



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0104017  
(43) 공개일자 2009년10월05일

(51) Int. Cl.

A61K 9/08 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01) A61K 47/34 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-7013954

(22) 출원일자 2007년12월11일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2009년07월03일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2007/010825

(87) 국제공개번호 WO 2008/071394

국제공개일자 2008년06월19일

(30) 우선권주장

06025590.8 2006년12월11일

유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인

에프. 호프만-라 로슈 아게

스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124

(72) 발명자

골드바흐 피에르

프랑스 리가하임 뤼 데 플레흐 7

말리 한스-크리스티앙

스위스 바젤 리헨링 15

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김명신, 박지하, 박성용

전체 청구항 수 : 총 41 항

(54) A 베타 항체 비경구 제제

(57) 요약

본 발명은 아밀로이드-베타 펩티드(A베타)에 대항하는 항체, 항체 분자, 항체들의 혼합물 및/또는 항체 분자들의 혼합물의 안정적인 약물학적 비경구 제제, 이의 제조 방법, 및 이의 상응하는 용도에 관한 것이다.

(72) 발명자

**필러 로버트**

스위스 바젤 할팅게스트라쎄 29

**뷔르트 크리스틴**

독일 뢰라흐 아드레그가에스첸 6

---

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

하기를 포함하는 것을 특징으로 하는 안정적인 약물학적 비경구 A베타 항체 제제:

- 약 1 내지 약 250 mg/mL의 A베타 항체;
- 약 0.001 내지 약 1 %의 1개 이상의 계면활성제;
- 약 1 내지 100 mM의 완충제;
- 선택적으로 약 10 내지 약 500 mM의 안정화제 및/또는 약 5 내지 약 500 mM의 등장화제;
- 약 4.0 내지 약 7.0의 pH.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

액상 제제인 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

동결건조 제제인 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 4

제 1 항에 있어서,

동결건조 제제로부터 재구성된 액상 제제인 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

A베타 항체 농도는 약 1 내지 약 200 mg/mL인 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 6

제 5 항에 있어서,

A베타 항체 농도는 약 50 mg/mL 내지 약 200 mg/mL인 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 7

제 6 항에 있어서,

A베타 항체 농도는 약 150 mg/mL 내지 약 200 mg/mL인 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,

안정화제는 약 10 내지 약 300 mM의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 9

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,

안정화제는 약 100 내지 약 300 mM의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

안정화제는 당, 아미노산, 폴리올, 계면활성제, 항산화제, 보존제, 시클로텍스트린, 특히 히드록시프로필- $\beta$ -시클로텍스트린, 설포부틸에틸- $\beta$ -시클로텍스트린 및  $\beta$ -시클로텍스트린, 폴리에틸렌글리콜, 특히 PEG 3000, 3350, 4000 및 6000, 알부민, 인간 혈청 알부민(HSA), 소 혈청 알부민(BSA), 염 특히 염화나트륨, 염화마그네슘, 염화칼슘 및 킬레이트제, 특히 EDTA로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서,

안정화제는 동결건조보호제(lyoprotectant)인 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 12

제 11 항에 있어서,

동결건조보호제는 당, 아미노산, 폴리올 및 당 알콜로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 13

제 12 항에 있어서,

동결건조보호제는 트레할로스, 슈크로스, 만니톨, 락토스, 글루코스, 만노스, 말토스, 갈락토스, 프락토스, 소르보스, 라피노스, 글루코사민, N-메틸글루코사민("메글루민"), 갈락토사민, 뉴라민산 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 14

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서,

계면활성제는 약 0.005 내지 약 0.1 % w/v의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 15

제 14 항에 있어서,

계면활성제는 약 0.01 % 내지 약 0.04 % w/v의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 16

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서,

계면활성제는 폴리옥시에틸소르비탄 지방산 에스테르, 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르, 알킬페닐폴리옥시에틸렌 에테르, 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 코폴리머 및 소듐 도데실 설페이트로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 17

제 16 항에 있어서,

계면활성제는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올리에이트, 폴록사머 124, 폴록사머 188, 폴록사머 237, 폴록사머 338 및 폴록사머 407, 폴리옥시에틸렌 (23) 라우릴 에테르, 폴리옥시에틸렌 (20) 세틸 에테르, 폴리옥시에틸렌 (10) 올레일 에테르 및 폴리옥시에틸렌 (20) 올레일 에테르, 및 옥틸 페놀 에톡실레이트 (7.5), 옥틸 페놀 에톡실레이트 (9.5) 및 옥틸 페놀 에톡실레이트 (102)로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 18

제 17 항에 있어서,

계면활성제는 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올리에이트로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 19**

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서,

완충제는 약 1 mM 내지 약 100 mM의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 20**

제 15 항에 있어서,

완충제는 약 5 mM 내지 약 50 mM의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 21**

제 20 항에 있어서,

완충제는 약 10 내지 약 20 mM의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 22**

제 1 항 내지 제 21 항 중 어느 한 항에 있어서,

완충제는 히스티딘-완충제, 시트레이트-완충제, 숙시네이트-완충제, 아세테이트-완충제 및 포스페이트-완충제로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 23**

제 22 항에 있어서,

완충제는 L-히스티딘, 또는 L-히스티딘과 L-히스티딘 히드로클로라이드의 혼합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 24**

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서,

pH는 약 4.0 내지 약 7.0인 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 25**

제 24 항에 있어서,

pH는 약 5.0 내지 약 6.0인 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 26**

제 25 항에 있어서,

pH는 약 5.5인 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 27**

제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서,

1개 이상의 등장화제를 포함하는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 28**

제 1 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서,

등장화제는 약 5 mM 내지 약 500 mM의 양으로 제제에 존재하는 것을 특징으로 하는 제제.

**청구항 29**

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서,

등장화제는 염화나트륨, 염화칼륨, 글리세린, 아미노산, 당 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 30

제 1 항 내지 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서,

정맥내(i.v.) 또는 피하(s.c.) 또는 다른 비경구 투여에 의해서 투여할 수 있는 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 31

제 2 항에 있어서,

하기를 포함하는 것을 특징으로 하는 액상 제제:

- 약 1 내지 약 200 mg/mL A베타 항체,
- 0.04 % 트윈(Tween) 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 37.5 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 10 mM L-히스티딘,
- 125 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 37.5 mg/mL A베타 항체,
- 0.01 % 트윈 20 w/v,
- 10 mM L-히스티딘,
- 125 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 7.5 mg/mL A베타 항체,
- 0.04 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 7.5 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 10 mM L-히스티딘,

- 125 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 37.5 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 10 mM L-히스티딘,
- 125 mM 트레할로스,
- pH 5.5;

또는

- 37.5 mg/mL A베타 항체,
- 0.01 % 트윈 20 w/v,
- 10 mM L-히스티딘,
- 125 mM 트레할로스,
- pH 5.5;

또는

- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 트레할로스,
- pH 5.5;

또는

- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 만니톨,
- pH 5.5;

또는

- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 140 mM 염화나트륨,
- pH 5.5;

또는

- 150 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,

- 250 mM 트레할로스,
- pH 5.5;

또는

- 150 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 만니톨,
- pH 5.5;

또는

- 150 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 140 mM 염화나트륨,
- pH 5.5;

또는

- 10 mg/mL A베타 항체,
- 0.01 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 140 mM 염화나트륨,
- pH 5.5.

### 청구항 32

제 3 항에 있어서,

하기를 포함하는 것을 특징으로 하는 동결건조 제제:

- 약 1 내지 200 mg/mL A베타 항체,
- 0.04 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.04 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는



- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 15 mg/mL A베타 항체,
- 0.04 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 슈크로스,
- pH 5.5;

또는

- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.04 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 트레할로스,
- pH 5.5;

또는

- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.02 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 트레할로스,
- pH 5.5;

또는

- 20 mg/mL A베타 항체,
- 0.011 % 트윈 20 w/v,
- 5.3 mM L-히스티딘,
- 66.7 mM 슈크로스,
- pH 5.5.

### 청구항 33

제 2 항 또는 제 31 항에 있어서,

하기를 포함하는 것을 특징으로 하는 액상 제제/mL A베타 항체,

- 0.01 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 140 mM 염화 나트륨

- pH 5.5.

#### 청구항 34

제 3 항 또는 제 32 항에 있어서,

하기를 포함하는 것을 특징으로 하는 동결건조 제제:

- 75 mg/mL A베타 항체,
- 0.04 % 트윈 20 w/v,
- 20 mM L-히스티딘,
- 250 mM 슈크로스,
- pH 5.5.

#### 청구항 35

제 3 항 또는 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서,

하기를 포함하는 것을 특징으로 하는 동결건조 제제:

- 20 mg/mL A베타 항체,
- 0.011 % 트윈 20 w/v,
- 5.3 mM L-히스티딘,
- 66.7 mM 슈크로스,
- pH 5.5.

#### 청구항 36

제 1 항 내지 제 35 항 중 어느 한 항에 있어서,

A베타 항체는 중쇄( $V_H$ )의 가변 영역에 글리코실화 아스파라긴(Asn)을 포함하는 1개 이상의 항원 결합 부위를 포함하는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 37

제 1 항 내지 제 36 항 중 어느 한 항에 있어서,

A베타 항체는

- (a) 항원 결합 부위 중 하나는 중쇄( $V_H$ )의 가변 영역에 글리코실화 아스파라긴(Asn)을 포함하는 A베타 항체; 및
- (b) 항원 결합 부위 둘 다가 중쇄( $V_H$ )의 가변 영역에 글리코실화 아스파라긴(Asn)을 포함하는 A베타 항체의 혼합물이며;

중쇄( $V_H$ )의 가변 영역에 글리코실화 아스파라긴(Asn)을 포함하는 항원 결합 부위가 없는 A베타 항체는 포함하지 않거나 또는 매우 소량으로 포함하는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 38

제 36 항 또는 제 37 항에 있어서,

중쇄( $V_H$ )의 가변 영역의 글리코실화 아스파라긴(Asn)은 중쇄( $V_H$ )의 CDR-2 부위의 글리코실화 아스파라긴(Asn)인 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 39

제 1 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서,

A베타 항체는 서열 번호: 1로 규정되는 중쇄와 서열 번호: 2로 규정되는 경쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 제제.

#### 청구항 40

알츠하이머 질환의 치료에 유용한 약제의 제조를 위한 제 1 항 내지 제 39 항 중 어느 한 항에 따른 제제의 용도.

#### 청구항 41

상기에서 기재한 것과 같은 것을 특징으로 하는 본 발명.

### 명세서

#### 기술분야

- <1> 본 발명은 아밀로이드-베타 펩티드(A베타)에 대항하는 항체, 항체 분자, 항체들의 혼합물 및/또는 항체 분자들의 혼합물의 안정한 약물학적 비경구 제제, 및 이의 제조 방법에 관한 것이다. 또한 이에 상응하는 용도에 관한 것이다.

#### 발명의 상세한 설명

- <2> 첫번째 측면에서 본 발명은 하기를 포함하는 안정한 약물학적 비경구 A베타 항체의 약물학적 제제에 관한 것이다:
- <3> - 약 1 내지 약 250 mg/mL A베타 항체;
- <4> - 약 0.001 내지 약 1 %의 1개 이상의 계면활성제;
- <5> - 약 1 내지 약 100 mM의 완충제;
- <6> - 선택적으로 약 10 내지 약 500 mM의 안정화제 및/또는 약 5 내지 약 500 mM의 등장화제(tonicity agent); 및
- <7> - 약 4.0 내지 약 7.0의 pH.
- <8> 특히, 본 발명은 A베타 항체 제제에 관한 것이며, 포함된 A베타 항체들(또는 이들의 혼합물)은 아밀로이드-베타 펩티드와 특이적으로 결합할 수 있다. A베타와 특이적으로 결합하는 항체들은 당업에 공지되어 있다. 본 발명에 따른 제제에 사용할 수 있는 A베타 항체의 특이적 예로는 공개된 PCT 특허 출원 WO 03/070760 및 특히 청구항에 기재되어 있으며, 상기의 내용은 참고문헌으로서 여기에 혼입되어 있다.

#### 배경기술

- <9> 아밀로이드-베타 펩티드(또한 "아밀로이드  $\beta$ ", "A $\beta$ ", "A $\beta$ 4" 또는 " $\beta$ -A4"라고도 하며, 특히 본 발명의 내용에서는 "A베타"라고도 함)는 예컨대 알츠하이머 질환과 같은 아밀로이드 생성 질환과 관련이 있는 세포외 신경반(extracellular neuritic plaques)의 주요 성분이다; Selkoe (1994), Ann. Rev. Cell Biol. 10, 373-403, Koo (1999), PNAS Vol. 96, pp. 9989-9990, US 4,666,829 또는 Glenner (1984), BBRC 12, 1131 참조. 상기 아밀로이드  $\beta$ 는 "알츠하이머 전구물질 단백질/ $\beta$ -아밀로이드 전구물질 단백질"(APP)로부터 유도된다. APPs는 내재성 막 당단백질이며(Sisodia (1992), PNAS Vol. 89, pp. 6075 참조), 플라즈마 막 프로테아제,  $\alpha$ -세크레타제에 의해 A베타 서열 내를 내부 단백질 가수분해(endoproteolytically)로 분해한다(Sisodia (1992), loc. cit. 참조). 또한 추가의 세크레타제 활성, 특히  $\beta$ -세크레타제 및  $\gamma$ -세크레타제 활성으로 39개 아미노산(A $\beta$  39), 40개 아미노산(A $\beta$  40), 42개 아미노산(A $\beta$  42) 또는 43개 아미노산(A $\beta$  43)을 포함하는 아밀로이드- $\beta$  (A $\beta$ )의 세포외 방출을 유도한다; Sinha (1999), PNAS 96, 11094-1053; Price (1998), Science 282, 1078 내지 1083; WO 00/72880 또는 Hardy (1997), TINS 20, 154 참조.
- <10> A $\beta$ 는 몇가지의 자연 발생 형태를 가지며, 인간 형태는 상기에서 언급한 A $\beta$  39, A $\beta$  40, A $\beta$  41, A $\beta$  42 및 A $\beta$  43을 나타낸다. 가장 우세한 형태인 A $\beta$  42는 하기와 같은 아미노산 서열(N-터미널로부터 시작됨)을 가진다:

DAEFRHDSGYEVHHQKLVFFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVVIA (서열 번호: 3). A $\beta$ 41, A $\beta$ 40, A $\beta$ 39에는 각각 C-터미널 아미노산 A, IA 및 VIA가 손실되어 있다. A $\beta$ 43-형태에는 추가의 트레오닌 잔기가 상기에서 나타난 서열(서열 번호: 3)의 C-터미널에 포함되어 있다.

- <11> 단백질 약물 군의 일부로서의 항체 분자는 물리적 및 화학적 분해, 예컨대 변성 및 응집, 아미드분해, 산화 및 가수분해에 매우 민감하다. 단백질 안정성은 단백질 그 자체, 예를 들면 아미노산 서열의 특성, 및 외부 영향, 예컨대 온도, 용매 pH, 부형제, 경계면 또는 전단율에 의해 영향을 받는다. 따라서 제조, 저장 및 투여 중에 분해 반응에 대항하여 단백질을 보호하기 위한 최적의 제제화 조건을 규정하는 것이 중요하다. (Manning, M. C., K. Patel, 등. (1989). "Stability of protein pharmaceuticals." Pharm Res 6(11): 903-18., Zheng, J. Y. 및 L. J. Janis (2005). "Influence of pH, buffer species, and storage temperature on physicochemical stability of a humanized monoclonal antibody LA298." Int\_J\_Pharm.)
- <12> 피하 또는 근육내 경로를 통해서 항체를 투여하기 위해서는 종종 요구되는 높은 투여량과 제한된 투여 부피 때문에 최종 제제에 높은 단백질 농도가 필요하다. (Shire, S. J., Z. Shahrokh, 등. (2004). "Challenges in the development of high protein concentration formulations." J Pharm Sci 93(6): 1390-402., Roskos, L. K., C. G. Davis, 등. (2004). "The clinical pharmacology of therapeutic monoclonal antibodies." Drug Development Research 61(3): 108-120.) 높은 단백질 농도의 대규모 제조는 초여과 공정, 건조 공정, 예컨대 동결건조 또는 분무-건조, 및 침전 공정에 의해서 획득될 수 있다. (Shire, S. J., Z. Shahrokh, 등. (2004). "Challenges in the development of high protein concentration formulations." J Pharm Sci 93(6): 1390-402.)
- <13> Andya 등(US 특허 6,267,958, US 특허 6,685,940)은 필요한 농도를 획득하기 위해서 적당한 희석 부피로 재구성되는 항체의 안정한 동결건조 제제를 설명하였다. 상기 제제는 동결건조보호제(lyoprotectant), 완충제 및 계면활성제를 포함한다.
- <14> Liu 등(Liu, J., M. D. Nguyen, 등. (2005). "Reversible self-association increases the viscosity of a concentrated monoclonal antibody in aqueous solution." J Pharm Sci 94(9): 1928-40.)은 높은 농도의 항체 제제의 점도 특성을 시험하였다. 동일한 IgG1 프레임워크로 구성된 3개의 단일클론 항체를 가지고 높은 단백질 농도에서 이들의 자기-조립(self-association)을 시험하였다. 상기 3개의 항체는 일정한 점도-프로파일을 보여 주지 않았으며, 이들의 자기-조립 특성에 현저한 차이가 있었다.
- <15> 본 발명의 하나의 목적은 적당한 부피를 갖는 동결건조 제제의 재구성 또는 초여과 공정으로 용매를 제거함에 의해서 필요한 농도로 농축되는 A베타 항체 또는 상기 항체들의 혼합물 제제를 제공하는 것이다. 상기 제제는 제조, 저장 및 투여 중 충분한 안정성을 보여주었다. Liu 등이 설명하는 것과 같이 항체들은 예상할 수 없는 점도-농도 프로파일을 보여준다. (Liu, J., M. D. Nguyen, 등. (2005). "Reversible self-association increases the viscosity of a concentrated monoclonal antibody in aqueous solution." J Pharm Sci 94(9): 1928-40.) 특허 US 6,267,958 및 US 6,685,940과 비교하면 본 발명의 제제는 피하 또는 근육내 투여 경로에 적당한 점도를 가지며, 저장 중에 A베타 인간 항체의 동일하거나 또는 더 나은 안정성을 제공한다.
- <16> 본 발명에 유용한 A베타 항체의 예로는 면역글로불린 분자, 예를 들면 IgG 분자들이 있다. IgGs는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄(예를 들어 도 1에서 나타내고 있음)를 포함하는 것이 특징이며, 이들 분자들은 2개의 항원 결합 부위를 포함한다. 상기 항원 결합 부위는 중쇄(VH) 부분과 경쇄(VL) 부분으로 구성되는 "가변 영역(variable regions)"을 포함한다. 상기 항원-결합 부위는 VH와 VL 도메인의 병렬 배치에 의해 형성된다. 항체 분자 또는 면역글로불린 분자의 일반적인 정보를 위해서 통상적인 텍스트북인 Abbas "Cellular and Molecular Immunology", W.B. Saunders Company (2003)를 참조할 수 있다.
- <17> 하나의 실시양태에서 본 발명의 비경구 제제는 상기 항체의 중쇄에 가변 영역 중 1개 이상이 N-글리코실화를 포함하는 A베타 항체(또는 상기 항체들의 혼합물)를 포함한다. 중쇄(VH)의 가변 영역의 글리코실화 아스파라긴(Asn)은 상보성 결정 부위 2(CDR2 부위)에 있을 수 있으며, 상기 글리코실화 아스파라긴(Asn)은 서열 번호: 1에서 나타내는 것과 같이 중쇄(VH)의 가변 영역의 52 위치에 있을 수 있다.
- <18> "모노-글리코실화 항체"라는 용어는 개개 항체 분자의 1개의 (V<sub>H</sub>)-부위에 N-글리코실화를 포함하는 항체 분자를 나타낸다; 도 1 또한 참조. "이중-글리코실화 항체"라는 용어는 중쇄의 두개의 가변 영역 상에 N-글리코실화된 항체 분자로 규정한다(도 1). 두개의 중쇄 (V<sub>H</sub>)-도메인 상에 N-글리코실화가 없는 항체 분자는 "비-글리코실화 항체"라고 한다(도 1). 모노-글리코실화 항체, 이중-글리코실화 항체 및 비-글리코실화 항체는 동일한 아미노

산 서열 또는 상이한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

- <19> 모노-글리코실화 항체 및 이중-글리코실화 항체는 여기서 "글리코실화 항체 아이소형"이라고 한다. 1개 이상의 항원 결합 부위가 중쇄(VH)의 가변 영역에 글리코실화를 포함하는 것이 특징인 정제된 항체 분자는 이중-글리코실화 항체 및 비-글리코실화 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 아이소형과 관련된 것의 함량이 매우 소량이거나 또는 없는 모노-글리코실화 항체, 즉 "정제된 모노-글리코실화 항체"이다. 본 발명의 내용에서 이중-글리코실화 항체는 모노-글리코실화 항체 및 비-글리코실화 항체로 이루어진 군으로부터 선택된 아이소형과 관련된 것의 함량이 매우 소량이거나 또는 없는, 즉 "정제된 이중-글리코실화 항체"이다.
- <20> 본 발명에 따른 제제는 모노-글리코실화 또는 이중-글리코실화 또는 비-글리코실화 항체, 또는 특이적으로 규정된 이들의 혼합물을 함유할 수 있다. 여기서 제공하는 항체 혼합물 또는 항체 풀(pools)은 여기서 규정하는 50 % 모노-글리코실화 및 50 % 이중-글리코실화 항체를 포함할 수 있다. 그러나 또한 30/70 내지 70/30의 비율도 관찰된다. 게다가 당업에 통상의 지식을 가진 자들은 또한 다른 비율도 본 발명의 항체 혼합물에서 관찰된다는 것을 알고 있다. 예를 들어 또한 10/90 또는 90/10, 20/80 또는 80/20 뿐만 아니라 40/60 또는 60/40도 본 발명의 내용에 이용할 수 있다. 본 발명의 제제에 포함되는 항체 혼합물의 특히 유용한 비율은 상기에서 규정한 것과 같이 이중-글리코실화 및 모노-글리코실화 항체가 40/60 내지 45/55의 비율인 것을 포함한다.
- <21> "매우 소량이거나 또는 없는(which is free of or to a very low extent)"이라는 용어는 10 % 이하, 예를 들면 5 % 이하, 예를 들면 4 % 이하, 예를 들면 3 % 이하, 예를 들면 2 % 이하, 예를 들면 1 % 이하, 예를 들면 0.5 % 이하, 예를 들면 0.3 % 이하, 예를 들면 0.2 % 이하의 농도로 또 다른 (글리코실화) 아이소형의 존재 또는 각각의 다른 (글리코실화) 아이소형의 완전한 부재를 나타낸다.
- <22> "항체(항체들)"라는 용어는 여기서는 "항체 분자(분자들)"라는 용어와 동일하게 사용하며, 본 발명의 내용에서 항체 분자(분자들)는 예컨대 완전한 면역글로불린 분자, 예를 들면 IgMs, IgDs, IgEs, IgAs 또는 IgGs, 예컨대 IgG1, IgG2, IgG2b, IgG3 또는 IgG4 뿐만 아니라 이러한 면역글로불린 분자의 일부, 예컨대 Fab-단편들, Fab'-단편들, F(ab)2-단편들, 키메라 F(ab)2 또는 키메라 Fab' 단편들, 키메라 Fab-단편들 또는 분리된 VH- 또는 CDR-부위(상기 분리된 VH- 또는 CDR-부위는 예를 들면 상응하는 "프레임워크(들)"에 통합되거나 또는 설계된 것으로 존재함)를 포함한다. 따라서 "항체"라는 용어는 또한 공지된 아이소형 및 면역글로불린의 변형체, 예컨대 단일-사슬 항체 또는 단일 사슬 Fv 단편들(scAB/scFv) 또는 이중특이성 항체 구조체를 포함할 수도 있으며, 상기 아이소형 및 변형체는 여기에서 규정한 1개 이상의 글리코실화 VH 부위를 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 아이소형 또는 변형체의 특이적 예로는 포맷 VH-VL 또는 VL-VH의 sc(단일 사슬) 항체일 수 있으며, 상기 VH는 여기서 기재하는 글리코실화를 포함한다. 또한 이중특이성 scFvs는 예를 들면 포맷 VH-VL-VH-VL, VL-VH-VH-VL, VH-VL-VL-VH로 관찰된다. 또한 "항체"라는 용어에 포함되는 것은 WO 00/24782에 기재된 펩티바디와 같은 1개 이상의 항원 결합 부분/펩티드에 부착된 매체로서의 항체 Fc 도메인을 포함하는 분자 및 디아바디(diabody)이다. 본 발명이 또한 항체들/항체 분자들의 "혼합물"을 포함하는 A베타 항체의 비경구 제제에 관한 것임을 상기로부터 알 수 있다. 상기 항체의 특정 "혼합물"은 상기에 기재되어 있으며, 즉 A베타에 직접 대항하는 "모노" 및 "이중"-글리코실화 항체의 혼합물이다.
- <23> "항체 단편들"은 또한 그 자체로 효과기 기능(ADCC/CDC)을 제공할 수 없지만 적당한 항체 불변성 도메인(들)과 결합한 후에 본 발명에 따른 방법으로 상기 기능을 제공하는 단편들을 포함한다.
- <24> 본 발명의 제제(들)에 포함될 수 있는 A베타 항체(들)는 특히 재조합적으로 제조된 A베타 항체(들)이다. 상기 예를 들면 CHO 세포에서 포유류 세포-배양 시스템으로 제조할 수 있다. 이러한 포유류 세포 배양 시스템은 특히 가변 영역에 N-글리코실화를 포함하는 특이적으로 여기에서 대표되는 A베타 항체와 같이 글리코실화된 A베타 항체 또는 A베타 항체들/항체 분자들의 제조에 유용하다. 항체 분자는 하기에 기재한 특이적 글리코실화 항체 아이소형을 정제하기 위해서 여과 단계 및 크로마토그래피 서열에 의해서 추가 정제될 수 있다.
- <25> 여기서 사용되는 "단일클론 항체" 또는 "단일클론 항체 조성물"이라는 용어는 단일 아미노산 조성물의 항체 분자의 제조를 나타낸다. 따라서 "인간 단일클론 항체"라는 용어는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변성 및 불변 영역을 가지는 단일 결합 특이성을 나타내는 항체를 말한다. 하나의 실시양태에서 인간 단일클론 항체들은 불멸화 세포에 융합된 인간 경쇄 트랜스진과 인간 중쇄 트랜스진을 포함하는 게놈을 가지는 예를 들면 유전자 도입 쥐와 같은 유전자 도입 비-인간 동물로부터 수득되는 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해서 제조된다.
- <26> "키메라 항체"라는 용어는 재조합 DNA 기술에 의해 흔히 제조되는 여러가지 공급원 또는 종으로부터 유도된 불

변 영역의 일부 또는 전부 및 하나의 공급원 또는 종으로부터의 가변 영역, 즉 결합 부위를 포함하는 단일클론 항체를 나타낸다. 쥐의 가변 영역과 인간의 불변 영역을 포함하는 키메라 항체들이 특히 바람직하다. 상기 쥐/인간 키메라 항체들은 쥐의 면역글로불린 가변 영역을 암호화하는 DNA 세그먼트와 인간 면역글로불린 불변 영역을 암호화하는 DNA 세그먼트를 포함하는 발현된 면역글로불린 유전자 생성물이다. 본 발명에 의해 포함되는 "키메라 항체들" 중 다른 형태는 클래스 또는 서브클래스가 원래 항체의 것에서 변화되거나 또는 변형된 것이다. 상기 "키메라" 항체들은 또한 "클래스-스위치 항체들(class-switched antibodies)"라고도 나타낸다. 키메라 항체들의 제조 방법은 당업에 현재 잘 공지되어 있는 종래의 재조합 DNA 및 유전자 형질전환 기술과 관련이 있다. 예를 들어 Morrison, S. L., 등의 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984) 6851-6855; US 특허 번호 5,202,238 및 5,204,244를 참조할 수 있다.

<27> "인간화 항체(humanized antibody)"라는 용어는 프레임워크 또는 "상보적 결정 부위(CDR)"가 모 면역글로불린의 것과 비교해서 상이한 특이성의 면역글로불린의 CDR을 포함하도록 변형된 항체를 나타낸다. 바람직한 실시양태에서 쥐의 CDR이 인간 항체의 프레임워크 부위로 융합되어 "인간화 항체"를 제조한다. 예를 들어 Riechmann, L., 등의 Nature 332 (1988) 323-327; 및 Neuberger, M.S., 등의 Nature 314 (1985) 268-270를 참조할 수 있다. 항원을 인지하는 대표적인 서열에 상응하는 특히 바람직한 CDRs는 키메라 및 이관능성 항체에 있어서 상기에 기록하였다.

<28> 여기서 사용하는 "인간 항체"라는 용어는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변성 및 불변 영역을 가지는 항체를 포함하는 것으로 생각한다. 가변성 중쇄는 생식계열 서열 DP-50(GenBank L06618)으로부터 유도되는 것이 바람직하며, 가변성 경쇄는 생식계열 서열 L6(GenBank X01668)로부터 유도되는 것이 바람직하다. 항체의 불변 영역은 인간 IgG1 타입의 불변 영역이다. 상기 부위는 동종이형(allotype)일 수 있으며, 예를 들어 Johnson, G. 및 Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218 및 여기서 참조하는 데이터베이스에 기재되어 있고, 본 발명에 따른 ADCC 및 바람직하게는 CDC의 유도 특성이 보유되는 한 유용하다.

<29> 여기서 사용하는 "재조합 인간 항체"라는 용어는 숙주 세포로 트랜스펙션된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체 또는 인간 면역글로불린 유전자에 있어서 유전자 도입된 동물(예를 들면 쥐)로부터 또는 SP2-0, NS0 또는 CHO 세포(예컨대 CHO K1)와 같은 숙주 세포로부터 분리된 항체와 같은, 재조합 수단에 의해서 제조되고, 발현되고, 만들어지고 또는 분리된 모든 인간 항체를 포함하는 것으로 생각한다. 이러한 재조합 인간 항체들은 재배열 형태의 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변성 및 불변 영역을 가진다. 본 발명에 따른 재조합 인간 항체들은 생체내 체세포 과돌연변이에 영향을 받았다. 따라서 재조합 항체들의 VH 및 VL 부위의 아미노산 서열은 인간 생식계열 VH 및 VL 서열과 관련되고, 상기로부터 유도되는 반면에 생체내 인간 항체 생식계열 레파토리 내에 자연적으로 존재하지 않는 서열이다.

<30> 여기서 사용하는 것과 같이 "결합(binding)"이라는 것은 약  $10^{-13}$  내지  $10^{-8}$  M( $K_D$ ), 바람직하게는 약  $10^{-13}$  내지  $10^{-9}$  M의 친화도로 A베타에 결합하는 항체를 나타낸다.

<31> "불변성 도메인(constant domains)"은 효과기 기능(ADCC, 보체 결합 및 CDC)과 관련은 있지만 항원에 항체가 결합하는 것과는 직접적으로 관련이 없다. 본 발명에 따른 항체의 불변성 도메인은 IgG1 타입의 불변성 도메인이다. 이러한 특성을 가지는 인간 불변성 도메인은 Kabat 등의 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) 및 Brueggemann, M., 등의 J. Exp. Med. 166 (1987) 1351-1361; Love, T.W., 등의 Methods Enzymol. 178 (1989) 515-527에 상세하게 기재되어 있다. 예로는 WO 2005/005635에 서열번호: 5 내지 8로 나타냈다. 다른 유용하며 바람직한 불변성 도메인은 DSMZ 또는 ATCC와 같은 예탁소에 예탁된 하이브리도마 세포주로부터 수득가능한 항체의 불변성 도메인이다. 불변성 도메인은 보체 결합을 제공할 수 있다. ADCC 및 선택적으로 CDC는 가변성 및 불변성 도메인의 결합에 의해서 제공된다.

<32> 여기서 사용하는 "가변 영역[경쇄의 가변 영역(VL), 중쇄의 가변 영역(VH)]"은 항원에 항체를 결합시키는 것과 직접적으로 관련이 있는 경쇄 및 중쇄 쌍의 각각을 나타낸다. 가변성 인간 경쇄 및 중쇄의 도메인은 동일한 일반 구조를 가지며, 각 도메인은 3개의 "초가변 영역(hypervariable regions)" (또는 상보성 결정 부위, CDRs)에 의해 연결된 광범위하게 보존된 서열인 4개의 프레임워크(FR) 부위를 포함한다. 프레임워크 부위는  $\beta$ -시트 형태(sheet conformation)를 채택하며, CDRs는  $\beta$ -시트 구조와 연결되는 루프를 형성할 수 있다. 각 사슬 중의 CDRs는 프레임워크 부위에 의해 이들의 3-차원 구조를 유지하며, 항원 결합 부위와 다른 사슬로부터 CDRs이 함께 형성된다. 항체 중쇄 및 경쇄 CDR3 부위는 본 발명에 따른 항체의 결합 특이성/친화도에 특히 중요한 역할



을 수행하며, 이에 따라서 본 발명의 추가의 목적을 제공한다.

- <33> "초가변 영역" 또는 "항체의 항원-결합 부위"라는 용어는 여기서 사용하는 경우 항원-결합을 초래하는 항체의 아미노산 잔기를 나타낸다. 초가변 영역은 "상보성 결정 부위" 또는 "CDRs"로부터의 아미노산 잔기를 포함한다. "프레임워크" 또는 "FR" 부위는 여기서 규정하는 초가변 영역 잔기와는 다른 가변성 도메인 부위이다. 따라서 항체의 경쇄 및 중쇄는 N- 내지 C-터미널로부터 도메인 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 및 FR4를 포함한다. 특히 중쇄의 CDR3는 대부분이 항원 결합에 기여하는 부위이다. CDR 및 FR 부위는 Kabat 등의 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991) 및/또는 "초가변성 루프"로부터의 잔기들의 표준 규정에 따라 결정한다.
- <34> 본 발명의 제제는 특히 "안정화제", "동결건조보호제", "당", "아미노산", "폴리올", "항산화제", "보존제", "계면활성제", "완충제" 및/또는 "등장화제"를 포함할 수 있다.
- <35> "안정화제"라는 용어는 제조, 저장 및 사용 중에 화학적 및/또는 물리적 분해로부터의 활성 약물학적 성분 및/또는 제제를 보호하는 약물학적으로 허용가능한 부형제를 나타낸다. 단백질 약물의 화학적 및 물리적 분해 경로는 Cleland, J. L., M. F. Powell, 등(1993)이 재검토하였다. "The development of stable protein formulations: a close look at protein aggregation, deamidation, and oxidation." Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 10(4): 307-77, Wang, W. (1999). "Instability, stabilization, and formulation of liquid protein 트윈armaceuticals." Int J 트윈arm 185(2): 129-88., Wang, W. (2000). "Lyo트윈ilization and development of solid protein 트윈armaceuticals." Int J 트윈arm 203(1-2): 1-60. 및 Chi, E. Y., S. Krishnan, 등. (2003). "트윈ysical stability of proteins in aqueous solution: mechanism and driving forces in nonnative protein aggregation." Pharm Res 20(9): 1325-36. 안정화제는 이에 제한하지는 않지만 당, 아미노산, 폴리올, 계면활성제, 항산화제, 보존제, 시클로텍스트린, 예를 들면 하이드로프로필-β-시클로텍스트린, 설포부틸에틸-β-시클로텍스트린, β-시클로텍스트린, 폴리에틸렌글리콜, 예를 들면 PEG 3000, 3350, 4000, 6000, 알부민, 예를 들면 인간 혈청 알부민(HSA), 소 혈청 알부민(BSA), 염, 예를 들면 염화나트륨, 염화마그네슘, 염화칼슘, 킬레이트제, 예를 들면 하기에 규정하는 EDTA를 포함한다. 상기에 언급한 것과 같이 안정화제는 약 10 내지 약 500 mM, 바람직하게는 약 10 내지 약 300 mM, 보다 바람직하게는 약 100 mM 내지 약 300 mM의 양으로 제제에 존재할 수 있다.
- <36> "동결건조보호제"라는 용어는 동결건조 공정, 이후의 저장 및 재구성 중에 불안정 조건에 대하여 불안정한 활성 성분(예를 들면 단백질)을 보호하는 약물학적으로 허용가능한 부형제를 나타낸다. 동결건조보호제로는 이에 제한하지는 않지만 당, 폴리올(예컨대 당 알콜) 및 아미노산으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 포함한다. 바람직한 동결건조보호제는 하기로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다: 당, 예컨대 슈크로스, 트레할로스, 락토스, 글루코스, 만노스, 말토스, 갈락토스, 프락토스, 소르보스 및 라피노스, 뉴라민산 및 갈락토사민, 아미노당, 예컨대 글루코사민, N-메틸글루코사민("메글루민"), 폴리올, 예컨대 만니톨, 및 아미노산, 예컨대 아르기닌. 동결건조보호제는 통상적으로 약 10 내지 500 mM, 바람직하게는 약 10 내지 약 300 mM, 보다 바람직하게는 약 100 내지 약 300 mM의 양으로 사용한다.
- <37> 여기서 사용하는 "당"이라는 용어는 약 10 mM 내지 약 500 mM, 바람직하게는 약 10 내지 약 300 mM, 보다 바람직하게는 약 100 내지 약 300 mM의 양으로 사용하는 것이 통상적인 약물학적으로 허용가능한 카르보하이드레이트를 나타낸다. 적당한 당에는 이에 제한하지는 않지만 트레할로스, 슈크로스, 락토스, 글루코스, 만노스, 말토스, 갈락토스, 프락토스, 소르보스, 라피노스, 글로코사민, N-메틸글루코사민(소위 "메글루민"), 갈락토사민 및 뉴라민산을 포함한다. 바람직한 당은 슈크로스와 트레할로스이며, 슈크로스가 보다 바람직하다.
- <38> 약물학적 비경구 제제의 내용에서 사용하는 "아미노산"이라는 용어는 카르복실기의 α-위치에 위치하는 아미노 부분을 포함하는 약물학적으로 허용가능한 유기 분자를 나타낸다. 아미노산으로는 이에 제한하지는 않지만 아르기닌, 글리신, 오르니틴, 라이신, 히스티딘, 글루타민산, 아스파르트산, 이소류이신, 루이신, 알라닌, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판, 메티오닌, 세린, 프롤린 및 이들의 결합물을 포함한다. 아미노산은 약 10 내지 500 mM, 바람직하게는 약 10 내지 약 300 mM, 보다 바람직하게는 약 100 내지 약 300 mM의 양으로 사용하는 것이 일반적이다.
- <39> 여기서 사용하는 "폴리올"이라는 용어는 하나 이상의 히드록시기가 있는 약물학적으로 허용가능한 알콜을 나타낸다. 폴리올은 약 10 mM 내지 약 500 mM, 바람직하게는 약 10 내지 약 300, 보다 바람직하게는 약 100 내지 약 300 mM의 양으로 사용할 수 있다. 적당한 폴리올에는 이에 제한하지는 않지만 만니톨, 솔비톨, 글리세린, 텍스트란, 글리세롤, 아라비톨, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 결합물을 포함한다.

- <40> "항산화제"라는 용어는 활성 약물학적 성분의 산화를 막는 약물학적으로 허용가능한 부형제를 나타낸다. 항산화제는 약 1 내지 100 mM, 바람직하게는 약 5 내지 약 50 mM, 보다 바람직하게는 약 5 내지 약 20 mM의 양으로 사용할 수 있다. 항산화제로는 이에 제한하지는 않지만 아스코르빈산, 글루타티온, 시스테인, 메티오닌, 시트릭산, EDTA 및 이들의 결합물을 포함한다.
- <41> "보존제"라는 용어는 제제에 미생물의 성장을 예방하는 약물학적으로 허용가능한 부형제를 나타낸다. 예를 들면 다중-투여 제제에 보존제를 첨가하면 미생물 오염으로부터 제제를 보호한다. 보존제는 약 0.001 내지 약 2 % (w/v)의 양으로 사용하는 것이 일반적이다. 보존제로는 이에 제한하지는 않지만 에탄올, 벤질 알콜, 페놀, m-크레졸, p-클로-m-크레졸, 메틸 또는 프로필 파라벤, 벤잘코늄 클로라이드 및 이들의 결합물을 포함한다.
- <42> 여기서 사용하는 "계면활성제"라는 용어는 약물학적으로 허용가능한 계면활성제를 나타낸다. 본 발명의 제제에서 계면활성제의 양은 중량/부피 퍼센트(w/v %)로 나타내는 %로 설명한다. 적당한 약물학적 허용가능한 계면활성제는 이에 제한하지는 않지만 폴리옥시에틸렌소르비탄 지방산 에스테르(트윈), 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르(Brij), 알킬페닐폴리옥시에틸렌 에테르(Triton-X), 폴리옥시에틸렌-폴리옥시프로필렌 코폴리머(Poloxamer, Pluronic) 및 소듐 도데실 설페이트(SDS)를 포함한다. 바람직한 폴리옥시에틸렌소르비탄-지방산 에스테르는 폴리솔베이트 20(상표명 트윈 20<sup>TM</sup>으로 시판됨) 및 폴리솔베이트 80(상표명 트윈 80<sup>TM</sup>으로 시판됨)이 있다. 바람직한 폴리에틸렌-폴리프로필렌 코폴리머는 Pluronic<sup>®</sup> F68 또는 Poloxamer 188<sup>TM</sup>으로 시판되는 것들이 있다. 바람직한 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르는 상표명 Brij<sup>TM</sup>으로 시판되는 것이 있다. 바람직한 알킬페닐폴리옥시에틸렌 에테르는 상표명 Triton-X로 시판된다. 폴리솔베이트 20(트윈 20<sup>TM</sup>) 및 폴리솔베이트 80(트윈 80<sup>TM</sup>)은 약 0.001 내지 약 1 %, 바람직하게는 약 0.005 내지 약 0.1 % 및 보다 바람직하게는 약 0.01 % 내지 약 0.04 % w/v의 농도 범위에서 사용하는 것이 일반적이다.
- <43> 여기서 사용하는 "완충제"라는 용어는 약물학적인 조제 pH를 안정화시키는 약물학적으로 허용가능한 부형제를 나타낸다. 적당한 완충제는 당업에 잘 공지되어 있으며, 문헌에서 찾을 수 있다. 바람직한 약물학적 허용가능한 완충제는 이에 제한하지는 않지만 히스티딘-완충제, 시트레이트-완충제, 숙시네이트-완충제 및 포스페이트-완충제를 포함한다. 보다 바람직한 완충제는 당업에 공지되어 있는 산 또는 염기로 pH를 조정할 L-히스티딘 또는 L-히스티딘과 L-히스티딘 히드로클로라이드의 혼합물을 포함한다. 상기에서 언급한 히스티딘-완충제는 약 1 mM 내지 약 100 mM, 바람직하게는 약 5 mM 내지 약 50 mM, 보다 바람직하게는 약 10-20 mM의 양으로 사용하는 것이 일반적이다. 사용되는 완충제와는 관계없이 pH는 당업에 공지되어 있는 산 또는 염기, 예를 들면 염산, 아세트산, 인산, 황산 및 구연산, 수산화나트륨 및 수산화칼륨으로 약 4.0 내지 약 7.0, 바람직하게는 약 5.0 내지 약 6.0, 보다 바람직하게는 약 5.5를 포함하는 값으로 조정할 수 있다.
- <44> 여기서 사용하는 "등장화제"라는 용어는 약물학적으로 허용가능한 등장화제를 나타낸다. 등장화제는 제제의 긴장성(tonicity)을 조정하기 위해 사용한다. 제제는 저장성, 등장성 또는 고장성일 수 있다. 등장성(isotonicity)은 일반적으로 인간 혈액 혈청의 것과 비교해서 용액의 상대 삼투압을 나타내는 것이 일반적이다. 본 발명에 따른 제제는 저장성, 등장성 또는 고장성일 수 있지만 바람직하게는 등장성일 것이다. 명쾌하게 등장성 제제는 액체 또는 고체 형태, 예를 들면 동결건조된 형태로부터 재구성된 액체이며, 생리염수 및 혈청과 같은 것과 비교해서 몇몇 다른 용액으로서 동일한 긴장성을 가지는 용액을 나타낸다. 적당한 등장성 제제는 이에 제한하지는 않지만 염화나트륨, 염화칼륨, 글리세린 및 아미노산, 당, 특히 여기서 규정하는 글루코스 뿐만 아니라 이들의 결합물로 이루어진 군으로부터 선택된 임의의 성분을 포함한다. 등장화제는 약 5 mM 내지 약 500 mM의 양으로 사용한다.
- <45> 본 발명에 따른 제제와 결합하여 여기서 사용하는 "액체"라는 용어는 표준 압력하에 약 2 내지 약 8 °C 이상의 온도에서 액체인 제제를 나타낸다.
- <46> 본 발명에 따른 제제와 결합하여 여기서 사용하는 "동결건조물(lyophilizate)"라는 용어는 자체가 당업에 공지되어 있는 동결-건조 방법에 의해 제조되는 제제를 나타낸다. 용매(예를 들면 물)는 승온에서 잔류 물의 탈착 및 진공 하의 동결 이후의 승화에 의해서 제거한다. 약물학적인 분야에서 동결건조물은 일반적으로 잔류 수분이 약 0.1 내지 5 % (w/w)이며, 분말 또는 물리적으로 안정한 케이크로서 존재한다. 동결건조물은 재구성 매질을 첨가한 후에 신속하게 용해되는 것이 특징이다.
- <47> 본 발명에 따른 제제와 결합하여 여기서 사용하는 "재구성 제제"라는 용어는 동결건조되고, 재구성 매질의 첨가에 의해서 다시 용해되는 제제를 나타낸다. 재구성 매질은 이에 제한하지는 않지만 주사용 수(WFI), 방부제 첨



가 주사용 수(BWFI), 염화나트륨 용액[예를 들면 0.9 % (w/v) NaCl], 글루코스 용액(예를 들면 5 % 글루코스), 계면활성제 함유 용액(예를 들면 0.01 % 폴리솔베이트 20), pH-완충 용액(예를 들면 포스페이트-완충 용액) 및 이들의 결합물을 포함한다.

- <48> 본 발명에 따른 제제와 결합하여 여기서 사용하는 "안정성 제제"라는 용어는 제조, 저장 및 사용 중에 이의 물리적 및 화학적 보전을 보존하는 제제를 나타낸다. 단백질 안정성을 평가하기 위한 다양한 분석적 기술을 이용할 수 있으며, Reubsaet, J. L., J. H. Beijnen, 등 (1998) "Analytical techniques used to study the degradation of proteins and peptides: chemical instability". J Pharm Biomed Anal 17(6-7): 955-78 및 Wang, W. (1999). "Instability, stabilization, and formulation of liquid protein pharmaceuticals." Int J Pharm 185(2): 129-88에서 재검토하였다. 안정성은 선택한 시간 동안 선택된 기후 조건에서 저장하고, 선택된 시간 동안 선택된 교반 빈도수에서 교반과 같은 기계적 스트레스를 도입하고, 선택된 기간 동안 선택된 빛 강도로 조사하고, 또는 선택된 온도에서 반복적으로 동결 및 해동시킴으로써 평가할 수 있다.
- <49> 본 발명에 따른 제제와 결합하여 여기서 사용하는 "약물학적으로 허용가능한"이라는 용어는 약물학에 있어서 현재의 국제 규정 요구조건을 만족하는 제제를 나타낸다. 약물학적으로 허용가능한 제제는 안전한 농도 범위와 사용 예상 경로에 있어서 일반적으로 인정되는 부형제를 포함한다. 추가로 제조, 저장 및 사용 중에 효과적인 안정성을 제공해야 한다. 특히 비경구 사용 경로에 있어서의 제제는 인간 혈액 조성물과 비교해서 요구하는 등장성과 체수분 정상 pH(euhydric pH)를 만족해야 한다.
- <50> 상기에서 언급한 것과 같이 하나의 측면에서 본 발명은 하기를 포함하는 안전한 약물학적 비경구 A베타 항체 제제에 관한 것이다:
- <51> - 약 1 내지 약 250 mg/mL A베타 항체;
- <52> - 약 0.001 내지 약 1 %의 1개 이상의 계면활성제;
- <53> - 약 1 내지 약 100 mM의 완충제;
- <54> - 선택적으로 약 10 내지 약 500 mM의 안정화제 및/또는 약 5 내지 약 500 mM의 등장화제; 및
- <55> - pH는 약 4.0 내지 약 7.0.
- <56> A베타 항체 농도는 약 1 내지 약 250 mg/mL, 바람직하게는 약 50 mg/mL 내지 약 200 mg/mL, 보다 바람직하게는 약 150 mg/mL 내지 약 200 mg/mL 범위이다. 명확함을 위해서 여기서 나타내는 액체에서의 농도, 또는 고체 형태로 정확하게 재구성되는 액체에서의 농도를 나타내는 것을 강조한다. 따라서 여기서 기재하는 동결건조 제제는 수득된 재구성 제제가 여기서 기재하는 농도로 각각 구성되는 것을 포함하는 방법으로 동결건조물로부터 재구성될 수 있다.
- <57> 그러나 여기서 기재하는 안전한 동결건조물은 또한 수득된 재구성 제제가 보다 농축되거나 또는 덜 농축된 재구성 매질 양을 사용하여 개구성시킬 수도 있다는 것을 당업에 통상의 지식을 가진 자들은 알 수 있다. 예를 들면 표 2에서 기재하는 것과 같은 "제제 A"의 동결건조물은 수득된 재구성 제제가 예를 들면 20 mg/mL A베타 항체, 5.3 mM L-히스티딘, 66.7 mM 슈크로스 및 0.011% 폴리솔베이트 20을 포함하도록 추가로 희석하여 재구성할 수 있다; 표 2의 제제 R 참조.
- <58> 본 발명에 따른 제제는 액체 형태, 동결건조 형태, 또는 동결건조 형태로부터 재구성된 액체 형태일 수 있다.
- <59> 본 발명의 제제가 동결건조 형태 또는 동결건조 형태로부터 재구성된 액체인 경우에는 안정화제로서 1개 이상의 동결건조보호제를 포함할 수 있다.
- <60> 본 발명에 따른 제제는 정맥내(i.v.), 피하내(s.c.) 또는 약물학 분야에 공지되어 있는 다른 임의의 비경구 투여 수단에 의해서 투여할 수 있다. 본 발명에 따른 제제는 피하내 경로에 의해서 투여하는 것이 바람직하다.
- <61> 본 발명에 따른 제제는 당업에 공지되어 있는 방법, 예컨대 초여과-정용여과, 투석, 첨가 및 혼합, 동결건조, 재구성 및 이들의 결합 방법에 의해 제조될 수 있다. 본 발명에 따른 제제의 제조 예는 이후에 확인할 수 있다.
- <62> 바람직한 실시양태에서 본 발명의 약물학적 비경구 제제에 포함되는 A베타 항체는 서열 번호: 1에서 규정한 것과 같은 가변 영역을 포함하거나 또는 가질 수 있다:

QVELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINASGT  
RTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGKGNTHKPYGYVR  
YFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW  
NSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV  
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV  
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA  
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG  
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL  
SLSPGK (서열 번호 : 1)

<63>

<64>

상기 서열은 하기도 또한 나타냈으며, CDRs, CH-부위, 중쇄 부위 뿐만 아니라 2개의 N-글리코실화 부위(Asn 52 및 Asn 306)를 나타냈다:

QVELVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS  
AINASGTRTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR  
GKGNTHKPYGYVRYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL  
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV  
NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV  
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL  
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG  
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV  
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK. (서열 번호 : 1)

**테두리** : CDR1, 2, 3

**밑줄** : CH1

**이탈릭** : 경쇄

**두줄 밑줄** : CH2

**점선** : CH3

**굵은 N** : N-연결 글리코실화 부위

<65>

<66>

여기서 기재하는 서열 번호: 1을 포함하는 대표적인 A베타 항체는 경쇄를 포함할 수도 있으며, 상기 경쇄는 하기의 아미노산을 포함하거나 또는 가질 수 있다:

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATG  
VPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFATYYCLQIYNMPITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI  
FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDY  
SLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호 : 2)

<67>

<68>

여기서 사용하는 "A베타 항체 A"라는 용어는 서열 번호: 1에서 규정하는 중쇄 및 서열 번호: 2에서 규정하는 경쇄를 포함하는 대표적인 A베타 항체를 나타낸다.

<69>

여기서 사용하는 "모노-글리코실화 항체(들)"라는 용어는 예를 들어 면역글로불린, 예를 들면 IgG, 예를 들면 IgG1의 개개 항체 분자의 하나의 (VH)-부위에 N-글리코실화를 포함하는 항체 분자를 나타낸다. 예를 들면 상기 "모노-글리코실화 형태"는 여기서 기재된 "A베타 항체 A"의 "Asn 52"의 아스파라긴 위치에 중쇄의 하나의 가변 영역 상에 글리코실화를 포함한다. 상기 "모노-글리코실화 IgG1-형태 또는 모노-글리코실화 아이소형"은 또한 여기서 설명하는 것과 같이 Fc-부분, 예를 들면 여기서 대표적인 "A베타 항체 A"의 비-가변성 Fc-부분에 아스파라긴 Asn 306에 잘 보존된 글리코실화 부위의 글리코실화를 포함할 수도 있다.

<70>

본 발명의 의미에서 "이중-글리코실화 항체(들)"라는 용어는 여기서 규정된 중쇄(VH)-부위의 두개의 가변 영역

상에 글리코실화를 포함한다. 또한 상기 "이중 글리코실화 형태"는 여기의 대표적인 "A베타 항체 A"의 아스파라긴 위치 Asn 52에서 두개의 중쇄의 가변 영역 상에 글리코실화를 포함한다. 상기 "이중-글리코실화 IgG1-형태 또는 이중-글리코실화 아이소형"은 또한 여기서 설명하는 것과 같이 비-가변성/불변성 Fc-부분, 특히 대표적인 "A베타 항체 A"의 위치 306 상에 잘 보존된 글리코실화 부위에 글리코실화를 포함할 수도 있다.

<71> 가변 영역, 예를 들면 중쇄의 두개의 가변 영역(두개의 (VH)-부위)에 해독후 번역(post-translational modification)이 없는 항체들은 본 발명의 내용에서 중쇄의 가변 영역에 글리코실화가 없는 "비-글리코실화 형태"인 것으로 생각한다. 게다가 상기 "비-글리코실화 형태"는 그림에도 불구하고 예를 들어 항체의 불변 영역(C-부위) 및 가장 일반적으로는 Fc-부분의 잘 보존된 글리코실화, 특히 여기서 규정하는 비-가변성/불변성 Fc-부분의 아스파라긴(Asn) 306에 글리코실화(들)를 포함할 수 있다; 서열 번호: 1 또한 참조.

<72> 본 발명의 약물학적 비경구 제제는 상기에서 규정하고 첨부된 실시예에서 설명하는 전형적인 "A베타 항체 A"를 포함할 수 있다. 따라서 상기 A베타 항체 A를 포함하는 약물학적 비경구 제제는 모노-글리코실화 A베타 항체 A 또는 이중-글리코실화 A베타 항체 A 또는 비-글리코실화 A베타 항체 A 또는 상기에서 규정한 이의 혼합물을 포함할 수 있다.

<73> 제조합 발현 A베타 항체 분자의 글리코실화 아이소형의 정제는 하기 단계를 포함할 수 있다:

<74> (1) 단백질 A 컬럼 정제;

<75> (2) 이온 교환 컬럼 정제, 예를 들면 양이온 교환 크로마토그래피; 및

<76> (3) 선택적으로 크기 배제 컬럼 정제.

<77> 정제 프로토콜은 추가로 농축 단계, 예를 들면 정용여과 또는 예를 들면 분석 컬럼을 포함하는 분석 단계를 포함할 수 있다. 또한 특정의 단계(예를 들면 두번의 이온 교환 크로마토그래피를 실행할 수 있음)를 반복하거나 또는 특정 단계(크기배제 크로마토그래피)는 방출시킬 수 있다는 것을 직시 및 실행할 수도 있다.

<78> 단백질 A는 대부분의 IgG1 아이소타입의 Fc 부위에 결합하는 특이적 리간드 기이다. 스트렙토코커스 아우레우스의 몇몇 스트레인에 의해 합성되고, 이것으로부터 분리하고, 크로마토그래피 비드에 결합할 수 있다. 몇가지 타입의 겔 제조가 상업적으로 이용가능하다. 사용할 수 있는 단백질 A 컬럼의 예로는 MabSelect(상표명) 컬럼이다. 이상적으로 컬럼은 25 mM Tris/HCl, 25 mM NaCl, 5 mM EDTA로 평형화시키고, 세포 배양 상층액을 컬럼 상에 로딩하고, 컬럼을 1 M Tris/HCl pH 7.2로 세척하며, 항체는 100 mM 아세트산을 사용하여 pH 3.2에서 용출시킨다.

<79> 양이온-교환 크로마토그래피는 이동상인 샘플과 고정상인 양 전하 그룹 사이의 상호작용을 이용한다. 약한 양이온 교환기(예를 들면 CM Toyopearl 650®)를 사용하는 경우에는 하기의 크로마토그래피 단계를 실행한다: 100 mM 아세트산 pH 4로 미리 평형화시킨 후에 단백질 A 용출액을 로딩하고, 100 mM 아세트산 pH 4로 세척하여 항체를 용출하고, 250 mM 아세트산 나트륨(pH 7.8-8.5) 및 500 mM 아세트산 나트륨(pH 7.8- 8.5)을 적용하는 단계에 의해서 분획화하였다. 첫번째 단계로 이중-글리코실화 아이소형 분획물과 모노-글리코실화 아이소형 분획물의 혼합물이 통상적으로 용출되며, 두번째 단계를 사용하면 비-글리코실화 아이소형 분획물이 용출되는 것이 일반적이다.

<80> 강한 양이온 교환기(예를 들면 SP Toyopearl 650)로부터 항체는 염 단계에 의해서 용출될 수 있다: 50 mM 아세트산 pH 5.0으로 컬럼을 평형화시킨 후, pH 4의 단백질 A 용출액을 로딩하고, 50 mM 아세트산과 210 mM 염화나트륨을 사용하여 첫번째 용출 단계를 실행한다. 다음에 50 mM 아세트산과 350 mM 염화나트륨의 두번째 용출 단계를 적용시킨다. 첫번째 염 단계에 의해서 이중-글리코실화 아이소형 분획물과 모노-글리코실화 아이소형 분획물의 혼합물이 용출되는 것이 일반적이며, 두번째 염 단계에 의해서 비-글리코실화 아이소형이 용출되는 것이 일반적이다.

<81> 추가로 항체는 염 그라디언트에 의해서 강한 양이온 교환기 컬럼(예를 들면 SP-Sepharose®)로부터 용출될 수도 있다: 미리 평형화시키고, 로딩하고, pH 4.5에서 컬럼을 세척한 후에 50 mM MES pH 5.8 내지 50 mM MES /1 M 염화나트륨 pH 5.8의 염 그라디언트를 적용시킨다. 여기서 이중-글리코실화 아이소형, 모노-글리코실화 아이소형 및 비-글리코실화 아이소형 분획물을 분리해서 용출하는 것이 통상적이다. 이후의 이중-글리코실화 아이소형 분획물 및 모노-글리코실화 아이소형 분획물은 풀화되어 생성물 풀 및/또는 목적하는 항체 혼합물이 수득될 수 있다.

<82> 이중- 및 모노-글리코실화 항체 분자, 예를 들면 면역글로불린 혼합물의 추가 정제는 크기배제 크로마토그래피

에 의해서 실행할 수 있다. 유용한 컬럼의 예로는 Superdex 200® 컬럼이 있다. 러닝 완충제의 예로는 히스티딘/염화나트륨, 예를 들면 10 mM 히스티딘/125 mM 염화나트륨/pH 6, 및 인산 완충 식염수(PBS)를 포함한다.

<83> 플로우 스루 모드(flow through mode)의 음이온 교환 크로마토그래피 이후의 농축/정용여과는 대안적인 정제 단계이다. Q Sepharose®은 음이온 교환 단계를 위한 수지의 예이다. 예를 들면 SP 크로마토그래피로부터의 용출액은 37.5 mM Tris/HCl pH 7.9로 3배 희석하고, 25 mM Tris/83 mM 나트륨 아세테이트로 미리 평형화시킨 Q-Sepharose 컬럼 상에 통과시킨다. 플로우 스루를 수집하고, pH를 5.5로 조정하고, 예를 들어 Hydrosart 30 kD® 막을 사용하는 초여과에 의해 농축시킨다. 이후에 농축물은 예를 들어 10 부피의 20 mM 히스티딘/HCl pH 5.5에 대해 정용여과시킬 수 있다.

<84> 상기에서 규정한 것과 같이 항체 아이소형은 또한 예를 들어 IgG1의 Fc-부분, IgG의 Fc-부분인 항체 분자의 불변성/비-가변성 부분에 추가의 글리코실화(들)를 포함할 수도 있다. Fc-부분의 상기 글리코실화는 서열 번호: 1에서 규정한 것에 따라 중쇄의 Asn 306 위치에 위치하고 있는 것이 특징인 잘 보존된 글리코실화를 나타낸다.

<85> 본 발명의 제제에 포함되는 항체의 IgG-Fc 부위는 CH2와 비-공유결합 쌍 CH3 도메인의 아스파라긴 306(Asn 306)에 N-연결 올리고사카라이드를 함유하는, 사슬간 디설피드 결합 경첩 부위, 글리코실화 CH2 도메인으로 구성되는 호모다имер일 수 있다. Asn-306의 글리코실화의 올리고사카라이드는 복합형 비안테나리 타입(complex biantennary type)의 것이며, 외부 팔 당(outer arm sugar)의 가변성 첨가와 함께 코어 헵타사카라이드 구조를 포함할 수 있다.

<86> 올리고사카라이드는 Fc 구조와 기능을 결정하거나 영향을 미친다[Jefferis (1998) Immunol Rev. 163, 50-76]. 특정의 특이적 IgG-Fc/효과기 리간드 상호작용을 계산하는 효과기 기능은 (Jefferis (2002) Immunol Lett. 82(1-2), 57-65 및 Krapp (2003) J Mol Biol. 325(5), 979-89)에서 설명하고 있다. 상기 보존된 Fc-위치 Asn-306은 Kabat-시스템에서 "Asn-297"에 상응한다[Kabat (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda MD].

<87> 특정 실시양태에서 본 발명의 제제는 하기를 포함하는 액체 또는 동결건조 제제이다:

<88> - 약 1 내지 약 200 mg/mL A베타 항체,

<89> - 0.04% 트윈 20 w/v,

<90> - 20 mM L-히스티딘,

<91> - 250 mM 슈크로스,

<92> - pH 5.5.

<93> 또 다른 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 동결건조 제제를 포함한다:

<94> - 75 mg/mL A베타 항체,

<95> - 0.04% 트윈 20 w/v,

<96> - 20 mM L-히스티딘,

<97> - 250 mM 슈크로스,

<98> - pH 5.5.

<99> 또는

<100> - 75 mg/mL A베타 항체,

<101> - 0.02% 트윈 20 w/v,

<102> - 20 mM L-히스티딘,

<103> - 250 mM 슈크로스,

<104> - pH 5.5.

<105> 또 다른 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 액상 제제를 포함한다:

- <106> - 37.5 mg/mL A베타 항체,
- <107> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <108> - 10 mM L-히스티딘,
- <109> - 125 mM 슈크로스,
- <110> - pH 5.5.
- <111> 또는
- <112> - 37.5 mg/mL A베타 항체,
- <113> - 0.01% 트윈 20 w/v,
- <114> - 10 mM L-히스티딘,
- <115> - 125 mM 슈크로스,
- <116> - pH 5.5.
- <117> 또 다른 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 동결건조 제제를 포함한다:
- <118> - 15 mg/mL A베타 항체,
- <119> - 0.04% 트윈 20 w/v,
- <120> - 20 mM L-히스티딘,
- <121> - 250 mM 슈크로스,
- <122> - pH 5.5.
- <123> 또 다른 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 동결건조 제제를 포함한다:
- <124> - 20 mg/mL A베타 항체,
- <125> - 0.011% 트윈 20 w/v,
- <126> - 5.3 mM L-히스티딘,
- <127> - 66.7 mM 슈크로스,
- <128> pH 5.5.
- <129> 또 다른 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 액상 제제를 포함한다:
- <130> - 7.5 mg/mL A베타 항체,
- <131> - 0.04% 트윈 20 w/v,
- <132> - 20 mM L-히스티딘,
- <133> - 250 mM 슈크로스,
- <134> - pH 5.5;
- <135> 또는
- <136> - 7.5 mg/mL A베타 항체,
- <137> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <138> - 10 mM L-히스티딘,
- <139> - 125 mM 슈크로스,
- <140> pH 5.5.
- <141> 추가의 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 동결건조 제제를 포함한다:



- <142> - 75 mg/mL A베타 항체,
- <143> - 0.04% 트윈 20 w/v,
- <144> - 20 mM L-히스티딘,
- <145> - 250 mM 트레할로스,
- <146> - pH 5.5.
- <147> 또는
- <148> - 75 mg/mL A베타 항체,
- <149> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <150> - 20 mM L-히스티딘,
- <151> - 250 mM 트레할로스,
- <152> - pH 5.5.
- <153> 또 다른 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 액상 제제를 포함한다:
- <154> - 37.5 mg/mL A베타 항체,
- <155> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <156> - 10 mM L-히스티딘,
- <157> - 125 mM 트레할로스,
- <158> - pH 5.5.
- <159> 또는
- <160> - 37.5 mg/mL A베타 항체,
- <161> - 0.01% 트윈 20 w/v,
- <162> - 10 mM L-히스티딘,
- <163> - 125 mM 트레할로스,
- <164> - pH 5.5.
- <165> 또 다른 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 액상 제제를 포함한다:
- <166> - 75 mg/mL A베타 항체,
- <167> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <168> - 20 mM L-히스티딘,
- <169> - 250 mM 트레할로스,
- <170> - pH 5.5.
- <171> 또는
- <172> - 75 mg/mL A베타 항체,
- <173> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <174> - 20 mM L-히스티딘,
- <175> - 250 mM 만니톨,
- <176> - pH 5.5.
- <177> 또는

- <178> - 75 mg/mL A베타 항체,
- <179> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <180> - 20 mM L-히스티딘,
- <181> - 140 mM 염화나트륨,
- <182> - pH 5.5.
- <183> 또는
- <184> - 150 mg/mL A베타 항체,
- <185> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <186> - 20 mM L-히스티딘,
- <187> - 250 mM 트레할로스,
- <188> - pH 5.5.
- <189> 또는
- <190> - 150 mg/mL A베타 항체,
- <191> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <192> - 20 mM L-히스티딘,
- <193> - 250 mM 만니톨,
- <194> - pH 5.5.
- <195> 또는
- <196> - 150 mg/mL A베타 항체,
- <197> - 0.02% 트윈 20 w/v,
- <198> - 20 mM L-히스티딘,
- <199> - 140 mM 염화나트륨,
- <200> - pH 5.5.
- <201> 또는
- <202> - 10 mg/mL A베타 항체,
- <203> - 0.01% 트윈 20 w/v,
- <204> - 20 mM L-히스티딘,
- <205> - 140 mM 염화나트륨,
- <206> - pH 5.5
- <207> 바람직한 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 액상 제제를 포함한다:
- <208> - 10 mg/mL A베타 항체,
- <209> - 0.01% 트윈 20 w/v,
- <210> - 20 mM L-히스티딘,
- <211> - 140 mM 염화나트륨,
- <212> pH 5.5
- <213> 또 다른 바람직한 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 동결건조 제제를 포함한다:

- <214> - 75 mg/mL A베타 항체,
- <215> - 0.04% 트윈 20 w/v,
- <216> - 20 mM L-히스티딘,
- <217> - 250 mM 슈크로스,
- <218> pH 5.5
- <219> 또 다른 바람직한 실시양태에서 본 발명에 따른 제제는 또한 하기를 포함하는 동결건조 제제를 포함한다:
- <220> - 20 mg/mL A베타 항체,
- <221> - 0.011% 트윈 20 w/v,
- <222> - 5.3 mM L-히스티딘,
- <223> - 66.7 mM 슈크로스
- <224> pH 5.5

### 실시예

- <228> 본 발명에 따른 피하 투여용 액체 및 동결건조 약제 제품의 제제는 하기와 같이 개발하였다:

#### <229> 액상 제제의 제조

- <230> 서열 번호: 1로 규정되는 중쇄와 서열 번호: 2로 규정되는 경쇄를 포함하는 A베타 항체(본 발명의 내용에서는 "A베타 항체 A")를 WO 03/070760에 따라 제조 및 수득하고, 대략 pH 5.5에서 20 mM 히스티딘 완충제 중 대략 40 내지 약 200 mg/mL의 농도로 초여과하여 농축시켰다. 다음에 농축 용액을 제제 완충제[대략 pH 5.5에서 당 (각각 염 또는 폴리올), 계면활성제 및 완충제를 함유함]으로 희석하여 최종 벌크 조성물(예를 들면 pH 5.5에서 10 mM L-히스티딘, 125 mM 슈크로스, 0.02 % 트윈 20) 중에 대략 7.5 mg/mL, 37.5 mg/mL, 75 mg/mL 또는 150 mg/mL로 제제화된 기대 항체 농도를 수득하였다.

- <231> 대안적으로 A베타 항체 A는 기대 완충제 및 당 조성물을 함유하는 정용여과 완충제에 대해서 완충-교환시키고, 대략 37.5 mg/mL의 최종 농도와 동일하거나 또는 더 높은 항체 농도로 농축시킨다. 계면활성제를 항체 용액에 100 내지 200 배 저장 용액으로서 초여과 작동을 완료한 후에 첨가하였다. 농축된 항체 용액은 대략 37.5 mg/mL의 최종 A베타 항체 A 농도에 동일한 부형제 조성물을 함유하는 제제 완충제로 적정하였다.

- <232> 모든 제제는 0.22  $\mu$ m 저 단백질 결합 필터를 통해 멸균 여과시키고, 무균적으로 ETFE(에틸렌 및 테트라플루오로 에틸렌의 코폴리머)를 (코팅된 고무 마개와 alucrimp 캡의) 밀봉된 멸균 6 mL 유리 바이알에 질소 대기하에서 충전하였다. 충전 부피는 대략 2.4 mL이다. 상기 제제를 여러번의 시간 간격으로 상이한 온도 조건에 저장하고, 냉동-해동 스트레스 방법과 교반(5  $^{\circ}$ C에서 200 분<sup>-1</sup>의 교반 빈도수에서 1 주)에 의해서 스트레스를 주었다. 샘플은 1) UV 분광광도계, 2) 크기배제 크로마토그래피(SEC) 및 3) 용액의 탁도를 측정하기 위한 비탁분석의 분석적 방법에 의해 스트레스 시험의 적용 전 및 후에 분석하였다.

#### <233> 동결건조 제제 및 상기 동결건조 제제로부터 재구성된 액상 제제의 제조

- <234> 대략 37.5 mg/mL의 "A베타 항체 A" 용액을 액상 제제에 있어서 상기에 기재한 것과 같이 준비하였다. 당업에 공지되어 있는 임의의 동결건조 방법은 본 발명의 범주 내에 있는 것으로 한다. 예를 들면 본 연구에서 사용하는 동결건조 방법은 제제를 상온에서 대략 5  $^{\circ}$ C로 냉각(예비 냉각단계)시키고, 대략 1  $^{\circ}$ C/분의 플레이트 냉각 속도로 -40  $^{\circ}$ C로 동결시키는 단계 이후에 약 2 시간 동안 -40  $^{\circ}$ C에서 유지하는 단계를 포함한다. 첫번째 건조 단계는 대략 -25  $^{\circ}$ C의 플레이트 온도와 대략 80 ubar의 챔버 압력에서 약 62 시간 동안 실행하였다. 이후에 두 번째 건조 단계는 -25  $^{\circ}$ C에서 25  $^{\circ}$ C로 0.2  $^{\circ}$ C/분의 온도 램프로 개시한 후에 대략 80 ubar의 챔버 압력에서 5 시간 이상동안 25  $^{\circ}$ C에서 보유하는 단계를 포함한다(적용한 건조 스케줄은 표 1에 나타냄).

- <235> 동결건조는 Usifroid SMH-90 LN2 냉동-건조기(Usifroid, Maurepas, France)에서 실행하였다. 본 연구에서 모든 동결건조 케이크는 Karl-Fischer 방법으로 결정하여 약 0.1 내지 1.0 %의 잔류 수분 함량을 가진다. 냉동-건조된 샘플을 상이한 시간 간격 동안 상이한 온도에서 배양하였다.



<236> 동결건조 제제는 주입하기 위해서 물로 최종 부피가 1.2 mL가 되도록 재구성하여 항체 농도가 대략 75 mg/mL이며, 점도가 3 mPa.s 이하인 등장 제제를 수득하였다. 냉동-건조된 케이크의 재구성 시간은 약 2 내지 4 분이다. 재구성된 샘플의 분석은 25 °C에서 재구성된 액체 샘플을 24 시간 동안 배양한 후 또는 재구성 직후에 실행하였다.

<237> 샘플은 1) UV 분광광도계, 2) 재구성 시간의 측정, 3) 크기 배제 크로마토그래피(SEC) 및 4) 용액의 탁도를 측정하기 위한 비탁 분석에 의해 분석하였다.

<238> 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 제제의 가용성 고분자량 종류(응집체) 및 저분자량 가수분해 생성물(LMW)를 검출하였다. 상기 방법은 Tosohaas TSK G3000 SWXL 컬럼이 장착된 Merck Hitachi 7000 HPLC 장비로 실행하였다. 손상되지 않은 모노머, 응집체 및 가수분해 생성물을 이동상으로서 pH 7.0의 0.2 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/0.25 M KCl를 사용하여 등용매 용출 프로파일에 의해 분리하고, 280 nm 파장에서 검출하였다.

<239> 단백질 함량을 측정하기 위해 사용하는 UV 분광기는 280 nm에서 Varian Cary Bio UV 분광광도계 상에서 실행하였다. 순수한 단백질 샘플은 pH 5.5의 20 mM L-히스티딘으로 대략 0.5 mg/mL로 희석하였다. 단백질 농도는 하기 수학적 1에 따라 계산하였다:

### 수학적 1

$$\text{단백질 함량} = \frac{A(280) - A(320) \times \text{희석 인자}}{\epsilon \left( \frac{\text{cm}^2}{\text{mg}} \right) \times d(\text{cm})}$$

<240>

<241> 단백질 농도는 ± 10 %의 정밀도로 측정하였다. 280 nm에서의 UV 광 흡수는 320 nm에서의 광 산란으로 정정하고, 순수한 샘플과 희석 완충제의 밀도 및 칭량 질량으로부터 측정된 희석 인자로 다양화하였다. 분자는 흡광 계수 ε와 큐벳의 경로 길이 d의 생성물로 나눈다.

<242> 유백광의 정도와 투명도는 비탁 분석 방법에 의해서 Formazin Turbidity Units(FTU)으로 측정하였다. 순수한 샘플을 11 mm 직경의 투명한 유리 튜브에 옮기고, HACH 2100 AN 탁도계에 배치하였다.

### 표 1

동결건조 사이클 타임 I

단계	선반 온도 (°C)	램프 속도 (°/분)	보유 시간 (분)	진공 설정 포인트 (μbar)
예냉	5°C	0.0	60	-
동결	-40°C	1.0	150	-
제 1 건조	-25°C	0.5	3700	80
제 2 건조	+25°C	0.2	300	80

<243>

표 2

본 발명에 따른 "A베타 항체 A" 약물 제형 제제의 조성물

제제		조성물 (표의 안정성 결과)			
냉동건조 제제					
제제 A		75mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 슈크로스, 0.04% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	재구성 후 단백질 농도 (*)(mg/mL)	크기 배제 - HPLC			재구성 후 탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	72.8	1.9	96.1	2.0	5.4
재구성 후 25℃에서 24h	74.8	1.9	96.0	2.1	5.3
2-8℃에서 1개월	74.5	1.7	95.8	2.5	5.4
2-8℃에서 3개월	74.2	2.0	95.9	2.1	5.6
2-8℃에서 6개월	n.d.	2.0	96.0	2.0	n.d.
25℃/60%rh 에서 6개월	n.d.	2.3	95.7	2.0	n.d.
40℃/75%rh 에서 6개월	n.d.	3.2	94.8	2.0	n.d.

<244>

제제 B		75mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 슈크로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	재구성 후 단백질 농도 (*)(mg/mL)	크기 배제 - HPLC			재구성 후 탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	74.9	1.9	96.1	2.0	5.3
재구성 후 25℃에서 24h	73.8	1.9	96.1	2.0	5.2
2-8℃에서 1개월	74.3	1.7	95.9	2.4	5.4
2-8℃에서 3개월	73.9	2.0	95.9	2.1	6.0
2-8℃에서 6개월	n.d.	2.0	96.0	2.0	n.d.
25℃/60%rh 에서 6개월	n.d	2.3	95.7	2.0	n.d
40℃/75%rh 에서 6개월	n.d.	3.2	94.8	2.0	n.d.

제제 C		75mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 트레할로스, 0.04% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	재구성 후 단백질 농도 (*)(mg/mL)	크기 배제 - HPLC			재구성 후 탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	74.4	2.0	96.1	2.0	5.3
재구성 후 25℃에서 24h	73.6	2.0	96.0	2.1	5.1
2-8℃에서 1개월	72.7	1.7	95.7-95.9	2.4	5.3
2-8℃에서 3개월	72.5	2.0	95.9	2.1	5.2
2-8℃에서 6개월	n.d.	2.0	96.0	2.0	n.d.
25℃/60%rh 에서 6개월	n.d	2.6	95.4	2.0	n.d
40℃/75%rh 에서 6개월	n.d.	4.2	93.8	2.0	n.d.

제제 D		75mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 트레할로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	재구성 후 단백질 농도 (*)(mg/mL)	크기 배제 - HPLC			재구성 후 탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	73.6	2.0	96.1	2.0	5.2
재구성 후 25℃에서 24h	72.8	2.0	96.0	2.0	5.6
2-8℃에서 1개월	72.9	1.8	95.8	2.4	5.1
2-8℃에서 3개월	73.4	2.0	95.9	2.1	5.5
2-8℃에서 6개월	n.d.	2.0	96.0	2.0	n.d.
25℃/60%rh 에서 6개월	n.d.	2.6	95.4	2.0	n.d.
40℃/75%rh 에서 6개월	n.d.	4.2	93.8	2.0	n.d.
제제 E		15mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 슈크로스, 0.04% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			

(\*) 재구성의 약간의 변화성과 분석적 정도를 고려함

<247>

액체 제제					
제제 F 2-8℃에 저장		37.5mg/mL A베타 항체 A, 10 mM L-히스티딘, 125 mM 슈크로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	36.7	1.8	96.2	2.0	3.5
1주 흔들	36.8	1.8	96.2	2.0	3.6
3개월	37.8	1.8	96.1	2.1	3.4
제제 G 2-8℃에 저장		37.5mg/mL A베타 항체 A, 10 mM L-히스티딘, 125 mM 슈크로스, 0.01% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	36.8	1.8	96.2	2.0	3.3
1주 흔들	36.8	1.8	96.3	1.9	3.6
3개월	37.8	1.8	96.1	2.1	3.9

<248>

제제 H 2-8℃에 저장		37.5mg/mL A베타 항체 A, 10 mM L-히스티딘, 125 mM 트레할로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	36.6	1.8	96.2	2.0	3.6
1주 흔들	36.6	1.8	96.2	2.0	3.4
3개월	37.7	1.8	96.1	2.1	4.2
제제 I 2-8℃에 저장		37.5mg/mL A베타 항체 A, 10 mM L-히스티딘, 125 mM 트레할로스, 0.01% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	36.6	1.8	96.2	2.0	3.5
1주 흔들	36.4	1.8	96.2	2.0	3.5
3개월	37.8	1.8	96.1	2.1	3.7
제제 J		7.5mg/mL A베타 항체 A, 10 mM L-히스티딘, 125 mM 슈크로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			



제제 K		75mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 트레할로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	75.3	0.9	98.5	0.6	5.0
2-8℃에서 1주 흔들	77.0	0.8	98.6	0.6	4.9
2-8℃에서 3개월	70.5	0.8	98.6	0.6	5.2
25℃/60%rh 에서 3개월	72.0	0.9	98.3	0.8	8.1
40℃/75%rh 에서 3개월	69.1	1.5	95.7	2.9	6.9
제제 L		75mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 만니톨, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (*)(mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	76.6	0.9	98.5	0.6	5.7
2-8℃에서 1주 흔들	77.4	0.8	98.6	0.6	5.5
2-8℃에서 3개월	81.1	0.8	98.6	0.6	5.7
25℃/60%rh 에서 3개월	72.0	0.9	98.3	0.8	8.4
40℃/75%rh 에서 3개월	72.9	1.4	95.8	2.8	8.6

제제 M 2-8℃에 저장		10mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 140 mM 염화나트륨, 0.01% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	9.7	0.7	98.1	1.2	3.7
1주 흔들	9.7	0.7	98.0	1.3	3.8
3개월	9.6	0.7	98.0	1.3	3.7

제제 N		75mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 140 mM 염화나트륨, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	73.9	1.0	98.5	0.6	17.5
2-8℃에서 1주 흔들	80.0	0.9	98.5	0.6	18.7
2-8℃에서 3개월	74.5	1.0	98.5	0.6	18.6
25℃/60%rh 에서 3개월	72.1	1.1	98.1	0.8	19.4
40℃/75%rh 에서 3개월	70.4	2.1	94.9	3.0	n.d.

<252>

제제 O		150mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 트레할로스, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	143.7	1.0	98.5	0.6	5.7
2-8℃에서 1주 흔들	151.9	1.0	98.5	0.6	5.0
2-8℃에서 3개월	138.1	1.1	98.3	0.6	5.5
25℃/60%rh 에서 3개월	134.5	1.5	97.8	0.8	7.3
40℃/75%rh 에서 3개월	141.7	3.0	94.3	2.8	6.2

<253>



제제 P		150mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 250 mM 만니톨, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	146.4	1.0	98.5	0.6	5.8
2-8℃에서 1주 흔들	153.4	1.0	98.5	0.6	5.3
2-8℃에서 3개월	141.1	1.1	98.4	0.6	5.9
25℃/60%rh 에서 3개월	146.7	1.5	97.8	0.8	7.1
40℃/75%rh 에서 3개월	138.1	2.8	94.4	2.8	7.1
제제 Q		150mg/mL A베타 항체 A, 20 mM L-히스티딘, 140 mM 염화나트륨, 0.02% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	단백질 농도 (mg/mL)	크기 배제 - HPLC			탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	150.8	1.0	98.5	0.6	18.0
2-8℃에서 1주 흔들	158.3	1.0	98.5	0.6	19.0
2-8℃에서 3개월	136.0	1.1	98.3	0.6	17.5
25℃/60%rh 에서 3개월	148.5	1.6	97.7	0.8	19.0
40℃/75%rh 에서 3개월	144.4	3.4	93.8	2.8	19.6

동결건조 제제					
제제 R		20mg/mL A베타 항체 A, 5.3 mM L-히스티딘, 66.7 mM 슈크로스, 0.011% 폴리솔베이트 20, pH 5.5			
타임포인트	재구성 후 단백질 농도 (*)(mg/mL)	크기 배제 - HPLC			재구성 후 탁도 (FTU)
		HMW (%)	모노머 (%)	LMW (%)	
초기	19.4	0.8	99.1	0.1	1.4
2-8℃에서 1개월	19.6	0.8	99.1	0.1	1.5
2-8℃에서 3개월	19.4	0.8	99.1	0.1	1.5
25℃/60%rh 에서 3개월	19.5	1.0	98.9	0.1	1.6
40℃/75%rh 에서 3개월	19.5	1.7	98.2	0.1	1.6

(\*) 재구성의 약간의 변이성과 분석적 정도를 고려함

### 도면의 간단한 설명

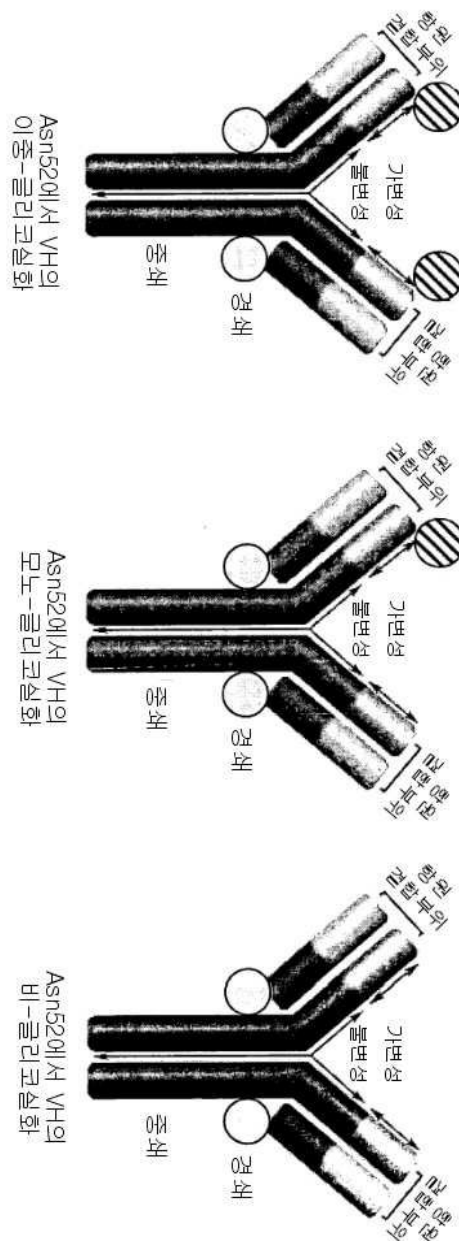
**도 1:** 이중- 모노- 및 비-글리코실화 항체 분자(면역글로불린)의 도식.

**도 2:** 6개월 까지 5 ℃, 25 ℃/60 %rh 및 40 ℃/75 %rh에서 개시 및 배양한 후에 A베타 항체 A 제제의 크기-배제 크로마토그래피에 의해 측정된 모노머의 함량. 항체 제제는 냉동건조시키고, 75 mg/mL의 아주 적은 농도로 재구성화함.

**도 3:** 3개월 동안 5 ℃, 25 ℃/60 %rh 및 40 ℃/75 %rh에서 개시 및 배양한 후 A베타 항체 A 제제의 크기-배제 크로마토그래피에 의해 측정된 모노머의 함량. 항체 제제 K, L 및 N은 75 mg/mL로 제제화시킨 반면에 제제 O, P 및 Q는 150 mg/mL로 제제화함.

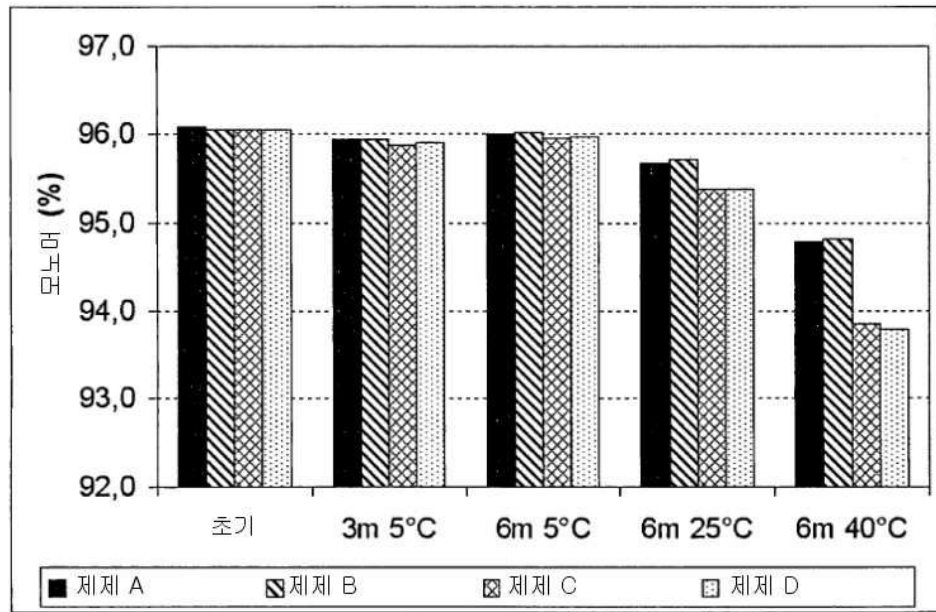
도면

도면1

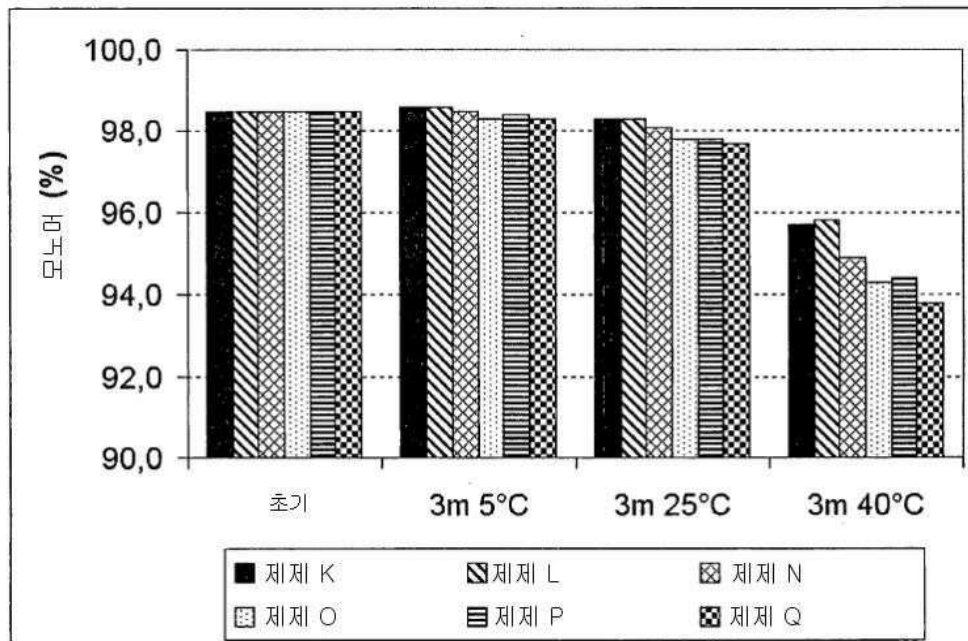


- 가변성 중쇄 Asn52에서의 N-클리코실화 부위
- Asn306에서 경쇄 부위의 N-클리코실화

도면2



도면3



## 서열 목록

### SEQUENCE LISTING

<110> F. Hoffmann-La Roche AG

<120> Abeta antibody parenteral formulation

<130> M3327 PCT S3

<150> EP 06 02 5590.8

<151> 2006-12-11

<160> 3

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 456

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<221> source

<223> Antibody heavy chain

<400> 1

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

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

Ser Ala Ile Asn Ala Ser Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr

100                                      105                                      110  
  
 Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser  
           115                                      120                                      125  
  
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr  
       130                                      135                                      140  
  
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro  
 145                                      150                                      155                                      160  
  
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val  
                   165                                      170                                      175  
  
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser  
           180                                      185                                      190  
  
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile  
       195                                      200                                      205  
  
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val  
       210                                      215                                      220  
  
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 225                                      230                                      235                                      240  
  
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
                   245                                      250                                      255  
  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
           260                                      265                                      270  
  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
       275                                      280                                      285  
  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

290

295

300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
325 330 335

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
450 455

<210> 2

<211> 215

<212> PRT

<213> artificial sequence

<220>

<221> source  
<223> Antibody light chain

<400> 2

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser  
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu  
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro  
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175



Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 3  
<211> 42  
<212> PRT  
<213> artificial sequence

<220>  
<221> source  
<223> A-beta

<400> 3

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys  
1 5 10 15

Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile  
20 25 30

Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala  
35 40