(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0093372
(43) 공개일자 2025년06월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/08 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01) *A61K 47/26* (2017.01)
A61K 47/68 (2017.01) *A61K 51/10* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/18* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/08 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2025-7016669
(22) 출원일자(국제) 2023년10월25일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2025년05월21일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2023/038580
(87) 국제공개번호 WO 2024/090488
국제공개일자 2024년05월02일
(30) 우선권주장
JP-P-2022-171832 2022년10월26일 일본(JP)

(71) 출원인
니혼 메디피직스 가부시키가이샤
일본 136-0075 도쿄도 고또꾸 신스나 3-4-10
(72) 발명자
다케모리, 히데아키
일본 1360075 도쿄도 고토쿠 신스나 3쵸메 4반 10고 니혼 메디피직스 가부시키가이샤 내
오쿠무라, 유키
일본 1360075 도쿄도 고토쿠 신스나 3쵸메 4반 10고 니혼 메디피직스 가부시키가이샤 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
한상욱, 이석재

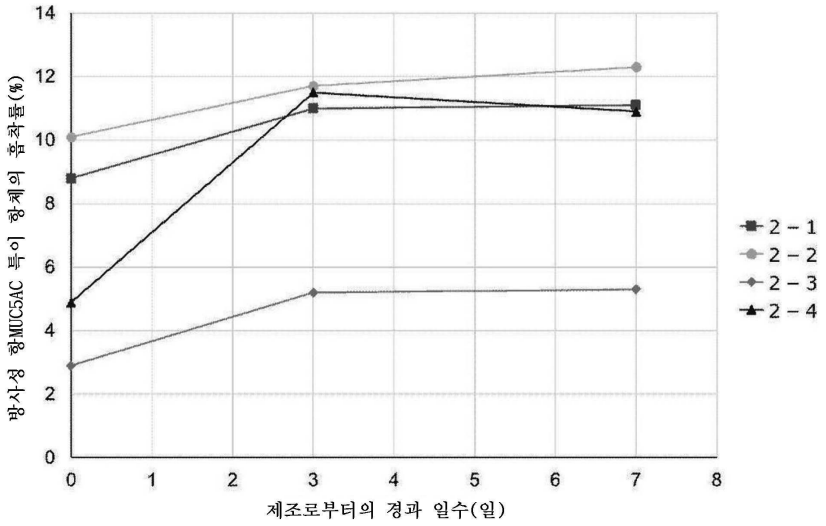
전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **방사성 의약 조성물**

(57) 요 약

본 발명은 방사성 핵종과 항체의 복합체를 유효 성분으로서 함유하는 액상의 의약 조성물에 관한 것이다. 해당 항체가, 뮤신 서브타입 5AC에 특이적으로 결합하는 항체이고, 해당 조성물 중의 상기 항체의 농도가 0.1㎎/mL 이상 5㎎/mL 이하이고, 해당 조성물은 L-아르기닌과 L-히스티딘과 계면 활성제를 포함하는 것을 특징으로 한다. 이러한 의약 조성물은 보존 용기에의 방사능 흡착이 저감되어 있다.

대 표 도 - 도2



(52) CPC특허분류
A61K 47/18 (2013.01)
A61K 47/26 (2013.01)
A61K 47/68 (2017.08)
A61K 51/1096 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/18 (2013.01)
(72) 발명자
다케나카, 후미아키
일본 1360075 도쿄도 고토쿠 신스나 3쵸메 4반 10고 니혼 메디피직스 가부시키가이샤 내
도노야, 고타
일본 1360075 도쿄도 고토쿠 신스나 3쵸메 4반 10고 니혼 메디피직스 가부시키가이샤 내
가와무라, 에리코
일본 5640053 오사카후 스이타시 에노키쵸 33반 94고 스미토모 파마 가부시키가이샤 내
호리우치, 쇼헤이
일본 5640053 오사카후 스이타시 에노키쵸 33반 94고 스미토모 파마 가부시키가이샤 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

방사성 핵종과 항체의 복합체를 유효 성분으로서 함유하는 액상의 의약 조성물로서,

상기 항체가, 뮤신 서브타입 5AC에 특이적으로 결합하는 항체이고,

상기 조성물 중의 상기 항체의 농도가 0.1㎎/mL 이상 5㎎/mL 이하이고,

안정제와, 완충제와, 계면 활성제

를 포함하는, 의약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 방사성 핵종이 α 입자, 포지트론, β선 또는 γ선을 방출하는 방사성 핵종인, 의약 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 안정제가 L-아르기닌인, 의약 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 완충제가 L-히스티딘인, 의약 조성물.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 조성물 중의 상기 안정제가 L-아르기닌이고, 상기 완충제가 L-히스티딘이고,

상기 L-아르기닌의 농도가 10㎜ol/L 이상 150㎜ol/L 이하이고,

상기 L-히스티딘의 농도가 1㎜ol/L 이상 100㎜ol/L 이하인, 의약 조성물.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 계면 활성제가, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 65 및 폴리소르베이트 80으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 1종인, 의약 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 조성물 중의,

상기 계면 활성제의 농도가 0.01 체적% 이상 2.0 체적% 이하인, 의약 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 조성물 중의,

상기 계면 활성제의 농도가 0.01 체적% 이상 0.5 체적% 이하인, 의약 조성물.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 방사성 핵종이 ^{89}Zr인, 의약 조성물.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 방사성 핵종이 ^{225}Ac인, 의약 조성물.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항체가 인간화 항체인, 의약 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 복합체가, 상기 방사성 핵종이 킬레이트한 킬레이트제와 항체의 복합체인, 의약 조성물.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 킬레이트제 1분자가, 상기 항체 1분자에 대하여 부위 특이적으로 복합화하고 있는, 의약 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 조성물 중의 상기 항체의 농도가 상기 킬레이트제와 복합화하고 있는 항체와, 상기 킬레이트제와 복합화하고 있지 않은 항체의 총 농도인, 의약 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 조성물 중의 상기 항체의 농도가 0.4mg/mL 이상 2mg/mL 이하인, 의약 조성물.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 조성물 중의 상기 항체의 농도가 0.5mg/mL 이상 1.5mg/mL 이하인, 의약 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 조성물 중의 pH가 5 이상 8 이하인, 의약 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 액상의 방사성 의약 조성물, 특히 방사성 핵종과 뮤신 서브타입 5AC에 특이적으로 결합하는 항체의 복합체를 유효 성분으로서 함유하는 액상의 의약 조성물에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 뮤신은 동물의 상피세포 등으로부터 분비되는 점액의 주성분이며 분자량 100만 내지 1000만의 당을 다량으로 포함하는 당단백질이다. 뮤신에는 상피세포 등이 산생하는 분비형 뮤신과, 소수성의 막 관통 부위를 가지며 세포막에 결합한 상태로 존재하는 막 결합형 뮤신이 있다. 뮤신의 코어 단백은 총칭해서 MUC라 불리고 있으며, 코어 단백을 코드하는 유전자는 적어도 20종류 있는 것으로 알려져 있다. 그 중 한 종인 뮤신 서브타입 5AC(MUC5AC)는 분비형 뮤신에 속한다.

[0003] MUC5AC는, 정상 조직에서는 위나 기관에서 발현하고 있지만, 췌장암에서의 과잉 발현이 보고되고 있고, 그 밖에도 갑상선암, 간장암, 대장암, 위암, 요로 상피암, 유방암, 자궁경암, 난소암, 자궁내막암, 담관암에서도 과잉 발현이 보고되고 있다. MUC5AC에 대한 항체에 대해서는, 인간 췌장암 세포주 SW1990의 xenograft로부터 정제한 췌장암 뮤신 분획을 항원으로 해서 제작한 마우스 항체(비특허문헌 1)나, 그것을 바탕으로 제작된 키메라 항체(특허문헌 1, 2, 비특허문헌 2, 3), 인간화 항체(특허문헌 3, 4)의 보고가 있다. 또한, MUC5AC에 대한 인간화 항체에 ^{225}Ac나 ^{89}Zr을 표지한 방사성 핵종 표지 항체가 보고되고 있다(특허문헌 5).

[0004] 방사성 핵종 표지 항체의 제제화에 있어서는, 비특허문헌 4에 ^{89}Zr과 배위자 화합물의 일종인 데페록사민이 결합한 파니투무맙을 제조하여, 0.9% 생리 식염수로 보존하는 방법이 개시되어 있다. 또한, 특허문헌 6에는, 방사성 핵종으로 표지된 펩티드나 단백질의 방사선 분해를 억제하기 위해서, 계면 활성제를 단독, 또는 NaCl, KCl, $NaCl_2$ 및 $MgCl_2$와 같은 염과 조합해서 사용하는 것이 개시되어 있다.

[0005] 특허문헌 7은, 방사성 핵종 표지 항체의 제제화에 관한 것은 아니지만, 아르기닌이, 장기간의 보존 동안 인터류

킨-2(IL-2)의 응집 및 탈아미드화를 감소시키기 위해서, 액체 IL-2 약학적 처방물에 있어서의 초기 안정화제로서 도움이 될 수 있는 것을 개시한다. 또한, 특허문헌 7에서는, 처방물 중에 폴리소르베이트 80을 함유하는 것은, 단백질 응집에 대한 그 효과에 의거하여 단독으로는 바람직하지 않은 것으로 인식되지만, 이 단백질을 함유하는 액체 처방물의 가공 동안에 유리하며, 동결 융해 및 기계 전단에 관련된 심한 단백질 손상에 대해 안정화하는 효과를 갖는 것이 개시되어 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 일본 특허공개 평7-203974호 공보

(특허문헌 0002) 일본 특허공개 평11-5749호 공보

(특허문헌 0003) 국제 공개 제2013/157102호

(특허문헌 0004) 국제 공개 제2013/157105호

(특허문헌 0005) 국제 공개 제2021/075544호

(특허문헌 0006) 일본 특허공표 평9-510454호 공보

(특허문헌 0007) 일본 특허공표 제2003-510368호 공보

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Japanese Journal of Cancer Research, 87, 977-984, 1996

(비특허문헌 0002) 닛폰 린쇼 64권, 증간호 1, 2006, 274-278

(비특허문헌 0003) Japanese Journal of Cancer Research, 90, 1179-1186, 1999

(비특허문헌 0004) J Labelled Comp Radiopharm. 57, 25-35, 2014

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은, 방사성 핵종으로 표지된, 뮤신 서브타입 5AC에 특이적으로 결합하는 항체(이하, 「방사성 항MUC5AC 특이 항체」라고도 칭한다)의 제제화를 검토하여, 특정한 아미노산을 사용함으로써 방사성 항MUC5AC 특이 항체가 안정화되는 것을 발견했다. 그러나, 보존 용기에의 방사능 흡착이 새로운 과제로서 본 발명자들에 의해 지견되었다. 보존 용기에의 방사능 흡착은, 방사성 항MUC5AC 특이 항체의 구성 요소 중, 항체와 방사성 핵종의 한쪽 또는 양쪽에 기인한다고 생각되었다. 항체에 기인한 경우, 방사성 항MUC5AC 특이 항체가 단량체로서 보존 용기에 흡착하는 경우와, 방사성 항MUC5AC 특이 항체끼리, 또는 제조상 혼입된 이물의 항MUC5AC 특이 항체와 유효 성분의 방사성 항MUC5AC 특이 항체가 응집해서 보존 용기에 흡착하는 경우가 있는 것이 생각되었다. 여기서, 이물의 항MUC5AC 특이 항체란, 항MUC5AC 특이 항체의 응집체, 단편화한 항MUC5AC 특이 항체 및 당쇄 구조가 변화한 이성화체가 생각된다. 방사성 항MUC5AC 특이 항체는, 인택트 항체나 비방사성의 약물을 항체에 부가한 항체 약물 복합체를 유효 성분으로 하는 일반적인 항체 의약과는 다르고, 제제 중에 포함되는 물질량으로서는 지극히 미량이기 때문에, 보존 용기에의 방사능 흡착은 제제의 약효에 영향을 미칠 우려가 있다.

[0009] 비특허문헌 4 및 특허문헌 6에 기재된 방사성 핵종 표지 항체의 제제화에 있어서는, 이러한 보존 용기에 대한 방사능 흡착의 과제는 인식되어 있지 않다.

[0010] 본 발명은 방사성 항MUC5AC 특이 항체를 유효 성분으로서 함유하는 의약 조성물의 처방에 관한 것으로, 보존 용기에의 방사능 흡착을 저감시킨 액상의 의약 조성물을 제공하는 것을 목적으로 한다.

[0011] 본 발명자들은, 상기 과제를 감안하여 예의 검토를 행한 결과, 소정 농도의 항MUC5AC 특이 항체 존재 하에, L-

아르기닌과, L-히스티딘과, 계면 활성제를 포함하는 처방에 의해 조제된 액상 의약 조성물에서는, 보존 용기에의 방사능 흡착이 저감되는 것을 알아내고, 본 발명을 완성하기에 이르렀다.

[0012] 본 발명의 일 양태는, 방사성 핵종과 항체의 복합체를 유효 성분으로서 함유하는 액상의 의약 조성물로서, 당해 항체가, 뮤신 서브타입 5AC에 특이적으로 결합하는 항체이고, 당해 조성물 중의 상기 항체의 농도가 0.1mg/mL 이상 5mg/mL 이하이고, 안정제와, 완충제와, 계면 활성제를 포함하는, 의약 조성물이다.

[0013] 또한, 이 양태에 있어서의 당해 조성물 중 항체 농도란, 방사성 핵종과 복합화된 항체와, 방사성 핵종으로 복합화되어 있지 않은 항체의 총 농도이다.

[0014] 본 발명에 따르면 방사성 액상 의약 조성물 중의 보존 용기에의 방사능 흡착이 억제되고 있으므로, 안정된 품질의 제제를 제공하는 것이 가능하게 된다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1은 본 발명의 액상 의약 조성물 중의 항체 농도를 설명하는 위한 모식도이다.

도 2는 계면 활성제(폴리소르베이트 80) 첨가에 의한, 방사성 항MUC5AC 특이 항체의 보존 용기에의 흡착 저감 효과를 조사한 결과를 도시하는 도면이다. 종축은 보존 용기로에의 항체의 흡착의 정도를, 횡축은 의약 조성물을 제조하고 난 후의 경과 일수를 나타낸다.

도 3은 제제를 냉장 보존으로 육로 수송한 후의, 플로 이미징의 결과를 도시하는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 명세서에서 사용하는 용어는, 특별히 언급하지 않는 한, 당해 기술 분야에서 통상 사용되는 의미로 사용할 수 있다.

[0017] (1) 의약 조성물

[0018] 본 발명은 방사성 핵종과 항체의 복합체(이하, 본 발명의 복합체라고도 칭한다)를 유효 성분으로서 함유하는 액상의 의약 조성물(이하, 본 발명의 액상 의약 조성물이라고도 칭한다)을 제공한다.

[0019] 여기서, 본 발명의 액상 의약 조성물 및 본 발명의 복합체에 포함되는 항체는, 뮤신 서브타입 5AC(MUC5AC)에 특이적으로 결합하는 항체(이하, 본 발명의 항MUC5AC 특이 항체라고도 칭한다)이다. 또한, 본 명세서에서는, 해당 항체가 방사 표지된 경우에는, 「방사성」과 구별해서 표기한다.

[0020] 본 발명의 액상 의약 조성물은, 유효 성분으로서의 본 발명의 복합체에 더하여, L-아르기닌 및 L-히스티딘을 포함하고, 또한 계면 활성제를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0021] 본 발명의 방사성 핵종과 항체의 복합체에서는, 항체와 방사성 핵종이 직접 연결되어 있어도 된다. 또한, 본 발명의 항체와 방사성 핵종의 복합체에서는, 항체와 방사성 핵종이 링커를 개재해서 연결되어 있어도 된다. 이 경우, 방사성 핵종을 방사성 금속 핵종으로 하고, 이 방사성 금속 핵종이, 킬레이트제와 킬레이트(착체)를 형성하고 있어도 되고, 항체와 킬레이트제가, 링커를 개재하거나, 또는 링커를 개재하지 않고 연결되어 있어도 된다. 여기서, 연결은, 바람직하게는 공유 결합에 의한 연결일 수 있다.

[0022] (1-1) 방사성 핵종

[0023] 본 발명의 복합체에 포함되는 방사성 핵종은, α 입자, 포지트론, β선 또는 γ선을 방출하는 방사성 핵종이다. α 입자를 방출하는 방사성 핵종으로서, Bi-212, Bi-213, At-211, Ac-225, Th-227이 예시된다. 또한, 포지트론을 방출하는 방사성 핵종으로서, F-18, Cu-64, Ga-68, Y-86, Zr-89가 예시된다. 또한, β선을 방출하는 방사성 핵종으로서, Cu-64, Y-90, I-131 또는, Lu-177이 예시된다. 또한, γ선을 방출하는 방사성 핵종으로서, I-123, Tc-99m 또는 In-111이 예시된다. 본 발명의 복합체에 포함되는 방사성 복합체, 나아가서는 본 발명의 액상 의약 조성물에 포함되는 방사성 핵종은 Zr-89, Y-90, Lu-177 또는 Ac-225인 것이, 보다 바람직하다.

[0024] 이들 방사성 핵종은, 소정의 핵반응에 의해 제조할 수도 있고, Eckert & Ziegler사, Thermo Fisher Scientific사, Institute of Isotopes사, POLATOM, Oak Ridge National Laboratory, Rosatom 등으로부터 시판되고 있는 제품을 입수할 수도 있다. 이와 같이 해서 제조 또는 입수한 방사성 핵종을 킬레이트화 등의 화학 처리를 가해서 항체와의 결합에 적합한 화학형으로 함으로써, 항체의 복합체 형성에 사용할 수 있다.

[0025] (1-2) 항MUC5AC 특이 항체

[0026] 본 발명의 복합체에 포함되는 항MUC5AC 특이 항체는, 뮤신 서브타입 5AC에 특이적으로 결합하는 면역 글로불린이다. 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체는, 폴리클로날 항체여도 되고, 모노클로날 항체여도 되지만, 모노클로날 항체가 바람직하다. 항체의 유래는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 비인간 동물의 항체, 비인간 포유 동물의 항체 및 인간 항체를 들 수 있으며, 바람직하게는 인간, 래트, 마우스 및 토끼의 항체를 예시할 수 있다. 항체가 인간 이외의 종에서 유래하는 경우에는, 주지의 기술을 사용하여, 키메라화 또는 인간화하는 것이 바람직하지만, 본 발명에 사용되는 항체는, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체여도 된다. 본 발명에서 사용되는 항체는, 예를 들어 IgG이고, 예를 들어 IgG1, IgG2(예를 들어, IgG2a 및 IgG2b), IgG3 또는 IgG4일 수 있다.

[0027] 바람직하게는, 해당 항체는, MUC5AC에 특이적으로 결합하는 능력을 갖는 인간화 항체이고, 안정된 물성을 갖고 또한 종양 집적성이 우수하다. 해당 항체는 그 항원 결합 단편으로서 사용되어도 되고, 이러한 양태도 본원 발명에 포함된다. 구체적으로는 후술하는 특정한 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역을 포함하고, 소망에 따라 적절한 중쇄 정상 영역과 경쇄 정상 영역을 갖는다. 본 명세서에 있어서 「항원 결합 단편」이란 본 발명에서 사용되는 인간화 항체의 일부를 포함하는 항체 단편이며, 또한 MUC5AC와의 결합능을 갖는 것을 의미한다. MUC5AC와의 결합능을 갖는 한, 항원 결합 단편을 구성하는 폴리펩티드에 포함되는 아미노산의 수는 특별히 한정되는 것은 아니다.

[0028] 하기에 본 발명에서 사용되는 인간화 항체의 중쇄 가변 영역으로서 바람직한 아미노산 서열을 나타낸다. 중쇄 가변 영역 1(H01), 중쇄 가변 영역 2(H02), 중쇄 가변 영역 3(H03) 및 중쇄 가변 영역 4(H04)는, 본 명세서에 첨부한 서열표의 서열번호 1 내지 4에, 각각 상당한다. 밑줄을 그은 부위는 CDR 부위이다.

【중쇄 가변 영역 1 (H01)】
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVR
QAPGKGLEWVSTISNSGRYTYFPDSVKGRFTISRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTALYYCTRHLDYANYDAMDYWGQG
TLVTVSS
【중쇄 가변 영역 2 (H02)】
LVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFSNYGMSWIR
QAPGKGLEWVSTISNSGRYTYFPDSVKGRFTISRDNAK
NSLYLQMNSLRAEDTALYYCTRHLDYANYDAMDYWGQG
TLVTVSS
【중쇄 가변 영역 3 (H03)】
LVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMSWVR
QAPGKGLEWVATISNSGRYTYFPDSVKGRFTISRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRHLDYANYDAMDYWGQG
TLVTVSS
【중쇄 가변 영역 4 (H04)】
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFSNYGMSWVR
QAPGKGLEWVSTISNSGRYTYFPDSVKGRFTISRDNSR
NTLYLQMNTLRAEDTAVYYCTRHLDYANYDAMDYWGQG
TPVTVSS

[0029]

[0030] 하기에 본 발명에 있어서 인간화 항체의 경쇄 가변 영역으로서 바람직한 아미노산 서열을 나타낸다. 경쇄 가변 영역 1(L01), 경쇄 가변 영역 2(L02), 경쇄 가변 영역 3(L03) 및 경쇄 가변 영역 4(L04)는, 본 명세서에 첨부한 서열표의 서열번호 5 내지 8에, 각각 상당한다. 밑줄을 그은 부위는 CDR 부위이다.

【중쇄 가변 영역 1 (L01)】
DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSVTTSDFSYMH
WYQQKPGKAPKLLIYLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK
【중쇄 가변 영역 2 (L02)】
DVVMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASKSVTTSDFSYMH
WYQQKPGQAPKLLIYLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFATYYCQHSREFPWTFGQGTKLEIK
【중쇄 가변 영역 3 (L03)】
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASKSVTTSDFSYMH
WYQQKPGKSPKLLIYLASNLESGVPSRFSGSGSGTDFS
LTISSLQPEDFATYYCQHSREFPWTFGGGTKVEIK
【중쇄 가변 영역 4 (L04)】
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASKSVTTSDFSYLH
WYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFT
LTISSLQAEDVAVYYCQHSREFPWTFGGGTKLEIK

[0031]

[0032] 바꿔 말하면, 본 발명에 있어서 바람직한 MUC5AC 특이 항체의 중쇄 가변 영역은 서열번호 1 내지 서열번호 4의 어느 하나로 표현되는 아미노산 서열을 포함하고, 경쇄 가변 영역은 서열번호 5 내지 서열번호 8의 어느 하나로 표현되는 아미노산 서열을 포함한다. 즉 본 발명에서 사용되는 MUC5AC 특이 항체는, 상기에서 설명한 4개의 중쇄 가변 영역(H01 내지 H04)의 어느 하나와 4개의 경쇄 가변 영역(L01 내지 L04)의 어느 하나의 조합을 포함한다.

[0033] 본 발명에 있어서 적합한 항MUC5AC 특이 항체는 중쇄 가변 영역이 H01, H03 또는 H04이고, 또한 경쇄 가변 영역이 L01 내지 L04의 어느 하나인 인간화 항체이다.

[0034] 본 발명에 있어서 가장 적합한 항MUC5AC 특이 항체는 중쇄 가변 영역이 H01이며 경쇄 가변 영역이 L03인 항체이다.

[0035] 본 발명에 있어서 항MUC5AC 특이 항체의 중쇄 가변 영역은, 서열번호 1 내지 서열번호 4로 표현되는 아미노산 서열에 의해 규정되는 것에 한정되지 않고, 기능을 유지하고 있는 변이체도 포함한다. 즉 서열번호 1 내지 서열번호 4로 표현되는 아미노산 서열과 90% 이상, 바람직하게는 95% 이상, 96% 이상 혹은 97% 이상, 더욱 바람직하게는 98% 이상, 가장 바람직하게는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 변이한 중쇄 가변 영역도, 본 발명의 경쇄 가변 영역과 조합되었을 때 MUC5AC와의 결합능을 갖는 한 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체의 중쇄 가변 영역으로서 사용할 수 있다.

[0036] 본 명세서에 있어서 아미노산 서열의 동일성이란, 대상으로 하는 2개의 단백질간의 아미노산 서열의 동일성을 말하며, 당해 기술 분야에 있어서 공지된 수학적 알고리즘을 사용해서 제작된 아미노산 서열의 최적의 얼라인먼트에 있어서 일치하는 아미노산 잔기의 비율(%)에 의해 표현된다. 아미노산 서열의 동일성은, 시각적 검사 및 수학적 계산에 의해 결정할 수 있고, 당업자에게 주지의 호몰로지 검색 프로그램(예를 들어, BLAST, FASTA)이나 서열 정렬 프로그램(예를 들어, ClustalW)), 혹은 유전 정보 처리 소프트웨어(예를 들어, GENETYX[등록상표]) 등을 사용해서 산출할 수 있다. 본 명세서에 있어서의 아미노산 서열의 동일성은, 구체적으로는 DDBJ(DNA DataBank of Japan)의 웹 사이트에서 공개되어 있는 계통 해석 프로그램 ClustalW(http://clustalw.ddbj.nig.ac.jp/index.php?lang=ja)를 사용하여, 초기 설정의 조건(Version2.1, Alignment type:slow, DNA Weight Matrix: Gonnet, GAP OPEN:10, GAP EXTENSION:0.1)에서 구할 수 있다.

[0037] 이에 더하여, 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체의 중쇄 가변 영역으로서, 서열번호 1 내지 서열번호 4로 표현되는 아미노산 서열에 있어서, 10개 이하, 바람직하게는 8개 이하, 더욱 바람직하게는 5개 이하, 가장 바람직하게는 3개 이하(3개, 2개 혹은 1개)의 아미노산이 결실, 치환, 또는 부가한 아미노산 서열을 포함하는 변이한 중쇄 가변 영역도, 본 발명의 경쇄 가변 영역과 조합되었을 때 MUC5AC와의 결합능을 갖는 한, 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체의 중쇄 가변 영역으로서 사용할 수 있다.

[0038] 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체의 경쇄 가변 영역은, 서열번호 5 내지 서열번호 8로 표현되는 아미노산 서열에 한정되지 않고, 기능을 보유 지지하고 있는 변이체도 포함한다. 즉 서열번호 5 내지 서열번호 8로 표현되는 아미노산 서열과 90% 이상, 바람직하게는 95% 이상, 96% 이상 혹은 97% 이상, 더욱 바람직하게는 98% 이상, 가장 바람직하게는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 변이한 경쇄 가변 영역도, 본 발명의 중쇄 가변 영역과 조합되었을 때 MUC5AC와의 결합능을 갖는 한 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체의 경쇄 가변 영역으로서 사용된다.

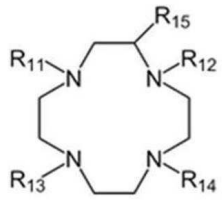
[0039] 이에 더하여, 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체의 경쇄 가변 영역으로서, 서열번호 5 내지 서열번호 8로 표현되는 아미노산 서열에 있어서 10개 이하, 바람직하게는 8개 이하, 더욱 바람직하게는 5개 이하, 가장 바람직하게는 3개 이하(3개, 2개 혹은 1개)의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가한 아미노산 서열을 포함하는 변이한 경쇄 가변 영역도, 본 발명의 중쇄 가변 영역과 조합되었을 때 MUC5AC와의 결합능을 갖는 한, 본 발명에서 사용되는 MUC5AC 특이 항체의 경쇄 가변 영역으로서 사용된다.

[0040] 본 발명에서 사용되는 항MUC5AC 특이 항체는 본 기술 분야에서 일반적으로 실시되어 있는 방법 또는 거기에 준한 방법에 의해 제조할 수 있다. 구체적으로는, 국제 공개 제2021/075544호 및 국제 공개 제2021/075545호에 기재되는 수순으로 행할 수 있다.

[0041] (1-3) 킬레이트제

[0042] 본 발명에 있어서 킬레이트제는, 방사성 핵종이 배위하는 부위를 구조 중에 갖는 것이면 특별히 한정되지 않지만, 바람직하게는 방사성 핵종이 배위하는 부위인 킬레이트부와 항체의 복합화를 가능하게 하기 위한 치환기를 갖는다. 킬레이트부로서, 예를 들어 CB-TE2A(1,4,8,11-테트라아자비시클로[6.6.2]헥사데칸-4,11-디아세트산), CDTA(시클로헥산-트랜스-1,2-디아민테트라-아세트산), CDTPA(4-시아노-4-[[(도데실티오)티옥소메틸]티오]-펜탄산), DOTA(1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산), DOTMA((1R,4R,7R,10R)-α,α',α'',α'''-테트라메틸-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산), DOTAM(1,4,7,10-테트라키스(카르바모일메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸), DOTA-GA(α-(2-카르복시에틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산), DOTA-GA-NHS, DOTP(((1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라일)테트라키스(메틸렌))테트라포스폰산), DOTPA(1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라프로피온산), 1,4,7,10-테트라키스(피리딘-2-일메틸)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸(L^{py}), p-SCN-Bn-DOTA(S-2-(4-이소티오시아나토벤질)-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸테트라아세트산), MeO-DOTA-NCS(1-[(2-메톡시-5-이소티오시아나토페닐)-카르복시메틸]-4,7,10-트리스카르복시 5 메틸-1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸), EuK-106, DOTMP(1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라키스(메틸렌포스폰산)), DOTA-4AMP(1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라키스(아세타미도메틸렌포스폰산), DO2P(테트라아자시클로도데칸 디메탄포스폰산), 데페록사민(DFO), DTPA(글리신, N,N-비스[2-[비스(카르복시메틸)아미노]에틸]-), DTPA-BMA(5,8-비스(카르복시메틸)-11-[2-(메틸아미노)-2-옥소에틸]-3-옥소-2,5,8,11-테트라아자트리데칸-13-오익 애시드), EDTA(2,2',2",2'''-(에탄-1,2-디일비스(아자네트리일))테트라아세트산), NOTA(1,4,7-트리아자시클로노난-1,4,7-트리아세트산), NOTP(1,4,7-트리아자시클로노난-1,4,7-트리일트리스(메틸렌포스폰산), TETPA(1,4,8,11-테트라아자시클로테트라데칸-1,4,8,11-테트라프로피온산), TETA(1,4,8,11-테트라아자시클로테트라데칸-N,N',N",N'''-테트라아세트산), TTHA(3,6,9,12-테트라키스(카르복시메틸)-3,6,9,12-테트라아자테트라데칸디오익 애시드), HEHA(1,2,7,10,13-헥사아자시클로옥타데칸-1,4,7,10,13,16-헥사아세트산), 1,2-HOPO(N,N',N",N'''-테트라(1,2-디히드로-1-히드록시-2-옥소피리딘-6-카르보닐)-1,5,10,14-테트라아자테트라데칸), PEPA(1,4,7,10,13-펜타아자시클로펜타데칸-N,N',N",N''',N''''-펜타-아세트산), H4옥타파(N,N'-비스(6-카르복시-2-피리딜메틸)-에틸렌디아민-N,N'-디아세트산), H2비스파2(6,6'-({9-히드록시-1,5-비스(메톡시카르보닐)-2,4-디(피리딘-2-일)-3,7-디아자비시클로[3.3.1]노난-3,7-디일}비스(-메틸렌))디피콜린산), H2데드파(1,2-[{6-(카르복시)-피리딘-2-일}-메틸아미노]에탄), H2매크로파(6-(1,4,10,13-테트라옥사-7,16-디아자시클로옥타데칸-N,N'-메틸)피콜린산), H5데카파(N,N"-비스(6-카르복시-2-피리딜메틸)-디에틸렌트리아민-N,N',N"-트리아세트산), H6포스파(N,N'-(메틸렌포스포네이트)-N,N'-[6-(메톡시카르보닐)피리딘-2-일]-메틸-1,2-디아미노에탄), HP-DO3A(히드록시프로필테트라아자시클로도데칸트리아세트산), 포르피린, DO3A(1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7-트리아세트산트리나트륨염), DO3A-NHS(1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산모노-N-히드록시숙신이미드에스테르)라고 하는 것을 들 수 있지만, 하기 식 (A)로 표시되는 화합물에서 유래하는 구조를 갖는 것이 바람직하다.

(A)

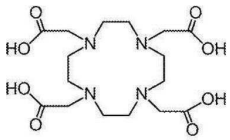


[0043]

[0044] (식 (A) 중, R_{11}, R_{13} 및 R_{14}는, 각각 독립적으로 $-(CH_2)_pCOOH$, $-(CH_2)_pC_5H_4N$, $-(CH_2)_pPO_3H_2$, $-(CH_2)_pCONH_2$ 혹은 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$를 포함하는 기이고, R_{12} 또는 R_{15}의 한쪽이, 수소 원자, 카르복실기, 또는 탄소수 2 혹은 3의 카르복시알킬기이고, 다른 쪽이, 상기 항체와 복합화하기 위한 치환기이고, p가 0 이상 3 이하의 정수이고, R_{12}가 상기 항체와 복합화하기 위한 치환기일 때 R_{15}는 수소 원자이고, R_{12}가 상기 항체와 복합화하기 위한 치환기가 아닐 때 R_{15}는 상기 항체와 복합화하기 위한 치환기이다.)

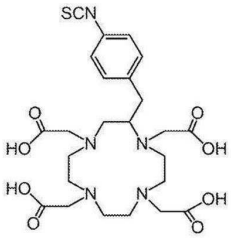
[0045] 식 (A)로 표시되는 구체적인 구조로서는, 이하의 식 (A-1) 내지 (A-12)로 표시되는 화합물에서 유래하는 구조를 들 수 있다.

(A-1)



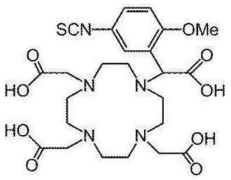
DOTA

(A-2)



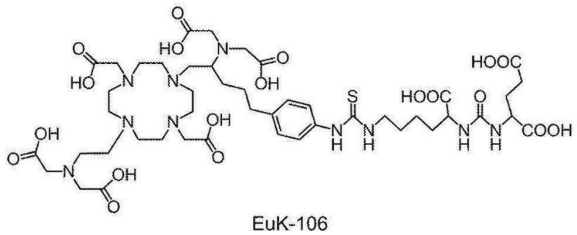
p-SCN-Bn-DOTA

(A-3)



MeO-DOTA-NCS

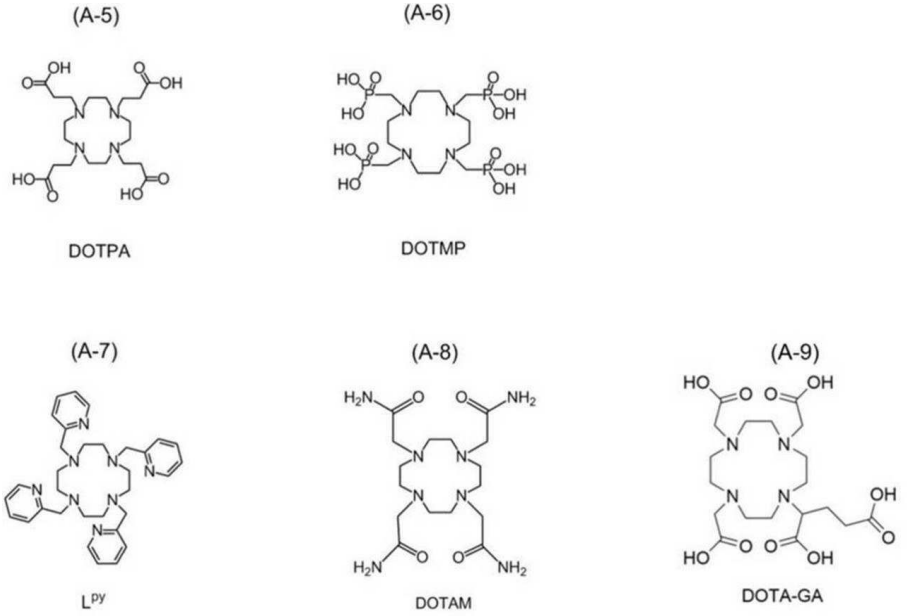
(A-4)



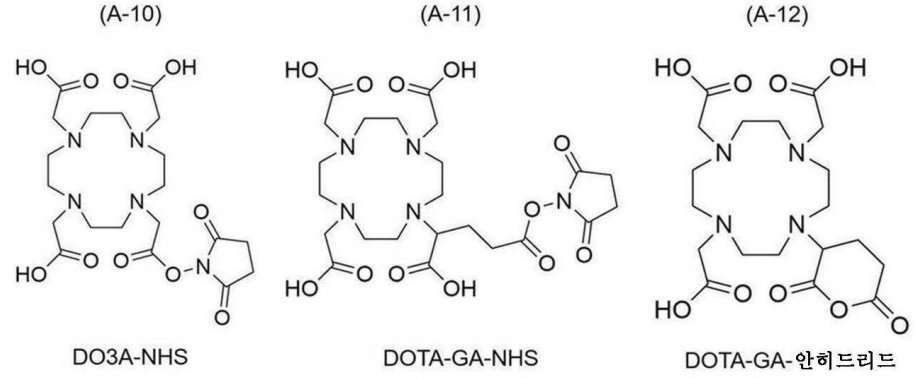
EuK-106

[0046]

[0047]



[0048]



[0049] 킬레이트부와, 항체와 복합화를 가능하게 하기 위한 치환기와의 연결 부위는, 아미드 결합이거나, 티오우레아 결합인 것이 바람직하지만, 안정성의 관점에서는 아미드 결합이 보다 바람직하다.

[0050] 아미드 결합은, 예를 들어 상기 식 (A-10)이나 (A-11)의 N-히드록시숙신이미드에스테르(NHS)기, 또는 상기 (A-12)의 2,6-디옥소테트라히드로-2H-피라닐기와, 제1급 아민의 반응에 의해 형성된다. 또한, 티오우레아 결합은, 상기 식 (A-2), (A-3)으로 표시되는 화합물의 이소티오시아네이트기와, 제1급 아민 또는 말레이미드기의 반응에 의해 형성된다.

[0051] 본 발명의 복합체가, 방사성 핵종이 킬레이트한 킬레이트제와 항체의 복합체인 경우, 킬레이트제는, 항체 1분자에 대하여, 적어도 1분자 이상 구비하고 있으면 되지만, 1분자 이상 8분자 이하 구비하는 것이 바람직하다. 단, 항체 그 자체의 활성(항원 인식 작용, 중화 작용, 보체 활성화 작용 및/또는 옵소닌 작용)을 유지하는 관점에서, 항체의 Fc 영역(정상 영역)에 부위 특이적으로 킬레이트제가 도입되는 것이 바람직하고, 본 발명에 있어서, 킬레이트제는, 항체 1분자에 대하여 1분자 또는 2분자 구비하고 있는 것이 보다 바람직하다. 보다 바람직하게는, 킬레이트제는, 항체 1분자에 대하여 1분자 구비하고 있다.

[0052] 본 발명의 복합체에 있어서, 킬레이트제는, 링커를 개재해서 항체와 접속되어 있어도 된다. 링커로서는, 치환 또는 비치환된 알킬기, 치환 또는 비치환된 헤테로알킬기, 폴리에틸렌글리콜(PEG)기, 펩티드, 당쇄, 디술피드기 및 이들의 조합 등을 들 수 있다.

[0053] 바람직하게는, 킬레이트제는, 링커를 개재하여, 항체를 부위 특이적으로, 보다 바람직하게는 Fc 영역에 수식하고 있다. 이 경우, 링커는, 하기 식 (i)로 표시되는, 13 이상 17 이하의 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드(이하, 「항체 수식 펩티드」라고도 한다.)를 포함하고, 또한 가교제로 수식된 항체 수식 펩티드와 항체의 가교 반응에 의해 형성되어 있는 것을 사용할 수 있다. 또한, 식 (i)에 있어서, 아미노산 서열의 지면 좌측이 N 말단측을 나타내고, 아미노산 서열의 지면 우측이 C 말단측을 나타내는 것으로 하여 설명한다. 킬레이트제가 링커

로서 항체 수식 펩티드를 개재해서 항체와 접속되는 경우, 킬레이트제와 항체 수식 펩티드가 연결하는 위치는 특별히 한정하지 않지만, 예를 들어 항체 수식 펩티드의 N 말단 또는 C 말단, 바람직하게는 N 말단에 직접 또는 간접적으로 연결할 수 있다. 또한, 항체 수식 펩티드의 C 말단은 그 안정성의 향상 등을 위해서 아미드화 등의 수식을 받고 있어도 된다.

[0054] $(Xa)-Xaa_1-(Xb)-Xaa_2-(Xc)-Xaa_3-(Xd)$ … (i)

[0055] 식 (i) 중, Xa, Xb, Xc 및 Xd는, 각각 연속하는 a개의 X, 연속하는 b개의 X, 연속하는 c개의 X, 및 연속하는 d개의 X를 나타내고,

[0056] X는 측쇄에 티올기 및 할로아세틸기의 어느 것도 갖고 있지 않은 아미노산 잔기이고,

[0057] a, b, c 및 d는 각각 독립적으로 1 이상 5 이하의 정수이고, 또한 $a+b+c+d \leq 14$를 충족하고

[0058] Xaa_1 및 Xaa_3은, 각각 독립적으로,

[0059] 측쇄에 티올기를 갖는 아미노산에서 유래하는 아미노산 잔기를 나타내고, 또는,

[0060] 한쪽이 측쇄에 티올기를 갖는 아미노산에서 유래하는 아미노산 잔기를 나타내고, 다른 쪽이 측쇄에 할로 아세틸기를 갖는 아미노산에서 유래하는 아미노산 잔기를 나타내고, Xaa_1과 Xaa_3이 연결되어 있고,

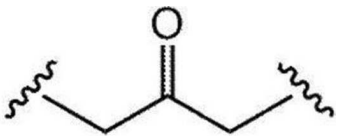
[0061] Xaa_2는 리신 잔기, 아르기닌 잔기, 시스테인 잔기, 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기, 2-아미노 수베르산, 또는 디아미노프로피온산이고, 가교제로 수식되어 있다.

[0062] 상기 식 (i)에 있어서의 X에 포함될 수 있는 아미노산 잔기로서는, 예를 들어 글리신, 알라닌, 페닐알라닌, 프롤린, 아스파라긴, 아스파르트산, 글루탐산, 아르기닌, 히스티딘, 세린, 트레오닌, 티로신, 메티오닌 등의 아미노산에서 유래하는 것을 들 수 있고, X는 동일한 종류의 아미노산을 포함하는 아미노산 잔기여도 되고, 각각 다른 종류의 아미노산을 포함하는 아미노산 잔기여도 된다.

[0063] 식 (i) 중의 a, b, c 및 d는, 상술한 범위의 수이면 특별히 제한은 없지만, 펩티드와 항체의 결합 안정성의 관점에서, $a+b+c+d \leq 14$를 조건으로 하여, a는 바람직하게는 1 이상 3 이하의 정수, b는 바람직하게는 1 이상 3 이하의 정수, c는 바람직하게는 3 이상 5 이하의 정수 및 d는 바람직하게는 1 이상 3 이하의 정수이다.

[0064] Xaa_1 및 Xaa_3은, 측쇄에 티올기를 갖는 아미노산에서 유래하는 아미노산 잔기이고, 해당 아미노산은 각각 동일해도 되고, 상이해도 된다. 측쇄에 티올기를 갖는 아미노산으로서는, 예를 들어 시스테인, 호모 시스테인을 들 수 있다. 이러한 아미노산 잔기는, 디술피드 결합에 의해 결합하고 있거나, 또는 이하의 식 (4)에 나타내는 링커를 개재하여, 술피드기가 결합되어 있는 것이 바람직하다. 식 (4) 중, 파선 부분은 술피드기와의 결합 부분을 나타낸다.

[0065] (4)



[0066] Xaa_1 및 Xaa_3은, 상술한 조합 대신에, Xaa_1 및 Xaa_3 중 한쪽이 측쇄에 티올기를 갖는 아미노산에서 유래하는 아미노산 잔기이고, 다른 쪽이 측쇄에 할로 아세틸기를 갖는 아미노산에서 유래하는 아미노산 잔기여도 된다. 이들은, 티오에테르 결합을 개재해서 결합하고 있다. 할로 아세틸기는, 그 말단이 요오드 등의 할로겐으로 치환되어 있어, 다른 쪽의 측쇄에 있어서의 티올기와의 반응에 의해 할로겐이 탈리하여, 티오에테르 결합이 형성된다.

[0067] 식 (i)로 표시되는 항체 수식 펩티드의 구체적인 아미노산 서열은, 예를 들어 국제 공개 제2016/186206호, 국제 공개 제2017/217347호 및 국제 공개 제2018/230257호에 기재된 펩티드를 들 수 있고, 이들을 사용할 수도 있다.

[0068] 이들 중, 항체 수식 펩티드의 아미노산 서열로서, 이하의 서열 (1) 내지 (14)의 어느 하나를 갖고 있는 것이 바람직하고, 이하의 서열 (1), (2), (13) 또는 (14)를 갖고 있는 것이 더욱 바람직하다. 이하의 아미노산 서열 (1) 내지 (14)에 있어서, (Xaa_2)는 리신 잔기, 시스테인 잔기, 아스파르트산 잔기, 글루탐산 잔기, 2-아미노수베르산, 또는 디아미노프로피온산을 나타내고, (Xaa_1) 및 (Xaa_3)은 모두 호모 시스테인 잔기를 나타낸다. 또한,

이하의 아미노산 서열 (1) 내지 (14) 중, (Xaa_1), (Xaa_2) 및 (Xaa_3) 이외의 아미노산은 1문자 약호로 표기한다.

[0069] (1) DCAYH(Xaa_2)GELVWCT (서열번호 9)

[0070] (2) GPDCAYH(Xaa_2)GELVWCTFH (서열번호 10)

[0071] (3) RCAYH(Xaa_2)GELVWCS (서열번호 11)

[0072] (4) GPRCAYH(Xaa_2)GELVWCSFH (서열번호 12)

[0073] (5) SPDCAYH(Xaa_2)GELVWCTFH (서열번호 13)

[0074] (6) GDDCAYH(Xaa_2)GELVWCTFH (서열번호 14)

[0075] (7) GPSCAYH(Xaa_2)GELVWCTFH (서열번호 15)

[0076] (8) GPDCAYH(Xaa_2)GELVWCSFH (서열번호 16)

[0077] (9) GPDCAYH(Xaa_2)GELVWCTHH (서열번호 17)

[0078] (10) GPDCAYH(Xaa_2)GELVWCTFY (서열번호 18)

[0079] (11) SPDCAYH(Xaa_2)GELVWCTFY (서열번호 19)

[0080] (12) SDDCAYH(Xaa_2)GELVWCTFY (서열번호 20)

[0081] (13) RGNCAYH(Xaa_2)GQLVWCTYH (서열번호 21)

[0082] (14) G(Xaa_1)DCAYH(Xaa_2)GELVWCT(Xaa_3)H (서열번호 22)

[0083] (1-4) 복합체의 제조 방법

[0084] 본 발명의 복합체 제조 방법에 대해서 설명한다.

[0085] 본 발명의 항MUC5AC 특이 항체는, 완충액 속에서 유지할 수 있다.

[0086] 본 발명의 복합체는, 예를 들어 항MUC5AC 특이 항체의 티로신 잔기에 방사성 핵종으로서 방사성 요오드(^{123}I, ^{131}I)를 도입해서 조제하는 방법이 있을 수 있다. 또한, 본 발명의 항MUC5AC 특이 항체에 방사성 할로겐 핵종이 안정적으로 결합하는 치환기를 도입하고, 방사성 할로겐 이온과 반응시켜 조제하는 방법이 있을 수 있다.

[0087] 본 발명의 복합체가, 방사성 핵종이 킬레이트한 킬레이트제와 항체의 복합체인 경우, 본 발명의 복합체 제조 방법은, 킬레이트제와 항체를 콘주게이션하는 콘주게이션 공정과, 방사성 핵종과 킬레이트제의 착체를 형성하는 착체 형성 공정(방사성 핵종이 킬레이트한 킬레이트제의 제조 공정)의 2개의 공정으로부터 제조할 수 있다. 콘주게이션 공정은, 착체 형성 공정 전이어도 되고 착체 형성 공정의 후여도 된다.

[0088] 콘주게이션 공정에 있어서는, 다양한 항체의 화학 수식법이 사용된다. 구체적으로는, (a) 내지 (f)의 방법을 들 수 있다.

[0089] (a) 아민 커플링법(N-히드록시숙시미딜(NHS)기로 활성화된 카르복실기를 갖는 킬레이트제 또는 킬레이트를 사용해서 항체의 리신 잔기의 아미노기를 수식하는 방법)

[0090] (b) 항체의 힌지 부위에 있는 폴리펩티드 쇄간의 디술피드 결합(SS 결합)을 부분적으로 환원함으로써 발생하는 술프히드릴(SH)기에 대하여, SH기에 반응성을 갖는 말레이미드기를 갖는 킬레이트제 또는 링커로 수식하는 방법

[0091] (c) 유전자 공학에 의한 아미노산 변이에 의해, 항체에 새롭게 도입된 시스테인에 대하여 말레이미드기를 갖는 킬레이트제 또는 링커를 수식하는 방법

[0092] (d) 유전자 공학에 의한 아미노산 변이에 의해, 항체에 새롭게 도입된 아지드화 리신의 아지드기에, 클릭 반응을 이용하여, 알킨(예를 들어 디벤질시클로옥탄: DBCO)을 갖는 킬레이트제 또는 링커를 수식하는 방법

[0093] (e) 트랜스글루타미나아제를 이용하여, 항체가 특정한 위치에 도입된 글루타민에, 리신의 측쇄를 갖는 킬레이트제 또는 링커를 수식하는 방법

[0094] (f) 전술한 (i)로 표시되는 항체 수식 펩티드를 갖는 킬레이트제 또는 링커를, 항체의 Fc 영역을 부위 특이적으로 수식하는 방법

[0095] 착체 형성 공정에서는, 킬레이트제에 방사성 핵종을 킬레이트(착체 형성)시킨다. 여기서 사용하는 방사성 핵종은, 착체 형성 효율을 높이는 관점에서, 전리 가능한 양태로 사용하는 것이 바람직하고, 이온의 양태로 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 착체 형성 공정은, 방사성 핵종과의 착체 형성이 가능하면, 킬레이트제에의 방사성 핵종의 첨가 순서는 묻지 않는다. 예를 들어, 물을 주체로 하는 용매에, 방사성 핵종 이온이 용해한 용액을 방사성 핵종으로서 사용할 수 있다.

[0096] 착체 형성 후, 여과 필터, 멤브레인 필터, 다양한 충전제를 충전한 칼럼, 크로마토그래피 등을 사용하여, 얻어진 착체를 정제해도 된다.

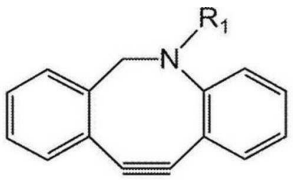
[0097] 본 발명의 킬레이트 복합체의 제조 방법은, 착체 형성 공정 후에 콘주게이션 공정이 실행되는 것이 바람직하다.

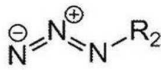
[0098] 보다 바람직한 양태에 있어서, 착체 형성 공정 (A)에서는, 방사성 핵종과 클릭 반응 가능한 제1 원자단을 항체와 복합화를 가능하게 하기 위한 치환기로서 갖는 킬레이트제 사이에서 착체를 형성한다. 이어서, 콘주게이션 공정 (B)에서는, 전술한 (i)로 나타내는 항체 수식 펩티드와, 클릭 반응 가능한 제2 원자단을 갖는 항체 수식 링커를 사용하여, Fc 영역을 부위 특이적으로 수식된 펩티드 수식 항체와, 공정 (A)에서 얻어진 착체 형성된 킬레이트제 사이에서 클릭 반응을 실행하고, 본 발명의 킬레이트 복합체를 얻는다.

[0099] 이하 공정 (A) 및 (B)에 대해서, 상세히 설명한다.

[0100] 클릭 반응 가능한 제1 원자단과 제2 원자단의 조합으로서는, 클릭 반응의 종류에 따라 적절한 것이 선택되고, 예를 들어 알킨과 아지드의 조합, 1,2,4,5-테트라진과 알켄의 조합 등을 들 수 있다. 이들 원자단은, 제1 원자단이 상기 원자단의 조합 중 하나를 갖고, 제2 원자단이 상기 원자단의 조합 중 제1 원자단과 다른 하나가 되는 원자단을 갖고 있으면 된다. 킬레이트제 및 항체의 안정성과, 이들의 결합 효율의 향상을 양립하는 관점에서, 킬레이트 링커가 알킨이며 또한 항체 수식 링커가 아지드이거나, 또는 킬레이트 링커가 1,2,4,5-테트라진이며 또한 항체 수식 링커가 알켄인 것이 바람직하다. 이러한 원자단의 조합에 의한 클릭 반응의 구체예로서, 휘스겐 환화 부가 반응, 혹은 역전자 요청형 딜스알더 반응 등을 들 수 있다.

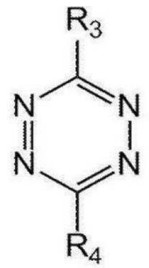
[0101] 클릭 반응 가능한 원자단의 조합의 구체예로서는, 이하의 식에 나타내는 바와 같이, 제1 원자단의 알킨으로서 디벤질시클로옥틴(DBCO)을 포함하는 원자단(식 (1a))과, 제2 원자단의 아지드로서 아지드기를 포함하는 원자단(식 (2a))의 조합, 혹은 제1 원자단이 1,2,4,5-테트라진을 포함하는 원자단(식 (1b))과, 제2 원자단의 알켄으로서 트랜스-시클로옥텐(TCO)을 포함하는 원자단(식 (2b))의 조합을 들 수 있다. 바람직하게는 식 (1a)와 식 (2a)의 조합이다.

(1a) 

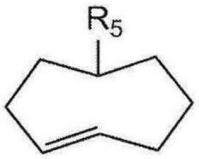
(2a) 

[0102] 디벤질시클로옥탄 아지드

[0103] (식 중, R_1은 킬레이트제와의 연결 부위를 나타내고, R_2는 항체에 있어서의 항체 수식 펩티드와의 연결 부위를 나타낸다.)

(1b) 

1,2,4,5-테트라진

(2b) 

트랜스-시클로옥탄

[0104]

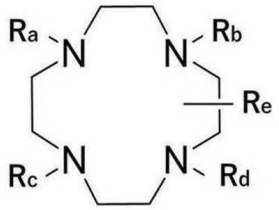
[0105] (식 중, R_3 및 R_4 중 한쪽이 킬레이트제 또는 항체에 있어서의 항체 수식 펩티드의 어느 한쪽과의 연결 부위를 나타내고, 다른 쪽이 수소 원자, 메틸기, 페닐기 또는 피리딜기를 나타내고, R_5는 R_3 또는 R_4에 따라서 킬레이트제 또는 항체에 있어서의 항체 수식 펩티드의 어느 한쪽과의 연결 부위를 나타낸다.)

[0106] 제1 원자단의 알킨으로서, 상기 식 (1a)로 표시되는 디벤질시클로옥틴(DBCO)을 포함하는 원자단을 사용하는 경우에는, 시판되고 있는 다양한 DBCO 시약을 들 수 있다. 구체적으로는, 예를 들어 DBCO-C6-애시드, 디벤질시클로옥탄-아민, 디벤질시클로옥탄말레이미드, DBCO-PEG 애시드, DBCO-PEG-NHS 에스테르, DBCO-PEG-알코올, DBCO-PEG-아민, DBCO-PEG-NH-Boc, 카르복시로다민-PEG-DBCO, 술포로다민-PEG-DBCO, TAMRA-PEG-DBCO, DBCO-PEG-비오틴, DBCO-PEG-DBCO, DBCO-PEG-말레이미드, TCO-PEG-DBCO, DBCO-mPEG 등을 선택할 수 있지만, 바람직하게는 디벤질시클로옥탄 말레이미드를 사용한다.

[0107] 공정 (A)에서는, 보다 바람직하게는, 이하의 식 (ii)로 표시되는 구조를 갖는 킬레이트제를 사용한다.

[0108] A-B-C … (ii)

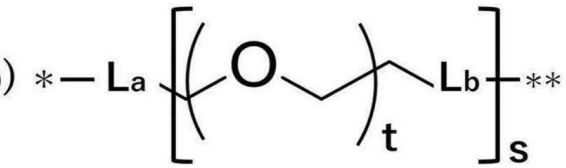
[0109] 식 (ii) 중, A는 이하의 식 (iia)로 표시되는 킬레이트부이다.

(iia) 

[0110]

[0111] 식 (iia) 중, Ra, Rb 및 Rc는, 독립적으로 $-(CH_2)_pCOOH$, $-(CH_2)_pC_5H_4N$, $-(CH_2)_pPO_3H_2$, $-(CH_2)_pCONH_2$ 혹은 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$를 포함하는 기이고, p는 0 이상 3 이하의 정수이고, Rd 또는 Re의 어느 한쪽이, B와의 결합 부위(이하의 식 (iib) 중의 *)이고, 다른 쪽이 수소 원자이거나, $-(CH_2)_pCOOH$, $-(CH_2)_pC_5H_4N$, $-(CH_2)pPO_3H_2$, $-(CH_2)_pCONH_2$ 혹은 $-(CHCOOH)(CH_2)_pCOOH$를 포함하는 기이고, p는 0 이상 3 이하의 정수이다.

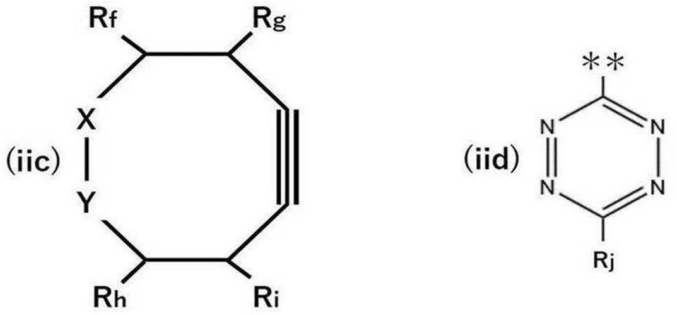
[0112] 식 (ii) 중, B는 이하의 식 (iib)로 표시된다.

(iib) 

[0113]

[0114] 식 (iib) 중, La 및 Lb는, 독립적으로 적어도 아미드 결합 또는 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, t는 0 이상 30 이하의 정수이고, s는 0 또는 1이고, *은 A와의 결합 부위이고, **은 C와의 결합 부위이다.

[0115] 식 (ii) 중, C는 이하의 식 (iic)로 표시되는 알킨 유도체 또는 식 (iid)로 표시되는 테트라진 유도체의 어느 것이다.

[0116] 

[0117] (식 (iic) 중, X는 CHRk-** 또는 N-**이고, Y는 CHRk 또는 C=O이고, Rk는 독립적으로 수소 원자이거나, 탄소수 1 이상 5 이하의 알킬기이고, X가 CHRk-**이고, Y가 CHRk인 경우에는, Rk 부분이 하나가 되어 시클로알킬기를 형성해도 되고, Rf, Rg, Rh 및 Ri는, 독립적으로 수소 원자, 할로겐 원자, 탄소수 1 이상 5 이하의 알킬기이고, Rf와 Rg가 하나가 되고, 혹은 Rh와 Ri가 하나가 되어 탄화수소환을 형성해도 되고, **은 B와의 결합 부위를 나타내고, 식 (iid) 중, **은 B와의 결합 부위를 나타내고, Rj는 수소 원자, 메틸기, 페닐기 또는 피리딜기를 나타낸다.)

[0118] 공정 (A)에서 사용되는 킬레이트제로서, 상기 식 (iia) 중, Ra 내지 Rd가 $-(CH_2)_pCOOH$이고, p가 1이고, Re가 B와의 결합 부위인 DOTA 유도체; 또는 Ra 내지 Rc가 $-(CH_2)_pCOOH$이고, p가 1이고, Rd가 B와의 결합 부위이고, Re가 수소 원자인 DO3A 유도체 혹은 DOTA-GA 유도체의 어느 것이 보다 바람직하다.

[0119] 식 (ii) 중, A가 상기 DOTA 유도체인 경우, B는 La가 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, s가 0 또는 1이고, s가 1인 경우에는, t가 0 이상 30 이하의 정수이고, Lb가 아미드 결합 혹은 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, C는 식 (iic)로 표시되는 알킨 유도체이고, 식 (iic) 중, X가 N－**이고, Y가 CHRk이고, Rk가 수소 원자이고, Rf와 Rg가 하나가 되어 벤젠환을 형성하고 있고, Rh와 Ri가 하나가 되어 벤젠환을 형성하고 있고, **은 B와의 결합 부위인, DOTA-PEGt-DBCO 유도체; 또는 B는 La가 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, s가 0 또는 1이고, s가 1인 경우에는, t가 0 이상 30 이하의 정수이고, Lb가 아미드 결합 혹은 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, C는 식 (iid)로 표시되는 테트라진 유도체인, DOTA-PEGt-Tz 유도체가 보다 더욱 바람직하다.

[0120] 식 (ii) 중, A가 상기 DO3A 유도체인 경우, B는 La가 아미드 결합 혹은 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, s가 0 또는 1이고, s가 1인 경우에는, t가 0 이상 30 이하의 정수이고, Lb가 아미드 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, C는 식 (iic)로 표시되는 알킨 유도체이고, 식 (iic) 중, X가 N－**이고, Y가 CHRk이고, Rk가 수소 원자이고, Rf와 Rg가 하나가 되어 벤젠환을 형성하고 있고, Rh와 Ri가 하나가 되어 벤젠환을 형성하고 있고, **은 B와의 결합 부위인, DO3A-PEGt-DBCO 유도체가 보다 더욱 바람직하다.

[0121] 식 (ii) 중, A가 상기 DOTA-GA 유도체인 경우, B는 La가 아미드 결합 혹은 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, s가 0 또는 1이고, s가 1인 경우에는, t가 0 이상 30 이하의 정수이고, Lb가 아미드 결합을 포함하는 혹은 티오우레아 결합을 포함하는 탄소수 1 이상 50 이하의 결합 링커이고, C는, 식 (iic)로 표시되는 알킨 유도체이고, 식 (iic) 중, X가 N-**이고, Y가 CHRk이고, Rk가 수소 원자이고, Rf와 Rg가 하나가 되어 벤젠환을 형성하고 있고, Rh와 Ri가 하나가 되어 벤젠환을 형성하고 있고, **은 B와의 결합 부위인, DOTA-GA-PEGt-DBCO 유도체가 보다 더욱 바람직하다.

[0122] 킬레이트제와 방사성 핵종의 몰 비율은, 킬레이트부/방사성 핵종으로서, 하한이, 10/1 이상이 바람직하고, 100/1 이상이 보다 바람직하고, 500/1 이상이 더욱 바람직하고, 상한이, 10000/1 이하가 바람직하고, 8000/1 이하가 보다 바람직하고, 7000/1 이하가 더욱 바람직하고, 예를 들어 100/1 이상 7000/1 이하의 범위가 바람직하고, 보다 바람직하게는 500/1 이상 7000/1 이하의 범위이다.

[0123] 착체 형성 반응은, 용매 하에 행하는 것이 바람직하다. 용매로서는, 예를 들어 물, 생리 식염수, 또는 아세트산나트륨 완충액, 아세트산암모늄 완충액, 인산 완충액, 인산 완충 생리 식염수, 트리스히드록시메틸아미노메탄 완충액(트리스 완충액), 4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술폰산 완충액(HEPES 완충액), 혹은 테트라메틸암모늄 아세트산 완충액 등의 완충액 등을 사용할 수 있다.

[0124] 용매의 액량은 특별히 한정되지 않지만, 제조 공정에 있어서의 실용성의 관점에서, 공정 (A)의 개시 시에 있어서, 하한은, 0.01mL 이상, 바람직하게는 0.1mL 이상, 보다 바람직하게는 1.0mL 이상, 더욱 바람직하게는 10mL 이상, 보다 더욱 바람직하게는 100mL 이상이고, 상한은, 바람직하게는 1000mL 이하, 보다 바람직하게는 100mL 이하, 더욱 바람직하게는 10mL 이하, 보다 더욱 바람직하게는 1.0mL 이하이고, 예를 들어 0.01mL 이상 100mL 이하의 범위이다.

[0125] 착체 형성 반응의 반응액 중의 킬레이트제의 농도는, 목적으로 하는 킬레이트제의 수율의 관점에서, 각각 독립적으로 공정 (A)의 개시 시에 있어서, 하한은, 바람직하게는 0.001μmol/L 이상, 보다 바람직하게는 0.01μmol/L 이상, 더욱 바람직하게는 0.1μmol/L 이상, 보다 바람직하게는 1μmol/L 이상이고, 상한은, 바람직하게는 1000μmol/L 이하, 보다 바람직하게는 100μmol/L 이하, 더욱 바람직하게는 10μmol/L 이하이고, 예를 들어 1μmol/L 이상 100μmol/L 이하의 범위를 들 수 있다.

[0126] 착체 형성 반응의 온도로서는, 예를 들어 실온(25℃)이어도 되고, 가열 조건 하여도 되지만, 킬레이트제의 분해 억제와 착체의 형성 효율 향상을 양립하는 관점에서, 하한은, 바람직하게는 20℃ 이상, 보다 바람직하게는 30℃ 이상, 더욱 바람직하게는 35℃ 이상, 보다 더욱 바람직하게는 37℃ 이상, 특히 바람직하게는 45℃이상이고, 상한은, 바람직하게는 150℃ 이하, 보다 바람직하게는 120℃ 이하, 더욱 바람직하게는 100℃ 이하, 보다 더욱 바람직하게는 90℃ 이하이고, 예를 들어 30℃이상 100℃ 이하의 범위가 바람직하고, 보다 바람직하게는 35℃이상 90℃ 이하의 범위이다.

[0127] 반응 시간은, 상술한 반응 온도인 것을 조건으로 하여, 하한은, 바람직하게는 5분 이상, 보다 바람직하게는 10분 이상, 더욱 바람직하게는 20분 이상, 보다 더욱 바람직하게는 30분 이상, 특히 바람직하게는 45분 이상이고, 상한은, 바람직하게는 180분 이하, 보다 바람직하게는 150분 이하, 더욱 바람직하게는 120분 이하, 보다 더욱 바람직하게는 90분 이하, 특히 바람직하게는 60분 이하이고, 예를 들어 10분 이상 150분 이하의 범위가 바람직하고, 보다 바람직하게는 10분 이상 60분 이하의 범위이다.

[0128] 공정 (B)에서 사용되는 항체는, 전술한 (i)에서 나타내는 항체 수식 펩티드와, 클릭 반응 가능한 제2 원자단을 갖는 항체 수식 링커를 사용하여, 상기 「(1-2)항체」의 항에서 상세히 설명한 인간화 항체의 Fc 영역(정상 영역)이 부위 특이적으로 수식된 펩티드 수식 항체이다.

[0129] 항체 수식 펩티드는 천연 아미노산 및 비천연 아미노산을 묻지 않고 아미노산을 조합해서 사용하여, 예를 들어 액상 합성법, 고상 합성법, 자동 펩티드 합성법, 유전자 재조합법 및 파지 디스플레이법 등의 펩티드 합성법에 제공함으로써 제조할 수 있다. 펩티드의 합성에 있어서, 필요에 따라, 사용되는 아미노산의 관능기의 보호를 행해도 된다. 이들은, 예를 들어 국제 공개 제2017/217347호 및 국제 공개 제2018/230257호에 기재된 방법에 준해서 행할 수 있다.

[0130] 항체 수식 링커는, 항체 수식 펩티드와, 이하의 식 (S1)로 표시되는 링커가 결합한 것이어도 된다.

[0131] $*-((L_1)_m-Z)_k-L_2-AG_2$ … (S1)

[0132] (식 중, *은 펩티드의 N 말단 또는 C 말단과의 결합 부위를 나타내고,

[0133] L_1은 폴리에틸렌글리콜(PEG) 링커부이고,

[0134] m은 1 이상 50 이하의 정수이고,

[0135] Z는 $(L_1)_m$과 L_2를 결합하는 제2 링커부이고,

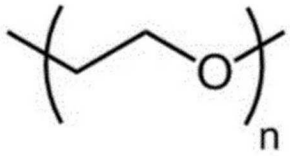
[0136] k는 0 또는 1이고,

[0137] L_2는 제2 PEG 링커부이고,

[0138] AG_2는 제2 원자단이다.)

[0139] 상기 식 (S1)에 있어서, Z의 구조는 $(L_1)_m$과 L_2를 서로 결합하는 링커 구조이면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 1 이상 5 이하의 아미노산 잔기를 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이 경우, Z에 포함되는 아미노산 서열은, 시스테인 잔기를 포함하는 것이 바람직하고, 시스테인 잔기의 티올기와 말레이미드기의 결합에 의해 형성된 티오에테르기를 개재해서 L_2와 결합하고 있는 것이 보다 바람직하다.

[0140] 본 발명에 있어서, L_2를 구성하는 PEG 링커부는, 이하의 식 (P2)에 나타내는 구조를 갖고 있는 것이 바람직하다. 식 (P2) 중, n은 정수이고, 바람직하게는 1 이상 50 이하, 보다 바람직하게는 1 이상 20 이하, 더욱 바람직하게는 2 이상 10 이하, 한층 바람직하게는 2 이상 6 이하이다.

(P2) 

[0141]

[0142] PEG 링커부의 구조의 일단부는, 시판되고 있는 PEG화 시약에서 유래하는 구조 또는 PEG화할 때 통상 사용되는 시약에서 유래하는 구조에 의해 수식되어 있어도 되고, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 디글리콜산 또는 그의 유도체, 말레이미드 또는 그의 유도체에서 유래하는 구조가 예시된다.

[0143] 항체 수식 링커로의 상기 제2 원자단의 도입 방법은, 상술한 방법에 의해 원하는 아미노산 서열을 갖는 항체 수식 펩티드를 얻은 후, 해당 펩티드를, 용해 보조제 및 환원제, 그리고 필요에 따라 산을 첨가한 용액에 용해하고, 해당 용액에 제2 원자단으로서, 아지드기 또는 트랜스-시클로옥텐(TCO)을 포함하는 원자단의 유기 용매 용액을 첨가하고, 실온에서 교반함으로써 도입하는 방법을 들 수 있다.

[0144] 제2 원자단으로서 아지드기를 포함하는 원자단을 도입하는 경우에는, 시판 중인 아지드기 도입 시약을 사용하여, 통상의 방법에 따라, 펩티드의 N 말단 또는 C 말단에 직접 아지드기를 도입하거나, 또는 상술한 링커 구조를 개재해서 아지드기를 포함하는 원자단을 도입할 수 있다. 사용되는 아지드기 도입 시약으로서는 예를 들어, 실릴 아지드, 인산 아지드, 알킬암모늄 아지드, 무기 아지드, 술포닐 아지드, 또는 PEG 아지드 등을 들 수 있다.

[0145] 또한, 제2 원자단으로서 TCO를 포함하는 원자단을 도입하는 경우에는, TCO를 포함하는 시판 중인 클릭 케미스트리용 시약을 사용하여, 통상의 방법에 따라, 펩티드의 N 말단 또는 C 말단에 직접 TCO를 도입하거나, 또는 상술한 링커 구조를 개재해서 TCO를 포함하는 원자단을 도입할 수 있다.

[0146] 항체 수식 펩티드와 항체를 결합시켜서, 펩티드 수식 항체를 얻는 방법은, 예를 들어 가교제를 사용해서 행할 수 있다. 가교제란, 항체 수식 펩티드와, 항체를 공유 결합에 의해 연결시키기 위한 화학 물질이며, 그 예로서, 디숙신이미딜 글루타레이트(DSG), 디숙신이미딜 수베레이트(DSS) 등의 숙신이미딜기를 바람직하게는 2 이상 포함하는 가교제, 아디프이미드산디메틸 등의 이미드산 부분을 바람직하게는 2 이상 포함하는 화합물 또는 그의 염을 포함하는 가교제, 그리고 3,3'-디티오비스프로피온이미드산디메틸, 디티오비스숙신이미딜프로피온산 등의 디술피드 결합을 갖는 화합물 또는 그의 염을 포함하는 것 등을 들 수 있다. 이러한 가교제를 사용함으로써, 항체 수식 펩티드에 있어서의 Xaa_2의 아미노산 잔기와, 항체 사이에서 가교 반응을 일으킬 수 있다. 항체에 있어서의 가교 반응은, 예를 들어 항체로서 본 발명의 인간화 항체를 사용한 경우, Xaa_2의 아미노산 잔기와, 본 발명의 인간화 항체에 있어서의 Eu 넘버링에 따르는 Lys246 또는 Lys248 잔기와의 사이에 부위 특이적으로 발생한다. 이들 Lys 잔기는, 본 발명의 인간화 항체에 있어서의 Fc 영역에 존재한다.

[0147] 항체 수식 펩티드와 항체의 결합 방법은, 예를 들어 상술한 항체 수식 펩티드와, 항체와, 가교제와, 필요에 따라 촉매를, 적절한 완충액 중에 10℃ 이상 30℃ 이하의 환경 하에서 분산시켜서 행할 수 있다. 반응 시간은 10분 이상 2시간 정도 이하로 할 수 있다. 펩티드와 항체의 반응 시에 있어서의 몰 비율은, 항체/펩티드로서, 하한은, 바람직하게는 1/5 이상, 보다 바람직하게는 1/3 이상, 더욱 바람직하게는 1/1.5 이상이고, 상한은, 바람직하게는 20/1 이하, 보다 바람직하게는 10/1 이하, 더욱 바람직하게는 5/1 이하, 보다 더욱 바람직하게는 1/1 이하, 특히 바람직하게는 1/1.7 이하이고, 예를 들어 1/5 이상 20/1 이하의 범위가 바람직하고, 보다 바람직하게는 1/1.5 이상 1/1.7 이하이다.

[0148] 이상의 공정을 거쳐서 얻어지는 펩티드 수식 항체는, 항체 1분자에 대하여 항체 수식 펩티드 1분자가 결합한 항체(이하, 「1가 항체」라고 한다)와, 항체 1분자에 대하여 항체 수식 펩티드 2분자가 결합한 항체(이하, 「2가 항체」라고 한다)를 임의의 비율로 함유하는 혼합물이지만, 이것을 그대로 이후의 공정에 제공해도 되고, 여과 필터, 멤브레인 필터, 다양한 충전제를 충전한 칼럼, 각종 크로마토그래피 등의 방법으로, 미수식 항체와, 1가 항체와, 2가 항체를 분리 정제한 다음 어느 것의 가수의 항체만을 이후의 공정에 제공해도 된다. 정제의 결과, 미수식 항체와 다른 가수의 항체의 분리를 할 수 없는 경우에는, 이들을 함유하는 혼합물로 하여 이후의 공정에

제공해도 된다.

[0149] 미수식 항체와, 1가 항체와, 2가 항체를 분리 정제하는 경우에는, 상기의 어느 정제 방법에서 분리 정제해도 되지만, 다양한 충전제를 충전한 칼럼을 사용하는 것이 바람직하고, 항체 등의 단백질의 분리 정제에 적합한 충전제를 충전한 칼럼을 사용하는 것이 보다 바람직하다.

[0150] 항체 등의 단백질의 분리 정제에 적합한 충전제로서는, 항체와 특이적으로 결합하는, 이뮤노글로불린 결합성 단백질이 수불용성의 기재를 포함하는 담체가 고정화된 것이면 특별히 한정되지 않는다. 이뮤노글로불린 결합성 단백질로서는, 예를 들어 프로테인 A, 프로테인 G, 프로테인 L 등을 들 수 있다. 이들 이뮤노글로불린 결합성 단백질은, 유전자 조작한 재조합형이어도 되고, 재조합형의 이뮤노글로불린 결합성 단백질로서는, 유전자 개변형 프로테인 A, 유전자 개변형 프로테인 G, 또는 프로테인 A의 도메인과 프로테인 G의 도메인의 융합형을 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 적어도 1가 항체와 2가 항체의 분리 정제에 적합한 충전제로서는 프로테인 A가 보다 바람직하고, 유전자 개변형 프로테인 A가 더욱 바람직하다. 여기서, 프로테인 A 및 프로테인 G는, 항체 분자인 IgG와 특이적으로 결합을 할 수 있는 단백질 분자이며, 분리된 미생물 유래의 차이에 의해, 프로테인 A(황색 포도 구균:Staphylococcus aureus) 혹은 프로테인 G(연쇄 구균: Streptococcus속)로 분류되는 것이다. 유전자 개변형 프로테인 A는, 프로테인 A의 IgG 결합 도메인(E, D, A, B 및 C 도메인) 중 어느 것의 도메인의 아미노산 잔기에 대하여 적어도 하나의 아미노산 변이를 도입한 프로테인 A이며, 본 발명에 있어서는, 적어도 하나의 아미노산 변이를 도입한 도메인을 다량체화시킨 유전자 개변형 프로테인 A가 바람직하고, 프로테인 A의 적어도 하나의 아미노산 변이를 도입한 A, B 또는 C 도메인의 다량체화시킨 것이 보다 바람직하고, 이량체 이상 오량체 이하로 다량체화시킨 것이 더욱 보다 바람직하다. 아미노산 변이는, 유전자의 전사 번역 공정에서의 아미노산 서열 또는 아미노산을 코드하는 염기 서열의 치환, 결실, 삽입 등의 어느 변이에서 유래하는 것이어도 된다. 특별히 한정되지 않는 일례로서 국제 공개 제2003/080655호, 국제 공개 제2011/118699호에 기재되는 유전자 개변형 프로테인 A 등을 들 수 있다.

[0151] 이뮤노글로불린 결합성 단백질이 고정화되는 수불용성의 기재로서는, 글래스 비즈, 실리카겔 등의 무기 담체, 가교 폴리비닐알코올, 가교 폴리아크릴레이트, 가교 폴리아크릴아미드, 가교 폴리스티렌 등의 합성 고분자나, 결정성 셀룰로오스, 가교 셀룰로오스, 가교 아가로오스, 가교 덱스트란 등의 다당류를 포함하는 유기 담체, 나아가 이들의 조합에 의해 얻어지는 유기-유기, 유기-무기 등의 복합 담체 등을 들 수 있다.

[0152] 상술한 유전자 개변형 프로테인 A를 충전제로 해서 충전한 칼럼으로서는, 예를 들어 가부시키가이샤 가네카의 KanCap(등록상표) 시리즈(KANEKA KanCapA prepacked column), GE 헬스케어사의 HiTrap(등록상표) 시리즈(HiTrap Mabselect, HiTrap Mabselect SuRe, HiTrap Mabselect Xtra), GE 헬스케어사의 HiScreen 시리즈(HiScreen MabselectSuRe), 또는 도소 가부시키가이샤의 TOYOPEARL(등록상표) 시리즈(TOYOPEARL AF-rProteinA-650F) 등으로서, 시판되고 있다.

[0153] 공정 (B)에 있어서의 클릭 반응에 사용하는 펩티드 수식 항체를 분리 정제하는 경우를 예로, 이하에 설명한다.

[0154] 펩티드 수식 항체는, 항체 수식 펩티드를 구비하는 링커(항체 수식 링커)에 의해 항체의 Fc 영역을 부위 특이적으로 수식해서 수식 항체를 얻는 항체 수식 공정과, 상술한 이뮤노글로불린 결합성 단백질이 고정화된 담체를 사용해서 수식 항체를 정제하는 항체 정제 공정을 거쳐서, 공정 (B)에 있어서의 클릭 반응에 제공된다. 또한, 항체 정제 공정은, 담체에 보유 지지되는 수식 항체를 담체에 보유 지지시키는 보유 지지 공정과, 담체에 보유 지지되지 않은 수식 항체를 세정하는 세정 공정, 보유 지지 공정에서 담체에 보유 지지된 수식 항체를 용출하는 용출 공정을 더 포함한다.

[0155] 보다 구체적으로는, 항체 수식 공정에 있어서, 항체 수식 링커가 수식되지 않는 미수식 항체와, 1가 항체와, 2가 항체를 포함하는 혼합물로서 수식 항체를 취득하고, 항체 정제 공정에 있어서, 미수식 항체, 1가 항체 및 2가 항체의 이뮤노글로불린 결합성 단백질에 대한 각각의 상호 작용의 차이를 이용하여, 미수식 항체 및 1가 항체를 상대적으로 많이 포함하는 제1 항체 조성물과, 2가 항체를 상대적으로 많이 포함하는 제2 항체 조성물을 각각 용출한다. 즉, 항체 정제 공정 중, 보유 지지 공정 및 세정 공정에서는, 이뮤노글로불린 결합성 단백질과의 상호 작용의 정도가 낮은 펩티드 수식 항체(2가 항체)를 상대적으로 많이 포함하는 제2 항체 조성물이 용출되어, 항체 정제 공정 중 용출 공정에서는, 이뮤노글로불린 결합성 단백질과의 상호 작용의 정도가 높은 펩티드 수식 항체(미수식 항체 및 1가 항체)를 상대적으로 많이 포함하는 제1 항체 조성물이 용출된다. 여기서, 「미수식 항체 및 1가 항체를 상대적으로 많이 포함한다」란, 제1 항체 조성물에 포함되는 미수식 항체 및 1가 항체의 합계량이, 해당 항체 조성물에 포함되는 2가 항체보다 많은 것을 의미하고, 바람직하게는 해당 항체 조성물에 포함되는 미수식 항체 및 수식 항체의 전량(100%)에 대하여, 미수식 항체 및 1가 항체의 합계량이 55% 이상,

63% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 또는 90% 이상인 것을 의미하고, 「2가 항체를 상대적으로 많이 포함한다」란, 제2 항체 조성물에 포함되는 2가 항체의 양이 해당 항체 조성물에 포함되는 1가 항체보다 많은 것을 의미하고, 바람직하게는 해당 항체 조성물에 포함되는 미수식 항체 및 수식 항체의 전량(100%)에 대하여, 2가 항체의 양이 55% 이상, 63% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 또는 90% 이상인 것을 의미한다.

[0156] 보유 지지 공정에서는, 항체 수식 공정에서 얻어진 미수식 항체, 1가 항체 및 2가 항체의 혼합물을 함유하는 용액을 칼럼에 첨가하여, 담체에 보유 지지되는 미수식 항체 및 1가 항체를 칼럼에 보유 지지시키고, 담체에 보유 지지되지 않는 2가 항체를 통과시킨다. 여기서, 보유 지지 공정에서 통과한 용액은 제2 항체 조성물의 일부를 구성한다. 미수식 항체 및 1가 항체를 칼럼에 보유 지지하기 쉽게 하기 위해서, 또한 이들의 응집 혹은 변성을 방지하기 위해서, 펩티드 수식 항체의 혼합 용액을 적절한 희석 용매로 희석해서 칼럼에 첨가하는 것이 바람직하다. 희석 용매로서는, 펩티드 수식 항체가 용해하고, 용매 중에서 응집 또는 변성하기 어려운 용매이면 특별히 한정되지 않고, 물, 생리 식염수, 또는 아세트산나트륨 완충액, 아세트산암모늄 완충액, 인산 완충액, 인산 완충 생리 식염수, 2-아미노-2-(히드록시메틸)프로판-1,3-디올(트리스) 완충액, 2-[4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐]-에탄술폰산(HEPES) 완충액 등의 완충액 등을 사용할 수 있고, 상술한 어느 것의 완충액을 사용하는 것이 바람직하고, 아세트산나트륨 완충액을 사용하는 것이 보다 바람직하다. 희석 용매에 완충액을 사용하는 경우에는, 완충제의 농도는, 하한으로서 10mmol/L 이상, 바람직하게는 15mmol/L 이상, 보다 바람직하게는 20mmol/L 이상, 상한으로서 1000mmol/L 이하, 바람직하게는 500mmol/L 이하, 보다 바람직하게는 100mmol/L 이하이다. 또한, 2가 항체나 항체 수식 펩티드의 칼럼 담체로의 비특이적 결합의 저감의 관점에서, 용출 용매는 염화나트륨, 염화칼륨 등의 첨가제를 함유해도 된다. 용출 용매가 함유하는 첨가제의 농도는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 0.15mol/L를 사용할 수 있다.

[0157] 세정 공정에서는, 세정 용매를 사용해서 칼럼 내에 잔존하고 있는 수식 항체를 칼럼으로부터 용출한다. 상술한 보유 지지 공정에서 칼럼을 통과한 용액과, 세정 공정에서 칼럼으로부터 용출한 용액은, 2가 항체를 상대적으로 많이 포함하므로, 이들을 합하여 제2 항체 조성물로서 사용할 수 있다.

[0158] 세정 용매로서는, 펩티드 수식 항체가 용해하고, 용매 중에서 응집 또는 변성하기 어렵고, 적절한 pH 완충능을 갖는 완충액이면 특별히 한정되지 않고, 아세트산나트륨 완충액, 아세트산암모늄 완충액, 인산 완충액, 인산 완충 생리 식염수, 2-아미노-2-(히드록시메틸)프로판-1,3-디올(트리스) 완충액, 2-[4-(2-히드록시에틸)-1-피페라지닐]-에탄술폰산(HEPES) 완충액 등의 완충액 등을 사용할 수 있고, 상술한 어느 것의 완충액을 사용하는 것이 바람직하고, 아세트산나트륨 완충액을 사용하는 것이 보다 바람직하다. 세정 용매에 사용하는 완충제의 농도는, 하한으로서, 20mmol/L 이상, 바람직하게는 30mmol/L 이상, 상한으로서는 200mmol/L 이하, 바람직하게는 70mmol/L 이하이다. 또한, 세정 용매의 pH는, 하한으로서 4.0 이상, 바람직하게는 4.5 이상, 보다 바람직하게는 4.8 이상, 상한으로서 7.4 이하, 바람직하게는 6.0 이하, 보다 바람직하게는 5.2 이하이다. 또한, 2가 항체나 항체 수식 펩티드의 칼럼 담체로의 비특이적 결합의 저감의 관점에서, 용출 용매는 염화나트륨, 염화칼륨 등의 첨가제를 함유해도 된다. 용출 용매가 함유하는 첨가제의 농도는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 0.15mol/L를 사용할 수 있다.

[0159] 용출 공정에서는, 담체에 보유 지지된 수식 항체를 용출 용매를 사용해서 칼럼으로부터 용출한다. 즉 미수식 항체 및 1가 항체를 상대적으로 많이 포함하는 제1 항체 조성물을 용출 용매를 사용해서 칼럼으로부터 용출한다.

[0160] 용출 용매로서는, 아세트산나트륨 완충액, 아세트산암모늄 완충액, 시트르산 완충액 등의 완충액 등을 사용할 수 있다. 또한, 항체 수식 링커, 미수식 항체 및 수식 항체의 칼럼 담체로의 비특이적 결합의 저감의 관점에서, 용출 용매는 염화나트륨, 염화칼륨 등의 첨가제를 함유해도 된다. 용출 용매가 함유하는 첨가제의 농도는 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 0.15mol/L를 사용할 수 있다.

[0161] 용출 용매가 완충제를 포함하는 경우에는, 완충제의 농도는, 하한으로서, 20mmol/L 이상, 바람직하게는 30mmol/L 이상, 상한으로서는 200mmol/L 이하, 바람직하게는 70mmol/L 이하이다. 또한, 용출 용매의 pH는, 미수식 항체 및 1가 항체와, 이뮤노글로불린 결합성 단백질의 상호 작용을 약화시키기 위해서, 또한 항체의 변성 및 응집을 방지하는 관점에서, 하한으로서 pH 3.0 이상, 상한으로서 pH 4.2 이하가 바람직하다.

[0162] 항체 정제 공정에서 취득한 제1 항체 조성물 또는 제2 항체 조성물은, 그대로 이후의 공정 (B)에 있어서의 클릭 반응에 사용해도 되고, 함유하는 펩티드 수식 항체의 단백질 농도를 조절하고 나서 공정 (B)에 있어서의 클릭 반응에 사용해도 된다.

[0163] 공정 (B)에 있어서의 클릭 반응은, 킬레이트제가 갖는 클릭 반응 가능한 제1 원자단과, 펩티드 수식 항체가 갖는 클릭 반응 가능한 제2 원자단 사이에서 실행되는 것이다. 이러한 클릭 반응에 의해 킬레이트제와 항체를 연결하는 결합기(항체의 복합화를 가능하게 하는 치환기)가 형성된다.

[0164] 펩티드 수식 항체와 공정 (A)에서 얻어진 착체가 클릭 반응 가능하면, 이들의 첨가 순서는 묻지 않고, 예를 들어 용매를 수용한 반응 용기에, 해당 착체 및 해당 펩티드 수식 항체의 한쪽을 첨가하고, 이어서 다른 쪽을 첨가해서 반응시켜도 되고, 해당 킬레이트제 및 해당 항체의 한쪽을 용매에 분산한 분산액에 다른 쪽을 첨가해서 반응시켜도 된다. 혹은, 용매를 수용한 반응 용기에, 이들을 동시에 첨가해서 반응시켜도 된다.

[0165] 공정 (B)의 클릭 반응에 사용되는 용매로서는, 물을 포함하는 용매를 사용할 수 있고, 예를 들어 물, 생리 식염수, 또는 아세트산나트륨 완충액, 아세트산암모늄 완충액, 인산 완충액, 인산 완충 생리 식염수, 트리스 완충액, HEPES 완충액, 혹은 테트라메틸암모늄 아세트산 완충액 등의 완충액 등을 사용할 수 있다. 완충액을 사용하는 경우, 착체 및 항체의 안정성과, 이들의 결합 효율을 양립하는 관점에서, 25℃에 있어서의 pH를 바람직하게는 4.0 이상 10.0 이하, 더욱 바람직하게는 5.5 이상 8.5 이하로 한다.

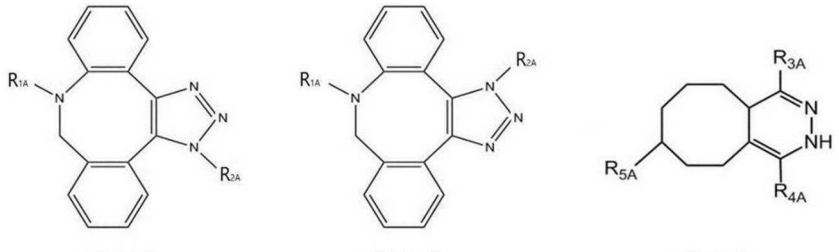
[0166] 반응액량은, 특별히 한정되지 않지만, 제조 공정에 있어서의 실용성의 관점에서, 공정 (B)의 개시 시에 있어서, 하한은 0.001mL 이상이 바람직하고, 0.01mL 이상이 보다 바람직하고, 0.1mL 이상이 더욱 바람직하고, 1mL 이상이 보다 더욱 바람직하고, 상한은 1000mL 이하가 바람직하고, 100mL 이하가 보다 바람직하고, 10mL 이하가 더욱 바람직하고, 1mL 이하가 보다 더욱 바람직하고, 예를 들어 0.001mL 이상 1000mL 이하의 범위가 바람직하고, 0.1mL 이상 10mL 이하의 범위가 보다 바람직하다.

[0167] 또한, 킬레이트제 및 항체의 반응액 중의 농도는, 각각 독립적으로 공정 (B)의 개시 시에 있어서, 하한으로서, 0.001㎛ol/L 이상이 바람직하고, 0.01㎛ol/L 이상이 보다 바람직하고, 0.1㎛ol/L 이상이 더욱 바람직하고, 1.0㎛ol/L 이상이 보다 더욱 바람직하고, 상한으로서, 1000㎛ol/L 이하가 바람직하고, 100㎛ol/L 이하가 보다 바람직하고, 예를 들어 0.1㎛ol/L 이상 1000㎛ol/L 이하의 범위가 바람직하고, 1㎛ol/L 이상 100㎛ol/L 이하의 범위인 것이, 목적으로 하는 킬레이트 복합체의 수량의 관점에서 보다 바람직하다.

[0168] 항체의 의도치 않은 변성을 방지하면서, 반응 효율을 높이는 관점에서, 공정 (B)에 있어서의 클릭 반응은, 반응 온도의 상한은, 50℃ 이하가 바람직하고, 40℃ 이하가 보다 바람직하다. 또한, 반응 온도의 하한은, 반응이 진행되는 온도이면 특별히 제한은 없지만, 15℃ 이상이 바람직하다. 클릭 반응의 반응 시간은, 상술한 반응 온도인 것을 조건으로 하여, 바람직하게는 5분 이상, 보다 바람직하게는 10분 이상이고, 24시간 이하가 바람직하고, 보다 바람직하게는 20시간 이하이고, 예를 들어 5분 이상 24시간 이하의 범위가 바람직하고, 보다 바람직하게는 10분 이상 20시간 이하의 범위이다.

[0169] 얻어진 킬레이트 복합체는, 이것을 그대로 사용해도 되고, 혹은 여과 필터, 멤브레인 필터, 다양한 충전제를 충전한 칼럼, 크로마토그래피 등을 사용해서 정제해도 된다.

[0170] 공정 (A) 및 (B)에 의해 제조되는 킬레이트 복합체는, MUC5AC에 특이적으로 결합하는 인간화 항체가 특정한 부위(예를 들어 항체의 Fc 영역의 리신 잔기)가 킬레이트제에 의해 특이적으로 수식된 것이다. 이 킬레이트 복합체는, 해당 항체 1분자에 대하여, 상기 킬레이트제를 1분자 또는 2분자 구비한다. 킬레이트제는, 링커를 개재하여, 본 발명의 항체 Fc 영역을 부위 특이적으로 수식하고 있다. 해당 링커는, 킬레이트제에 접속하는 킬레이트 링커, 해당 링커에 접속하는 제1 원자단, 제1 원자단과 클릭 반응할 수 있는 제2 원자단, 제2 원자단에 접속하는 항체 수식 링커(상기 식 (i)로 표시되는 항체 수식 펩티드를 포함한다)로 구성된다. 따라서, 해당 링커는, 제1 원자단과 제2 원자단에서 유래하는 화학 구조를 갖는다. 이러한 화학 구조로서는, 하기 식 (10a) 또는 (10b)로 표시되는 트리아졸 골격 함유 구조 또는 하기 식 (10c)로 표시되는 피리다진 골격 함유 구조가 생각된다. 식 (10a)와 식 (10b)는 이성체의 관계에 있기 때문에 임의의 비율로 포함되어 있어도 된다.

[0171] 

(10a) (10b) (10c)

[0172] 식 (10a) 및 식 (10b) 중, R_{1A}는 킬레이트 링커와의 결합 부위를 나타내고, R_{2A}는 항체 수식 링커와의 결합 부위를 나타낸다. 식 (10c) 중, R_{3A} 및 R_{4A} 중 한쪽은 수소 원자, 메틸기, 페닐기 또는 피리딜기를 나타내고, 다른 쪽은 킬레이트 링커와의 결합 부위를 나타내고, R_{5A}는 항체 수식 링커와의 결합 부위를 나타낸다.

[0173] (1-5) 액상 의약 조성물

[0174] 본 발명의 액상 의약 조성물은, 본 발명의 복합체, 즉 방사성 핵종과 항MUC5AC 특이 항체의 복합체를 포함하고, 대상의 생체 내에의 투여에 적합한 형태로 되어 있는 액상의 의약 조성물을 가리킨다. 여기서, 「액상」이란, 통상의 조건(예를 들어, 대기 중, 실온/상온)에서 액체상 또는 유체상인 것을 말하며, 약간의 점성을 갖는 상태도 포함된다. 구체적으로는, 용액, 현탁액, 분산액, 유상액 등을 들 수 있지만 이들에 한정되지 않는다. 액상 의약 조성물은, 예를 들어 상술한 방법으로 제조된 본 발명의 복합체를, 물을 주체로 하고, 또한 생체와 대략 등장의 용매에 용해시켜서 제조할 수 있다. 이 경우, 필요에 따라, 약학적으로 허용되는 다른 성분을 포함하고 있어도 된다.

[0175] 본 발명의 액상 의약 조성물에 있어서의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 원하는 효과를 발휘할 수 있는 농도이고, 0.1㎎/mL 이상, 바람직하게는 0.3㎎/mL 이상, 보다 바람직하게는 0.4㎎/mL 이상, 더욱 바람직하게는 0.5㎎/mL 이상이고, 5㎎/mL 이하, 바람직하게는 3㎎/mL 이하, 보다 바람직하게는 2㎎/mL 이하, 더욱 바람직하게는 1.5㎎/mL 이하이다. 본 발명의 일 양태로서는, 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 0.1㎎/mL 이상 5㎎/mL 이하, 바람직하게는 0.3㎎/mL 이상 3㎎/mL 이하, 보다 바람직하게는 0.4㎎/mL 이상 2㎎/mL 이하, 더욱 바람직하게는 0.5㎎/mL 이상 1.5㎎/mL 이하이다. 여기서, 본 발명의 복합체가, 방사성 핵종이 킬레이트한 킬레이트제와 항체의 복합체인 경우, 상기한 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 킬레이트제와 복합화하고 있는 항체와, 킬레이트제와 복합화하고 있지 않은 항체의 총 농도이다. 도 1은 본 발명의 액상 의약 조성물에 있어서의 항MUC5AC 특이 항체의 농도를 설명하기 위한 도면이다. A가 킬레이트 링커의 모식도이고, B가 방사성 핵종의 모식도이고, C가 A의 킬레이트 링커에 방사성 핵종이 착형성한 방사성 표지 킬레이터(중간체)의 모식도이고, D가 항체 수식 펩티드의 모식도이고, E가 미수식의 항MUC5AC 특이 항체(0가 항체)의 모식도이고, F가 항체 수식 펩티드 1분자로 수식된 항MUC5AC 특이 항체(1가 항체)의 모식도이고, G가 비표지의 킬레이트 링커와 항체 수식 펩티드가 클릭 반응에 의해 결합한 항MUC5AC 특이 항체(비표지 1가 항체)의 모식도이고, H가 방사성 핵종으로 표지된 킬레이트 링커와 항체 수식 펩티드가 클릭 반응에 의해 결합한 항MUC5AC 특이 항체의 모식도이다. 본 발명의 액상 의약 조성물의 유효 성분이 H로 표현되는 구조인 경우, 본 발명의 액상 의약 조성물 중 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 0가 항체(미수식 항체), 1가 항체, 비표지 1가 항체 및, 유효 성분인 H로 표현되는 구조에 포함되는 항MUC5AC 특이 항체의 총 농도이다.

[0176] 또한, 본 발명의 액상 의약 조성물 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 제조 직후 또는 25±2℃에서 보존한 상태에 있어서, 광로 길이 가변형 자외 가시 분광 광도계를 사용하여, 측정 파장 280㎚를 측정 조건으로 설정하고, 단백질 농도로서 측정한 것이다.

[0177] 본 발명의 액상 의약 조성물은, 안정제와 완충제를 포함하는 것을 특징으로 한다. 안정제로서는, 아미노산, 당, 당알코올, 무기염을 들 수 있다. 안정제로서의 아미노산은, 예를 들어 L-아르기닌 또는 글리신이다. 안정제로서의 당은, 예를 들어 수크로오스 또는 트레할로오스이다. 안정제로서의 당알코올은, 예를 들어 소르비톨이다. 안정제로서의 무기염은, 예를 들어 염화나트륨이다. 완충제로서는, 예를 들어 L-히스티딘, 시트르산 또는 인산을 들 수 있다. 이들 중에서도, 안정제로서 L-아르기닌이 바람직하고, 완충제로서 L-히스티딘이 바람직하고, L-아르기닌 및 L-히스티딘을 조합해서 사용하는 것이 보다 바람직하다.

[0178] 액상 의약 조성물 중에 포함되는 각 아미노산은, 염의 형태여도 된다. 염의 형태로서는, 산 부가염이나 염기와의 염 등을 들 수 있고, 약리학적으로 허용되는 염을 선택하는 것이 바람직하다. 그러한 염으로서는, 예를 들어 무기산과의 염, 유기산과의 염, 무기 염기와의 염, 유기 염기와의 염을 들 수 있다. 무기산과의 염으로서는, 예를 들어 할로겐화수소산(염산, 브롬화수소산, 요오드화 수소산 등), 황산, 질산, 인산 등과의 염을 들 수 있다. 유기산과의 염으로서는, 예를 들어 포름산, 아세트산, 프로피온산, 옥살산, 숙신산, 말레산, 푸마르산, 시트르산 등과의 염을 들 수 있다. 무기 염기와의 염으로서는, 예를 들어 나트륨, 칼륨, 리튬 등의 알칼리 금속과의 염, 칼슘, 마그네슘 등의 알칼리 토류 금속과의 염, 암모늄과의 염 등을 들 수 있다. 유기 염기와의 염으로서는, 예를 들어 에틸렌디아민, 프로필렌디아민, 에탄올아민, 모노알킬에탄올아민, 디알킬에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민 등과의 염을 들 수 있다.

[0179] 액상 의약 조성물에 있어서의 각 아미노산의 농도는, 사용하는 아미노산의 종류에 따라 적절히 설정된다(아미노

산이 염의 경우에는 유리체로 환산한다). 안정제가 L-아르기닌의 경우, 10mmol/L 이상, 25mmol/L 이상 또는 50mmol/L 이상이 바람직하고, 보다 바람직하게는 80mmol/L 이상, 더욱 바람직하게는 90mmol/L 이상이고, 바람직하게는 150mmol/L 이하, 140mmol/L 이하 또는 130mmol/L 이하, 보다 바람직하게는 120mmol/L 이하, 더욱 바람직하게는 110mmol/L 이하이다. 본 발명의 일 양태로서는, L-아르기닌의 농도는 10mmol/L 이상 150mmol/L 이하, 25mmol/L 이상 140mmol/L 이하, 50mmol/L 이상 130mmol/L 이하, 바람직하게는 80mmol/L 이상 120mmol/L 이하, 보다 바람직하게는 90mmol/L 이상 110mmol/L 이하이다. 완충제가 L-히스티딘의 경우, 바람직하게는 1mmol/L 이상, 10mmol/L 이상 또는 20mmol/L 이상, 보다 바람직하게는 30mmol/L 이상, 더욱 바람직하게는 40mmol/L 이상이고, 바람직하게는 100mmol/L 이하, 90mmol/L 이하 또는 80mmol/L 이하, 보다 바람직하게는 70mmol/L 이하, 더욱 바람직하게는 60mmol/L 이하이다. 본 발명의 일 양태로서는, L-히스티딘의 농도는 1mmol/L 이상 100mmol/L 이하 또는 10mmol/L 이상 90mmol/L 이하 또는 20mmol/L 이상 80mmol/L 이하, 바람직하게는 30mmol/L 이상 70mmol/L 이하, 보다 바람직하게는 40mmol/L 이상 60mmol/L 이하이다. 이들 아미노산은 완충제로서의 기능을 갖고 있어도 된다.

[0180] 본 발명의 액상 의약 조성물은, 계면 활성제를 포함하는 것을 특징으로 한다. 본 발명에서 사용되는 「계면 활성제」는, 친수성 영역과 소수성 영역을 갖는 임의의 계면 활성제를 포함하는 것으로 정의되며, 여기에는 비이온성, 양이온성, 음이온성 및 양성 계면 활성제가 포함된다. 적합한 계면 활성제로서는, 예를 들어 폴리소르베이트 20(모노라우르산 폴리옥시에틸렌 소르비탄, Tween20, CAS 번호: 9005-64-5), 폴리소르베이트 60(모노스테아르산 폴리옥시에틸렌 소르비탄, Tween60, CAS 번호:9005-67-8), 폴리소르베이트 65(트리스테아르산 폴리옥시에틸렌 소르비탄, Tween65, CAS 번호: 9005-71-4), 폴리소르베이트 80(올레산 폴리옥시에틸렌 소르비탄, Tween80, CAS 번호: 9005-65-6), 폴록사머(예로서 폴록사머 188) 등에서 선택할 수 있다. 폴리소르베이트 80은, 본 발명의 액상 의약 조성물에 바람직하다. 계면 활성제는, 사용하는 계면 활성제의 종류에 따라서도 다르지만, 본 발명의 액상 의약 조성물 중, 통상 0.001 체적% 이상, 바람직하게는, 0.01 체적% 이상, 보다 바람직하게는 0.03 체적% 이상, 더욱 바람직하게는 0.05 체적% 이상이고, 통상 2.0 체적% 이하, 바람직하게는, 1.0 체적% 이하, 보다 바람직하게는 0.5 체적% 이하, 더욱 바람직하게는 0.3 체적% 이하, 한층 더 바람직하게는 0.1 체적% 이하의 농도로 존재할 수 있다.

[0181] 본 발명의 일 양태로서, 계면 활성제는, 본 발명의 액상 의약 조성물 중, 0.001 체적% 이상 2.0 체적% 이하, 바람직하게는 0.01 체적% 이상 1.0 체적% 이하, 보다 바람직하게는 0.03 체적% 이상 0.5 체적% 이하, 더욱 바람직하게는 0.05 체적% 이상 0.3 체적% 이하, 한층 더 바람직하게는 0.05 체적% 이상 0.1 체적% 이하의 농도로 존재할 수 있다.

[0182] 본 발명의 액상 의약 조성물의 pH는, 3 이상이 바람직하고, 5 이상이 보다 바람직하고, 9 이하인 것이 바람직하고, 8 이하인 것이 보다 바람직하다. 일 양태로서 본 발명의 액상 의약 조성물의 pH는 3 이상 9 이하, 바람직하게는 5 이상 8 이하이다.

[0183] 본 발명의 액상 의약 조성물은, 그 유효량이, 경구적으로, 또는 정맥 내, 피하, 복강 내 혹은 근육 내 등의 비경구적으로 생체에 투여되고, 질환의 치료, 질환의 진단, 혹은 병소의 검출 등에 사용된다.

[0184] 여기서 투여 대상으로서는 인간 또는 마우스, 래트, 원숭이, 모르모트, 침팬지, 양, 염소, 개, 고양이, 돼지, 소 혹은 말 등의 동물이지만, 특별히 한정되는 것은 아니다. 바람직하게는 인간이다.

[0185] 바람직한 대상 질환으로서 암을 들 수 있다. 본 발명에서 치료, 진단되는 암은, 췌장암, 갑상선암, 간장암, 대장암, 위암, 식도암, 폐암, 요로 상피암, 유방암, 자궁경암, 자궁체암, 난소암, 담관암, 담도암 또는 자궁 내막암을 들 수 있고, 특히 췌장암에의 적용이 바람직하다.

[0186] 여기에서의 「유효량」이란, 투여 대상에 있어서의 치료상 유효한 효과를 얻을 수 있는 양이다. 대상에 투여해야 할 유효량은, 대상의 종류, 대상의 체중, 투여하는 제형(주사제 등) 및 경로(경구 투여, 비경구 투여 등) 및 질환(예, 암)의 중증도 등에 따라 다르다. 의사나 수의사는 그들의 인자를 고려하여, 적절한 유효량을 결정할 수 있다.

[0187] 방사성 핵종으로서 치료 효과를 갖는 것, 구체적으로는 α입자 방출 핵종을 선택함으로써, 본 발명의 액상 의약 조성물은, 방사성 핵종 내용 요법에 사용할 수 있다. 방사성 핵종 내용 요법은, 방사성 의약을 정맥 주사나 경구로 투여하고, 암 원발소나 전이소와 같은 병소 부위에 이 방사성 약제를 집적시키고, 방사성 약제로부터 방출되는 방사선에 의해, 병소 부위의 암 세포를 파괴한다고 하는 것이다. 따라서, 본 발명의 액상 의약 조성물은 암의 방사성 핵종 내용 요법에 바람직하게 사용할 수 있다. 이 경우, 당해 의약 조성물의 투여량, 용량은, 방

사성 핵종의 종류, 유효 성분의 유효성, 투여의 형태·경로, 질환(특히 암)의 진행 스테이지, 환자의 체형·체중·연령, 병용하는 다른 질환의 치료약의 종류나 양에 따라, 적절히 선택된다.

[0188] 또한, 당해 의약 조성물의 투여량, 용량은, 마우스의 투여량을 인간에게 체표면적 환산한 인간 등가 용량(HED; Human Equivalent dose)을 사용할 수 있다. HED는, 하기 식에 의해 구해진다.

[0189] $HED=animal\ dose\ in\ MBq/kg\times(animal\ weight\ in\ kg/human\ weight\ in\ kg)^{0.33}$

[0190] 예를 들어, 체중 20g의 마우스의 투여량을 사용하여, 체중 60kg의 인간의 HED를 산출하면, 방사성 핵종이 요오드-131인 경우에는, 통상 1회당 100MBq/kg 이하로 투여될 수 있다. 1회당 50MBq/kg 이하의 용량으로도 효과를 발휘할 수 있다. 예를 들어, 방사성 핵종이 이트륨-90인 경우에는, 통상 1회당 50MBq/kg 이하로 투여될 수 있다. 1회당 30MBq/kg 이하의 용량으로도 효과를 발휘할 수 있다. 예를 들어, 방사성 핵종이 루테튬-177인 경우에는, 통상 1회당 50MBq/kg 이하로 투여될 수 있다. 1회당 40MBq/kg 이하의 용량으로도 효과를 발휘할 수 있다. 이러한 투여량은 본 발명의 일 실시 형태의 예시이며, 당업자는 마우스 및 인간의 체중에 따라서 적절히 상기 식에서 환산할 수 있다.

[0191] 또한, 방사성 핵종이 요오드-131인 경우에는, 비방사성 요오드 제제(안정 요오드제)를 사전 투여함으로써, 요오드가 생리적으로 집적하는 갑상선에의 독성을 저감시킬 수 있다. 안정 요오드제로서는, 요오드화 칼륨, 요오드산칼륨 등을 사용할 수 있다.

[0192] 또한, 본 발명의 다른 양태로서, 전술한 복합체에 있어서, 방사성 핵종으로서, β선 방출 핵종으로부터 포지트론이나 γ선을 방출하는 방사성 핵종(^{68}Ga, ^{64}Cu, ^{86}Y, ^{89}Zr, ^{111}In, ^{123}I, ^{125}I, $Al^{18}F$)을 사용한 경우에는, 얻어진 방사성 의약 조성물은 암의 방사성 핵종 내용 요법에 있어서의 암의 진단에 사용해도 된다. 본 발명의 암 진단용 의약 조성물은, 암의 방사성 핵종 내용 요법을 행하기 전의 진단에 사용해도 되고, 암의 방사성 핵종 내용 요법을 행한 후의 진단에 사용해도 된다. 암의 방사성 핵종 내용 요법을 행하기 전의 진단에 사용됨으로써, β선을 방출하는 방사성 핵종을 구비한 본 발명의 액상 의약 조성물을 사용한 암의 방사성 핵종 내용 요법을 실행할지의 여부의 치료 선택의 판단에 사용할 수 있다. 또한, 암의 방사성 핵종 내용 요법을 행한 후의 진단에 사용됨으로써, β선을 방출하는 방사성 핵종을 구비한 본 발명의 액상 의약 조성물을 사용한 암의 방사성 핵종 내용 요법의 효과가 있는지의 판정이나 투여량의 증감 등의 치료 계획의 적정화에 사용할 수 있다.

[0193] 본 발명의 액상 의약 조성물을 수용하는 보존 용기의 재질로서는, 유리이거나 플라스틱이어도 된다. 또한, 본 발명의 액상 의약 조성물을 수용하는 보존 용기의 형상은, 바이알이거나 시린지여도 된다. 무색이거나 유색이어도 된다.

[0194] 이상 설명한 본 발명의 실시 형태에 따르면, 방사성 항MUC5AC 특이 항체를 포함하는 방사성 액상 의약 조성물에 있어서, 보존 용기에의 방사능 흡착이 억제되고 있으므로, 초기의 품질을 담보하는 것이 가능하게 된다.

[0195] 본 발명의 액상 의약 조성물을 보존 용기(바람직하게는 유리 용기)에 수용했을 때 방사능이 보존 용기에 흡착하는 비율(용기 흡착률)은, 사용하는 방사성 핵종의 종류에 따라 다르지만, 바람직하게는 10% 이하, 보다 바람직하게는 8% 이하, 더욱 바람직하게는 6% 이하이다.

[0196] 본 발명의 상기의 실시 형태는, 이하의 기술 사상을 포함하는 것이다.

[0197] [1] 방사성 핵종과 항체의 복합체를 유효 성분으로서 함유하는 액상의 의약 조성물로서,

[0198] 상기 항체가, 뮤신 서브타입 5AC에 특이적으로 결합하는 항체이고,

[0199] 상기 조성물 중의 상기 항체의 농도가 0.1mg/mL 이상 5mg/mL 이하이고,

[0200] 안정제와, 완충제와, 계면 활성제

[0201] 를 포함하는, 의약 조성물.

[0202] [2] 상기 방사성 핵종이 α 입자, 포지트론, β선 또는 γ선을 방출하는 방사성 핵종인, [1]에 기재된 의약 조성물.

[0203] [3] 상기 안정제가 L-아르기닌인, [1] 또는 [2]에 기재된 의약 조성물.

[0204] [4] 상기 완충제가 L-히스티딘인, [1] 내지 [3]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0205] [5] 상기 조성물 중의 상기 안정제가 L-아르기닌이고, 상기 완충제가 L-히스티딘이고,

[0206] 상기 L-아르기닌의 농도가 10mmol/L 이상 150mmol/L 이하이고,

[0207] 상기 L-히스티딘의 농도가 1mmol/L 이상 100mmol/L 이하인, [1] 내지 [4]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0208] [6] 상기 계면 활성제가, 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 65 및 폴리소르베이트 80으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 1종인, [1] 내지 [5]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0209] [7] 상기 조성물 중의,

[0210] 상기 계면 활성제의 농도가 0.01 체적% 이상 2.0 체적% 이하인, [1] 내지 [6]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0211] [8] 상기 조성물 중의,

[0212] 상기 계면 활성제의 농도가 0.01 체적% 이상 0.5 체적% 이하인, [1] 내지 [7]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0213] [9] 상기 방사성 핵종이 ^{89}Zr인, [1] 내지 [8]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0214] [10] 상기 방사성 핵종이 ^{225}Ac인, [1] 내지 [8]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0215] [11] 상기 항체가 인간화 항체인, [1] 내지 [10]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0216] [11-1] 상기 인간화 항체가,

[0217] (1) 서열번호 1로 표현되는 아미노산 서열 (H01),

[0218] (2) 서열번호 2로 표현되는 아미노산 서열 (H02),

[0219] (3) 서열번호 3으로 표현되는 아미노산 서열 (H03), 또는

[0220] (4) 서열번호 4로 표현되는 아미노산 서열 (H04)

[0221] 를 포함하는 중쇄 가변 영역과,

[0222] (5) 서열번호 5로 표현되는 아미노산 서열 (L01),

[0223] (6) 서열번호 6으로 표현되는 아미노산 서열 (L02),

[0224] (7) 서열번호 7로 표현되는 아미노산 서열 (L03), 또는

[0225] (8) 서열번호 8로 표현되는 아미노산 서열 (L04)

[0226] 를 포함하는 경쇄 가변 영역

[0227] 을 갖는 인간화 항체인, [11]에 기재된 의약 조성물.

[0228] [11-2] 상기 인간화 항체가,

[0229] (1) 서열번호 1로 표현되는 아미노산 서열 (H01)을 포함하는 중쇄 가변 영역과,

[0230] (7) 서열번호 7로 표현되는 아미노산 서열 (L03)을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0231] 을 갖는 인간화 항체인, [11]에 기재된 복합체.

[0232] [12] 상기 복합체가, 상기 방사성 핵종이 킬레이트한 킬레이트제와 항체의 복합체인, [1] 내지 [11], [11-1] 및 [11-2]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0233] [12-1] 상기 킬레이트제가, 링커를 개재하여, 상기 항체의 Fc 영역을 부위 특이적으로 수식하고 있는, [12]에 기재된 의약 조성물.

[0234] [12-2] 상기 링커가, 상기 식 (i)로 표시되는, 13 이상 17 이하의 아미노산 잔기를 포함하는 펩티드가 포함하고, 가교제로 수식된 상기 펩티드와 상기 항체의 가교 반응에 의해 형성되어 있는, [12] 및 [12-1]에 기재된 의약 조성물.

[0235] [12-3] 상기 킬레이트제가, 상기 식 (A)로 표시되는 화합물 또는 그의 염에서 유래하는 구조를 갖는 [12], [12-1] 및 [12-2]에 기재된 의약 조성물.

[0236] [12-4] 상기 링커가,

[0237] 상기 킬레이트제에 접속하는 킬레이트 링커,

[0238] 해당 킬레이트 링커에 접속하는 제1 원자단,

[0239] 상기 제1 원자단과 클릭 반응할 수 있는 제2 원자단 및

[0240] 상기 제2 원자단에 접속하고, 또한 상기 펩티드를 포함하는 항체 수식 링커

[0241] 를 갖고,

[0242] 상기 링커가, 상기 제1 원자단 및 상기 제2 원자단에서 유래하는 화학 구조로서 상기 식 (10a), (10b) 또는 (10c)의 화학 구조의 어느 하나를 포함하는, [12], [12-1], [12-2] 및 [12-3]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0243] [13] 상기 킬레이트제 1분자가, 상기 항체 1분자에 대하여 부위 특이적으로 복합화하고 있는, [12], [12-1], [12-2], [12-3] 및 [12-4]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0244] [14] 상기 조성물 중의 상기 항체의 농도가 상기 킬레이트제와 복합화하고 있는 항체와, 상기 킬레이트제와 복합화하고 있지 않은 항체의 총 농도인, [12], [13], [12-1], [12-2], [12-3] 및 [12-4]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0245] [15] 상기 조성물 중의 상기 항체 농도가 0.4mg/mL 이상 2.0mg/mL 이하인, [14]에 기재된 의약 조성물.

[0246] [16] 상기 조성물 중의 상기 항체 농도가 0.5mg/mL 이상 1.5mg/mL 이하인, 청구항 [14] 또는 [15]에 기재된 의약 조성물.

[0247] [17] 상기 조성물 중의 pH가 5 이상 8 이하인, [1] 내지 [16], [11-1], [11-2], [12-1], [12-2], [12-3] 및 [12-4]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0248] [18] 상기 조성물 중의 상기 방사성 핵종의 용기에의 흡착률이 10% 이하인, [1] 내지 [17], [11-1], [11-2], [12-1], [12-2], [12-3] 및 [12-4]의 어느 것에 기재된 의약 조성물.

[0249] 실시예

[0250] 이하, 실시예에 의해, 본 발명을 상세히 설명하지만, 본 발명은 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0251] 제조예 1: 항MUC5AC 인간화 항체의 제작

[0252] 국제 공개 제2021/075544호에 기재된 제조예 1과 마찬가지로 하여, 항MUC5AC 인간화 항체(항체 1: H01L03)를 얻었다.

[0253] 여기서 H01은, 서열번호 1에 나타내는 중쇄 가변 영역이며, L03은, 서열번호 7에 나타내는 경쇄 가변 영역이다. 이하의 실시예에서 사용된 항체는, 중쇄 정상 영역 1(서열번호 23)과 경쇄 정상 영역 1(서열번호 24), 및 상기의 항체 1의 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역의 조합을 포함한다.

[0254] 제조예 2: 펩티드 링커에 의한 부위 특이적 항체 수식

[0255] (1) 항체 수식 공정

[0256] 국제 공개 제2021/075544호에 기재된 제조예 2의 공정 (1)에 있어서, 펩티드와 제조예 1에서 제작한 항MUC5AC 인간화 항체의 반응 시간을 60분으로 한 것 이외에는 마찬가지로 하여, 펩티드 수식 항체를 포함하는 용액을 얻었다.

[0257] (2) 펩티드 수식 항체 분리 공정

[0258] 이 펩티드 수식 항체를, 20mmol/L 아세트산나트륨 완충액(pH6.0)으로 희석해서, ProteinA 칼럼(GE 헬스케어사제, HiTrap MabSelect SuRe)에 첨가하고, 0.15mol/L 염화나트륨 함유 0.05mol/L 아세트산나트륨 완충액(pH5.7)을 흘리고, 펩티드 2분자가 수식된 펩티드 수식 항체를 회수했다. 그 후, 0.15mol/L 염화나트륨 함유 0.05mol/L 아세트산나트륨 완충액(pH4.2)을 흘리고, 미리 1mol/L 아세트산나트륨 완충액(pH6.0)을 첨가한 용기에 펩티드 1분자가 수식된 펩티드 수식 항체(1가 항체)를 회수했다(1가 항체 회수량 38.6mg, 소수 칼럼 크로마토그래피로 측정한 미수식 항체:1가 항체:2가 항체비=33.4:66.6:0.0). 회수한 각 분획은, 한외 여과 필터

(Merck사 제조, 형번: UFC903096)를 사용하여, 0.1mol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1)으로 완충액 치환했다.

[0259] 또한, 소수 칼럼 크로마토그래피의 조건은, 이하와 같다.

[0260] 칼럼: BioPro HIC HT(4.6㎜×10㎝, 2.3㎛)

[0261] 검출기: 자외 흡광 광도계(측정 파장: 280㎚)

[0262] 이동상 A: 1.5mol/L 황산 암모늄 함유 50mmol/L 인산 완충액(pH7.0)

[0263] 이동상 B: 50mmol/L 인산 완충액(pH7.0)

[0264] 이동상 C: 물

[0265] 이동상의 송액: 이동상 A, 이동상 B 및 이동상 C의 혼합비를 다음과 같이 바꾸어서 농도 구배 제어한다.

표 1

[0266]

주입 후의 시간 (분)	이동상 A (체적%)	이동상 B (체적%)	이동상 C (체적%)
0～5．0	80	20	0
5．0～25．0	80→0	20→100	0
25．0～25．5	0	100→0	0→100
25．5～30．0	0	0	100
30．0～30．5	0→80	0→20	100→0
30．5～40．0	80	20	0

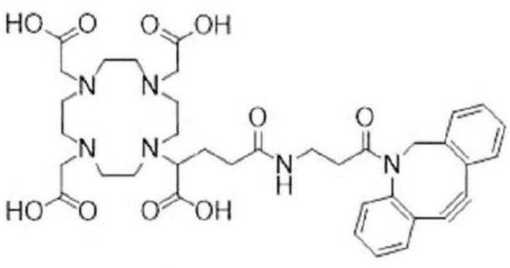
유량 : 매분0．6mL

[0267] 실시예 1: ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 제작

[0268] (1) 착체 형성 공정

[0269] 본 실시예에 사용되는 킬레이트부(DOTA-GA-DBCO)의 구조를, 이하의 식 (L1-5)에 나타낸다. ^{89}Y 타깃에 프로톤 조사하고, 0.1mol/L 염산수 용액에 용해시켜서 조제한 ^{89}Zr 이온 함유 용액(방사능 농도 11286MBq/mL, 액량 0.140mL)을 가열 조건 하에서, 용매 증류 제거했다. 킬레이트부를, 195mmol/L 아세트산-아세트산나트륨 완충액(pH5.5)에 분산시키고, 킬레이트부를 1.0mmol/L 포함하는 분산액(킬레이트부 분산액)으로 하였다. 이 분산액 0.024mL와, 0.1mol/L 염산 0.080mL와, 150mmol/L 겐티스산 용액(195mmol/L 아세트산-아세트산나트륨 완충액(pH5.5)에 용해) 0.080mL와, 195mmol/L 아세트산-아세트산나트륨 완충액(pH5.5) 0.056mL를, 용매 증류 제거한 방사성 금속원에 첨가하여, 가열 조건 하에서 반응시켜서, ^{89}Zr 착체 용액을 얻었다. 킬레이트부와 방사성 금속 이온의 몰 비율은, 킬레이트부:^{89}Zr이온=약 22.5:1이고, 반응액의 가열 온도는 70℃, 가열 시간은 90분간으로 하였다.

L1-5



DOTA-GA-DBCO

[0270]

[0271] (2) 표지 공정

[0272] 상술한 공정 (1)을 거쳐서 얻어진 ^{89}Zr 착체의 용액과, 제조예 2의 공정 (1) 및 공정 (2)를 거쳐서 제조한 펩티드 수식 항체(1가 항체)를 포함하는 용액을 혼합하고, 37℃에서 1.5시간 클릭 반응시켜서, ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체를 얻었다.

[0273] (3) 정제 공정

[0274] 상술한 공정 (2)에서 얻어진 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체를 포함하는 용액을 3개의 한외 여과 필터(Merck사 제조, 형번: UFC505096)에 분주하고, 각각 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH5.1, 6.1 또는 7.1)으로 용매 치환해서 정제 분획을 얻었다. 정제 후의 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체의 방사 화학적 순도는 95%이고, 방사 화학적 수율(감쇠 보정없음)은 53%였다. ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체의 방사 화학적 순도 및 방사 화학적 수율의 측정 방법은 이하와 같이 했다. 즉, 박층 크로마토그래피(Agilent사 제조, 형번: SGI0001, 전개 용매는 아세토니트릴:0.1mmol/L EDTA 용액의 혼합액(체적비1:1))를 라디오 γ-TLC 애널라이저(raytest제, MODELGITA Star PS)로 측정하고, 검출된 전체 방사능(카운트)에 대한, 원점 부근에 검출된 피크의 방사능(카운트)의 백분율을 방사 화학적 순도(%)로 하였다. 또한, 표지 공정 개시 시에 가한 전체 방사능에 대하여, 용매 치환 후에 회수한 방사능의 백분율을 방사 화학적 수율(%)로 하였다.

[0275] (4) 제제화 공정

[0276] 상술한 공정 (3)에 있어서 얻어진 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액으로 용매 치환한 정제 분획에, 0.7w/v% 폴리소르베이트 80 함유 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH는 5.1, 6.1 또는 7.1 어느 것의 동일한 것을 사용)을 적량씩 첨가하고, 제제 중의 폴리소르베이트 80의 농도가 0.07w/v%가 되도록 제제화하고, 무색의 유리제 고무 마개 구비 바이알(용량 6mL)에 4mL씩 충전했다. 분주한 각 바이알에 있어서의 제조 직후의 방사능 농도는 63.8 내지 68.1MBq/mL였다. 항MUC5AC 특이 항체의 농도에 대해서는, 0.5mg/mL를 목푯값으로 설정한 제제는, 실측값으로서 0.43 내지 0.45mg/mL이고, 1.0mg/mL를 목푯값으로서 설정한 제제는, 실측값으로서 0.66 내지 0.68mg/mL였다.

[0277] 또한, 용액 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 광로 길이 가변형 자외 가시 분광 광도계(SoloVPE, IN-VPE-Solo5, C Technologies사제)를 사용하여, 측정 파장 280nm, 몰 흡광 계수 1.46을 측정 조건으로 설정해서 측정했다.

[0278] 실시예 2: ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 제작

[0279] 실시예 1의 공정 (1) 및 공정 (2)를 행한 후, 이하의 공정을 행하였다. 또한, 공정 (1)에서 사용한 방사능 농도는 7512MBq였다.

[0280] (3) 정제 공정

[0281] 공정 (2)에서 얻어진 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체를 포함하는 용액을 실온 부근까지 냉각한 후, 20mmol/L 히스티딘 완충액(pH5.5) 4.0mL를 첨가하고, 양이온 교환 수지를 충전한 칼럼(HiTrap SP FF 5mL)에 통액하고, ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체를 칼럼에 보유 지지시켰다. 그 후, 20mmol/L 히스티딘 완충액(pH5.5) 21mL를 칼럼에 통액해서 세정했다. 이 칼럼에, 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1) 45mL를 통액하고, 0.7w/v% 폴리소르베이트 80을 포함하는 240mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1) 5.0mL와 합하여 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체의 용액(4938MBq, 44mL)을 얻었다.

[0282] 얻어진 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체의 방사 화학적 순도는 97%이고, 방사 화학적 수율(감쇠 보정없음)은 66%였다. ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체의 방사 화학적 순도 및 방사 화학적 수율의 측정 방법은 실시예 1과 마찬가지로 행하였다.

[0283] (4) 제제화 공정

[0284] 구멍 직경 0.22㎛의 폴리불화비닐리덴제 멤브레인 필터로 여과하고, 무색의 유리제의 고무 마개 구비 바이알(용량 6mL)에, 상술한 공정 (3)에서 얻어진 정제 분획을 적량 첨가하고, 하기의 처방에서 나타내는 제제로 하였다.

[0285] 또한, 당해 제제 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 제조 직후에 있어서, 1.15mg/mL였다. 용액 중의 항MUC5AC

특이 항체의 농도는, 광로 길이 가변형 자외 가시 분광 광도계(SoloVPE, IN-VPE-Solo5, C Technologies사제)를 사용하여, 측정 파장 280㎚, 몰 흡광 계수 1.51을 측정 조건으로 설정해서 측정했다.

[0286] ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체(제조 종료 후) 471MBq

[0287] 폴리소르베이트 80 2.8㎎

[0288] L-아르기닌 염산염 84.3㎎

[0289] L-히스티딘 31.0㎎

[0290] 주사용수 적량

[0291] 염산 적량

[0292] 합계 4.2mL

[0293] 실시예 3: ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체의 제작

[0294] (1) 킬레이트 수식 공정

[0295] 본 실시예에서는 상기 식 (L1-5)로 표시되는 킬레이트부와 동일한 킬레이트부를 사용했다. 이 킬레이트부를, 용매로서 0.1mol/L 아세트산-아세트산나트륨 완충액(pH5.0)에 분산시키고, 킬레이트부를 0.3mmol/L 포함하는 분산액으로 하였다. ^{226}Ra 타깃에 프로톤 조사한 후, 국제 공개 제2022/014555호 기재된 방법으로 정제하는 것으로 얻어진 ^{225}Ac 이온 함유 용액(0.1mol/L 염산수 용액, 방사능 농도 5.1MBq/mL, 액량 0.333mL) 1.7MBq(검정 일시 방사능으로부터 감쇠 계산한 계산값와, 이 분산액 0.360mL와, 0.1mol/L 아세트산-아세트산나트륨 완충액(pH5.0) 0.540mL를 혼합한 반응액을, 가열 조건 하에서 반응시켜서, ^{225}Ac 착체 용액을 얻었다. 킬레이트부와 방사성 금속 이온의 몰 비율은, 킬레이트부:^{225}Ac이온=약 46330:1이고, 반응액의 가열 온도는 70℃, 가열 시간은 15분간으로 하였다.

[0296] (2) 표지 공정

[0297] 상술한 공정 (1)을 거쳐서 얻어진 ^{225}Ac 착체의 용액과, 제조예 2의 공정 (1) 및 공정 (2)를 거쳐서 제조한 펩티드 수식 항체(1가 항체)를 포함하는 용액을 혼합하고, 37℃에서 2시간 클릭 반응시켜서, ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체를 얻었다.

[0298] (3) 정제 공정

[0299] 공정 (2)에서 얻어진 ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체를 포함하는 용액을, 양이온 교환 수지를 충전한 칼럼(Cytiva사 제조, HiTrap SP FF 5mL)으로 송액한다. 칼럼에 20mmol/L 히스티딘 완충액(pH5.5) 10mL를 송액 후, 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1) 18mL를 송액하여, 정제 분획을 미리 0.7w/v% 폴리소르베이트 80 함유 240mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1) 2mL를 첨가한 바이알에 회수했다. 얻어진 ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체의 방사 화학적 순도는 99%이고, 방사 화학적 수율은 약 40%였다. ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체의 방사 화학적 순도 및 방사 화학적 수율의 측정 방법은 실시예 1과 마찬가지로 행하였다.

[0300] (4) 제제화 공정

[0301] 무색의 유리제의 고무 마개 구비 바이알(용량 6mL)에, 상술한 공정 (3)에서 얻어진 정제 분획을 적량 첨가하여 제제로 하였다. 제조된 ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체를 유효 성분으로서 함유하는 본 발명의 액상 의약 조성물은 하기의 처방이다.

[0302] 제제 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 제조 직후에 있어서 0.87㎎/mL였다. 용액 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 사이즈 배제 크로마토그래피로 측정했다. 사이즈 배제 크로마토그래피의 측정 조건은 이하와 같다.

[0303] 칼럼: TSK gel UP-SW3000(4.6×150㎜, 2.0㎛)

[0304] 검출기: 자외 흡광 광도계(측정 파장: 280nm)

[0305] 이동상: 0.2mol/L 아르기닌 염산염 함유 0.1mol/L 인산 완충액(pH6.8)

[0306] 유량: 매분 0.3mL

[0307] ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체(상술한 공정 (2)에서 제조) 37kBq

[0308] 폴리소르베이트 80 2.8mg

[0309] L-아르기닌 염산염 84.3mg

[0310] L-히스티딘 31.0mg

[0311] 주사용수 적량

[0312] 염산 적량

[0313] 합계 4mL

[0314] 제조예 3: 비표지 킬레이트 수식 항MUC5AC 특이 항체(비표지 복합체) 제제의 제작

[0315] (1) 복합체 제작 공정

[0316] 실시예 1의 공정 (1)에서 얻어진 킬레이트부 분산액을 사용하여, 실시예 1의 공정 (2)와 마찬가지로 펩티드 수식 항체와 클릭 반응함으로써, 표지되어 있지 않은 항체(비표지 복합체)를 얻었다.

[0317] (2) 정제 공정

[0318] 37℃에서 1.5시간 반응시켜서 얻어진 비표지 킬레이트 수식 항MUC5AC 특이 항체를 포함하는 용액을 한외 여과 필터(Merck사 제조, 형번: UFC505096)에 분주하고, 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1)에 용매 치환하고 정제 분획을 얻었다.

[0319] (3) 제제화 공정

[0320] 상술한 공정 (2)에 있어서 얻어진 정제 분획과, 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1)과, 0.7w/v% 폴리소르베이트 80 함유 100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액(pH6.1)을 적량씩 혼합하고, 제제 중의 폴리소르베이트 80의 농도가 0.07w/v%가 되도록 폴리소르베이트 80을 적량 첨가하고, 멤브레인 필터(Merck사 제조, 형번: SLGV033NB)에 통액한 후에, 무색의 유리제의 고무 마개 구비 바이알(용량 6mL)에 4mL씩 분주함으로써, 제제화했다.

[0321] 제제 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 제조 직후에 있어서 1.0mg/mL였다. 용액 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 광로 길이 가변형 자외 가시 분광 광도계(SoloVPE, IN-VPE-Solo5, C Technologies사제)를 사용하여, 측정 파장 280nm, 몰 흡광 계수 1.46을 측정 조건으로 설정해서 측정했다.

[0322] 실시예 4: ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 제작

[0323] 방사능 농도 3880MBq를 사용해서 실시예 1의 공정 (1) 및 공정 (2)를 행한 후, 실시예 2의 공정 (3) 및 (4)를 행하여, ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제를 제작했다. 공정 (3)에서 얻어진 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체의 용액(1890MBq, 22mL)의 방사 화학적 순도는 91%이고, 방사 화학적 수율(감쇠 보정없음)은 49%였다. 또한, 공정 (4)에서 얻어진 제제 중의 항MUC5AC 특이 항체의 농도는, 제조 직후에 있어서, 0.96mg/mL이고, 광로 길이 가변형 자외 가시 분광 광도계(SoloVPE, IN-VPE-Solo5, C Technologies사제)를 사용하여, 측정 파장 280nm, 몰 흡광 계수 1.46을 측정 조건으로 설정해서 측정했다. 기타 처방은 이하에 나타내는 바와 같다.

[0324] ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체(제조 종료 후) 122MBq

[0325] 폴리소르베이트 80 1.4mg

[0326] L-아르기닌 염산염 42.2mg

[0327] L-히스티딘 15.5mg

[0328] 주사용수 적량

[0329] 염산 적량

[0330] 합계 2.0mL

[0331] 시험예 1: 본 발명의 항MUC5AC 특이 항체 및 비표지 복합체를 사용한 안정성의 평가

[0332] 방사성 핵종 표지 항체를 사용한 수송 안정성을 평가하기 위해서는, 방사성 동위 원소 등 차량 운반 규칙을 준수하는 관점에서 용이하게 행할 수 없기 때문에, 예비 시험으로서 제조예 3에서 얻은 비표지 복합체 제제의 수송 안정성(외관, 플로 이미징, 입자경 측정)을 평가했다. 또한, 비표지 복합체 대신에 제조예 1에서 얻은 항MUC5AC 특이 항체를 사용해서 제제화한 미수식(인택트)의 항MUC5AC 특이 항체를 사용하여, 마찬가지로 수송 안정성을 평가했다.

[0333] 각 처방을 표 2에 나타낸다. 표 2 중, PS80은 폴리소르베이트 80(NOF CORPORATION제)의 약칭이다. 처방 1-1은, 제조예 3의 비표지 복합체 제제의 처방이며, 처방 1-2, 1-3, 1-4는, 인택트의 항MUC5AC 특이 항체(제조예 1의 미수식 항체)의 처방이다. 또한, 용액 중의 미수식 항체의 농도는, 광로 길이 가변형 자외 가시 분광 광도계(SoloVPE, IN-VPE-Solo5, C Technologies사제)를 사용하여, 측정 파장 280nm, 몰 흡광 계수 1.45를 측정 조건으로 설정해서 측정했다.

표 2

[0334]

처방		1-1	1-2	1-3	1-4
항체	농도	1.0mg/mL			
용매	완충액	100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액 (pH6.1)			
	첨가제	0.07w/v%PS80	없음	0.07w/v%PS80	0.7w/v%PS80

[0335] 냉장 보존(온도 범위 0.4 내지 21.7℃)으로 육로 수송(약 48시간) 후의 외관 시험(눈으로 보아 불용성 이물의 유무를 확인)의 결과를 표 3에, 플로 이미징의 결과를 표 4 및 도 3에, 입자경 측정의 결과를 표 5에, 각각 나타낸다.

[0336] 표 3, 4에 나타내는 바와 같이, 검출된 입자수는, 처방 1-1, 처방 1-3 및 처방 1-4에서 거의 동등하며, 처방 1-2가 가장 많았다.

[0337] 또한, 표 5에 나타내는 바와 같이, 입자경과 불균일성(%PD)에 대해서, 모두 정상적인 범위 내의 수치였다.

표 3

[0338]

처방		1-1	1-2	1-3	1-4
결과	수송 전	이물 없음			
	수송 후	이물 없음	이물 다수 있음	이물 약간 있음	이물 없음

표 4

[0339]

처방		1-1	1-2	1-3	1-4
결과	수송 전 → 수송 후	거의 진구상 → 기포 혹은 오일	빈투명의 부정형 → 응집체	거의 진구상 → 기포 혹은 오일	거의 진구상 → 기포 혹은 오일

표 5

[0340]

처방		1-1	1-2	1-3	1-4
결과	평균 입자경(nm)	10.8-11.2	10.4-12.0	10.4-11.9	10.1-10.7
	%PD	14.4-18.8	10.6-23.5	10.8-19.1	6.6-15.7

[0341] 시험예 2: ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체를 포함하는 용액에 있어서의 계면 활성제 첨가의 효과

[0342] 표 6에 기재된 처방에 기초하여, 피검 시료를 준비했다. 처방 2-3, 2-5 내지 2-7은, 실시예 1에서 제제화한 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 인간화 항체이고, 처방 2-1, 2-2, 2-4는, 실시예 1에서 제조한 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 인간화 항체 제제에 대하여 폴리소르베이트 80을 포함하고 있지 않은 점이 다르다.

표 6

[0343]

처방		2-1	2-2	2-3	2-4
항체	농도	0.5mg/mL			
용매	완충액	100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액			
	pH	5.1	6.1	6.1	7.1
	계면 활성제	없음	없음	0.07w/v%PS80	없음

처방		2-5	2-6	2-7
항체	농도	1.0mg/mL		
용매	완충액	100mmol/L 아르기닌 함유 50mmol/L 히스티딘 완충액		
	pH	5.1	6.1	7.1
	계면 활성제	0.07w/v%PS80	0.07w/v%PS80	0.07w/v%PS80

[0344] 각 처방에 대해서, 보존 조건을 25±2℃로 하고, 제조 직후(제조 0 내지 1일 후), 중간점(제조 3 내지 4일 후) 및 최종점(제조 6 내지 7일 후)의 각 3점에 있어서, 보존 용기에의 방사능 흡착의 정도(용기 흡착률)를 조사했다. 보존 용기로부터, 시료 용액 전량을 마이크로 피페터를 사용해서 발취했다. 고무 마개에 부착된 액도 마이크로 피페터를 사용해서 제거했다. 보존 용기에 남은 방사능을 라디오이소토프·도우즈·캘리브레이터(형식: CRC-15R, 메이커: CAPINTEC)를 사용하여 측정했다. 시료를 발취하기 전의 방사능 [A]와 보존 용기에 남은 방사능 [B]로부터, 감쇠 보정([A]의 측정 시각-[B]의 측정 시각=[C])을 하여, 식 (1)로 표시되는 계산식으로부터 용기 흡착률을 산출했다. 단, [C]의 단위는 시간(hour)으로 한다.

[0345] $$\text{용기 흡착률} = 100 \times \frac{[B] \times 2^{(-([C]/78.41))}}{[A]} \quad (1)$$

[0346] 처방 2-1 내지 2-4의 결과를 도 2에 나타낸다.

[0347] 계면 활성제인 폴리소르베이트 80을 첨가한 실시예 1에 있어서(처방 2-3), 용기에의 방사능 흡착이 크게 저감되었다.

[0348] 또한, 처방 2-5 내지 2-7의 용기 흡착률은 보존 기간 내내 1.7 내지 2.1%의 범위였다(표 7).

표 7

[0349]

처방	결과	
	제조3~4일 후	제조6~7일 후
2-5	1.7	2.1
2-6	1.5	1.9
2-7	2.0	2.0

[0350] 시험예 3: ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 용기 흡착률

[0351] 실시예 2에서 얻어진 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 보존 용기에의 방사능 흡착의 정도(용기 흡착률)를 조사했다. 개시점(제조 0 내지 2일 후), 중간점(제조 5 내지 6일 후) 및 최종점(제조 8 내지 9일 후)을 측정 시기로 하고, 보관 조건을 5±3℃, 25±2℃, 40±2℃로 하여, 시험예 2와 마찬가지 방법으로 용기 흡착률을 측정했다.

[0352] 그 결과, 어느 보관 조건에서도, 보존 기간 내내 용기 흡착률은 0.51 내지 0.98%의 범위였다(표 8).

표 8

[0353]

보관 온도	제조 0~2일 후	제조 5~6일 후	제조 8~9일 후
5±3℃	0.8	0.51	0.68
25±2℃		0.57	0.89
40±2℃		0.98	0.93

[0354] 시험예 4: ^{225}Ac 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 용기 흡착률

[0355] 실시예 3에 있어서 제작한 용액의 보존 용기에의 방사능 흡착의 정도(용기 흡착률)를 조사했다. 측정 시기를 제조 4일 후, 보관 조건을 5±3℃로 하고, 보존 용기로부터, 시료 용액 전량을 마이크로 피페터를 사용해서 발취했다. 고무 마개에 부착된 액도 마이크로 피페터를 사용해서 제거했다. 보존 용기에 남은 방사능을 감마선 분광계(형식: GMX10P4-70, 메이커: ORTEC)를 사용하여 측정했다. 시료를 발취하기 전의 방사능 [A]와 보존 용기에 남은 방사능 [B]로부터, 감쇠 보정([A]의 측정 시각-[B]의 측정 시각=[C])을 하여, 하기의 계산식으로부터 용기 흡착률을 산출했다. 단, [C]의 단위는 일로 한다.

[0356] $$\text{용기 흡착률} = 100 \times \frac{[B] \times 2^{(-([C]/9.92))}}{[A]} \quad (2)$$

[0357] 용기 흡착률은 5.97%였다.

[0358] 시험예 5: ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 안정성 평가

[0359] 실시예 4에서 얻어진 ^{89}Zr 표지 항MUC5AC 특이 항체 제제의 수송 안정성(외관, 입자경 측정)을 평가했다.

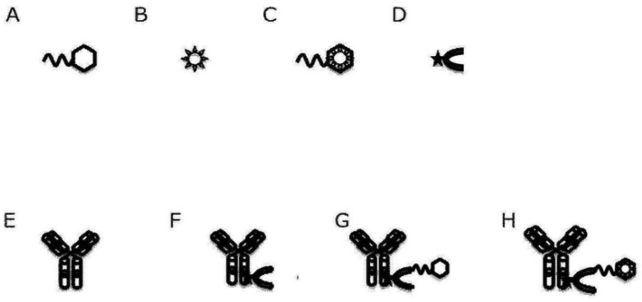
[0360] 용액 중의 미수식 항체의 농도는, 광로 길이 가변형 자외 가시 분광 광도계(SoloVPE, IN-VPE-Solo5, C Technologies사제)를 사용하여, 측정 파장 280nm, 몰 흡광 계수 1.46을 측정 조건으로 설정해서 측정했다. 그 결과, 항체 농도는 0.96mg/mL였다.

[0361] 냉장 보존(온도 범위 4.8 내지 24.1℃)으로 육로 및 항공로 수송(약 48시간) 후의 외관 시험(눈으로 보아 불용성 이물의 유무를 확인)의 결과, 수송 전후에서 이물을 인지하지 못하였다. 또한, 입자경과 불균일성(%PD)의 수송 전후의 수치는, 수송 전이 평균 입자경: 11.0nm, %PD: 0.088이고, 수송 후가 평균 입자경: 10.8nm, %PD: 0.159이고, 모두 정상적인 범위 내의 수치였다.

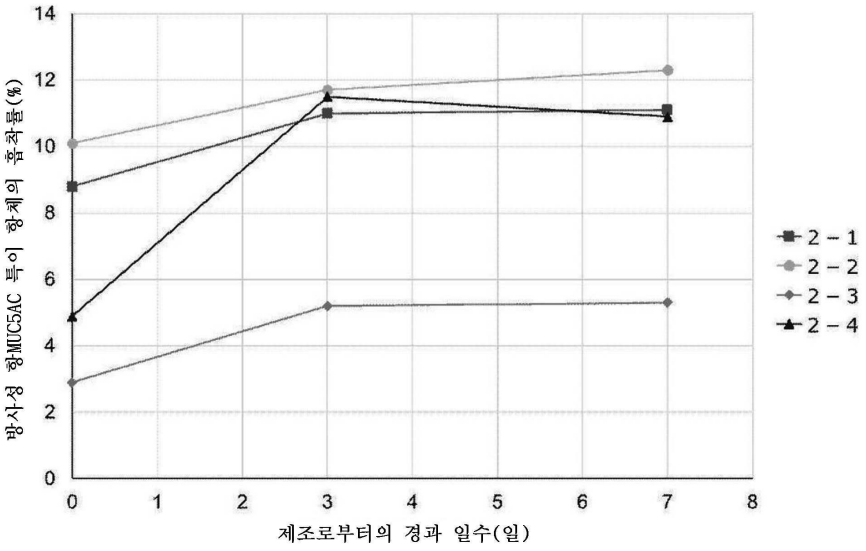
[0362] 본 출원은, 일본에서 출원된 특허출원 2022-171832(출원일: 2022년 10월 26일)를 기초로 하고 있고, 그 내용은 본 명세서에 모두 포함되는 것이다.

도면

도면1

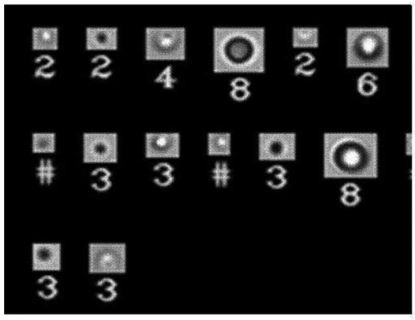

A
B
C
D
E
F
G
H

도면2

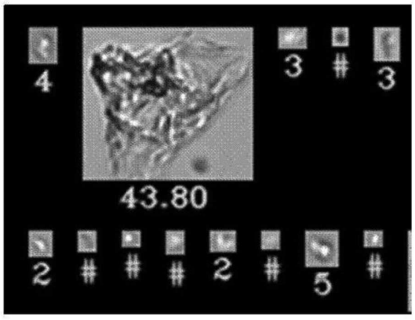

14
12
10
8
6
4
2
0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
방사성 항MUC5AC 특이 항체의 흡착률(%)
제조로부터의 경과 일수(일)
2 – 1
2 – 2
2 – 3
2 – 4

도면3

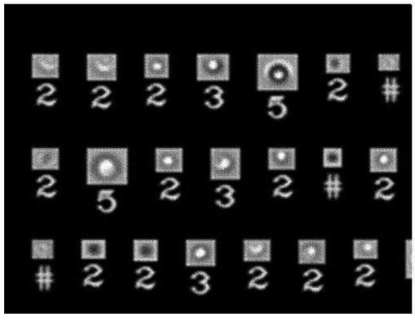
1-1



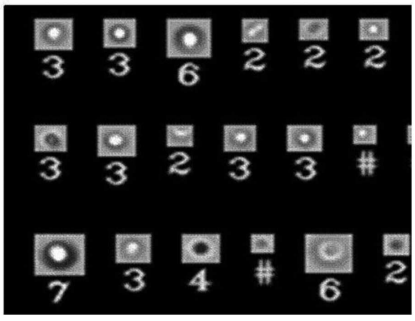
1-2



1-3



1-4



서 열 목 록 (첨부)



아이콘을 클릭하시면 서열목록 파일이 열립니다.

본 공보 PDF는 첨부파일을 가지고 있습니다. Acrobat Reader PDF뷰어를 제공하지 않는 브라우저(크롬, 파이어폭스, 사파리 등)의 경우 첨부파일 열기가 제한되어 있으므로 Acrobat Reader PDF뷰어 설치 후 공보 PDF를 다운로드 받아 해당 뷰어에서 조회해주시기 바랍니다.