



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0024663

(51)⁷ A61K 9/08; A61K 9/00; A61K 31/485; (13) B
A61K 39/395

(21) 1-2012-02320

(22) 07/01/2011

(86) PCT/US2011/020457 07/01/2011

(87) WO2011/085158 14/07/2011

(30) 61/293,227 08/01/2010 US; 12/986,223 07/01/2011 US

(45) 27/07/2020 388

(43) 25/01/2013 298A

(73) REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

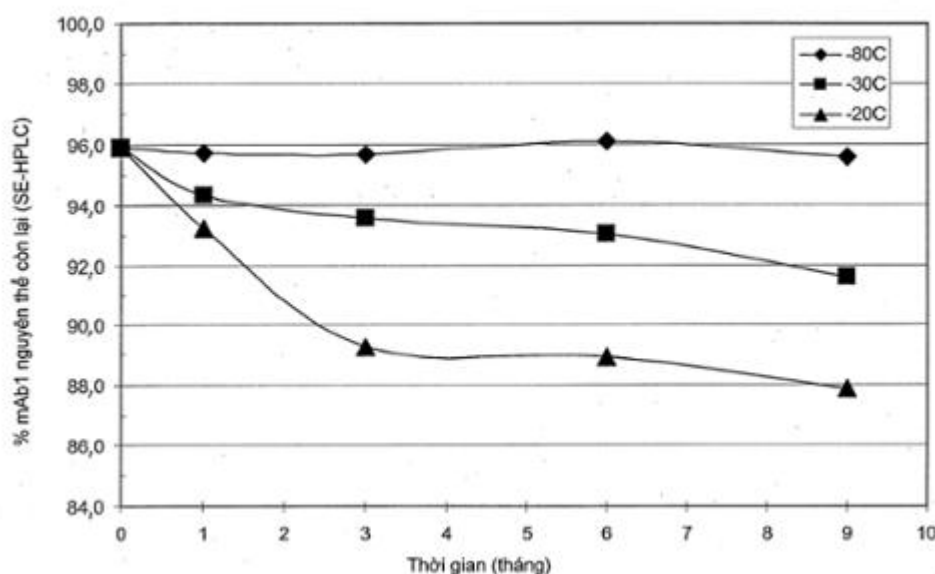
777 Old Saw Mill River Road, Tarrytown, NY 10591, USA

(72) DIX, Daniel, B. (US); Graham, Kenneth S. (US); Kamen, Douglas E. (US); Walsh, Scott M. (US).

(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK CO., LTD.)

(54) DƯỢC PHẨM ỔN ĐỊNH CHỨA KHÁNG THỂ KHÁNG THỤ THỂ
INTERLEUKIN-6 (IL-6R)

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm bao gồm kháng thể người liên kết đặc hiệu với thụ thể interleukin-6 của người (hIL-6R). Dược phẩm theo sáng chế có thể chứa, ngoài kháng thể kháng hIL-6R, ít nhất một axit amin, ít nhất một đường, và/hoặc ít nhất một chất hoạt động bề mặt không ion. Dược phẩm theo sáng chế có độ ổn định chấp nhận được sau khi bảo quản trong một vài tháng.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa kháng thể. Cụ thể, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa kháng thể người liên kết đặc hiệu với thụ thể interleukin-6 của người.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Phân tử có hoạt tính trị liệu (chẳng hạn, kháng thể) cần phải được bào chế theo cách không chỉ làm cho phân tử đó trở nên thích hợp để sử dụng cho bệnh nhân, mà còn phải duy trì được độ ổn định của chúng trong khi bảo quản. Ví dụ, kháng thể có hoạt tính trị liệu trong dung dịch lỏng sẽ dễ bị thoái hóa, kết tụ và/hoặc các biến đổi hóa học không mong muốn trừ khi dung dịch được tạo ra một cách thích hợp. Độ ổn định của kháng thể trong dạng bào chế lỏng không chỉ phụ thuộc loại tá dược được sử dụng trong dạng bào chế, mà còn phụ thuộc vào lượng và tỷ lệ của các loại tá dược. Hơn nữa, các yếu tố cần xem xét khác ngoài độ ổn định cũng cần phải được tính đến khi bào chế dạng dược phẩm kháng thể lỏng. Ví dụ về các yếu tố hỗ trợ này bao gồm độ nhớt của dung dịch và nồng độ của kháng thể có thể đạt được bởi một dạng bào chế nhất định. Do đó, khi bào chế kháng thể điều trị, cần hết sức cẩn thận để có thể tạo ra dạng bào chế ổn định, chứa nồng độ kháng thể đầy đủ, và có độ nhớt thích hợp cũng như các đặc tính khác làm cho dạng bào chế có thể sử dụng một cách thuận tiện cho bệnh nhân.

Kháng thể kháng thụ thể interleukin-6 của người (hIL-6R) là một ví dụ về đại phân tử có hoạt tính trị liệu cần có dạng bào chế thích hợp. Kháng thể kháng hIL-6R có lợi ích trên lâm sàng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh như viêm khớp dạng thấp, viêm cứng khớp đốt sống, và các tình trạng khác. Kháng thể kháng IL-6R được đề cập trong các tài liệu US 7,582,298; 6,410,691; 5,817,790; 5,795,695; và 6,670,373. Kháng thể kháng hIL-6R có hoạt tính điều trị đặc biệt quan trọng là kháng thể được đề cập trong US 7,582,298 là VQ8F11-21 (trong bản mô tả còn được gọi là "mAb1").

Mặc dù kháng thể kháng hIL-6R là đã biết, tuy nhiên vẫn cần một dược phẩm bao gồm kháng thể kháng hIL-6R mới có đủ độ ổn định và thích hợp để sử dụng trên bệnh nhân.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vì các lý do nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất dược phẩm bao gồm kháng thể người liên kết đặc hiệu với thụ thể interleukin-6 của người (hIL-6R). Dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm tá dược cùng với kháng thể kháng hIL-6R. Ví dụ, theo một số phương án, dược phẩm có thể bao gồm (i) kháng thể người liên kết đặc hiệu với hIL-6R; (ii) ít nhất một axit amin; và (iii) ít nhất một carbohydrat. Axit amin có thể là, chẳng hạn, histidin và/hoặc arginin. Carbohydrat có thể là một loại đường, chẳng hạn, như sucroza, glucoza, mannitol, lactoza hoặc trehaloza.

Theo một số phương án theo sáng chế, dược phẩm còn bao gồm chất hoạt động bề mặt không ion. Chất hoạt động bề mặt không ion có thể là, chẳng hạn, polysorbate 20, polysorbate 80, polyoxyetylen sorbitan monooleat, polyetylen glycol, v.v..

Kháng thể trong dược phẩm theo sáng chế có thể là một kháng thể bất kỳ liên kết đặc hiệu với hIL-6R. Ví dụ về kháng thể có thể có trong dược phẩm theo sáng chế là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR), trong đó HCVR bao gồm vùng quyết định bổ thể chuỗi nặng (HCDR) 1 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 20, HCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:22, và HCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:24; và trong đó LCVR bao gồm vùng quyết định bổ thể chuỗi nhẹ (LCDR) 1 có trình tự axit amin SEQ ID NO: 28, LCDR2 có trình tự axit amin SEQ ID NO:30, và LCDR3 có trình tự axit amin SEQ ID NO:32. Theo một số phương án, kháng thể trong dược phẩm theo sáng chế là kháng thể bao gồm HCVR có trình tự axit amin SEQ ID NO:18 và LCVR có trình tự axit amin SEQ ID NO:26.

Dược phẩm chứa kháng thể theo sáng chế có thể được chứa trong một vật chứa bất kỳ có thể sử dụng để chứa dược phẩm. Ví dụ về vật chứa thích hợp bao gồm, chẳng hạn, lọ nhựa hoặc lọ thủy tinh, ống tiêm và ống. Vật chứa có thể là trong suốt hoặc cản quang (chẳng hạn, được nhuộm màu hồ phách).

Theo một số khía cạnh theo sáng chế, được phẩm vẫn duy trì được độ ổn định tương đối sau khi bảo quản trong một vài ngày, tháng hoặc năm ở một nhiệt độ nhất định. Ví dụ, theo một số phương án theo sáng chế, tỷ lệ phần trăm cao kháng thể (chẳng hạn, 90%, 95%, 96% hoặc nhiều hơn) vẫn được duy trì ở dạng ban đầu sau ít nhất 3, 6, 9 hoặc nhiều hơn tháng bảo quản. Tỷ lệ phần trăm dạng ban đầu của kháng thể có thể được xác định, chẳng hạn, bằng SE-HPLC, hoặc bằng một phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Nhiệt độ bảo quản tại đó độ ổn định của kháng thể được duy trì có thể là, chẳng hạn, -80°C, -40°C, -20°C, 0°C, 5°C, 25°C, 45°C, hoặc cao hơn.

Các phương án khác theo sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn trong phần mô tả chi tiết dưới đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện tỷ lệ phần trăm mAb1 nguyên gốc còn lại, được xác định bằng SE-HPLC, sau các khoảng thời gian bảo quản khác nhau ở -20°C (hình tam giác), -30°C (hình vuông), và -80°C (hình thoi).

Fig. 2 thể hiện tỷ lệ phần trăm mAb1 bị axit hóa, được xác định bằng CEX-HPLC, sau các khoảng thời gian bảo quản khác nhau ở -20°C (hình tam giác), -30°C (hình vuông), và -80°C (hình thoi).

Fig. 3 thể hiện tỷ lệ phần trăm mAb1 ban đầu có trong chế phẩm tá được tối thiểu khác nhau, được xác định bằng SE-HPLC, sau các khoảng thời gian bảo quản khác nhau ở -30°C. Hình thoi thể hiện chế phẩm 1 (80mg/ml mAb1, 0,13% polysorbate 20, 6% sucroza, 10mM histidin); hình vuông thể hiện chế phẩm 2 (80mg/ml mAb1, 0,13% polysorbate 20, 10mM histidin); hình tam giác thể hiện chế phẩm 3 (80mg/ml mAb, 1% sucroza, 10mM histidin); hình vuông rỗng thể hiện chế phẩm 4 (80mg/ml mAb1, 2% sucroza, 10mM histidin); dấu * thể hiện chế phẩm 5 (80mg/ml mAb1, 4% sucroza, 10mM histidin); hình tròn tô đậm thể hiện chế phẩm 6 (80mg/ml mAb1, 6% sucroza, 10mM histidin); hình chữ thập thể hiện chế phẩm 7 (80mg/ml kháng thể, 10mM histidin); và hình tròn rỗng thể hiện chế phẩm 8 (65mg/ml kháng thể, 10mM histidin). Tất cả các chế phẩm được nêu trong bảng 6 (ví dụ 2).

Fig. 4 thể hiện tỷ lệ phần trăm mAb1 dạng ban đầu có trong các chế phẩm tá dược tối thiểu khác nhau được xác định bằng SE-HPLC, sau các khoảng thời gian bảo quản khác nhau ở -20°C. Hình thoi thể hiện chế phẩm 1 (80mg/ml mAb1, 0,13% polysorbate 20, 6% sucroza, 10mM histidin); hình vuông thể hiện chế phẩm 2 (80mg/ml mAb1, 0,13% polysorbate 20, 10mM histidin); hình tam giác thể hiện chế phẩm 3 (80mg/ml mAb, 1% sucroza, 10mM histidin); hình vuông rỗng thể hiện chế phẩm 4 (80mg/ml mAb1, 2% sucroza, 10mM histidin); dấu * thể hiện chế phẩm 5 (80mg/ml mAb1, 4% sucroza, 10mM histidin); hình tròn tô đậm thể hiện chế phẩm 6 (80mg/ml mAb1, 6% sucroza, 10mM histidin); hình chữ thập thể hiện chế phẩm 7 (80mg/ml kháng thể, 10mM histidin); và hình tròn rỗng thể hiện chế phẩm 8 (65mg/ml kháng thể, 10mM histidin). Tất cả các chế phẩm được nêu trong bảng 6 (ví dụ 2).

Mô tả chi tiết sáng chế

Trước khi sáng chế được mô tả, cần hiểu rằng sáng chế sẽ không bị giới hạn ở một phương pháp hoặc điều kiện thử nghiệm cụ thể nào, do vậy các phương pháp và điều kiện thử nghiệm có thể thay đổi. Cũng cần hiểu rằng các thuật ngữ được sử dụng ở chỉ với mục đích mô tả các phương án cụ thể, và không giới hạn ở một nghĩa cụ thể nào, vì phạm vi của sáng chế sẽ được giới hạn ở phần yêu cầu bảo hộ.

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong bản mô tả có nghĩa thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “khoảng,” khi được sử dụng với một giá trị số học cụ thể, có nghĩa là giá trị đó có thể thay đổi không quá 1%. Ví dụ, như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “khoảng 100” bao gồm 99 và 101 và tất cả các giá trị ở giữa hai giá trị đó (chẳng hạn, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, v.v..).

Mặc dù phương pháp và vật liệu bất kỳ tương tự với các phương pháp hoặc vật liệu trong bản mô tả có thể được sử dụng trong thực hành hoặc kiểm định sáng chế, như phương pháp và vật liệu được ưu tiên sẽ được mô tả.

DƯỢC PHẨM

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “dược phẩm” có nghĩa là hỗn hợp của ít nhất một hoạt chất (chẳng hạn, phân tử nhỏ, đại phân tử, hợp chất, v.v..

có khả năng tạo ra tác dụng sinh học ở người hoặc động vật không phải người), và ít nhất một thành phần không hoạt động khi được kết hợp với hoạt chất và/hoặc một hoặc nhiều thành phần không hoạt động bổ trợ, là thích hợp để sử dụng cho người hoặc động vật không phải người. Thuật ngữ “dạng bào chế,” như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là “được phẩm” trừ khi có quy định khác. Sáng chế đề cập đến được phẩm bao gồm ít nhất một polypeptit có hoạt tính điều trị. Theo một số phương án theo sáng chế, polypeptit có hoạt tính điều trị là kháng thể liên kết đặc hiệu với thụ thể interleukin-6 của người (hIL-6R) hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Cụ thể, sáng chế đề cập đến được phẩm bao gồm: (i) kháng thể người liên kết đặc hiệu với hIL-6R; (ii) histidin; và (iii) carbohydrat. Các thành phần bổ trợ có thể được đưa vào được phẩm theo sáng chế như, chẳng hạn, ít nhất một chất hoạt động bề mặt không ion, và ít nhất một axit amin bổ trợ. Các thành phần bổ trợ và được phẩm cụ thể theo sáng chế sẽ được mô tả chi tiết dưới đây.

Được phẩm theo sáng chế có thể, theo một số phương án, là được phẩm lỏng. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “được phẩm lỏng” có nghĩa là hỗn hợp ít nhất hai thành phần tồn tại chủ yếu ở trạng thái lỏng ở khoảng 5°C đến khoảng 45°C. Được phẩm lỏng bao gồm dạng bào chế lỏng. Được phẩm lỏng óc thể có độ nhớt thấp, trung bình hoặc cao phụ thuộc vào thành phần cụ thể của nó.

KHÁNG THỂ LIÊN KẾT ĐẶC HIỆU VỚI hIL-6R

Được phẩm theo sáng chế có thể bao gồm kháng thể người, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, liên kết đặc hiệu với hIL-6R. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “hIL-6R” có nghĩa là thụ thể xytokin của người liên kết đặc hiệu với interleukin-6 (IL-6). Theo một số phương án, kháng thể trong được phẩm theo sáng chế liên kết đặc hiệu với vùng ngoại bào của hIL-6R. Vùng ngoại bào của hIL-6R có trình tự axit amin SEQ ID NO:74.

Thuật ngữ “kháng thể”, như được sử dụng trong bản mô tả này, dùng để chỉ phân tử globulin miễn dịch bao gồm 4 chuỗi polypeptit, hai chuỗi nặng (H) và hai chuỗi nhẹ (L) được nối với nhau bằng các liên kết disulfit, cũng như đa phân của chúng (chẳng hạn, IgM); tuy nhiên, phân tử globulin miễn dịch chỉ có chuỗi nặng (nghĩa là, không có chuỗi nhẹ) cũng bao gồm trong định nghĩa của thuật ngữ “kháng thể.” Mỗi chuỗi nặng bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (được viết tắt trong bản mô

tả là HCVR hoặc VH) và vùng cố định chuỗi nặng. Vùng cố định chuỗi nặng bao gồm ba vùng, CH1, CH2 và CH3. Mỗi chuỗi nhẹ bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ (được viết tắt trong bản mô tả là LCVR hoặc VL) và vùng cố định chuỗi nhẹ. Vùng cố định chuỗi nhẹ bao gồm một vùng (CL1). Vùng VH và VL còn có thể được chia nhỏ hơn thành các vùng siêu biến, được gọi là vùng quyết định bổ thể (CDR), được xen kẽ bởi các vùng bảo toàn hơn, được gọi là vùng khung (FR). Mỗi VH và VL được tạo bởi 3 CDR và 4 FR, được sắp xếp từ đầu amin cho đến đầu carboxy theo trật tự sau: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ “kháng thể,” như được sử dụng trong bản mô tả này, sẽ được hiểu là bao gồm phân tử kháng thể nguyên vẹn cũng như mảnh liên kết kháng nguyên của chúng. Thuật ngữ “phân liên kết kháng nguyên” hoặc “mảnh liên kết kháng nguyên” của kháng thể (hoặc đơn giản là “phân kháng thể” hoặc “mảnh kháng thể”), như được sử dụng trong bản mô tả này, chỉ một hoặc nhiều mảnh của kháng thể vẫn duy trì được khả năng liên kết đặc hiệu với hIL-6R.

“Kháng thể phân lập”, như được sử dụng trong bản mô tả này, dùng để chỉ kháng thể gần như không có các kháng thể khác có độ đặc hiệu với kháng nguyên khác (chẳng hạn, kháng thể phân lập liên kết đặc hiệu với hIL-6R gần như không có các kháng thể liên kết đặc hiệu với các kháng nguyên khác không phải hIL-6R).

Thuật ngữ “liên kết đặc hiệu,” hoặc tương tự, dùng để chỉ kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó tạo thành phức hợp với kháng nguyên và phức hợp này tương đối ổn định ở điều kiện sinh lý. Mức độ liên kết đặc hiệu có thể được xác định bằng hằng số phân ly ít nhất khoảng 1×10^{-6} M hoặc lớn hơn. Phương pháp xác định liệu hai phân tử có liên kết đặc hiệu với nhau hay không đã được biết trong lĩnh vực kỹ thuật này và bao gồm, ví dụ, thẩm tách cân bằng, cộng hưởng plasmon bề mặt, và tương tự. Tuy nhiên, kháng thể phân lập liên kết đặc hiệu với hIL-6R có thể có hoạt tính phản ứng chéo với các kháng nguyên khác, như phân tử IL-6R của các loài khác. Theo sáng chế, kháng thể đa đặc hiệu (chẳng hạn, lưỡng đặc hiệu) liên kết với hIL-6R cũng như một hoặc nhiều kháng thể khác được coi là “liên kết đặc hiệu” với hIL-6R. Hơn nữa, kháng thể phân lập có thể gần như không có các vật liệu và/hoặc hóa chất khác.

Kháng thể kháng hIL-6R thử nghiệm có thể kết hợp vào được phẩm theo sáng chế được đề cập trong tài liệu US 7,582,298.

Theo một số phương án theo sáng chế, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng quyết định bổ thể chuỗi nặng (HCDR) 1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 4, 20, 36 và 52; HCDR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:6, 22, 38 và 54; và HCDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:2, 18, 34 và 50. Theo một số phương án, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm các vùng HCDR1-HCDR2-HCDR3, lần lượt được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:4 – 6 – 8; (ii) SEQ ID NO:20 – 22 – 24; (iii) SEQ ID NO:36 – 38 – 40; và (iv) SEQ ID NO:52 – 54 – 56.

Theo một số phương án theo sáng chế, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng quyết định bổ thể chuỗi nhẹ (LCDR) 1 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO: 12, 28, 44 và 60; LCDR2 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:14, 30, 46 và 62; và LCDR3 có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:16, 32, 48 và 64. Theo một số phương án, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng LCDR1-LCDR2-LCDR3, lần lượt được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:12 – 14 – 16; (ii) SEQ ID NO:28 – 30 – 32; (iii) SEQ ID NO:44 – 46 – 48; và (iv) SEQ ID NO:60 – 62 – 64.

Theo một số phương án, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR, lần lượt được chọn từ nhóm bao gồm: (i) SEQ ID NO:4 – 6 – 8 / SEQ ID NO:12 – 14 – 16; (ii) SEQ ID NO:20 – 22 – 24 / SEQ ID NO:28 – 30 – 32; (iii) SEQ ID NO:36 – 38 – 40 / SEQ ID NO:44 – 46 – 48; và (iv) SEQ ID NO:52 – 54 – 56 / SEQ ID NO:60 – 62 – 64.

Theo một số phương án, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:2, 18, 34 và 50. Theo một số phương án, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) có trình tự axit amin được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:10,

26, 42 và 58. Theo một số phương án, kháng thể kháng hIL-6R, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR được chọn từ nhóm bao gồm SEQ ID NO:2/10; 18/26; 34/42 và 50/58.

Kháng thể được sử dụng trong phần ví dụ thực hiện sáng chế được gọi là “mAb1.” Kháng thể này còn được đề cập trong US 7582298 là VQ8F11-21. mAb1 (VQ8F11-21) bao gồm cặp trình tự axit amin HCVR/LCVR có SEQ ID NO:18/26, và vùng HCDR1-HCDR2-HCDR3/LCDR1-LCDR2-LCDR3 là SEQ ID NO:20 – 22 – 24 / SEQ ID NO:28 – 30 – 32.

Lượng kháng thể, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, trong dược phẩm theo sáng chế có thể thay đổi phụ thuộc vào đặc tính cụ thể của dược phẩm, cũng như mục đích và hoàn cảnh cụ thể trong đó dược phẩm được sử dụng. Theo một số phương án, dược phẩm có thể chứa khoảng 1mg/ml đến khoảng 500mg/ml kháng thể; khoảng 5mg/ml đến khoảng 400mg/ml kháng thể; khoảng 5mg/ml đến khoảng 200mg/ml kháng thể; khoảng 25mg/ml đến khoảng 180mg/ml kháng thể; khoảng 25mg/ml đến khoảng 150mg/ml kháng thể; hoặc khoảng 50mg/ml đến khoảng 180mg/ml kháng thể. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm khoảng 1mg/ml; khoảng 2mg/ml; khoảng 5mg/ml; khoảng 10mg/ml; khoảng 15mg/ml; khoảng 20mg/ml; khoảng 25mg/ml; khoảng 30mg/ml; khoảng 35mg/ml; khoảng 40mg/ml; khoảng 45mg/ml; khoảng 50mg/ml; khoảng 55mg/ml; khoảng 60mg/ml; khoảng 65mg/ml; khoảng 70mg/ml; khoảng 75mg/ml; khoảng 80mg/ml; khoảng 85mg/ml; khoảng 86mg/ml; khoảng 87mg/ml; khoảng 88mg/ml; khoảng 89mg/ml; khoảng 90mg/ml; khoảng 95mg/ml; khoảng 100mg/ml; khoảng 105mg/ml; khoảng 110mg/ml; khoảng 115mg/ml; khoảng 120mg/ml; khoảng 125mg/ml; khoảng 130mg/ml; khoảng 131mg/ml; khoảng 132mg/ml; khoảng 133mg/ml; khoảng 134mg/ml; khoảng 135mg/ml; khoảng 140mg/ml; khoảng 145mg/ml; khoảng 150mg/ml; khoảng 155mg/ml; khoảng 160mg/ml; khoảng 165mg/ml; khoảng 170mg/ml; khoảng 175mg/ml; khoảng 180mg/ml; khoảng 185mg/ml; khoảng 190mg/ml; khoảng 195mg/ml; hoặc khoảng 200mg/ml kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, liên kết đặc hiệu với hIL-6R.

TÁ DƯỢC VÀ ĐỘ pH

Dược phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều tá dược. Thuật ngữ “tá dược,” như được sử dụng trong bản mô tả này, một hợp chất không có hoạt tính điều trị bất kỳ dược thêm vào dược phẩm để tạo ra các đặc tính mong muốn về độ đặc, độ nhớt hoặc độ ổn định.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế bao gồm ít nhất một axit amin. Axit amin thích hợp để sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế bao gồm, *inter alia*, arginin và/hoặc histidin.

Lượng axit amin trong dược phẩm theo sáng chế có thể thay đổi phụ thuộc vào đặc tính cụ thể của dược phẩm, cũng như mục đích và hoàn cảnh cụ thể trong đó dược phẩm được sử dụng. Theo một số phương án, dược phẩm có thể chứa khoảng 1mM đến khoảng 200mM axit amin; khoảng 2mM đến khoảng 100mM axit amin; khoảng 5mM đến khoảng 50mM axit amin; hoặc khoảng 10mM đến khoảng 25mM axit amin. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm khoảng 1mM; khoảng 1,5mM; khoảng 2mM; khoảng 2,5mM; khoảng 3mM; khoảng 3,5mM; khoảng 4mM; khoảng 4,5mM; khoảng 5mM; khoảng 5,5mM; khoảng 6mM; khoảng 6,5mM; khoảng 7mM; khoảng 7,5mM; khoảng 8mM; khoảng 8,5mM; khoảng 9mM; khoảng 9,5mM; khoảng 10mM; khoảng 10,5mM; khoảng 11mM; khoảng 11,5mM; khoảng 12mM; khoảng 12,5mM; khoảng 13mM; khoảng 13,5mM; khoảng 14mM; khoảng 14,5mM; khoảng 15mM; khoảng 15,5mM; 16mM; khoảng 16,5mM; khoảng 17mM; khoảng 17,5mM; khoảng 18mM; khoảng 18,5mM; khoảng 19mM; khoảng 19,5mM; khoảng 20mM; khoảng 20,5mM; khoảng 21mM; khoảng 21,5mM; khoảng 22mM; khoảng 22,5mM; khoảng 23mM; khoảng 23,5mM; khoảng 24mM; khoảng 24,5mM; khoảng 25mM; khoảng 25,5mM; khoảng 26mM; khoảng 26,5mM; khoảng 27mM; khoảng 27,5mM; khoảng 28mM; khoảng 28,5mM; khoảng 29mM; khoảng 29,5mM; khoảng 30mM; khoảng 35mM; khoảng 40mM; khoảng 45mM; hoặc khoảng 50mM axit amin (chẳng hạn, histidin và/hoặc arginin).

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều carbohydrat, chẳng hạn, một hoặc nhiều đường. Đường có thể là đường khử hoặc đường không khử. “Đường khử” bao gồm, chẳng hạn, đường có nhóm keton hoặc aldehyt và chứa nhóm hemiacetal hoạt động, điều này làm cho đường hoạt động như một chất khử. Ví dụ về đường khử bao gồm fructoza, glucoza, glyceraldehyt, lactoza, arabinoza,

mannoza, xyloza, riboza, rhamnoza, galactoza và maltoza. Đường không khử có thể chứa cacbon anome là axetal và không phản ứng với axit amin hoặc polypeptit để khởi động phản ứng Maillard. Ví dụ về đường không khử bao gồm sucroza, trehaloza, sorboza, sucraloza, melezitoza và raffinosa. Axit đường bao gồm, ví dụ, axit saccaric, gluconat và các loại đường polyhydroxy và muối của chúng.

Lượng đường trong dược phẩm theo sáng chế có thể thay đổi phụ thuộc vào đặc tính cụ thể của dược phẩm, cũng như mục đích và hoàn cảnh cụ thể trong đó dược phẩm được sử dụng. Theo một số phương án, dược phẩm có thể chứa khoảng 0,1% đến khoảng 20% đường; khoảng 0,5% đến khoảng 20% đường; khoảng 1% đến khoảng 20% đường; khoảng 2% đến khoảng 15% đường; khoảng 3% đến khoảng 10% đường; khoảng 4% đến khoảng 10% đường; hoặc khoảng 5% đến khoảng 10% đường. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm khoảng 0,5%; khoảng 1,0%; khoảng 1,5%; khoảng 2,0%; khoảng 2,5%; khoảng 3,0%; khoảng 3,5%; khoảng 4,0%; khoảng 4,5%; khoảng 5,0%; khoảng 5,5%; khoảng 6,0%; 6,5%; khoảng 7,0%; khoảng 7,5%; khoảng 8,0%; khoảng 8,5%; khoảng 9,0%; khoảng 9,5%; khoảng 10,0%; khoảng 10,5%; khoảng 11,0%; khoảng 11,5%; khoảng 12,0%; khoảng 12,5%; khoảng 13,0%; khoảng 13,5%; khoảng 14,0%; khoảng 14,5%; khoảng 15,0%; khoảng 15,5%; khoảng 16,0%; 16,5%; khoảng 17,0%; khoảng 17,5%; khoảng 18,0%; khoảng 18,5%; khoảng 19,0%; khoảng 19,5%; hoặc khoảng 20,0% đường (chẳng hạn, sucroza).

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể bao gồm một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chất hoạt động bề mặt” là chất giảm sức căng bề mặt của dịch lỏng trong đó chúng được hòa tan và/hoặc giảm sức căng bề mặt tiếp xúc giữa nước và dầu. Chất hoạt động bề mặt có thể có hoạt tính ion hoặc không ion. Chất hoạt động bề mặt không ion có thể được đưa vào dược phẩm theo sáng chế bao gồm, chẳng hạn, alkyl poly(etylen oxit), alkyl polyglucosit (chẳng hạn, octyl glucosit và dexyl maltosit), rượu béo như xetyl ancol và oleyl ancol, cocamit MEA, cocamit DEA, và cocamit TEA. Chất hoạt động bề mặt không ion có thể được đưa vào dược phẩm theo sáng chế bao gồm, chẳng hạn, polysorbate như polysorbate 20, polysorbate 28, polysorbate 40, polysorbate 60, polysorbate 65, polysorbate 80, polysorbate 81, và polysorbate 85; poloxame như poloxame 188, poloxamer 407; polyetylen-polypropylen glycol; hoặc polyetylen glycol (PEG).

Polysorbate 20 còn được gọi là TWEEN 20, sorbitan monolaurat và polyoxyetylsorbitan monolaurat.

Lượng chất hoạt động bề mặt trong dược phẩm theo sáng chế có thể thay đổi phụ thuộc vào đặc tính cụ thể của dược phẩm, cũng như mục đích và hoàn cảnh cụ thể trong đó dược phẩm được sử dụng. Theo một số phương án, dược phẩm có thể chứa khoảng 0,05% đến khoảng 5% chất hoạt động bề mặt; hoặc khoảng 0,1% đến khoảng 0,2% chất hoạt động bề mặt. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể bao gồm khoảng 0,05%; khoảng 0,06%; khoảng 0,07%; khoảng 0,08%; khoảng 0,09%; khoảng 0,10%; khoảng 0,11%; khoảng 0,12%; khoảng 0,13%; khoảng 0,14%; khoảng 0,15%; khoảng 0,16%; khoảng 0,17%; khoảng 0,18%; khoảng 0,19%; khoảng 0,20%; khoảng 0,21%; khoảng 0,22%; khoảng 0,23%; khoảng 0,24%; khoảng 0,25%; khoảng 0,26%; khoảng 0,27%; khoảng 0,28%; khoảng 0,29%; hoặc khoảng 0,30% chất hoạt động bề mặt (chẳng hạn, polysorbate 20).

Dược phẩm theo sáng chế có thể có độ pH từ khoảng 5,0 đến khoảng 8,0. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể có độ pH khoảng 5,0; khoảng 5,2; khoảng 5,4; khoảng 5,6; khoảng 5,8; khoảng 6,0; khoảng 6,2; khoảng 6,4; khoảng 6,6; khoảng 6,8; khoảng 7,0; khoảng 7,2; khoảng 7,4; khoảng 7,6; khoảng 7,8; hoặc khoảng 8,0.

DƯỢC PHẨM THỬ NGHIỆM

Theo một khía cạnh theo sáng chế, dược phẩm bao gồm: (i) kháng thể người liên kết đặc hiệu với hIL-6R (chẳng hạn, mAb1); (ii) axit amin (chẳng hạn, histidin); và (iii) đường (chẳng hạn, sucroza). Cụ thể, các phương án thử nghiệm không hạn chế được đề cập theo khía cạnh này theo sáng chế được nêu trong bảng 1.

Bảng 1: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin và Sucroza

Ab1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sucroza (%)	1	1	1	1	2	2	2	2	4	4	4	4	6	6	6	6

Theo một khía cạnh khác theo sáng chế, dược phẩm bao gồm: (i) kháng thể người liên kết đặc hiệu với hIL-6R (chẳng hạn, mAb1); (ii) axit amin (chẳng hạn, histidin); (iii) đường (chẳng hạn, sucroza); và (iv) chất hoạt động bề mặt (chẳng hạn, polysorbate 20). Cụ thể, các phương án thử nghiệm không hạn chế được đề cập theo khía cạnh này theo sáng chế được nêu trong bảng 2A và 2B.

Bảng 2A: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza và Polysorbate 20

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Bảng 2B: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza và Polysorbate 20

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Theo một khía cạnh khác theo sáng chế, dược phẩm bao gồm: (i) kháng thể người liên kết đặc hiệu với hIL-6R (chẳng hạn, mAb1); (ii) axit amin thứ nhất (chẳng hạn, histidin); (iii) đường (chẳng hạn, sucroza); (iv) chất hoạt động bề mặt (chẳng hạn,

polysorbate 20); và (v) axit amin thứ hai (chẳng hạn, arginin). Cụ thể, các phương án thử nghiệm không hạn chế được đề cập theo khía cạnh này theo sáng chế được nêu trong bảng 3A, 3B, 3C, 3D, 3E và 3F.

Bảng 3A: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza, Polysorbate 20 và Arginin

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginin (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Bảng 3B: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza, Polysorbate 20 và Arginin

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginin (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

Bảng 3C: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza, Polysorbate 20 và Arginin

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginin (mM)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Bảng 3D: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza, Polysorbate 20 và Arginin

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginin (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

Bảng 3E: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza, Polysorbate 20 và Arginin

mAb1 (mg/ml)	25	50	100	150	25	50	100	150	25	50	100	150
histidin (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginin (mM)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

Bảng 3F: Dược phẩm thử nghiệm bao gồm mAb1, Histidin, Sucroza, Polysorbate 20 và Arginin

mAb1 (mg/ml)	160	170	175	180	160	170	175	180	160	170	175	180
histidin (mM)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
sucroza (%)	2	2	2	2	5	5	5	5	10	10	10	10
polysorbate 20 (%)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
arginin (mM)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50

Các ví dụ không hạn chế về dược phẩm được đề cập theo sáng chế được đề cập trong toàn bộ bản mô tả, bao gồm cả phần ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

ĐỘ ỔN ĐỊNH VÀ ĐỘ NHÓT CỦA DƯỢC PHẨM

Dược phẩm theo sáng chế thường có độ ổn định cao. Thuật ngữ “ổn định,” như được sử dụng trong bản mô tả này liên quan đến dược phẩm, nghĩa là kháng thể trong dược phẩm dẫn giữ được mức độ cấu trúc và/hoặc chức năng và/hoặc hoạt tính sinh

học chấp nhận được sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian nhất định. Dược phẩm có thể ổn định ngay cả khi kháng thể trong dược phẩm không duy trì được 100% cấu trúc và/hoặc chức năng và/hoặc hoạt tính sinh học sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian nhất định. Trong một số điều kiện, mức độ duy trì khoảng 80%, khoảng 85%, khoảng 90%, khoảng 95%, khoảng 96%, khoảng 97%, khoảng 98% hoặc khoảng 99% cấu trúc và/hoặc chức năng và/hoặc hoạt tính sinh học của kháng thể sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian nhất định có thể được coi là “ổn định.”

Độ ổn định có thể được xác định bằng cách đánh giá tỷ lệ phần trăm kháng thể ban đầu còn lại trong dược phẩm sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian nhất định ở một nhiệt độ nhất định. Tỷ lệ phần trăm kháng thể ban đầu có thể được xác định bằng phương pháp sắc ký loại trừ kích thước (chẳng hạn, sắc ký lỏng hiệu năng cao loại trừ kích thước [SE-HPLC]). “Độ ổn định chấp nhận được,” như được sử dụng trong bản mô tả, nghĩa là ít nhất 90% dạng ban đầu của kháng thể có thể phát hiện được trong dược phẩm sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian nhất định ở một nhiệt độ nhất định. Theo một số phương án, ít nhất khoảng 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% hoặc 100% dạng ban đầu của kháng thể có thể phát hiện được trong dược phẩm sau khi bảo quản trong một khoảng thời gian nhất định ở một nhiệt độ nhất định. Khoảng thời gian xác định sau đó độ ổn định được đo có thể ít nhất là 1 tháng, ít nhất 2 tháng, ít nhất 3 tháng, ít nhất 4 tháng, ít nhất 5 tháng, ít nhất 6 tháng, ít nhất 7 tháng, ít nhất 8 tháng, ít nhất 9 tháng, ít nhất 10 tháng, ít nhất 11 tháng, ít nhất 12 tháng, ít nhất 18 tháng, ít nhất 24 tháng, hoặc nhiều hơn. Nhiệt độ tại đó dược phẩm có thể được bảo quản khi đánh giá độ ổn định có thể là một nhiệt độ bất kỳ từ khoảng -80°C đến khoảng 45°C, chẳng hạn, bảo quản ở khoảng -30°C, khoảng -20°C, khoảng 0°C, khoảng 5°C, khoảng 25°C, hoặc khoảng 45°C. Ví dụ, dược phẩm có thể được coi là ổn định nếu sau 3 tháng bảo quản ở 5°C, khoảng hơn 90%, 95%, 96% hoặc 97% kháng thể ban đầu được phát hiện bằng SE-HPLC. Dược phẩm cũng có thể được coi là ổn định nếu sau 6 tháng bảo quản ở 5°C, khoảng hơn 90%, 95%, 96% hoặc 97% kháng thể ban đầu được phát hiện bằng SE-HPLC. Dược phẩm cũng có thể được coi là ổn định nếu sau 9 tháng bảo quản ở 5°C, khoảng 90%, 95%, 96% hoặc 97% kháng thể ban đầu được phát hiện bằng SE-HPLC. Dược phẩm cũng có thể

được coi là ổn định nếu sau 3 tháng bảo quản ở 25°C, khoảng 90%, 95%, 96% hoặc 97% kháng thể ban đầu được phát hiện bằng SE-HPLC. Dược phẩm cũng có thể được coi là ổn định nếu sau 6 tháng bảo quản ở 25°C, khoảng 90%, 95%, 96% hoặc 97% kháng thể ban đầu được phát hiện bằng SE-HPLC. Dược phẩm cũng có thể được coi là ổn định nếu sau 9 tháng bảo quản ở 25°C, khoảng 90%, 95%, 96% hoặc 97% kháng thể ban đầu được phát hiện bằng SE-HPLC.

Các phương pháp khác có thể được sử dụng để đánh giá độ ổn định của dược phẩm theo sáng chế như, chẳng hạn, quét nhiệt vi sai (DSC) để đánh giá độ ổn định với nhiệt, kết tụ có kiểm soát để đánh giá độ ổn định cơ học, và độ hấp thụ ở bước sóng ở khoảng 350 nm hoặc khoảng 405 nm để xác định độ đục của dung dịch. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể được coi là ổn định nếu sau 6 tháng hoặc nhiều hơn bảo quản ở khoảng 5°C đến khoảng 25°C, sự thay đổi OD405 của dược phẩm ít hơn khoảng 0,05 (chẳng hạn, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01, hoặc ít hơn) so với OD405 của dược phẩm tại thời điểm $t=0$.

Độ ổn định may cũng có thể được đánh giá bằng cách đo hoạt tính sinh học và/hoặc ái lực liên kết của kháng thể với đích. Ví dụ, dược phẩm theo sáng chế có thể được coi là ổn định nếu sau khi bảo quản ở chẳng hạn, 5°C, 25°C, 45°C, v.v.. trong một khoảng thời gian nhất định (chẳng hạn, 1 đến 12 tháng), kháng thể kháng IL-6R trong dược phẩm liên kết với IL-6R với ái lực ít nhất là 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, hoặc nhiều hơn ái lực liên kết của kháng thể trước khi bảo quản. Các phương pháp khác để đánh giá độ ổn định của kháng thể trong dược phẩm được đề cập trong phần ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Ở dạng lỏng, dược phẩm theo sáng chế may, theo một số phương án, có độ nhớt thấp đến trung bình. “Độ nhớt” như được sử dụng trong bản mô tả này có thể là “độ nhớt động học” hoặc “độ nhớt tuyệt đối.” “Độ nhớt động học” là thông số dòng chảy ngược của dịch lỏng dưới tác dụng của trọng lượng. Khi hai dịch lỏng có cùng thể tích được đặt trong các máy đo độ nhớt mao dẫn giống nhau và cho chảy dưới tác dụng của trọng lực, dịch lỏng nhớt sẽ mất nhiều thời gian để chảy qua ống mao dẫn hơn so với dịch lỏng có độ nhớt thấp hơn. Ví dụ, nếu một dịch lỏng mất 200 giây để chảy qua ống mao dẫn và một dịch lỏng khác mất 400 giây, thì dịch lỏng thứ hai có độ nhớt gấp hai lần so với dịch lỏng thứ nhất trên thang độ nhớt động học. “Độ nhớt tuyệt

đối”, đôi khi được gọi là độ nhớt động hoặc đơn giản là độ nhớt, là kết quả của độ nhớt động học và mật độ của dịch lỏng (Độ nhớt tuyệt đối = Độ nhớt động học x Mật độ). Thứ nguyên của độ nhớt động học là L^2/T trong đó L là chiều dài và T là thời gian. Thông thường, độ nhớt động học có đơn vị là xentistoke (cSt). Đơn vị SI của độ nhớt động học là M^2/s , là một cSt. Độ nhớt tuyệt đối có đơn vị là xentipoise (cP). Đơn vị SI của độ nhớt tuyệt đối là milliPascal-second (mPa-s), trong đó $1\text{ cP} = 1\text{ mPa-s}$.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, độ nhớt thấp liên quan đến được phẩm lỏng theo sáng chế, là độ nhớt tuyệt đối ít hơn khoảng 20 cPoise (cP). Ví dụ, được phẩm lỏng theo sáng chế sẽ được coi là có “độ nhớt thấp,” nếu khi được xác định sử dụng kỹ thuật đo độ nhớt chuẩn, được phẩm có độ nhớt tuyệt đối khoảng 19 cP, khoảng 18cP, khoảng 17cP, khoảng 16cP, khoảng 15cP, khoảng 14cP, khoảng 13cP, khoảng 12cP, khoảng 11cP, khoảng 10cP, khoảng 9cP, khoảng 8cP, khoảng 7cP, khoảng 6cP, khoảng 5cP, khoảng 4cP, hoặc ít hơn. Như được sử dụng trong bản mô tả này, độ nhớt trung bình liên quan đến được phẩm lỏng theo sáng chế, là độ nhớt tuyệt đối khoảng 30cP và khoảng 20cP. Ví dụ, được phẩm lỏng theo sáng chế sẽ được coi là có “độ nhớt trung bình,” nếu khi được xác định sử dụng kỹ thuật đo độ nhớt chuẩn, được phẩm có độ nhớt tuyệt đối khoảng 30cP, khoảng 29cP, khoảng 28cP, khoảng 27cP, khoảng 26cP, khoảng 25cP, khoảng 24cP, khoảng 23cP, khoảng 22cP, khoảng 21cP hoặc khoảng 20cP.

Như được minh họa trong ví dụ 6 dưới đây, tác giả sáng chế đã đưa ra phát hiện đáng ngạc nhiên rằng có thể tạo ra được phẩm lỏng có độ nhớt thấp đến độ nhớt trung bình chứa nồng độ kháng thể kháng hIL-6R cao (chẳng hạn, lên tới ít nhất 175mg/ml) bằng cách bào chế kháng thể với 25mM đến 100mM histidin và 25mM đến 50mM arginin. Ngoài ra, tác giả sáng chế còn phát hiện được rằng được phẩm còn có thể được giảm đến nồng độ lớn hơn nữa bằng cách điều chỉnh hàm lượng sucroza ít hơn 10%.

VẬT CHỨA DƯỢC PHẨM VÀ PHƯƠNG PHÁP SỬ DỤNG

Dược phẩm theo sáng chế có thể được chứa trong một vật chứa thích hợp để bảo quản dược phẩm. Ví dụ, dược phẩm có thể được chứa trong vật chứa bằng nhựa hoặc thủy tinh vô trùng và hàn kín có thể thích xác định như lọ, ống thuốc, bơm tiêm, cartridge, hoặc chai. Các loại lọ khác nhau có thể được sử dụng để chứa dược phẩm

theo sáng chế bao gồm, chẳng hạn, lọ nhựa hoặc lọ thủy tinh trong và cản quang (chẳng hạn, màu hổ phách). Tương tự, một loại ống tiêm bất kỳ cũng có thể được sử dụng để chứa và/hoặc sử dụng dược phẩm theo sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được chứa trong bơm tiêm “tungsten bình thường” hoặc bơm tiêm “tungsten thấp”. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng, quy trình sản xuất bơm tiêm thủy tinh bao gồm việc sử dụng que tungsten nóng để chọc thủy tinh nhờ đó tạo ra một lỗ từ đó dịch lỏng có thể được rút và đẩy ra từ bơm tiêm. Quy trình này tạo ra sự tích tụ một lượng rất nhỏ tungsten trên bề mặt trọng của ống tiêm. Quy trình rửa và các bước xử lý tiếp theo có thể được sử dụng để giảm lượng tungsten trong ống tiêm. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “tungsten bình thường” nghĩa là ống tiêm chứa nhiều hơn 500 phần tỷ (ppb) tungsten. Thuật ngữ “tungsten thấp” nghĩa là ống tiêm chứa ít hơn 500ppb tungsten. Ví dụ, ống tiêm tungsten thấp, theo sáng chế, có thể chứa ít hơn khoảng 490, 480, 470, 460, 450, 440, 430, 420, 410, 390, 350, 300, 250, 200, 150, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10 ppb hoặc ít hơn lượng tungsten.

Bơm tiêm cao su được sử dụng trong ống tiêm, và nút cao su được sử dụng để đóng lọ thuốc, có thể được phủ để tránh nhiễm tạp dược phẩm và/hoặc để bảo toàn độ ổn định của dược phẩm. Do đó, dược phẩm theo sáng chế, theo một số phương án, có thể được chứa trong ống tiêm bao gồm bơm tiêm được phủ, hoặc trong lọ được hàn kín bằng nút cao su được bao phủ. Ví dụ, bơm tiêm hoặc nút có thể được phủ màng flocacbon. Ví dụ về bơm tiêm và/hoặc nút được phủ thích hợp để sử dụng với lọ và ống tiêm chứa dược phẩm theo sáng chế được đề cập trong tài liệu, chẳng hạn, Patent Mỹ số 4,997,423; 5,908,686; 6,286,699; 6,645,635; và 7,226,554. Ví dụ cụ thể về nút cao su hoặc bơm tiêm cao su được phủ theo sáng chế có bán trên thị trường dưới nhãn hiệu “FluroTec®,” của West Pharmaceutical Services, Inc. (Lionville, PA).

Theo một số phương án theo sáng chế, dược phẩm có thể được chứa trong may ống tiêm tungsten thấp bao gồm bơm tiêm được phủ flocacbon. Như được thảo luận trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây, sự kết hợp ống tiêm tungsten thấp và bơm tiêm được phủ flocacbon được phát hiện là tạo ra độ ổn định đáng ngạc nhiên cho dược phẩm theo sáng chế.

Dược phẩm có thể được sử dụng cho bệnh nhân bằng đường ngoài tiêu hóa như tiêm (chẳng hạn, tiêm dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong phúc mạc ổ bụng, v.v..) hoặc qua da, qua niêm mạc, qua mũi, qua phổi và/hoặc qua đường miệng. Rất nhiều thiết bị phân phối thuốc tiêm tự động và/hoặc bút tiêm có thể được sử dụng để phân phối qua da được phẩm theo sáng chế. Ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™, HUMALOG™, HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly và Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II và III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ pen (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, và OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany). Ví dụ về bút tiêm và/hoặc thiết bị phân phối thuốc tiêm tự động dùng một lần để phân phối dược phẩm theo sáng chế qua da bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở the SOLOSTAR™ pen (sanofi-aventis), the FLEXPEN™ (Novo Nordisk), và the KWIKPEN™ (Eli Lilly), the SURECLICK™ Autoinjector (Amgen, Thousand Oaks, CA), the PENLETT™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), the EPIPEN (Dey, L.P.), và the HUMIRAT™ Pen (Abbott Labs, Abbott Park, IL).

Việc sử dụng máy truyền dịch tự động để phân phối dược phẩm theo sáng chế cũng được đề cập ở đây. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “máy truyền dịch tự động” nghĩa là thiết bị phân phối dưới da được thiết kế để sử dụng chậm một thể tích lớn (chẳng hạn, lên đến khoảng 2,5ml hoặc nhiều hơn) dược phẩm trong một khoảng thời gian kéo dài (chẳng hạn, khoảng 10, 15, 20, 25, 30 phút hoặc nhiều hơn). Tham khảo, chẳng hạn, U.S. 6,629,949; US 6,659,982; và Meehan et al., J. Controlled Release 46:107-116 (1996). Máy truyền dịch tự động là đặc biệt hữu dụng để phân phối liều lớn protein ở nồng độ cao (chẳng hạn, khoảng 100, 125, 150, 175, 200 mg/ml hoặc nhiều hơn) và/hoặc dung dịch nhớt.

ĐIỀU TRỊ

Dược phẩm theo sáng chế là hữu dụng để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc giảm nhẹ bệnh hoặc rối loạn đi kèm với hoạt tính IL-6, bao gồm bệnh hoặc rối loạn do quá trình hoạt hóa thụ thể IL-6 gây ra. Ví dụ về bệnh và rối loạn có thể được điều trị và/hoặc

ngăn ngừa bằng cách sử dụng dược phẩm theo sáng chế bao gồm, chẳng hạn, viêm khớp dạng thấp, viêm cứng khớp đốt sống, bệnh Crohn, viêm ruột loét, viêm tụy, viêm khớp tự phát thể thiếu niên, viêm mạch, bệnh Kawasaki, luput ban đỏ toàn thân, vảy nến, viêm khớp vảy nến, hội chứng Sjogrenm bệnh Still, bệnh Castleman, xơ cứng rải rác, bệnh đi kèm với quá trình đông máu bất thường hoặc quá trình phân hủy fibrin (chẳng hạn, huyết khối), ung thư (chẳng hạn, ung thư vú, bệnh bạch cầu, ung thư buồng trứng, u hắc tố, ung thư tụy, ung thư tuyến tiền liệt, u lympho, ung thư phổi, cacxinom tế bào thận, ung thư đại trực tràng, đa u tủy, v.v.), chứng suy mòn, thải ghép tạng hoặc tế bào miễn tính, bệnh tim mạch, nhiễm virus (chẳng hạn, HIV, EBV, v.v.), bệnh tương bào-huyết, tăng globulin miễn dịch trong máu, thiếu máu, viêm thận, u trung biểu mô, và mất thính lực và các rối loạn tai giữa khác.

Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị, ngăn ngừa, và/hoặc giảm nhẹ một bệnh hoặc rối loạn bất kỳ đi kèm với hoạt tính IL-6 hoặc quá trình hoạt hóa IL-6R (bao gồm bệnh bất kỳ trong số các bệnh, rối loạn và tình trạng kể trên). Phương pháp điều trị theo sáng chế bao gồm việc sử dụng dược phẩm bao gồm an kháng thể kháng hIL-6R theo sáng chế. Đối tượng được sử dụng dược phẩm có thể là, chẳng hạn, người hoặc động vật không phải người cần điều trị, ngăn ngừa và/hoặc giảm nhẹ bệnh, hoặc đối tượng sẽ có lợi về mặt sức khỏe khi ức chế hoặc giảm hoạt tính IL-6 và/hoặc IL-6R. Ví dụ, đối tượng có thể được chẩn đoán bị bệnh, hoặc được coi là có nguy cơ bị bệnh. Sáng chế còn đề xuất việc sử dụng dược phẩm theo sáng chế để sản xuất thuốc điều trị, ngăn ngừa và/hoặc giảm nhẹ bệnh hoặc rối loạn đi kèm với hoạt tính IL-6 hoặc quá trình hoạt hóa IL-6R (bao gồm bệnh, rối loạn và tình trạng bất kỳ nêu trên).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được nêu để cung cấp cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sự mô tả đầy đủ về việc làm thế nào để tạo ra và phương pháp và dược phẩm theo sáng chế, và sẽ không giới hạn phạm vi của. Tác giả sáng chế đã cố gắng để đảm bảo sự chính xác của các con số (chẳng hạn, lượng, nhiệt độ, v.v..) nhưng một số sai số thử nghiệm và độ lệch cũng cần được tính đến. Trừ khi có quy định khác, phần có nghĩa là phần theo trọng lượng, trọng lượng phân tử là trọng lượng

phân tử trung bình, nhiệt độ là độ C, và áp suất là áp suất khí quyển hoặc gần áp suất khí quyển.

Ví dụ 1. Độ ổn định của Kháng thể kháng thụ thể interleukin-6 của người nguyên vẹn (IL-6R) (“mAb1”) sau khi bảo quản ở nhiệt độ thấp

Trong Ví dụ này, nhiều loại dược phẩm khác nhau được tạo ra chứa kháng thể kháng IL-6R của người mà không có tá dược. Kháng thể thử nghiệm được sử dụng trong ví dụ này và các ví dụ tiếp theo dưới đây là kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng (HCVR) có trình tự axit amin SEQ ID NO:18, và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (LCVR) có trình tự axit amin SEQ ID NO:26. Kháng thể này được gọi là “mAb1”.

Như một thử nghiệm sơ bộ, độ ổn định của mAb1 trong dung dịch được xác định theo nhiều khoảng thời gian khác nhau khi bảo quản ở các nhiệt độ -20°C, -30°C và -80°C. Nồng độ của mAb1 được sử dụng trong Ví dụ này là 128mg/ml. Tại các thời điểm khác nhau, độ ổn định của mAb1 được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao loại trừ kích thước (SE-HPLC) và sắc ký lỏng hiệu năng cao trao đổi ion (CEX-HPLC). Độ ổn định được xác định dựa trên tỷ lệ phần trăm mAb1 ban đầu còn lại trong mẫu (bằng SE-HPLC; Bảng 4) và tỷ lệ phần trăm gốc axit có trong mẫu (bằng CEX-HPLC; Bảng 5) (Sự gia tăng tỷ lệ phần trăm gốc axit là phù hợp với quá trình khử amit hóa kháng thể và do đó được coi là một hiện tượng không mong muốn đối với dược phẩm theo sáng chế).

Bảng 4: % MAb1 ban đầu còn lại (SE-HPLC)

Thời gian (tháng)	Nhiệt độ bảo quản		
	-80°C	-30°C	-20°C
0	95,9	95,9	95,9
1	95,7	94,3	93,2
3	95,6	93,6	89,3
6	96,1	96,0	88,9
9	95,6	91,6	87,9

Bảng 5: % Gốc axit (CEX-HPLC)

Thời gian (tháng)	Nhiệt độ bảo quản		
	-80°C	-30°C	-20°C
0	28,6	28,6	28,6
1	27,3	28,0	28,1
3	27,3	27,7	28,3
6	28,6	29,6	29,3
9	29,0	28,8	29,0

Kết quả ở bảng 3 và 4 được minh họa trên Fig. 1 và 2. Kết quả chỉ ra rằng mAb1 có thể tồn tại ổn định ở nồng độ 128mg/ml trong ít nhất 9 tháng khi được bảo quản ở -80°C.

Ví dụ 2. Độ ổn định của dược phẩm mAb1 Chứa tá dược tối thiểu

Tám dược phẩm khác nhau chứa mAb1 và tá dược tối thiểu như được thể hiện trong bảng 6 được bào chế.

Bảng 6: Dược phẩm mAb1 chứa tá dược tối thiểu

Dược phẩm	Tá dược	mAb1 (mg/ml)
1	0,13% polysorbate 20 6% sucroza	80
2	0,13% polysorbate 20	80
3	1% sucroza	80
4	2% sucroza	80
5	4% sucroza	80
6	6% sucroza	80
7	không	80
8	không	65
Tất cả các dược phẩm đều chứa 10mM histidin, pH 6,0		

Dược phẩm được kiểm tra độ ổn định by SE-HPLC sau các khoảng thời gian khác nhau ở -30°C và -20°C . Kết quả, được thể hiện ở dạng tỷ lệ phần trăm mAb1 ban đầu còn lại, được thể hiện trong bảng 7 (-30°C) và 8 (-20°C).

Bảng 7: % MAb1 ban đầu còn lại (SE-HPLC) Sau khi bảo quản ở -30°C								
Thời gian (tháng)	Dược phẩm # (xem bảng 6)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	96,4	96,2	96,4	96,5	96,5	96,6	96,2	96,5
1	96,4	95,1	96,3	96,3	96,4	96,6	95,1	95,3
2	96,4	94,7	96,0	96,4	96,5	96,0	95,0	95,4
3	96,5	94,7	96,3	96,7	96,7	96,7	94,4	94,9
4	97,2	95,2	96,7	97,4	97,3	97,3	95,1	95,7
6	97,0	94,2	96,2	96,8	97,1	96,9	94,0	94,5
9	96,7	93,6	96,0	96,6	96,5	96,9	93,4	93,8

Bảng 8: % MAb1 ban đầu còn lại (SE-HPLC) sau khi bảo quản ở -20°C								
Thời gian (tháng)	Dược phẩm # (xem Bảng 6)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	96,4	96,2	96,4	96,5	96,5	96,6	96,2	96,5
1	96,7	94,5	96,0	96,8	96,5	96,3	94,1	94,5
2	96,4	90,9	95,3	96,4	96,4	96,4	90,9	91,8
3	96,9	90,1	95,1	96,6	96,6	96,7	90,5	90,9
4	97,2	90,7	95,8	97,4	97,1	97,1	91,4	91,8
6	96,9	86,9	94,1	96,9	96,9	97,1	87,5	88,5
9	96,5	86,0	93,3	96,6	96,6	96,7	86,7	87,5

Kết quả ở bảng 7 và 8 được minh họa trên Fig. 3 và 4. Theo ví dụ này, độ ổn định của mAb1 được duy trì ở một mức độ đáng kể trong dược phẩm 1, 4, 5 và 6 sau vài tháng bảo quản ở -20°C và -30°C . Kết quả chỉ ra rằng độ ổn định của mAb1 ở -20°C và -30°C có thể được gia tăng bằng cách thêm ít nhất 2% sucroza.

Ví dụ 3. Dược phẩm mAb1 ổn định

Dược phẩm ổn định chứa nồng độ mAb1 khác nhau được bào chế để sử dụng trong ví dụ 4 và 5. Dược phẩm này được gọi là “dược phẩm A”, được thể hiện trong bảng 9.

Bảng 9: Dược phẩm mAb1 ổn định “A”	
Thành phần	Dược phẩm A
mAb1	25 – 100mg/ml
Histidin	10mM
Polysorbate 20	0,2%
Sucroza	10%

pH được điều chỉnh đến 6,0

Ví dụ 4. Độ ổn định của dược phẩm A sau khi bảo quản ở 5°C

Dược phẩm A (ví dụ 3) chứa 25, 50 hoặc 100mg/ml mAb1 được kiểm định độ ổn định sau vài tháng bảo quản ở 5°C trong lọ trong. Độ ổn định được đánh giá bằng các thông số sau: (a) biểu hiện nhìn thấy; (b) độ đục (OD 405nm); (c) pH; (d) tỷ lệ phần trăm mAb1 tổng số được khôi phục (được xác định bằng RP-HPLC); (e) tỷ lệ phần trăm mAb1 ban đầu được khôi phục (được xác định bằng SE-HPLC); (f) tỷ lệ phần trăm mAb1 đỉnh chính được khôi phục (được xác định bằng CEX-HPLC); và (g) tỷ lệ phần trăm mAb1 axit được khôi phục (được xác định bằng CEX-HPLC). Độ ổn định đối với dược phẩm A chứa 25, 50 và 100mg/ml mAb1 được tóm tắt trong bảng 10, 11 và 12.

Bảng 10: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 25mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ trong							
Thông số	Thời gian bảo quản ở 5°C (tháng)						
	0	1	2	3	6	9	12
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	99	101	112	103	94	101
% MAb1 ban đầu được khôi phục	97,5	98,0	97,5	97,6	97,5	97,5	97,8
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	58,4	57,9	58,7	58,1	57,9	57,9	58,4

% mAb1 axit được khôi phục	26,5	28,0	26,5	28,0	27,3	28,0	27,9
----------------------------	------	------	------	------	------	------	------

Bảng 11A: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 50mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ trong (0 – 9 tháng)						
Thông số	Thời gian bảo quản ở 5°C (tháng)					
	0	1	2	3	6	9
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,8	5,9	5,8	5,9	5,9	6,0
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	99	104	106	100	109
% MAb1 ban đầu được khôi phục	97,4	97,5	97,3	97,2	97,3	97,2
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,1	56,7	58,0	54,2	53,3	57,9
% mAb1 axit được khôi phục	27,6	26,7	27,6	28,5	26,8	26,9

Bảng 11B: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 50mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ trong (12 – 24 tháng)			
Thông số	Thời gian bảo quản ở 5°C (tháng)		
	12	18	24
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,00	0,00	0,00
pH	5,9	6,0	5,9
% MAb1 tổng số được khôi phục	103	107	105
% MAb1 ban đầu được khôi phục	97,1	97,1	96,9
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	56,4	57,1	56,4
% mAb1 axit được khôi phục	28,1	28,3	29,0

Bảng 12A: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ trong (0 – 9 tháng)						
Thông số	Thời gian bảo quản ở 5°C (tháng)					
	0	1	2	3	6	9
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
pH	5,9	6,0	5,9	5,9	5,9	5,9
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	99	100	107	101	106
% MAb1 ban đầu được khôi phục	97,3	97,0	97,0	97,1	96,9	96,9
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	55,1	55,5	57,9	55,9	55,4	56,8
% mAb1 axit được khôi phục	27,6	26,9	27,4	29,6	27,4	27,4

Bảng 12B: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ trong (12 – 24 tháng)			
Thông số	Thời gian bảo quản ở 5°C (tháng)		
	12	18	24
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,00	0,00	0,00
pH	6,0	6,0	6,0
% MAb1 tổng số được khôi phục	101	102	103
% MAb1 ban đầu được khôi phục	96,8	96,7	96,5
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,3	57,5	56,7
% mAb1 axit được khôi phục	27,3	28,1	28,7

Kết quả của ví dụ này chỉ ra rằng dược phẩm A chứa 25, 50 hoặc 100mg/ml mAb1 vẫn ổn định sau ít nhất 9 tháng bảo quản ở 5°C trong lọ trong, với khoảng 97% hoặc nhiều hơn mAb1 ban đầu còn lại trong tất cả các mẫu sau 9 tháng bảo quản ở các điều kiện như vậy. Đối với dược phẩm 50 và 100mg/ml, 96,9% và 96,5% mAb1 ban đầu được phát hiện sau 24 tháng bảo quản ở 5°C. Ngoài ra, tỷ lệ phần trăm gốc axit

duy trì ở mức 29% hoặc thấy hơn đối với tất cả các thời điểm phân tích do đó khẳng định độ ổn định của dược phẩm.

Nghiên cứu độ ổn định tương tự cũng được tiến hành sử dụng dược phẩm A chứa 75mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 2 đến 8°C. Không có sự thoái hóa đáng kể đối với bất kỳ một nồng độ nào được kiểm định sau 24 tháng bảo quản ở 2 đến 8°C được xác định bằng SE-HPLC và CEX-HPLC (không nêu số liệu).

Bảng 13: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 25mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ trong 5ml

Thông số	Bảo quản ở 5°C (tháng)						
	0	1	2	3	6	9	12
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,1
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	106	103	98	100	100	101
% MAb1 ban đầu được khôi phục	97,1	97,0	96,9	96,9	97,0	96,4	96,6
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,8	56,8	56,2	54,2	56,4	56,4	56,8
% mAb1 axit được khôi phục	27,9	30,7	30,8	33,0	30,6	29,8	30,1

Ví dụ 5. Độ ổn định của dược phẩm được sản xuất trong lọ lộn trong và lọ thủy tinh màu hổ phách

Các thử nghiệm bổ sung được tiến hành để so sánh độ ổn định của dược phẩm A (ví dụ 3) chứa 25 và 100mg/ml mAb1 được sản xuất trong lọ thủy tinh màu hổ phách với dược phẩm tương tự được sản xuất trong lọ trong. Hai loại lọ màu hổ phách được sử dụng trong ví dụ: lọ hổ phách 5ml và 20ml. Độ ổn định được xác định sau khi bảo quản ở 5°C, 25°C hoặc 45°C dựa trên các thông số tương tự được sử dụng trong ví dụ 4. Kết quả của dược phẩm 25mg/ml và 100mg/ml được nêu trong bảng 13 đến 21.

Bảng 14: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ trong 5ml

Thông số	Bảo quản ở 5°C (tháng)						
	0	1	2	3	6	9	12
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,1	6,0	6,1	6,0	6,1	6,1
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	106	104	97	100	99	100
% MAb1 ban đầu được khôi phục	96,2	96,3	96,1	96,0	95,9	95,5	95,4
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,6	57,3	57,9	55,5	56,2	56,4	55,4
% mAb1 axit được khôi phục	28,2	30,2	29,4	31,1	30,7	30,0	32,2

Bảng 15: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 25mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ màu hổ phách 5ml

Thông số	Bảo quản ở 5°C (tháng)						
	0	1	2	3	6	9	12
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	104	104	98	99	97	101

% MAb1 ban đầu được khôi phục	97,1	97,4	96,8	96,7	96,7	96,1	96,3
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,8	56,4	56,3	56,1	55,7	55,9	55,2
% mAb1 axit được khôi phục	27,9	30,4	30,6	31,8	31,0	30,5	32,9

Bảng 16: Độ ổn định của dược phẩm A Chứa 100mg/ml mAb1 Sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ màu hổ phách 5ml

Thông số	Bảo quản ở 5°C (tháng)						
	0	1	2	3	6	9	12
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,1
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	102	104	97	101	100	100
% MAb1 ban đầu được khôi phục	96,2	95,0	96,0	96,0	95,8	95,0	95,3
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,6	56,9	58,0	55,6	56,3	56,5	55,1
% mAb1 axit được khôi phục	28,2	30,1	29,4	31,4	30,4	30,0	32,3

Bảng 17: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 25mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ màu hổ phách 20ml

Thông số	Bảo quản ở 5°C (tháng)						
	0		2	3	6	9	12
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	105	103	97	101	98	101
% MAb1 ban đầu được khôi phục	97,1	96,9	97,0	96,8	97,0	96,2	96,6
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,8	56,4	57,1	55,9	55,6	56,1	55,2
% mAb1 axit được khôi phục	27,9	20,9	30,2	30,5	30,7	30,0	31,9

Bảng 18: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 5°C trong lọ màu hổ phách 20ml

Thông số	Bảo quản ở 5°C (tháng)						
	0	1	2	3	6	9	12
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
% MAb1 tổng số	100	105	103	97	99	98	100

được khôi phục							
% MAb1 ban đầu được khôi phục	96,2	96,2	96,0	96,0	95,8	95,4	95,5
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,6	57,9	56,3	56,5	56,5	56,4	55,3
% mAb1 axit được khôi phục	28,2	29,8	30,4	30,3	30,6	30,0	30,9

Bảng 19: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 25°C và 45°C trong lọ trong

Thông số	Bảo quản ở 45°C (ngày)				Bảo quản ở 25°C (tháng)			
	0	7	14	28	1	2	3	6
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
pH	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	101	97	105	105	102	97	101
% MAb1 ban đầu được khôi phục	95,6	94,8	93,8	91,2	94,6	93,7	93,1	93,4
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,6	45,7	34,9	22,3	53,1	49,0	43,0	37,9
% mAb1 axit được khôi phục	28,2	37,3	49,8	70,8	32,5	36,8	42,4	53,8

Bảng 20: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 25°C và 45°C trong lọ màu hổ phách 5ml

Thông số		Bảo quản ở 45°C (ngày)	Bảo quản ở 25°C (tháng)
----------	--	------------------------	-------------------------

	0	7	14	28	1	2	3	6
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Độ đục (OD 405 nm)	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01	0,02
pH	6,0	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1	6,0
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	101	100	105	106	103	97	100
% MAb1 ban đầu được khôi phục	95,6	94,6	93,6	90,9	94,5	93,7	93,4	92,7
% MAb1 đỉnh chính được khôi phục	57,6	46,1	35,2	21,6	52,7	46,3	42,0	34,2
% mAb1 axit được khôi phục	28,2	37,3	50,1	70,9	32,8	39,6	43,4	57,3

Bảng 21: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 sau khi bảo quản ở 25°C và 45°C trong lọ màu hổ phách 20ml

Thông số	t=0	Bảo quản ở 45°C (ngày)				Bảo quản ở 25°C (tháng)			
	0	7	14	28	1	2	3	6	
Biểu hiện nhìn thấy	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	
Độ đục (OD 405 nm)	0,00	0,01	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,02	
pH	6,0	6,0	6,1	6,1	6,0	6,0	6,0	6,0	
% MAb1 tổng số được khôi phục	100	101	101	105	104	103	96	100	
% MAb1 ban	95,6	94,9	93,8	91,5	94,3	94,0	93,6	93,5	

đầu được khô phục								
% MAb1 đỉnh chính được khô phục	57,6	45,7	34,2	23,3	52,7	49,3	43,5	36,7
% mAb1 axit được khô phục	28,2	36,7	51,1	68,6	32,5	35,8	41,3	55,0

Như được chỉ ra trong ví dụ này, được phẩm A chứa 25mg/ml hoặc 100mg/ml mAb1 có độ ổn định tương đương khi được bảo quản trong lọ trong hoặc lọ màu hổ phách. Hơn nữa, như được chỉ ra trong ví dụ 4 khi bảo quản trong lọ trong, độ ổn định tương đối cao của mAb1 được duy trì trong được phẩm A khi được bảo quản trong lọ trong hoặc lọ màu hổ phách ở 5°C trong 12 tháng.

Ví dụ 6. Tác dụng của nồng độ arginin, histidin và sucroza lên độ nhớt và độ ổn định của được phẩm chứa 150mg/ml mAb1

Một số được phẩm được bào chế chứa 150mg/ml, 175mg/ml và 200mg/ml mAb1 và lượng histidin, arginin và sucroza khác nhau. Độ nhớt và độ thẩm thấu được xác định đối với từng được phẩm. Ngoài ra, độ ổn định của được phẩm 150mg/ml sau 4 tuần bảo quản ở 45°C được đánh giá về tỷ lệ phần trăm mAb1 ban đầu còn lại (bằng SE-HPLC) và tỷ lệ phần trăm đỉnh chính còn lại (bằng CEX-HPLC). Kết quả được nêu trong bảng 22.

Bảng 22: Tác dụng của arginin, histidin và sucroza lên độ nhớt và độ ổn định của được phẩm mAb1

mAb1 (mg/ml)	[Histidin (mM)]	[Arginin (mM)]	[Sucroza (%)]	Độ nhớt (cPoise)	Độ thẩm thấu (mOsm)	% mAb1 ban đầu *	% gốc axit
150	10	0	10	~ 15	375	90,8	19,9
150	25	25	10	~ 11,5	500	91,6	19,5
150	25	25	5	~ 8,5	305	91,8	19,8
150	25	25	2,5	~ 8,0	220	91,1	19,9

150	25	25	0	~ 8,5	115	90,3	20,6
175	10	0	10	~ 27	395		
175	25	25	10	~ 20,5	415		
175	25	25	5	~ 19	300		
175	25	50	5	~ 14,5	390		
175	100	0	5	~ 12,5	415		
175	100	50	5	~ 10	515		
200	10	0	10	~ 44	410		
200	25	25	10	~ 35	480		
200	25	25	5	~ 30	300		
200	25	25	0	~ 28	130		
200	100	0	10	~ 27	570		
200	100	50	10	~ 21	670		

* % mAb1 ban đầu = 96,5% (SE-HPLC)

Kết quả trong bảng 16 chỉ ra rằng việc gia tăng nồng độ histidin lên 25mM hoặc 100mM và thêm arginin vào dược phẩm (25mM hoặc 50mM) làm giảm đáng kể độ nhớt của dược phẩm so với dược phẩm chỉ chứa 10mM histidin và không chứa arginin. Hơn nữa, việc giảm nồng độ sucroza từ 10% xuống 5% cùng với việc bổ sung histidin và arginin sẽ làm giảm độ nhớt của dược phẩm xuống mức độ lớn hơn.

Dựa vào phát hiện trên, các dược phẩm sau (được gọi là “Dược phẩm B” và “Dược phẩm C”) được bào chế, thành phần của dược phẩm được nêu trong bảng 23.

Bảng 23: Dược phẩm mAb1 ổn định “B” và “C”

Thành phần	Dược phẩm B	Dược phẩm C
mAb1	25 – 200mg/ml	25 – 200mg/ml
Histidin	25mM	25mM
Polysorbate	0,2%	0,2%
20		
Sucroza	5%	5%
Arginin	25mM	50mM

pH được điều chỉnh đến 6,0

Ví dụ 7. Độ ổn định của dược phẩm B chứa 150mg/ml mAb1 khi được sản xuất trong lọ thủy tinh và ống tiêm

Dược phẩm B (bảng 23) chứa 150mg/ml mAb1 được bào chế trong lọ thủy tinh 2ml và trong hai ống tiêm khác nhau: bình thường và tungsten thấp. Dược phẩm được bảo quản ở 5, 25 và 45°C trong các khoảng thời gian khác nhau. Độ ổn định của mAb1 say khi bảo quản được xác định bằng SE-HPLC và CEX-HPLC. Kết quả được nêu trong bảng 24. (Sự gia tăng gốc axit là phù hợp với quá trình khử amit hóa kháng thể và do đó được coi là là một hiện tượng không mong muốn đối với dược phẩm theo sáng chế).

Bảng 24: Độ ổn định của dược phẩm B Chứa 150mg/ml mAb1 in Vial và Syringe

Nhiệt độ	Thời gian	Lọ thủy tinh 2ml		ống tiêm bình thường		ống tiêm tungsten thấp	
		% Ban đầu (SE-HPLC)	% Axit (CEX-HPLC)	% Ban đầu (SE-HPLC)	% Axit (CEX-HPLC)	% Ban đầu (SE-HPLC)	% Axit (CEX-HPLC)
	Ban đầu	96,7	32,2	96,5	32,3	96,7	31,7
45°C	14 ngày	94,1	52,7	94,3	54,5	94,3	56,1
45°C	28 ngày	92,7	69,7	92,7	69,7	92,5	70,8
45°C	56 ngày	86,7	84,7	87,8	82,6	86,9	83,5
25°C	1 tháng	95,1	31,2	95,7	30,6	95,6	31,1
25°C	2 tháng	95,3	34,6	94,7	37,4	96,0	36,3
25°C	3 tháng	94,3	40,6	93,9	43,7	94,1	42,6
5°C	1 tháng	96,2	30,2	96,5	29,1	96,4	29,3
5°C	2 tháng	96,3	29,3	96,4	29,0	96,4	29,1
5°C	3 tháng	95,7	29,4	95,8	29,6	95,8	29,6

Như được thể hiện trong bảng, dược phẩm B chứa 150mg/ml mAb1, được bảo quản ở 5°C trong lọ thủy tinh hoặc ống tiêm, tương đối ổn định trong ít nhất 3 tháng.

Ví dụ 8: Độ ổn định của dược phẩm mAb1 trong ống tiêm nhồi trước

Một loạt các thử nghiệm được tiến hành để đánh giá độ ổn định của các dược phẩm mAb1 khác nhau trong ống tiêm nhồi trước. Đối với các thử nghiệm này, các loại đầu gắn kim và kim đục lỗ, ống tiêm bình thường và ống tiêm tungsten thấp khác nhau được sử dụng cùng với các loại bơm tiêm (được phủ và không được phủ) và bộ phận bảo vệ đầu kim khác nhau. Dược phẩm được kiểm tra độ ổn định sau khi bảo quản trong ống tiêm nhồi trước ở 45°C, 25°C và 5°C trong những khoảng thời gian khác nhau (từ 14 ngày đến 12 tháng, phụ thuộc vào điều kiện được thử nghiệm).

Sáu dược phẩm mAb1 khác nhau được kiểm tra độ ổn định trong ống tiêm nhồi trước trong ví dụ này: (1) Dược phẩm A (bảng 9) chứa 100mg/ml mAb1; (2) Dược phẩm A (bảng 9) chứa 25mg/ml mAb1; (3) Dược phẩm B (bảng 23) chứa 150mg/ml mAb1; (4) Dược phẩm B (bảng 23) chứa 25mg/ml mAb1; (5) Dược phẩm C (bảng 23) chứa 175mg/ml mAb1; và (6) Dược phẩm C (bảng 23) chứa 25mg/ml mAb1.

Độ ổn định được đánh giá bằng các thông số sau: (a) biểu hiện; (b) độ đục (OD405nm); (c) tỷ lệ phần trăm kháng thể được khôi phục được xác định bằng RP-HPLC; (d) tỷ lệ phần trăm mAb1 ban đầu được xác định bằng SE-HPLC; (e) tỷ lệ phần trăm mAb1 đỉnh được xác định bằng CEX-HPLC; và (f) tỷ lệ phần trăm gốc axit được xác định bằng CEX-HPLC.

Kết quả của thử nghiệm đánh giá độ ổn định của dược phẩm A, chứa 100mg/ml mAb1 trong hai loại ống tiêm khác nhau (ống tiêm #1 và ống tiêm #2) được nêu trong bảng 25 và 26 dưới đây.

Bảng 25: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 ống tiêm nhồi trước có kim #1

mô tả ống tiêm #1:	
ống tiêm:	BD 1 ml long 29ga x 1/2" Physiolis, Low Tungsten
Bơm tiêm:	West FluroTec® 4023/50
Mũ bảo vệ đầu kim:	BD 260
Phương pháp phủ silicon:	Phun

Nhiệt độ	Thời gian	Biểu hiện	Độ đục (OD405 nm)	% khô phục	% MAb1 ban đầu	% đỉnh chính	% Góc axit
-	Ban đầu	Đạt	0,00	100	96,6	56,9	28,7
45°C	14 ngày	Đạt	0,00	99	95,1	32,7	50,7
45°C	28 ngày	Đạt	0,01	103	92,6	20,9	66,1
45°C	56 ngày	Đạt	0,03	105	88,8	9,9	80,9
25°C	1 tháng	Đạt	0,00	106	95,6	52,4	32,0
25°C	2 tháng	Đạt	0,00	107	95,2	48,0	37,0
25°C	3 tháng	Đạt	0,00	106	94,2	44,8	41,8
25°C	6 tháng	Đạt	0,01	101	93,7	34,8	53,9
25°C	9 tháng	Đạt	0,03	98	91,4	26,1	64,6
25°C	12 tháng	Đạt	0,03	101	89,9	21,3	69,4

mô tả ống tiêm #1:

ống tiêm: BD 1 ml long 29ga x 1/2" Physiolis, Low Tungsten

Bơm tiêm: West FluroTec® 4023/50

Mũ bảo vệ đầu kim: BD 260

Phương pháp phủ silicon: Phun

5°C	1 tháng	Đạt	0,00	110	96,4	56,8	29,9
5°C	2 tháng	Đạt	0,00	108	96,2	55,7	31,1
5°C	3 tháng	Đạt	0,00	104	96,0	56,3	30,0
5°C	6 tháng	Đạt	0,00	100	96,5	55,0	31,3
5°C	9 tháng	Đạt	0,00	98	96,2	56,7	30,3
5°C	12 tháng	Đạt	0,00	101	95,4	57,3	30,2

Bảng 26: Độ ổn định của dược phẩm A chứa 100mg/ml mAb1 ống tiêm nhồi trước có kim #2

mô tả ống tiêm #2:

Ống tiêm:		Schott 1 ml Long SN CF 29ga x 1/2"					
Bơm tiêm:		West FluroTec® 4023/50					
Mũ bảo vệ đầu kim:		Stelmi 4800 w/RNS					
Phương pháp phủ silicon:		Phun					
Nhiệt độ	Thời gian	Biểu hiện	Độ đục (OD405 nm)	% khô phục	% MAb1 ban đầu	% đỉnh chính	% Góc axit
--	Ban đầu	Đạt	0,00	100	96,3	57,5	28,0
45°C	14 ngày	Đạt	0,00	100	95,2	33,7	49,6
45°C	28 ngày	Đạt	0,00	103	93,3	22,8	64,7
45°C	56 ngày	Đạt	0,03	107	88,0	9,9	81,1
25°C	1 tháng	Đạt	0,00	108	95,5	52,5	31,8
25°C	2 tháng	Đạt	0,00	107	95,2	49,2	35,7
25°C	3 tháng	Không đạt	0,00	106	93,9	43,1	42,0
25°C	6 tháng	Không đạt	0,00	102	92,9	34,4	54,0
25°C	9 tháng	Đạt	0,02	100	92,3	26,9	63,5
25°C	12 tháng	Đạt	0,03	103	90,0	20,0	70,2
5°C	1 tháng	Đạt	0,00	111	96,3	56,7	29,9
5°C	2 tháng	Đạt	0,00	112	95,6	55,9	31,1
5°C	3 tháng	Đạt	0,00	106	96,1	57,2	29,4
5°C	6 tháng	Đạt	0,00	102	96,0	54,9	31,6
5°C	9 tháng	Đạt	0,00	100	95,9	56,7	30,2
5°C	12 tháng	Đạt	0,00	102	95,4	56,0	30,7

Kết quả từ một thử nghiệm khác đánh giá độ ổn định của dược phẩm C, chứa 175mg/ml mAb1 trong hai loại ống tiêm khác nhau (ống tiêm #1 và ống tiêm #3) được nêu trong bảng 27 và 28 dưới đây.

Kết quả của các thử nghiệm này chứng tỏ rằng các dược phẩm khác nhau vẫn tương đối ổn định trong ống tiêm nhồi trước, đặc biệt khi được bảo quản ở nhiệt độ không quá 25°C, trong hơn một tháng. Hơn nữa, các loại dược phẩm khác nhau theo sáng chế có độ ổn định gia tăng khi được chứa trong ống tiêm tungsten thấp có bơm tiêm được phủ flocacbon.

Bảng 27: Độ ổn định của dược phẩm C chứa 175mg/ml mAb1 ống tiêm nhồi trước có kim #1

mô tả ống tiêm #1:							
ống tiêm:		BD 1 ml long 29ga x 1/2" Physiolis, Low Tungsten					
Bơm tiêm:		West FluroTec® 4023/50					
Mũ bảo vệ đầu kim:		BD 260					
Phương pháp phủ silicon:		Phun					
Nhiệt độ	Thời gian	Biểu hiện	Độ đục (OD405 nm)	% khô phục	% MAb1 ban đầu	% đỉnh chính	% Gốc axit
--	Ban đầu	Đạt	0,00	100	96,7	59,7	32,4
45°C	7 ngày	Đạt	0,01	102	96,1	48,6	39,5
45°C	14 ngày	Đạt	0,03	97	95,0	36,9	50,0
45°C	28 ngày	Đạt	0,03	98	91,9	24,7	66,0
45°C	56 ngày	Đạt	0,05	97	91,9	12,3	83,3
25°C	1 tháng	Đạt	0,02	99	95,4	56,9	33,8
25°C	2 tháng	Đạt	0,00	100	95,0	51,1	39,8
5°C	1 tháng	Đạt	0,00	98	96,1	59,5	32,7
5°C	2 tháng	Đạt	0,00	101	96,4	56,3	37,1

Bảng 28: Độ ổn định của dược phẩm C chứa 175mg/ml mAb1 ống tiêm nhỏ trước có kim #3

mô tả ống tiêm #3:							
ống tiêm:		Daikyo Seiko CZ 1 ml std 30ga x 1/2 “					
Bơm tiêm:		Daikyo D-21-6-1 FluroTec® Coated					
Mũ bảo vệ đầu kim:		7028					
Phương pháp phủ silicon:		N/A					
Nhiệt độ	Thời gian	Biểu hiện	Độ đục (OD405 nm)	% khô phục	% MAb1 ban đầu	% đỉnh chính	% Góc axít
--	Ban đầu	Đạt	0,00	100	96,4	58,2	33,6
45°C	7 ngày	Đạt	0,00	101	95,7	45,4	40,4
45°C	14 ngày	Đạt	0,01	101	94,8	37,5	48,8
45°C	28 ngày	Đạt	0,04	96	94,0	29,4	59,4
45°C	56 ngày	Đạt	0,06	99	85,9	7,8	87,0
25°C	1 tháng	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
5°C	1 tháng	Đạt	0,00	100	96,4	56,7	34,0
5°C	2 tháng	Đạt	0,00	101	96,2	54,7	34,0

Sáng chế không bị giới hạn bởi các phương án cụ thể được mô tả ở đây. Thực vậy, nhiều biến đổi khác nhau theo sáng chế ngoài các phương án được mô tả sẽ là rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các biến đổi này sẽ thuộc phạm vi của phần yêu cầu bảo hộ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm chứa:

(i) kháng thể của người mà gắn kết đặc hiệu với thụ thể interleukin-6 của người (hIL-6R), trong đó kháng thể ở nồng độ nằm trong khoảng từ 5mg/ml đến 200mg/ml và bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:26;

(ii) histidin ở nồng độ nằm trong khoảng từ 10mM đến 25mM;

(iii) arginin ở nồng độ nằm trong khoảng từ 25mM đến 50mM;

(iv) sucroza với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 10% trọng lượng/thể tích;

và

(v) polysorbat 20 với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 0,2% trọng lượng/thể tích.

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm có độ pH là khoảng 6.

3. Dược phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó ít nhất 90% dạng nguyên thể của kháng thể được thu gom sau chín tháng lưu trữ ở 5°C, như xác định được bằng phép sắc ký lỏng hiệu năng cao ngoại cỡ (SE-HPLC).

4. Dược phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó ít nhất 95% dạng nguyên thể của kháng thể được thu gom sau chín tháng lưu trữ ở 5°C, như xác định được bằng phép sắc ký lỏng hiệu năng cao ngoại cỡ (SE-HPLC).

5. Dược phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó ít nhất 96% dạng nguyên thể của kháng thể được thu gom sau chín tháng lưu trữ ở 5°C, như xác định được bằng phép sắc ký lỏng hiệu năng cao ngoại cỡ (SE-HPLC).

6. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này chứa:

(i) 25 đến 200mg/mL kháng thể của người mà gắn kết đặc hiệu với thụ thể interleukin-6 của người (hIL-6R), trong đó kháng thể bao gồm vùng biến đổi chuỗi nặng có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:18 và vùng biến đổi chuỗi nhẹ có trình tự axit amin nêu trong SEQ ID NO:26;

(ii) khoảng 25mM histidin;

(iii) khoảng 5% trọng lượng/thể tích sucroza; và

(iv) khoảng 0,2% trọng lượng/ thể tích polysorbat 20; và

(v) khoảng 50mM arginin.

7. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó dược phẩm này chứa:

(i) khoảng 175mg/mL kháng thể của người mà gắn kết đặc hiệu với thụ thể interleukin-6 của người (hIL-6R), trong đó kháng thể bao gồm cặp trình tự axit amin của vùng biến đổi chuỗi nặng và vùng biến đổi chuỗi nhẹ (HCVR / LCVR) nêu trong SEQ ID NO:18/26;

(ii) khoảng 25mM histidin;

(iii) khoảng 5% sucroza;

(iv) khoảng 0,2% polysorbat 20; và

(v) khoảng 50mM arginin.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> DƯỢC PHẨM ỔN ĐỊNH CHỨA KHÁNG THỂ KHÁNG THỤ THỂ INTERLEUKIN-6 (IL-6R)

<130> 6013A-WO

<140> Đã được chuyển nhượng

<141> Được nộp theo

<150> 61/293,227

<151> 2010-01-08

<160> 74

<170> FastSEQ phiên bản Windows 4.0

<210> 1

<211> 379

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 1

```

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaaac ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt catctttgat gattatgcca tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag cataggctat 180
gcggaactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat 240
ctgcaaataga acagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgc aaaagatgga 300
ggcagcagct gggtaccgtt cgtctactac tacgggtatgg acgtctgggg ccaagggacc 360
acggtcaccg tctcgtcag                                     379

```

<210> 2

<211> 126

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 2

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asn Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1             5             10             15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr
          20          25          30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
Ser Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Val
          50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
          65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
          85          90          95

```

Ala Lys Asp Gly Gly Ser Ser Trp Leu Pro Phe Val Tyr Tyr Tyr Gly
 100 105 110
 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 3
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 3
 ggattcatct ttgatgatta tgcc

24

<210> 4
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 4
 Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 5
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 5
 attagttgga atagtggttag cata

24

<210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 6
 Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile
 1 5

<210> 7
 <211> 57
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 7

gcaaaaagatg gaggcagcag ctgggttaccg ttcgtctact actacggtat ggacgtc 57

<210> 8

<211> 19

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 8

Ala Lys Asp Gly Gly Ser Ser Trp Leu Pro Phe Val Tyr Tyr Tyr Gly
1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 9

<211> 325

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 9

gaaatagtga	tgacgcagtc	tccagccacc	ctgtctgtgt	ctcccgggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtc	gagtattagc	agcaactttg	cctgggtacca	gcagaaacct	120
ggccaggctc	ccaggctcct	catctatggg	gcatccacca	gggccactgg	tatcccagcc	180
aggttcagtg	gcagtgggtc	tgggacagac	ttcactctca	ccatcagcag	cctgcagtct	240
gaagattttg	cagttttatta	ctgtcagcag	tatagtagct	ggcctccgta	cacttttggc	300
caggggacca	agctggagat	caaac				325

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 10

Glu	Ile	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Val	Ser	Pro	Gly
1				5					10				15		
Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Ile	Ser	Ser	Asn
		20						25				30			
Phe	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile
		35				40					45				
Tyr	Gly	Ala	Ser	Thr	Arg	Ala	Thr	Gly	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ser	Gly
	50				55					60					
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Trp	Pro	Pro

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 85 90 95
 105

<210> 11
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 11
 cagagtatta gcagcaac

18

<210> 12
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 12
 Gln Ser Ile Ser Ser Asn
 1 5

<210> 13
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 13
 ggtgcatcc

9

<210> 14
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 14
 Gly Ala Ser
 1

<210> 15
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 15

cagcagtata gtagctggcc tccgtacact

30

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 16

Gln Gln Tyr Ser Ser Trp Pro Pro Tyr Thr

1

5

10

<210> 17

<211> 349

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 17

gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttgggttcagc ctggcagggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctagatt tacctttgat gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccaggggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga atagtggtag aatagggttat 180
 gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccgagaa ctccctcttt 240
 ctgcaaatga acggtctgag agcagaggac acggccttgt attactgtgc aaaaggccga 300
 gattcttttg atatctgggg ccaagggaca atggtcaccg tctcttcag 349

<210> 18

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 18

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 19
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 19
agatttacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 20
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 20
Arg Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
1 5

<210> 21
<211> 24
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 21
attagttgga atagtggtag aata

24

<210> 22
<211> 8
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 22
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile
1 5

<210> 23
<211> 27
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 23

gcaaaaggcc gagattcttt tgatatac

27

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 24

Ala Lys Gly Arg Asp Ser Phe Asp Ile

1

5

<210> 25

<211> 322

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 25

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtca ggggtattag agctggtag cctggtagca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcct gatctatggt gcatccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caagttatta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgtacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa ac 322

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 26

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Ser	Ser	Trp
		20						25					30		
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile
		35					40					45			
Tyr	Gly	Ala	Ser	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Ser	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Ser	Phe	Pro	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100						105						

<210> 27
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 27
 cagggtatta gcagctgg

18

<210> 28
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 28
 Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 1 5

<210> 29
 <211> 9
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 29
 ggtgcatcc

9

<210> 30
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 30
 Gly Ala Ser
 1

<210> 31
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 31

caacaggcta acagtttccc gtacact

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 32

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr

1

5

<210> 33

<211> 349

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 33

```

gaagtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctggcaggctc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttgat gattatgccc tgcactgggt ccggcaagct 120
ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt gttagttgga atgggtgtag aataggctat 180
gcggaactctg tgaaaggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctcttt 240
ctgcaaatga acagtctgag agttgaggac acggccttgt attattgtgc aaaaggccgg 300
gatgcttttg atatctgggg ccaagggaca ttggtcaccg tctcttcag 349

```

<210> 34

<211> 116

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 34

```

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

```

<210> 35
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 35
 ggattcacct ttgatgatta tgcc

24

<210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 36
 Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala
 1 5

<210> 37
 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 37
 gttagttagga atggtgtag aata

24

<210> 38
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 38
 Val Ser Trp Asn Gly Gly Arg Ile
 1 5

<210> 39
 <211> 27
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 39
 gcaaaaggcc gggatgcttt tgatatc

27

<210> 40
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 40
 Ala Lys Gly Arg Asp Ala Phe Asp Ile
 1 5

<210> 41
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 41
 gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgtc gggcgagtc ggggtattag agctggtag cctgggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagattttg caacttacta ttgtcaacat gcttacagtt tcccgtacac ttttgccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa ac 322

<210> 42
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 42
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Tyr Ser Phe Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 43
 <211> 18
 <212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 43

cagggtatta gcagctgg

18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 44

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1

5

<210> 45

<211> 9

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 45

gctgcatcc

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 47

caacatgctt acagtttccc gtacact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 48
 Gln His Ala Tyr Ser Phe Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 49
 <211> 361
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 49
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaaagagc ctgggggcctc agtgaaggctc 60
 tcctgcaagg cttctggata caccttcacc tcttatgata tcatctgggt gcgacaggcc 120
 actggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atgaacccaa acagtggtaa cacaggctat 180
 acacagaacc tccagggcag agtcaccttg accaggaaca cctccataac tacagtctac 240
 atggaactga gcagcctgag ctctgaggac acggccgttt attactgtgc gcgagactac 300
 agtagccact actacggttt ggacgtctgg ggccaaggga ccacgggtcac cgtctcctca 360
 a 361

<210> 50
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 50
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Glu Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Asp Ile Ile Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Thr Gln Asn Leu
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Arg Asn Thr Ser Ile Thr Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Ser Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Tyr Ser Ser His Tyr Tyr Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 51
 <211> 24
 <212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 51

ggatacacct tcacctctta tgat

24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 52

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asp

1

5

<210> 53

<211> 24

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 53

atgaacccaa acagtggtaa caca

24

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 54

Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr

1

5

<210> 55

<211> 39

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 55

gcgcgagact acagtagcca ctactacggt ttggacgtc

39

<210> 56

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 56
 Ala Arg Asp Tyr Ser Ser His Tyr Tyr Gly Leu Asp Val
 1 5 10

<210> 57
 <211> 322
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 57
 gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctacat ctataggaga cagagtcacc 60
 atcacttgct gggccagtc ggacatttag aattatttag cctggtatca gcaaaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctttgtt gcatccactt tgcagagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagtag cctgcagcct 240
 gaggattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt acccgctcac tttcggcgga 300
 gggaccaagg tggaaatcaa ac 322

<210> 58
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 58
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Thr Ser Ile Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Val Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 59
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 59
caggacatta gcaattat

18

<210> 60
<211> 6
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 60
Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 61
gttgcatcc

9

<210> 62
<211> 3
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 62
Val Ala Ser
1

<210> 63
<211> 30
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 63
caacagttta atagttaccc gctcactttc

30

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 64

Gln	Gln	Phe	Asn	Ser	Tyr	Pro	Leu	Thr	Phe
1				5					10

<210> 65

<211> 8

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Gly hoặc Arg

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Phe hoặc Tyr

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Ile hoặc Thr

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Phe

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Asp hoặc Thr

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Asp hoặc Ser

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Tyr

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Ala hoặc Asp

<400> 65

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 66
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa = Ile, Val hoặc Met

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Ser hoặc Asn

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Thr hoặc Pro

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (4)...(4)
 <223> Xaa = Asn

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa = Ser hoặc Gly

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa = Gly

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa = Ser, Arg hoặc Asn

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Ile hoặc Thr

<400> 66
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5

<210> 67
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa = Ala

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Lys hoặc Arg

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Asp hoặc Gly

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (4)...(4)
 <223> Xaa = Gly, Arg hoặc Tyr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa = Gly, Asp hoặc Ser

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa = Ser hoặc Ala

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa = Ser, Phe hoặc His

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Trp, Asp hoặc Tyr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (9)...(9)
 <223> Xaa = Leu, Ile hoặc Tyr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (10)...(10)

<223> Xaa = Pro, Gly hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Phe, Leu hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (12)...(12)

<223> Xaa = Val, Asp hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (13)...(13)

<223> Xaa = Tyr, Val hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (14)...(14)

<223> Xaa = Tyr hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Tyr hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (16)...(16)

<223> Xaa = Gly hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (17)...(17)

<223> Xaa = Met hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Asp hoặc không có mặt

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (19)...(19)

<223> Xaa = Val hoặc không có mặt

<400> 67

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

1

5

10

15

Xaa Xaa Xaa

<210> 68

<211> 6

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Gln

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Ser, Gly hoặc Asp

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Ile

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Ser

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Ser hoặc Asn

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Asn, Trp hoặc Tyr

<400> 68

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

<210> 69

<211> 3

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<220>

<221> BIẾN THỂ

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

<223> Xaa = Gly, Ala hoặc Val

<220>

<221> BIẾN THỂ

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Ala

<220>

<221> BIẾN THỂ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Ser

<400> 69
 Xaa Xaa Xaa
 1

<210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (1)...(1)
 <223> Xaa = Gln

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Gln hoặc His

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Tyr, Ala hoặc Phe

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (4)...(4)
 <223> Xaa = Ser, Asn hoặc Tyr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (5)...(5)
 <223> Xaa = Ser

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (6)...(6)
 <223> Xaa = Trp, Phe hoặc Tyr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (7)...(7)
 <223> Xaa = Pro

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (8)...(8)
 <223> Xaa = Pro, Tyr hoặc Leu

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (9)...(9)
 <223> Xaa = Tyr hoặc Thr

<220>
 <221> BIẾN THỂ
 <222> (10)...(10)
 <223> Xaa = Thr hoặc không có mặt

<400> 70
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10

<210> 71
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 71
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 145 150 155 160
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 165 170 175
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 180 185 190
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 195 200 205
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 210 215 220
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 245 250 255
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330

<210> 72
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> Tổng hợp

<400> 72
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 130 135 140
 Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

315

320

<210> 73
<211> 327
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> Tổng hợp

<400> 73
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 74
 <211> 358
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 74

```

Met Val Ala Val Gly Cys Ala Leu Leu Ala Ala Leu Leu Ala Ala Pro
 1          5          10          15
Gly Ala Ala Leu Ala Pro Arg Arg Cys Pro Ala Gln Glu Val Ala Arg
      20          25          30
Gly Val Leu Thr Ser Leu Pro Gly Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Pro
      35          40          45
Gly Val Glu Pro Glu Asp Asn Ala Thr Val His Trp Val Leu Arg Lys
      50          55          60
Pro Ala Ala Gly Ser His Pro Ser Arg Trp Ala Gly Met Gly Arg Arg
65          70          75          80
Leu Leu Leu Arg Ser Val Gln Leu His Asp Ser Gly Asn Tyr Ser Cys
      85          90          95
Tyr Arg Ala Gly Arg Pro Ala Gly Thr Val His Leu Leu Val Asp Val
      100          105          110
Pro Pro Glu Glu Pro Gln Leu Ser Cys Phe Arg Lys Ser Pro Leu Ser
      115          120          125
Asn Val Val Cys Glu Trp Gly Pro Arg Ser Thr Pro Ser Leu Thr Thr
      130          135          140
Lys Ala Val Leu Leu Val Arg Lys Phe Gln Asn Ser Pro Ala Glu Asp
145          150          155          160
Phe Gln Glu Pro Cys Gln Tyr Ser Gln Glu Ser Gln Lys Phe Ser Cys
      165          170          175
Gln Leu Ala Val Pro Glu Gly Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Val Ser Met
      180          185          190
Cys Val Ala Ser Ser Val Gly Ser Lys Phe Ser Lys Thr Gln Thr Phe
      195          200          205
Gln Gly Cys Gly Ile Leu Gln Pro Asp Pro Pro Ala Asn Ile Thr Val
      210          215          220
Thr Ala Val Ala Arg Asn Pro Arg Trp Leu Ser Val Thr Trp Gln Asp
225          230          235          240
Pro His Ser Trp Asn Ser Ser Phe Tyr Arg Leu Arg Phe Glu Leu Arg
      245          250          255
Tyr Arg Ala Glu Arg Ser Lys Thr Phe Thr Thr Trp Met Val Lys Asp
      260          265          270
Leu Gln His His Cys Val Ile His Asp Ala Trp Ser Gly Leu Arg His
      275          280          285
Val Val Gln Leu Arg Ala Gln Glu Glu Phe Gly Gln Gly Glu Trp Ser
      290          295          300
Glu Trp Ser Pro Glu Ala Met Gly Thr Pro Trp Thr Glu Ser Arg Ser
305          310          315          320
Pro Pro Ala Glu Asn Glu Val Ser Thr Pro Met Gln Ala Leu Thr Thr
      325          330          335
Asn Lys Asp Asp Asp Asn Ile Leu Phe Arg Asp Ser Ala Asn Ala Thr
      340          345          350
Ser Leu Pro Val Gln Asp
      355

```

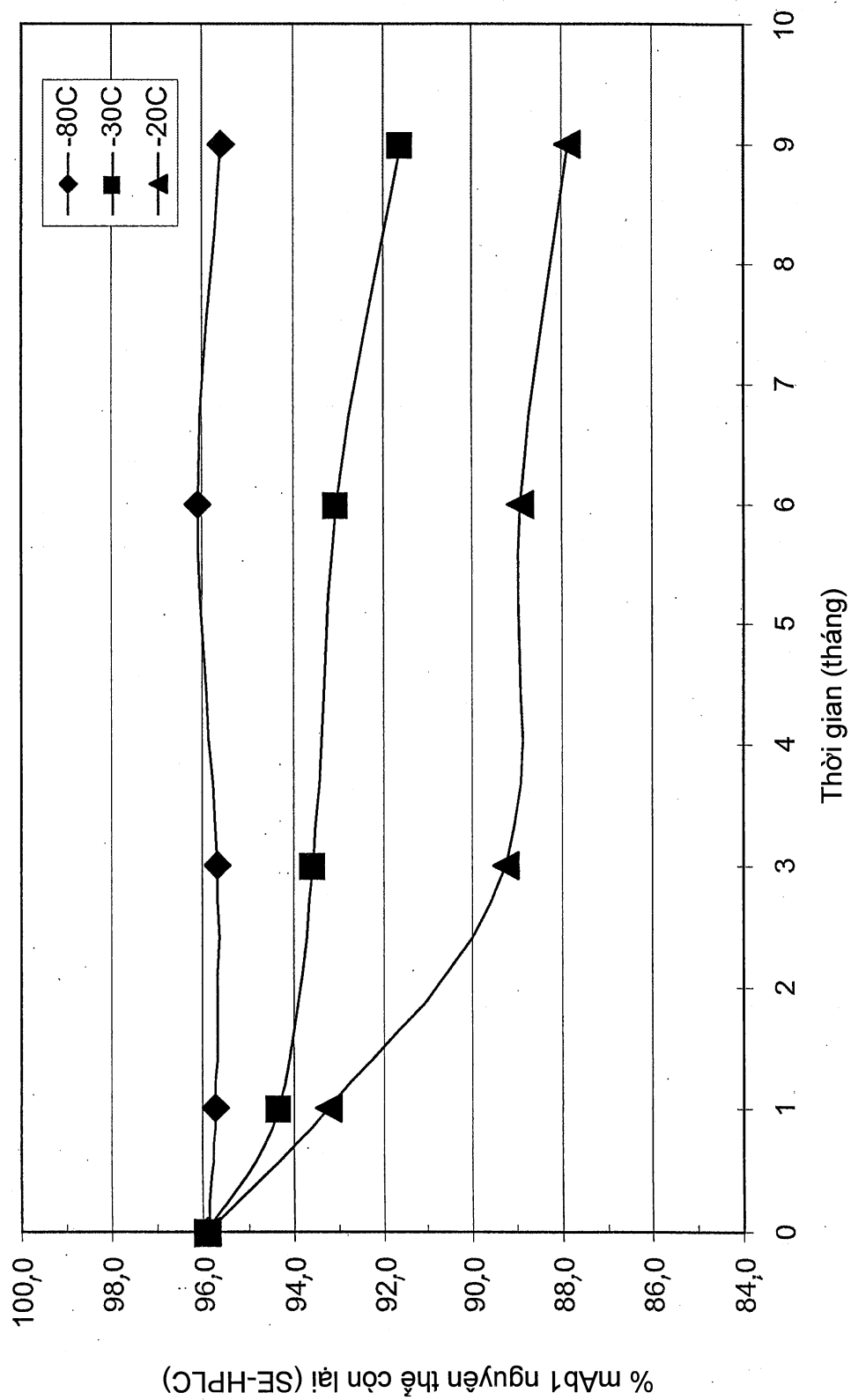


Fig.1

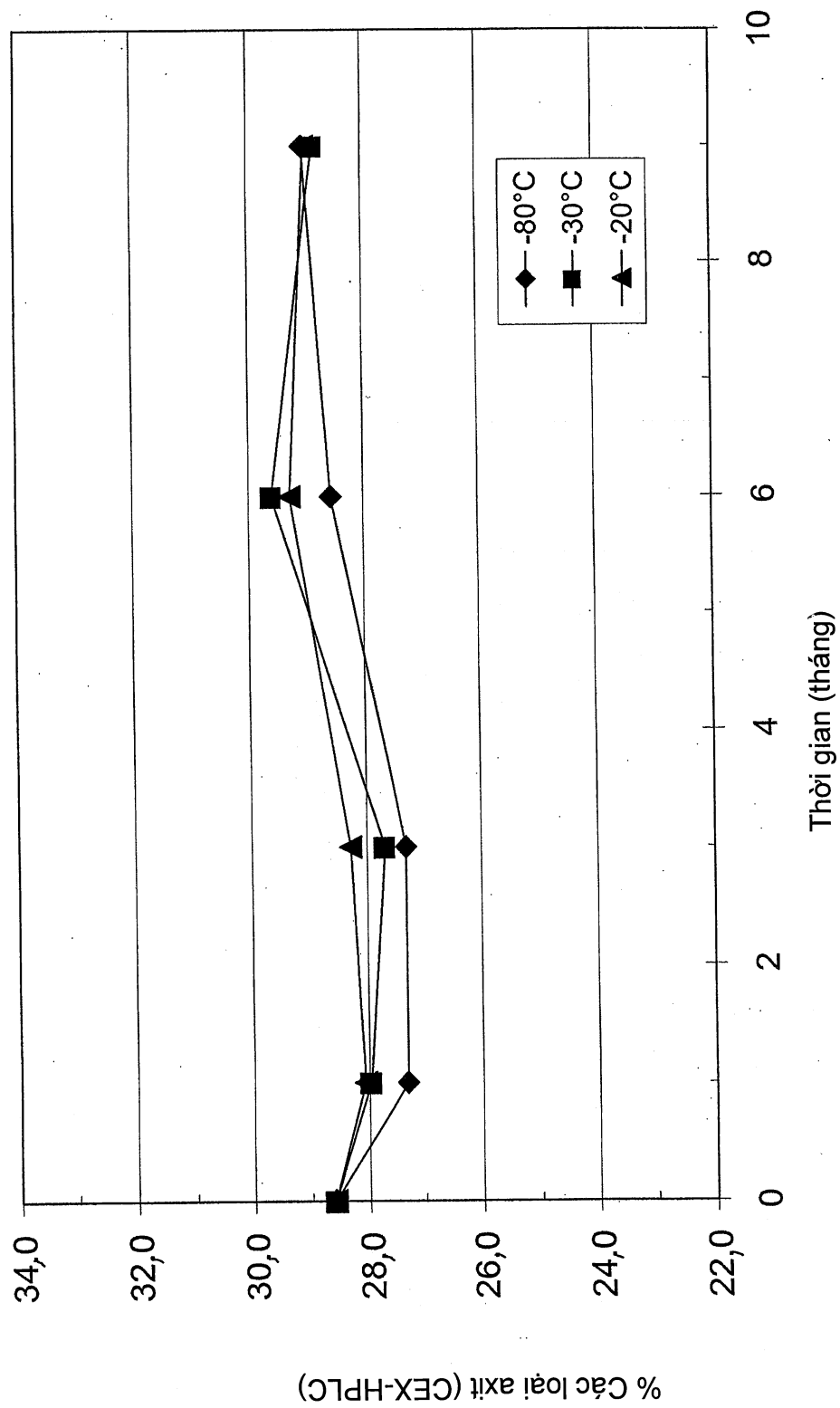


Fig.2

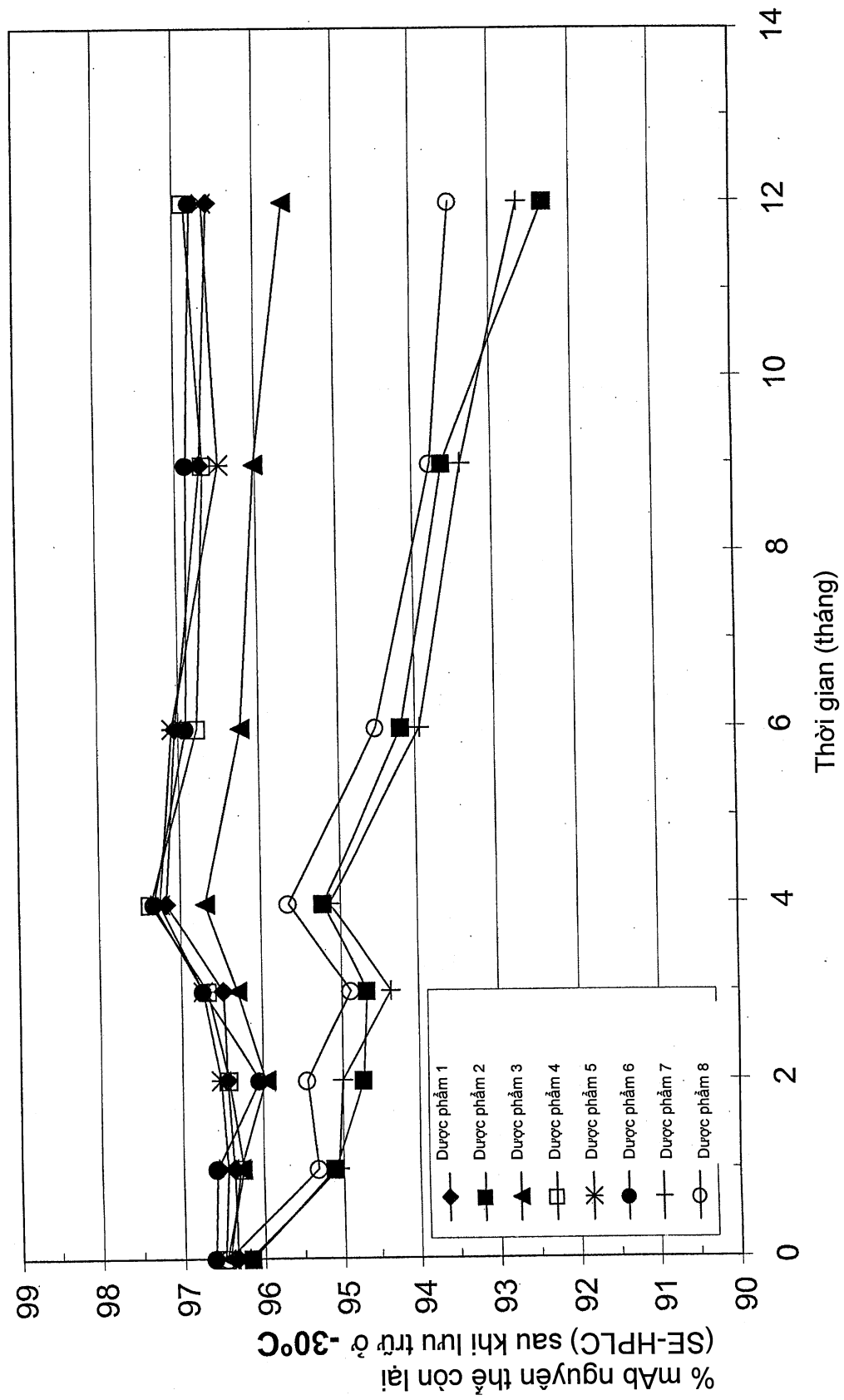


Fig.3

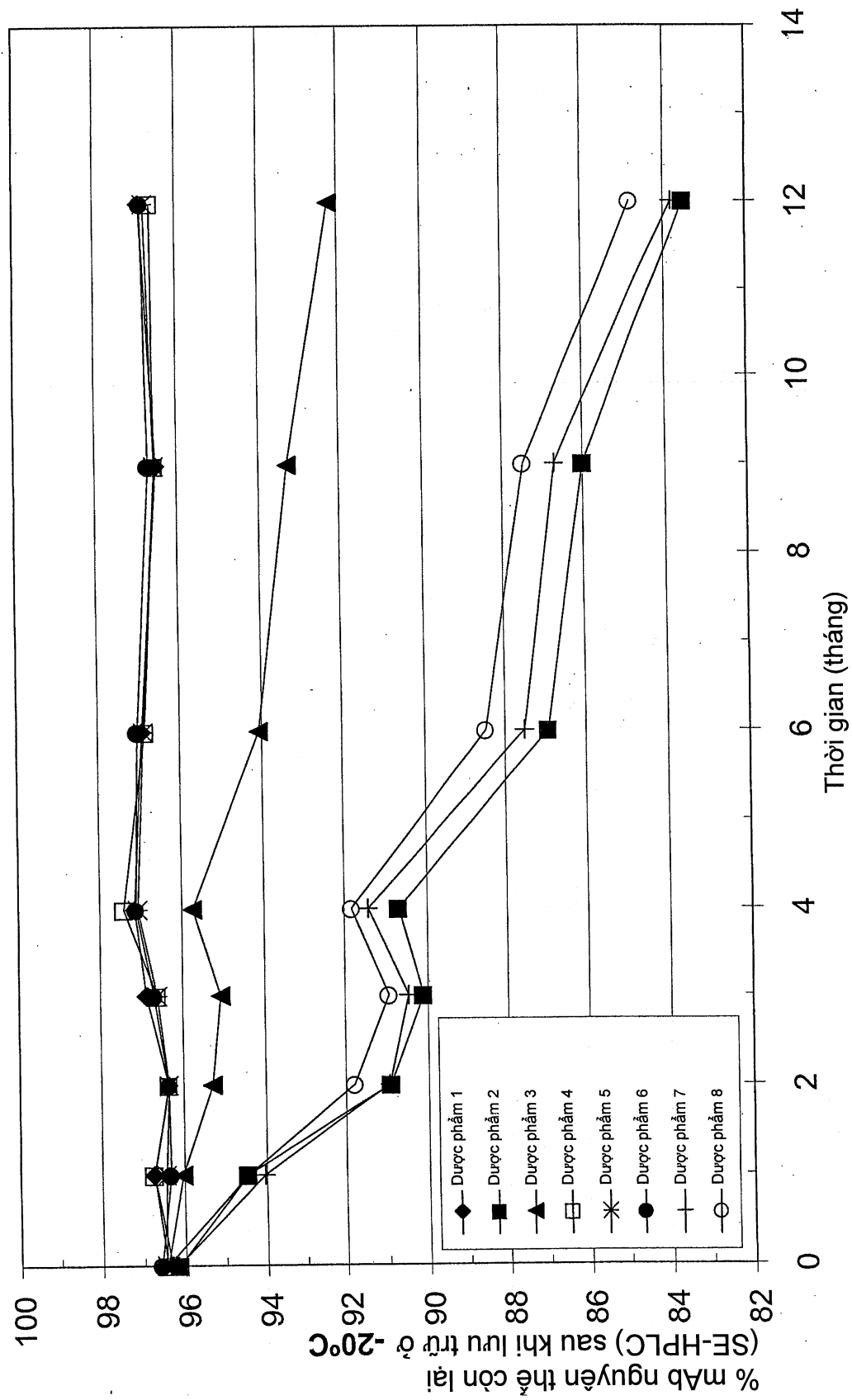


Fig.4