



(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl.

A61K 9/127 (2006.01)
A61K 31/282 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2007-0089693
(43) 공개일자 2007년08월31일

(21) 출원번호 10-2007-7013059
(22) 출원일자 2007년06월08일
심사청구일자 없음
번역문 제출일자 2007년06월08일
(86) 국제출원번호 PCT/US2005/040489
국제출원일자 2005년11월08일

(87) 국제공개번호 WO 2006/055352
국제공개일자 2006년05월26일

(30) 우선권주장 60/626,029 2004년11월08일 미국(US)
60/671,593 2005년04월15일 미국(US)

(71) 출원인 트랜세이브, 인코포레이티드
미국 뉴저지 몬머스 정크션 슈트 117 디어파크 드라이브 11 프린세톤 코포레이트 플라자 4
(우: 08852-1923)

(72) 발명자 필키웍즈, 프랑크, 지.
미국 08550 뉴저지 프린스턴 다벤포트 드라이브 3
페레즈-솔러, 로만
미국 10019 뉴욕 뉴욕 넘버 45비 웨스트 57번가 301
조우, 이유
미국 10469 뉴욕 브롱크스 라코니아 애브뉴 2569

(74) 대리인 남상선

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 지질-기재 플래티넘 화합물 제형을 복막내 투여하여 암을치료하는 방법

(57) 요약

본 발명은 암 치료 유효량의 지질-기재 플래티넘 화합물 제형을 환자에게 복막내 투여하는 것을 포함하여 환자의 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

특허청구의 범위

청구항 1.

암 치료 유효량의 지질-기재 플래티넘 화합물 제형을 환자에게 복막내 투여하는 것을 포함하여 환자의 암을 치료하는 방법.

청구항 2.

제 1항에 있어서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형내의 플래티넘 화합물이 1 mg/ml의 농도로 투여되는 것인 방법.

청구항 3.

제 1항에 있어서, 플래티넘 화합물이 시스플라틴, 카르보플라틴 (디아민(1,1-시클로부탄디카르복실레이트)-플래티넘(II)), 테트라플라틴 (오르마플라틴(ormaplatin)) (테트라클로로(1,2-시클로헥산디아민-N,N')-플래티넘(IV)), 티오플라틴 (비스(O-에틸디티오카르보네이트)플래티넘(II)), 사트라플라틴, 네다플라틴, 옥살리플라틴, 헵타플라틴, 이프로플라틴, 트랜스플라틴, 로바플라틴, 시스-아민디클로로(2-메틸피리딘) 플래티넘, JM118 (시스-아민디클로로 (시클로헥실아민)플래티넘(II)), JM149 (시스-아민디클로로(시클로헥실아민)-트랜스-디히드록소플래티넘(IV)), JM216 (비스-아세테이트-시스-아민디클로로(시클로헥실아민) 플래티넘(IV)), JM335 (트랜스-아민디클로로(시클로헥실아민)디히드록소플래티넘(IV)), (트랜스, 트랜스, 트랜스)비스-무-(헥산-1,6-디아민)-무-[디아민-플래티넘(II)]비스[디아민(클로로) 플래티넘(II)]테트라클로라이드, 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 4.

제 1항에 있어서, 플래티넘 화합물이 시스플라틴인 것인 방법.

청구항 5.

제 1항에 있어서, 지질이 달걀 포스파티딜콜린 (EPC), 달걀 포스파티딜글리세롤 (EPG), 달걀 포스파티딜이노시톨 (EPI), 달걀 포스파티딜세린 (EPS), 포스파티딜에탄올아민 (EPE), 포스파티드산 (EPA), 콩 포스파티딜콜린 (SPC), 콩 포스파티딜글리세롤 (SPG), 콩 포스파티딜세린 (SPS), 콩 포스파티딜이노시톨 (SPI), 콩 포스파티딜에탄올아민 (SPE), 콩 포스파티드산 (SPA), 수소화된 달걀 포스파티딜콜린 (HEPC), 수소화된 달걀 포스파티딜글리세롤 (HEPG), 수소화된 달걀 포스파티딜이노시톨 (HEPI), 수소화된 달걀 포스파티딜세린 (HEPS), 수소화된 포스파티딜에탄올아민 (HEPE), 수소화된 포스파티드산 (HEPA), 수소화된 콩 포스파티딜콜린 (HSPC), 수소화된 콩 포스파티딜글리세롤 (HSPG), 수소화된 콩 포스파티딜세린 (HSPS), 수소화된 콩 포스파티딜이노시톨 (HSPI), 수소화된 콩 포스파티딜에탄올아민 (HSPE), 수소화된 콩 포스파티드산 (HSPA), 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC), 디미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), 디미리스토일포스파티딜글리세롤 (DMPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤 (DPPG), 디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디올레일포스파티딜-에탄올아민 (DOPE), 팔미토일스테아로일포스파티딜-콜린 (PSPC), 팔미토일스테아로일포스파티딜글리세롤 (PSPG), 모노-올레오일-포스파티딜에탄올아민 (MOPE), 콜레스테롤, 에르고스테롤, 라노스테롤, 토코페롤, 지방산의 암모늄염, 인지질의 암모늄염, 글리세리드의 암모늄염, 미리스틸아민, 팔미틸아민, 라우릴아민, 스테아릴아민, 디라우로일 에틸포스포콜린 (DLEP), 디미리스토일 에틸포스포콜린 (DMEP), 디팔미토일 에틸포스포콜린 (DPEP) 및 디스테아로일 에틸포스포콜린 (DSEP), N-(2,3-디-(9-(Z)-옥타데세닐옥시)-프로프-1-일-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTMA), 1,2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니오)프로판 (DOTAP), 포스파티딜-글리세롤 (PG), 포스파티드산 (PA), 포스파티딜이노시톨 (PI), 포스파티딜 세린 (PS), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디미리스토일포스파티딜산 (DMPA), 디팔미토일포스파티딜산 (DPPA), 디스테아로일포스파티딜산 (DSPA), 디미리스토일포스파티딜이노시톨 (DMPI), 디팔미토일포스파티딜이노시톨 (DPPI), 디스테아로일포스파티딜이노시톨 (DSPI), 디미리스토일포스파티딜세린 (DMPS), 디팔미토일포스파티딜세린 (DPPS), 디스테아로일포스파티딜세린 (DSPS), 및 이들의 혼합물로 구성된 군으로부터 선택된 일원으로 이루어진 것인 방법.

청구항 6.

제 1항에 있어서, 지질이 인지질과 스테롤의 혼합물인 것인 방법.

청구항 7.

제 1항에 있어서, 지질이 DPPC와 콜레스테롤의 혼합물인 것인 방법.

청구항 8.

제 1항에 있어서, 지질이 50 내지 65 몰%의 DPPC와 35 내지 50 몰%의 콜레스테롤의 혼합물인 것인 방법.

청구항 9.

제 1항에 있어서, 암이 흑색종, 고환 (생식 세포), 골육종, 연질 조직 육종, 갑상선암, 결장암, 난소암, 신장암, 유방암, 결장직장암, 전립선암, 방광암, 자궁암, 폐암, 위암, 간암, 자궁내막암 또는 두경부의 편평세포 암종으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 10.

제 1항에 있어서, 암이 난소암인 것인 방법.

청구항 11.

제 1항에 있어서, 암이 결장암인 것인 방법.

청구항 12.

제 1항에 있어서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형내의 플래티넘 화합물 대 지질의 중량비가 1:5 내지 1:50인 것인 방법.

청구항 13.

제 1항에 있어서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형이 0.01 마이크론 내지 3.0 마이크론의 평균 직경을 지닌 리포솜을 포함하는 것인 방법.

청구항 14.

제 1항에 있어서, 지질이 DPPC와 콜레스테롤의 혼합물이고, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형내의 플래티넘 화합물 대 지질의 중량비가 1:5 내지 1:50이며, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형이 0.01 마이크론 내지 3.0 마이크론의 평균 직경을 지닌 리포솜을 포함하는 것인 방법.

청구항 15.

제 1항에 있어서, 지질이 DPPC와 콜레스테롤의 혼합물이고, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형내의 플래티늄 화합물 대 지질의 중량비가 1:5 내지 1:50이고, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형이 0.01 마이크론 내지 3.0 마이크론의 평균 직경을 지닌 리포솜을 포함하며, 플래티늄 화합물이 시스플라틴인 것인 방법.

청구항 16.

제 1항에 있어서, 지질이 중량비가 2 대 1인 DPPC와 콜레스테롤의 혼합물이고, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형내의 플래티늄 화합물 대 지질의 중량비가 약 1:20이고, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형이 약 0.40 마이크론의 평균 직경을 지닌 리포솜을 포함하며, 플래티늄 화합물이 시스플라틴인 것인 방법.

청구항 17.

제 1항에 있어서, 환자가 인간인 것인 방법.

청구항 18.

제 1항에 있어서, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형이 3주마다 1회 이상 환자에게 투여되는 것인 방법.

청구항 19.

제 1항에 있어서, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형내의 플래티늄 화합물의 양이 60 mg/m^2 이상, 100 mg/m^2 이상, 140 mg/m^2 이상, 또는 180 mg/m^2 이상인 것인 방법.

청구항 20.

제 1항에 있어서, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형내의 플래티늄 화합물의 양이 100 mg/m^2 이상이고, 지질-기재 플래티늄 화합물 제형이 3주마다 1회 이상 환자에게 투여되는 것인 방법.

명세서

관련 출원

본원은 2004년 11월 8일에 출원된 미국 가특허 출원 제 60/626,029호 및 2005년 4월 15일에 출원된 미국 가특허 출원 제 60/671,593호를 우선권으로 주장한다.

도입

비경구적 투여 경로는 다양한 신체 구획내로의 주입을 포함한다. 비경구적 경로는 정맥내 (iv) 경로, 즉, 정맥을 통한 혈관계내로의 직접 투여; 동맥내 (ia) 경로, 즉, 동맥을 통한 혈관계내로의 직접 투여; 복막내 (ip) 경로, 복강내로의 투여; 피하 (sc), 즉, 피부 아래로의 투여; 근내 (im) 경로, 즉, 근육내로의 투여; 및 피내 (id) 경로, 즉, 피부층들 사이로의 투여를 포함한다. 비경구적 경로는 많은 경우 경구 경로에 비해 바람직하다. 예를 들어, 투여하고자 하는 약물이 위장관에서 부분적으로 또는 전체적으로 분해되는 경우, 비경구적 투여가 바람직하다. 유사하게는, 응급 상황에서 신속한 반응을 필요로 하는 경우, 비경구적 투여가 일반적으로 경구 투여에 비해 바람직하다.

복막내 투여를 통한 복막 공간내로의 화학요법제의 국부적 전달은 예를 들어 난소암 및 결장암과 같은 국소적 재발성 암의 안전하고 유효한 치료법인 것으로 밝혀졌다.

난소암과 같은 암의 치료에서 항신생물제의 복막내 투여의 개념은 수 많은 연구자들의 관심을 끌었다. 실제로, 임상 시험에 도입하고자 한 첫 번째 세포독성 약물인 알킬화제는 1950년대 초기에 복막내 전달을 위해 최초로 조사되었다 [Markman M., *Cancer Treat Rev.*, **1986**, 13, 219-242].

그러나, 1970년대 후기에 와서야 난소암 치료에서 국부적 약물 투여의 문제 및 잠재성 둘 모두가 철저히 조사되기 시작했다 [Markman M., *Cancer Treat Rev.*, **1986**, 13, 219-242; Markman M., *Semin. Oncol.*, **1991**, 18(suppl 3), 248-254]. 복막내 약물 전달을 조사하기 위한 합리적인 방법의 개발에서 중요한 사건은 미국 국립 암 협회로부터의 이제는 저명한 데드릭(Dedrick) 등의 논문의 간행이었고, 이러한 논문에는 최초로 난소암의 치료에서 이러한 방법에 대한 신뢰할 만한 약력학적 원리가 제시되었다 [Dedrick RL, Myers CE, Bungay PM et al., *Cancer Treat. Rep.*, **1978**, 62, 1-9].

시스-디아민-디클로로플라티늄 (II)인 시스플라틴은 암의 전신적 치료에서 사용되는 보다 효과적인 항종양제 중 하나이다. 이러한 화학요법용 약물은 자궁내막, 방광, 난소 및 고환 신생물 뿐만 아니라 두경부의 편평세포 암종과 같은 실험실 동물 및 인간 종양의 종양 모델의 치료에서 매우 효과적이다 (Sur, et al., 1983 *Oncology* 40(5): 372-376; Steerenberg, et al., 1988 *Cancer Chemother Pharmacol.* 21(4): 299-307). 또한, 시스플라틴은 SCLC 및 NSCLC 둘 모두를 포함하는 폐암종의 치료에서 광범위하게 사용된다 (Schiller et al., 2001 *Oncology* 61(Suppl 1): 3-13). 그 밖의 활성 플래티늄 화합물 (하기 규정됨)이 암 치료에 유용하다.

그 밖의 암 화학요법제와 같이, 시스플라틴과 같은 활성 플래티늄 화합물은 전형적으로 매우 독성이다. 시스플라틴의 주요 단점은 주요 투여량 제한 인자인 극도의 신독성, 순환 반감기가 수 분에 불과한 신장을 통한 신속한 배설, 및 혈장 단백질에 대한 강력한 친화성이다 (Freise, et al., 1982 *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 258(2): 180-192).

활성 플래티늄 화합물의 독성을 최소화시키기 위한 시도는 병용 화학요법, 유사체의 합성 (Prestayko et al., 1979 *Cancer Treat Rev.* 6(1): 17-39; Weiss, et al., 1993 *Drugs.* 46(3): 360-377), 면역요법 및 리포솜내로의 봉입 (Sur, et al., 1983; Weiss, et al., 1993)을 포함하였다. 리포솜내에 봉입된 시스플라틴을 포함하는 항신생물제는 유리 형태의 약물에 비해 감소된 독성을 지니며 항종양 활성을 보유한다 (Steerenberg, et al., 1987; Weiss, et al., 1993).

그러나, 시스플라틴은 낮은 생체활성제/지질 비에 기여하는 두 가지 특성인 실온에서 약 1.0 mg/ml인 생체활성제의 낮은 수용해도 및 낮은 친지성으로 인해 리포솜 또는 지질 복합체내에 효율적으로 봉입시키기가 어렵다.

시스플라틴을 함유하는 리포솜 및 지질 복합체는 또 다른 문제인 조성물의 안정성 문제를 겪는다. 특히, 저장 동안 생체활성제 효능을 유지하고 리포솜내에 생체활성제를 보유하는 것은 인지된 문제들이고 (Freise, et al., 1982; Gondal, et al., 1993; Potkul, et al., 1991 *Am J Obstet Gynecol.* 164(2): 652-658; Steerenberg, et al., 1988; Weiss, et al., 1993), 4°C에서 수 주 정도로 시스플라틴을 함유하는 리포솜의 제한된 저장수명이 보고되었다 (Gondal, et al., 1993 *Eur J Cancer.* 29A(11): 1536-1542; Potkul, et al., 1991).

알버츠(Alberts) 등은 iv 시스플라틴과 비교하여 ip 시스플라틴이 생존을 현저하게 개선시키고, III기 난소암 및 2cm 이하의 잔류 종괴 (tumor mass)를 지닌 환자에서 현저하게 적은 독성 효과를 나타냄을 밝혀내었다 [Alberts D.S. et al., *New England Journal of Medicine*, **1996**, 335(26), 1950-5]. 그러나, ip 시스플라틴은 투여량 제한 독성인 신독성의 불편과 같은 수 가지 단점을 지닌다.

추가로, 전임상 및 임상 데이터 둘 모두는 난소암의 치료에서 복막내 약물 전달 경로를 이용하는 것과 관련된 임의의 이점이 이러한 악성종양을 지닌 환자의 비교적 잘 규정된 작은 서브셋(subset)으로 제한됨을 확고히 입증하였다 [Markman M., *Cancer Treat Rev.*, **1986**, 13, 219-242; Markman M., *Semin. Oncol.*, **1991**, 18(suppl 3), 248-254; Markman M. Reichman B, Hakes T et al., *J. Clin. Oncol.*, **1991**, 9, 1801-1805]. 예를 들어, 진행성 난소암의 구제 치료로서의 병용 시스플라틴-기재 요법을 사용하여 더 메모리얼 슬로안-케터링 캔서 센터 (the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center; MSKCC)에서 치료된 일련의 환자에서, ip 요법의 개시 시점에서 최대 직경이 1cm 이하로 측정된 가장 큰 잔류 종괴를 지닌 환자의 32% (17/50)가 최대 직경이 1 cm 미만인 하나 이상의 종괴를 지닌 환자의 단지 5% (2/39)와 비교하여 외과적으로 증명된 완전한 반응을 달성하였다 [Markman M, Reichman B, Hakes T et al., *J. Clin. Oncol.*, **1991**, 9, 1801-1805]. 암의 점점 더 유해한 효과를 극복하기 위해 명백히 직접 투여 경로 이상의 것이 필요하다.

시스플라틴 이외에, 다수의 항신생물제가 난소암의 구제 치료로서 ip 경로에 의해 전달되는 경우 안전성 및 잠재적 효능에 대해 조사되었다. 이는 시스플라틴, 파클리탁셀, 미토산트론(mitoxantrone), 독소루비신, 미토마이신-C, 5-플루오로우라실, 메토트렉세이트, 티오테파(thiotepa), 재조합 인터페론- α , 재조합 인터페론- γ , 인터루킨 2 및 종양 괴사 인자를 포함한

다 [Markman M., *Cancer Treat Rev.*, **1986**, *13*, 219-242; Markman M., *Semin. Oncol.*, **1991**, *18*(suppl 3), 248-254; Markman M, Reichman B, Hakes T et al., *J. Clin. Oncol.*, **1991**, *9*, 1801-1805; Markman M., Regional antineoplastic drug delivery in the management of malignant disease. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, **1991**; Berek J.S., Markman M., *Int. J. Gynecol. Cancer*, **1992**, *1*, 26-29; Markman M, Berek J.S., *Int. J. Gynecol. Cancer*, **1992**, *1*, 30-34; Alberts D.S., Liu P.Y., Hannigan E.V. et al., *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **1995**, *14*, 273a; Rowinsky E.K., Donehower R.C., *N. Engl. J. Med.*, **1995**, *332*, 1004-1014]. 병용법이 또한 조사되었다.

플래티넘 화합물의 ip 투여로 달성된 진보에도 불구하고, 플래티넘 화합물의 표적 조직에서의 투여량 제한 독성 및 낮은 약물 수준은 대부분의 요법이 환자의 기대 여명을 연장시키지 못하게 한다.

발명의 상세한 설명

발명의 개요

본 발명의 목적은 플래티넘 화합물이 지질 제형없이 투여되는 경우 보다 일부 경우 2배 만큼 낮은 아급성 독성을 지닌 지질-기재 제형의 일부로서 플래티넘 화합물을 투여하는 것을 포함하여 암을 치료하는 방법을 제공하는 데에 있다.

또한, 본 발명의 목적은 종종 경구 투여와 관련된 위장 분해를 회피하기 위해 플래티넘 화합물을 국부적으로 도입함으로써 암을 치료하는 데에 있다.

본 발명은 본원에 제공된 지질-기재 플래티넘 제형이 복막내로 효율적으로 투여될 수 있다는 인식으로부터 도출된 것이다.

한 가지 구체예에서, 본 발명은 유효량의 지질-기재 플래티넘 제형을 환자에게 복막내 투여하는 것을 포함하여 환자의 암을 치료하는 방법을 특징으로 한다. 특정 구체예에서, 플래티넘 제형내의 플래티넘 화합물은 약 0.8 mg/ml 내지 약 1.2 mg/ml의 농도로 복막내 투여된다. 특정 구체예에서, 플래티넘 제형내의 플래티넘 화합물은 약 0.9 mg/ml 내지 약 1.1 mg/ml의 농도로 복막내 투여된다. 특정 구체예에서, 플래티넘 제형내의 플래티넘 화합물은 1 mg/ml의 농도로 복막내 투여된다.

특정 구체예에서, 본 발명은 플래티넘 화합물이 다음과 같은 화합물로 구성된 군으로부터 선택된 것인 상기 언급된 방법에 관한 것이다: 시스플라틴, 카르보플라틴 (디아민(1,1-시클로부탄디카르복실레이트)-플래티넘(II)), 테트라플라틴 (오르마플라틴(ormaplatin)) (테트라클로로(1,2-시클로헥산디아민-N,N')-플래티넘(IV)), 티오플라틴 (비스(O-에틸디티오키노네이트)플래티넘(II)), 사트라플라틴, 네다플라틴, 옥살리플라틴, 헵타플라틴, 이프로플라틴, 트랜스플라틴, 로바플라틴, 시스-아민디클로로(2-메틸피리딘) 플래티넘, JM118 (시스-아민디클로로 (시클로헥실아민)플래티넘(II)), JM149 (시스-아민디클로로(시클로헥실아민)-트랜스-디히드록소플래티넘(IV)), JM216 (비스-아세테이트-시스-아민디클로로(시클로헥실아민) 플래티넘(IV)), JM335 (트랜스-아민디클로로(시클로헥실아민)디히드록소플래티넘(IV)), (트랜스, 트랜스, 트랜스)비스-무-(헥산-1,6-디아민)-무-[디아민-플래티넘(II)]비스[디아민(클로로) 플래티넘(II)]테트라클로라이드, 및 이들의 혼합물. 특정 구체예에서, 플래티넘 화합물은 시스플라틴이다.

특정 구체예에서, 본 발명은 지질이 다음과 같은 물질로 구성된 군으로부터 선택된 일원으로 이루어진 것인 상기 언급된 방법에 관한 것이다: 달걀 포스파티딜콜린 (EPC), 달걀 포스파티딜글리세롤 (EPG), 달걀 포스파티딜이노시톨 (EPI), 달걀 포스파티딜세린 (EPS), 포스파티딜에탄올아민 (EPE), 포스파티드산 (EPA), 콩 포스파티딜콜린 (SPC), 콩 포스파티딜글리세롤 (SPG), 콩 포스파티딜세린 (SPS), 콩 포스파티딜이노시톨 (SPI), 콩 포스파티딜에탄올아민 (SPE), 콩 포스파티드산 (SPA), 수소화된 달걀 포스파티딜콜린 (HEPC), 수소화된 달걀 포스파티딜글리세롤 (HEPG), 수소화된 달걀 포스파티딜이노시톨 (HEPI), 수소화된 달걀 포스파티딜세린 (HEPS), 수소화된 포스파티딜에탄올아민 (HEPE), 수소화된 포스파티드산 (HEPA), 수소화된 콩 포스파티딜콜린 (HSPC), 수소화된 콩 포스파티딜글리세롤 (HSPG), 수소화된 콩 포스파티딜세린 (HSPS), 수소화된 콩 포스파티딜이노시톨 (HSPI), 수소화된 콩 포스파티딜에탄올아민 (HSPE), 수소화된 콩 포스파티드산 (HSPA), 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC), 디미리스토일포스파티딜콜린 (DMPC), 디미리스토일포스파티딜글리세롤 (DMPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤 (DPPG), 디스테아로일포스파티딜콜린 (DSPC), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디올레일포스파티딜-에탄올아민 (DOPE), 팔미토일스테아로일포스파티딜-콜린 (PSPC), 팔미토일스테아로일포스파티딜글리세롤 (PSPG), 모노-올레오일-포스파티딜에탄올아민 (MOPE), 콜레스테롤, 에르고스테롤, 라노스테롤, 토코페롤, 지방산의 암모늄염, 인지질의 암모늄염, 글리세리드의 암모늄염, 미리스틸아민, 팔미틸아민, 라우릴아민, 스테아릴아민, 디라우로일 에틸포스포콜린 (DLEP), 디미리스토일 에틸포스포콜린 (DMEP), 디팔미토일 에틸포스

포콜린 (DPEP) 및 디스테아로일 에틸포스포콜린 (DSEP), N-(2,3-디-(9-(Z)-옥타데세닐옥시)-프로프-1-일-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTMA), 1,2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니오)프로판 (DOTAP), 포스파티딜-글리세롤 (PG), 포스파티드산 (PA), 포스파티딜이노시톨 (PI), 포스파티딜 세린 (PS), 디스테아로일포스파티딜글리세롤 (DSPG), 디미리스토일포스파티딜산 (DMPA), 디팔미토일포스파티딜산 (DPPA), 디스테아로일포스파티딜산 (DSPA), 디미리스토일포스파티딜이노시톨 (DMPI), 디팔미토일포스파티딜이노시톨 (DPPI), 디스테아로일포스파티딜이노시톨 (DSPI), 디미리스토일포스파티딜세린 (DMPS), 디팔미토일포스파티딜세린 (DPPS), 디스테아로일포스파티딜세린 (DSPS), 및 이들의 혼합물. 특정 구체예에서, 지질-기재 플래티넘 제형 중의 지질은 디팔미토일포스파티딜콜린 (DPPC) 또는 콜레스테롤과 같은 스테롤, 또는 둘 모두와 같은 인지질이다. 추가의 구체예에서, 지질은 50 내지 65 몰%의 DPPC 및 35 내지 50 몰%의 콜레스테롤의 혼합물이다.

추가의 구체예에서, 치료되는 암은 하기로부터 선택된다: 흑색종, 고환(종자 세포), 골육종, 연조직 육종, 갑상샘 암, 결장암, 난소암, 신장암, 유방암, 직장결장암, 전립선암, 담낭암, 자궁암, 폐암, 위암, 간암, 자궁내막암, 또는 두경부의 편평 세포 암종. 특정 구체예에서, 치료되는 암은 난소암 또는 결장암이다.

추가의 구체예에서, 본 발명은 상기 언급된 방법에 관한 것이고, 여기서 지질-기재 플래티넘 화합물 제형 중 플래티넘 화합물 대 지질의 중량비는 1:5 내지 1:50이다. 추가의 구체예에서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형은 평균 직경이 0.01 마이크로미터 내지 3.0 마이크로미터인 리포솜을 포함한다.

추가의 구체예에서, 본 발명은 상기 언급된 방법에 관한 것이고, 여기서 지질은 DPPC와 콜레스테롤의 혼합물이고, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형 중 플래티넘 화합물 대 지질의 중량비는 1:5 내지 1:50이며, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형은 평균 직경이 0.01 마이크로미터 내지 3.0 마이크로미터인 리포솜을 포함한다. 추가의 구체예에서, 플래티넘 화합물은 시스플라틴이다.

추가의 구체예에서, 본 발명은 상기 언급된 방법에 관한 것이고, 여기서 지질은 중량비가 2 대 1인 DPPC와 콜레스테롤의 혼합물이고, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형 중 플래티넘 화합물 대 지질의 중량비는 1:20이며, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형은 평균 직경이 0.40 마이크로미터인 리포솜을 포함하며, 플래티넘 화합물은 시스플라틴이다.

추가의 구체예에서, 환자는 사람이다. 추가의 구체예에서, 플래티넘-기재 플래티넘 화합물 제형을 3주마다 1회 이상 환자에게 투여한다. 추가의 구체예에서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형을 3주마다 2회 이상 환자에게 투여한다. 추가의 구체예에서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형을 3주마다 3회 이상 환자에게 투여한다. 추가의 구체예에서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형 중 플래티넘 화합물의 양은 60 mg/m^2 이상, 100 mg/m^2 이상, 140 mg/m^2 이상 또는 180 mg/m^2 이상이다. 추가의 구체예에서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형 중 플래티넘 화합물의 양은 100 mg/m^2 이상이고, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형은 3주마다 1회 이상 환자에게 투여된다.

또 다른 구체예에서, 본 발명은 상기 언급된 방법에 관한 것이고, 여기서 지질-기재 플래티넘 화합물은 (a) 플래티넘 화합물 및 소수성 매트릭스 운반용 시스템을 조합시키고; (b) 매트릭스를 제1 온도에서 수렴하고; (c) 이후 혼합물을 제2 온도에서 수렴함에 의해 제조되며, 여기서 제2 온도는 제1 온도보다 낮고; 단계 (b) 및 (c)는 플래티넘 화합물의 캡슐화를 증가시키는데 효과적이다. 추가의 구체예에서, 제1 온도는 약 4°C 내지 약 70°C 이다. 추가의 구체예에서, 제2 온도는 약 -25°C 내지 약 25°C 이다. 추가의 구체예에서, 단계 (b) 및 (c)는 약 5 내지 300 분 동안 유지된다.

본 발명의 상기 구체예, 다른 구체예, 및 이들의 특징 및 특성은 첨부된 설명, 도면 및 청구범위로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

도 1은 지질-기재 시스플라틴 (L-CDDP-ip)의 ip 투여로 인한 독성이 시스플라틴 (CDDP-ip)의 ip 투여에 비해 크게 감소함을 나타낸다.

도 2는 복막내 투여된 유리 시스플라틴에 비해 복막내 및 정맥내 투여된 지질-기재 시스플라틴으로부터의 혈류내 시스플라틴의 증가된 양을 도시한다.

도 3은 복막내 투여된 유리 시스플라틴에 비해 복막내 투여된 지질-기재 시스플라틴으로부터의 혈류내 시스플라틴의 증가된 양을 도시한다.

도 4는 복막내 투여된 유리 시스플라틴에 비해 지질-기재 시스플라틴으로부터의 신장내 시스플라틴의 증가된 양을 도시한다.

도 5는 복막내 투여된 유리 시스플라틴에 비해 지질-기재 시스플라틴으로부터의 간내 시스플라틴의 더 높은 양을 도시한다.

도 6은 복막내 투여된 유리 시스플라틴에 비해 지질-기재 시스플라틴으로부터의 폐내 시스플라틴의 더 높은 양을 도시한다.

도 7은 복막내 투여된 유리 시스플라틴에 비해 복막내 투여된 지질-기재 시스플라틴으로부터의 비장내 시스플라틴의 증가된 양을 도시한다.

도 8은 복막내 투여된 지질-기재 시스플라틴 및 유리 시스플라틴으로부터의 플래티넘의 혈액/신장 농도 비를 도시한다.

도 9는 유리 시스플라틴이 정맥내 또는 복막내로 운반될 때 어느 한 방법에 의해 투여된 지질-기재 시스플라틴에 대한 혈중 우레아 질소(BUN) 레벨의 증가를 도시한다.

도 10은 유리 시스플라틴 및 지질-기재 시스플라틴을 ip 투여한 후 생육할 수 있는 사람 난소암 세포주 SK-OV₃-IPL이 이식된 마우스의 생존률을 도시한다.

도 11은 지질-기재 시스플라틴, 비시클릭 온도 시스플라틴 리포솜, 및 가용성 시스플라틴을 ip 투여한 후 생육할 수 있는 L1210 종양 세포가 이식된 마우스의 생존률을 도시한다.

발명의 상세한 설명

I. 정의

편의상, 본 발명을 추가로 설명하기에 앞서, 본 명세서, 실시예 및 첨부된 청구항에 사용된 특정 용어들을 여기에 모았다. 이들 정의는 나머지 설명에 비추어 해석되고 당업자에 의해 이해되어야 한다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 지닌다.

본원에 사용된 단수 표시 ("a" 및 "an")는 이의 문법적인 대상이 하나이거나 하나를 초과 (즉, 하나 이상)함을 언급한다. 예를 들어, "(an) 엘리먼트"는 하나 또는 하나를 초과하는 엘리먼트를 의미한다.

"생체이용가능한"이라는 용어는 당 분야에서 인정되며, 투여받은 피검체 또는 환자에 의해 흡수되거나, 이에 혼입되거나, 또는 달리 생리학적으로 이용가능한, 투여량의 일부, 또는 이를 가능하게 하는 해당 발명의 형태를 언급한다.

본원에 사용된 "암 치료용 유효량"이란 용어는 암을 치료하기에 효과적인 지질-기재 플래티넘 화합물 제형의 양을 의미한다. 일 구체예에서, 지질-기재 플래티넘 화합물 제형의 암 치료용 유효량은 통상적으로 사람에서 ip 전달에 대해 약 100 mg/m²이다.

"CDDP"란 용어는 시스 디아민디클로로플래티넘에 대해 사용되며, 본원에서 "시스플라틴"과 상호교환적으로 사용된다.

"포함한다" 및 "포함하는(comprising)"은 추가의 엘리먼트가 포함될 수 있음을 의미하는, 포괄적이고 열린 의미로 사용된다.

"소수성 매트릭스 운반 시스템"이라는 용어는 하기 기술된 용매 주입 과정 동안 제조된 지질/용매 혼합물이다.

용어 "포함하는(including)"은 "포함하나 제한되지 않음"을 의미하기 위해 본원에서 사용된다. "포함하는"과 "포함하나 제한되지 않음"은 상호교환적으로 사용된다.

본원에서 사용된 "복막내" 또는 "복막내로" 또는 "ip"라는 용어는 치료제, 예컨대 항신생물성 화합물, 예컨대 플래티늄 화합물을 환자의 복강으로 투여하는 것을 의미한다. 본원에서 사용된 "복강"이라는 용어는 배꼽반 벽을 라이닝하고 내장을 싸고 있는 장액 막을 의미한다.

"L-CDDP"라는 용어는 시스 디아민디클로로플래티늄의 지질-기재 제형에 대해 사용되며, 본원에서 "지질-기재 시스플라틴"과 상호교환적으로 사용된다.

본원에서 사용된 "지질-기재 플래티늄 화합물"이라는 용어는 지질 및 플래티늄 화합물을 포함하는 조성물을 언급한다. 몇몇 구체예에서, 지질-기재 플래티늄 화합물은 리포솜의 형태일 수 있다. 몇몇 구체예에서, 지질-기재 플래티늄 화합물 중 플래티늄 화합물 대 지질의 중량비는 약 1:5 내지 1:50이다. 추가의 구체예에서, 지질-기재 플래티늄 화합물 중 플래티늄 화합물 대 지질의 중량비는 약 1:5 내지 약 1:30이다. 추가의 구체예에서, 지질-기재 플래티늄 화합물 중 플래티늄 화합물 대 지질의 중량비는 약 1:5 내지 1:25이다. 또한 다른 구체예에서, 플래티늄 화합물은 시스플라틴이다.

"포유동물"이라는 용어는 당 분야에 공지되어 있고, 예시적인 포유동물로는 사람, 영장류, 소, 돼지, 개, 고양이 및 설치류(예컨대, 마우스 및 토끼)가 있다.

당해 방법에 의해 치료되는 "환자", "피검체" 또는 "숙주"는 사람 또는 사람이 아닌 동물을 의미할 수 있다.

"약제학적으로 허용되는 염"이란 용어는 당 분야에서 인정되며, 화합물의 비교적 무독성인 무기 및 유기산 부가염을 의미하고, 예를 들어 본 발명의 조성물에 함유된 것들을 포함한다.

"용매 주입"이라는 용어는 과정에 적합한 소량, 바람직하게는 최소량의 적합한 용매에 하나 이상의 지질을 용해시켜 지질 현탁액 또는 용액(바람직하게는 용액)을 형성한 다음 용액을 생체활성제를 함유하는 수성 매질에 첨가하는 것을 포함하는 과정이다. 통상적으로 과정에 적합한 용매는 투석과 같은 수성 과정에서 씻겨 나갈 수 있는 것이다. 용매 주입에 의해 냉/온 싸이클을 거친 조성물이 바람직하게 형성된다. 알코올이 용매로서 바람직하며, 에탄올이 바람직한 알코올이다.

"에탄올 주입"은 소량, 바람직하게는 최소량의 에탄올에 하나 이상의 지질을 용해시켜 지질 용액을 형성한 다음 용액을 생체활성제를 함유하는 수성 매질에 첨가하는 것을 포함하는 용매 주입의 유형이다. "소"량의 용매는 주입 과정에서 리포솜 또는 지질 복합체를 형성하기에 적합한 양이다.

"치료제"라는 용어는 당 분야에서 인정되며, 피검체에서 국소적으로 또는 전신적으로 작용하는, 생물학적, 생리학적, 또는 약리적으로 활성인 물질인 임의의 화학적 부분을 언급한다. "약물"로서도 언급되는 치료제의 예가 머크 인텍스, 피지션스 데스크 레퍼런스, 및 파마콜로지컬 베이스 오브 테라퓨틱스와 같은 널리 공지된 참조 문헌에 개시되어 있으며, 비제한적으로 약제; 비타민; 미네랄 보충물; 질병 또는 질환의 치료, 예방, 진단, 치료 또는 완화에 사용되는 물질; 신체의 구조 또는 기능에 영향을 미치는 물질; 또는 생리학적 환경에 놓인 후 생물학적으로 활성이거나 더 활성이 되는 프로드러그를 포함한다.

용어 "치료 지수"는 약물 효능의 정량적 평가에 대한 독성의 정량적 평가의비, 예를 들어 동물의 경우에 LD₅₀/ED₅₀을 지칭하는 당업계에 인지된 용어이다. 상기 용어 "LD₅₀"은 당업계에 인지되어 있고, 이는 시험 유기체의 50%에서 치명적 반응을 유도하는 투여된 독성 물질의 양을 의미한다. 이는 때때로 중간 치사량으로서 지칭되기도 한다. 용어 "ED50"은 당업계에 인지되어 있으며, 중간 유효량으로 지칭된다.

상기 용어 "치료하는"은 당업계에 인지되어 있으며, 이는 임의의 상태 또는 질환의 하나 이상의 증상을 경감시키고 치유함을 지칭한다.

II. 지질

인지질, 토크페롤, 스테롤, 지방산, 글리코단백질, 예컨대 알부민, 음으로 하전된 지질 및 양이온 지질을 포함하는, 항종양제의 복막내 또는 정맥내 투여를 위한 리포솜을 형성시키는 데 사용된 지질은 합성, 반합성, 또는 천연 지질일 수 있다. 인지질에 있어서, 이들은 달걀 포스파티딜콜린(EPC), 달걀 포스파티딜글리세롤(EPG), 달걀 포스파티딜이노시톨(EPI), 달걀 포스파티딜세린(EPS), 포스파티딜에탄올아민(EPE), 및 포스파티드산(EPA)과 같은 지질; 콩 상응물, 대두 포스파티딜콜린(SPC); SPG, SPS, SPI, SPE 및 SPA; 수소화처리된 달걀 및 콩 상응물(예를 들어, HEPC, HSPC), 콜린, 글리세롤, 이노

시톨, 세린, 에탄올아민을 포함하는, 12 내지 26개의 탄소원자로 된 사슬을 함유하는 글리세롤의 2 및 3 위치에서 에스테르 결합, 및 글리세롤의 1 위치에서 상이한 헤드기로 구성되는 다른 인지질, 및 상응하는 포스파티드산을 포함할 수 있다. 이러한 지방산 상의 사슬은 포화되거나 불포화될 수 있으며, 인지질은 상이한 사슬 길이 및 상이한 불포화도로 된 지방산을 구성할 수 있다. 특히, 제형의 조성은 DPPC를 포함할 수 있다. 그 밖의 예에는 디미리스토일포스파티딜콜린(DMPC) 및 디미리스토일포스파티딜글리세롤(DMPC), 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC) 및 디팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC) 및 디스테로일포스파티딜글리세롤(DSPG), 디올레일포스파티딜-에탄올아민(DOPE) 및 팔미토일스테아로일포스파티딜-콜린(PSPC) 및 팔미토일스테아로일포스파티딜글리세롤(PSPG)과 같은 혼합된 인지질, 및 모노-올레일-포스파티딜에탄올아민(MOPE)와 같은 단일 아실화된 인지질이 포함된다.

스테롤은 콜레스테롤, 콜레스테롤 헤미석시네이트를 포함하는 콜레스테롤의 에스테르, 콜레스테롤 하이드로젠 설페이트 및 콜레스테롤 설페이트를 포함하는 콜레스테롤의 염, 에르고스테롤, 에르고스테롤 헤미-석시네이트를 포함하는 에르고스테롤의 에스테르, 에르고스테롤 하이드로젠 설페이트 및 에르고스테롤 설페이트를 포함하는 에르고스테롤의 염, 라노스테롤, 라노스테롤 헤미-석시네이트를 포함하는 라노스테롤의 에스테르, 라노스테롤 하이드로젠 설페이트 및 라노스테롤 설페이트를 포함하는 라노스테롤의 염을 포함할 수 있다. 토코페롤은 토코페롤, 토코페롤 헤미-석시네이트를 포함하는 토코페롤의 에스테르, 토코페롤 하이드로젠 설페이트 및 토코페롤 설페이트를 포함하는 토코페롤의 염을 포함할 수 있다. 용어 "스테롤 화합물"은 스테롤, 토코페롤 등을 포함한다.

사용된 양이온성 지질은 지방산, 인지질 및 글리세라이드의 암모늄 염을 포함할 수 있다. 지방산은 포화되거나 불포화되는 12 내지 26개의 탄소 원자로 구성된 탄소 사슬 길이의 지방산을 포함한다. 일부 특정 예에는 하기한 것들이 포함된다: 미리스틸아민, 팔미틸아민, 라우릴아민 및 스테아릴아민, 디라우로일 에틸포스포콜린(DLEP), 디미리스토일 에틸포스포콜린(DMEP), 디팔미토일 에틸포스포콜린(DPEP) 및 디스테아로일 에틸포스포콜린(DSEP), N-(2,3-디-(9-(Z)-옥타데세닐옥시)-프로프-1-일-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드(DOTMA) 및 1,2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니오) 프로판(DOTAP).

사용될 수 있는 음으로 하전된 지질에는 포스파티딜-글리세롤(PG), 포스파티드산(PA), 포스파티딜이노시톨(PI) 및 포스파티딜 세린(PS)이 포함된다. 예로서, DMPG, DPPG, DSPG, DMPA, DPPA, DSPA, DMPI, DPPI, DSPI, DMPS, DPPS 및 DSPS가 포함된다.

III. 리포솜

리포솜은 포획된 수성 용적을 함유하는 완전히 밀폐된 지질 이중층 막이다. 항종양 화합물을 비경구 투여하는 데 사용된 리포솜은 단일층(unilamellar) 소낭(단일 막 이중층을 보유하는) 또는 다중층 소낭(다수개의 막 이중층에 의해 특징되는 양파와 유사한 구조)일 수 있다. 이중층은 소수성의 "꼬리" 영역 및 친수성의 "머리" 영역을 갖는 2개의 지질 단일층으로 구성된다. 막 이중층의 상기한 구조는 지질 단일층의 소수성(비극성) "꼬리"가 이중층의 중심을 향하도록 배향되는 반면, 친수성 "머리"는 수성 상을 향하도록 배향되게 한다.

리포솜은 다양한 방법(참조: 예를 들어, Cullis et al (1987))으로 제조될 수 있다. 뱅검(Bangham)의 방법(J. Mol. Biol. (1965))으로 통상적인 다중층 소낭(MLV)을 제조한다. 렌크(Lenk) 등 (미국 특허 제 4,522,803호, 5,030,453호 및 5,169,637호) 및 파운데인(Fountain) 등 (미국 특허 제 4,588,578호) 및 컬리스 등 (미국 특허 제 4,975,282호)은 각각의 수성 구획 내에서 사실상 등등하게 층간에서 용질이 분배되는 다중층 리포솜을 제조하는 방법을 개시하고 있다. 파파드조파울로스(Paphadjopoulos) 등의 미국 특허 제 4,235,871호는 역상 증발에 의해 올리고층(oligolamellar) 리포솜의 제법을 개시하고 있다.

단일층 소낭은 다양한 방법에 의해, 예를 들어 컬리스 등 (미국 특허 제 5,008,050호) 및 로우프레이(Loughrey) 등 (미국 특허 제 5,059,421호)의 압출에 의해 MLV로부터 제조할 수 있다. 초음파처리 및 균질화가 또한 더욱 큰 리포솜으로부터 더욱 작은 단일층 리포솜을 제조하는 데 사용될 수 있다 [참조: 예를 들어, 파파드조파울로스 등 (1968); 디머 및 우스터(Deamer and Uster) (1983); 및 채프먼(Chapman) 등 (1968)].

뱅검 등 (J. Mol. Biol., 1965, 13:238-252)의 독창적인 리포솜 제법은 인지질을 유기 용매 중에 현탁시킨 다음 증발 건조시켜, 반응 용기 상에 인지질 막을 형성시키는 것을 포함한다. 다음으로, 적정량의 수성 상을 첨가하고, 이 혼합물을 "팽윤"시킨 다음, 다중층 소낭(MLV)으로 구성되는 생성되는 리포솜을 기계적 수단에 의해 분산시킨다. 이 제법은, 파파드조파울로스 등 (Biochim. Biophys. Acta., 1967, 135: 624-638)에 의해 기술된 초음파처리된 작은 단일층 소낭, 및 큰 단일층 소낭의 개발에 대한 토대를 제공한다.

큰 단일층 소낭(LUV)을 제조하기 위한 기술, 예컨대 역상 증발, 주입 과정 및 세제 회석법이 리포솜을 제조하는 데 사용될 수 있다. 리포솜 제조에 대한 상기한 방법 및 기타 방법은 문헌 (참조: *Liposomes*, Marc Ostro, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1983, Chapter 1, 또는 Szoka, Jr. et al., (1980, Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 9: 467, 이들 문헌의 내용은 본원에 참조로 포함됨)에서 확인할 수 있다.

소낭을 제조하는 데 사용되는 기타 기술에는, 파파드조파올로스 등에 의한 미국 특허 제 4,235,871호에 따라 역상 증발 소낭(REV)을 형성시키는 기술이 포함된다. 사용될 수 있는 다른 부류의 리포솜은 사실상 동등한 층 용질 분포를 갖는 것으로 특징되는 그러한 것들이다. 이러한 부류의 리포솜은 랭크 등의 미국 특허 제 4,522,803호에 정의된 안정한 다수층 소낭(SPLV)으로서 정의되며, 여기에는 파운테인 등의 미국 특허 제 4,588,578호에 기술된 단일상 소낭, 및 상기 기술된 동결 건조된 다중층 소낭(FATMLV)이 포함된다.

다양한 스테롤, 및 콜레스테롤 헤미석시네이트와 같은 이들의 수용성 유도체가 리포솜을 형성시키는 데 사용되었다; 이에 대해서는 구체적으로 미국 특허 제 4,721,612호 (자노프 (Janoff) 등, 1988년 1월 26일 등록, 발명의 명칭: 스테로이드성 리포솜), 및 알파-토코페롤을 포함하는 리포솜 및 이들의 특정 유도체로 약물을 캡슐화시킴으로써 약물의 독성을 감소시키는 방법을 기술하는 PCT 공개 번호 제 WO 85/00968호 (공개일: 1985년 3월 14일)를 참고하길 바란다. 또한, 다양한 토코페롤 및 이들의 수용성 유도체가 리포솜을 형성시키는 데 사용되었는데, 이에 대해서는 PCT 공개 번호 제 WO 87/02219호 (자노프 등, 1987년 4월 23일 공개, 발명의 명칭: 알파 토코페롤 기재 소낭)를 참고하길 바란다.

리포솜을 제조하는 다른 방법은 "용매 주입" 방법이다. 용매 주입은 하나 이상의 지질을 소량, 바람직하게는 최소량의 공정 친화성 용매 중에 용해시켜 지질 현탁액 또는 용액 (바람직하게는 용액)을 형성시킨 후에, 상기 용액을 예를 들어 플래티넘 화합물을 함유하는 수성 매질에 첨가하는 것을 포함하는 방법이다. 전형적으로 공정 친화성 용매는 투석과 같은 수성 공정에서 세척으로 제거될 수 있는 용매이다. 냉각/가온이 순환되는 조성물은 바람직하게는 용매 주입에 의해 형성되는 데, 에탄올 주입이 바람직하다.

지질 기재 플래티넘 화합물 제형을 제조하는 방법은 플래티넘 화합물을 적당한 소수성 매트릭스와 혼합하고, 이 혼합물을 2개의 개별 온도의 하나 이상의 주기에 적용시키는 것을 포함할 수 있다. 상기 방법은 활성 플래티넘 화합물 회합체를 형성시키는 것으로 여겨진다.

수용액에서, 플래티넘 화합물이 시스플라틴인 경우에, 상기 플래티넘 화합물은 몇 마이크로미터 초과와 직경을 지닌 큰 불용성 회합체를 형성할 수 있다. 양쪽성 매트릭스 시스템, 예컨대 지질 이중층의 존재시에, 시스플라틴-지질 회합체가 형성된다. 예를 들어, 회합체는 내부 수성 공간, 지질 이중층의 탄화수소 코어 영역, 또는 리포솜 계면 또는 헤드기 내에서 형성될 수 있다. 공정의 가온 주기 동안에, 시스플라틴은 지질-매트릭스로부터 보다는 공정 혼합물의 수성 영역에서 더욱 큰 속도로 용액으로 복귀되는 것으로 추정된다. 하나 초과와 냉각/가온 주기를 적용한 결과, 시스플라틴은 지질-매트릭스로부터 추가로 축적된다. 본 발명을 제안된 이론에 제한하지 않더라도, 실험으로부터, 시스플라틴-지질 회합체가 계면 이중층 영역의 인접한 경계부를 더욱 소수성이고 밀집되게 만들 수 있다. 이는 냉각 및 가온 주기가 반복됨에 따라 활성 플래티넘 화합물이 더욱 높은 정도로 포획되게 한다.

공정은 플래티넘 화합물을 소수성 매트릭스 전달 시스템과 조합하고, 용액을 더욱 가온된 온도와 더욱 냉각된 온도 사이에서 순환시키는 것을 포함한다. 바람직하게는, 순환은 1회 초과로 수행된다. 더욱 바람직하게는, 상기 단계는 2회 이상, 또는 3회 이상 수행된다. 주기의 더욱 냉각된 온도 부분은 예를 들어 약 -25°C 내지 약 25°C의 온도를 사용할 수 있다. 더욱 바람직하게는, 상기 단계는 약 -5°C부터 약 25°C, 또는 약 1°C부터 약 20°C의 온도를 사용한다. 제조의 편의 및 목적하는 온도를 보장하기 위해서, 더욱 냉각되고 더욱 가온된 단계가, 예컨대 대략 5 내지 300분 또는 30 내지 60분 동안 유지될 수 있다. 가온 단계는 반응 용기를 약 4°C 내지 약 70°C로 가온시키는 것을 포함한다. 더욱 바람직하게는, 가온 단계는 반응 용기를 약 45°C 또는 약 55°C로 가열시키는 것을 포함한다. 상기 온도 범위는 특히 디포스파티딜콜린(DPPC) 및 콜레스테롤을 우세하게 포함하는 지질 조성물과 함께 사용하기에 특히 바람직하다.

온도 순환을 고려하는 다른 방식은, 주기의 더욱 가온된 단계와 더욱 냉각된 단계 사이에서의 온도차에 있다. 이 온도차는 예를 들어 약 25°C 이상, 예컨대 약 20°C 내지 약 70°C의 온도차, 바람직하게는 약 40°C 내지 약 55°C의 온도차일 수 있다. 더욱 냉각된 온도 및 더욱 가온된 온도 단계의 온도는 활성 플래티넘 화합물의 포획량을 증가시킴을 토대로 선택된다. 이론에 제한되지 않더라도, 가공된 혼합물 중에서 활성 플래티넘 화합물의 용해도를 실질적으로 증가시키는 데 효과적인 상부 온도를 선택하는 데 유용한 것으로 여겨진다. 바람직하게는, 가온 단계의 온도는 약 50°C 이상이다. 상기 온도는 또한 지질 조성물 내의 지질에 대해 전이 온도 미만 내지 초과가 되도록 선택될 수 있다.

상기 방법에 적합한 온도는 통상적인 실험에 의해 결정되는 바와 같이, 일부 경우에 본 방법에 사용된 지질 조성물에 따라 달라질 수 있다.

본 발명에 사용된 지질 기재 플래티넘 제형에서 확인되는 지질에 대한 플래티넘 화합물의 비는 약 1:5 중량비 내지 약 1:50 중량비의 범위 내에 있다. 더욱 바람직하게는 달성된 지질에 대한 플래티넘 화합물의 비는 약 1:5 중량비 내지 약 1:30의 중량비이다. 가장 바람직하게는, 달성된 지질에 대한 플래티넘 화합물의 비는 약 1:5 중량비 내지 약 1:25 중량비이다.

리포솜은 대략 0.01 마이크로미터 내지 약 3.0 마이크로미터, 바람직하게는 약 0.1 내지 1.0 마이크로미터 범위 내의 평균 직경을 갖는다. 더욱 바람직하게는, 평균 직경은 약 0.2 내지 0.5 마이크로미터이다. 리포조말 산물의 지연방출 성질은 지질막의 특성 및 조성물 중 다른 부형제(예를 들어 스테롤)의 포함에 의해 조절될 수 있다.

본 발명의 바람직한 구체예에서, 리포솜은 약 50 내지 약 100 몰% DPPC 및 약 0 내지 약 50 몰% 콜레스테롤을 함유한다. 더욱 바람직하게는, 리포솜은 약 50 내지 약 65 몰% DPPC 및 약 35 내지 약 50 몰% 콜레스테롤을 함유한다.

리포솜은 또한 공동계류중인 미국특허출원 10/383,004(2003년 3월 5일에 출원됨); 10/634,144(2003년 8월 4일에 출원됨); 10/224,293(2002년 8월 20일에 출원됨); 및 10/696,389(2003년 10월 29일에 출원됨)에 기술된 방법에 의해 제조될 수 있으며, 이들 명세서에는 전체적으로 본원에 포함된다.



IV. 플래티넘 화합물

본 발명에서 사용될 수 있는 플래티넘 화합물은 신생 세포의 발달, 돌연변이, 또는 분산을 억제하는 성질을 나타내는 임의의 화합물을 포함한다. 비제한된 플래티넘 화합물의 예로는 시스플라틴, 카르보플라틴(디아민(1,1-시클로부탄디카르복실레이트)-플래티넘(II)), 테트라플라틴(오르마플라틴)(테트라클로로(1,2-시클로헥사디아민-N,N')-플래티넘(IV)), 티오플라틴(비스(O-에틸디티오카르보네이트)플래티넘(II)), 사트라플라틴, 네다플라틴, 옥살리플라틴, 헵타플라틴, 이프로플라틴, 트랜스플라틴, 로바플라틴, 시스-아미노디클로로(2-메틸피리딘)플래티넘, JM118(시스-아미노디클로로(시클로헥실아민)플래티넘(II)), JM149(시스-아민디클로로(시클로헥실아민)-트랜스-디히드록소플래티넘(IV)), JM216(비스-아세테이트-시스-아민디클로로(시클로헥실아민)플래티넘(IV)), JM335(트랜스-아민디클로로(시클로헥실아민)디히드록소플래티넘(IV)), 및 (트랜스,트랜스,트랜스)비스-무-(헥산-1,6-디아민)-무-[디아민-플래티넘(II)]비스[디아민(클로로)플래티넘(II)]테트라클로리드를 포함한다. 다른 구체예에서, 플래티넘 화합물은 시스플라틴이다. 환경에 따라, 시스플라틴은 양이온 수성 형태로 존재할 수 있으며, 여기서 두개의 네가티브로 하전된 클로리드 원자는 두개의 중성 물 분자에 의해 대체되었다. 수성 형태의 시스플라틴은 양이온이기 때문에, 음이온 지질, 예를 들어 글리세롤은 지질-계열 제형을 안정화시키는데 도움이 되지만, 또한 시스플라틴 상에 방출을 방해할 수 있다. 비수성의 중성 형태의 시스플라틴은 더욱 안정화되기 어렵지만 상이한 방출 동력학을 갖는다. 본 발명의 잇점으로 특정 구체예에서 지질-계열 시스플라틴 제형이 중성 시스플라틴 및 중성 지질을 포함하는 것으로 고려된다. 중성의 비수성 시스플라틴과 양이온의 수성 시스플라틴 간의 평형으로 인해, 낮은 pH 및 높은 NaCl 농도를 갖는 제형을 제조하므로써 중성의 비수성 시스플라틴이 가능할 수 있다. 이러한 구체예에서, 실제 양의 시스플라틴의 양이온 수성 형태는 중성의 비수성 시스플라틴이 세포의 내부로 이송될 때까지 형성되지 않을 것이다.

다른 구체예에서, 다른 치료제는 플래티넘 화합물과 함께 사용될 수 있다. 다른 치료제는 항종양성 성질을 가질 수 있다. 비제한적인 항종양성 화합물의 예로는 알트레타민, 아메토프테린, 암루비신, 안나마이신, 비소 트리옥사이드, 아스파라기나제, BCG, 벤질구아닌, 비산트렌, 블레오마이신 술페이트, 부술판 카르무스틴, 카텍틴, 클로라부실, 2-클로로데옥시아데노신, 시클로포스파미드, 시토신 아라비노시드, 다카르바진 이미다졸 카르복사미드, 닥티노마이신, 다우노마이신, 3'-데아미노-3'-모르폴리노-13-데옥소-10-히드록시카르미노마이신, 4-데메톡시-3-데아미노-3-아지리디닐-4-메틸술폰-다우노루비신, 텍시포스파미드, 텍사메타손, 디아리지디닐스페르민, 디브로모돌시톨, 디브로소피딘 클로리드, 1-(11-도데실아미노-10-히드록시운데실)-3,7-디메틸크산틴, 독소루비신, 엘리나피드, 에피포도필로톡신, 에스트라무스틴, 플록수리딘, 플루오로우라실, 플루옥시메스테로, 플루타미드, 플루다라빈, 포테무스틴, 갈라루비신, 글루포스파미드, 고세렐린, GPX100, 히드록시우레아, 이다루비신 HCL, 이포스파미드, 임프로술판 토실레이트, 이소포스파미드, 인터페론 알파, 인터페론 알파 2a, 인터페론 알파 2b, 인터페론 알파 n3, 인터페론 감마, 인터루킨 2, 이리노테칸, 이로폴벤, 루코보린 갈슘, 루프로리드, 레바미솔, 로무스틴, 메게스트롤, L-페닐알라닌 머스타드, L-사르콜리신, 멜팔란 히드로클로리드, 메클로레타민, MEN10755, 메르캅토프린, MESNA, 메틸프레드니솔론, 메토티렉세이트, 미토마이신, 미토마이신-C, 미톡산트론, 니무스틴, 파클리탁셀, 피나피드, 피라루비신, 플리카마이신, 프레드니무스틴, 프레드니손, 프로카르바진, 프로피로마

이신, 푸미테파, 라니무이스틴, 세르테네프, 스테렙토조신, 스트렙토조토신, 타목시펜, 타소네르민, 테모졸로미드, 6-티오구아닌, 티오테파, 티라파지민, 트리에틸렌 티오포스포라미드, 트로포스파미드, 종양 괴사 인자, 발루비신, 빈플라스틴, 빈크리스틴, 비노렐빈 타르트레이트, 및 조루비신을 포함한다.

본 발명의 방법에 사용되는 적절한 플래티넘 화합물로서 플래티넘 화합물의 약제학적으로 허용되는 부가염 및 착물이 포함한다. 달리 특정하지 않는 한, 화합물이 하나 이상의 키랄 중심을 갖을 수 있는 경우에, 본 발명은 각각의 독특한 라세믹 화합물, 및 각각의 독특한 비라세믹 화합물을 포함한다.

플래티넘 화합물이 불포화 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 경우에, 시스(Z) 및 트랜스(E) 이성질체 모두는 본 발명의 범위 내에 있다. 신생물 화합물이 토토머 형태, 예를 들어 케토-에놀 토토머,  및 으로 존재할 수 있는 경우에, 각각의 토토머 형태는 평형상태로 존재하거나 R'으로 적절한 치환에 의해 한 형태로 고정되는 형태로 본 발명 내에 포함되는 것으로 고려된다. 임의의 한 발생에서 임의의 치환의 의미는 이의 의미에 독립적이거나 임의의 다른 발생에서 임의의 다른 치환의 의미를 갖는다.

또한, 본 발명의 방법에서 사용되는 적절한 플래티넘 화합물은 플래티넘 화합물의 프로드러그를 포함한다. 프로드러그는 생체내에서 활성 모화합물을 방출하는 임의의 공유적으로 결합된 담체인 것으로 여겨진다.

본 발명은 부분적으로, 종래 기술되지 않은 보다 낮은 신독성을 갖을 수 있는 더욱 효과적으로 암을 치료하는 방법을 기술한다. 지질-계열 제형 및 ip 전달을 사용하므로써, 더욱 강력하고 효과적인 암치료가 달성된다.

V. 투여량

본 발명의 임의의 조성물의 투여량은 환자의 증상, 나이 및 체중, 치료되거나 예방될 질환의 특성 및 중증도, 투여 경로, 및 대상 조성물의 형태에 따라 변경될 것이다. 임의의 대상 제형은 1회 투여량 또는 분할된 투여량으로 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물에 대한 투약은 당업자에게 공지되거나 본원에 교시된 바와 같은 기술에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

특정 구체예에서, 대상 화합물의 투여량은 일반적으로 체중 1 kg 당 약 0.01 ng 내지 약 10 g의 범위, 상세하게는 체중 1 kg 당 약 1 ng 내지 약 0.1 g의 범위, 및 더욱 상세하게는 체중 1 kg 당 약 100 ng 내지 약 50 mg의 범위일 것이다.

투여량은 또한 대개 신체 표면적 당 밀리그램의 약물(예를 들어, 플래티넘 화합물)로 나타내는 mg/m^2 으로 투여된다. 일반적으로, 플래티넘 화합물에 대한 투여량은 약 60 mg/m^2 이상, 또는 100 mg/m^2 이상, 140 mg/m^2 이상, 또는 180 mg/m^2 이상일 수 있다. 약 140 mg/m^2 이상의 투여량은 일반적으로 내성의 높은 종결점으로 고려되지만, 본 발명의 잇점은 플래티넘 화합물이 플래티넘 화합물의 부-급성 독성도를 감소시키는 지질-계열 제형의 일부로서 투여된다는 것이다. 그러므로, 당업자에 의해 플래티넘 화합물의 정상 투여량 보다 높은 양이 원치 않는 독성 부작용 없이 환자에게 투여될 수 있는 것으로 계획된다. 투여량이 높을 수록 투약 사이의 지속 주기가 길어지고 환자의 편의성이 커짐을 초래할 수 있다. 예를 들어 투여량은 일반적으로 약 3주에 한번씩 환자에게 투여된다. 보다 높은 투여량의 플래티넘 화합물이 환자에게 안전하게 투여될 수 있는 경우, 주기 시간은 매 4, 5, 6, 7, 또는 8주마다 한번씩으로 증가될 수 있다. 보다 긴 주기 시간은 치료를 위한 간호 설비에 대한 보다 적은 과실을 의미하며 환자는 보다 짧은 시간에 투여 과정을 수행할 수 있다.

효과적인 투약 또는 양, 및 제형의 투여 시간에 대한 임의의 가능한 영향은 본 발명의 임의의 특정 조성물에 대해 확인되는 데 필요할 것이다. 이는 하나 이상의 동물군(바람직하게는 한 군 당 적어도 5마리의 동물), 또는 적절한 경우, 인간 실험을 사용하여 본원에 기술된 바와 같이 일반적인 실험에 의해 수행될 수 있다. 임의의 대상 조성물 및 치료 또는 예방 방법의 효율성은 조성물을 투여하고 하나 이상의 적용가능한 지표를 측정하고, 치료 후 이들 지표 값과 치료 전 동일한 지표값을 비교하므로써 투여 효과를 평가하여, 평가될 수 있다.

제공된 환자에게서 가장 효과적인 치료를 수득하는 정확한 투여 시간 및 임의의 특정 대상 조성물의 양은 대상 조성물의 활성도, 약물동력학, 및 생체이용률, 환자의 생리학적 상태(나이, 성별, 질병 타입 및 단계, 일반적인 신체 상태, 제공된 투약 및 약제 타입의 반응성), 투여 경로 등에 따를 것이다. 본원에 나타난 가이드라인은 최적의 시간 및/또는 투여 양을 결정하여, 치료를 최적화하기 위해 사용될 수 있으며, 이는 피검체를 모니터링하고 투약 및/또는 시간을 조절하는 것으로 구성된 일상적인 실험 정도를 요구할 것이다.

피검체가 치료되는 동안, 환자의 건강은 치료 기간 동안 사전에 결정된 시간에 하나 이상의 관련 지표를 측정하므로써 모니터링될 수 있다. 조성물, 양, 투여 시간 및 제형을 포함하는 치료는 이러한 모니터링의 결과에 따라 최적화될 수 있다. 환자는 동일한 인자를 측정하므로써 개선 정도를 결정하기 위해 주기적으로 다시 평가될 수 있다. 투여된 대상 조성물의 양 및 가능한 투여 시간의 조절은 이들 재평가를 기초로 하여 이루어질 수 있다.

치료는 화합물의 최적 용량 미만의 보다 적은 용량으로 개시될 수 있다. 이후, 용량은 최적의 치료 효과가 달성될 때까지 조금씩 증가시킬 수 있다.

대상 조성물의 사용은 조성물에 함유된 임의의 개개 제제(예를 들어 항종양성 화합물)에 대해 요구되는 용량을 감소시킬 수 있는데, 이는 상이한 제제의 효과의 개시 및 지속이 우선적일 수 있기 때문이다.

대상 조성물의 독성 및 치료학적 효능은 세포 배양 또는 실험 동물에서 표준 약리학적 과정에 의해 결정될 수 있으며, 예를 들어 LD₅₀ 및 ED₅₀을 결정할 수 있다.

세포 배양 검정 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 인간에 사용하기 위한 용량의 범위로 제형화하는데 사용될 수 있다. 임의의 대상 조성물의 용량은 바람직하게는 거의 또는 전혀 독성이 없는 ED₅₀을 포함하는 농도 주기 범위내로 존재한다. 용량은 사용되는 투약형태 및 사용되는 투여 경로에 따라 이러한 범위내로 변경될 수 있다. 본 발명의 조성물에 대해, 치료학적 유효량은 초기에 세포 배양 검정으로부터 추정될 수 있다.

VI. 약제학적 제형

항종양성 화합물의 약제학적 제형은 리포솜의 수성 분산액으로 이루어질 수 있다. 이러한 제형은 액상 부형제를 함유하여 리포솜을 형성하고, 염/완충제를 함유하여 적절한 삼투질 농도 및 pH를 제공할 수 있다. 약제학적 부형제는 액체, 희석제, 용매 또는 캡슐화 물질일 수 있으며, 임의의 대상 조성물 또는 이의 성분을 한 기관, 또는 신체 일부에서 다른 기관, 또는 신체의 다른 부분으로 운반하거나 이송하는데 포함된다. 각 부형제는 대상 조성물 및 이의 성분과 양립가능한 측면에서 "허용가능"하여야 하며, 환자에게 해롭지 않아야 한다. 적절한 부형제는 트레할로즈, 라피노즈, 만니톨, 수크로즈, 루신, 트리루신, 및 칼슘 클로라이드를 포함한다. 다른 적절한 부형제의 예로는 (1) 당, 예를 들어, 락토즈 및 글루코즈; (2) 전분, 예를 들어, 옥수수 전분 및 감자 전분; (3) 셀룰로즈, 및 이의 유도체, 예를 들어 나트륨 카르복시메틸 셀룰로즈, 에틸 셀룰로즈 및 셀룰로즈 아세테이트; (4) 분말화된 트래커캔스; (5) 맥아; (6) 젤라틴; (7) 탈크; (8) 부형제, 예를 들어 코코아 버터 및 좌제 왁스; (9) 오일, 예를 들어 땅콩 오일, 목화씨유, 잇꽃유, 참깨씨유, 올리브유, 옥수수유 및 콩유; (10) 글리콜; 예를 들어 프로필렌 글리콜; (11) 폴리올, 예를 들어 글리세린, 소르비톨, 및 폴리에틸렌 글리콜; (12) 에스테르, 예를 들어 에틸 올레이트 및 에틸 라우레이트; (13) 아가; (14) 완충제, 예를 들어 마그네슘 히드록시드 및 알루미늄 히드록시드; (15) 알긴산; (16) 발열-부재 수; (17) 등장성 염수; (18) 링거 용액; (19) 에틸 알코올; (20) 포스페이트 완충 용액; 및 (21) 약제학적 제형에서 사용되는 기타 비독성 양립가능한 물질을 포함한다.

예시

실시예 1

지질 기재 포플레이션으로 투여시 정맥내 또는 복막내 투여에 의한 시스플라틴의 아급성(sub-acute) 독성의 감소.

6-7 주령의 수컷 및 암컷 ICR 마우스를 각각 10 마리의 마우스로 24개의 그룹으로 나누었다. 5마리의 마우스를 표준 마우스 먹이 및 물에 자유롭게 접근하도록 구비된 각각의 우리에서 사육시켰다. 각각의 그룹의 마우스에 하기에 따라 제조된 지질 기재 시스플라틴 포플레이션을 주사하였다. 여기서 사용된 지질 기재 시스플라틴 포플레이션은 0.9% NaCl 용액 중에 1 mg/ml의 시스플라틴, 16 mg/ml의 DPPC 및 7.9 mg/ml의 콜레스테롤을 함유하였다. 샘플의 분취량(50%)에 3주기의 4℃로의 냉각 및 50℃로의 가온을 처리하였다. 시험 튜브 내의 분취량을 냉동에 의해 냉각시키고, 수조에서 가온시켰다. 생성된 엔트랩핑(entrapping)되지 않은 시스플라틴 (자유 시스플라틴)을 투석시켜 세척하였다. 리포솜 형태의 지질 기재 시스플라틴을 정맥내 (꼬리 정맥) 또는 복막내 경로로 주사하였다. 리포솜은 약 0.39 μm의 평균 직경을 지녔다. 포플레이션, 용량 및 투여 경로를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1. 지질 기재 시스플라틴 아급성 독성 연구를 위한 용량 및 투여 경로

포물레이션	경로	용량(mg 시스플라틴/kg 마우스)						
지질 기재 시스플라틴	복막내	23	27	31	35	40	45	50
시스플라틴	복막내	9	12	15	18	21	24	27

투여 시작 1주 전에 시작하여, 마우스의 체중을 실험의 종료시까지 2일 간격으로 측정하였다. 동물을 매일 관찰하고, 죽음을 기록하였다. 각각의 주사 경로를 이용한 각각의 포물레이션에 대한 투여 후의 생존 대 시간(일)의 백분율의 곡선을 계산하였다 (도 1). 각각의 주사 경로하에서의 각각의 포물레이션의 LD₁₀, LD₅₀ 및 LD₉₀을 측정하였다. 컴퓨터에 의해 적합화된 결과를 표 2에 나타내었다.

표 2. 복막내 및 정맥내 주사 후의 지질 기재 시스플라틴 및 시스플라틴의 치사 독성.

포물레이션	경로	치사 용량(mg 시스플라틴/kg 마우스)		
		LD ₁₀	LD ₅₀	LD ₉₀
지질 기재 시스플라틴	복막내	22.4	29.5	38.9
시스플라틴	복막내	9.9	14.3	20.7

결과는 복막내 투여된 지질 기재 시스플라틴의 아급성 독성이 복막내 투여된 시스플라틴 보다 2배 낮은 반면, 정맥내 투여된 지질 기재 시스플라틴에 대해서는 큰 변화가 거의 관찰되지 않았음을 나타낸다.

실시예 2

복막내 및 정맥내 주사된 지질 기재 시스플라틴 및 시스플라틴의 동물에서의 약동학 및 기관 분포 (파트 I).

마우스 (실시예 1의 마우스와 동일함)를 각각의 24마리씩 4개의 그룹으로 나누었다. 이들에 복막내로 지질 기재 시스플라틴 (12 mg/kg), 복막내로 시스플라틴 (12 mg/kg), 정맥내로 지질 기재 시스플라틴 (8 mg/kg), 및 정맥내로 시스플라틴 (8 mg/kg)을 각각 주사하였다. 지질 기재 시스플라틴 포물레이션은 실시예 1과 동일한 방식으로 제조하였다. 각각의 계획된 시점, 예를들어 주사 후 2-5분, 20분, 40분, 2시간, 8시간, 1일, 2일, 및 3 또는 5일 후에, 각각의 그룹으로부터 3마리의 마우스를 35-50 mg/kg의 네부탈(Nembutal)을 주사하여 마취시킨 후, 혈액을 빼내고, 심장, 신장, 간, 폐, 소장 및 비장을 절제하고, 4배의 순수한 물을 첨가한 후 균질화시켰다. 각각의 샘플의 플래티넘 농도를 AA 방법을 이용하여 결정하였다. Pt의 양 (1 ml의 혈액 또는 1g의 조직 중의 Pt의 µg)을 계산하고, 두개의 상이한 투여 경로하에서의 각각의 포물레이션의 동역학 특성을 나타내기 위해 사용하였다.

결과는 혈액에서 지질 기재 시스플라틴의 C_{max} 및 AUC가 시스플라틴의 C_{max} 및 AUC 보다 각각 3배 및 6배 높음을 나타내었다 (도 2).

실시예 3

복막내 및 정맥내 주사된 지질 기재 시스플라틴 및 시스플라틴의 동물에서의 약동학 및 기관 분포 (파트 II).

60마리의 ICR 마우스 (암컷, 7주령)를 4개의 그룹으로 나누었다. 이들에게 L-CDDP 또는 CDDP를 복막내 또는 정맥내로 각각 주사하였다. 용량은 복막내 투여되는 L-CDDP에 대해 12 mg/kg이었고, 나머지 처리 그룹에 대해서는 8 mg/kg이었다. 각각의 계획된 시점 (예를들어, 3, 20 및 40분, 및 2, 8, 24, 48 및 72시간)에서, 3 내지 4마리의 마우스에 70 mg/kg의 네부탈을 복막내 투여하여 마취시켰다. 혈액을 하대정맥으로부터 빼냈다. 십이지장, 신장, 간, 폐 및 비장을 포함하는 기관을 마우스로부터 절제하였다. 혈액 및 기관 샘플을 멸균수 (샘플 중량의 4배)에서 균질화시키고, 질산으로 분해시켰다. 각각의 샘플의 플래티넘 농도를 유도결합 플라즈마 질량분석 (ICP-MS)로 측정하였다. 각각의 포물레이션의 약동학 프로파일 (도 3-7, 모든 Y 축은 주사된 용량 mg 당 조직 또는 유체의 1g 중의 플래티넘 µg의 농도임) 및 파라미터 (표 3 및 4)를 시뮬레이션하고 계산하였다. 이는, 1) 비장에서의 플래티넘의 흡수가 주사 경로에 상관없이 리포솜 포물레이션에 의해 현저하게 향상되었고, AUC 및 C_{max}가 CDDP의 AUC 및 C_{max} 보다 26 내지 47배 높았으며 (p < 0.0003); 2) 복막내 주사시, AUC의 순환 및 L-CDDP의 제거 t_{1/2}가 CDDP의 AUC의 순환 및 L-CDDP의 제거 t_{1/2} 보다 4 및 15배 (p < 0.006) 높으나, 이러한 현상은 정맥내 주사 후에는 발견되지 않았으며; 3) 복막내 투여된 L-CDDP의 AUC 및 t_{1/2}는 정맥내 투여된 L-CDDP의 AUC 및 t_{1/2} 보다 높았으며(복막내 대 정맥내: AUC, 1.9배, p = 0.04; t_{1/2}, 5.7배, p = 0.006); 4) 정맥내 투여된

L-CDDP의 폐 및 간 플래티넘 흡수는 정맥내 투여된 CDDP의 폐 및 간 플래티넘 흡수보다 약간 더 높았으며(폐: $p = 0.043$; 간: $p = 0.051$); 5) L-CDDP의 신장 플래티넘 흡수는 CDDP의 신장 플래티넘 흡수보다 높은($p = 0.046$) 것으로 밝혀졌다. 이들 결과는 포물레이션 및 투여 경로 둘 모두가 약물의 PK 및 기관 분포에서 중요한 역할을 하고, 복막내 투여된 L-CDDP가 지효성 방출 작용을 나타냄을 의미한다.

표 3. 순환 AUC 및 $t_{1/2}$

	AUC(h $\mu\text{g/g}/\mu\text{g}$)	$t_{1/2}$ (h)
	복막내	복막내
L-CDDP	37.60 ^a	26.58 ^b
CDDP	7.08	1.82

양변의 로그 순위검정(two side Log rank test)에 의한 ^a $p = 0.008$ (L-CDDP 대 CDDP); ^b $p = 0.006$ (L-CDDP 대 CDDP)

표 4. 기관 AUC 및 C_{\max}

	복막내			
	AUC(h $\mu\text{g/g}/\mu\text{g}$)		C_{\max} ($\mu\text{g/g}/\mu\text{g}$)	
	L-CDDP	CDDP	L-CDDP	CDDP
십이지장	5.49	8.32	0.30	0.45
신장	15.60 ^c	8.61	0.46	0.46
간	29.99	28.99	0.71	0.71
폐	26.90	29.00	0.73	1.61
비장	331.86 ^e	10.45	11.32 ^f	0.43
심장	2.63	2.67	0.07	0.18

AUC 또는 C_{\max} 값에서의 L-CDDP 대 CDDP의 차이의 유의성을 평가하기 위해 양변 로그 순위검정을 사용하였다. 통계적으로 유의한 쌍 ($p < 0.05$)을 위첨자로 표시하였다. 이들의 p 값은 하기와 같다: c, $p = 0.046$; d, $p = 0.008$; e, $p = 0.0002$; f, $p = 0.0001$; g, $p = 0.0003$; h, $p = 0.0002$.

실시예 4

신독성.

7 주령의 암컷 ICR 마우스를 각각 3 내지 4 마리의 마우스로 4개의 그룹으로 나누었다. 이들에게 정맥내 또는 복막내로 L-CDDP 또는 CDDP의 최대허용량(MTD)을 주사하였다. 주사 4일 후에, 마우스를 복막내로 냄부탈을 주사하여 안락사시켰다. 혈액을 빼내고, 혈청을 분리시켰다. 혈액요소질소(BUN)를 안테크 디아그노스틱스(Antech Diagnostics)사의 비색 방법으로 정량적으로 측정하였다. 십이지장, 신장, 간, 폐 및 비장을 포함하는 기관을 마우스로부터 절제하고, 10% 완충 포르말린으로 고정시켰다. 고정된 조직을 H 및 E 염색을 위해 표준 방법으로 가공하였다. 메모리얼 슬로온-케터링 암 센터(Memorial Sloan-Kettering Cancer Center)의 병리 전문가 카르멘 토노스 박사(Dr. Carman Tornos)가 신장 조직을 검사하였고, 각각의 신장 조직 샘플에 대해 독성 등급을 부가하였다. 등급화는 신장 독성에 대한 일반 병리학 가이드라인에 기초하였다.

병리학적 결과는 투여 경로에 상관 없이 CDDP가 이를 투여 받은 50% 이상의 마우스에서 중증 신독성을 야기하였으나, L-CDDP는 어떠한 신독성도 야기하지 않았음을 입증한다. 정맥내 투여된 CDDP가 일반 대조군에 비해 BUN 수준을 6.8 배로 현저하게 증가시키고($p = 0.008$), 복막내 투여된 CDDP가 일반 대조군에 비해 단지 2.1배의 증가로 보다 적은 BUN 축적을 야기하지만($p = 0.04$), 양 경로로 주사된 L-CDDP는 BUN 수준 상승을 야기하지 않는 BUN 검정 (도 9)으로부터 유사한 결론이 도출될 수 있다.

실시예 5

뮤린 L1210 종양 모델에서의 지질 기재 시스플라틴의 생체내 전임상 항종양 활성.

본 실험의 목적은 국소적인 복막내 투여에 의한 강(cavity) 제한 종양 (복수 L1210 백혈병)에 대한 지질 기재 시스플라틴의 생체내 항종양 활성을 측정하기 위한 것이다. 지질 기재 시스플라틴을 생(生) L1210 종양세포에 대한 자유 시스플라틴과 비교하였다. 시험 항목 및 물질을 하기 표 5에 나타내었다. 지질 기재 시스플라틴은 실시예 1과 동일한 방식으로 제조하였다.

표 5. 시험 항목 및 물질.

시험 항목	0.9% 염수 중의 시스플라틴 1.0 mg/ml 시스플라틴
	지질 기재 시스플라틴 0.82 mg/ml 시스플라틴
시험 동물	하를란(Harlan)으로부터의 B6D2F1/Hsd 하이브리드 마우스 대조군(9 수컷)을 제외하고 5 수컷/그룹, 7개의 그룹
종양 세포	생(生) L1210 종양 세포, 마우스당 백만개, 생체내 이식됨

상기 과정을 하기에 개설하고, 표 6에 요약하였다:

1. 0일째에, 5마리의 수컷의 6개의 그룹 및 9마리의 수컷의 1개 그룹의 대조군에 마우스당 백만개의 생 L1210 세포를 복막내 주사하여 접종시켰다.
2. 5마리의 그룹에 시스플라틴 용액 또는 지질 기재 시스플라틴의 상승량을 투여하였다. 시스플라틴 용액: 3, 7 및 11일 째에 3.0 및 4.5 mg/Kg의 복막내 용량. 각각의 용량 수준은 5마리의 마우스의 1개의 그룹을 나타낸다. 지질 기재 시스플라틴: 3, 7 및 11일 째에 3.0, 4.5, 6.0 및 9.0 mg/Kg의 복막내 용량. 대조 그룹은 9마리의 처리되지 않은 마우스를 포함한다.
3. 마우스가 죽거나 임상적인 질병의 징후를 나타낼때까지 모니터하였다. 실험 종료 시점을 위해 안락사 날짜를 기록하였다. 7개의 그룹으로 나누어진 전체 39 마리의 마우스를 연구하였다. 종료 시점에서, 생존을 측정하고 T/C %(처리된 그룹의 정중 생존: 대조 그룹의 정중 생존 퍼센트)로 나타내었다.

표 6. 절차상 파라미터

그룹	마우스	시험 약물	복막내 용량	0일	3일	7일	114일
1	9 마리의 수컷	처리하지 않음	대조군	접종			
2	5 마리의 수컷	자유 시스플라틴	3 mg/kg	접종	1 mg/kg	1 mg/kg	1 mg/kg
3	5 마리의 수컷	자유 시스플라틴	4.5 mg/kg	접종	1.5 mg/kg	1.5 mg/kg	1.5 mg/kg
4	5 마리의 수컷	지질 기재 시스플라틴	3 mg/kg	접종	1 mg/kg	1 mg/kg	1 mg/kg
5	5 마리의 수컷	지질 기재 시스플라틴	4.5 mg/kg	접종	1.5 mg/kg	1.5 mg/kg	1.5 mg/kg
6	5 마리의 수컷	지질 기재 시스플라틴	6 mg/kg	접종	2 mg/kg	2 mg/kg	2 mg/kg
7	5 마리의 수컷	지질 기재 시스플라틴	9 mg/kg	접종	3 mg/kg	3 mg/kg	3 mg/kg

실험으로부터의 결과가 표 7에 요약되어 있다.

표 7. %T/C로 측정된 생존 데이터

그룹	시험 약물	용량	중간 생존*	% T/C
1	비처리	대조군	13.5	100
2	유리 시스플라틴	3 mg/kg	26.5	196
3	유리 시스플라틴	4.5 mg/kg	29.5	218
4	지질-기재 시스플라틴	3 mg/kg	19.5	144
5	지질-기재 시스플라틴	4.5 mg/kg	23.5	174
6	지질-기재 시스플라틴	6 mg/kg	25.5	189
7	지질-기재 시스플라틴	9 mg/kg	25.5	189

* 중간 생존은 각각의 그룹에서의 50% 마우스에 대한 사망일로 정의된다.

각각의 그룹내의 50% 마우스의 사망일을 측정하고 최초 % 처리/대조(TC) 값을 상기 표에 기록하였다. 최적의 용량에서, 지질-기재 시스플라틴중의 시스플라틴은 유리 시스플라틴에 비해서 이의 어떠한 항암 활성을 상실하지 않는다.

실시예 6

사람 난소암 이종이식에 대한 L-CDDP의 항암 활성

주령 6 내지 7주의 자성 누드 마우스에게 사람 난소암 세포주 SK-OV₃-ip1(1.5×10^6 세포/마우스)를 복막내 접종하였다. 접종 1 주일 후에, 마우스를 무작위로 각각 5 마리씩 3 그룹으로 분할하였다. 한 그룹의 마우스에게는 MTD(9mg/kg)의 CDDP를 단일 볼러스(bolus) ip 주입으로 투여하여 화학치료(양성 대조군)을 의태시켰다. 다른 그룹은 MTD(23mg/kg)의 L-CDDP를 단일 볼러스 ip 주사로 처리하였다. 처리되지 않은 세 번째 마우스 그룹을 음성 대조군으로 사용하였다. 마우스를 일일 단위로 관찰하였다. 마우스의 사망을 기록하고 증가된 수명(ILS)을 계산하였다. 결과를 도 10에 나타내고 있다.

실시예 7

순환적 온도 유출 과정 및 비순환적 온도 시스플라틴 리포솜에 의해서 제조된 지질-기재 시스플라틴의 비교

순환적 온도 유출 과정에 의해서 제조된 지질-기재 시스플라틴이 실시예 1에서와 같이 제조되었으며, 1.1mg/ml 시스플라틴 및 27mg/ml의 전체 지질을 함유하였다. 비순환적 온도 시스플라틴 리포솜은 하기 과정에 따라서 제조되었다.

1. DPPC(3.0g) 및 콜레스테롤(1.2g)을 20ml의 에탄올에 동시 용해시켰다.
2. 시스플라틴(200mg)을 0.9% 염수(200ml)에 용해시켰다.
3. 지질/에탄올 용액을 잘 교반시키면서 시스플라틴 용액내로 주입시켰다(리포솜 형성).
4. 지질-시스플라틴 현탁액을 투석하여 비포집된 시스플라틴을 세척하였다.
5. 생성된 리포솜 시스플라틴은 0.03mg/ml의 전체 시스플라틴을 함유하였으며(75%의 전체 시스플라틴이 포집되고 25%가 비포집되었다); 전체 지질 농도는 21mg/ml이었다.

마우스에게 시스플라틴의 양 대신에 지질의 양을 기재로 하는 동일한 양의 시스플라틴 함유 치료제를 투여하였다. 이러한 과정은 비순환적 온도 시스플라틴 리포솜에서 지질 대 시스플라틴 비가 너무 높아서 실시예 1에서와 같이 제조된 지질-기재 제형에서의 시스플라틴의 양과 동일하게 하기에 요구되는 많은 지질을 투여하는 것이 불가능하기 때문에 요구된다.

자성 DBA/2 마우스(Charles Rivers)를 사용하였다. 서른(30) 마리의 마우스에게 0일째에 2×10^6 L1210 세포를 ip 주입하였다. 1일째에, 마우스를 칭량하고 10 마리씩 3 그룹으로 무작위로 나누었다. 5일째에, 마우스에게 단일의 볼러스 복막내 주사로 가용성 시스플라틴(6mg/kg), 지질-기재 시스플라틴(6mg/kg, ip) 또는 비순환적 온도 시스플라틴 시포솜(지

질-기재 시스플라틴과 동일한 지질, 0.2mg/kg)을 투여하였다. 생존한 마우스를 모니터링하였다. 마우스를 10일 후에 매일 칭량하였다. 초기 체중의 20% 이상이 감소된 마우스를 CO₂ 흡입으로 안락사시켰다. 마우스의 사망 일자를 데이터 용지에 기록하였다. 중간 생존을 프리즘 그래프패드(Prism GraphPad)로 계산하였다.

시스플라틴 제형 두 형태 모두가 이식된 생존 L1210 종양 세포를 지닌 마우스에게 복막내 투여되는 실험의 결과를 도 11에 도시하고 있다. 지질-기재 시스플라틴이 복막내 주입된 마우스와 가용성 시스플라틴이 복막내 주입된 마우스의 생존 곡선 사이의 현저한 차이는 없었다(p=0.20). 시스플라틴-처리된 그룹의 모든 생존 곡선은 비순환적 온도 시스플라틴 리포솜이 투여된 마우스로부터의 곡선과는 현저하게 상이하였다(각각 p=0.0035, 및 p<0.0001). 중간 생존일은 지질-기재 시스플라틴 ip의 경우 19일이며, 유리 시스플라틴 ip의 경우 19.5일이고, 비순환적 온도 시스플라틴 리포솜 ip의 경우 14일이었다.

참조에 의한 통합

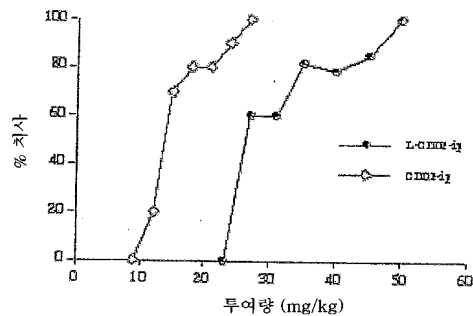
본원에 인용된 모든 특허 및 공개문헌은 본원에서 참조로 통합되는 것이다.

균등물

본 기술 분야의 전문가라면 통상의 실험으로 본원에 기재된 본 발명의 특징의 구체예에 대한 많은 균등물을 확인할 수 있을 것이다. 그러한 균등물도 첨부된 청구범위에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1

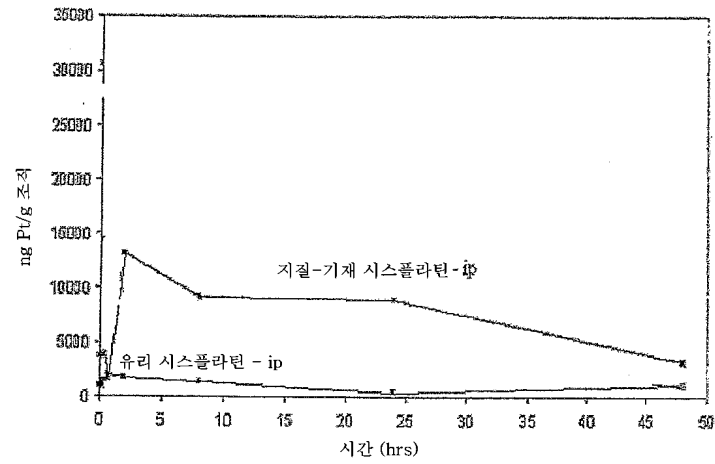


ICR 마우스, F₁ 6-8 w, 5-20 마우스/투여
ip, 주입

	LD10	LD50	LD90
CDDP	9.9	14.3	20.7
L-CDDP	22.4	29.5	38.9

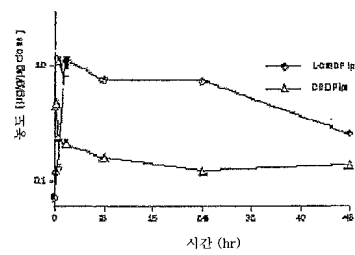
도면2

혈액



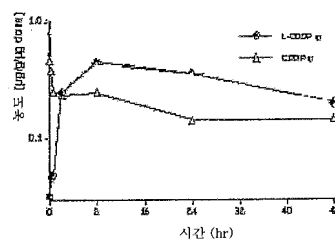
도면3

혈액

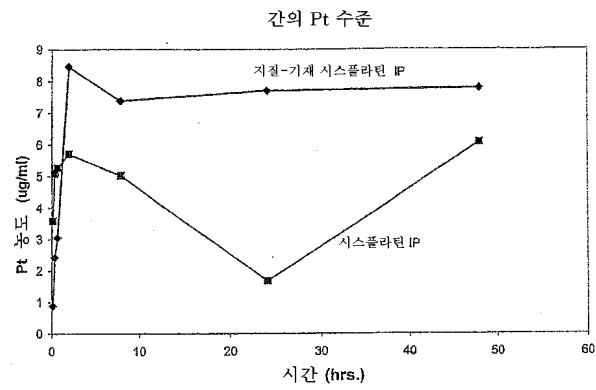


도면4

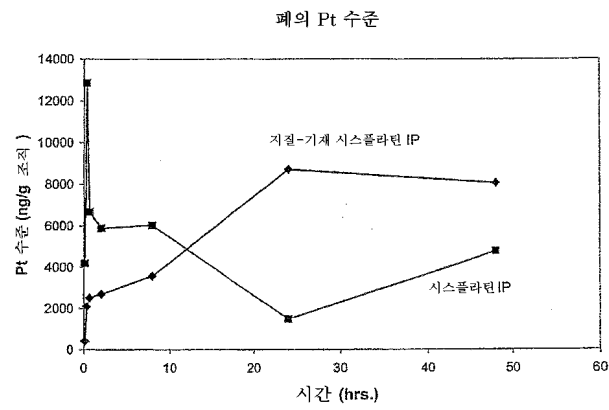
신장



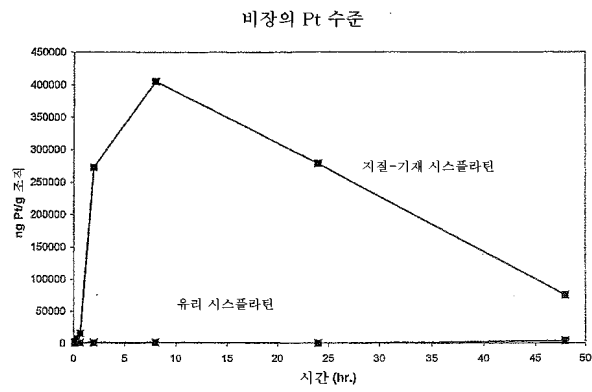
도면5



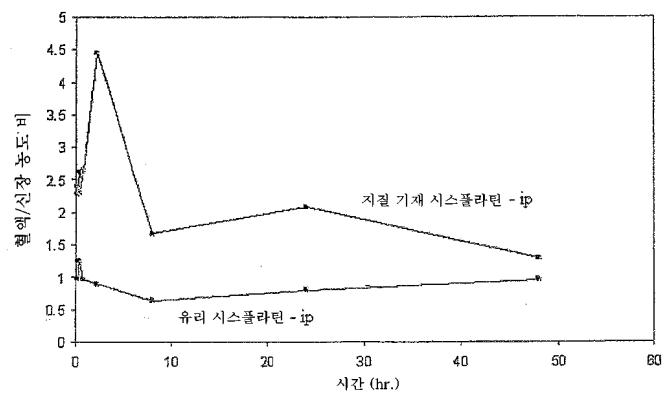
도면6



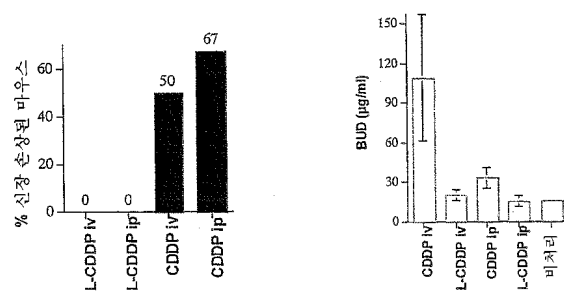
도면7



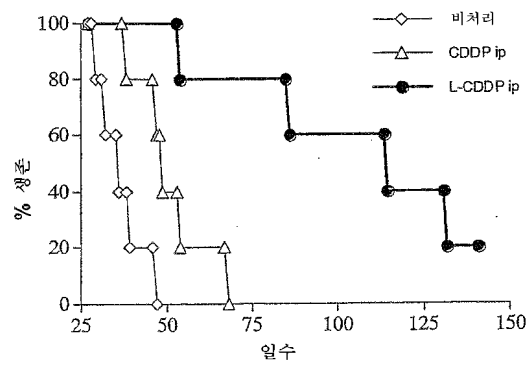
도면8



도면9



도면10



도면11

