



등록특허 10-2755593



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년01월20일
(11) 등록번호 10-2755593
(24) 등록일자 2025년01월13일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/39 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/04 (2006.01) *A61P 31/12* (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01) *A61P 33/06* (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 39/39 (2013.01)
A61K 39/04 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7010130
- (22) 출원일자(국제) 2018년09월07일
심사청구일자 2021년09월06일
- (85) 번역문제출일자 2020년04월07일
- (65) 공개번호 10-2020-0066309
- (43) 공개일자 2020년06월09일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/049832
- (87) 국제공개번호 WO 2019/051149
국제공개일자 2019년03월14일
- (30) 우선권주장
62/556,257 2017년09월08일 미국(US)

- (56) 선행기술조사문현
US20080279926 A1*
KR1020200066309 A*
- *는 심사관에 의하여 인용된 문현

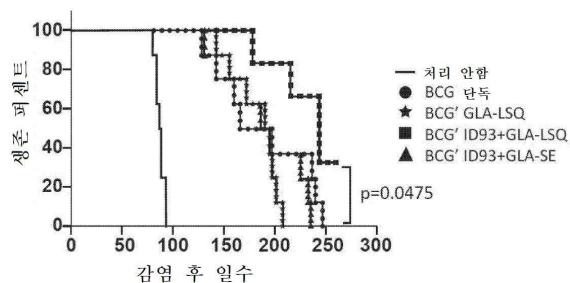
전체 청구항 수 : 총 39 항

심사관 : 조경주

(54) 발명의 명칭 사포닌을 포함하는 리포솜 제형 및 사용 방법

(57) 요약

본 명세서에서는 사포닌 및 선택적으로, 리포다당류를 함유하는 리포솜 제형이 제공된다. 또한, 본 명세서에서는 리포솜 제형 및 항원을 포함하는 약제학적 조성물 및 백신 조성물이 제공된다. 약제학적 조성물 및 백신 조성물은, 예를 들어, 백신 또는 치료 용도를 위하여, 면역 반응을 유도 또는 증대시키킬 수 있다. 리포솜 제형을 제조하고 면역 반응을 유도 또는 증대시키기 위한 리포솜 제형을 이용하는 것과 관련된 조성물 및 방법이 또한 제공된다.

대표 도 - 도2

(52) CPC특허분류

A61P 31/12 (2018.01)
A61P 31/18 (2018.01)
A61P 33/06 (2018.01)
A61K 2039/55555 (2013.01)
A61K 2039/55572 (2013.01)
A61K 2039/55577 (2013.01)
A61K 2039/55583 (2013.01)
A61K 2039/58 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

QS21인 사포닌 및 GLA(glucopyranosyl lipid A)인 리포다당류를 포함하는, 인간 대상체에 투여하기 위한 리포솜 제형으로서,

여기서, 리포다당류 대 사포닌의 중량비는 2.5 대 1이고, 사포닌은 콜레스테롤인 스테롤과 복합체를 이룬 것이고, 사포닌 대 스테롤의 중량비는 1 : 125인, 리포솜 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 사포닌은 합성된 것인, 리포솜 제형.

청구항 3

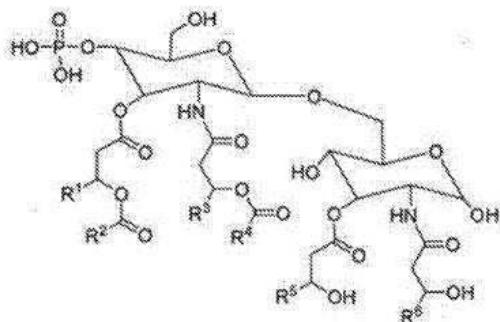
제1항 또는 제2항에 있어서, 인지질을 더 포함하는, 리포솜 제형.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 인지질은 DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, POPC, DLPG, DMPG, DPPG, DSPG, DOPG, DSTAP, DPTAP, DSPE, DPPE, DMPE 및 DLPE로 이루어진 군으로부터 선택되는, 리포솜 제형.

청구항 5

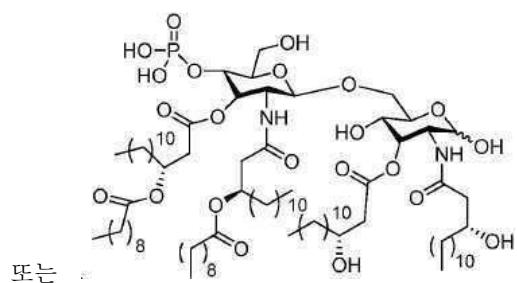
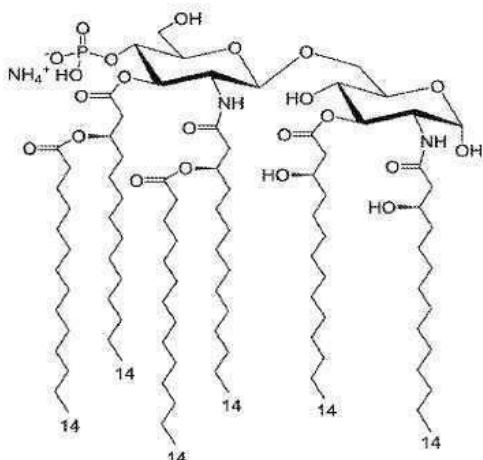
제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포다당류는 하기 화학식을 갖거나 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염인, 리포솜 제형:



식 중, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₁₃ 알킬이다.

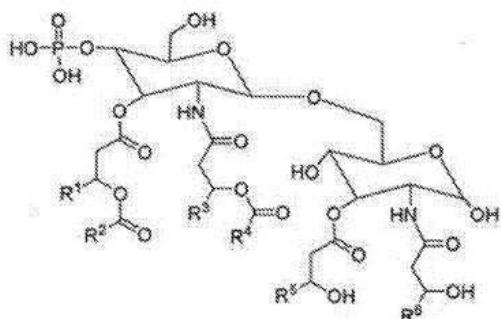
청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포다당류는 하기 화학식을 갖거나, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염인, 리포솜 제형:



청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 리포다당류는 하기 화학식을 갖거나, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염인, 리포솜 제형:



식 중, R^1 , R^3 , R^5 및 R^6 은 C_{10} 알킬이고; R^2 및 R^4 는 C_8 알킬이다.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제형은 인간 투여에 사용하기에 적합한 용적(volume)인, 리포솜 제형.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 용적은 0.5㎖ 내지 1.5㎖인, 리포솜 제형.

청구항 10

제1항 또는 제2항의 제형을 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 증대시키기 위한 약제학적 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 항원을 더 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제2항의 제형 및 항원을 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 증대시키기 위한 백신 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 항원은, (i) 감염성 질환과 연관된 적어도 하나의 감염성 병원체, (ii) 암과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직, 또는 (iii) 자가면역 질환과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직으로부터 유래되거나 또는 이와 면역학적으로 교차-반응성이어서, 면역 반응을 유도 또는 증대시키는, 약제학적 조성물.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 항원은, (i) 감염성 질환과 연관된 적어도 하나의 감염성 병원체, (ii) 암과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직, 또는 (iii) 자가면역 질환과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직으로부터 유래되거나 또는 이와 면역학적으로 교차-반응성이어서, 면역 반응을 유도 또는 증대시키는, 백신 조성물.

청구항 15

제10항에 있어서, 상기 조성물이 항원과 조합하여 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 16

제10항에 있어서, 상기 대상체는 암, 감염성 질환 또는 자가면역 질환을 앓고 있는, 약제학적 조성물.

청구항 17

제10항에 있어서, 상기 대상체는 인간인, 약제학적 조성물.

청구항 18

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제형은 웨스트 나일 바이러스(West Nile virus)의 치료에 사용하기 위한 것이 아닌, 리포솜 제형.

청구항 19

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제형은 항원과 혼합되고, 상기 항원은 웨스트 나일 바이러스와 연관되지 않거나 또는 이로부터 유래되지 않는 것인, 리포솜 제형.

청구항 20

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제형은 TB, HIV 또는 말라리아의 치료에 이용하기 위한 것인, 리포솜 제형.

청구항 21

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제형은 항원과 혼합되고, 상기 항원은 TB, HIV 또는 말라리아와 연관되거나 또는 이로부터 유래되는, 리포솜 제형.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 항원은 ID93, ID91 또는 ID97인, 리포솜 제형.

청구항 23

제10항에 있어서, 상기 조성물은 웨스트 나일 바이러스(West Nile virus)의 치료에 사용하기 위한 것이 아닌, 약제학적 조성물.

청구항 24

제10항에 있어서, 상기 조성물은 항원과 혼합되고, 상기 항원은 웨스트 나일 바이러스와 연관되지 않거나 또는 이로부터 유래되지 않는 것인, 약제학적 조성물.

청구항 25

제10항에 있어서, 상기 조성물은 TB, HIV 또는 말라리아의 치료에 이용하기 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 26

제10항에 있어서, 상기 조성물은 항원과 혼합되고, 상기 항원은 TB, HIV 또는 말라리아와 연관되거나 또는 이로부터 유래되는, 약제학적 조성물.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 항원은 ID93, ID91 또는 ID97인, 약제학적 조성물.

청구항 28

제1항 또는 제2항의 사포닌-함유 리포솜 제형을 제조하는 방법으로서,

상기 사포닌을 사전-형성된 스테롤-함유 리포솜과 혼합하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 사포닌은 QS21이고, 조질의 사포닌 혼합물 Quill A가 정제되어 상기 사포닌을 얻는, 방법.

청구항 30

제28항에 있어서, 상기 사포닌은 리포솜과 혼합하기 전에 완충액에 용해되는, 방법.

청구항 31

제28항에 있어서, 상기 사전-형성된 스테롤-함유 리포솜은 인지질과 스테롤을 혼합하고 얻어진 리포솜의 입자 크기를 고압 균질화를 통해서 저감시킴으로써 제조되는, 방법.

청구항 32

제12항에 있어서, 상기 조성물이 항원과 조합하여 투여되는, 백신 조성물.

청구항 33

제12항에 있어서, 상기 대상체는 암, 감염성 질환 또는 자가면역 질환을 앓고 있는, 백신 조성물.

청구항 34

제12항에 있어서, 상기 대상체는 인간인, 백신 조성물.

청구항 35

제12항에 있어서, 상기 조성물은 웨스트 나일 바이러스(West Nile virus)의 치료에 사용하기 위한 것이 아닌, 백신 조성물.

청구항 36

제12항에 있어서, 상기 조성물은 항원과 혼합되고, 상기 항원은 웨스트 나일 바이러스와 연관되지 않거나 또는 이로부터 유래되지 않는 것인, 백신 조성물.

청구항 37

제12항에 있어서, 상기 조성물은 TB, HIV 또는 말라리아의 치료에 이용하기 위한 것인, 백신 조성물.

청구항 38

제12항에 있어서, 상기 조성물은 항원과 혼합되고, 상기 항원은 TB, HIV 또는 말라리아와 연관되거나 또는 이로부터 유래되는, 백신 조성물.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 항원은 ID93, ID91 또는 ID97인, 백신 조성물.

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본 출원은 2017년 9월 8일자로 출원된 미국 가출원 제62/556,257호에 대한 우선권의 유익을 주장하며, 이는 모든 목적을 위하여 그의 전문이 본 명세서에 참조에 의해 원용된다.
- [0003] 기술 분야
- [0004] 본 개시내용은 일반적으로 약제학적 조성물 및 백신 조성물에 관한 것이다. 더욱 특히, 본 명세서에 기재된 실시형태는 사포닌 및 선택적으로, 리포다당류(lipopolysaccharide: LPS)를 포함하는 리포솜 제형, 및 이의 제조 방법에 관한 것이다

배경 기술

- [0005] 고등 유기체의 면역계는, 친밀한 또는 "자가" 성분으로부터 외래 물질(또는 "비자가"(non-self))을 구별하는 것을 특징으로 하므로, 외래 물질은 면역 반응을 유도하는 한편 "자가" 성분은 무시되거나 내성이 있다. 면역 반응은 전통적으로 항원에 특이적인 항체가 혈장 세포로서 알려진 분화된 B 림프구에 의해 생산되는 호르몬 반응 또는 각종 T 림프구가 많은 기전에 의해 항원을 제거하는 세포 매개 반응 중 하나를 특징으로 한다. 예를 들어, 특이적 항원을 인지 가능한 CD4+ 헬퍼 T 세포는 면역계의 추가의 세포를 동원하여 면역 반응에 관여하도록 사이토카인과 같은 가용성 매개체를 방출시킴으로써 반응할 수 있다. 또한, 특이적 항원 인지가 또한 가능한 CD8+ 세포독성 T 세포는 항원-보유 세포 또는 입자에 결합하고 파괴 또는 손상시킴으로써 반응할 수 있다. 면역학적 분야에서, 통상 숙주에서 목적하는 면역 반응을 유도할 목적을 위하여, 각종 제형에 따른 소정의 백신 조성물을 제공하는 것은 알려져 있다.
- [0006] 숙주에의 백신의 투여를 통해서 특정 면역 반응을 유도하기 위한 몇몇 전략은 열-사멸 또는 생 약독화된 감염성 병원체, 예컨대, 바이러스, 박테리아 또는 소정의 진핵 병원체에 의한 면역화; 면역 반응이 요망되는 항원(들)을 암호화하는 유전자 물질의 발현을 지시 가능한 비-독성 감염성 물질에 의한 면역화; 및 병원체에 대해서 면역력을 유도하기 위하여 특정 병원체로부터 단리된 면역원을 함유하는 소단위 백신 조성물에 의한 면역화를 포함한다(예컨대, 문헌[Liu, 1998 Nature Medicine 4(5 suppl.):515] 참조). 소정의 항원에 대해서, 인간 면역결핍 바이러스 또는 기타 감염성 병원체, 암, 자가면역 질환, 또는 기타 임상적 병태에 대해서 면역학적으로 숙주를 보호하는데 효과적인 백신 조성물의 개발을 비롯한, 이들 접근법의 어느 것도 특히 유효하지 않은 바람직한 면역력의 하나 이상의 유형이 있을 수 있다.
- [0007] 독성에 대한 잠재성을 최소화하는 한편 임의의 주어진 항원과 연관된 면역원성을 개선하기 위하여 백신 조성물에 각종 애주번트가 이용되어 왔다. 예를 들어, 퀄라야(*Quillaja*) 사포닌은 퀄라야 사포나리아(*Quillaja saponaria*) 나무의 껍질로부터 추출된 트라이터펜 글리코사이드의 혼합물이다. 조질의 사포닌은 구제역에 대해서 백신 조성물에 그리고 트리파노소마 크루지 플라스모듐(*Trypanosoma cruzi plasmodium*)과 같은 원생동물 기생충에 대해서 실험적 백신 조성물에 의해 부여된 보호성 면역력의 증폭에 그리고 또한 양 적혈구에 대한 호르몬 반응에 애주번트로서 이용되어 왔다(Bomford, Int. Arch. Allerg. appl. Immun., 67:127 (1982)). 그러나, 애주번트 활성도 및 독성에 영향을 미치는 조질의 혼합물에 존재하는 불순물 및 이질성으로 인해, 조질의 사포닌은 인간에 대한 수의과적 실제에서 또는 약제학적 조성물에서 사용하기에 바람직하지 않다. Quil-A는 퀄라야 속 사포닌 물질의 부분적으로 정제된 수성 추출물이고, 트라이터페노이드 퀘라산(triterpenoid quillaic acid)에 대한 글리코사이드 결합에서 탄수화물 모이어티를 화학적으로 특징으로 한다. Quil-A는 조질의 사포닌에 비해서 개선을 제공하는 한편, 이는 또한 상당한 이질성을 입증하는 것이 제시되어 있다. QS21은 애주번트 활성도를 가진 Quil-A의 FIPLC-정제된 비독성 분획이고, 이의 생산 방법은 미국 특허 제5,057,540호에 (QA21로서) 개시되어 있다.
- [0008] 장내세균 리포다당류(LPS)가 면역계의 강력한 자극제이지만, 애주번트에서의 이의 용도는 이의 독성 효과에 의해 축소되는 것이 오래 전부터 알려져 왔다. 그러나, 지질 A 테일 LPS의 합성 비독성 유도체인 글루코피라노실 지질 A(Glucopyranosyl lipid A: GLA)는 미국 특허 제8,273,361호에 개시된 바와 같이 면역 반응을 유도하는 강력한 잠재성을 갖는 것으로 제시되어 있다. 환원-말단 글루코사민으로부터 포스페이트 및 코어 탄수화물기의 제거에 의해서 생성된, LPS의 천연 유래 비독성 유도체인, 모노포스포릴 지질 A(MPL)는, Ribi 등(1986, Immunology and Immunopharmacology of Bacterial Endotoxins, Plenum Publ. Corp., NY, p 407-419)에 의해 기술되어 있다.

[0009] MPL의 추가의 해독된 버전은 이당류 골격의 3-위치로부터 아실 사슬의 제거로부터 기인되고, 3-O-데아실화 모노포스포릴 지질 A(3D-MPL)라 지칭된다. 이것은 GB 2122204B에서 교시된 방법에 의해 정제되고 제조될 수 있으며, 이 문헌은 또한 다이포스포릴 지질 A, 및 이의 3-O-데아실화 변이체의 제조를 개시하고 있다. 예를 들어, 3D-MPL은 0.2 μm 미만의 직경의 작은 입자 크기를 갖는 애멸선의 형태로 제조되었고, 이 제조 방법은 WO 94/21292에 개시되어 있다. 모노포스포릴 지질 A 및 계면활성제를 포함하는 수성 제형은 WO9843670A2에 기재되어 있다.

[0010] 아주번트 조합물에 제형화되는 박테리아 LPS-유래 아주번트는 정제되고 박테리아 공급원으로부터 가공처리될 수 있거나, 또는 대안적으로 합성될 수 있다. 예를 들어, 합성 사포닌 및 특히, 합성 QS21(SQS 21)이 개시되어 있었다(Ragupathi et al. Expert Rev Vaccines. 2011 April; 10(4): 463-470). 정제된 모노포스포릴 지질 A는 문헌[Ribi et al. 1986 (상기 참조)]에 기재되어 있고, 살모넬라 종(*Salmonella* sp.)으로부터 유래된 3-O-데아실화 모노포스포릴 또는 다이포스포릴 지질 A는 GB 2220211 및 미국 특허 제4,912,094호에 기재되어 있다. 3D-MPL 및 β (1-6) 글루코사민 이당류뿐만 아니라 기타 정제되고 합성 리포다당류가 기재되어 있다(WO 98/01139; 미국 특허 제6,005,099호 및 EP 0 729 473 B1, 문헌[Hilgers et al., 1986 Int. Arch. Allergy Immunol., 79(4):392-6; Hilgers et al., 1987, Immunology, 60(1): 141-6]; 및 EP 0 549 074 B1). 또한, GLA의 변형에 의해 설계된 합성 2세대 지질 아주번트(synthetic second-generation lipid adjuvant: SLA)가 기재되어 있다(Paes et al. 2016, Vaccine, 34(35): 4123-4131).

[0011] 퀼라야 사포나리아 몰리나(*Quillaja Saponaria molina*)로부터 유래된 3D-MPL과 사포닌의 조합물은 EP0761231B 및 US20080279926에 기재되어 있다. WO 95/17210은, QS21과 제형화되고 선택적으로 3D-MPL을 포함하는, 스쿠알렌, α -토코페롤 및 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노올레아이트(TWEEN™-80)에 기반한 아주번트 애멸선을 개시한다. 이러한 조합의 접근성에도 불구하고, 천연 산물로부터 유래된 아주번트의 사용은, 높은 생산 비용, 로트 대 로트의 불일치성, 대규모 생산과 관련된 곤란성, 및 임의의 주어진 제제의 조성 구성에서 불순물의 존재에 관한 불확실성을 수반한다.

[0012] 따라서, 개선된 백신 조성물, 특히 유익하게는 로트-대-로트 일관성을 나타내는 고순도의 화학적으로 규정된 성분을 함유하고 원치 않는 또는 구조적으로 정의되지 않은 오염물 없이 공업적 규모로 효과적으로 제조될 수 있는 백신 조성물에 대한 요구가 있다. 본 개시내용은 이를 요구를 실현시키고 관련된 기타 이점을 제공한다.

발명의 내용

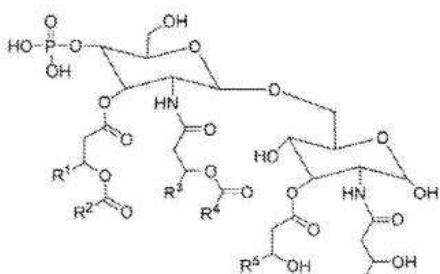
[0013] 본 개시내용은 그의 몇 가지 양상에 있어서 사포닌 및 선택적으로, 리포다당류를 리포솜 제형 중 성분(들)으로서 유리하게 이용하는 조성물 및 방법에 관한 것이다. 일 양상에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 리포다당류(LPS)를 포함한다. 또 다른 양상에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌을 포함하고, LPS를 함유하지 않는다. 또 다른 양상에 있어서, 리포솜 제형은 스테롤에 복합체화된(complexed) 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함한다.

[0014] 소정의 실시형태에서, 자연적으로 유래되고 정제된 QS21 또는 합성 QS21을 포함하는 사포닌이 제공된다(예컨대, 미국 특허 제5,057,540호; EP 0 362 279 B1; WO 95/17210).

[0015] 본 명세서에 기재된 개시내용의 일 실시형태에 따르면, 사포닌은 스테롤에 복합체화되고, 여기서 스테롤은 콜레스테롤이다.

[0016] 본 개시내용의 리포솜 제형에 사용된 선택적 LPS는 당업계에 공지되고 입수 가능한 TLR4 작용제로부터 선택될 수 있다. 소정의 구체적인 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 GLA, MPL 또는 3D-MPL로부터 선택된다.

[0017] 본 명세서에 기재된 개시내용의 일 양상에 따르면, 하기 구조를 갖는 GLA 화합물이 제공된다:



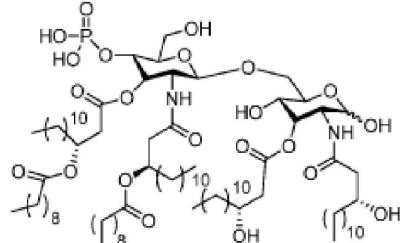
[0018]

[0019] 식 중, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₁-C₂₀ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₉-C₂₀ 알킬이다. 몇몇 실시형태에 있어서, R¹, R³, R⁵

및 R⁶은 C₁₁₋₁₄ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₁₂₋₁₅ 알킬이다. 몇몇 실시형태에 있어서, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₁₃ 알킬이다. 몇몇 실시형태에 있어서, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₉ 알킬이다. 몇몇 실시형태에 있어서, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₀ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₈ 알킬이다.

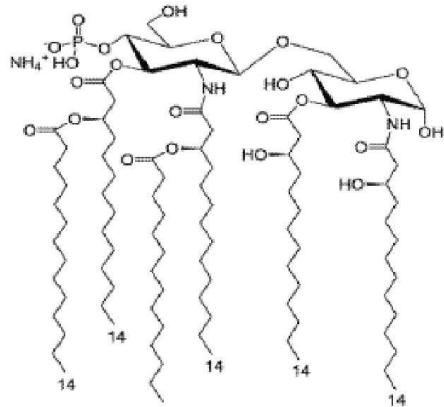
[0020]

몇몇 실시형태에 있어서, GLA는 하기 구조를 갖고 본 명세서에서 SLA로 지칭된다:



[0021]

몇몇 실시형태에 있어서, GLA는 하기 구조를 갖는다(예에서 GLA*로 지칭됨):



[0023]

[0024]

본 명세서에 기재된 개시내용의 소정의 실시형태에 있어서, 감염성 질환, 암 또는 자가면역 질환과 연관된 항원이 제공된다.

[0025]

또 다른 양상에 있어서, 본 개시내용은 감염성 질환과 연관된 적어도 하나의 감염성 병원체로부터 유래되거나 또는 이와 면역학적으로 교차-반응성인 항원에 대해서 면역 반응을 자극 및 증대시키는 방법을 제공하되, 해당 방법은 본 개시내용의 조성물을 이를 필요로 하는 포유류에 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 암과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자(biomolecule), 세포 또는 조직에 대해서 면역 반응을 유도 및 증대시키는 방법을 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 자가면역 질환과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직에 대해서 면역 반응을 자극 및 증대시키는 방법을 제공한다. 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용은 감염성 질환과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직에 대해서 면역 반응을 자극 및 증대시키는 방법을 제공한다.

[0026]

또한, 본 발명의 사포닌 함유 리포솜을 제조하는 방법이 제공된다.

[0027]

본 명세서에 기재된 각종 실시형태의 하나, 몇몇 또는 전부의 특징은 본 개시내용의 다른 실시형태를 형성하기 위하여 조합될 수 있는 것이 이해되어야 한다. 본 개시내용의 이들 및 기타 양상은 이하의 상세한 설명 및 첨부 도면의 참조 시 명백해질 것이다. 본 명세서에 개시된 모든 문헌은 마치 각각이 개별적으로 편입된 것처럼 이들의 전체가 참조에 의해 본 명세서에 편입된다.

도면의 간단한 설명

[0028]

도 1: 이 도면은 본 발명의 예시적인 제형의 예시적인 제조 및 규모확대 공정을 도시한다

도 2: 이 도면은 시간 경과에 따른 기니피의 생존율을 묘사한다. 만텔-콕스 시험(Mantel-Cox test)이, 유의성을 나타내는, p<0.05를 갖는 유의성을 결정하기 위하여 수행되었다. 라인을 따른 기호는 라인을 구별하기 위하여 단독으로 사용되고 개별적인 동물을 나타내지 않는다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029]

본 개시내용은 일반적으로 사포닌 및 선택적으로, 리포다당류(LPS)를 포함하는 리포솜 제형, 및 이를 약제학적 조성물 및 백신 조성물에 사용하는 관련된 방법에 관한 것이다. 소정의 양상에 있어서, 리포솜 제형은 스테롤에 복합체화된 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함할 수 있다. 본 개시내용의 약제학적 조성물 및 백신 조성물은, 예를 들어, QS21 및 선택적으로, GLA를 함유하는 -리포솜 제형을 포함한다. 다른 예에서, 본 개시내용의 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 스테롤에 복합체화된 QS21 및 선택적으로, GLA를 함유하는 리포솜 제형을 포함할 수 있다. 구체적인 바람직한 실시형태에 있어서, 사포닌은 콜레스테롤에 복합체화된다.

[0030]

리포솜 제형을 함유하는 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 선택적으로 항원을 더 포함하되, 여기서 항원은 감염성 질환, 암, 또는 자가면역 질환과 연관된다. 본 개시내용은 또한 감염성 질환, 암 또는 자가면역 질환을 가진 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 증대시키기 위하여 리포솜 제형을 약제학적 조성물 또는 백신 조성물로서 사용하는 것을 상정한다.

[0031]

키라야 사포나리아 몰리나(*Quillaja saponaria* Molina) 껍질의 점점 제한된 전반적인 이용 가능성이 있는데, 이는 이 천연 자원이 각 용량에서 고농도의 사포닌을 이용하는 백신 조성물의 대규모 생산에 충분하지 않을 수도 있음을 시사한다(Ragupathi et al., *Expert Rev. Vaccines* 2011; 10(4):463-470). 또한, 천연 사포닌의 조달과 연관된 값비싼 비용은 이의 강력한 애주번트 활성도에도 불구하고 이의 광범위한 사용에 있어서 제한적인 인자이다. 이와 대조적으로, 본 명세서에 제공된 리포솜 제형, 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 유리하게는 당업계에 공지된 기준의 사포닌-함유 제형에 비해서 용량당 낮은 농도 범위로 사포닌을 사용한다. 따라서, 본 개시내용의 조성물은 유익하게는 로트-대-로트 일관성을 나타내는 고순도의 화학적으로 규정된 성분을 함유하고 공업적 규모로 효과적으로 제조될 수 있다.

[0032]

I. 정의

[0033]

이하의 용어는, 달리 표시되지 않는 한, 이하의 의미를 갖는다. 임의의 정의되지 않은 용어는 당분야에서 인정된 의미를 갖는다.

[0034]

본 명세서 및 첨부된 청구범위에서 사용되는 바와 같이, 단수 형태는 문맥이 달리 명백하게 기술하지 않는 한 복수의 지시대상을 포함한다.

[0035]

본 명세서에 기재된 개시내용의 양상 및 실시형태는 양상들 및 실시형태들을 "포함하는", "로 이루어진" 및 "로 본질적으로 이루어진"을 포함하는 것이 이해된다.

[0036]

본 설명에서, 용어 "약" 및 "로 본질적으로 이루어진"은, 달리 표시되지 않는 한, 표시된 범위, 즉 또는 구조의 ±20%를 의미한다.

[0037]

대안(예컨대, "또는")의 사용은 대안 중 하나, 둘 다 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다.

[0038]

본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 용어 "포함한다"(include), "갖는다" 및 "포함한다"(comprise)는 동의어로 사용되고, 이 용어 및 이의 변형어는 비제한적으로 해석되는 것으로 의도된다.

[0039]

본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "거대분자"는 생물학적 또는 합성 기원의 펩타이드, 단백질, 올리고뉴클레오타이드 및 폴리뉴클레오타이드로 예시되지만 이들로 제한되지 않는 대형 분자를 지칭한다.

[0040]

용어 "알킬"은 표시된 수의 탄소 원자를 함유하는 직쇄 또는 분지쇄, 비활식 또는 활식, 불포화 또는 포화 지방족 탄화수소를 의미한다. 불포화 알킬은 인접한 탄소 원자간의 적어도 하나의 이중 또는 삼중 결합을 함유한다.

[0041]

용어 "폴리펩타이드", "펩타이드" 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위하여 본 명세서에서 호환 가능하게 이용된다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 이는 변형된 뉴클레오타이드 또는 아미노산을 포함할 수 있으며, 비-뉴클레오타이드 또는 비-아미노산에 의해 중단될 수 있다. 이 용어는 또한 자연적으로 또는 개입; 예를 들어, 예를 들어, 다이설파이드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 포스포릴화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예컨대, 표지화 성분과의 접합에 의해 변형된 뉴클레오타이드 또는 아미노산 중합체를 포함한다. 또한 이 정의 내에, 예를 들어, 뉴클레오타이드 또는 아미노산(예를 들어, 비천연 아미노산 등을 포함)의 하나 이상의 유사체뿐만 아니라 당업계에 공지된 기타 변형을 함유하는 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩타이드가 포함된다.

- [0042] 용어 "단리된"은 분자가 그의 천연 환경으로부터 제거된 것을 의미한다.
- [0043] "정제된"은 실험실 조건하에 초기에 합성 및/또는 증폭된 경우 및/또는 그의 천연 환경에 존재하는 것보다 더 순수한 형태로 존재하도록, 분자가 순도가 증가된 것을 의미한다. 순도는 상대적인 용어이고, 반드시 절대 순도를 의미하는 것은 아니다.
- [0044] 본 명세서에서 호환 가능하게 사용되는 바와 같은 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "핵산"은, 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체를 지칭하고 DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오타이드는, 예를 들어, 데옥시리보뉴클레오타이드, 리보뉴클레오타이드, 변형된 뉴클레오타이드 또는 염기 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해 중합체에 흡입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드, 예컨대, 메틸화된 뉴클레오타이드 및 이들의 유사체를 포함할 수 있다. 존재할 경우, 뉴클레오타이드 구조에 대한 변형은 중합체의 조립 전후에 부여될 수 있다.
- [0045] 본 명세서에서 이용되는 바와 같은 "올리고뉴클레오타이드"는, 일반적으로 짧은, 일반적으로 단일 가닥의, 반드시 필요한 것은 아니지만, 일반적으로 약 200개 미만의 뉴클레오타이드 길이인 합성 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 용어 "올리고뉴클레오타이드" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 상호 배제되지 않는다. 폴리뉴클레오타이드에 대한 이상의 기재는 올리고뉴클레오타이드에 동등하고도 완전하게 적용 가능하다.
- [0046] "개체" 또는 "대상체"는 임의의 포유류이다. 포유류는 인간, 영장류, 농장 동물, 스포츠 동물, 애완동물(예컨대, 고양이, 개, 말) 및 설치류를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.
- [0047] 본 개시내용의 입자는, 달리 나타내지 않는 한, 당업계의 기술 내인, 분자 생물학, 재조합 DNA, 생화학 및 화학의 통상의 기술을 이용할 것이다. 이러한 기술은 문헌에 완전히 설명되어 있다. 예컨대, 문헌[Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd Ed., Sambrook et al., ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press: (1989); DNA Cloning, Volumes I and II (D. N. Glover ed., 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed., 1984); Mullis et al., 미국 특허 제4,683,195호; Nucleic Acid Hybridization (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); 및 Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989)] 참조.
- [0048] II. 리포솜 제형
- [0049] 본 개시내용은 리포솜 제형을 제공한다. 리포솜 제형은 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함한다. 부가적으로, 리포솜 제형은 선택적으로 적어도 1종의 스테롤 및 적어도 1종의 인지질을 포함할 수 있다.
- [0050] A. 애주번트
- [0051] 본 명세서에서 논의되는 바와 같이, 본 개시내용의 리포솜 제형은 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함한다. 사포닌 및 LPS는 일반적으로 애주번트 활성도를 갖는 것으로 알려져 있다.
- [0052] 사포닌
- [0053] 사포닌은, 예컨대, 미국 특허 제6,544,518호; 문헌[Lacaille-Dubois, M and Wagner H.(1996 Phytomedicine 2:363-386)], 미국 특허 제5,057,540호, 문헌[Kensil, Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 1996, 12 (1-2): 1-55] 및 EP 0 362 279 B1에 교시되어 있다. Quil A(사포닌)의 분획을 포함하는 면역 자극 복합체(ISCOMS)라 지칭되는 입상체 구조는, 용혈성이고, 백신 조성물의 제조에 사용되어 왔다(Morein, B., EP 0109942 B1). 이를 구조는 애주번트 활성도를 갖는 것으로 보고되었다(EP 0 109 942 B1; WO 96/11711). 용혈성 사포닌 QS21 및 QS17(Quil A의 HPLC 정제된 분획)은 강력한 전신 애주번트로서 기재되어 있고, 이의 제조 방법은 미국 특허 제5,057,540호 및 EP 0 362 279 B1에 개시되어 있다. 또한 이를 문헌에는 전신 백신 조성물에 대해서 강력한 애주번트로서 작용하는 QS7(Quil-A의 비-용혈성 분획)의 사용이다. QS21의 사용은 Kensil 등(1991. J. Immunology 146:431-437)에 더 기재되어 있다. QS21과 폴리솔베이트 또는 사이토넥스트린의 조합이 또한 공지되어 있다(WO 99/10008). QS21 및 QS7과 같은 Quil A의 분획을 포함하는 입상체 애주번트 시스템은 WO 96/33739 및 WO 96/11711에 기재되어 있다. 전신 백신화 연구에 사용된 기타 사포닌은 안개꽃(Gypsophila) 및 사포나리아(Saponaria) 등과 같은 기타 식물종으로부터 유래된 것들을 포함한다(Bomford et al., Vaccine, 10(9):572-577, 1992).
- [0054] 본 명세서에 제공된 리포솜 제형의 일 실시형태에 있어서, 사포닌은 키라야 사포나리아 몰리나의 껌질로부터 유

래된 면역학적 활성 사포닌 분획이다. 하나의 이러한 실시형태에 있어서, 사포닌 분획은 QS21이다.

[0055] 키라야 사포나리아 몰리나 껍질의 점점 제한된 전반적인 공급 및 배취-대-배취 일치성을 가진 고도로 정제된 면역학적 활성 사포닌 분획을 달성하는 것과 관련된 시도로 인해, 합성 QS21(SQS21), QS21-Api 및 QS21-Xy1과 같은 합성 사포닌의 화학적 생산은 기재되어 있었다(Ragupathi et al. Expert Rev Vaccines. 2011 April; 10(4): 463-470). 합성 QS21(SQS 21) 및 천연 유래 QS21은 유사한 애주번트 활성도를 갖는 것으로 제시되었다.

[0056] 본 명세서에 제공된 리포솜 제형의 소정의 실시형태에 있어서, 사포닌은 합성품이다. 이러한 하나의 실시형태에 있어서, 합성 사포닌은 합성 QS21(SQS21)이다.

[0057] 에스신(escin)은 본 명세서에 개시된 리포솜 제형의 실시형태에서 사용될 수 있는 사노닌과 연관된 또 다른 화합물이다. 에스신은 칠엽수 나무인 에스쿨루스 히포카스타눔(*Aesculus hippocastanum*)의 종자에 존재하는 사포닌의 혼합물로서 머크 인텍스(제12판: 엔트리 3737)에 기재되어 있다. 이의 단리는 크로마토그래피 및 정제(Fiedler, Arzneimittel-Forsch. 4, 213 (1953))에 의해 그리고 이온 교환 수지(Erbring 등, 미국 특허 제3,238,190호)에 의해 기재되어 있다. 에스신(또한 에스신(aescin)으로도 알려짐)의 분획은 정제되었고, 생물학적으로 활성인 것으로 제시되어 있다(Yoshikawa M, et al. (Chem Pharm Bull (Tokyo) 1996 August; 44(8):1454-1464)). 사포닌으로서 머크 인텍스(제12판: 엔트리 3204)에 또한 기재된 디기토닌(digitonin)은 디기탈리스 푸르푸레아(*Digitalis purpurea*)의 종자로부터 유래되고 문헌[Gisvold et al., J. Am. Pharm. Assoc., 1934, 23, 664; 및 Rubenstroth-Bauer, Physiol. Chem., 1955, 301, 621]에 의해 기재된 절차에 따라서 정제된다.

[0058] 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, 사포닌은 Quil-A, 또는 이의 유도체, 예컨대, QS21 및 QS7(Aquila Biopharmaceuticals Inc., 매사추세츠주 프레이밍햄 소재); 에스신; 디기토닌; 또는 안개꽃 또는 체노포듐 퀴노아(*Chenopodium quinoa*) 사포닌을 포함한다. 기타 예시적인 제형은 본 개시내용의 리포솜 제형에 하나 초과의 사포닌, 예를 들어, QS21, QS7, Quil-A, 에스신 또는 디기토닌을 포함하는 군 중 적어도 2종의 조합물을 포함한다.

[0059] 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함하는 리포솜 제형이 인간 대상체에 투여하기 위한 조성물인 것이 본 명세서에서 상정된다. 소정의 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 0.5 μg /용량 내지 약 10 μg /용량 또는 약 1 μg /용량 내지 약 10 μg /용량이다. 몇몇 바람직한 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 0.5 μg /용량 내지 약 8 μg /용량 또는 약 1 μg /용량 내지 약 8 μg /용량이다. 성분의 농도가 약 0.5 μg /용량 내지 약 10 μg /용량이면, 대상체에게 전달될 양은 약 0.5 μg /용량 내지 약 10 μg /용량일 것이다. 제형 자체는 대상체에게 전달하기 전에 희석될 수 있는 것이 이해될 것이다.

[0060] 본 명세서에 제공된 조성물의 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 1 μg /용량, 약 2 μg /용량, 약 3 μg /용량, 약 4 μg /용량, 약 5 μg /용량, 약 6 μg /용량, 약 7 μg /용량, 약 8 μg /용량, 약 9 μg /용량 또는 약 10 μg /용량이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 1 μg /용량 내지 약 2 μg /용량, 약 2 μg /용량 내지 약 3 μg /용량, 약 3 μg /용량 내지 약 4 μg /용량, 약 4 μg /용량 내지 약 5 μg /용량, 약 5 μg /용량 내지 약 6 μg /용량, 약 6 μg /용량 내지 약 7 μg /용량, 약 7 μg /용량 내지 약 8 μg /용량, 약 8 μg /용량 내지 약 9 μg /용량, 또는 약 9 μg /용량 내지 약 10 μg /용량이다. 몇몇 양상에 있어서, 사포닌은 약 1 μg /용량 미만, 예컨대, 약 0.5 μg /용량 내지 약 1 μg /용량의 농도이다.

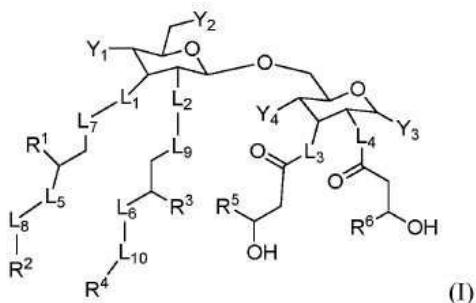
[0061] LPS

[0062] 본 발명의 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는 면역자극제이다. 즉, LPS는 단독으로 또는 질환 상태와 연관된 항원과 조합하여 대상체에서 면역 반응을 유도할 수 있다. 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는 TLR4 작용제이다. 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "TLR4 작용제"는 TLR4와의 상호작용을 통해 이의 생물학적 활성도에 영향을 미치는 작용제를 지칭한다. 소정의 바람직한 실시형태에 있어서, 본 개시내용의 제형에서 사용되는 TLR4 작용제는 글루코파리노실 지질 애주번트(GLA), 예컨대, 미국 특허 공개 제US2007/021017호, 제US2009/045033호 및 제US2010/037466호(이들의 내용은 이들의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 편입됨)에 기재된 것들이다.

[0063] 위에서 언급된 바와 같이, GLA가 화학적으로 합성되므로, 실질적으로 균질한 형태로 제조될 수 있고, 이는 GLA 분자에 대해서 적어도 80%, 바람직하게는 적어도 85%, 더 바람직하게는 적어도 90%, 더 바람직하게는 적어도 95%, 더욱더 바람직하게는 적어도 96%, 97%, 98% 또는 99% 순수한 GLA 제제를 지칭한다.

[0064] 예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 화학식 (I)의 구조를 갖는 합성 GLA, 또는 이의 약

제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0065]

L₁, L₂, L₃, L₄, L₅ 및 L₆은 동일 또는 상이하고 독립적으로 -O-, -NH- 또는 -(CH₂)-이고;

[0067]

L₇, L₈, L₉ 및 L₁₀은 동일 또는 상이하고 독립적으로 존재하지 않거나 또는 -C(=O)-이거나;

[0068]

Y₁은 산 작용기이고;

[0069]

Y₂ 및 Y₃은 동일 또는 상이하고 독립적으로 -OH, -SH, 또는 산 작용기이고;

[0070]

Y₄는 -OH 또는 -SH이고;

[0071]

R₁, R₃, R₅ 및 R₆은 동일 또는 상이하고 독립적으로 C₈₋₁₃ 알킬이고;

[0072]

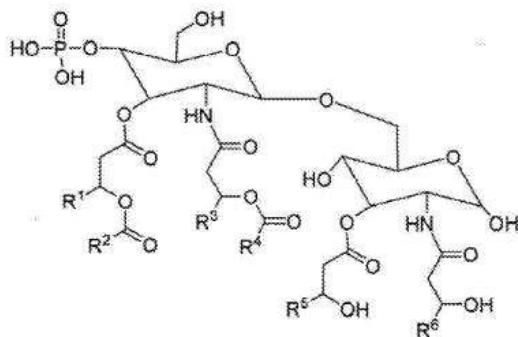
R₂ 및 R₄는 동일 또는 상이하고 독립적으로 C₆₋₁₁ 알킬이다.

[0073]

합성 GLA 구조의 몇몇 실시형태에 있어서, R¹, R³, R₅ 및 R₆은 C₁₀ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₈ 알킬이다. 소정의 실시형태에 있어서, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₉ 알킬이다.

[0074]

예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 화학식 (II)의 구조를 갖는 합성 GLA 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0075]

상기 GLA 구조의 소정의 실시형태에 있어서, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C_{11-C₂₀} 알킬이고; R² 및 R⁴는 C_{12-C₂₀} 알킬이다.

또 다른 특정 실시형태에 있어서, GLA는 R¹, R³, R⁵ 및 R⁶이 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴가 C₁₃ 알킬인 위에서 제시된 화학식을 갖는다. 또 다른 특정 실시형태에 있어서, GLA는 R¹, R³, R⁵ 및 R⁶이 C₁₀ 알킬이고; R² 및 R⁴가 C₈ 알킬인 위에서 제시된 화학식을 갖는다.

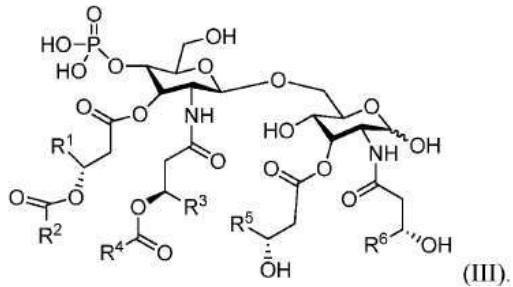
[0077]

또 다른 특정 실시형태에 있어서, GLA는 R¹, R³, R⁵ 및 R⁶이 C_{11-C₂₀} 알킬이고; R²가 R⁴가 C_{9-C₂₀} 알킬인 위에서 제시된 화학식을 갖는다. 소정의 실시형태에 있어서, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₉ 알킬이다.

[0078]

소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 화학식 (III)의 구조를 갖는 합성 GLA 또는 이의 약제학적으로

허용 가능한 염이다:

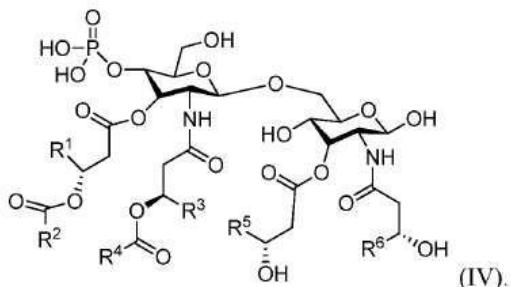


[0079]

- [0080] 상기 GLA 구조의 소정의 실시형태에 있어서, R^1 , R^3 , R^5 및 R^6 은 $C_{11}-C_{20}$ 알킬이고; R^2 및 R^4 는 C_9-C_{20} 알킬이다.
소정의 실시형태에 있어서, R^1 , R^3 , R^5 및 R^6 은 C_{11} 알킬이고; R^2 및 R^4 는 C_9 알킬이다.

[0081]

소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 화학식 (IV)의 구조를 갖는 합성 GLA이다:

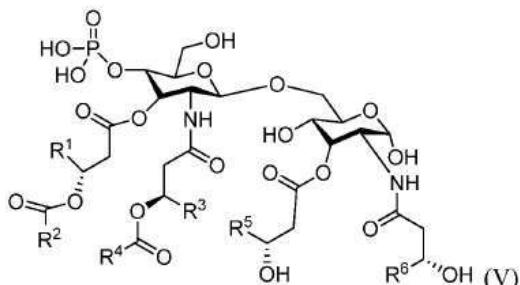


[0082]

- [0083] 상기 GLA 구조의 소정의 실시형태에 있어서, R^1 , R^3 , R^5 및 R^6 은 $C_{11}-C_{20}$ 알킬이고; R^2 및 R^4 는 C_9-C_{20} 알킬이다.
소정의 실시형태에 있어서, R^1 , R^3 , R^5 및 R^6 은 C_{11} 알킬이고; R^2 및 R^4 는 C_9 알킬이다.

[0084]

소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 화학식 (V)의 구조를 갖는 합성 GLA 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:

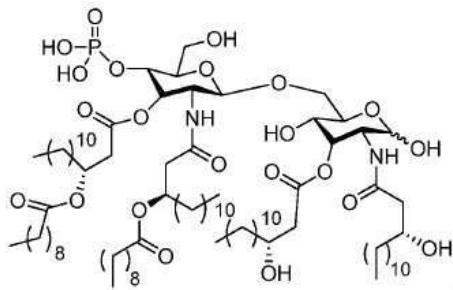


[0085]

- [0086] 상기 GLA 구조의 소정의 실시형태에 있어서, R^1 , R^3 , R^5 및 R^6 은 $C_{11}-C_{20}$ 알킬이고; R^2 및 R^4 는 C_9-C_{20} 알킬이다.
소정의 실시형태에 있어서, R^1 , R^3 , R^5 및 R^6 은 C_{11} 알킬이고; R^2 및 R^4 는 C_9 알킬이다.

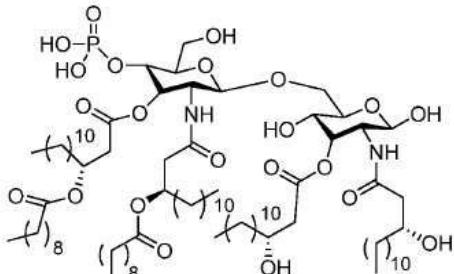
[0087]

소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 구조를 갖는 합성 GLA 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



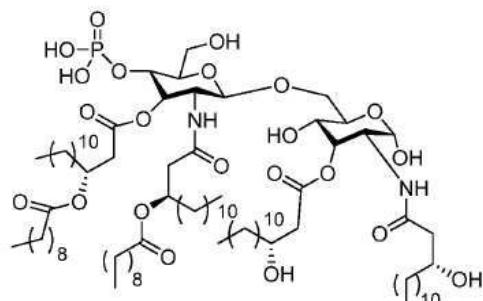
[0088]

소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 구조를 갖는 합성 GLA(및 본 명세서에서 SLA라 지칭됨) 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0090]

소정의 실시형태에 있어서, TLR4 작용제는 하기 구조를 갖는 GLA 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다:



[0092]

본 명세서에 제공된 리포솜 제형의 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶이 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴가 C₁₃ 알킬인, 화학식 (II)에 따른 구조를 갖는 GLA 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는다. 본 명세서에 제공된 리포솜 제형의 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶이 C₁₀ 알킬이고; R² 및 R⁴가 C₈ 알킬인, 화학식 (II)에 따른 구조를 갖는 GLA 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 갖는다. 본 명세서에 제공된 리포솜 제형의 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는 MPL이다.

[0094]

본 명세서에 기재된 조성물의 소정의 실시형태에 있어서, LPS는 GLA의 변형에 의해 설계된 합성 2세대 지질 애주번트(SLA)이다. 또 다른 실시형태에 있어서, 약독화된 지질 A 유도체(attenuated lipid A derivative: ALD)는 본 명세서에 기재된 조성물에 혼입된다. ALD는 분자가 지질 A의 더 적은 또는 상이한 부작용을 나타내도록 변형 또는 구축된 지질 A-유사 분자이다. 이를 부작용은 닦 배아 50% 치사량 검정법(chick embryo 50% lethal dose assay: CELD50)으로 평가된 바와 같이 발열성, 국소 슈바르츠만 반응성(local Shwarzman reactivity)을 포함한다. 본 개시내용에 따라서 유용한 ALD는 모노포스포릴 지질 A(monophosphoryl lipid A: MLA 또는 MPL) 및 3-데아실화 모노포스포릴 지질 A(3-deacylated monophosphoryl lipid A: 3D-MLA 또는 3D-MPL)를 포함한다. MLA(MPL) 및 3D-MLA(3D-MPL)가 공지되어 있어, 본 명세서에 상세히 기재될 필요는 없다. 예를 들어, 미국 특허 제4,436727호 및 제4,912,094호(모든 목적을 위하여 참조에 의해 본 명세서에 편입됨) 참조.

[0095]

상기 TLR4 작용제 화합물에 있어서, 전체 전하는 분자 내 작용기에 따라서 결정될 수 있다. 예를 들어, 포스페이트기는, 포스페이트기의 이온화 상태에 따라서, 음으로 하전될 수 있거나 중성일 수 있다.

[0096] GLA 화합물의 합성

[0097] 위에서 언급된 바와 같이, 본 개시내용은 GLA 화합물을 제공한다. 본 개시내용의 대표적인 GLA 화합물은 공지된 유기 합성 수법에 의해 제조될 수 있고, 예를 들어, 미국 특허 제8,722,064호 및 제8273,361호(이들의 전문은 모든 목적을 위하여 참조에 의해 본 명세서에 편입됨)를 참조한다.

[0098] 본 개시내용의 화합물은 일반적으로 유리 염기 또는 유리 산으로서 이용될 수 있다. 대안적으로, 본 개시내용의 화합물은 산 또는 염기 부가염의 형태로 사용될 수 있다. 본 개시내용의 유리 아미노 화합물의 산 부가염은, 당업계에 잘 알려진 방법에 의해 제조될 수 있고, 유리산 및 무기산으로부터 형성될 수 있다. 적합한 유리산은 말레산, 푸마르산, 벤조산, 아스코르브산, 석신산, 메탄설폰산, 아세트산, 옥살산, 프로페온산, 타르타르산, 살리실산, 시트르산, 글루콘산, 락트산, 만델산, 신남산, 아스파르트산, 스테아르산, 팔미트산, 글리콜산, 글루탐산 및 베네설론산을 포함한다. 적합한 무기산은 염산, 하이드로브로민산, 황산, 인산 및 질산을 포함한다.

[0099] 유사하게는, 본 개시내용의 산 화합물의 염기 부가염은 당업계에 잘 알려진 방법에 의해 제조될 수 있고, 유리 염기 및 무기 염기로 형성될 수 있다. 적합한 유리 염기는, 트라이에틸아민 및 피리딘을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 적합한 무기 염기는, 수산화나트륨, 수산화칼륨, 탄산나트륨, 탄산칼륨 및 암모니아를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 따라서, 화학식 (I)의 "약제학적으로 허용 가능한 염"이란 용어는 임의의 모든 허용 가능한 염 형태를 포함하도록 의도된다.

[0100] 또한, 전구약물은 또한 본 개시내용의 맥락 내에 포함된다. 전구약물은, 이러한 전구약물이 환자에게 투여될 경우 화학식 (I)의 화합물을 생체내에서 방출하는 임의의 공유결합된 담체이다. 전구약물은 일반적으로 일상적인 조작에 의해 또는 생체내에서 변형물이 절단되는 방식으로 작용기를 변형시켜 모화합물을 수득함으로써 제조된다. 전구약물은, 예를 들어, 하이드록시, 아민 또는 셀프하이드릴기가, 환자에게 투여될 경우, 하이드록시, 아민 또는 셀프하이드릴기를 형성하도록 절단되는 임의의 기에 결합되는 본 개시내용의 화합물을 포함한다. 따라서, 전구약물의 대표적인 예는 화학식 (I)의 화합물의 알코올 및 아민 작용기의 아세테이트, 폼에이트 및 벤조에이트 유도체를 포함한다(그러나 이들로 제한되지 않는다). 또한, 카복실산(COOH)의 경우에, 에스터, 예컨대, 메틸 에스터, 에틸 에스터 등이 이용될 수 있다.

[0101] 입체이성질체에 관하여, 화학식 (I)의 화합물은 카이럴 중심을 가질 수 있고, 라세미체, 라세미 혼합물로서 그리고 개별적인 거울상이성질체 또는 부분입체이성질체로서 존재할 수 있다. 이들의 혼합물을 비롯하여 이러한 모든 이성질체 형태는 본 개시내용 내에 포함된다. 또한, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태의 일부는 다형체로서 존재할 수 있고, 이는 본 개시내용에 포함된다. 또한, 화학식 (I)의 화합물의 몇몇은 또한 물 또는 다른 용매와 용매화물을 형성할 수 있다. 이러한 용매화물은 유사하게는 본 개시내용의 범위 내에서 포함된다.

[0102] 본 명세서에서 사포닌 및 LPS를 포함하는 리포솜 제형은 인간 대상체에 투여하기 위한 조성물인 것이 상정된다. 소정의 실시형태에 있어서, LPS의 농도는 약 $1\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $2\mu\text{g}/\text{용량}$ 또는 약 $2.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $25\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 몇몇 바람직한 실시형태에 있어서, LPS의 농도는 약 $3\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $20\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다.

[0103] 본 명세서에 제공된 조성물의 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, LPS의 농도는 약 $2.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $3\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $3.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $4\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $4.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $5.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $6\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $6.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $7\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $7.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $8\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $8.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $9\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $9.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $10\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $10.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $11\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $11.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $12\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $12.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $13\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $13.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $14\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $14.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $15\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $15.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $16\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $16.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $17\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $17.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $18\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $18.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $19\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $19.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $20\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $20.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $21\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $21.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $22\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $22.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $23\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $23.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $24\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $24.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 또는 약 $25\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다.

[0104] 소정의 실시형태에 있어서, LPS의 농도는 약 $2.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $5\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $7.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $7.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $10\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $10\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $12.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $12.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $15\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $15\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $17.7\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $17.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $20\mu\text{g}/\text{용량}$, 약 $20\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $22.5\mu\text{g}/\text{용량}$, 또는 약 $22.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 내지 약 $25\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다.

[0105] 사포닌 대 LPS 비

[0106] 본 명세서에 기재된 리포솜 제형의 예시적인 양상에 있어서, 사포닌 대 LPS 비는 약 1 대 2.5이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $1\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고 LPS의 농도는 약 $2.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다.

이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $2\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고 LPS의 농도는 약 $5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $3\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고, LPS의 농도는 약 $7.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $4\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고 LPS의 농도는 약 $10\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고 LPS의 농도는 약 $12.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $6\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고 LPS의 농도는 약 $15\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $7\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고, LPS의 농도는 약 $17.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $8\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고, LPS의 농도는 약 $20\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $9\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고, LPS의 농도는 약 $22.5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 이 사포닌 대 LPS 비를 갖는 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌의 농도는 약 $10\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고, LPS의 농도는 약 $25\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다.

[0107] B. 스테롤

스테롤과 이의 퀸칭된 형태로 제시되는 사포닌은 인간 대상체에서 T 세포 반응을 촉진시키는데 효과적이다. 스테롤은 스테로이드 알코올이고 스테로이드에 특유한 4-원 고리 구조 및 3-탄소 위치에 하이드록실(-OH) 또는 에스터(-OR) 치환을 갖는 임의의 분자를 지칭한다. 스테롤은 식물, 동물 및 미생물의 막에 자연적으로 존재하고, 각각 파이토스테롤, 주스테롤(zoosterol) 및 마이코스테롤이라 지칭된다. 스테롤은 다른 고리 탄소 중 하나 이상에 더 치환될 수 있고 또한 고리에 각종 이중 결합을 함유할 수 있다. 스테롤의 비제한적인 예는 콜레스테롤, 콜레스테릴 클로로폼에이트, 스티그마스테롤, 시토스테롤, 에르고스테롤, 라노스테롤, 데스모스테롤, 또는 캄페스테롤을 포함할 수 있다. 스테롤은 일반적으로 사포닌과 회합되어 안정적인 불용성 복합체를 형성한다. 본 명세서에 기재된 조성물의 특정 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함하되, 사포닌은 스테롤에 복합체화된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함하고, 여기서 사포닌은 콜레스테롤에 복합체화된다.

스테롤에 복합체화된 사포닌을 포함하는 리포솜 제형의 소정의 실시형태에 있어서, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:110 내지 1:200이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:110 내지 1:150이다. 몇몇 바람직한 실시형태에 있어서, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:120 내지 1:150이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:125이다. 전형적으로, 스테롤은 사포닌의 용혈 활성도를 저감시키는 작용을 한다. 몇몇 양상에 있어서, 스테롤은 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 짐지어 100%만큼 사포닌의 용혈 활성도를 저감시키는 작용을 한다.

본 개시내용은 또한, 다른 바람직한 실시형태에 있어서, 스테롤에 복합체화된 사포닌 및 LPS를 포함하는 리포솜 제형이 상정되되, 여기서 LPS의 농도는 약 $10\mu\text{g}/\text{용량}$ 또는 약 $5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 소정의 실시형태에 있어서, 사포닌은 스테롤에 복합체화되고, 여기서 사포닌의 농도는 약 $4\mu\text{g}/\text{용량}$ 또는 약 $2\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 스테롤에 복합체화된 사포닌에 복합체화된 사포닌 및 LPS를 포함하되, 여기서 사포닌의 농도는 약 $4\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고, LPS의 농도는 약 $10\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다.

또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 스테롤에 복합체화된 사포닌 및 LPS를 포함하고, 사포닌의 농도는 약 $2\mu\text{g}/\text{용량}$ 이고 LPS의 농도는 약 $5\mu\text{g}/\text{용량}$ 이다.

본 개시내용은 또한, 다른 바람직한 실시형태에 있어서, 스테롤에 복합체화된 사포닌 및 LPS를 포함하는 리포솜 제형을 상정하되, 여기서 사포닌은 키라야 사포나리아 몰리나의 껌질로부터 유래된 면역학적 활성 사포닌 분획이다. 바람직한 실시형태에 있어서, 활성 사포닌 분획은 QS21이다. 본 명세서에 기재된 조성물의 다른 실시형태에 있어서, 사포닌은 합성품이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 콜레스테롤에 복합체화된 QS21 및 LPS를 포함한다. 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 콜레스테롤에 복합체화된 합성QS21(SQS21) 및 LPS를 포함한다.

[0113] C. 인지질

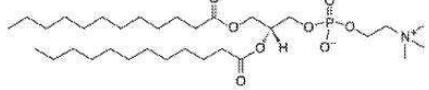
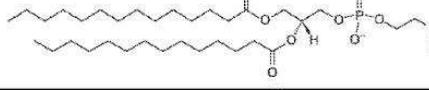
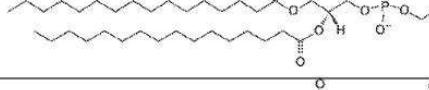
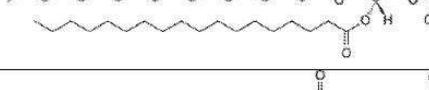
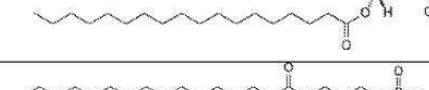
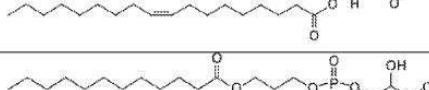
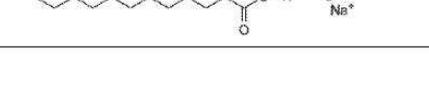
리포솜은 소단위 단백질 백신 조성물 및 애주번트의 전달에 이용되어 왔다. 리포솜은 목적하는 지질 농도, 전하, 크기 및 항원 및 애주번트의 분포 또는 표적화를 달성하도록 리포솜 제형에 맞춤시키는 능력으로 인해 매력적인 전달 비히클이다. 음이온, 양이온 및 중성 리포솜을 포함하는 다수의 리포솜-기반 시스템이 평가되었다. 리포솜 제형의 지질 성분이 안정적인 리포솜 구조를 형성하도록 임의의 지질(인지질을 포함) 중 적어도 하나를 포함할 수 있는 것이 상정된다.

본 명세서에서 제공된 조성물의 소정의 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 적어도 하나의 인지질을 포함한다.

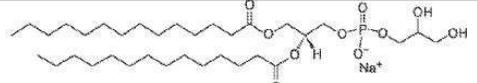
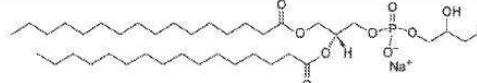
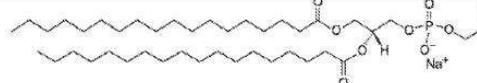
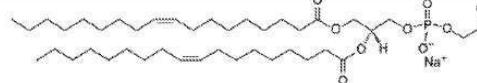
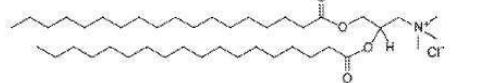
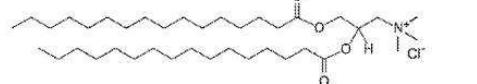
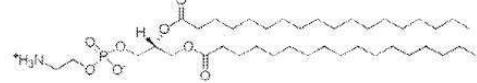
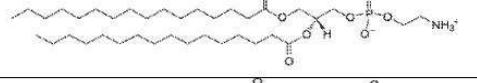
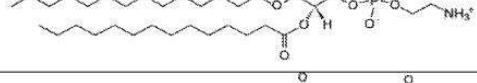
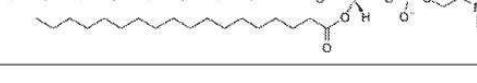
몇몇 실시형태에 있어서, 인지질은 음이온성이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 인지질은 양이온성이다. 다른 실시 형태에 있어서, 인지질은 중성 전하를 갖는다.

[0116] 표 1은 본 개시내용에서 사용하기 위한 예시적인 지질의 비제한적인 일람을 제공한다.

표 1: 예시적인 지질

D LPC 염	
DMPC 염	
DPPC 염	
DSPC 염	
DOPC 염	
POPC 염	
DLPG 염	

[0117]

DMPG 염	
DPPG 염	
DSPG 염	
DOPG 염	
DSTAP 염	
DPTAP 염	
DSPE 염	
DPPE 염	
DMPE 염	
DSPC 염	

[0118]

본 명세서에 기재된 리포솜 제형의 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, 지질 성분은 DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, POPC, DLPG, DMPG, DPPG, DSPG, DOPG, DSTAP, DPTAP, DSPE, DPPE, DMPE, DLPE, DLPS 1,2-다이라우일-*sn*-글리세로-3-포스포-L-세린, DMPS 1,2-미리스토일-*sn*-글리세로-3-포스포-L-세린, DPPS: 1,2-다이팔미토일-*sn*-글리세로-3-포스포-L-세린, DSPS 1,2-다이스테아로일-*sn*-글리세로-3-포스포-L-세린, DOPS 1,2-다이올레일-*sn*-글리세로-3-포스포-L-세린, POPS 1-팔미토일-2-올레일-*sn*-글리세로-3-포스포-L-세린, DLPI 1,2-다이라우일-*sn*-글리세로-3-포스포-(1'-마이오-이노시톨), DMPI 1,2-미리스토일-*sn*-글리세로-3-포스포-(1'-마이오-이노시톨), DPPI 1,2-다이팔미토일-*sn*-글리세로-3-포스포-(1'-마이오-이노시톨), DSPI 1,2-다이스테아로일-*sn*-글리세로-3-포스포이노시톨, DOPI 1,2-다이올레일-*sn*-글리세로-3-포스포-(1'-마이오-이노시톨), 및 POPI 1-팔미토일-2-올레일-*sn*-글리세로-3-포스포이노시톨로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 인지질을 포함한다. 숙련된 의사들은 인지질이 염 형태(예컨대, 암모늄염 또는 나트륨염)일 수 있음을 이해할 것이다.

[0120]

D. 리포솜 특성

[0121]

크기

[0122]

본 개시내용은 리포솜 제형을 제공한다. 본 명세서에 제공된 리포솜의 크기는, x-선 및 레이저 회절, 동적 광산란(dynamic light scattering: DLS), CryoEM 또는 말번 제타사이저(Malvern Zetasizer)를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아닌, 당업계에 공지된 수법에 의해 평가될 수 있다. 몇몇 실시형태에 있어서, 리포솜의 크기는 Z-평균 직경을 지칭한다.

[0123]

본 명세서에 제공된 리포솜은 1 마이크로미터 이하의 평균 직경(즉, 수평균 직경)을 갖는다. 리포솜 입자의 평균 입자 크기(즉, 수평균 직경)은 약 900nm 이하, 약 800nm 이하, 약 700nm 이하, 약 600nm 이하, 약 500nm 이하, 약 400nm 이하, 300nm 이하, 또는 200nm 이하, 예를 들어, 약 50nm 내지 약 900nm, 약 50nm 내지 약 800nm, 약 50nm 내지 약 700nm, 약 50nm 내지 약 600nm, 약 50nm 내지 약 500nm, 약 50nm 내지 약 400nm, 약 50nm 내지 약 300nm, 약 50nm 내지 약 200nm, 약 50nm 내지 약 175nm, 약 50nm 내지 약 150nm, 약 50nm 내지

약 125nm, 약 50nm 내지 약 100nm인 것이 특히 바람직하다.

[0124] 본 명세서에 기재된 리포솜의 크기는 전형적으로 약 80nm이고, 약 85nm이고, 약 90nm이고, 약 95nm이고, 약 100nm이고, 약 105nm이고, 약 110nm이고, 약 115nm이고, 약 120nm이고, 약 125nm이고, 약 130nm이고, 약 135nm이고, 약 140nm이고, 약 145nm이고, 약 150nm이고, 약 155nm이고, 약 160nm이고, 약 165nm이고, 약 170nm이고, 약 175nm이고, 약 180nm이고, 약 185nm이고, 약 190nm이고, 약 195nm이고, 또는 약 200nm이다. 숙련된 의사는 리포솜이 입자로 구성되는 것을 이해할 것이다. 평균 입자 크기는 리포솜을 구성하는 입자의 평균 직경을 지칭한다.

[0125] 본 개시내용의 예시적인 리포솜 제형은 적어도 0.45 미크론 필터를 통해 여과 가능하다. 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 0.20 또는 0.22 미크론 필터를 통해 여과 가능하다.

[0126] 용적(volume)

[0127] 본 개시내용의 소정의 실시형태는 사포닌 및 LPS를 포함하는 리포솜 제형을 상정하되, 여기서 제형은 인간 투여에 사용하기에 적합한 용적이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 제형의 용적은 약 0.5ml 내지 약 1.5ml이다. 특정 실시형태에 있어서, 제형의 용적은 약 0.5ml, 약 0.6ml, 약 0.7ml, 약 0.8ml, 약 0.9ml, 약 1.0ml, 약 1.1ml, 약 1.2ml, 약 1.3ml, 약 1.4ml, 또는 약 1.5ml이다. 소정의 실시형태에 있어서, 제형의 용적은 약 0.5ml 내지 약 0.75ml, 약 0.75ml 내지 약 1.0ml, 약 1.0ml 내지 약 1.25ml, 또는 약 1.25ml 내지 약 1.5ml이다.

[0128] 안정성

[0129] 본 명세서에서 제공된 리포솜 제형은 안정적이고, 사용의 용이성, 제조성, 수송성 및 저장성을 가능하게 한다. 리포솜 크기를 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아닌 리포솜 제형의 물리화학적 특징은, 시간 경과에 따라서, 각종 온도에서 그리고 각종 조건하에서 유지된다.

[0130] 시간의 함수에 대한 입자 크기의 발달은 콜로이드 안정성 정보를 제공한다. 예시적인 안정적인 리포솜 제형은, 리포솜이 소정 시간(예컨대, 30일 또는 7일의 시간 기간)에 걸쳐서, 전형적으로 37, 25 또는 5°C로 제한되지 않는 상이한 온도에서 실질적으로 동일한 z-평균 직경 크기를 유지하는 것이다. 실질적으로 동일한 z-평균 직경 크기를 보유함으로써, 리포솜이 30일의 시간 기간에 걸쳐서 그의 원래의 크기의 20%, 15%, 10%, 5% 이내에 유지하는 것을 의미하는 것이다. 특히 안정적인 리포솜 제형은 입자가 25°C 또는 심지어 37°C에서 30일의 기간에 걸쳐서 실질적으로 동일한 z-평균 직경 크기를 보유하는 것이다.

[0131] 리포솜 제형의 안정성은 당업자에게 친숙한 기술에 의해 측정될 수 있다. 몇몇 실시형태에 있어서, 안정성은 시각적으로 관찰된다. 시각 검사는 미립자, 응결물(flocculence) 또는 응집물.aggregate에 대한 검사를 포함할 수 있다. 전형적으로, 콜로이드성 안정성은, 예컨대, z-평균 직경을 측정함으로써 그리고 선택적으로 시간 경과에 따른 크기의 변화로, 또는 각종 온도에서 또는 소정의 조건 하에 표현되는 리보솜의 입자 크기에 의해 결정된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 안정성은 입자 크기의 증가를 평가함으로써 결정된다. 몇몇 실시형태에 있어서, 안정성은, 다분산 지수(PDI)의 측정에 의해, 예를 들어, 동적 광산란(DLS) 기술을 사용해서 결정된다. 다른 실시형태에 있어서, 안정성은 DLS 기술을 사용해서 제타 전위의 측정에 의해 결정된다.

[0132] 몇몇 실시형태에 있어서, 리포솜의 Z-평균 직경은 검정된 시간 기간에 걸쳐서 50% 미만, 40% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만, 12% 미만), 10% 미만, 7% 미만, 5% 미만, 3% 미만, 1% 미만 증가한다.

[0133] 몇몇 실시형태에 있어서 리포솜의 다분산 지수는 약 0.5에서, 약 0.4에서, 약 0.3에서, 약 0.2에서, 약 0.1에서 또는 약 0.1 내지 약 0.5에서, 약 0.1 내지 약 0.4에서, 약 0.1 내지 약 0.3에서 또는 약 0.1 내지 약 0.2에서 유지된다.

[0134] III. 예시적인 제형

[0135] 일 양상에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 선택적으로, LPS를 함유한다. 또 다른 양상에 있어서, 리포솜 제형은 스테롤에 복합화된 사포닌 및 선택적으로, LPS를 함유한다. 또 다른 양상에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 LPS를 함유하되, 여기서 사포닌은 스테롤에 복합화된다.

[0136] 소정의 실시형태에 있어서, 사포닌은 약 1 μ g/용량 내지 약 8 μ g/용량의 농도이고, LPS는 약 3 μ g/용량 내지 약 20 μ g/용량의 농도이다.

[0137] 하나의 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 선택적으로, LPS를 포함하되, 여기서 사포닌은 약 1:110 내지 1:200의 비로 스테롤에 복합화된다. 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌

및 선택적으로, LPS를 포함하되, 여기서 사포닌은 약 1:125의 비로 스테롤에 복합화된다.

[0138] 특정 실시형태에 있어서, 사포닌은 스테롤에 복합화되고, 사포닌은 약 4 μ g/용량의 농도이다. 특정 실시형태에 있어서, 사포닌은 스테롤에 복합화되고, 사포닌은 약 2 μ g/용량의 농도이다.

[0139] 특정 실시형태에 있어서, 사포닌은 스테롤에 복합화되고, LPS는 약 10 μ g/용량의 농도이다. 특정 실시형태에 있어서 사포닌은 스테롤에 복합화되고, LPS는 약 5 μ g/용량의 농도로 존재한다.

[0140] 예시적인 실시형태에 있어서, 사포닌은 스테롤에 복합화되고, 사포닌은 4 μ g/용량의 농도이고, LPS가 존재하고 약 1 μ g/용량의 농도이다. 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 사포닌은 스테롤에 복합화되고, 사포닌은 2 μ g/용량의 농도이고, LPS가 존재하고 약 5 μ g/용량의 농도이다.

[0141] 본 명세서에 기재된 리포솜 제형의 바람직한 실시형태에 있어서, 사포닌은 키라야 사포나리아 몰리나의 껌질로부터 유래된 면역학적 활성 사포닌 분획이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 사포닌 분획은 QS21이다.

[0142] 특정 실시형태에 있어서, 사포닌은 합성품이다. 소정의 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 스테롤에 복합체화된 합성 QS21(QS21) 및, 선택적으로, LPS를 포함한다.

[0143] 본 명세서에 제공된 제형의 예시적인 실시형태에 있어서, 사포닌은 콜레스테롤에 복합체화된다.

[0144] 본 명세서에 제공된 제형의 예시적인 실시형태에 있어서, 제형은 DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, POPC, DLPG, DMPG, DPPG, DSPG, DOPG, DSTAP, DPTAP, DSPE, DPPE, DMPE 및 DLPE로 이루어진 군으로부터 선택된 인지질을 더 포함한다.

[0145] 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶이 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴가 C₁₃ 알킬인 화학식 (II)에 따른 구조, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다. 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 LPS를 포함하고, 여기서 LPS는, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶이 C₁₀ 알킬이고; R² 및 R⁴가 C₈ 알킬인, 화학식 (II)에 따른 구조를 갖는 GLA 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0146] 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는 MPL이다.

[0147] 특정 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 인간 투여에 사용하기에 적합한 용적이다. 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형의 용적은 약 0.5mL 내지 약 1.5mL이다.

[0148] 특정 예시적인 실시형태에 있어서, 인간 대상체에 투여하기 위한 리포솜 제형은 사포닌 및 LPS를 포함하며, 여기서 사포닌은 약 1 μ g/용량 내지 약 10 μ g/용량의 농도이고, LPS는 약 3 μ g/용량 내지 약 25 μ g/용량의 농도이고, 사포닌은 스테롤에 복합체화되고, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:110 내지 약 1:200이다. 소정의 실시형태에 있어서, 사포닌은 약 1 μ g/용량 내지 약 8 μ g/용량의 농도이고 LPS는 약 3 μ g/용량 내지 약 20 μ g/용량의 농도이다.

[0149] 예시적인 실시형태에 있어서, 인간 대상체에게 투여하기 위한 리포솜 제형은 사포닌 및 LPS를 포함한다, 여기서 사포닌은 약 1 μ g/용량 내지 약 10 μ g/용량의 농도이고, LPS는 약 3 μ g/용량 내지 약 25 μ g/용량의 농도이고, 사포닌은 스테롤에 복합체화되고, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:125이다. 소정의 실시형태에 있어서, 사포닌 대 LPS 비는 1:2.5이다.

[0150] 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 LPS를 포함하되, 여기서 사포닌은 스테롤에 복합체화되고, 사포닌은 4 μ g/용량의 농도이고, LPS는 약 10 μ g/용량의 농도이고, 사포닌은 스테롤에 복합체화되고, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:125이다.

[0151] 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 LPS를 포함하되, 여기서 사포닌은 스테롤에 복합체화되고, 사포닌은 2 μ g/용량의 농도이고, LPS는 약 5 μ g/용량의 농도이고, 사포닌은 스테롤에 복합체화되고 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:125이다.

[0152] 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, 인간 대상체에 투여하기 위한 리포솜 제형은 QS21 및 LPS를 함유하고, 여기서 QS21은 약 1 μ g/용량 내지 약 10 μ g/용량의 농도이고, LPS는 약 3 μ g/용량 내지 약 25 μ g/용량이고, QS21은 스테롤에 복합체화되고, 사포닌 대 스테롤의 비는 약 1:110 내지 약 1:200이다.

[0153] 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 약 1:110 내지 약 1:200의 비로 콜레스테롤에 복합체화된 QS21 및 LPS를 함유한다. 특정 실시형태에 있어서, 약 1:110 내지 약 1:200의 비로 콜레스테롤에 복합체화된 QS21 및 LPS를 포함하는 리포솜 제형은 DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, POPC, DLPG, DMPG, DSPG, DOPG,

DSTAP, DPTAP, DSPE, DPPE, DMPE 및 DLPE로 이루어진 군으로부터 선택된 인지질을 더 포함한다.

[0154] 소정의 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 약 1:110 내지 약 1:200의 비의 콜레스테롤에 복합체화된 QS21 및 화학식 (II)에 따른 GLA(식 중, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₁ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₁₃ 알킬임), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염을 포함한다.

[0155] 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 약 1:110 내지 약 1:200의 비로 콜레스테롤에 복합체화된 QS21 및 화학식 (II)에 따른 GLA(식 중, R¹, R³, R⁵ 및 R⁶은 C₁₀ 알킬이고; R² 및 R⁴는 C₈ 알킬임), 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염이다.

[0156] 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 약 1:110 내지 약 1:200의 비로 콜레스테롤에 복합체화된 QS21 및 MPL을 포함한다.

[0157] 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 사포닌 및 선택적으로, 리포다당류를 포함하되, 여기서 사포닌은 스테롤에 복합체화되고 사포닌 대 스테롤의 중량비는 약 1:110 내지 약 1:200, 1:110 내지 약 1:150, 1:120 내지 약 1:150, 또는 약 1:125이다. 리포솜 제형은, 예컨대, 인지질을 포함할 수 있고, 인지질 대 스테롤의 중량비는, 예를 들어, 1:1 내지 약 10:1일 수 있다. 몇몇 양상에 있어서, 리포솜 제형은 인지질을 포함하고, 인지질 대 스테롤의 중량비는 약 4:1이다. 사포닌은, 예를 들어, 약 0.5 μ g/용량 내지 약 10 μ g/용량의 농도; 약 1 μ g/용량 내지 약 10 μ g/용량의 농도; 약 1 μ g/용량 내지 약 8 μ g/용량의 농도일 수 있다. 리포다당류는 선택적으로 전재하며, 존재할 경우, 이것은 예를 들어 1.25 μ g/용량 내지 약 25 μ g/용량의 농도, 또는 약 3 μ g/용량 내지 약 25 μ g/용량의 농도일 수 있지만, 상이한 투약 수준이 상정된다. 사포닌은, 예를 들어, 약 1 μ g/용량 내지 약 8 μ g/용량의 농도일 수 있고, 리포다당류는 약 3 μ g/용량 내지 약 20 μ g/용량의 농도일 수 있다. 리포다당류 대 사포닌의 비는, 예를 들어 약 2.5 대 1일 수 있다. 사포닌은, 예를 들어, 약 4 μ g/용량의 농도일 수 있고, 리포다당류는, 예를 들어, 약 10 μ g/용량의 농도일 수 있다. 사포닌은, 예를 들어, 약 2 μ g/용량의 농도일 수 있고, 리포다당류는, 예를 들어, 약 5 μ g/용량일 수 있다. 제형은, 예를 들어, 약 8 μ g/ml의 농도의 사포닌, 약 20 μ g/ml의 농도의 리포다당류, 약 4 mg/ml의 농도의 인지질, 및 약 1 mg/ml의 농도의 스테롤을 포함할 수 있다. 제형은 희석된 형태(예컨대, 2 내지 10배 희석 또는 그 이상) 또는 농축된 형태(예컨대, 2 내지 10배의 농도 또는 그 이상)일 수 있다. 이들 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 사포닌은 키라야 사포나리아 몰리나의 껌질로부터 유래된 면역학적 활성 사포닌 분획일 수 있다. 사포닌은, 예를 들어, QS21일 수 있다. 이들 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 스테롤은 콜레스테롤일 수 있지만, 기타 스테롤이 상정된다. 이들 실시형태 중 어느 하나에 있어서, 리포솜은 인지질로 구성될 수 있다. 예를 들어, DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, POPC, DLPG, DMPG, DPPG, DSPG, DOPG, DSTAP, DPTAP, DSPE, DPPE, DLPE, DLPS, DMPS, DPPS, DSPE, DOPS, POPS, DLPI, DMPI, DPPI, DSPI, DOPI 또는 POP1을 포함하는 임의의 적합한 인지질이 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 리포다당류의 어느 하나가 사용될 수 있을 뿐만 아니라 당업계에 공지된 것들도 사용될 수 있다. 투여 직전에, 제형은 인간 투여에 사용하기에 적합한 용적일 것이다. 예시적인 용적은 0.5ml 내지 약 1.5ml를 포함한다. 항원은 제형과 혼합될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항원의 어느 하나가 사용될 수 있을 뿐만 아니라 당업계에 공지된 기타 적합한 것도 사용될 수 있다. 제형은 대상체에 면역 반응을 유도 또는 증대시키는데 사용될 수 있다. 대상체는, 예를 들어, 암, 감염성 질환 또는 자가면역 질환을 포함하는 다수의 질환을 앓고 있을 수 있다. 대상체는 인간일 수 있다. 용량, 즉, 투여량마다 각종 양의 사포닌 및 LPS가 전달될 수 있다(예컨대, 2 μ g의 사포닌과 5 μ g의 LPS(예컨대, GLA); 4 μ g의 사포닌과 10 μ g의 LPS(예컨대, GLA)).

[0158] 또한 사포닌을 사전-형성된 스테롤-함유 리포솜과 혼합하는 단계를 포함하는, 본 명세서에 기재된 사포닌-함유 리포솜 제형 중 어느 하나를 제조하는 방법이 제공된다. 사포닌은, 예를 들어, QS21일 수 있고, 몇몇 양상에 있어서, 조질의 사포닌 혼합물 Quil A는 사포닌을 얻기 위하여 정제된다. 몇몇 양상에 있어서, 사포닌은 리포솜과 혼합하기 전에 완충액에 용해된다. 사전-형성된 스테롤-함유 리포솜은 인지질과 스테롤을 혼합하고 얻어지는 리포솜의 입자 크기를 고압 균질화 처리를 통해서 저감시킴으로써 제조될 수 있다.

IV. 약제학적 조성물 및 백신 조성물

[0159] 소정의 양상에 있어서, 본 명세서에 기재된 리포솜 제형은 약제학적 조성물 또는 백신 조성물에 혼입된다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 폴리펩타이드, 항원, 폴리뉴클레오타이드, 부분, 변이체, 융합 폴리펩타이드 등은, 또한 약제학적 조성물 또는 백신 조성물에 혼입될 수 있다. 약제학적 조성물은 일반적으로 약리학적으로 허용 가능한 담체와 함께 리포솜 제형을 포함한다. 또한 면역원성 조성물이라고도 지칭되는 백신 조성물은, 일반적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 항원 및 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 부분, 변이체, 융합 단백질 등

중 하나 이상을 포함한다.

[0161] 바람직한 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 본 명세서에 제공된 리포솜 제형 및 선택적으로, 항원을 함유한다. 리포솜 제형 및 약제학적 조성물은 선택적으로 항원과 혼합된다. 이러한 실시형태에 있어서, 리포솜 제형 및 약제학적 조성물은 이들이 항원과 혼합하기에 적합하도록 제형화된다. 몇몇 바람직한 실시형태에 있어서, 백신 조성물은 본 명세서에 제공된 리포솜 제형 및 항원을 함유한다.

A. 항원

[0163] 항원은 임의의 표적 에피토프, 분자(생체분자 포함), 분자 복합체(생체분자를 함유하는 분자 복합체 포함), 세포이하 어셈블리, 대상체의 면역반응성의 유도 또는 중대가 바람직한 세포 또는 조직일 수 있다. 흔히, 용어 항원은 관심대상 폴리펩타이드 항원을 지칭할 것이다. 그러나, 항원은, 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, 또한 폴리펩타이드 항원을 암호화하는 핵산 분자(예컨대, DNA 또는 RNA)를 지칭할 수 있다. 항원은 또한 관심대상 폴리펩타이드 항원을 암호화하는 재조합 작제물(예컨대, 발현 작제물)일 수 있다. 적합한 항원은 박테리아 항원, 바이러스 항원, 진균 항원, 원생동물 항원, 식물 항원, 암 항원, 또는 이들에 대한 조합을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 본 명세서에 기재된 항원은, 예를 들어, 감염성 질환, 암, 자가면역 질환, 알러지, 천식, 또는 항원-특이적 면역 반응의 자극이 요망되거나 또는 유리하게 되는 임의의 기타 병태와 연루될 수 있거나 또는 이로부터 유래될 수 있다.

[0164] 소정의 실시형태에 있어서, 항원은 감염성 질환과 연관된 적어도 하나의 감염성 병원체로부터 유래될 수 있거나 또는 이와 면역학적으로 교차-반응성이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항원은 암과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직으로부터 유래될 수 있거나 또는 이와 면역학적으로 교차-반응성이다. 소정의 실시형태에 있어서, 항원은 자가면역 질환과 연관된 적어도 하나의 에피토프, 생체분자, 세포 또는 조직으로부터 유래될 수 있거나 또는 이와 면역학적으로 교차-반응성이다.

[0165] 본 발명의 리포솜 제형 및 약제학적 조성물은 조성물이 항원을 함유하지 않는 경우에 인간에서 면역 반응을 유도할 수 있는 것이 이해될 것이다. 소정의 다른 실시형태에 있어서, 본 개시내용의 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 인간 또는 기타 포유류 숙주에서 면역 반응을 유도할 수 있는 항원 또는 항원 조성물을 함유한다. 해당 항원 또는 항원 조성물은 본 발명의 제형 및 조성물과 조합될 경우 또는 그 자체에 대한 면역 반응을 유도할 수 있다. 몇몇 양상에 있어서, 본 발명의 제형은 인간 또는 기타 포유동물에서 면역 반응을 유도하는 항원 또는 항원 조성물의 능력을 증대시킨다.

[0166] 항원 또는 항원 조성물은 하나 이상의 박테리아 병원체, 예컨대, 네이세리아 종, 예를 들어, 엔. 고노레아(*N. gonorrhoea*) 및 엔. 메닌기티디스(*N. meningitidis*)(예를 들어, 피막 다당류 및 이의 접합체, 트랜스페린-결합 단백질, 락토페린 결합 단백질, PilC, 부착소); 에스. 피요게네스(*S. pyogenes*)(예를 들어, M 단백질 또는 이의 단편, C5A 프로테아제, 리포테이코산), 에스. 아갈락ти아(*S. agalactiae*), 에스. 뮤탄스(*S. mutans*): 에이치. 두크레이(*H. ducreyi*); 모락셀라 종, 예를 들어, 브란하렐라 카타랄리스(*Branhamella catarrhalis*)로도 공지된 엠. 카타랄리스(*M. catarrhalis*)(예를 들어, 고분자량 및 저분자량 부착소 및 인바신); 보르데텔라 종, 예를 들어, 비. 페르투시스(*B. pertussis*)(예를 들어, 페르탁틴, 페르투시스 독소 또는 이의 유도체, 섬모성 적혈구응집원, 아데닐레이트 시클라제, 펌브리아(*fimbriae*)), 비. 파라페르투시스(*B. parapertussis*) 및 비. 브론키셉티카(*B. bronchiseptica*); 마이코박테륨 종, 예를 들어, 엠. 투베르콜로시스(*M. tuberculosis*)(예를 들어, ESAT6, 항원 85A, -B 또는 -C), 엠. 보비스(*M. bovis*), 엠. 레프라에(*M. leprae*), 엠. 아비움(*M. avium*), 엠. 파라투베르콜로시스(*M. paratuberculosis*), 엠. 스메그마티스(*M. smegmatis*); 레지오넬라 종, 예를 들어, 엘. 뉴모필라(*L. pneumophila*); 에스체리치아 종(*Escherichia spp.*), 예를 들어, 장독소 이. 콜라이(예를 들어, 콜로니화 인자, 열-불안정 독소 또는 이의 유도체, 열 안정 독소 또는 이의 유도체), 장출혈 이. 콜라이, 장병원성 이. 콜라이(예를 들어, 쉬가 독소-유사 독소 또는 이의 유도체); 비브리오 종, 예를 들어, 브이. 콜레라(예를 들어, 콜레라 독소 또는 이의 유도체); 쉬겔라 종(*Shigella spp.*), 예를 들어, 에스. 손네이(*S. sonnei*), 에스. 디센테리아에(*S. dysenteriae*), 에스. 플렉스네리(*S. flexneri*); 예르시니아 종(*Yersinia spp.*), 예를 들어, 와이. 엔테로콜리티카(*Y. enterocolitica*)(예를 들어, Yop 단백질), 와이. 페스티스(*Y. pestis*), 와이. 슈도투베르콜로시스(*Y. pseudotuberculosis*); 캄필로박터 종(*Campylobacter spp.*), 예를 들어, 씨. 제주니(*C. jejuni*)(예를 들어, 독소, 부착소 및 인바신) 및 씨. 콜라이(*C. coli*); 살모넬라 종(*Salmonella spp.*), 예를 들어, 에스. 티피(*S. typhi*), 에스. 파라티피(*S. paratyphi*), 에스. 콜레라에수이스(*S. choleraesuis*), 에스. 엔테리티디스(*S. enteritidis*); 리스테리아 종(*Listeria spp.*), 예를 들어, 엘. 모노사이토게네스(*L. monocytogenes*); 헬리코박터 종(*Helicobacter spp.*), 예를 들어, 에이치. 파일로리(*H. pylori*)(예를 들어, 우

레아제, 카탈라제, 공포형성 독소); 슈도모나스 종(*Pseudomonas spp.*), 예를 들어, 피. 아에루기노사(*P. aeruginosa*); 스타필로코커스 종(*Staphylococcus spp.*), 예를 들어, 에스. 아우레우스(*S. aureus*), 에스. 애피데르미디스(*S. epidermidis*); 엔테로코커스 종(*Enterococcus spp.*), 예를 들어, 이. 파에칼리스(*E. faecalis*), 이. 파에슘(*E. faecium*); 클로스트리듐 종(*Clostridium spp.*), 예를 들어, 씨. 테타니(*C. tetani*)(예를 들어, 파상풍 독소 및 이의 유도체), 씨. 보툴리눔(*C. botulinum*)(예를 들어, 보툴리눔 독소 및 이의 유도체), 씨. 디피실(*C. difficile*)(예를 들어, 클로스트리듐 독소 A 또는 B 및 이의 유도체); 바실러스 종(*Bacillus spp.*), 예를 들어, 비. 안트라시스(*B. anthracis*)(예를 들어, 보툴리눔 독소 및 이의 유도체); 코리네박테륨 종(*Corynebacterium spp.*), 예를 들어, 씨. 디프테리아에(*C. diphtheriae*)(예를 들어, 디프테리아 독소 및 이의 유도체); 보렐리아 종(*Borrelia spp.*), 예를 들어, 비. 부르그도르페리(*B. burgdorferi*)(예를 들어, OspA, OspC, DbpA, DbpB), 비. 가리니(*B. garinii*)(예를 들어, OspA, OspC, DbpA, DbpB), 비. 아프젤리(*B. afzelii*)(예를 들어, OspA, OspC, DbpA, DbpB), 비. 헤름시(*B. hermsii*); 애를리키아 종(*Ehrlichia spp.*), 예를 들어, 이. 애퀴(*E. equi*) 및 인간 과립구 애를리히증(Human Granulocytic Ehrlichiosis)의 물질; 리케차 종(*Rickettsia spp.*), 예를 들어, 알. 리케치(*R. rickettsii*); 클라미디아 종(*Chlamydia spp.*), 예를 들어, 씨. 트라초마티스(*C. trachomatis*)(예를 들어, MOMP, 혜파린 결합 단백질), 씨. 뉴모니아에(예를 들어, MOMP, 혜파린 결합 단백질), 씨. 프시타시(*C. psittaci*); 웹토스파라 종(*Leptospira spp.*), 예를 들어, 엘. 인테로간스(*L. interrogans*); 트레포네마 종(*Treponema spp.*), 예를 들어, 티. 팔리듐(*T. pallidum*)(예를 들어, 회귀 외막 단백질), 티. 덴티콜라(*T. denticola*), 티. 하이오디센테리에(*T. hyodysenteriae*); 또는 기타 박테리아 병원체로부터 유래된다.

[0167]

소정의 다른 실시형태에 있어서, 본 개시내용의 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 인간 또는 기타 포유류 숙주에서 면역 반응을 유도할 수 있는 항원 또는 항원 조성물을 함유하되, 해당 항원 또는 항원 조성물은 1종 이상의 감염성 바이러스, 예컨대, HIV-1(예컨대, tat, nef, gp120 또는 gp160), 인간 헤르페스 바이러스, 예컨대, gD 또는 이의 유도체 또는 즉각적 초기 단백질, 예컨대, HSV1 또는 HSV2 유래의 ICP27, 사이토메갈로바이러스(특히, 인간, 예컨대, gB 또는 이의 유도체), 로타바이러스(생-약독화 바이러스 포함), 엡스타인 바 바이러스(Epstein Barr Virus)(예컨대, gp350 또는 이의 유도체), 바리셀라 조스터 바이러스(Varicella Zoster Virus)(예컨대, gpI, II 및 IE63), 또는 간염 바이러스, 예컨대, B형 간염 바이러스(예를 들어 B형 간염 표면 항원 또는 이의 유도체), 간염 A 바이러스, 간염 C 바이러스 및 간염 E 바이러스, 또는 기타 바이러스 병원체, 예컨대, 파라믹소바이러스: 호흡기 세포융합 바이러스(예컨대, F 및 G 단백질 또는 이의 유도체), 파라인플루엔자 바이러스, 홍역 바이러스, 볼거리 바이러스, 인간 유두종 바이러스(예를 들어 HPV6, 11, 16, 18 등), 플라비바이러스(예컨대, 황열 바이러스, 뎅기열 바이러스, 진드기 매개 뇌염 바이러스, 일본 뇌염 바이러스) 또는 인플루엔자 바이러스(예그 또는 MDCK 세포에서 성장한 완전 생 또는 불활성화된 바이러스, 스플릿 인플루엔자 바이러스, 또는 완전 플루 비로솜(whole flu virosome)(문현[Gluck, Vaccine, 1992, 10, 915-920]에 기재된 바와 같음) 또는 이들의 정제 또는 재조합 단백질, 예컨대, HA, NP, NA 또는 M 단백질, 또는 이들의 조합)로부터 유래된 조성물을 포함할 수 있다.

[0168]

소정의 다른 실시형태에 있어서, 본 개시내용의 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 인간 또는 기타 포유류 숙주에서 면역 반응을 유도할 수 있는 항원 또는 항원 조성물을 함유하되, 해당 항원 또는 항원 조성물은 1종 이상의 기생충(예컨대, 문현[John, D.T. and Petri, W.A., *Markell and Voge's Medical Parasitology-9th Ed.*, 2006, WB Saunders, Philadelphia; Bowman, D.D., *Georgis' Parasitology for Veterinarians-8th Ed.*, 2002, WB Saunders, Philadelphia] 참조), 예컨대, 플라스모듐 종(*Plasmodium spp.*), 예를 들어, 피. 팔시파룸(*P. falciparum*); 톡소플라스마 종(*Toxoplasma spp.*), 예를 들어, 티. 곤디(*T. gondii*)(예를 들어, SAG2, SAG3, Tg34); 엔타모에바 종, 예를 들어, 이. 히스톨리티카(*E. histolytica*); 바베시아 종(*Babesia spp.*), 예를 들어, 비. 마이크로티(*B. microti*); 트리파노소마 종(*Trypanosoma spp.*), 예를 들어, 티. 크루지(*T. cruzi*); 기아르디아 종(*Giardia spp.*), 예를 들어, 지. 람블리아(*G. lamblia*); 리슈마니아 종(*Leishmania spp.*), 예를 들어, 엘. 메이저(*L. major*); 뉴모사이스티스 종(*Pneumocystis spp.*), 예를 들어, 피. 카리니(*P. carinii*); 트리초모나스 종, 예를 들어, 티. 바기날리스(*T. vaginalis*); 또는 포유류를 감염시킬 수 있는 연충, 예컨대, (i) 선충 감염(엔테로비우스 베르미큘라리스(*Enterobius vermicularis*), 아스카리스 룸브리코이데스(*Ascaris lumbricoides*), 트리추리스 트리추리아(*Trichuris trichuria*), 네카터 아메리카누스(*Necator americanus*), 암사일로스토마 듀오데날레(*Ancylostoma duodenale*), 우체레리아 반크로프티(*Wuchereria bancrofti*), 브루기아 말라위(*Brugia malayi*), 온쵸세르카 볼불루스(*Onchocerca volvulus*), 드라칸쿨루스 메디넨시스(*Dracunculus medinensis*), 트리치넬라 스파랄리스(*Trichinella spiralis*) 및 스트론길로이데스 스테르코랄리스(*Strongyloides stercoralis*)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음); (ii) 흡충 감염(스키스토소마 만소니

(*Schistosoma mansoni*), 스키스토소마 헤마토비움(*Schistosoma haematobium*), 스키스토소마 야포니쿰(*Schistosoma japonicum*), 스키스토소마 메콩기(*Schistosoma mekongi*), 오피스토르치스 시넨시스(*Opisthorchis sinensis*), 파라고니무스 종(*Paragonimus* sp), 패시올라 해파티카(*Fasciola hepatica*), 패시올라 마그나(*Fasciola magna*), 패시올라 기간티카(*Fasciola gigantica*)를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음); 및 (iii) 촌충 감염(타에니아 사기나타(*Taenia saginata*) 및 타에니아 솔리움(*Taenia solium*)을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음)으로부터 유래된다. 소정의 실시형태에서, 항원은 스키스토소마 종, 스키스토소마 만소니, 스키스토소마 헤마토비움 및/또는 스키스토소마 야포니쿰으로부터 유래되거나, 효모, 예컨대, 칸디다 종(*Candida spp.*), 예를 들어, 씨. 알비칸스(*C. albicans*); 크립토코커스 종(*Cryptococcus spp.*), 예를 들어, 씨. 네오포르만스(*C. neoformans*)로부터 유래된 조성물을 포함할 수 있다.

[0169]

소정의 바람직한 실시형태는 적어도 하나의 감염성 병원체, 예컨대, 박테리아, 바이러스 또는 진균, 예를 들어, 악티노박테륨(*Actinobacterium*), 예컨대, 엠. 투베르콜로시스 또는 엠. 레프라에(*M. leprae*) 또는 또 다른 마이코박테륨; 박테리아, 예컨대, 에세리키아(*Escherichia*), 살모넬라(*Salmonella*), 네이세리아(*Neisseria*), 보렐리아(*Borrelia*), 클라미디아(*Chlamydia*), 클로스트리듐(*Clostridium*) 또는 보르데텔라(*Bordetella*) 속의 구성원; 바이러스, 예컨대, 단순 포진 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus: HIV, 예컨대, HIV-1 또는 HIV-2), 인플루엔자 바이러스, 파라인플루엔자 바이러스, 홍역 바이러스, 볼거리 바이러스, 풍진 바이러스, 코로나바이러스(예컨대, SARS 또는 MERS), 로타바이러스, 노로바이러스, 피코르나 바이러스(예컨대, 폴리오바이러스, 엔테로바이러스, 또는 콕사키 바이러스), 가축 병원체, 예를 들어, 고양이 면역결핍 바이러스(feline immunodeficiency virus: FIV), 사이토메갈로바이러스(cytomegalovirus), 바리셀라 조스터 바이러스(*Varicella Zoster Virus*), 간염 바이러스, 앱스타인 바 바이러스(*Epstein Barr Virus: EBV*), 플라비바이러스 바이러스(예컨대, 댕기열 바이러스, 일본뇌염 바이러스, 황열 바이러스, 지카 바이러스, 포바산 바이러스(*Powassan virus*) 또는 진드기-매개 뇌염 바이러스), 헤니파 바이러스(*henipah virus*)(예컨대, 핸드라(*hendra virus*) 또는 니파 바이러스(*nipah virus*)), 분야바이러스(*bunyavirus*)(예컨대, 한타바이러스 또는 리프트 발리 열 바이러스(*Rift valley fever virus*)), 아레나바이러스(예컨대, 라사 바이러스(*lassa virus*), 주닌 바이러스(*junin virus*), 마추포 바이러스(*machupo virus*), 또는 구아나리토 바이러스(*guanarito virus*)), 필로바이러스(*filovirus*)(예컨대, 에볼라 바이러스 또는 마르부르그 바이러스(*Marburg virus*)), 리사바이러스(*lyssavirus*)(예컨대, 광견병 바이러스(*Rabies virus*)), 호흡기 세포융합 바이러스(호흡기 syncytial virus), 인간 유두종 바이러스(human papilloma virus: HPV) 및 사이토메갈로바이러스; 진균, 예컨대, 아스페질러스(*Aspergillus*), 블라스토마이세스(*Blastomyces*), 코시디오이데스(*Coccidioides*) 및 뉴모사이스티(*Pneumocysti*) 또는 효모, 예를 들어, 칸디다 종, 예컨대, 씨. 알비칸스, 씨. 글라브라타(*C. glabrata*), 씨. 크루세이(*C. krusei*), 씨. 루시타니아에(*C. lusitaniae*), 씨. 트로피칼리스(*C. tropicalis*) 및 씨. 파랍실로시스(*C. parapsilosis*); 기생충, 예컨대, 원생동물, 예를 들어, 플라스모듐(*Plasmodium*) 종, 예를 들어, 피. 팔시파룸(*P. falciparum*), 피. 비박스(*P. vivax*)(*P. vivax*), 피. 말라리아에(*P. malariae*) 및 피. 오발레(*P. ovale*); 또는 또 다른 기생충, 예컨대, 아칸타모에바(*Acanthamoeba*), 엔타모에바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*), 안지오스트론길루스(*Angiostrongylus*), 스키스토소마 만소니(*Schistosoma mansoni*), 스키스토소마 하에마토비움(*Schistosoma haematobium*), 스키스토소마 야포니쿰(*Schistosoma japonicum*), 크립토스포리듐(*Cryptosporidium*), 안킬로스토마(*Ancylostoma*), 엔타모에바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*), 엔타모에바 콜리(*Entamoeba coli*), 엔타모에바 디스파르(*Entamoeba dispar*), 엔타모에바 하르트마니(*Entamoeba hartmanni*), 엔타모에바 폴레키(*Entamoeba polecki*), 우체레리아 반크로프티(*Wuchereria bancrofti*), 기아르디아 및 리슈마니아로부터 유래된 항원을 상정한다. 특정 실시형태에 있어서, 항원은 투베르콜로시스, 인플루엔자, 아메바증, HIV, 간염 또는 리슈마니아편모충증에 연루된 항원으로부터 유래될 수 있거나 또는 해당 항원에 관한 것일 수 있다.

[0170]

본 개시내용에 따르면, 소정의 양상에 있어서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 백신 조성물에 포함된 항원은 웨스트 나일 바이러스(West Nile virus)로부터 유래되지 않거나 또는 이와 연관되지 않는다. 몇몇 양상에 있어서, 항원은 TB, HIV 또는 말라리아로부터 유래되거나 또는 이와 연관된다.

[0171]

몇몇 실시형태에 있어서, 항원은 인플루엔자-관련 항원이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 항원은 인플루엔자-초래 항원이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 항원은 인플루엔자 초래 바이러스로부터 유래된다. 일 실시형태에 있어서, 항원은 H5N1로부터의 헤마글루티닌(HA)을 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 항원은 H5N1로부터의 뉴라미니다제를 포함한다.

[0172]

예를 들어, 소정의 실시형태에 있어서, 항원은 보렐리아 종으로부터 유래되고, 항원은 혁산, 병원체 유래 항원 또는 항원성 제제, 재조합으로 제조된 단백질 또는 웹타이드 및 키메라 융합 단백질을 포함할 수 있다. 하나의

이러한 항원은 OspA이다. OspA는 숙주 세포에서 이의 생합성에 의해 지질화된 형태의 완전 성숙 단백질(Lipo-OspA)일 수 있거나, 대안적으로 비지질화된 유도체(non-lipidated derivative)일 수 있다. 이러한 비지질화된 유도체는 인플루엔자 바이러스의 비구조 단백질(NS1)의 처음의 81개 N-말단 아미노산을 갖는 비지질화된 NS1-OspA 융합 단백질 및 완전한 OspA 단백질을 포함하고, 또 다른 MDP-OspA는 3개의 추가의 N-말단 아미노산을 보유하는 OspA의 비지질화된 형태이다.

[0173] 다른 특이적 항원은 엠. 투베르콜로시스, 예를 들어, Th Ra12, Tb H9, Tb Ra35, Tb38-1, Erd 14, DPV, MTI, MSL, mTCC2 및 hTCC1(WO 99/51748)로부터 유래된다. 엠. 투베르콜로시스에 대한 단백질은 또한 융합 단백질 및 엠. 투베르콜로시스의 적어도 2개, 3개 또는 4개 또는 이것 초파의 폴리펩타이드가 더 큰 단백질로 융합된 이의 변이체를 포함한다. 소정의 융합은 Ra12-TbH9-Ra35, Erd14-DPV-MTI, DPV-MTI-MSL, Erd14DPV-MTI-MSL-mTCC2, Erd14-DPV-MTI-MSL, DPV-MTI-MSL-mTCC2, TbH9-DPV-MTI(WO 99151748)를 포함한다. 사용될 수 있는 다른 항원은 US 제2010/0129391호, WO 제2008/124647호 및 미국 특허 제8,486,414호(이들은 참조에 의해 모든 목적을 위하여 본 명세서에 편입됨)에 기재된 항원, 항원의 조합 및 융합 단백질을 포함한다. 하나의 예시적인 실시형태에서, 융합 단백질은 ID93이다. 하나의 예시적인 실시형태에서, 융합 단백질은 ID91이다. 하나의 예시적인 실시형태에 있어서, 융합 단백질은 ID97이다.

[0174] 다른 특이적 항원은 클라미디아로부터 유래되고, 예를 들어, 고분자량 단백질(HWMP)(WO 99/17741), ORF3(EP 366 412) 및 추정상 막 단백질(putative membrane protein: Pmp)을 포함한다. 다른 클라미디아 항원은 WO 99128475에 기재된 군으로부터 선택될 수 있다. 소정의 항원은 스트렙토코커스 종, 예를 들어, 에스. 뉴모니아에(예를 들어, 피막 다당류 및 이의 접합체, PsaA, PspA, 스트렙톨리신, 콜린-결합 단백질) 및 단백질 항원 뉴몰리신(*Biochem Biophys Acta*, 1989, 67, 1007; Rubins et al., *Microbial Pathogenesis*, 25, 337-342), 및 이의 돌연변이체 해독된 유도체(WO 90/06951; WO 99/03884)로부터 유래될 수 있다. 다른 박테리아 백신은 헤모필루스 종, 예를 들어, 에이치. 인플루엔자 B형(예를 들어, PRP 및 이의 접합체), 비피막형 에이치. 인플루엔자, 예를 들어, OMP26, 고분자량 부착소, P5, P6, 단백질 D 및 지단백질 D, 및 펌브린 및 펌브린 유래된 웨პ타이드(미국 특허 제5,843,464호) 또는 다수의 카페 변이체 또는 이의 융합 단백질로부터 유래된 항원을 포함한다.

[0175] 다른 특이적 항원은 B형 간염으로부터 유래된다. B형 간염 표면 항원의 유도체는 당해 분야에 널리 공지되어 있고, 특히, 유럽 특허 출원 EP-A414 374; EP-A-0304 578 및 EP 198474에 기재된 PreS1, Pars2, S 항원을 포함한다.

[0176] 다른 실시형태에 있어서, 항원은 생식기 사마귀의 원인인 것으로 여겨지는 인간 유두종 바이러스(HPV)(HPV 6 또는 HPV 11 및 기타), 및 자궁경부암의 원인인 HPV 바이러스(HPV16, HPV18 및 기타)로부터 유래된다. 특정한 항원은 L1 입자 또는 캡소머, 및 HPV 6 및 HPV 11 단백질 E6, E7, L1 및 L2로부터 선택된 하나 이상의 항원을 포함하는 융합 단백질을 포함한다. 융합 단백질의 소정의 형태는 WO 96/26277에 개시된 L2E7 및 GB 9717953.5(PCT/EP98/05285)에 개시된 단백질D(1/3)-E7을 포함한다. 추가적인 가능한 항원은 HPV 16, 18, 33, 58 항원을 포함한다. 예를 들어, L1 또는 L2 항원 단량체, 또는 L1 또는 L2 항원은 바이러스 유사 입자(VLP)로서 함께 제시되거나, L1 단독 단백질은 VLP 또는 캡소머 구조에서 단독으로 제시된다. 이러한 항원, 바이러스 유사 입자 및 캡소머는 특히 공지되어 있다. 예를 들어, W094/00152, W094/20137, W094/05792 및 W093/02184를 참조한다.

[0177] 다른 실시형태에 있어서, 항원은 융합 단백질이다. 융합 단백질은, 예를 들어, 단독으로 또는 융합 단백질, 예컨대, E7, E2 또는 F5로서 포함될 수 있고, 특정한 실시형태는 L1E7 융합 단백질을 포함하는 VLP를 포함한다(WO 96/11272). 특정한 HPV 16 항원은 HPV 16으로부터 단백질 D-E6 또는 E7 융합을 형성하기 위한 단백질 D 운반체와 융합된 초기 단백질 E6 또는 F7, 또는 이들의 조합; 또는 E6 또는 E7과 L2의 조합(WO 96/26277)을 포함한다. 대안적으로, HPV 16 또는 18 초기 단백질 E6 및 E7은 단일 분자, 예를 들어, 단백질 D-E6/E7 융합에서 제시될 수 있다. 조성물은 예를 들어, 단백질 D-E6 또는 단백질 D-E7 융합 단백질 또는 단백질 D E6/E7 융합 단백질의 형태로 HPV 18 앞에 E6 및 E7 단백질 중 어느 하나 또는 둘 다를 임의로 함유할 수 있다. 조성물은 다른 HPV 군주, 예를 들어, 군주 HPV 31 또는 33으로부터의 항원을 추가적으로 포함할 수 있다.

[0178] 항원은 또한 말라리아를 야기하는 기생충으로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 플라스모디아 팔시파룸으로부터의 항원은 RTS,S 및 TRAP를 포함한다. RTS는 B형 간염 표면 항원의 preS2 부분의 4개의 아미노산을 통해 B형 간염 바이러스의 표면(S) 항원에 연결된 피. 팔시파룸의 포자소체(circumsporozoite: CS) 단백질의 C 말단 부분을 실질적으로 모두 포함하는 하이브리드 단백질이다. 이의 완전한 구조는 영국 특허 출원 제9124390.7호로부터의 우선권을 주장하는 WO 93/10152로서 공개된 국제 특허 출원 제PCT/EP92/02591호에 개시되어 있다. 효모에서 발

현될 때, RTS는 지단백질 입자로서 제조되고, 이것이 HBV로부터의 S 항원과 동시발현될 때, 이것은 RTS,S로서 공지된 혼합된 입자를 제조한다.

[0179] TRAP 항원은 WO 90/01496으로서 공개된 국제 특허 출원 제PCT/GB89/00895호에 기재되어 있다. 본 발명의 실시형태는 항원 제제가 RTS,S 및 TRAP 항원의 조합을 포함하는 말라리아 백신이다. 아마도 다단계 말라리아 백신의 성분인 후보인 다른 플라스모디아 항원은 플라스모돈 종에서 피. 파시파룸 MSP1, AMA1, MSP3, EBA, GLURP, RAP1, RAP2, 세퀴스트린(Sequestrin), PfEMP1, Pf332, LSA1, LSA3, STARP, SALSA, PfEXP1, Pfs25, Pfs28, PFS27125, Pfs16, Pfs48/45, Pfs230 및 이들의 유사체이다.

[0180] 일 실시형태에 있어서, 항원은, 암의 면역요법적 치료에 유용할 수 있는 것처럼 암 세포로부터 유래된다. 예를 들어, 항원은 종양 거부 항원, 예컨대, 전립선, 유방, 결장직장, 폐, 췌장, 신장 또는 흑색종 암에 대한 것일 수 있다. 예시적인 암 또는 암 세포 유래된 항원은 MAGE 1, 3 및 MAGE 4 또는 다른 MAGE 항원, 예컨대, WO99/40188에 개시된 것, PRAME, BAGE, Lage(NY Eos 1로도 공지됨) SAGE 및 HAGE(WO 99/53061) 또는 GAGE(Robbins and Kawakami, 1996 *Current Opinions in Immunology* 8, pp. 628-636; Van den Eynde et al., *International Journal of Clinical & Laboratory Research* (1997 & 1998); Correale et al. (1997), *Journal of the National Cancer Institute* 89, p. 293)를 포함한다. 암 항원의 이 비제한적인 예는 넓은 범위의 종양 유형, 예컨대, 흑색종, 폐 암종, 육종 및 방광 암종에서 발현된다. 예를 들어, 미국 특허 제6,544,518호를 참조 한다.

[0181] 다른 종양-특이적 항원은, 많은 암의 치료에 유용한, 단백질을 운반하기 위한 종양 특이적 또는 종양 연관된 강글리오사이드, 예컨대, GM2 및 GM3 또는 이들의 접합체; 또는 자가 펩타이드 호르몬, 예컨대, 전장 고나도트로핀 호르몬 방출 호르몬(GnRH, WO 95/20600), 짧은 10개 아미노산 길이의 펩타이드를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 또 다른 실시형태에서, 전립선 항원, 예컨대, 전립선 특이적 항원(PSA), PAP, PSCA(예를 들어, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95(4) 1735-1740 1998), PSMA, 또는 일 실시형태에서 프로스타제(Prostase)로도 공지된 항원을 사용한다(예를 들어, 문헌[Nelson, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1999) 96: 3114-3119; Ferguson, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999. 96, 3114-3119; WO 98/12302]; 미국 특허 제5,955,306호; WO 98/20117; 미국 특허 제5,840,871호 및 제5,786,148호; WO 00/04149). 다른 전립선 특이적 항원은 WO 98/137418 및 WO/004149로부터 공지되어 있다. 기타는 STEAP(PNAS 96 14523 14528 7-12 1999)이다.

[0182] 본 발명의 맥락에서 유용한 종양 연관 항원은 Plu-1(J Biol. Chem 274 (22) 15633-15645, 1999), HASH-1, Hash-2, Cripto(Salomon et al Bioessays 199, 21:61-70, 미국 특허 제5,654,140호) 및 Criptin(미국 특허 제5,981,215호)을 포함한다. 부가적으로, 암의 치료에서의 백신 조성물에 대해서 특히 연관된 항원은 또한 티로신나제 및 서비빈을 포함한다.

[0183] 본 명세서에 개시된 실시형태는 또한 종양 연관 항원 발현, 예컨대, HER-2/neu 발현 또는 기타 암-특이적 또는 암-연관 항원을 특징으로 하는 임의의 암에 대해서 유용하게 되는 암 항원을 포함한다.

[0184] 암을 가질 위험이 있거나 암을 가질 위험이 있는 것으로 의심되는 대상체에서의 암의 진단은 광범위한 당업계에서 수용되는 방법론 중 임의의 것에 의해 달성될 수 있는데, 이것은 임상적 제시, 암의 진행도, 암의 유형 및 기타 인자를 비롯하여 각종 인자에 따라서 다양할 수 있다. 암 진단의 예는, 환자 샘플(예컨대, 혈액, 피부 생검, 기타 조직 생검, 수술 시편 등)의 조직병리학적, 조직세포화학적, 면역조직세포화학적 및 면역조직병리학적 검사, 정의된 유전자(예컨대, 핵산) 마커용의 PCR 시험, 이러한 항원을 보유하는 순환 암-연관 항원 또는 세포에 대한 또는 정의된 특이성의 항체에 대한 혈청학적 시험, 또는 당업자에게 친숙한 기타 방법론을 포함한다. 예컨대, 미국 특허 제6,734,172호; 제6,770,445호; 제6,893,820호; 제6,979,730호; 제7,060,802호; 제7,030,232호; 제6,933,123호; 제6,682,901호; 제6,587,792호; 제6,512,102호; 제7,078,180호; 제7,070,931호; JP5-328975; 문헌[Waslylyk et al., 1993 Eur. J. Bioch. 211(7):18] 참조.

[0185] 본 개시내용의 소정의 실시형태에 따른 리포솜 제형, 약제학적 조성물 및 백신 조성물 및 방법은 또한 숙주의 또는 대상체의 면역계가 "자가" 조직, 세포, 생체분자(예컨대, 펩타이드, 폴리펩타이드, 단백질, 당단백질, 리포단백질, 단백지질, 지질, 당지질, 핵산, 예컨대, RNA 및 DNA, 올리고당, 다당류, 프로테오글리칸, 글리코사미노글리칸 등, 및 대상체 세포 및 조직의 기타 분자 성분) 또는 에피토프(예컨대, 특이적인 면역학적으로 정의된 인식 구조, 예컨대, 항체 가변 영역 상보성 결정 영역(CDR)에 의해 또는 T 세포 수용체 CDR에 의해 인식된 것)에 대해서 지향되는 면역 반응을 유해하게 배제하는 질환, 병태 또는 장애를 포함하는, 자가면역 질환의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

[0186]

따라서, 자가면역 질환은 정상의 자가 조직에 대해서 지향된 어느 하나의 사례에 있는 세포 또는 항체와 연루된 비정상 면역 반응에 의해 특성화된다. 포유류에서의 자가면역 질환은 일반적으로 2개의 상이한 부류로 분류된다: 세포-매개 질환(즉, T-세포) 또는 항체-매개 장애. 세포-매개 자가면역 질환의 비-제한적인 예는 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 하시모토 갑상선염, 제I형 진성 당뇨병(청소년성 발병 당뇨병) 및 자가면역 포도막 망막염을 포함한다. 항체-매개 자가면역 장애는, 중증군무력증, 전신성 홍반 루푸스(또는 SLE), 그레이브스병, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 혈소판감소증, 자가면역 천식, 저온글로불린혈증, 혈전성 혈소판감소증 자반, 원발성 담즙성 경화증 및 악성 빈혈을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다. 전신성 홍반 루푸스와 연관된 항원(들)은 소형 핵 리보핵산 단백질(snRNP)이고; 그레이브스 병은 티로트로핀 수용체, 티로글로불린 및 갑상선 상피 세포의 기타 성분이고(Akamizu et al., 1996; Kellerman et al., 1995; Raju et al., 1997; 및 Texier et al., 1992); 수포창은 카드헤린-유사 수포창 항원 예컨대, 데스모글레인 3(desmoglein 3) 및 기타 부착 분자이고(Memar et al., 1996; Stanley, 1995; Plott et al., 1994; 및 Hashimoto, 1993); 혈전성 혈소판감소증 자반은 혈소판의 항원이다(예컨대, 미국 특허 제6,929,796호; 문헌[Gorski et al. (Eds.), *Autoimmunity*, 2001, Kluwer Academic Publishers, Norwell, M A; Radbruch and Lipsky, P. E. (Eds.) *Current Concepts in Autoimmunity and Chronic Inflammation (Curr. Top. Microbiol. and Immunol.)* 2001, Springer, N.Y.] 참조).

[0187]

소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용의 조성물은 초기 및/또는 면역억제된, 예컨대, 신장 투석 중인 대상체, 화학요법 및/또는 방사선 요법 중인 대상체, 이식 수혜자 등의 치료에서 특히 적용 가능할 것이다. 이러한 개체는 일반적으로 백신 조성물에 대한 감소된 면역 반응을 발휘하고, 따라서 본 개시내용의 조성물의 사용은 이들 대상체에서 달성된 면역 반응을 증대시킬 수 있다.

[0188]

다른 실시형태에 있어서, 본 개시내용의 조성물에서 사용되는 항원 또는 항원들은, 호흡기 질환, 예컨대, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)의 예방 및 치료를 위하여, 바이러스 감염(예컨대, 폐렴구균)에 의해 초래 또는 악화된 것과 연관된 항원을 포함한다. COPD는 만성 기관지염 및/또는 기종을 지닌 환자에서 비가역적 또는 부분 가역적 기도 폐색의 존재에 의해 생리학적으로 정의된다(Am J Respir Crit. Care Med. 1995 November; 152(5 Pt 2):S77-121). COPD의 악화는 종종 박테리아(예컨대 폐렴구균) 감염을 일으킨다(Clin Microbiol Rev. 2001 April; 14(2):336-63).

[0189]

바람직한 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 약제학적 조성물 내에 함유된다. 또 다른 바람직한 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 백신 조성물 내에 함유된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물은 리포솜 제형 및 항원을 포함한다. 또 다른 예시적인 실시형태에 있어서, 백신 조성물은 리포솜 제형 및 항원을 포함한다. 몇몇 이러한 예시적인 실시형태에 있어서, 항원은 감염성 질환, 암, 또는 자가면역 질환과 연관된다. 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형 및 약제학적 제형은 감염성 질환, 암 또는 자가면역 질환과 같은 질환을 치료하는데 사용될 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형 및 약제학적 제형은 질환, 예컨대, 감염성 질환, 암 또는 자가면역 질환을 가진 인간을 비롯한 포유동물에서 증대된 면역 반응을 유도하는데 사용될 수 있다. 이러한 실시형태에 있어서, 리포솜 제형 및 약제학적 제형은 항원 및/또는 핵산 암호화 항원을 더 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수 있다.

[0190]

본 명세서에 개시된 소정의 실시형태에 따르면, 약제학적 조성물 및 백신 조성물은, 항원을 포함하는 대신에, 핵산 암호화 항원을 포함할 수 있다. 예를 들어, 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 핵산 서열 암호화 항원에 작동 가능하게 연결된 프로모터를 포함하는 적어도 하나의 재조합 발현 작제물을 함유할 수 있다. 소정의 추가의 실시형태에 있어서, 재조합 발현 작제물은 바이러스 벡터, 예컨대, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 아데노-연관바이러스, 렌티바이러스, 폭스바이러스 또는 레트로바이러스 벡터에 존재한다. 이러한 발현 작제물 및 벡터를 제조하고 이용하는 조성물 및 방법은, 예를 들어, 문헌[Ausubel et al., (Eds.) *Current Protocols in Molecular Biology*, 2006 John Wiley & Sons, NY]에 따른, 본 명세서에서 제공된 바와 같은 폴리펩타이드 항원의 발현에 대해서 공지되어 있다. 재조합 발현 작제물의 비제한적인 예는, 일반적으로 예를 들어, 미국 특허 제6,844,192호; 제7,037,712호; 제7,052,904호; 제7,001,770호; 제6,106,824호; 제5,693,531호; 제6,613,892호; 제6,875,610호; 제7,067,310호; 제6,218,186호; 제6,783,981호; 제7,052,904호; 제6,783,981호; 제6,734,172호; 제6,713,068호; 제5,795,577호 및 제6,770,445호 및 기타에서 발견할 수 있고, 그 교시내용은 본 명세서에서 제공되는 바와 같은 폴리펩타이드 항원의 발현에 적용될 수 있다.

[0191]

본 명세서에서 제공되는 조성물은, 사포닌 및 선택적 리포다당류 이외에, 전형적으로 본 발명의 제형 및 조성물에서 면역자극제로서 작용하는 적어도 1종의 추가의 면역자극제를 포함할 수 있다. 면역자극제는 항원에 면역 반응(항체 및/또는 세포-매개)을 증대 또는 촉진시키는 임의의 물질이다. 면역자극제의 예는 애주번트, 생분해

성 미소구체(예컨대, 폴리락틱 갈락타이드) 및 리포솜(이에 화합물이 혼입됨; 예를 들어, Fullerton, 미국 특허 제4,235,877호 참조)을 포함한다. 백신 제제는 일반적으로 예를 들어 문헌[Powell & Newman, eds., Vaccine Design (the subunit and adjuvant approach) (1995)]에 기재되어 있다.

[0192] 예를 들어, 그리고 배경으로서(예컨대, 미국 특허 제6,544,518호 참조), 비메틸화된 CpG 다이뉴클레오타이드 ("CpG")를 함유하는 면역자극성 올리고뉴클레오타이드는 전신 및 점막 경로 둘 다에 의해 투여될 경우 아주번트로서 알려져 있다(WO 96/02555, EP 468520, Davis et al., J. Immunol., 1998. 160(2): 870-876; McCluskie and Davis, J. Immunol., 1998, 161(9):4463-6). CpG는 DNA에 존재하는 사이토신-구아노신 다이뉴클레오타이드 모티프에 대한 약어이다. 면역자극에서 CG 모티프의 중심 역할은 문헌[Krieg, Nature 374, p546 1995]에 의해 해명되어 있다. 상세한 분석은 CG 모티프가 소정의 서열 맥락에 있어야 하고, 이러한 서열은 박테리아 DNA에서 흔하지만 척추동물 DNA에서는 희귀한 것이 제시되어 있다. 면역자극 서열은 종종 퓨린, 퓨린, C, G, 피리미딘, 피리미딘이되; 여기서 다이뉴클레오타이드 CG 모티프는 메틸화되지 않지만, 기타 비메틸화된 CpG 서열은 면역자극인 것으로 알려져 있고, 본 개시내용의 소정의 실시형태에서 사용될 수 있다. CpG는, 백신 조성물로 제형화될 경우, 유리 항원과 함께 유리 용액으로 투여될 수 있거나(WO 96/02555; McCluskie and Davis, 상기 참조) 또는 항원에 공유 접합될 수 있거나(PCT 공보 번호 WO 98/16247), 또는 수산화알루미늄과 같은 담체와 제형화될 수 있다(예컨대, Davis et al. 상기 참조, Brazolot-Millan et al., Proc. Natl Acad. Sci., USA, 1998, 95(26), 15553-8).

[0193] 본 개시내용의 조성물에서 사용하기 위한 기타 예시적인 올리고뉴클레오타이드는 종종 적어도 2개, 더 바람직하게는 적어도 6개 이상의 뉴클레오타이드에 의해 분리된 2개 이상의 다이뉴클레오타이드 CpG 모티프를 함유할 것이다. 본 개시내용의 올리고뉴클레오타이드는 전형적으로 테옥시뉴클레오타이드이다. 일 실시형태에 있어서, 올리고뉴클레오타이드 중 인터뉴클레오타이드는 포스포로다이티오에이트, 또는 더 바람직하게는 포스포로티오에이트 결합이지만, 포스포다이에스터 및 기타 인터뉴클레오타이드 결합은 혼합된 인터뉴클레오타이드 결합을 가진 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 본 개시내용의 범위 내이다. 포스포로티오에이트 올리고뉴클레오타이드 또는 포스포로다이티오에이트를 생산하는 단계는 미국 특허 제5,666,153호, 제5,278,302호 및 WO95/26204에 기재되어 있다.

[0194] 올리고뉴클레오타이드의 다른 예는 하기 공보에 개시된 서열을 갖는다. 여기에 개시된 소정의 실시형태에 있어서 서열은 바람직하게는 포스포로티오에이트 변형된 인터뉴클레오타이드 결합을 함유한다:

[0195] CPG 7909: Cooper et al., "CPG 7909 adjuvant improves hepatitis B virus vaccine seroprotection in antiretroviral-treated HIV-infected adults." AIDS, 2005 Sep 23; 19(14): 1473-9.

[0196] CpG 10101: Bayes et al., "Gateways to clinical trials." Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. 2005 Apr;27(3): 193-219. Vollmer J., "Progress in drug development of immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotide ligands for TLR9." Expert Opinion on Biological Therapy. 2005 May; 5(5): 673-682.

[0197] 대안적인 CpG 올리고뉴클레오타이드는 이에 대한 중요하지 않은 뉴클레오타이드 서열 치환, 삽입, 결실 및/또는 부가를 갖는 점에서 상이한 위에서 인용된 간행물에 기재된 바람직한 서열의 변이체를 포함할 수 있다. 본 개시 내용의 소정의 실시형태에서 이용된 CpG 올리고뉴클레오타이드는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 합성될 수 있다(예컨대, EP 468520). 통상, 이러한 올리고뉴클레오타이드는 자동화 합성기를 이용해서 합성될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드는 전형적으로 테옥시뉴클레오타이드이다. 바람직한 실시형태에 있어서, 올리고뉴클레오타이드 내 인터뉴클레오타이드 결합은 포스포로다이티오에이트, 또는 더 바람직하게는 포스포로티오에이트 결합이지만, 포스포다이에스터는 또한 현재 상정된 실시형태의 범위 내이다. 예컨대, 포스포로티오에이트 포스포다이에스터가 혼합된 상이한 인터뉴클레오타이드 결합을 포함하는 올리고뉴클레오타이드가 또한 상정된다. 올리고뉴클레오타이드를 안정화시키는 기타 인터뉴클레오타이드 결합이 또한 사용될 수 있다.

B. 담체 및 부형제

[0199] 본 개시내용의 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 각종 잘 알려진 절차의 어느 것이라도 사용해서 제형화될 수 있다. 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물 및 백신 조성물은 안정적인 에멀션(예컨대, 수중유 에멀션)으로서 또는 수용성 용액으로서 제조된다.

[0200] 소정의 용도에 있어서, 본 명세서에 개시된 조성물은 대상체에게 경구 투여를 통해서 전달될 수 있다. 그와 같이, 이들 조성물은 불활성 희석제와 또는 공격 가능한(assailable) 식용 담체와 제형화될 수 있거나, 또는 이들은 경질- 또는 연질-셀 젤라틴 캡슐에 포위될 수 있거나, 또는 이들은 정제로 압착될 수 있거나, 또는 이들은

다이어트 식품과 직접 혼입될 수 있다.

[0201] 소정의 환경에서, 예를 들어, 미국 특허 제5,543,158호; 미국 특허 제5,641,515호 및 미국 특허 제5,399,363호(각각 이들의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 구체적으로 편입됨)에 기재된 바와 같이 비경구, 피하, 정맥내, 피부내, 근육내, 또는 심지어 복강내로 본 명세서에 개시된 조성물을 전달하는 것이 바람직할 것이다. 유리 염기로서의 활성 화합물 또는 약리학적으로 허용 가능한 염의 용액이 계면활성제, 예컨대, 하이드록시프로필셀룰로스와 적절하게 혼합된 수 중에 제조될 수 있다. 분산액은 또한 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜 및 이들의 혼합물 중에 그리고 오일 중에 제조될 수 있다. 통상의 저장 및 사용 조건하에, 이들 제제는 미생물의 성장을 방지하기 위한 보존제를 함유한다.

[0202] 주사 용도에 적합한 약제학적 조성물 형태는 멸균 수성 용액 또는 분산액 및 멸균 주사 용액 또는 분산액의 즉석 제제용의 멸균 분말을 포함한다(미국 특허 제5,466,468호, 이의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 구체적으로 편입됨). 모든 경우에, 상기 형태는 멸균성이어야 하고, 용이한 주사 가능성이 존재하는 정도로 유체이어야 한다. 이것은 제조 및 저장 조건하에 안정적이어야 하고, 미생물, 예컨대, 박테리아 및 진균의 오염 작용에 대해서 보전되어야 한다. 담체는, 예를 들어, 물, 에탄올, 폴리올(예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 이들의 적합한 혼합물, 및/또는 식물성 오일을 함유하는 용매 또는 분산 매체일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어, 코팅, 예컨대, 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우에 요구되는 입자 크기의 유지에 의해 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 미생물의 작용의 방지는 각종 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 솔브산, 티메로살 등에 의해 용이하게 될 수 있다. 많은 경우에, 등장성 제제, 예를 들어, 당 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다. 주사 가능한 조성물의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어, 모노스테아르산알루미늄 및 젤라틴의 조성물에서의 사용에 의해 일어날 수 있다.

[0203] 수성 용액의 비경구 투여에 대해서, 예를 들어, 용액은 필요 시 적절하게 완충되어야 하고, 액체 희석액은 우선 충분한 식염수 또는 글루코스로 등장성으로 되어야 한다. 이를 특정 수성 용액은 정맥내, 근육내, 피하 및 복강내 투여에 특히 적합하다. 이와 관련하여, 이용될 수 있는 멸균 수성 매체는 본 개시내용에 비추어 당업자에게 알려져 있을 것이다. 예를 들어, 1회 투여량은 1㎖의 등장성 NaCl 용액에 용해될 수 있고, 1000㎖의 피하주입 유체에 첨가되거나 또는 제안된 주입 부위에 주사될 수 있다(예컨대, 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Edition, pp. 1035-1038 및 1570-1580] 참조). 몇몇 투여량 변경은 치료 중인 대상체의 상태에 따라서 필요에 따라서 일어날 것이다. 투여를 담당하는 사람은, 임의의 사건에서, 개별 대상체에 대한 적절한 용량을 결정할 것이다. 게다가, 인간 투여에 대해서, 제제는 FDA국의 생물학적 표준에 의해 필요에 따라서 멸균성, 발열성 및 일반적 안전 및 순도 표준에 부응해야만 한다.

[0204] 멸균 주사 용액은, 필요에 따라서, 위에서 나열된 각종 기타 성분과 적절한 용매 중 필요량으로 활성 성분을 혼입시키고 나서 여과 멸균화시킴으로써 제조된다. 일반적으로, 분산액은 염기성 분산 매체 및 위에서 나열된 요구되는 기타 성분을 함유하는 멸균 비허클에 각종 멸균화된 활성 성분을 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조용의 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 진공-건조 및 냉동-건조 수법이고, 이는 앞서 멸균-여과된 이의 용액으로부터 임의의 추가의 목적하는 성분과 함께 활성 성분의 분말을 수득한다.

[0205] 본 명세서에 개시된 조성물은 중성 또는 염 형태로 제형화될 수 있다. 약제학적으로-허용 가능한 염은, 산 부가 염(단백질의 유리 아미노산과 형성)을 포함하고 이는 무기산, 예를 들어, 염산 또는 인산, 또는 유기산, 예컨대, 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 만델산 등과 형성된다. 유리 카복시기와 형성된 염은 또한 무기 염기, 예를 들어, 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘 또는 수산화3가철, 및 유기 염기, 예컨대, 아이소프로필아민, 트라이메틸아민, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유래될 수 있다. 조제 시, 용액은 투약 제형과 적합한 방식으로 그리고 한센병의 치료에 치료적으로 유효한 양으로 투여될 것이다. 제형은 각종 투약 형태, 예컨대, 주사 용액, 약물-방출 캡슐 등으로 용이하게 투여된다.

[0206] 본 명세서에서 이용되는 바와 같이, "담체"는 임의의 모든 용매, 분산 매체, 비허클, 코팅, 희석제, 항박테리아제 및 항진균제, 등장성 제제 및 흡수 지연제, 완충액, 담체 용액, 혼탁액, 콜로이드 등을 포함한다. 약제학적 활성 성분용의 제제 및 이러한 매체의 사용은 당업자에게 잘 알려져 있다. 임의의 통상의 매체 또는 제제가 활성 성분과 적합하지 않은 것을 제외하고, 치료적 조성물에서의 이의 용도가 상정된다. 보조 활성 성분이 또한 조성물에 혼입될 수 있다.

[0207] 어구 "약제학적으로-허용 가능한"은, 인간에게 투여될 경우 허용될 수 없는 알러지 또는 유사한 부적당한 반응을 일으키지 않는 분자 실체 및 조성물을 지칭한다. 단백질을 활성 성분으로서 함유하는 수성 조성물의 제제는

당업자에게 잘 알려져 있다. 전형적으로, 이러한 조성물은 액체 용액 또는 혼탁액으로서의 주사제로서 제조되고; 주사 전에 액체 중 용액 또는 혼탁액에 적합한 고체 형태가 또한 제조될 수 있다. 이 제제는 또한 유화될 수 있다.

[0208] 소정의 실시형태에 있어서, 본 개시내용의 조성물은 비강내 분무, 흡입, 및/또는 기타 에어로졸 전달 비히클에 의해 전달될 수 있다. 비강 에어로졸 분무를 통해서 폐에 직접 유전자, 폴리뉴클레오타이드, 및 웨بت아이드 조성물을 전달하는 방법은, 예컨대, 미국 특허 제5,756,353호 및 미국 특허 제5,804,212호(각각들의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 구체적으로 편입됨)에 기재된 바 있다. 마찬가지로, 비강내 미세입자 수지(Takenaga et al., 1998) 및 라이소포스파티딜-글리세롤 화합물(미국 특허 제5,725,871, 이의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 구체적으로 편입됨)을 이용하는 약물의 전달은 또한 약제학적 분야에서 잘 알려져 있다. 마찬가지로, 폴리테트라플루오로에틸렌 지지 매트릭스 형태의 경점막 약물 전달은 미국 특허 제5,780,045호(이의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 구체적으로 편입됨)에 기재되어 있다.

[0209] 대안적으로, 약제학적 조성물 또는 백신 조성물은 면역자극제 및 위에서 기재된 바와 같은 폴리웨بت아이드 또는 용합 폴리웨بت아이드 중 하나 이상을 암호화하는 DNA 분자를 함유할 수 있고, 따라서 목적하는 폴리웨بت아이드는 원위치에(*in situ*) 생성된다. 이러한 조성물에서, 용합 단백질을 암호화하는 DNA는, 핵산 발현 시스템, 박테리아 및 바이러스 발현 시스템을 비롯한, 당업자에게 공지된 각종 전달 시스템 중 어느 하나 내에 존재할 수 있다. 적절한 핵산 발현 시스템은 환자에서 발현을 위한 필요한 DNA 서열(예컨대, 적합한 프로모터 및 종결 신호)를 함유한다. 박테리아 전달 시스템은 세포 표면 상에 폴리웨بت아이드의 면역원성 부분을 발현하는 박테리아(예컨대, 바실러스-칼멧-구에린(Bacillus-Calmette-Guerrin))의 투여를 포함한다. 특정 실시형태에 있어서, DNA는, 비-병원성(결함성), 복제 가능 바이러스의 사용을 내포할 수 있는 바이러스 발현 시스템(예컨대, 백시니아 또는 기타 폭스 바이러스, 레트로바이러스, 또는 아데노바이러스)을 이용해서 도입될 수 있다. 이러한 발현 시스템에 DNA를 흡입시키기 위한 수법은 당업자에게 잘 알려져 있다. DNA는 또한 예를 들어 문헌[Ulmer et al., Science 259:1745-1749 (1993)]에 기재되고 문헌[Cohen, Science 259:1691-1692 (1993)]에 의해 검토된 바와 같은 "네이키드"되어 있을 수 있다. 네이키드 DNA의 흡수는 세포 내로 효율적으로 전송되는 생분해성 비드 상에 DNA를 코팅함으로써 증가될 수 있다.

C. 키트 및 제조 물품

[0211] 또한 소정의 실시형태에서, 하나 이상의 용기에 제공될 수 있는, 본 명세서에 기재된 리포솜 제형, 약제학적 조성물 및 백신 조성물을 함유하는 키트가 상정된다. 일 실시형태에 있어서, 리포솜 제형의 모든 성분은 단일 용기에 함께 존재한다. 소정의 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물의 모든 성분은 단일 용기에 함께 존재한다. 소정의 실시형태에 있어서, 백신 조성물의 모든 성분은 단일 용기에 함께 존재한다. 다른 실시형태에 있어서, 약제학적 조성물 및 백신 조성물의 성분은 2개 이상의 용기에 있을 수 있다. 바람직한 실시형태에 있어서, 리포솜 제형은 하나의 용기에 제공되고, 항원은 또 다른 용기에 제공된다.

[0212] 본 개시내용의 키트는 본 명세서에 기재된 바와 같이 사용하기 위한 설명서 또는 바이알에 수용된 재료를 혼합하기 위한 설명서를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에 있어서, 바이알 내 재료는 건조 또는 동결 건조되어 있다. 몇몇 실시형태에 있어서, 바이알 내 재료는 액체이다.

[0213] 이러한 키트 실시형태에 따른 용기는, 임의의 적합한 용기, 베셀(vessel), 바이알, 앰플, 튜브, 컵, 박스, 병, 플라스크, 단지(jar), 접시, 단일-웰 또는 다수-웰 장치의 웰, 저장소, 탱크 등, 또는 본 명세서에 개시된 조성물이 배치, 저장 및/또는 수송되고, 접근되어 내용물을 제거할 수 있는 기타 디바이스일 수 있다. 전형적으로, 이러한 용기는 의도된 용도와 호환 가능하고 수용된 내용물의 회수가 용이하게 달성되는 재료로 이루어질 수 있다. 이러한 용기의 비-제한적인 예는, 유리 및/또는 플라스틱 밀봉된 또는 재밀봉 가능한 튜브 및 앰플, 예를 들어, 고무 격막을 갖는 것 또는 니들 및 주사기를 사용한 내용물의 배출에 적합한 다른 밀봉 수단을 포함한다. 이러한 용기는, 예를 들어, 용기로부터의 재료의 효율적인 회수를 허용하고/하거나, 예컨대, 분해 조건, 예컨대, 자외선 또는 온도 극한으로부터, 또는 미생물 오염물질을 포함하는 원치 않는 오염물질의 도입으로부터 재료를 보호하는 재료로 제조될 수 있거나 이에 의해 코팅될 수 있는, 유리 또는 화학적으로 상용성인 플라스틱 또는 수지에 의해 제조될 수 있다. 용기는 바람직하게는 멸균성 또는 멸균 처리 가능하고, 본 명세서에 기재된 백신 조성물 및/또는 면역학적 애주번트 조성물 및/또는 항원 및/또는 제조합 발현 작제물 등을 혼탁 또는 용해시키는데 사용될 수 있는 재료로 만들어진다.

V. 본 개시내용의 조성물을 제조하는 방법

- [0215] 본 발명자들은 유리하게는 사포닌(및 선택적 LPS)이 사전형성된 리포솜과 혼합되어 본 명세서에 기재된 제형을 생성하는 공정으로 사포닌 함유 리포솜이 제조될 수 있는 것을 발견하였다.
- [0216] 본 명세서에 제공된 바와 같이, 예시적인 리포솜 제형을 제조하는 하나의 방법은 LPS를 4 대 1의 인지질 대 콜레스테롤 중량비로 DOPC 및 콜레스테롤과 혼합하는 단계를 포함한다. 혼합하는 단계는, 클로로폼을 진공하에 증발시키고 인산염 완충액으로 박막을 수화시키기 전에 클로로폼의 존재하에 유리제 등근-바닥 플라스크에서 수행된다. 소정의 실시형태에 있어서, LPS는 SLA이다. 예시적인 실시형태에 있어서, LPS는 GLA이다. 몇몇 실시형태에 있어서, 추가의 단계는 입자 크기를 나노미터(nm) 치수(DLS 측정에 기초하여 70 내지 130nm 평균 입자 크기)로 균질하게 저감시키기 위하여 수욕 초음파 처리(10-mL 규모에 대해서) 또는 고압 균질화 처리(100mL 규모 초과에 대해서)를 포함한다. 고압 균질화 처리는 20,000 psi, 10 내지 15°C에서의 마이크로플루이딕스(Microfluidics) 110EH 또는 110P 마이크로플루이다이저(microfluidizer) 모델 및 5회 균질화 처리 통과를 이용해서 수행될 수 있다.
- [0217] 소정의 실시형태에 있어서, QS21은 조절의 사포닌 혼합물 Quill-A의 HPLC 정체를 통해서 얻어진다. 바람직한 실시형태에 있어서, QS21은 개별적으로 인산염 완충액에 용해되고 나서 LPS 및 콜레스테롤을 함유하는 제조된 리포솜에 혼합되고 나서 멸균 여과될 수 있다. 예시적인 실시형태에 있어서, 최종 제조된 생성물은 0.22- μm 필터 (Millipore Steripak GP10)로 필터-멸균화되고 4 mg/mL DOPC, 1 mg/mL 콜레스테롤, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GLA, 및 8 mg/mL QS21을 함유한다. 약제학적 조성물 또는 백신 조성물을 리포솜 제형을 항원과 1대1 비로 투여 전에 혼합함으로써 제조될 수 있다. 제조 후에, 제형을 5°C에 저장하고, 제조 시에 그리고 제조일 후 1주, 2주, 1개월, 3개월, 6개월, 12개월 등에 (DLS를 통한) 입자 크기의 측정 및 시각적 외관을 포함하는 안정성 모니터링 프로그램 상에 배치할 수 있다. 또한, LPS 및 QS21 농도는 제조 시에 그리고 제조일 후 6개월, 12개월에 하전 에어로졸 검출(charged aerosol detection: CAD)과 함께 HPLC에 의해 측정될 수 있다. 몇몇 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 리포솜 제형은 가속된 안정성 모니터링을 위하여 더 높은 온도(25°C, 37°C 및 60°C)에서 저장된다.
- [0218] VI. 면역 반응을 유도 또는 증대시키는 방법
- [0219] 본 명세서에서는 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 증대시키는 방법이 제공되며, 해당 방법은 본 명세서에 기재된 리포솜 제형, 약제학적 조성물 또는 백신 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 제형 또는 조성물은 항원을 더 포함하되, 여기서 항원은 폴리펩타이드 항원 또는 폴리펩타이드 항원을 암호화하는 핵산 분자이다. 몇몇 이러한 실시형태에 있어서, 제형 또는 조성물은 폴리펩타이드 항원 또는 폴리펩타이드 항원을 암호화하는 핵산 분자와 혼합하기에 적합하다.
- [0220] 본 명세서에 제공된 실시형태에 있어서, 대상체는 포유류(예컨대, 농장 동물(소, 돼지, 염소, 말 등), 애완동물(고양이, 개 등) 및 설치류(래트, 마우스 등)를 포함하는 동물, 또는 인간)이다. 일 실시형태에 있어서, 대상체는 인간이다. 또 다른 실시형태에 있어서, 대상체는 비인간 포유류이다. 또 다른 실시형태에 있어서, 비인간 포유류는 개, 소 또는 말이다.
- [0221] 예시적인 실시형태에 있어서, 본 명세서에 개시된 리포솜 제형은 백신 조성물에 혼입된다. 본 명세서에 기재된 리포솜 제형은 대상체에서의 면역 반응(비특이적 반응 및 항원-특이적 반응 포함)을 유도 또는 증대시키는데 사용될 수 있다. 몇몇 실시형태에 있어서, 면역 반응은 전신 면역 반응을 포함한다. 몇몇 실시형태에 있어서, 면역 반응은 점막 면역 반응을 포함한다. 면역 반응의 유도 또는 증대는 자극 및 면역 반응, 그리고 부스팅 및 면역 반응을 포함한다.
- [0222] 따라서 본 개시내용은 면역 반응을 시작할 수 있는 숙주에서 면역 반응을 변화(즉, 예를 들어, 당업자에게 친숙한 바와 같은 적절한 대조군에 비해서, 통계학적으로 유의한 방식으로 증감)시키기 위한 조성물을 제공한다. 당업자에게 알려진 바와 같이, 면역 반응은 숙주의 면역 상태의 임의의 활성 변화일 수 있고, 이러한 변화는 숙주 면역 상태의 유지 및/또는 조절에 관여하는 하나 이상의 조직, 기관, 세포 또는 분자의 구조 또는 기능의 임의의 변화일 수 있다. 전형적으로, 면역 반응은, 예컨대, 하기의 생체내 또는 시험관내 결정을 포함하지만 이것으로 제한되지 않는 각종 잘 알려진 파라미터 중 임의의 것일 수 있다: 가용성 면역글로불린 또는 항체; 가용성 매개체, 예컨대, 사이토카인, 림포카인, 케모카인, 호르몬, 성장 인자 등뿐만 아니라 기타 가용성 소형 웹타이드, 탄수화물, 뉴클레오타이드 및/또는 지질 매개체; 면역계의 세포의 변화된 기능 또는 구조 특성에 의해 결정된 바와 같은 세포 활성화 상태 변화, 예를 들어, 세포 증식, 변화된 이동성, 특화된 활성도의 유도, 예컨대, 특정 유전자 발현 또는 세포독성 거동; 변화된 표면 항원 발현 프로파일 또는 세포자멸사(예정 세포사)의 개시를 포함하는 면역계의 세포에 의한 세포 분화; 또는 면역 반응의 존재가 검출될 수 있는 임의의 기타 기준. 따라서, 제형은 항체 생산을 증대 및/또는 유도(예컨대, 중화 항체의 생산을 유도; 항원 특이적 항체 반응을

증대) 시키도록 작용할 수 있다.

[0223] 면역 반응은 종종 예를 들어 분자 수준 및 세포 수준에서 숙주의 면역계의 세포 및 조직에 의해 자가 구조와 비자가 구조 간의 구별로서 간주될 수 있지만, 본 개시내용은 그렇게 제한되지 않아야 한다. 예를 들어, 면역 반응은 또한 면역계 성분의 전형적인 조절과 같은 임의의 수의 정상의 상태를 수반할 수 있으므로 또는 자가면역 및 퇴행성 질환에서 관찰된 부적절한 자가면역 반응과 같은 병리학적 병태로 존재할 수 있으므로, 자가 분자, 세포 또는 조직의 면역 인지에 기인하는 면역계 상태 변화를 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 특정 면역계 활성도(예컨대, 항체 및/또는 사이토카인 생산, 또는 세포 매개 면역력의 활성화)의 상향 조절에 의한 유도에 부가해서, 면역 반응은 또한 검출 가능한 면역력의 억제, 감소 또는 임의의 다른 하향 조절을 포함할 수 있고, 이는 선택된 항원, 항원 투여 경로, 특이적 내성 유도 또는 기타 인자의 결과일 수 있다.

[0224] 본 개시내용의 백신 조성물에 의한 면역 반응의 유도의 결정은 당업자가 용이하게 친숙한 다수의 잘 알려진 면역학적 검정법 중 어느 하나에 의해 확립될 수 있다. 이러한 검정법은, 반드시 필수는 아니지만, 하기의 생체내 또는 시험관내 결정을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다: 가용성 항체; 가용성 매개체, 예컨대, 사이토카인, 림포카인, 케모카인, 호르몬, 성장 인자 등뿐만 아니라 기타 가용성 작은 웹타이드, 탄수화물, 뉴클레오파이드 및/또는 지질 매개체; 면역계의 세포의 변화된 기능 또는 구조 특성에 의해 결정된 바와 같은 세포 활성화 상태 변화, 예를 들어, 세포 증식, 변화된 이동성, 특화된 활성도의 유도, 예컨대, 특정 유전자 발현 또는 세포독성 거동; 변화된 표면 항원 발현 프로파일 또는 세포자멸사(예정 세포사)의 개시를 포함하는 면역계의 세포에 의한 세포 분화. 이들 및 유사한 검정법을 수행하기 위한 절차는 광범위하게 알려져 있고, 예를 들어, Lefkovits (*Immunology Methods Manual: The Comprehensive Sourcebook of Techniques*, 1998; 또한 *Current Protocols in Immunology* 참조; 또한, 예컨대, Weir, *Handbook of Experimental Immunology*, 1986 Blackwell Scientific, Boston, Mass.; Mishell and Shigii (eds.) *Selected Methods in Cellular Immunology*, 1979 Freeman Publishing, San Francisco, Calif; Green and Reed, 1998 Science 281:1309 참조 및 여기에 인용된 참조문헌)에서 찾을 수 있다.

[0225] 항원-반응성 T 세포의 증식의 검출은 각종 공지된 수법에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, T 세포 증식은 DNA 합성 속도를 측정함으로써 검출될 수 있고, 항원 특이성은 후보 항원-반응성 T 세포가 노출되는 자극(예를 들어, 특정의 목적하는 항원- 또는 대조군 항원-펄스식 항원 제시 세포 등)을 제어함으로써 결정될 수 있다. 증식되도록 자극된 T 세포는 증가된 DNA 합성 속도를 나타낸다. DNA 합성 속도를 측정하기 위한 전형적인 방식은, 예를 들어, 새롭게 합성된 DNA에 혼입된 뉴클레오사이드 전구체인 삼중수소화 티미딘에 의해 T 세포의 배양물을 펠스 표지화하는 것에 의한다. 혼입된 삼중수소화 티미딘의 양은 액체 섬광 분광광도계를 사용하여 결정될 수 있다. T 세포 증식을 검출하는 다른 방식은 인터류킨-2(IL-2) 생산, Ca^{2+} 플럭스, 또는 염료 흡수, 예컨대, 3-(4,5-다이메틸티아졸-2-일)-2,5-다이페닐-테트라졸륨의 증가를 측정하는 것을 포함한다. 대안적으로, 림포카인(예컨대, 인터페론-감마)의 합성을 측정될 수 있거나, 또는 특정한 항원에 반응할 수 있는 T 세포의 상대 개수는 정량화될 수 있다.

[0226] 항원-특이적 항체 생산의 검출은, 예를 들어, 시험관내 방법론, 예컨대, 방사면역검정법(RIA), 효소 연결 면역 흡착 검정법(ELISA), 평형 투석 또는 고상 면역블로팅, 예를 들어, 웨스턴 블로팅을 이용하여 본 개시내용에 따른 백신으로 치료된 숙주로부터 샘플(예를 들어, 면역글로불린 함유 샘플, 예컨대, 혈청, 혈장 또는 혈액)을 평가함으로써 달성될 수 있다. 실시형태에 있어서, ELISA 검정법은, 예를 들어, 검정법의 감수성을 증대시키기 위해 항원에 특이적인 고체상 단클론성 항체에 의한 표적 항원의 항원-포획 고정화를 더 포함할 수 있다. 가용성 매개체(예를 들어, 사이토카인, 케모카인, 림포카인, 프로스타글란дин 등)의 정교함은 예를 들어, 상업적 공급원(예컨대, Sigma(미주리주 세인트 루이스 소재); 또한 R&D Systems 2006 카탈로그, R&D Systems(미네소타주 미니애폴리스 소재) 참조)으로부터 용이하게 이용 가능한 방법, 장치 및 시약을 이용하여 효소 연결 면역흡착 검정법(ELISA)에 의해 또한 용이하게 결정될 수 있다.

[0227] 핵산 분자가 단백질 항원을 암호화하는 본 명세서에 개시된 약제학적 조성물 또는 백신 조성물의 면역원성을 평가하는 다른 방법은 면역블롯 및/또는 마이크로어레이에 의한 환자 혈청 또는 점막 분비를 선별하기 위한 재조합 단백질 항원을 발현하는 것이다. 단백질과 환자 샘플 간의 양성 반응은 환자가 당해 단백질에 대한 면역 반응을 시작하는 것을 나타낸다. 이 방법은 또한 단백질 항원 내에 면역우세 항원 및/또는 에피토프를 식별하는데 사용될 수 있다.

[0228] 당해 분야에 잘 알려진 통상의 검정법을 이용해서 임의의 수의 다른 면역학적 파라미터를 모니터링할 수 있다. 이것은 잘 확립된 마커 항원 시스템, 면역조직화학 또는 다른 관련 검정법을 이용하는, 예를 들어, 항체 의존적

세포-매개 세포독성(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) 검정, 2차 시험관내 항체 반응, 다양한 말초 혈액 또는 림프구 단핵 세포 하위집단의 흐름 면역세포 형광분석을 포함할 수 있다. 이들 및 기타 검정법은, 예를 들어, 문헌[Rose et al. (Eds.), *Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 5th Ed., 1997 American Society of Microbiology, Washington, D.C]에서 발견될 수 있다.

[0229] 따라서, 본 명세서에 제공된 조성물은 T_H1-형 T 림프구 반응, T_H2-형 T 림프구 반응, 세포독성 T 림프구(CTL) 반응, 항체 반응, 사이토카인 반응, 램포카인 반응, 케모카인 반응 및 염증성 반응으로부터 선택된 적어도 하나의 면역 반응을 숙주에서 유도 또는 증대시킬 수 있는 것이 상정된다. 소정의 실시형태에 있어서, 면역 반응은 사이토카인이 인터페론-감마(IFN-γ), 종양 괴사 인자-알파(TNF-α)로부터 선택된 하나 또는 복수의 사이토카인의 생산, 인터류킨이 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-16, IL-18 및 IL-23으로부터 선택된 하나 또는 복수의 인터류킨의 생산, 케모카인이 MIP-1α, MIP-1β, RANTES, CCL4 및 CCL5로부터 선택된 하나 또는 복수의 케모카인의 생산 및 기억 T 세포 반응, 기억 B 세포 반응, 효과기 T 세포 반응, 세포독성 T 세포 반응 및 효과기 B 세포 반응으로부터 선택된 림프구 반응 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 예컨대, WO 94/00153; WO 95/17209; WO 96/02555; 미국 특허 제6,692,752호; 미국 특허 제7,084,256호; 미국 특허 제6,977,073호; 미국 특허 제6,749,856호; 미국 특허 제6,733,763호; 미국 특허 제6,797,276호; 미국 특허 제6,752,995호; 미국 특허 제6,057,427호; 미국 특허 제6,472,515호; 미국 특허 제6,309,847호; 미국 특허 제6,969,704호; 미국 특허 제6,120,769호; 미국 특허 제5,993,800호; 미국 특허 제5,595,888호; Smith et al., 1987 J Biol Chem. 262:6951; Kriegler et al., 1988 Cell 53 :45 53; Beutler et al., 1986 Nature 320:584; 미국 특허 제6,991,791호; 미국 특허 제6,654,462호; 미국 특허 제6,375,944호 참조.

[0230] 본 명세서에 제공된 조성물의 효능은 또한 관심대상 감염 병원체를 가진 적절한 동물 모델을 시험감염시킴으로써 생체내에서 결정될 수 있다.

[0231] 본 명세서에 기재된 조성물은 하나 이상의 박테리아 병원체, 예컨대, 네이세리아 종, 예를 들어, 엔. 고노레아 및 엔. 메닌기티디스(예를 들어, 피막 다당류 및 이의 접합체, 트랜스페린-결합 단백질, 락토페린 결합 단백질, PilC, 부착소); 에스. 피요게네스(예를 들어, M 단백질 또는 이의 단편, C5A 프로테아제, 리포테이코산), 에스. 아갈락티아, 에스. 뮤탄스: 에이치. 두크레이: 모락셀라 종, 예를 들어, 브란하멜라 카타랄리스로도 공지된 엠. 카타랄리스(예를 들어, 고분자량 및 저분자량 부착소 및 인바신); 보르데렐라 종, 예를 들어, 비. 페르투시스(예를 들어, 페르탁틴, 페르투시스 독소 또는 이의 유도체, 섬모성 적혈구응집원, 아데닐레이트 시클라제, 펌브리아), 비. 파라페르투시스 및 비. 브론키셉티카; 마이코박테륨 종, 예를 들어, 엠. 투베르콜로시스(예를 들어, ESAT6, 항원 85A, -B 또는 -C), 엠. 보비스, 엠. 레프라에, 엠. 아비움, 엠. 파라투베르콜로시스, 엠. 스메그마티스; 레지오넬라 종, 예를 들어, 엘. 뉴모필라; 에스체리치아 종, 예를 들어, 장독소 이. 콜라이(예를 들어, 콜로니화 인자, 열-불안정 독소 또는 이의 유도체, 열-안정 독소 또는 이의 유도체), 장출혈 이. 콜라이, 장병원성 이. 콜라이(예를 들어, 쇠가 독소-유사 독소 또는 이의 유도체); 비브리오 종, 예를 들어, 브이. 콜레라(예를 들어, 콜레라 독소 또는 이의 유도체); 쇠겔라 종, 예를 들어, 에스. 손네이, 에스. 디센테리아에, 에스. 플렉스네리; 예르시니아 종, 예를 들어, 와이. 엔테로콜리티카(예를 들어, Yop 단백질), 와이. 페스티스, 와이. 슈도투베르콜로시스; 캄필로박터 종, 예를 들어, 씨. 제주니(예를 들어, 독소, 부착소 및 인바신) 및 씨. 콜리; 살모넬라 종, 예를 들어, 에스. 티피. 에스. 파라티피, 에스. 콜레라에수이스, 에스. 엔테리티디스; 리스테리아 종, 예를 들어, 엘. 모노사이토게네스; 헬리코박터 종, 예를 들어, 에이치. 파일로리(예를 들어, 우레아제, 카탈라제, 공포형성 독소); 슈도모나스 종, 예를 들어, 피. 아에루기노사; 스타필로코커스 종, 예를 들어, 에스. 아우레우스, 에스. 에피테르미디스; 엔테로코커스 종, 예를 들어, 이. 파에칼리스, 이. 파에슘; 클로스트리듐 종, 예를 들어, 씨. 테타니(예를 들어, 과상풍 독소 및 이의 유도체), 씨. 보툴리눔(예를 들어, 보툴리눔 독소 및 이의 유도체), 씨. 디피실(예를 들어, 클로스트리듐 독소 A 또는 B 및 이의 유도체); 바실러스 종, 예를 들어, 비. 안트라시스(예를 들어, 보툴리눔 독소 및 이의 유도체); 코리네박테륨 종, 예를 들어, 씨. 디프테리아에(예를 들어, 디프테리아 독소 및 이의 유도체); 보렐리아 종, 예를 들어, 비. 부르그도르페리(예를 들어, OspA, OspC, DbpA, DbpB), 비. 가리니(예를 들어, OspA, OspC, DbpA, DbpB), 비. 아프겔리(예를 들어, OspA, OspC, DbpA, DbpB), 비. 안데르소니(예를 들어, OspA, OspC, DbpA, DbpB), 비. 헤름시; 에를리키아 종, 예를 들어, 이. 에퀴 및 인간 과립구 에를리히증의 물질; 리케자 종, 예를 들어, 알. 리켓치; 클라미디아 종, 예를 들어, 씨. 트라초마티스(예를 들어, MOMP, 헤파린 결합 단백질), 씨. 뉴모니아에(예를 들어, MOMP, 헤파린 결합 단백질), 씨. 프시타시; 렙토스피라 종, 예를 들어, 엘. 인테로간스; 트레포네마 종, 예를 들어, 티. 팔리듐(예를 들어, 희귀 외막 단백질), 티. 덴티콜라, 티. 하이오디센테리에; 또는 기타 박테리아 병원체에 대한 방어 면역을 증대시키는데 사용될 수 있다.

[0232]

본 명세서에서 기재된 조성물은 바이러스에 대한 방어 면역을 증대시키는데 사용될 수 있다. 이러한 바이러스 및 바이러스 항원은, 예를 들어, HIV-1(예컨대, tat, nef, gp120 또는 gp160), 인간 헤르페스 바이러스, 예컨대, gD 또는 이의 유도체 또는 즉각적 초기 단백질, 예컨대, HSV1 또는 HSV2 유래의 ICP27, 사이토메갈로바이러스(특히, 인간, 예컨대, gB 또는 이의 유도체), 로타바이러스(생-약독화 바이러스 포함), 앱스타인 바이러스(예컨대, gp350 또는 이의 유도체), 바리셀라 조스터 바이러스(예컨대, gpl, II 및 IE63), 또는 간염 바이러스, 예컨대, B형 간염 바이러스(예를 들어, B형 간염 표면 항원 또는 이의 유도체), A형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스 및 E형 간염 바이러스로부터, 또는 다른 바이러스 병원체, 예컨대, 파라미소바이러스: 호흡기 세포융합 바이러스(예컨대, F 및 G 단백질 또는 이의 유도체), 파라인플루엔자 바이러스, 홍역 바이러스, 볼거리바이러스, 인간 유두종 바이러스(예를 들어, HPV6, 11, 16, 18 등), 플라비바이러스(예를 들어, 뎅기열 바이러스, 일본 뇌염 바이러스, 황열 바이러스, 지카 바이러스, 포스와난 바이러스(Poswanan virus), 진드기-매개 뇌염 바이러스) 또는 인플루엔자 바이러스(예그 또는 MDCK 세포에서 성장한 완전 생 또는 불활성화된 바이러스, 스플릿 인플루엔자 바이러스, 또는 완전 플루 비로솜(whole flu virosome)(문헌[Gluck, Vaccine, 1992, 10, 915-920]에 기재된 바와 같음) 또는 이의 정제된 또는 재조합 단백질, 예컨대, HA, NP, NA, PB1, PB2, PA, NS1 또는 M 단백질, 또는 이들의 조합을 포함한다. 본 개시내용에 따르면, 본 명세서에 기재된 조성물은 웨스트 나일 활기에 대한 보호성 면역력을 유도 또는 증대시키지 않는다.

[0233]

본 명세서에서 기재된 조성물은 하나 이상의 기생충(예를 들어, 문헌[John, D.T. and Petri, W.A., *Markell and Voge's Medical Parasitology-9th Ed.*, 2006, WB Saunders, Philadelphia; Bowman, D.D., *Georgis' Parasitology for Veterinarians-8th Ed.*, 2002, WB Saunders, Philadelphia] 참조), 예컨대, 플라스모蘼 종, 예를 들어, 피. 팔시파룸; 톡소플라스마 종, 예를 들어, 티. 곤디(예를 들어, SAG2, SAG3, Tg34); 엔타모에바 종, 예를 들어, 이. 히스톨리티카; 바베시아 종, 예를 들어, 비. 마이크로티; 트리파노소마 종, 예를 들어, 티. 크루지; 기아르디아 종, 예를 들어, 지. 람블리아; 리슈마니아 종, 예를 들어, 엘. 메이; 뉴모사이스티스 종, 예를 들어, 피. 카리니; 트리초모나스 종, 예를 들어, 티. 바기날리스; 또는 포유류를 감염시킬 수 있는 연충, 예컨대, (i) 선충 감염(엔테로비우스 베르미큘라리스, 아스카리스 룸브리코이데스, 트리추리스 트리추리아, 네카터 아메리카누스, 안사일로스토마 듀오데날레, 우체레리아 반크로프티, 브루기아 말라위, 온쵸세르카 볼불루스, 드라칸쿨루스 메디넨시스, 트리치넬라 스피랄리스 및 스트론길로이데스 스테르코랄리스를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음); (ii) 흡충 감염(스키스토소마 만소니, 스키스토소마 헤마토비움, 스키스토소마 야포니쿰, 스키스토소마 메콘기, 오피스토르치스 시넨시스, 파라고니무스 종, 패시올라 헤파티카, 패시올라 마그나, 패시올라 기간티카를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음); 및 (iii) 촌충 감염(타에니아 사기나타 및 타에니아 솔리움을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않음)에 대한 방어 면역을 증대시키는데 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항원은 스키스토소마 종, 스키스토소마 만소니, 스키스토소마 헤마토비움 및/또는 스키스토소마 야포니쿰으로부터 유래되거나, 효모, 예컨대, 칸디다 종, 예를 들어, 씨. 알비칸스; 크립토코커스 종, 예를 들어, 씨. 네오포르만스로부터 유래된다. 감염성 병원체, 예컨대, 박테리아, 바이러스 또는 진균, 예를 들어, 악티노박테륨, 예컨대, 엠. 투베르쿨로시스 또는 엠. 레프라에 또는 또 다른 마이코박테륨; 박테리아, 예컨대, 살모넬라, 네이세리아, 보렐리아, 클라미디아 또는 보르데렐라 속의 구성원; 바이러스, 예컨대, 단순 포진 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스(HIV), 고양이 면역결핍 바이러스(FIV), 사이토메갈로바이러스, 바리셀라 조스터 바이러스, 간염 바이러스, 앱스타인 바 바이러스(EBV), 지카 바이러스(ZIKV), 호흡기 세포융합 바이러스, 인간 유두종 바이러스(HPV) 및 사이토메갈로바이러스; HIV 예컨대, HIV-1 또는 HIV-2; 진균, 예컨대, 아스퍼진러스, 블라스토마이세스, 코시디오이데스 및 뉴모사이스티 또는 효모, 예를 들어, 칸디다 종, 예컨대, 씨. 알비칸스, 씨. 글라브라타, 씨. 크루세이, 씨. 루시타니아에, 씨. 트로피칼리스 및 씨. 파랍실로시스; 기생충, 예컨대, 원생동물, 예를 들어, 플라스모蘼 종, 예를 들어, 피. 팔시파룸, 피. 비박스, 피. 말라리아에 및 피. 오발레; 또는 또 다른 기생충, 예컨대, 아칸타모에바, 엔타모에바 히스톨리티카, 안지오스트론길루스, 스키스토소마 만소니, 스키스토소마 하에마토비움, 스키스토소마 야포니쿰, 크립토스포리듐, 안킬로스토마, 엔타모에바 히스톨리티카, 엔타모에바 콜라이, 엔타모에바 디스파르, 엔타모에바 하르트마니, 엔타모에바 폴레기, 우체레리아 반크로프티, 기아르디아 및 리슈마니아로부터 유래된다.

[0234]

본 명세서에 기재된 조성물은 아데노암종, 맥락막 흑색종, 급성 백혈병, 청신경집종, 팽대부 암종, 항문 암종, 성상 세포종, 기저세포 암종, 혀장암, 방광암, 기관지 암종, 비소세포폐암(non-small cell lung cancer: NSCLC), 유방암, 벼켓 립프종, 코퍼스 암(corpus cancer), CUP-증후군(원발성 불명암종), 결장직장암, 소장암, 소장 종양, 난소암, 자궁내막 암종, 뇌질피복세포종, 상피암 유형, 유잉 종양, 위장 종양, 위암, 담낭암, 담낭암종, 자궁암, 자궁경부암, 자궁경관, 교모세포종, 부인과 종양, 귀, 코 및 목 종양, 혈액학적 신생물, 모발 세포 백혈병, 요도암, 피부암, 표피 고환암, 뇌종양(신경교종), 뇌전이, 고환암, 뇌하수체 종양, 카르시노이드,

카포시육종, 후두암, 생식세포 종양, 골암, 결장직장 암종, 두경부 종양(귀, 코 및 목 부위의 종양), 결장 암종, 두개인두종, 구강암(구강 부위 내 및 입술 위의 암), 중추신경계암, 간암, 간 전이, 백혈병, 눈꺼풀 종양, 폐암, 럼프절암(호지킨/비호지킨), 럼프종, 위암, 악성 흑색종, 악성 신생물형성, 위장관의 악성 종양, 유방 암종, 직장암, 수모세포종, 흑색종, 수막종, 호지킨병, 균상식육종(mycosis fungoides), 비강암, 신경초종, 신경모세포종, 신장암, 신장세포 암종, 비호지킨 럼프종, 펩지교증, 식도암종, 용골성 암종 및 골형성 암종, 골육종, 난소 암종, 췌장 암종, 음경암, 형질세포종, 두경부의 평편세포 암종(squamous cell carcinoma of the head and neck: SCCHN), 전립선암, 인두암, 직장암종, 망막아종, 질암, 갑상선 암종, 쉬니버거 질환(Schneeburger disease), 식도암, 스피날리옴(spinaliom), T-세포 럼프종(균상식육종), 흉선종, 요도암, 비교기과 종양, 요로상피 암종, 음문 암, 및 자궁경부 암종을 포함하는 암으로부터 유래된 적어도 하나의 항원에 대해서 보호성 면역력을 증대시키는데 사용될 수 있다.

[0235] 본 명세서에 기재된 조성물은 자가면역 질환, 예컨대, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 하시모토 갑상선염, 제I형 진성 당뇨병(소아 당뇨병) 및 자가면역 포도망막염으로부터 유래된 1개 이상의 항원에 대해서 보호성 면역력을 증대시키는데 사용될 수 있다. 항체-매개 자가면역 장애는 중증근무력증, 전신성 홍반 루푸스(또는 SLE), 그레이브스병, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 혈소판감소증, 자가면역 천식, 한랭글로불린혈증, 혈전성 혈소판감소성 자반병, 원발성 담도 경화증 및 악성빈혈을 포함하지만, 이들로 제한되는 것은 아니다.

[0236] 리포솜 제형, 약제학적 조성물 및 백신 조성물의 전형적인 투여 경로는, 제한 없이, 경구, 국소, 비경구, 설하, 협측, 직장, 질, 정맥내, 피부내, 경피, 비강내, 점막내 또는 피하를 포함한다. 몇몇 예시적인 실시형태에 있어서, 리포솜 제형, 약제학적 조성물 및 백신 조성물의 투여는 근육내, 안구, 비경구 또는 폐를 통해서 행해진다.

[0237] 바람직한 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 리포솜 제형, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 본 명세서에 기재된 백신 조성물을 투여하는 방법은 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 증대시킨다.

[0238] 바람직한 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 리포솜 제형, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 본 명세서에 기재된 백신 조성물을 투여하는 방법은 암, 감염성 질환 또는 자가면역 질환을 앓고 있는 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 증대시킨다.

[0239] 예시적인 실시형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 리포솜 제형, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 본 명세서에 기재된 백신 조성물을 투여하는 방법은 암, 감염성 질환 또는 자가면역 질환을 앓고 있는 대상체에서 면역 반응을 유도 또는 증대시킨다.

[0240] 또한, 본 개시내용의 치료 방법은 본 개시내용의 조성물을 단독으로 또는 기타 제제와 함께 투여하는 것을 포함할 수 있고, 그와 같이 치료적 백신은 더 넓은 치료적 처치 요법의 부분으로서 복수의 치료 성분 중 하나일 수 있는 것이 이해될 것이다.

[0241] 위에서 기재된 각종 실시형태는 추가의 실시형태를 제공하기 위하여 조합될 수 있다. 본 명세서에 언급되고/되거나 출원 데이터 시트에 열거된 모든 미국 특허, 미국 특허 출원 공개, 미국 특허 출원, 외국 특허, 외국 특허 출원 및 비특허 간행물은 이들의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 편입된다. 본 실시형태의 양상들은, 필요에 따라, 다양한 특허, 출원 및 간행물의 개념을 이용해서 더욱 추가의 실시형태를 제공하도록 변형될 수 있다.

실시예

[0243] 실시예 1: 리포솜 제형 GLA-LSQ(예컨대, LPS로서 GLA* 또는 SLA), 사포닌으로서의 Q21, 스테롤로서의 콜레스테롤, 및 인지질로서의 다이올레일 포스파티딜콜린 및 GLA*-LSQ 제형 또는 SLA-LSQ 제형의 1:125의 사포닌 대 스테롤 중량비를 갖는 것의 합성을 위한 예시적인 방법.

[0244] 예시적인 GLA*-LSQ 또는 SLA-LSQ 리포솜 제형을 제조하기 위하여, GLA* 또는 SLA를 먼저 유리제 둥근-바닥 플라스크에서 클로로폼 중 다이올레일 포스파티딜콜린 및 콜레스테롤(4:1의 인지질:콜레스테롤 w:w 비)과 혼합하고 나서 진공하에 클로로폼을 증발시키고 얻어진 박막을 인산염 완충액으로 수화시킨다. 수욕 초음파 처리(10-mL 규모에 대해서) 또는 고압 균질화 처리(100mL 초과 규모에 대해서)는 입자 크기를 나노 치수(동적 광산란[DLS]에 기초한 70 내지 130nm 평균 크기)로 균질하게 저감시킨다. 고압 균질화 처리는 20,000 psi, 10 내지 15°C에서의 마이크로플루이딕스 110EH 또는 110P 마이크로플루이다이저 모델, 및 5회 균질화 처리 통과를 이용해서 수행된다. QS21 분자는 조질의 사포닌 혼합물 Quil A의 HPLC 정제를 통해서 얻어진다. QS21은 별도로 인산염 완충액에 용해되고, 이어서 제조된 SLA- 또는 GLA*-리포솜에 혼합되어 멸균 여과된다. 이 과정은 현재 재현 가능하고 강건(robust)하다. 예시적인 최종 제조된 제품은 0.22- μm 필터(Millipore Steripak GP10)로 필터-멸균되고, 투여 전 항원과 1:1 혼합하기 위하여 현재 설계된, 4 mg/mL DOPC, 1 mg/mL 콜레스테롤, 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GLA* 또는

SLA, 및 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ QS21을 함유한다. 제조 후, 제형은, 5°C에서 저장되고, 제조 시에 그리고 제조일 후 1주, 2주, 1개월, 3개월, 6개월, 12개월 등에 (DLS를 통한) 입자 크기의 측정 및 시각적 외관을 포함하는 안정성 모니터링 프로그램 상에 배치한다. 또한, GLA* 또는 SLA 및 QS21 농도는 제조 시에 그리고 제조일 후 6개월, 12개월 등에 하전 에어로졸 검출(CAD)과 함께 HPLC에 의해 측정된다. IDRI에서 제조된 배취에서, 입자 크기 및 애주번트 농도 모니터링은 SLA-LSQ 및 GLA*-LSQ 제형에 대해서 양호한 안정성을 나타낸다. 샘플은 또한 가속된 안정성 모니터링을 위하여 더 높은 온도(25°C, 37°C 및 60°C)에서 저장된다.

[0245] 실시예 2: BCG-프라이밍된 기니픽에서의 부스트로서 ID93 +GLA-SE 및 ID93 + GLA-LSQ의 비교.

[0246] 이 연구의 목표는 BCG 프라이밍된 기니픽에서 ID93 백신과 함께 사용하기 위한 선택적 애주번트 제형을 결정하기 위한 것이다. ID93 백신은 독력(virulence) 및 잠재성과 연관된 4 Mtb 단백질로부터의 융합 단백질로서 제형화된 재조합 소단위 백신 항원이다(Rv2608, Rv3619, Rv3620 및 Rv1813). 최종 891 아미노산 융합 단백질은 93kDa의 예상 질량을 갖는다. ID93은 2가지 상이한 애주번트 제형인 GLA*-SE 및 GLA*-LSQ와 조합하여 시험되었고 BCG-프라이밍 기니픽에서의 백신의 보호성 효능이 결정되었다. 80마리의 암컷 기니픽이 BCG로 피부내 프라이밍된 연구에 사용되었고, 3개월 동안 유지시켰다. ID93 백신에 의한 면역화는 3회, 3주 간격으로 행하였다(0, 21 및 42일). 3차 면역화 후 10주에 저용량 에어로졸($1.17 \times 10^7 \text{ cfu}/\text{ml}$) 엠. 투베르콜로시스 베이징(*M. tuberculosis Beijing*) 4619로 시험감염시킨다. ID93 용량은 10 μg 였다. 애주번트 A는 5 μg GLA* 및 2 μg QS21을 갖는 GLA*-LSQ였다. 애주번트 B는 GLA-SE(5 μg GLA)였다. 제1군은 BCG로 프라이밍되지 않은 유일한 군이었고 식염수 단독 투여되었고, 제2군은 식염수 투여되었으며, 제3군은 애주번트 A 투여되었고, 제4군은 ID93 및 애주번트 A 투여되었으며, 제5군은 ID93 및 애주번트 B 투여되었다.

[0247] 감염 후 60일에, ID93-GLA-SE 백신은, BCG-프라이밍 군과 유사하게, 식염수 대조군에 비해서 폐 및 비장에서 유의하게 저감된 박테리아 부하를 지녔다. 또한, ID93-GLA-SE군은 식염수군에 비해서 종격림프절에서 감소된 박테리아를 지닌 반면, BCG-프라이밍 군에서의 박테리아의 저감은 이 시점에서 통계학적으로 유의하지 않았다. BCG-프라이밍 군에 비해서 개선된 생존율을 나타내는 유일한 군은 ID93+GLA-LSQ였다. ID93+GLA-LSQ는 식염수군에 비해서 감염 후 30일 및 60일 둘 다에서 비장에서 유의하게 저감된 박테리아를 지녔지만, 폐 또는 MDL에서 박테리아의 유의한 저감은 없었다.

[0248] 실시예 3: 건강한 성인 대상체에서 근육내 투여된 백신 후보 ID93 + GLA*-LSQ 및 ID93 + GLA-SE의 안전성, 내약성 및 면역원성을 평가하기 위한 1상, 무작위화, 이중맹검 임상시험.

[0249] 무작위화, 이중맹검 임상 시험은 18 내지 49세의 70명의 건강한 성인에서 단독 또는 GLA-SE 또는 GLA*-LSQ 애주번트와 제형화되거나 또는 단독의 ID93 재조합 단백질 항원의 안전성, 내약성 및 면역원성의 평가를 진행 중이다. 4개의 치료군이 이하의 표 1에 개요되어 있다. 대상체는 1, 29 및 57일에 근육내로 총 3회 용량을 투여 받았다. 대상체는 각 연구 주사 직전 및 주사 후 7일에 행한 안전성 실험실 분석을 비롯하여 대략 422일(제3 연구 주사 후 365일) 동안 모니터링될 것이다. 혈액 샘플은 면역학적 검정법(Luminex, 1 및 71일에 세포내 사이토카인 염색, 1 및 85일에 항체 분석)을 위하여 얻어질 것이다.

표 1

군	N	연구 주사	연구 주사 타이밍
1	20	10 μg ID93 + 5 μg GLA*-LSQ	1, 29, 57일
2	20	10 μg ID93 + 10 μg GLA*-LSQ	1, 29, 57일
3	20	10 μg ID93 + 5 μg GLA-SE	1, 29, 57일
4	10	10 μg ID93	1, 29, 57일

[0250]

[0251] 글루코파라노실 지질 A(GLA*)는 합성 틀-유사 수용체 4(TLR4) 작용제이다. GLA는 애주번트 제형 GLA-SE를 수득하기 위하여 안정적인 수중유 에멀션(SE)에 제형화된다. GLA 분자의 TLR4 활성도로 인해, 재조합 단백질 항원(ID93)과 GLA-SE의 조합은 Th1-형 T 세포 반응을 초래한다. GLA*-LSQ는 GLA 및 사포닌 QS-21을 포함하는 리포

솜 제형이다. 리포솜과 제형화된 GLA은 장인한 면역 반응을 자극시키는 것으로 제시되었지만, QS-21과 같은 추가의 면역자극 리간드의 첨가는 Th1 면역 반응을 증가시킨다(Christensen D et al., *Expert Rev Vaccines* 2011; 10:513-21). QS-21은 비누 껍질 나무(soap bark tree)(쾰라야 사포나리아)로부터 유래되고, IFN γ 및 TNF를 발현하고 많은 항원에 대해서 세포독성 T 림프구를 생산하는 CD4 T 세포 둘 다를 유도하는 것으로 제시되었다.

[0252]

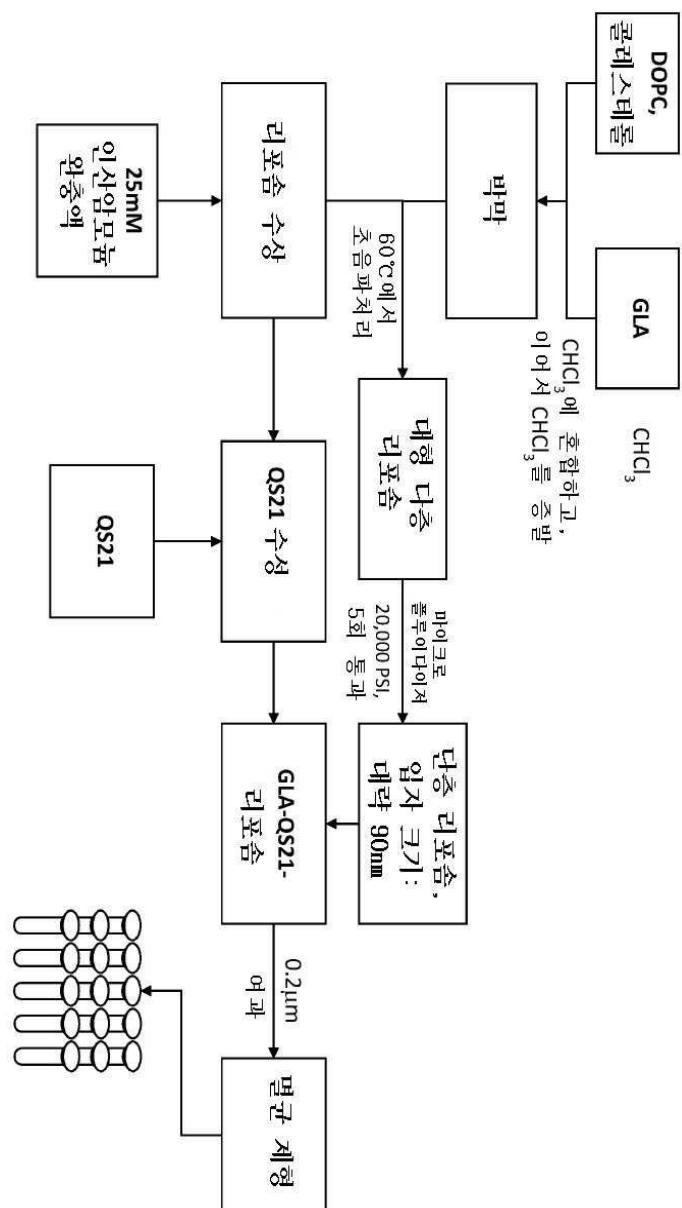
GLA*는 애주번트 GLA*-LSQ를 생성하기 위하여 QS-21를 갖는 리포솜 조성물(LSQ)로 제형화되고 단일 사용 바이알에서 8 µg/ml QS-21과 조합된 20 µg/ml GLA*로서 공급된다. GLA*-LSQ는 탁한 액체로서 보인다. 각각의 2ml 바이알은 0.4ml의 충전 용적을 함유하고 2 내지 8°C에서 저장되어야 한다. 이는 주사 재구성 절차에 관한 사용법이다: 제1군: 10µg ID93 + 5µg GLA*-LSQ: 위에서 기재된 바와 같이 1.25ml의 WFI를 첨가함으로써 ID93의 바이알을 재구성한다(농도: 80 µg/ml ID93). GLA*-LSQ의 0.4ml 바이알에 0.2ml의 재구성된 ID93 및 0.2ml의 WFI를 첨가하고, 철저하게 혼합한다. 이 최종 혼합된 바이알의 총 용적은 이제 0.8ml(농도: 20 µg/ml ID93; 10 µg/ml GLA)이다. 1ml 시린지에 0.5ml 초과의 혼합된 제제를 뽑아내고 나들을 IM 주사용의 23-25-케이지 1-1½-인치 니들로 교체한다. 어떠한 기포라도 제거하고 시린지를 프라이밍시켜 0.5ml(10µg ID93 및 5µg GLA)를 전달한다. 요구된 용량이 투여되는 것을 확실하게 하기 위하여 용량 제제 및 시린지에 대해서 표준 병원 방침을 고수한다. 제2군: 10µg ID93 + 10µg GLA*-LSQ: 위에서 기재된 바와 같이 1.25ml의 WFI를 첨가함으로써 ID93의 바이알을 재구성한다(농도: 80 µg/ml ID93). 0.15ml의 재구성된 ID93, 0.45ml의 WFI 및 0.2ml의 GLA*-LSQ를 GLA*-LSQ의 별도의 0.4ml 바이알에 첨가하고, 철저하게 혼합한다. 이 최종 혼합된 바이알의 총 용적은 이제 1.2ml(농도: 10 µg/ml ID93; 10 µg/ml GLA)이다. 2.5 또는 3ml 시린지에 1.0ml 초과의 혼합된 제제를 뽑아내고 IM 주사용 23-25-케이지 1-1½-인치 니들로 교체한다. 어떠한 기포라도 제거하고 시린지를 프라이밍시켜 1.0ml(10µg ID93 및 10µg GLA*)를 전달한다. 요구된 용량이 투여되는 것을 확실하게 하기 위하여 용량 제제 및 시린지에 대해서 표준 병원 방침을 고수한다. 제3군: 10µg ID93 + 5µg GLA*-SE: 위에서 기재된 바와 같이 1.25ml의 WFI를 첨가함으로써 ID93의 바이알을 재구성한다(농도: 80 µg/ml ID93). 0.2ml의 재구성된 ID93 및 0.2ml의 WFI를 GLA-SE의 0.4ml 바이알에 첨가하고, 철저하게 혼합한다. 이 최종 혼합된 바이알의 총 용적은 이제 0.8ml(농도: 20 µg/ml ID93; 10 µg/ml GLA)이다. 1ml 시린지에 0.5ml 초과의 혼합된 제제를 뽑아내고 나들을 IM 주사용 23-25-케이지 1-1½-인치 니들로 교체한다. 어떠한 기포라도 제거하고 시린지를 프라이밍시켜 0.5ml(10µg ID93 및 5µg GLA*)를 전달한다. 요구된 용량이 투여되는 것을 확실하게 하기 위하여 용량 제제 및 시린지에 대해서 표준 병원 방침을 고수한다. 제4군: 10µg ID93 단독: 위에서 기재된 바와 같이 1.25ml의 WFI를 첨가함으로써 ID93의 바이알을 재구성한다(농도: 80 µg/ml ID93). 멸균 빈 바이알에 0.3ml의 재구성된 ID93 및 0.9ml WFI를 첨가하고 철저하게 혼합한다. 이 최종 혼합된 바이알의 총 용적은 이제 1.2ml(농도: 20 µg/ml ID93)이다. 1ml 시린지에 0.5ml 초과의 혼합된 제제를 뽑아내고, 나들을 IM 주사용 23-25-케이지 1-1½-인치 니들로 교체한다. 어떠한 기포라도 제거하고 시린지를 프라이밍시켜 0.5ml(10µg ID93)를 전달한다. 요구된 용량이 투여되는 것을 확실하게 하기 위하여 용량 제제 및 시린지에 대해서 표준 병원 방침을 고수한다.

[0253]

ID93에 대한 IgG 항체 반응에 의해 측정된 항체 반응은 기술적 통계를 이용해서 연구일(1일 및 85일)에 요약될 것이다. 기준치로부터 각 방문자로의 변화가 제시될 것이다. 각 용량에 대해서 시간 경과에 따른 면역학적 반응 데이터의 그래프는 신뢰 한계로 제시될 것이다. IgG 및 사이토카인의 반응률은 정확한 신뢰 간격으로 제시되고 피셔의 추출 시험을 이용해서 처리군들 간에 비교될 것이다. 사이토카인 농도의 크기는, 데이터가 정상으로 분포될 경우 변량의 분석, 또는 데이터 분포가 비-가우스인 사건에서 적절한 비-파라미터 분석 방법을 사용해서 비교될 것이다.

도면

도면1



도면2

