴록사머 또는 이들의 혼합물, 바람직하게는 폴리소르베이트일 수 있다.
- [0037] 본 발명에 있어, 상기 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80 또는 이들의 혼합물, 바람직하게는 폴리소르베이트 80일 수 있다.
- [0038] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 계면활성제의 농도는 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 일 구현예에서, (B) 계면활성제의 농도는 0.001 내지 1%(w/v), 바람직하게는 0.005 내지 0.1%(w/v), 가장 바람직하게는 0.01 내지 0.05%(w/v)일 수 있다. 상기 계면활성제의 농도가 상술한 범위 내인 경우, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낸다.
- [0041] **(C) 안정화제**
- [0042] 본 발명에 있어, 용어 "안정화제"는 생리학적으로 용인되고 제제에 안정성을 부여하는 물질이다.
- [0043] 본 발명의 일 구현예에서, (C) 안정화제는 i) 아미노산 또는 아미노산 유도체; ii) 당 또는 당알코올; 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0044] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 i) 아미노산 또는 아미노산 유도체(단, 본 발명에 따른 원충제에 포함되는 히스티딘과 상이함)는 트레오닌, 메티오닌, 아르기닌, 프롤린, 류신, 글리신, 타우린, 페닐알라닌, 트립토판, 글루타민, 아스파르테이트, 글루탐산염, 알라닌, 아스파라긴, 세린, 글리신, 티로신으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에 있어, 상기 i) 아미노산 또는 아미노산 유도체는 바람직하게는, 트레오닌, 메티오닌, 아르기닌, 프롤린, 류신, 글리신, 및 타우린으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0045] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 ii) 당 또는 당알코올은 수크로스, 트레할로스, 소르비톨, 글루코스, 프럭토스, 갈락토스, 자일로스, 말토스, 락토스, 자일리톨, 만니톨, D-말티톨, 이노시톨, 락티톨 및 이소말트로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 본 발명에 있어, 상기 ii) 당 또는 당알코올은 바람직하게는 수크로스, 트레할로스 및 소르비톨로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.
- [0046] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 안정화제는 바람직하게는 트레오닌 및 메티오닌의 혼합물일 수 있다.
- [0047] 본 발명에 있어, 상기 트레오닌 및 메티오닌의 혼합물의 농도 비율(즉, 트레오닌:메티오닌)은 1:1 내지 10:1, 바람직하게는 1:1 내지 8:1, 더욱 바람직하게는 1:1 내지 7:1일 수 있다.
- [0048] 본 발명에 있어, 상기 안정화제 농도는 본 발명에 따른 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 아미노산 또는 아미노산 유도체의 농도는 10 내지 500 mM, 바람직하게는 30 내지 450 mM, 더욱 바람직하게는 100 내지 400 mM, 가장 바람직하게는 130 내지 300 mM일 수 있다.
- [0050] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 트레오닌의 농도는 5 내지 300 mM, 바람직하게는 100 내지 250 mM, 더욱 바람직하게는 110 내지 190 mM일 수 있다.
- [0051] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 메티오닌의 농도는 5 내지 200 mM, 바람직하게는 10 내지 150 mM, 더욱 바람직하게는 30 내지 110 mM일 수 있다.
- [0052] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 당 또는 당알코올의 농도는 0.1 내지 30%(w/v), 바람직하게는 5 내지 10%(w/v)일 수 있다.
- [0053] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 안정화제 농도가 본 발명에 기재된 범위 내인 경우, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낸다.

[0055] (D) 완충제

- [0056] 본 발명에 있어, 용어 "완충제"는 산이나 알칼리에 의한 pH의 변화를 최소화시키는 물질이다.
- [0057] 본 발명의 일 구현예에서, (D) 완충제는 히스티딘(Histidine) 또는 이의 염, 아세트산(Acetic acid) 또는 이의 염, 인산(Phosphoric acid) 또는 이의 염, 시트르산(Citric acid) 또는 이의 염, 숙신산(Succinic acid) 또는 이의 염, 글루타민산(Glutamic acid) 또는 이의 염, 2-(N-모르폴리노)에탄설포닉산(2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid, MES) 또는 이의 염, 트리스(Tromethamine, Tris) 또는 이의 염 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는, 상기 완충제는 히스티딘(Histidine) 또는 이의 염, 아세트산(Acetic acid) 또는 이의 염, 인산(Phosphoric acid) 또는 이의 염, 시트르산(Citric acid) 또는 이의 염, 숙신산(Succinic acid) 또는 이의 염 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0058] 본 발명에 있어, 상기 완충제는 더욱 바람직하게는 히스티딘 또는 이의 염 또는 이들의 혼합물일 수 있다.
- [0059] 예를 들어, 본 발명에 따른 히스티딘염은 히스티딘 클로라이드, 히스티딘 아세테이트, 히스티딘 포스페이트, 히스티딘 설페이트 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0060] 예를 들어, 본 발명에 따른 아세트산염은 아세트산나트륨, 아세트산아연, 아세트산알루미늄, 아세트산암모늄, 아세트산칼륨 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0061] 예를 들어, 본 발명에 따른 인산염은 인산칼륨, 인산나트륨, 인산암모늄, 인산칼슘, 인삼마그네슘 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0062] 예를 들어, 본 발명에 따른 시트르산염은 시트르산나트륨, 시트르산칼슘, 시트르산 칼륨 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0063] 예를 들어, 본 발명에 따른 숙신산염은 숙신산나트륨, 숙신산칼슘, 숙신산칼륨, 설포숙신산 나트륨, 설포숙신산 칼륨, 설포숙신산 칼슘 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0064] 예를 들어, 본 발명에 따른 글루타민산염은 글루타민산나트륨, 글루타민산칼륨, 글루타민산암모늄 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0065] 예를 들어, 본 발명에 따른 2-(N-모르폴리노)에탄설포닉산(MES)염은 MES 클로라이드, MES 나트륨 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0066] 예를 들어, 본 발명에 따른 트리스염은 트리스염화수소, 트리스아세테이트, 트리스보레이트 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0067] 본 발명에 있어, 완충제의 함량은 본 발명에 따른 약제학적 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다.
- [0068] 본 발명의 일 구현예에서, (D) 완충제의 함량은 0.1 내지 50 mM, 바람직하게는 1 내지 25 mM일 수 있다.

[0070] (E) pH

- [0071] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제의 pH는 완충제 또는 pH 조절제를 이용하여 치료 유효성을 최적화하는 범위로 조절할 수 있다.
- [0072] 본 발명에 있어, 상기 pH는 5 이상 내지 7 미만일 수 있다. 상기 pH가 상술한 범위 내인 경우, 장기간 안정성 및 저점도를 우수하게 나타낸다.
- [0073] 본 발명에 있어, 용어 "pH 조절제"는 제제의 pH를 조정하는 데 사용되는 물질이다.
- [0074] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명에 따른 약제학적 제제는 pH 조절제 (산 또는 염기)를 추가로 포함할 수 있다. 상기 pH 조절제의 함량은 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 자유롭게 조절할 수 있다.
- [0075] 본 발명에 있어, 상기 pH 조절제는 아세트산, 인산, 수산화나트륨, 탄산수소나트륨 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0077] (F) 기타 성분

[0078] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는 보존제를 포함하지 않을 수 있다. 상기 보존제는 해당 기술분야에 통상적으로 사용되는 보존제일 수 있다. 예를 들어, 상기 보존제는 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 페놀, 부틸 알코올, 벤질 알콜, 알킬 파라벤, 카테콜, 레소르시놀, 시클로헥산올, 3-펜탄올, m-크레졸 등일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다. 바람직하게는, 상기 제제는 보존제를 포함하지 않음으로써 안정성이 개선될 수 있다.

[0079] 본 명세서에서, 용어 "포함하지 않는" 또는 "포함하지 않음"은 임의의 성분을 전혀 포함하지 않거나 임의의 성분을 실질적으로 포함하지 않는 것, 즉, 항체의 활성, 약제학적 제제의 안정성 또는 점도에 영향을 주지 않는 범위로 포함하는 것을 의미한다. 예를 들어, 약제학적 제제의 전체 중량을 기준으로 임의의 성분을 1 %(w/v) 이하, 1 mM 이하, 1 mg/ml 이하, 1 ppm(w/v) 이하 또는 1 ppb(w/v) 이하로 포함하는 것을 의미한다.

[0080] 본 발명에 있어, 본 발명의 안정한 약제학적 제제는 제제의 안정성 및 점도에 악영향을 실질적으로 미치지 않는 범위 내에서 당해 기술분야에서 공지된 첨가제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 첨가제는 예를 들어 수성 담체, 산화방지제, 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 본 발명에 있어, 상기 수성 담체는 인간에게 투여시 안전하고 무독성인, 약제학적 제제의 제조에 유용한 담체일 수 있다. 상기 수성 담체의 예로는 멸균 주사용수(Sterile Water for Injection, SWFI), 정균성 주사용수(Bacteristetic Water for Injection, BWFI), 멸균 염수 용액, 링거 용액, 텍스트로스 등이 있으나, 이에 한정되지 않는다. 본 발명에 있어, 상기 산화방지제는 아스코르브산 등이 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0082] (G) "안정한" 약제학적 제제

[0083] 본 발명에 있어, 용어 "안정한" 또는 "안정화"는 제조 공정 동안 및/또는 보관 또는 저장 시에 본 발명에 따른 성분 또는 이를 포함하는 조성물이나 제제가 이의 물리적 안정성, 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 나타내는 것을 의미한다. 본 발명에 있어, 안정성을 측정하는 다양한 분석학적 기술은 당해 기술분야에서 용이하게 이용할 수 있는 것이다.

[0084] 본 발명에 있어, 상기 물리적 안정성은 당해 기술분야에 공지된 방법으로 평가할 수 있으며, 예를 들어 광(흡광 또는 광학 밀도)의 샘플 겔보기 감쇠 측정을 통해 평가할 수 있다. 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.

[0085] 본 발명에 있어, 상기 화학적 안정성은 당해 기술분야에 공지된 방법으로 평가할 수 있으며, 예를 들어 화학적으로 변화된 형태의 항체를 검출하고 정량함으로써, 이온 교환 크로마토그래피에 의해 평가될 수 있는 하전 변화(예를 들어, 탈아미드화 또는 산화의 결과로서 발생하는 하전 변화) 또는 전하 변형체(산성 또는 염기성 피크 측정) 등을 측정하여 평가할 수 있다.

[0086] 본 발명에 있어, 상기 생물학적 활성은 당해 기술분야에 공지된 방법으로 평가할 수 있으며, 예를 들어 효소결합면역흡착검사(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)를 통해 항원 결합 친화도를 측정하여 평가할 수 있다.

[0087] 본 발명의 일 구현예에서, 용어 "안정한" 약제학적 제제는 다음 (G)-1 내지 (G)-11 중 하나 이상을 만족하는 약제학적 제제를 의미한다.

[0088] (G)-1 탁도

[0089] - 온도 5±3°C에서 0일, 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 분광 광도계로 측정된 흡광도 A₆₀₀이 0 내지 0.03인 약제학적 제제;

[0090] - 온도 40±2°C, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 분광 광도계로 측정된 흡광도 A₆₀₀이 0 내지 0.06인 약제학적 제제;

[0091] (G)-2 주성분 함량(메인 피크(Main peak%))

[0092] - 온도 5±3°C에서 0일, 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 주성분이 98% 내지 100%인 약제학적 제제;

- [0093] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5% 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 주성분이 97% 내지 100%인 약제학적 제제;
- [0094] **(G)-3 고분자량 성분 함량**(메인 피크(온전한 IgG)를 기준으로 체류 시간(retention time)이 앞쪽인 피크(Pre-peak%))
 - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 고분자량 성분 함량이 0 내지 1.5%인 약제학적 제제;
- [0095] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 고분자량 성분 함량이 0 내지 1.5%인 약제학적 제제;
- [0096] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5% 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 고분자량 성분 함량이 0 내지 2%인 약제학적 제제;
- [0097] **(G)-4 저분자량 성분 함량**(메인 피크(온전한 IgG)를 기준으로 체류 시간(retention time)이 뒤쪽인 피크(Post Peak%))
 - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 저분자량 성분 함량이 0 내지 1%인 약제학적 제제;
- [0098] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 저분자량 성분 함량이 0 내지 1%인 약제학적 제제;
- [0099] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5% 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 SEC-HPLC로 측정된 저분자량 성분 함량이 0 내지 1.5%인 약제학적 제제;
- [0100] **(G)-5 온전한 면역글로불린 G의 함량**
 - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 비환원 CE-SDS로 측정된 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)이 96% 내지 100%인 약제학적 제제;
- [0101] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 비환원 CE-SDS로 측정된 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)이 96% 내지 100%인 약제학적 제제;
- [0102] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5% 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 비환원 CE-SDS로 측정된 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)이 93% 내지 100%인 약제학적 제제;
- [0103] **(G)-6 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량**
 - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 환원 CE-SDS로 측정된 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)이 99% 내지 100%인 약제학적 제제;
- [0104] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 환원 CE-SDS로 측정된 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)이 99% 내지 100%인 약제학적 제제;
- [0105] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 환원 CE-SDS로 측정된 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)이 98% 내지 100%인 약제학적 제제;
- [0106] **(G)-7 불용성 이물 입자수**
 - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μm≤, <100μm)의 개수가 0 내지 1000개이고 불용성 이물 입자(25μm≤, <100μm)의 개수가 0 내지 150개인 약제학적 제제;
- [0107] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μm≤, <100μm)의 개수가 0 내지 1000개이고 불용성 이물 입자(25μm≤, <100μm)의 개수가 0 내지 150개인 약제학적 제제;
- [0108] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μm≤, <100μm)의 개수가 0 내지 2000개이고 불용성 이물 입자(25μm≤, <100μm)의 개수가 0 내지 200개인 약제학적 제제;
- [0109] **(G)-8 산화율**
 - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 LC-MS로 측정된 중쇄 Met 106의 산화율이 0% 내지 6%인 약제학적 제제;
- [0110] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 LC-MS로 측정된 중쇄 Met 106의 산화율이 0% 내지 6%인 약제학적 제제;
- [0111] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 LC-MS로 측정된 중쇄 Met 106의 산화율이 0% 내지 10%인 약제학적 제제;
- [0112] **(G)-9 전하 변형체** (이온 교환 크로마토그래피에서 산성 또는 염기성 피크를 제외한 메인 피크)
 - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 IEC-HPLC로 측정된 메인 피크가 60% 내지 70%인 약제학적 제제;
- [0113] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 IEC-HPLC로 측정된 메인 피크가 60% 내지 70%인 약제학적 제제;
- [0114] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 IEC-HPLC로 측정된 메인 피크가 40% 내지 60%인 약제학적 제제;

- [0115] (G)-10 IL-6R 결합 친화도
- [0116] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 ELISA로 측정된 IL-6R 결합 친화도가 80% 내지 120%인 약제학적 제제;
- [0117] (G)-11 점도
- [0118] - 온도 5±3℃에서 0일(0주), 5일, 10일, 2주, 3주 또는 4주 동안 보관한 후 점도계로 측정된 점도가 1 cP 내지 11 cP 인 약제학적 제제;
- [0119] - 온도 40±2℃, 상대습도 75±5%, 및 밀폐 조건에서 0주, 5일, 10일, 2주, 3주, 4주 또는 6주 동안 보관한 후 점도계로 측정된 점도가 1 cP 내지 15 cP 인 약제학적 제제.
- [0121] 본 발명의 일 구현예에 있어, 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제의 점도는 1 내지 15 cP, 바람직하게는 1 내지 10 cP일 수 있다.
- [0122] 본 발명의 다른 구현예에 있어, 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는
- [0123] (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 1 내지 300 mg/ml; (B) 계면활성제 0.001 내지 1 %(w/v); (C) 안정화제로 아미노산 또는 아미노산 유도체 1 내지 500 mM; 및 (D) 완충제 0.1 내지 50 mM을 포함한다.
- [0124] 본 발명의 또 다른 구현예에 있어, 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는
- [0125] (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 1 내지 300 mg/ml; (B) 계면활성제 0.001 내지 1 %(w/v); (C) 안정화제로 당 또는 당알코올 0.1 내지 30%(w/v); 및 (D) 완충제 0.1 내지 50 mM을 포함한다.
- [0127] [제품]
- [0128] 본 발명의 일 구현예에 있어, 본 발명은 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제; 및 상기 안정한 약제학적 제제를 밀폐된 상태로 수용하는 용기를 포함하는 제품을 제공한다.
- [0129] 상기 안정한 약제학적 제제는 본 명세서에서 상술한 바와 같다.
- [0130] 본 발명에 있어, 상기 용기는 유리, 폴리머(예를 들어, 플라스틱), 금속 등의 물질로부터 형성될 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0131] 예를 들어, 본 발명에 따른 용기는 병, 바이알(Vial), 카트리지(Cartridge), 주사기(예를 들어, 프리-필드 시린지(Pre-filled syringe), 자동 주사기(Auto-injector 등) 또는 튜브(Tube), 바람직하게는 유리 또는 폴리머 바이알, 또는 유리 또는 폴리머 프리-필드 시린지일 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.
- [0132] 본 발명의 일 구현예에 있어, 본 발명은 본 발명에 따른 약제학적 제제가 충전된 바이알(Vial), 상기 약제학적 제제가 충전된 카트리지(Cartridge), 상기 약제학적 제제가 충전된 프리-필드 시린지(Pre-filled syringe), 또는 상기 프리-필드 시린지가 그 내부에 포함된 자동 주사기(Auto-injector)를 제공한다.
- [0133] 상기 바이알, 카트리지, 프리-필드 시린지, 자동 주사기 등의 구체적인 제품형태 및 상기 안정한 약제학적 제제를 상기 바이알, 카트리지, 프리-필드 시린지, 자동 주사기 등에 충전하는 방법은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 용이하게 입수하거나 실시할 수 있는 방법을 이용할 수 있다. 예를 들어, 미국 등록특허 제4,861,335호, 제6,331,174호 등은 프리-필드 시린지의 구체적인 제품형태 및 충전방법을 개시한다. 예를 들어, 미국 등록특허 제5,085,642호, 제5,681,291호 등은 자동 주사기의 구체적인 제품형태 및 조립방법을

개시한다. 또한, 상기 바이알, 카트리지, 프리-필드 시린지, 자동 주사기 등으로 상용화된 제품을 그대로 이용하거나, 상기 안정한 약제학적 제제의 물성, 투여부위, 투여량 등을 고려하여 별도로 주문 제작한 제품을 이용할 수 있다.

[0134] 본 발명에 있어, 상기 용기는 1회 투여용 용기일 수 있다.

[0135] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 제품은 상기 안정한 약제학적 제제의 사용방법, 보관방법 또는 이들 모두를 제공하는 지시사항을 추가로 포함할 수 있다. 상기 지시사항은 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor) 관련 질병의 치료법, 투여경로, 투여량 또는 투여시기를 포함할 수 있다.

[0136] 본 발명에 있어, 상기 제품은 상업적 및 사용자 관점에서 필요한 기타 도구, 예를 들어 바늘, 주사기 등을 포함할 수 있다.

[0138] **[안정한 약제학적 제제의 제조방법]**

[0139] 본 발명의 안정한 약제학적 제제는 공지된 방법으로 제조될 수 있으며, 특정 제조 방법으로 한정되지 않는다. 일 예로, 계면활성제 및 안정화제를 포함하는 용액에 완충제를 첨가하면서 pH를 조절한 후, 이 혼합 용액에 항체를 넣어 약제학적 제제를 제조할 수 있다. 다른 일 예로, 정제 공정의 최종 단계에서 항체, 완충제 및 안정화제를 포함하는 용액을 제조한 후, 이 용액에 계면활성제를 첨가하여 약제학적 제제를 제조할 수 있다.

[0141] **[안정한 약제학적 제제의 사용방법]**

[0142] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor) 관련 질병의 치료 효과를 나타낼 수 있다.

[0143] 본 발명에 있어, 상기 인터루킨-6 수용체 관련 질병은 자가 면역 질환, 염증성 질환, 악성 종양, 스틸병, 혈관염, 소아 특발성 관절염, 골관절염 등일 수 있다. 예를 들어, 상기 인터루킨-6 수용체 관련 질병은 류마티스 관절염(Rheumatoid Arthritis, RA), 성인 스틸병(Adult Onset Still's disease, AOSD), 전신형 소아 특발성 관절염(systemic Juvenile Idiopathic Arthritis, sJIA), 다관절형 소아 특발성 관절염(polyarticular Juvenile Idiopathic Arthritis, pJIA), 캐슬만병(Castleman's Disease, CD), 거대세포 동맥염(Giant Cell Arteritis, GCA), 타카야수 동맥염(Takayasu's Arteritis, TAK), 전신 경화증(Systemic Sclerosis, SSc), 전신 경화증 관련 간질성 폐질환(Systemic Sclerosis-Associated Interstitial Lung Disease, SSc-ILD), 사이토카인 방출 증후군(Cytokine Release Syndrome, CRS), 손 골관절염(Hand Osteoarthritis), 류마티스성 다발근통(Polymyalgia Rheumatica, PMR), 항중성구 세포질 항체 관련 혈관염(Antineutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis, ANCA-AAV), 재발성 다발 연골염(Relapsing Polychondritis, RP), 제2형 당뇨병(Type 2 diabetes, T2D), 강직성 척추염(Ankylosing Spondylitis, AS), 축성 척추관절염(Axial Spondyloarthritis, axSpA), 건선(Psoriasis, Ps), 건선성 관절염(Psoriatic Arthritis, PsA), 염증성 장 질환(Inflammatory Bowel Disease, IBD), 크론병(Crohn's disease, CD), 궤양성 대장염(Ulcerative Colitis, UC), 갑상선 관련 눈병(Thyroid ophthalmopathy, TAO), 류마티스 관절염 관련 심혈관 질환(Rheumatoid arthritis-Associated Cardiovascular Disease), 급성이식편대숙주병(Acute Graft Versus Host Disease, GVHD), 비ST분절 상승형 심근경색(Non-ST-segment Elevation MI, NSTEMI), 전신 홍반성 루푸스(Systemic Lupus Erythematosus, SLE), 정신분열증(Schizophrenia), 포도막염(Uveitis), 난소암(Ovarian Cancer), 시신경 척수염(Neuromyelitis Optica, NMO), 사구체신염(Glomerulonephritis, GN), 만성사구체신염(Chronic Glomerulonephritis), 결장 직장암(Rectal Cancer), 폐렴(Pneumonia), 폐암(Lung Cancer) 등이 있으나, 이에 한정되지 않는다. 바람직하게는, 상기 인터루킨-6 수용체 관련 질병은 류마티스 관절염, 성인 스틸병, 전신형 소아 특발성 관절염, 다관절형 소아 특발성 관절염, 캐슬만병, 거대세포 동맥염, 타카야수 동맥염, 전신 경화증, 전신 경화증 관련 간질성 폐질환, 사이토카인 방출 증후군, 류마티스성 다발근통으로 구성된 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상일 수 있다.

[0144] 본 발명에 있어, 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는 정맥 투여용(Intravenous, IV) 또는 피하 투여용(Subcutaneous, SC)으로 사용될 수 있다.

[0145] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 안정한 약제학적 제제는 사용 전에 희석(Dilution) 단계를 거칠 수 있다. 본 발명에 있어, 본 발명의 피하 투여용(Subcutaneous, SC) 제제는 희석 단계를 거쳐 정맥 투여용(Intravenous, IV)

제제로 사용될 수 있다.

- [0146] 본 발명의 일 구현예에서, 상기 안정한 약제학적 제제는 사용 전에 재용해(Reconstitution) 단계를 거치지 않을 수 있다.
- [0147] 상기 약제학적 제제 내 항체를 비롯한 다른 성분들의 농도는 상술한 바와 같으며, 본 발명에 따른 약제학적 제제의 전체 부피는 0.9 내지 20 ml일 수 있다.
- [0148] 상기 약제학적 제제의 투여량 또는 투여시기는 질병의 종류, 질병의 중증도 및 경과 상태, 환자의 건강 및 치료에 대한 반응, 또는 치료하는 의사의 판단에 따라 달라질 수 있으며, 특정 투여량 또는 투여시기로 한정되지 않는다.
- [0149]
- [0150] **[치료방법 및 안정화 방법]**
- [0151] 본 발명의 일 구현예에서, 본 발명은 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor) 관련 질병을 갖는 환자에게 (A) 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor)에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편, (B) 계면활성제, (C) 안정화제 및 (D) 완충제를 포함하는 안정한 약제학적 제제를 투여하는 것을 포함하는, 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor) 관련 질병을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0152] 본 발명의 다른 구현예에서, 본 발명은 (A) 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 receptor)에 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편, (B) 계면활성제, (C) 안정화제 및 (D) 완충제를 포함하는 안정한 약제학적 제제를 제조하는 것을 포함하는, 항체를 약제학적 제제 내에서 안정화하는 방법을 제공한다.
- [0153] 상기 안정한 약제학적 제제는 본 명세서에서 상술한 바와 같다.
- [0154] 본 발명에 따른 치료방법 또는 안정화 방법은 본 명세서에서 상술한 설명을 준용한다.
- [0155] 본원에 기재된 상기 각 특징들은 조합되어 사용될 수 있으며, 상기 각 특징들이 특허청구범위의 서로 다른 종속항에 기재된다는 사실은 이들이 조합되어 사용될 수 없음을 나타내는 것은 아니다.

발명의 효과

- [0156] 본 발명에 따른 안정한 약제학적 제제는 항체를 포함하는 경우, 특히 고농도로 포함하는 경우에도 낮은 점도를 가지고, 가속 조건 및 가혹 조건에서의 우수한 안정성을 바탕으로 장기간 보관 안정성이 우수하며, 정맥 또는 피하 투여가 가능하다.

도면의 간단한 설명

- [0157] 도 1은 실시예 1 내지 5의 주성분 함량 측정 결과이다.
- 도 2는 실시예 1 내지 5의 고분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 3은 실시예 1 내지 5의 저분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 4는 실시예 6 내지 13의 주성분 함량 측정 결과이다.
- 도 5는 실시예 6 내지 13의 고분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 6은 실시예 6 내지 13의 저분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 7은 실시예 14 내지 16의 주성분 함량 측정 결과이다.
- 도 8은 실시예 14 내지 16의 고분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 9는 실시예 14 내지 16의 저분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 10은 실시예 17 내지 22의 주성분 함량 측정 결과이다.
- 도 11은 실시예 17 내지 22의 고분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 12은 실시예 17 내지 22의 저분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 13은 실시예 23 내지 27의 주성분 함량 측정 결과이다.

- 도 14은 실시예 23 내지 27의 고분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 15은 실시예 23 내지 27의 저분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 16은 실시예 25, 28 내지 30의 주성분 함량 측정 결과이다.
- 도 17은 실시예 25, 28 내지 30의 고분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 18은 실시예 25, 28 내지 30의 저분자량 성분 함량 측정 결과이다.
- 도 19는 실시예 31, 32 및 비교예 1의 전하 변형체 측정 결과이다.
- 도 20은 실시예 33 내지 35 및 비교예 2의 IL-6R 결합친화도 측정 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0158] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 상세히 설명한다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 하기 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다. 본 발명에서 인용된 문헌은 본 발명의 명세서에 참조로서 통합된다.
- [0159] 하기 실험예에서 사용된 항체와 관련하여, 셀트리온 연구소에서 배양 및 정제된 토실리주맙을 사용하였다. 후술하는 약제학적 제제의 물리적 안정성, 화학적 안정성 및 생물학적 활성의 측정방법으로 다음과 같은 방법을 사용하였다.
- [0160] - 탁도(Turbidity)
- [0161] UV-Vis 분광 광도계를 이용하여 600 nm에서의 흡광도를 측정하였다.
- [0162] - 주성분 함량
- [0163] 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(Size Exclusion High Performance Liquid Chromatography; SEC-HPLC)를 이용하여 주성분 함량(main peak; %)을 측정하였다.
- [0164] - 고분자량 성분 함량
- [0165] 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(Size Exclusion High Performance Liquid Chromatography; SEC-HPLC)를 이용하여 고분자량 성분의 함량(pre-peak; %)을 측정하였다.
- [0166] - 저분자량 성분 함량
- [0167] 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피(Size Exclusion High Performance Liquid Chromatography; SEC-HPLC)를 이용하여 저분자량 성분의 함량(post-peak; %)을 측정하였다.
- [0168] - 온전한 면역글로불린 G의 함량(Intact IgG%)
- [0169] 비환원 모세관 전기이동 나트륨 도데실 설페이트(Non-Reduced Capillary Electrophoresis-Sodium Dodecyl Sulfate; NR CE-SDS)를 이용하여 온전한 면역글로불린 G의 함량(%)을 측정하였다.
- [0170] - 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(Intact HC+LC%)
- [0171] 환원 모세관 전기이동 나트륨 도데실 설페이트(Reduced Capillary Electrophoresis-Sodium Dodecyl Sulfate; R CE-SDS)를 이용하여 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량(%)을 측정하였다.
- [0172] - 불용성 이물 입자(Sub-visible particles)의 수
- [0173] 마이크로 플로우 이미징 (Micro Flow Imaging; MFI)을 이용하여 불용성 이물 입자의 수를 측정하였다.
- [0174] - 산화율(Oxidation)
- [0175] 질량분석을 통한 액체 크로마토그래피(Liquid chromatography-mass spectrometry; LC-MS)로 펩티드 매핑 (Peptide mapping)을 통해 중쇄 Met 106의 산화율(%)을 측정하였다.
- [0176] - 전하 변형체
- [0177] 이온 교환 크로마토그래피-고성능 액체 크로마토그래피(Ion Exchange Chromatography-High Performance Liquid Chromatography; IEC-HPLC)로 메인피크(%)를 측정하였다.

[0178] - IL-6R 결합 친화도

[0179] 효소결합면역흡착 분석법(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay; ELISA)으로 IL-6R 결합 친화도(%)를 측정하였다.

[0180] - 점도

[0181] 플로우 셀(B05 센서형, 50 μm 셀 깊이)이 장착된 마이크로-모세관 유동계(겔보기 전단율 범위: $10^3 \sim 10^5 \text{ s}^{-1}$) 장비를 이용하여, $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 에서 $500 \mu\text{l}$ 시린지에 담아 측정하였다.

[0183] **실험예 1: 인터루킨-6 수용체(Interleukin-6 Receptor, IL-6R)에 결합하는 항체를 포함하는 약제학적 제제의 제조**

[0184] 하기 표 1의 실시예 1 내지 실시예 37는 각 완충제를 각 pH에 맞게 제조한 뒤 안정화제를 첨가한 다음, 항체를 첨가하고, 이후 계면활성제를 첨가하여 제조되었다. 각 성분의 구체적인 함량은 하기 표 1에 기재된 바와 같다.

표 1

[0185]

구분	항체	계면활성제	안정화제	완충제	pH
실시예 1	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	아르기닌 150mM	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 2	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	아르기닌 150mM	포스페이트산나트륨 20 mM	6
실시예 3	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	아르기닌 150mM	시트르산나트륨 20 mM	6
실시예 4	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	아르기닌 150mM	숙신산나트륨 20 mM	6
실시예 5	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	아르기닌 150mM	히스티딘 20 mM	5.5
실시예 6	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	소르비톨 5.0 % (w/v)	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 7	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	수크로스 10.0 % (w/v)	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 8	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	트레할로스 10.0 % (w/v)	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 9	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	트레오닌 300mM	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 10	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	프롤린 300 mM	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 11	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	아르기닌 100mM 50mM 류신	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 12	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	타우린 300 mM	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 13	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	글리신 300 mM	아세트산나트륨 20 mM	5.5
실시예 14	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	타우린 300mM	히스티딘 20mM	6
실시예 15	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	트레오닌 300mM	히스티딘 20mM	6
실시예 16	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	트레오닌 200mM 메티오닌 100mM	히스티딘 20mM	6
실시예 17	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	트레오닌 140mM 메티오닌 60mM	히스티딘 10mM	6
실시예 18	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	트레오닌 180mM 메티오닌 60mM	히스티딘 10mM	6
실시예 19	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 % (w/v)	트레오닌 160mM 메티오닌 40mM	히스티딘 10mM	6

실시예 20	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 80mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 21	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 110mM	110m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 22	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 31mM	189m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 23	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 25mM	6
실시예 24	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 15mM	6
실시예 25	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 26	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 5mM	6
실시예 27	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 1mM	6
실시예 28	100 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 29	160 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 30	200 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 31	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	5.7
실시예 32	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6.3
실시예 33	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.01 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 34	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6
실시예 35	180 mg/ml	폴록사머 188 0.02 %(w/v)	트레오닌 160mM	메티오닌 60mM	히스티딘 10mM	6
비교예 1	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.02 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	7
비교예 2	180 mg/ml	폴리소르베이트 80 0.00 %(w/v)	트레오닌 60mM	160m메티오	히스티딘 10mM	6

[0186] **실험예 2: 완충제의 비교**

[0187] 실험예 1에 따라 제조된 실시예 1 내지 5를 초기 조건 및 열가속 조건에서 안정성을 측정하여, 그 결과를 하기 표 2, 도 1 내지 3에 나타내었다. 초기 조건은 5±3℃ 온도에서 0일 내지 5일 동안 보관된 시료, 열가속 조건은 40±2℃ 온도 및 75±5% 상대습도에서 10일 동안 보관된 시료로 실험하였다.

표 2

평가 실시예 및 결과		실시예 1	실시예 2	실시예 3	실시예 4	실시예 5
완충제 20 mM		아세트산나트륨	포스페이트산나트륨	시트르산나트륨	숙신산나트륨	히스티딘
항체 (mg/ml)		180	180	180	180	180
폴리소르베이트 80 (w/v)		0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
아르기닌 (mM)		150	150	150	150	150
초기	탁도	0.0147	0.0122	0.0104	0.0115	0.0135
	주성분 함량(메인 피크%)	99.57	99.53	99.53	99.52	99.72
	고분자량 성분 함량(%)	0.43	0.47	0.47	0.48	0.28
	저분자량 성분 함량(%)	0	0	0	0	0
	점도(cP)	6.47	6.34	6.8	6.48	6.37

[0197] 초기 조건에서, 실시예 6 내지 13 모두 탁도 0.03 이하, 주성분 함량 98% 이상, 고분자량 성분 함량 1.5% 이하, 저분자량 성분 함량 1% 이하, 점도 1 cP 내지 11 cP로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다. 그중에서도 실시예 9와 실시예 12의 주성분 함량이 각각 99.72%, 99.74%로서 가장 높고, 고분자량 성분 함량이 각각 0.28, 0.26로서 가장 낮아, 트레오닌 또는 타우린 안정화제를 포함한 실시예가 가장 안정성이 높음을 알 수 있었다.

[0198] 열가속 조건에서, 실시예 6 내지 13 모두 탁도 0.06 이하, 주성분 함량 97% 이상, 고분자량 성분 함량 2% 이하, 저분자량 성분 함량 1.5% 이하, 점도 1 cP 내지 15 cP로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다.

[0199] 그중에서도 실시예 9와 실시예 12의 주성분 함량이 각각 99.35%, 99.37%로서 가장 높아, 트레오닌 또는 타우린 안정화제를 포함한 실시예가 가장 안정성이 높음을 알 수 있었다.

[0200] 실험예 3에서 트레오닌 또는 타우린 안정화제를 포함한 실시예의 안정성이 높게 측정되었는바, 실험예 4에서는 이를 기초로 여러 실시예를 추가적으로 실험하였다.

[0202] **실험예 4: 히스티딘 완충제 포함하는 여러 실시예의 안정성 실험**

[0203] **실험예 4-1. 안정화제의 비교**

[0204] 실험예 1에 따라 제조된 실시예 14 내지 16을 초기, 장기, 열가속 1 및 열가속 2 조건에서 안정성을 측정하여, 그 결과를 하기 표 4, 도 7 내지 9에 나타내었다. 초기 조건은 5±3℃ 온도에서 0일 동안 보관된 시료, 장기 조건은 5±3℃ 온도에서 4주 동안 보관된 시료, 열가속 1 조건은 40±2℃ 온도 및 75±5% 상대습도에서 2주 동안 보관된 시료, 열가속 2 조건은 40±2℃ 온도 및 75±5% 상대습도에서 4주 동안 보관된 시료로 실험하였다.

표 4

[0205]

평가 실시예 및 결과		실시예 14	실시예 15	실시예 16	
안정화제		타우린 300mM	트레오닌 300mM	트레오닌 200mM 메티오닌 100mM	
항체 (mg/ml)		180	180	180	
폴리소르베이트 80 (%(w/v))		0.02	0.02	0.02	
히스티딘 (mM)		20	20	20	
초기	탁도	0.0163	0.0163	0.0159	
	주성분 함량(메인 피크%)	99.57	99.55	99.56	
	고분자량 성분 함량(%)	0.43	0.45	0.44	
	저분자량 성분 함량(%)	0	0	0	
	불용성 이물 입자 수	(10µm ≤, <100µm)	231	164	201
		(25µm ≤, <100µm)	31	28	33
	점도(cP)	6.56	7.78	7.35	
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	97.77	97.49	98.06	
	온전한 중쇄 및 경쇄의 함량 (Intact LC+HC%)	99.82	99.95	99.77	
	산화율(Met 106)	4.1	4.3	4.4	
장기	탁도	0.004	0.0062	0.0025	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.94	98.94	98.96	
	고분자량 성분 함량(%)	1.01	1.03	1.01	
	저분자량 성분 함량(%)	0.05	0.04	0.03	
	불용성 이물 입자수	(10µm ≤, <100µm)	652	586	744
		(25µm ≤, <100µm)	44	34	49
	점도(cP)	6.81	7.95	7.52	
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	97.32	97.33	97.33	
	온전한 중쇄 및 경쇄의 함량 (Intact LC+HC%)	99.9	99.84	99.87	
	산화율(Met 106)	5.5	5.1	5.5	

열가속 1	탁도	0.0087	0.0123	0.0143	
	주성분 함량(메인 피크%)	99.19	99.13	99.01	
	고분자량 성분 함량(%)	0.53	0.6	0.53	
	저분자량 성분 함량(%)	0.28	0.27	0.46	
	불용성 이물 입자 수	(10 μm ≤, <100 μm)	1799	890	1161
		(25 μm ≤, <100 μm)	139	53	82
	점도(cP)	6.72	7.92	7.47	
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	97.15	97.56	97.5	
	온전한 중쇄 및 경쇄의 함량 (Intact LC+HC%)	99.9	99.92	99.93	
산화율(Met 106)	4.7	4.6	5.1		
열가속 2	탁도	0.0056	0.0074	0.0071	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.31	98.17	98.34	
	고분자량 성분 함량(%)	1.26	1.41	1.24	
	저분자량 성분 함량(%)	0.43	0.42	0.43	
	불용성 이물 입자 수	(10 μm ≤, <100 μm)	1599	1256	670
		(25 μm ≤, <100 μm)	166	48	7
	점도(cP)	6.46	7.32	7.09	
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	95.18	95.27	95.19	
	온전한 중쇄 및 경쇄의 함량 (Intact LC+HC%)	99.52	99.49	99.48	
산화율(Met 106)	5.8	7.1	5.8		

[0206] 초기 및 장기 조건에서, 실시예 14 내지 16 모두 탁도 0.03 이하, 주성분 함량 98% 이상, 고분자량 성분 함량 1.5% 이하, 저분자량 성분 함량 1% 이하이며 실험 결과는 도7 내지 9에 나타내었다. 그리고 MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μm ≤, <100 μm)의 개수가 1000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μm ≤, <100 μm)의 개수가 150개 이하, 점도 1 cP 내지 11 cP, 온전한 면역글로불린 G의 함량 96% 이상, 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량 99% 이상, 산화율 6% 이하로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다. 열가속 1 및 2 조건에서, 실시예 14 내지 16 모두 탁도 0.06 이하, 주성분 함량 97% 이상, 고분자량 성분 함량 2% 이하, 저분자량 성분 함량 1.5% 이하이며 실험 결과는 실험 결과는 도7 내지 9에 나타내었다. 그리고 MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μm ≤, <100 μm)의 개수가 2000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μm ≤, <100 μm)의 개수가 200개 이하, 점도 1 cP 내지 15 cP로서, 온전한 면역글로불린 G의 함량 93% 이상, 온전한 중쇄 및 경쇄의 함량 98% 이상, 산화율 10% 이하로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다.

[0207] 따라서 타우린, 트레오닌, 트레오닌 및 메티오닌의 혼합물을 안정화제로 첨가하고, 히스티딘을 완충제로 첨가한 실시예는 약학적으로 허용 가능한 안정한 제제임을 알 수 있었다.

[0209] **실험예 4-2. 안정화제 농도 비교**

[0210] 실험예 1에 따라 제조된 실시예 17 내지 22를 초기 조건, 열가속 1 조건, 및 열가속 2 조건에서 안정성을 측정하여, 그 결과를 하기 표 5, 도 10 내지 12에 나타내었다. 초기 조건은 5±3℃ 온도에서 0일 동안 보관된 시료, 열가속 1 조건은 40±2℃ 온도 및 75±5% 상대습도에서 3주 동안 보관된 시료, 열가속 2 조건은 40±2℃ 온도 및 75±5% 상대습도에서 6주 동안 보관된 시료로 실험하였다.

표 5

평가 실시예 및 결과	실시예 17	실시예 18	실시예 19	실시예 20	실시예 21	실시예 22
트레오닌(mM)	140	180	160	160	110	189
메티오닌(mM)	60	60	40	80	110	31
항체 (mg/ml)	180	180	180	180	180	180
폴리소르베이트 80 (%(w/v))	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
히스티딘 (mM)	10	10	10	10	10	10

초기	탁도	0.0074	0.0099	0.006	0.0056	0.0065	0.0034	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.85	98.85	98.84	98.85	99.25	99.11	
	고분자량 성분 함량(%)	1.08	1.08	1.09	1.06	0.63	0.77	
	저분자량 성분 함량(%)	0.08	0.08	0.08	0.08	0.12	0.12	
	불용성 이물 입자수	(10 μm ≤ , <100 μm)	66	142	156	138	155	245
		(25 μm ≤ , <100 μm)	25	26	43	21	22	0
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	99.72	99.74	99.74	99.74	99.81	99.79	
전하 변형체(메인 피크%)	66.34	66.7	66.48	66.31	66.57	65.94		
열가속 1	탁도	0.0046	0.0052	0.0043	0.011	0.0117	0.0092	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.19	98.21	98.14	98.2	98.17	98.11	
	고분자량 성분 함량(%)	1.43	1.41	1.47	1.41	1.45	1.52	
	저분자량 성분 함량(%)	0.38	0.38	0.4	0.39	0.38	0.37	
	불용성 이물 입자수	(10 μm ≤ , <100 μm)	85	87	210	270	211	76
		(25 μm ≤ , <100 μm)	18	23	41	52	41	15
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	95.83	95.76	95.77	95.43	96.36	96.63	
전하 변형체(메인 피크%)	54.5	54.39	54.75	54.33	56.73	56.32		
열가속 2	탁도	0.0136	0.011	0.0066	0.0076	0.0143	0.0256	
	온전한 주성분 함량(메인 피크%)	98.25	98.3	98.25	98.27	98.3	98.27	
	고분자량 성분 함량(%)	0.99	0.96	1	0.97	0.97	1.01	
	저분자량 성분 함량(%)	0.76	0.74	0.75	0.76	0.73	0.72	
	불용성 이물 입자수	(10 μm ≤ , <100 μm)	136	473	108	79	208	118
		(25 μm ≤ , <100 μm)	11	70	21	16	10	12
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	96.5	96.63	96.52	96.57	97.18	97.06	
IL-6R 결합 친화도(%)	93	91	96	98	97	102		
전하 변형체(메인 피크%)	47.78	47.82	47.48	47.54	49.22	49.25		

[0212] 초기 조건에서, 실시예 17 내지 22 모두 탁도 0.03 이하, 주성분 함량 98% 이상, 고분자량 성분 함량 1.5% 이하, 저분자량 성분 함량 1% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μm ≤ , <100 μm)의 개수가 1000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μm ≤ , <100 μm)의 개수가 150개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 96% 이상, 전하 변형체(메인 피크%) 60% 내지 70%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다. 열가속 1 및 2 조건에서, 실시예 17 내지 22 모두 탁도 0.06 이하, 주성분 함량 97% 이상, 고분자량 성분 함량 2% 이하, 저분자량 성분 함량 1.5%이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μm ≤ , <100 μm)의 개수가 2000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μm ≤ , <100 μm)의 개수가 200개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 93% 이상, IL-6R 결합 친화도가 80% 내지 120%, 전하 변형체(메인 피크%) 40% 내지 60%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다.

[0213] 따라서 트레오닌 및 메티오닌의 혼합물을 안정화제로 첨가하고, 히스티딘을 완충제로 첨가한 실시예는 약학적으로 허용 가능한 안정한 제제임을 알 수 있었다.

[0215] 실험예 4-3. 완충제 농도 비교

[0216] 실험예 1에 따라 제조된 실시예 23 내지 27를 초기 조건, 열가속 1 조건, 및 열가속 2 조건에서 안정성을 측정하여, 그 결과를 하기 표 6, 도 13 내지 15에 나타내었다. 초기 조건은 5 \pm 3 $^{\circ}\text{C}$ 온도에서 0일 동안 보관된 시료, 열가속 1 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 3주 동안 보관된 시료, 열가속 2 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 6주 동안 보관된 시료로 실험하였다.

표 6

[0217] 평가 실시예 및 결과	실시예 23	실시예 24	실시예 25	실시예 26	실시예 27
히스티딘 완충제 (mM)	25	15	10	5	1
항체 (mg/ml)	180	180	180	180	180
폴리소르베이트 80 (%(w/v))	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02

트레오닌 (mM)		160	160	160	160	160	
메티오닌 (mM)		60	60	60	60	60	
초기	탁도	0.0055	0.0054	0.0067	0.0051	0.0086	
	주성분 함량(메인 피크%)	99.2	98.86	99.23	98.84	99.16	
	고분자량 성분 함량(%)	0.69	1.06	0.64	1.07	0.69	
	저분자량 성분 함량(%)	0.11	0.08	0.13	0.09	0.14	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	103	130	225	64	69
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	30	30	42	12	25
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	99.8	99.73	99.8	99.74	99.83	
전하 변형체(메인 피크%)		66.2	65.92	66	66.03	68.5	
열가속 1	탁도	0.0055	0.0058	0.0038	0.0035	0.0294	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.27	98.23	98.08	98.15	98.31	
	고분자량 성분 함량(%)	1.36	1.38	1.51	1.46	1.3	
	저분자량 성분 함량(%)	0.37	0.39	0.42	0.39	0.39	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	64	251	156	159	179
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	5	31	23	34	37
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	96.56	95.52	96.81	95.5	94.81	
전하 변형체(메인 피크%)		55.87	54.29	54.4	54.7	58.67	
열가속 2	탁도	0.0326	0.0032	0.0289	0.0022	0.0457	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.43	98.01	98.4	98.2	98.4	
	고분자량 성분 함량(%)	0.83	1.25	0.88	1.04	0.83	
	저분자량 성분 함량(%)	0.74	0.73	0.72	0.75	0.77	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	356	92	213	536	316
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	46	46	17	77	52
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	97.41	97.45	97.44	96.41	97.09	
IL-6R 결합 친화도		99	101	96	100	99	
전하 변형체(메인 피크%)		49.34	48.23	47.15	48.23	51.21	

[0218] 초기 조건에서, 실시예 23 내지 27 모두 탁도 0.03 이하, 주성분 함량 98% 이상, 고분자량 성분 함량 1.5% 이하, 저분자량 성분 함량 1% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 1000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 150개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 96% 이상, 전하 변형체(메인 피크%) 60% 내지 70%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다. 열가속 1 및 2 조건에서, 실시예 23 내지 27 모두 탁도 0.06 이하, 주성분 함량 97% 이상, 고분자량 성분 함량 2% 이하, 저분자량 성분 함량 1.5% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 2000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 200개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 93% 이상, IL-6R 결합 친화도가 80% 내지 120%, 전하 변형체(메인 피크%) 40% 내지 60%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다.

[0220] 실험예 4-4. 항체 농도 비교

[0221] 실험예 1에 따라 제조된 실시예 25, 28 내지 30을 초기 조건, 열가속 1 조건, 및 열가속 2 조건에서 안정성을 측정하여, 그 결과를 하기 표 7, 도 16 내지 18 에 나타내었다. 초기 조건은 5 \pm 3 $^{\circ}$ C 온도에서 0일 동안 보관된 시료, 열가속 1 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}$ C 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 3주 동안 보관된 시료, 열가속 2 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}$ C 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 6주 동안 보관된 시료로 실험하였다.

표 7

평가 실시예 및 결과	실시예 25	실시예 28	실시예 29	실시예 30
항체(mg/ml)	180	100	160	200
폴리소르베이트 80 (%(w/v))	0.02	0.02	0.02	0.02
트레오닌 (mM)	160	160	160	160
메티오닌 (mM)	60	60	60	60
히스티딘 (mM)	10	10	10	10

초기	탁도	0.0067	0.0056	0.005	0.0082	
	주성분 함량(메인 피크%)	99.23	99.19	98.88	98.83	
	고분자량 성분 함량(%)	0.64	0.69	1.04	1.08	
	저분자량 성분 함량(%)	0.13	0.12	0.08	0.08	
	불용성 이물 입자 수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	225	210	158	120
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	42	41	52	12
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	99.8	99.75	99.7	99.74	
전하 변형체(메인 피크%)	66	66.24	66.22	66.17		
열가속 1	탁도	0.0038	0.008	0.0036	0.0056	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.08	98.53	98.28	98.1	
	고분자량 성분 함량(%)	1.51	1.1	1.33	1.5	
	저분자량 성분 함량(%)	0.42	0.37	0.39	0.4	
	불용성 이물 입자 수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	156	143	126	128
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	23	14	54	29
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	96.81	96.59	95.91	95.78	
전하 변형체(메인 피크%)	54.4	55.69	54.47	54.2		
열가속 2	탁도	0.0289	0.0081	0.0056	0.0035	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.4	98.56	98.34	98.33	
	고분자량 성분 함량(%)	0.88	0.68	0.93	0.96	
	저분자량 성분 함량(%)	0.72	0.76	0.73	0.71	
	불용성 이물 입자 수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	213	681	508	635
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	17	89	69	34
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	97.44	96.81	96.54	96.44	
	IL-6R 결합 친화도(%)	96	83	101	96	
전하 변형체(메인 피크%)	47.15	47.5	47.77	47.68		

[0223] 초기 조건에서, 실시예 25, 28 내지 30 모두 탁도 0.03 이하, 주성분 함량 98% 이상, 고분자량 성분 함량 1.5% 이하, 저분자량 성분 함량 1% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 1000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 150개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 96% 이상, 전하 변형체(메인 피크%) 60% 내지 70%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다. 열가속 1 및 2 조건에서, 실시예 25, 28 내지 30 모두 탁도 0.06 이하, 주성분 함량 97% 이상, 고분자량 성분 함량 2% 이하, 저분자량 성분 함량 1.5% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 2000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 200개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 93% 이상, IL-6R 결합 친화도가 80% 내지 120%, 전하 변형체(메인 피크%) 40% 내지 60%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다.

[0225] 실험예 4-5. pH 비교

[0226] 실험예 1에 따라 제조된 실시예 31, 32 및 비교예 1을 초기 조건, 열가속 1 조건, 및 열가속 2 조건에서 안정성을 측정하여, 그 결과를 하기 표 8 및 도 19에 나타내었다. 초기 조건은 5 \pm 3 $^{\circ}$ C 온도에서 0일 동안 보관된 시료, 열가속 1 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}$ C 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 3주 동안 보관된 시료, 열가속 2 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}$ C 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 6주 동안 보관된 시료로 실험하였다.

표 8

[0227]

평가 실시예 및 결과	실시예 31	실시예 32	비교예 1
pH	5.7	6.3	7
항체 (mg/ml)	180	180	180
폴리소르베이트 80 (%(w/v))	0.02	0.02	0.02
트레오닌 (mM)	160	160	160
메티오닌 (mM)	60	60	60
히스티딘 (mM)	10	10	10
초기 탁도	0.005	0.0033	0.005

	주성분 함량(메인 피크%)	98.89	98.81	99.17	
	고분자량 성분 함량(%)	1.03	1.12	0.69	
	저분자량 성분 함량(%)	0.08	0.08	0.13	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	67	446	94
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	10	101	4
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	99.73	99.72	99.83	
	전하 변형체(메인 피크%)	66.26	65.9	68.09	
열가속 1	탁도	0.0033	0.004	0.0064	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.24	98.13	97.81	
	고분자량 성분 함량(%)	1.34	1.5	1.66	
	저분자량 성분 함량(%)	0.42	0.38	0.53	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	120	203	179
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	21	43	28
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	95.67	95.64	95.14	
	전하 변형체(메인 피크%)	53.19	54.62	47.1	
열가속 2	탁도	0.0043	0.0077	0.0118	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.3	98.19	97.53	
	고분자량 성분 함량(%)	0.89	1.07	1.39	
	저분자량 성분 함량(%)	0.81	0.74	1.07	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	321	146	108
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	52	25	19
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	96.33	96.44	95.19	
	IL-6R 결합 친화도(%)	103	99	82	
전하 변형체(메인 피크%)	47.69	46.06	34.89		

[0228] 초기 조건에서, 실시예 31 및 32은 모두 탁도 0.03 이하, 주성분 함량 98% 이상, 고분자량 성분 함량 1.5% 이하, 저분자량 성분 함량 1% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 1000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 150개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 96% 이상, 전하 변형체(메인 피크%) 60% 내지 70%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다. 열가속 1 및 2 조건에서, 실시예 31 및 32은 탁도 0.06 이하, 주성분 함량 97% 이상, 고분자량 성분 함량 2% 이하, 저분자량 성분 함량 1.5% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 2000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 200개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 93% 이상, IL-6R 결합 친화도가 80% 내지 120%, 전하 변형체(메인 피크%) 40% 내지 60%로서, 약학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다.

[0229] 그러나 비교예 1은 열가속 2 조건에서 전하 변형체(메인 피크%)가 40% 미만임을 확인할 수 있었고, 이를 통해 pH 7 이상인 실시예의 안정성이 떨어진다는 것을 알 수 있었다.

[0231] **실험예 4-6. 계면활성제 비교**

[0232] 실험예 1에 따라 제조된 실시예 33 내지 35 및 비교예 2를 초기 조건, 열가속 1 조건, 및 열가속 2 조건에서 안정성을 측정하여, 그 결과를 하기 표 9, 도 20 및 21에 나타내었다. 초기 조건은 5 \pm 3 $^{\circ}$ C 온도에서 0일 동안 보관된 시료, 열가속 1 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}$ C 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 3주 동안 보관된 시료, 열가속 2 조건은 40 \pm 2 $^{\circ}$ C 온도 및 75 \pm 5% 상대습도에서 6주 동안 보관된 시료로 실험하였다.

표 9

평가 제형 및 결과	실시예 33	실시예 34	실시예 35	비교예 2
계면활성제	폴리소르베이트 80 0.01 %(w/v)	폴리소르베이트 80 0.05 %(w/v)	폴록사머 188 0.02%(w/v)	폴리소르베이트 80 0.00 %(w/v)
항체 (mg/ml)	180	180	180	180
트레오닌 (mM)	160	160	160	160
메티오닌 (mM)	60	60	60	60
히스티딘 (mM)	10	10	10	10
초기 탁도	0.0153	0.0093	0.0073	0.0048

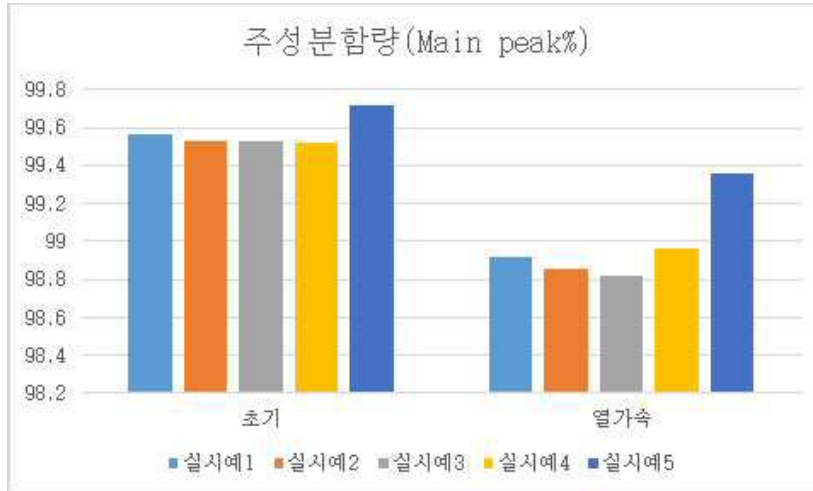
	주성분 함량(메인 피크%)	98.86	98.84	99.1	99.16	
	고분자량 성분 함량(%)	1.07	1.07	0.78	0.73	
	저분자량 성분 함량(%)	0.06	0.08	0.12	0.12	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	123	58	805	110
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	65	10	100	18
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	99.76	99.78	99.81	99.83	
	전하 변형체(메인 피크%)	66.18	66.15	65.72	68.84	
열 가속 1	탁도	0.0023	0.0055	0.0029	0.0038	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.18	98.15	98.2	98.36	
	고분자량 성분 함량(%)	1.44	1.45	1.44	1.27	
	저분자량 성분 함량(%)	0.38	0.39	0.36	0.37	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	650	593	64	124
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	77	26	23	46
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	96	95.98	96.62	95.05	
	전하 변형체(메인 피크%)	54.56	54.4	55.68	58.24	
열 가속 2	탁도	0.005	0.0031	0.0072	0.0098	
	주성분 함량(메인 피크%)	98.3	98.27	98.32	98.48	
	고분자량 성분 함량(%)	0.98	0.99	0.94	0.82	
	저분자량 성분 함량(%)	0.73	0.74	0.74	0.7	
	불용성 이물 입자수	(10 μ m \leq , <100 μ m)	861	657	61	434
		(25 μ m \leq , <100 μ m)	129	102	15	121
	온전한 면역글로불린 G의 함량 (Intact IgG%)	96.52	96.66	96.74	96.88	
	IL-6R 결합 친화도(%)	99	92	94	79	
	전하 변형체(메인 피크%)	47.08	47.53	48.07	50.68	

[0234] 초기 조건에서, 실시예 33 내지 35는 모두 탁도 0.03 이하, 주성분 함량 98% 이상, 고분자량 성분 함량 1.5% 이하, 저분자량 성분 함량 1% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 1000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 150개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 96% 이상, 전하 변형체(메인 피크%) 60% 내지 70%이므로 약제학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다. 열가속 1 및 2 조건에서, 실시예 33 내지 35는 탁도 0.06 이하, 주성분 함량 97% 이상, 고분자량 성분 함량 2% 이하, 저분자량 성분 함량 1.5% 이하, MFI로 측정된 불용성 이물 입자(10 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 2000개 이하, 불용성 이물 입자(25 μ m \leq , <100 μ m)의 개수가 200개 이하, 온전한 면역글로불린 G의 함량 93% 이상, IL-6R 결합 친화도가 80% 내지 120%, 전하 변형체(메인 피크%) 40% 내지 60%이므로, 약제학적으로 허용 가능한 안정한 실시예임을 알 수 있었다.

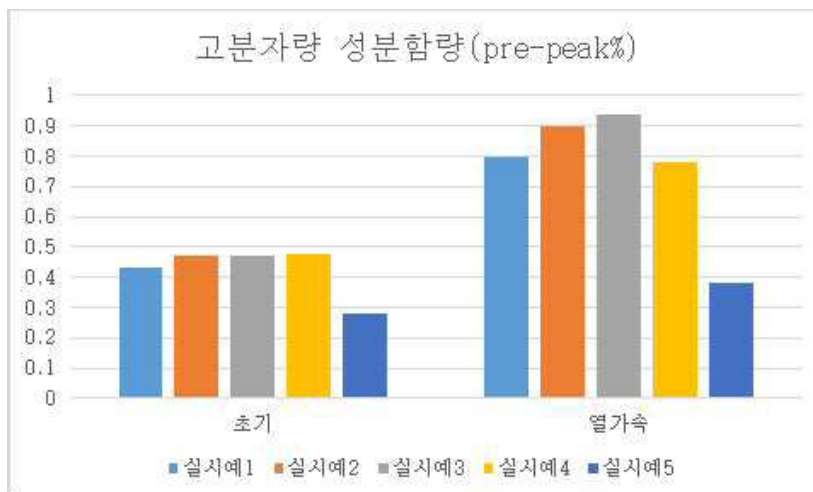
[0235] 반면, 비교예 2는 열가속 2 조건에서 IL-6R 결합 친화도가 80% 미만이었다. 이를 통해 계면활성제가 불포함된 실시예의 안정성이 떨어진다는 것을 알 수 있었다.

도면

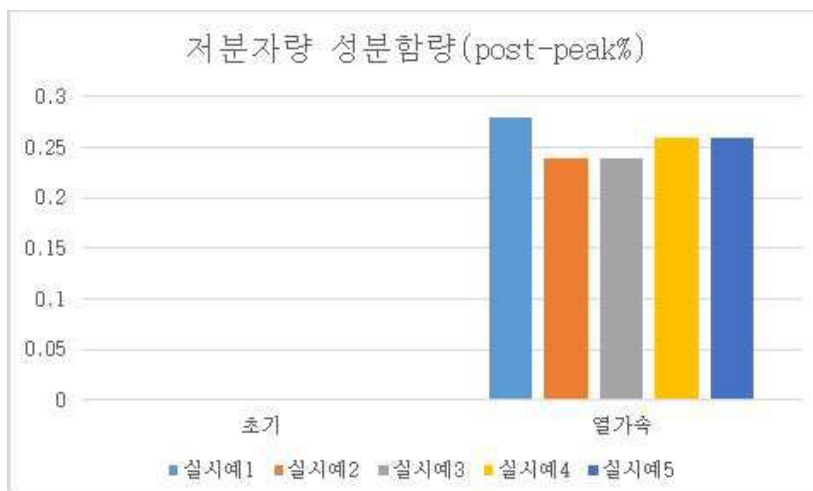
도면1



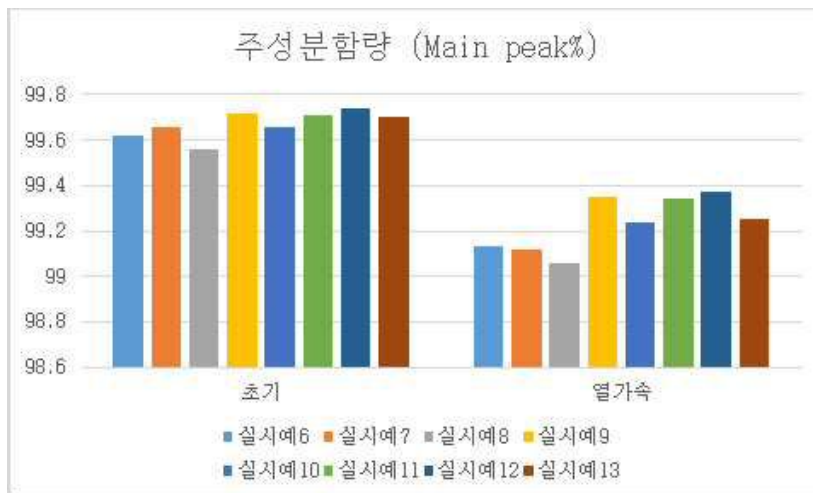
도면2



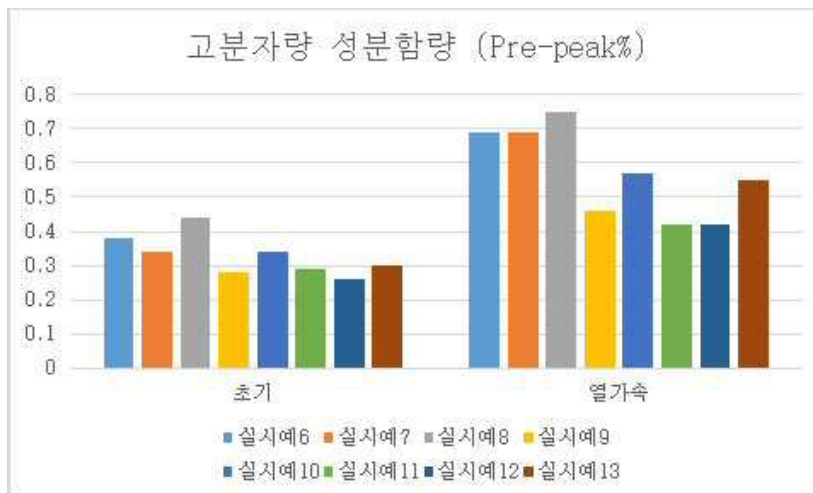
도면3



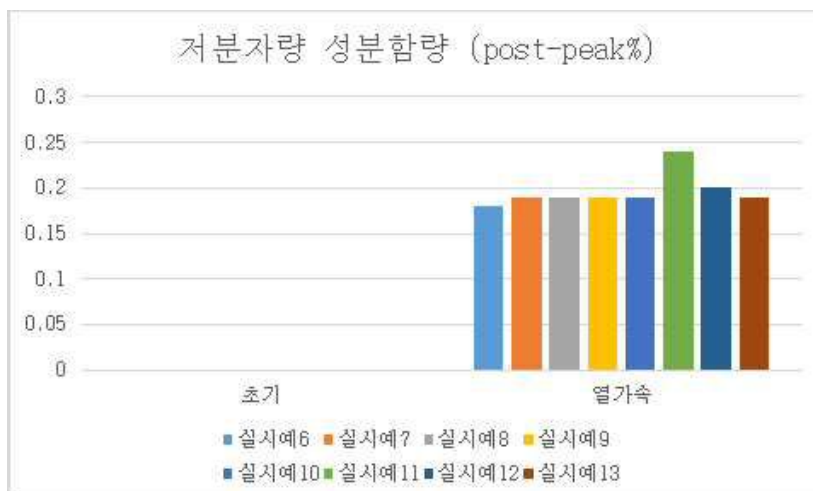
도면4



도면5



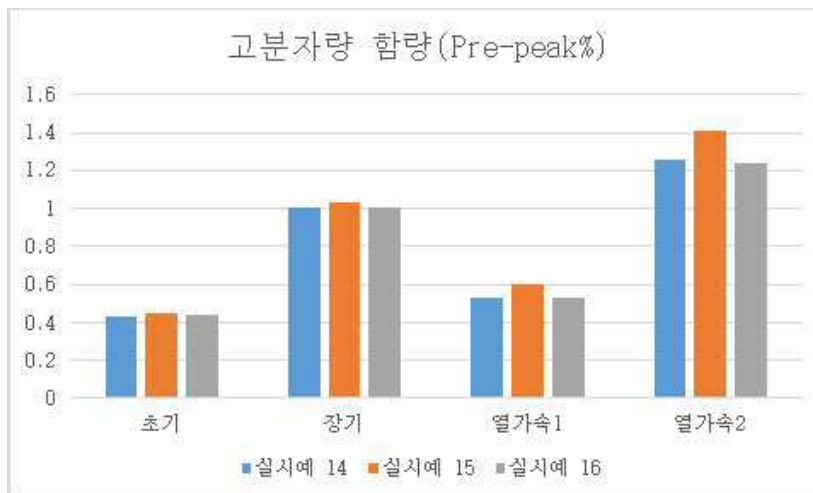
도면6



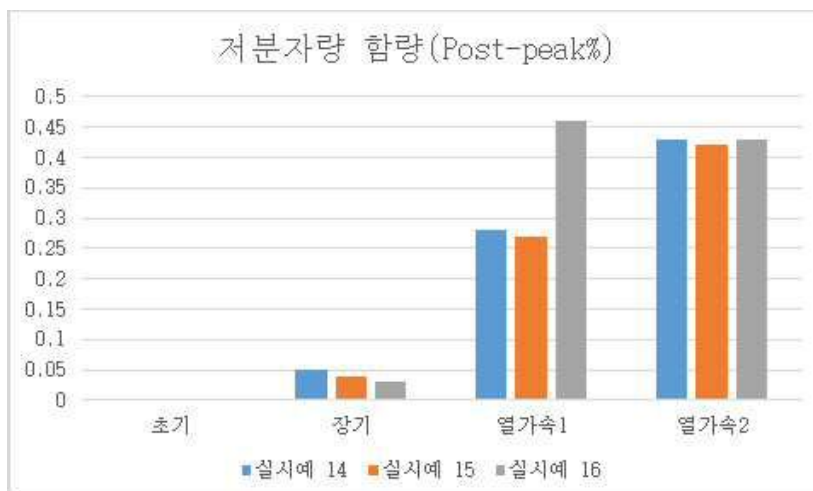
도면7



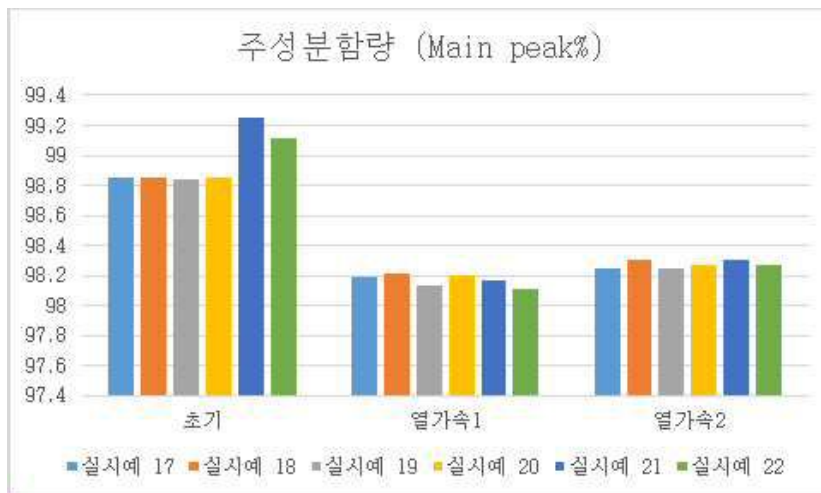
도면8



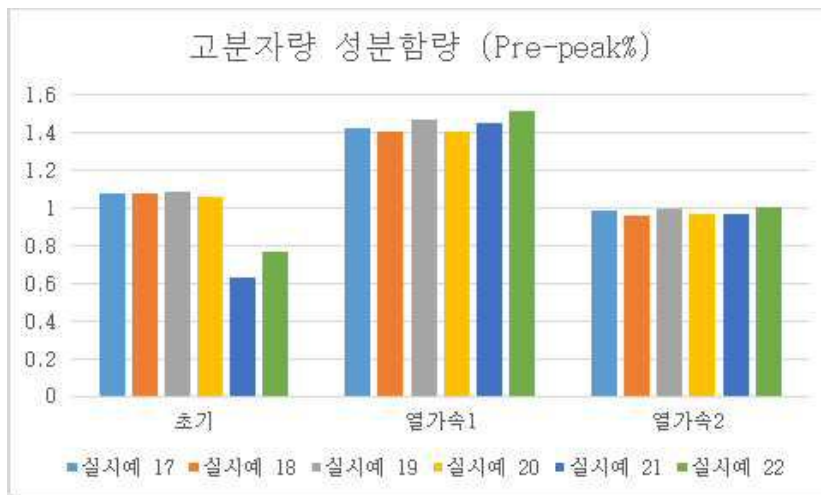
도면9



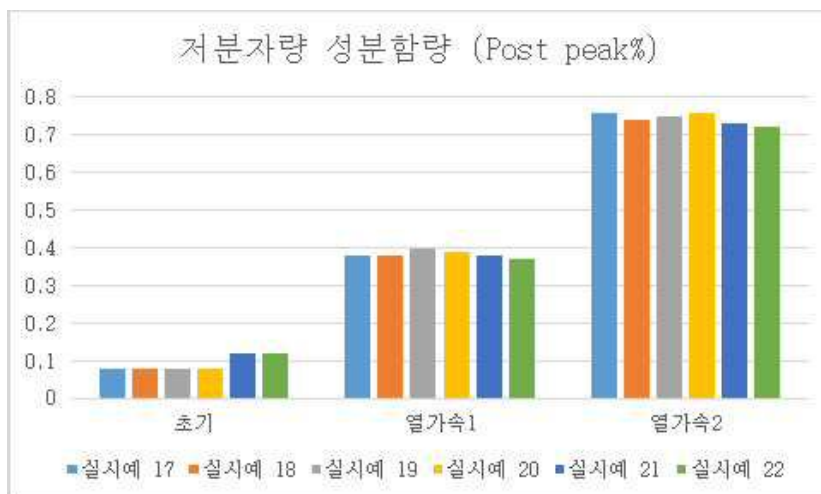
도면10



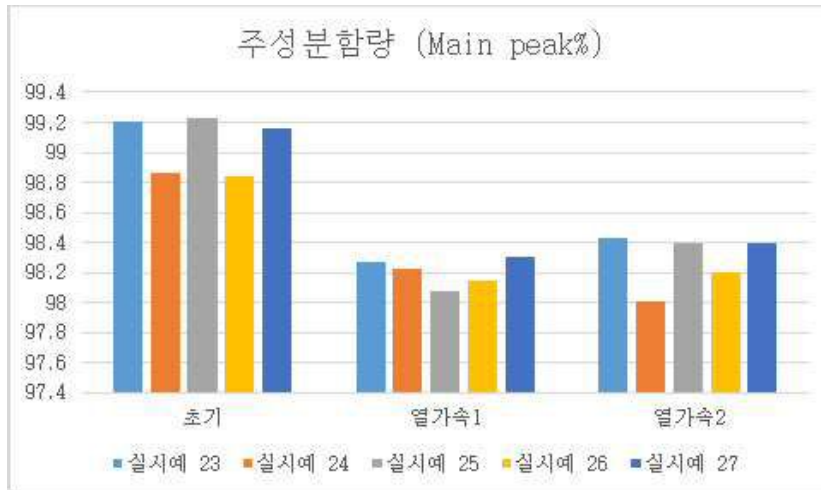
도면11



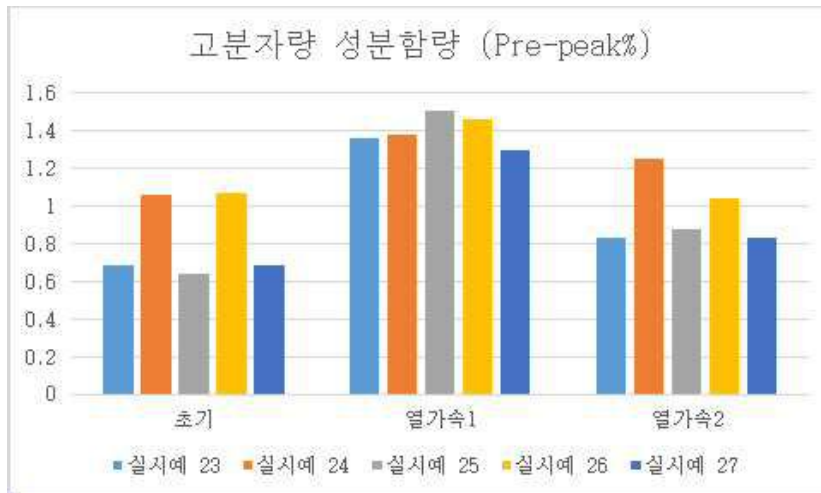
도면12



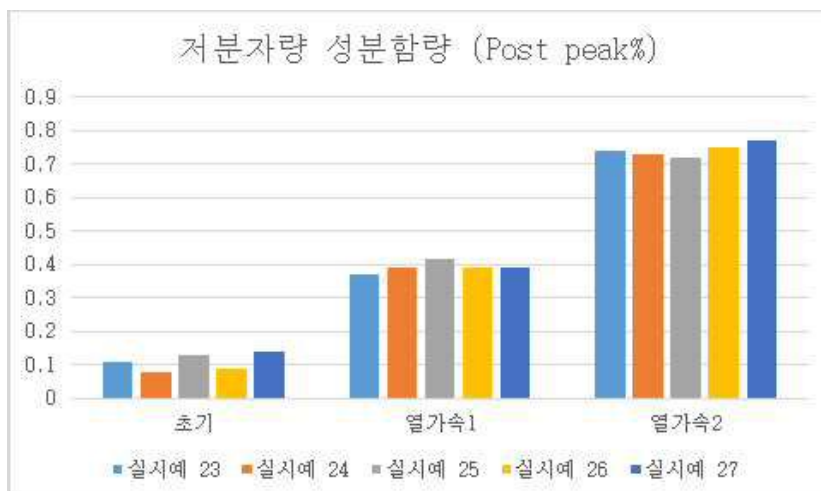
도면13



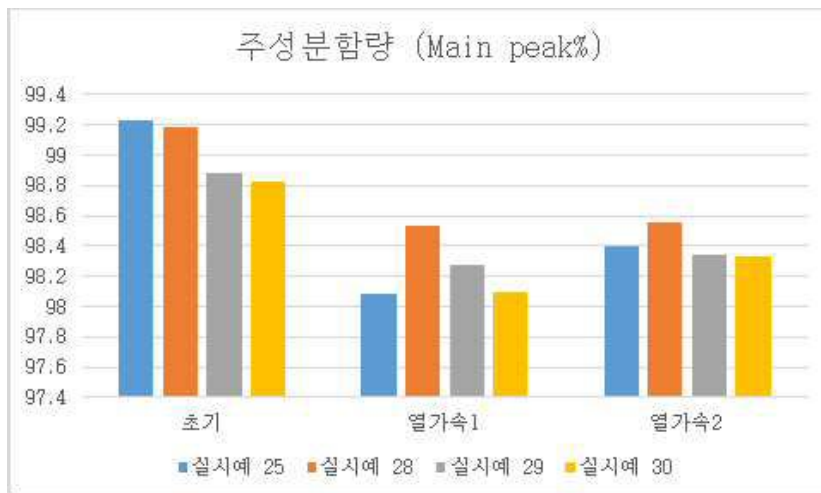
도면14



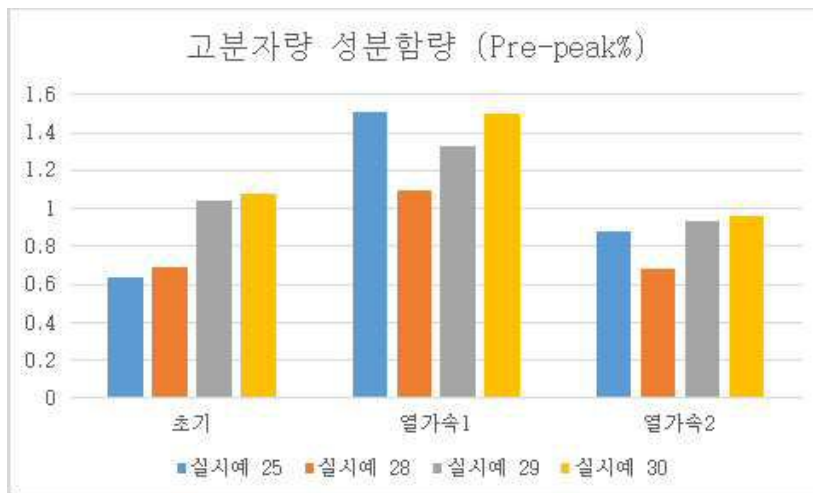
도면15



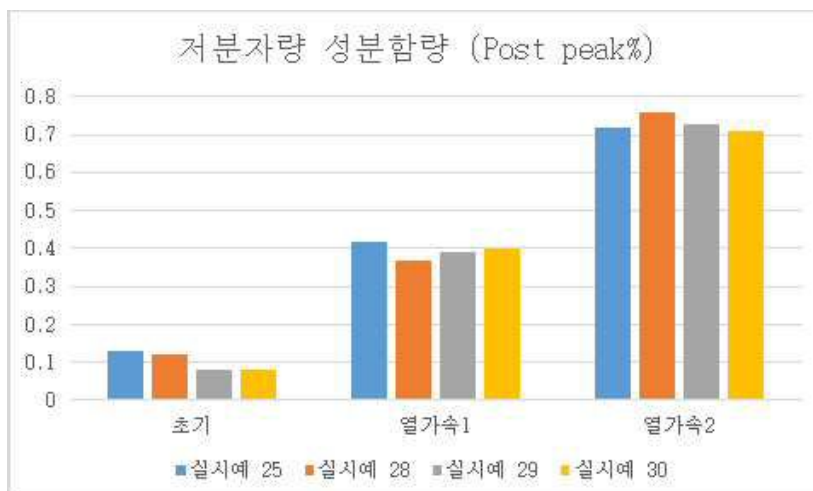
도면16



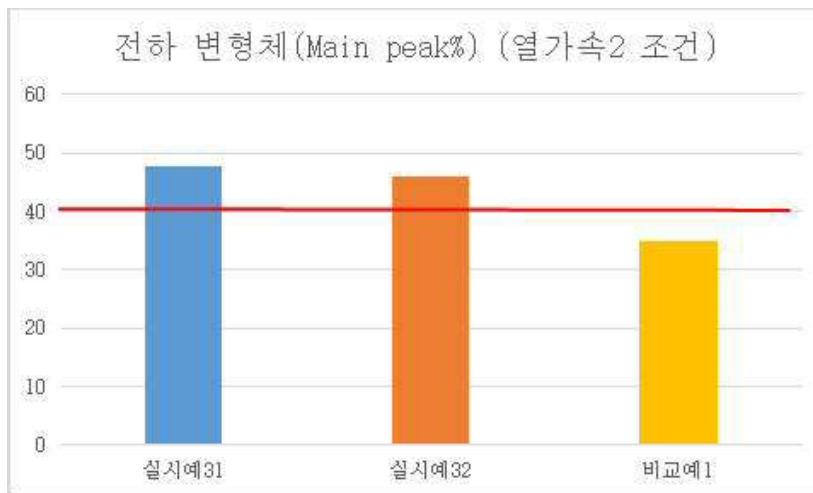
도면17



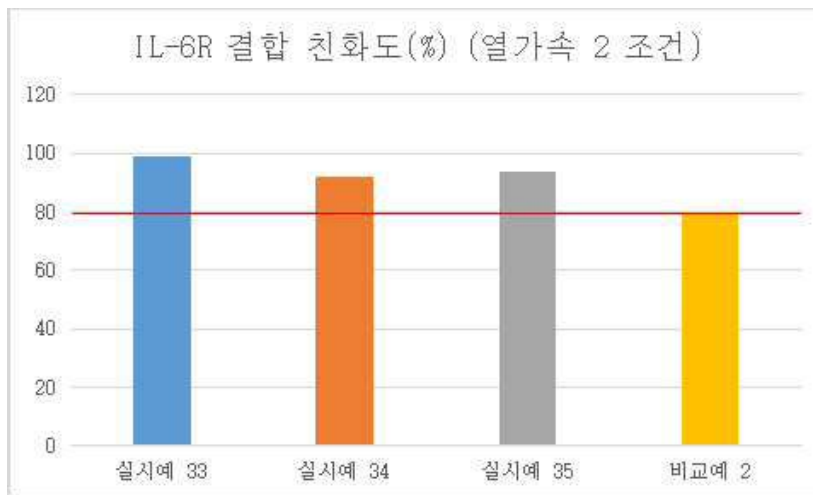
도면18



도면19



도면20



서열목록

- <110> CELLTRION, INC.
- <120> Stable Pharmaceutical Formulation
- <130> CPD2021065KR
- <150> KR 10-2020-0110695
- <151> 2020-08-31
- <160> 10
- <170> KoPatent In 3.0
- <210> 1
- <211> 11
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> Tocilizumab Light chain CDR 1

<400> 1
 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr Leu Asn
 1 5 10
 <210> 2
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Tocilizumab Light chain CDR 2

<400> 2
 Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
 1 5
 <210> 3
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Tocilizumab Light chain CDR 3

<400> 3
 Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr Thr
 1 5
 <210> 4
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Tocilizumab Heavy chain CDR 1

<400> 4
 Ser Asp His Ala Trp Ser
 1 5
 <210> 5
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Tocilizumab Heavy chain CDR 2

<400> 5

Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tocilizumab Heavy chain CDR 3

<400> 6

Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 7

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tocilizumab Light chain variable region

<400> 7

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 8

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tocilizumab Heavy chain variable region

<400> 8

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
 20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
 35 40 45

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Ser Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 9

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tocilizumab Light chain

<400> 9

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Tyr
 85 90 95

 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 10
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Tocilizumab Heavy chain
 <400> 10
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln

 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
 20 25 30
 His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

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

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

Lys