



등록특허 10-2725852



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년11월05일
(11) 등록번호 10-2725852
(24) 등록일자 2024년10월30일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 33/30 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 47/34 (2017.01) *A61K 47/55* (2017.01)
A61K 47/64 (2017.01) *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 9/28 (2006.01) *A61K 9/50* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

- (52) CPC특허분류
A61K 33/30 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)

- (21) 출원번호 10-2020-7014679
(22) 출원일자(국제) 2018년10월29일
심사청구일자 2021년10월27일
(85) 번역문제출일자 2020년05월22일
(65) 공개번호 10-2020-0080271
(43) 공개일자 2020년07월06일
(86) 국제출원번호 PCT/SG2018/050544
(87) 국제공개번호 WO 2019/088919
국제공개일자 2019년05월09일

- (30) 우선권주장
10201708886R 2017년10월30일 싱가포르(SG)

- (56) 선행기술조사문헌
Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -
Molecular Cell Research; 2012; 1823; 544-577
JP2010526159 A
WO2007043606 A1

전체 청구항 수 : 총 22 항

심사관 : 여경숙

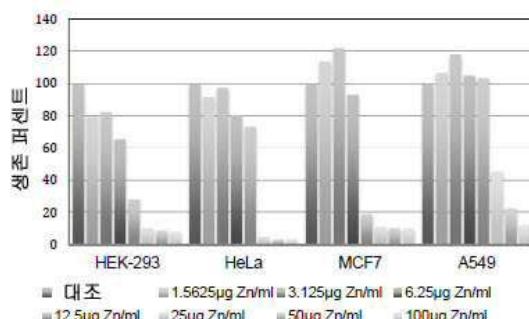
- (54) 발명의 명칭 알파-폴리글루탐산-아연을 포함하는 암 치료용 조성물

(57) 요약

본 발명은 아연²⁺ 염 및 α-폴리글루탐산 담체, 및 선택적으로 종양-민감제로서 NF-kB 억제제를 포함하는 제약 조성물, 및 이러한 조성물을 사용하여 환자의 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 치료적 유효량의 Zn(II) 염 및 α-폴리글루탐산 담체의 액체 투약형 또는 고체 투약형을 필요로 하는 환자에게 투여하는 단계를

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도2



포함한다. 개시된 조성물을 사용하여 약물-내성 표현형을 갖는 종양을 비롯한 광범위한 인간 종양을 치료하는 방법이 제공된다. 본원에 개시된 제약 조성물에 반응하는 종양은 신경내분비 (신경모세포종), 위, 자궁 및 폐 종양을 포함한다.

(52) CPC특허분류

A61K 47/34 (2013.01)

A61K 47/551 (2017.08)

A61K 47/64 (2017.08)

A61K 47/645 (2017.08)

A61K 9/0019 (2013.01)

A61K 9/2866 (2013.01)

A61K 9/5063 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

환자의 종양을 치료하기 위한 PARP1-매개 종양 괴사를 유도하는 제약 조성물로서, 상기 제약 조성물은 일 투약 형의 α -폴리글루탐산 담체중에 α -폴리글루탐산의 카르복실레이트 모이어티에 착체화된 치료적 유효량의 Zn(II)을 포함하고;

상기 α -폴리글루탐산 담체는, α -폴리글루탐산, 종양-표적화 α -폴리글루탐산, 전하-변형된 α -폴리글루탐산, 및 종양-표적화 전하-변형된 α -폴리글루탐산으로부터 선택되는 1 또는 그 이상의 담체를 포함하는 것인, 제약 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 종양은 약물-내성 표현형을 가짐을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 상기 약물-내성 표현형은 기능이상 p53임을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 상기 약물-내성 표현형은 MDR1 과발현임을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 5

청구항 2에 있어서, 상기 약물-내성 표현형은 MRP1 과발현임을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 6

청구항 1-5 중 어느 한 항에 있어서, 상기 Zn(II) 및 상기 α -폴리글루탐산 담체는 치료량의 NF- κ B 억제제와 조합하여 치료량의 투약형으로서 제제화되는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 투약형은 고체 투약형 또는 액체 투약형으로서 제제화되는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 상기 투약형은 고체 투약형이고, 정제, 미니탭, 경질 캡슐, 연질 캡슐, 캐플릿, 갤캡, 경구 봉해 필름, 과립, 펠렛, 페이스트 및 분말 샤텁제로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 9

청구항 7에 있어서, 상기 투약형은 액체 투약형이고, 액체 용액, 액체 혼탁액, 시럽 및 경구 스프레이로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 10

청구항 7에 있어서, 상기 액체 투약형은 경구 투여 및 주사 투여로 투여되도록 제제화되는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 11

환자의 종양을 치료하기 위한 제약조성물로서, (i) α -폴리글루탐산의 카르복실레이트 모이어티에 착체화된 제약상 허용되는 Zn(II) 및 (ii) 종양-표적화 모이어티 및 전하-변형된 모이어티로부터 선택된 하나 이상의 모이

어티로 변형된 α -폴리글루탐산을 포함하는 α -폴리글루탐산 담체를 포함하는 것인, 제약 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 상기 종양-표적화 모이어티는 엽산, ^5N , ^{10}N -디메틸 테트라하이드로폴레이트, 및 RGD 웨티드에서 선택되며, 상기 모이어티들의 임의의 조합은 α -폴리글루탐산에 공유 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 13

청구항 11 또는 12에 있어서, 상기 전하-변형된 모이어티는 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산, 1,4,7,10-테트라사이클로도데칸- $\text{N},\text{N}',\text{N}'',\text{N}'''$ -테트라아세트산, 및 디에틸렌트리아민 펜타아세트산에서 선택되며, 상기 모이어티들의 임의의 조합은 α -폴리글루탐산에 공유 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 14

청구항 11에 있어서, (iii) α -폴리글루탐산을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

청구항 11에 있어서, 상기 조성물은 NF-kB 억제제를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 18

청구항 11에 있어서, 상기 조성물은 고체 투약형으로 제제화되는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 상기 고체 투약형은 위-내성 결합제 및 위-내성 외부 코팅제로부터 선택된 하나 이상의 위-내성 재료를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 20

청구항 11에 있어서, 상기 조성물은 액체 투약형으로 제제화되는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 상기 액체 투약형은 주사용인 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 22

청구항 20 또는 21에 있어서, 상기 액체 투약형은 위-내성 재료를 추가로 포함하는 제약 조성물의 혼탁액임을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 23

청구항 11에 따른 제약 조성물을 포함하는, 환자의 종양을 치료하기 위한 것인, 제약 조성물.

청구항 24

청구항 23에 있어서, 상기 종양은 기능이상 p53, MDR1 과발현, 및 MRP1 과발현에서 선택된 약물-내성 표현형을 갖는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 발명의 분야

[0002] 본 발명은 알파-폴리글루탐산 (α -PGA) 담체 및 아연 염, 그리고, 선택적으로, NF-kB 억제제를 포함하는 조성물, 이의 제약학적 제제, 그리고 환자의 암을 치료하기 위한 항종양제로서의 이러한 조성물 및 제제의 사용 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0003] 발명의 배경

[0004] 암 약물에 대한 선천 및 후천적 약물 내성을 암 치료 실패의 주요 원인이다. 내성에 대한 일반적인 메커니즘은 p53 세포자멸 단백질의 기능장애 및/또는 MDR1 또는 MRP1 유전자에 의해 인코드되는 에너지-의존성 약물 배출 펌프의 과발현을 포함한다. 약물 내성 문제를 극복하기 위한 하나의 종양파괴 전략은 기능장애 p53 세포자멸 기능을 개별적으로 교정하거나 약물 배출 펌프를 억제하는 것이다. 대안적인 접근법은 p53-매개 세포자멸 메커니즘을 우회하는 PARP1-매개 에너지 고갈-유도된 괴사성 세포 사멸 메커니즘(“매개 괴사”)을 함께 이용하는 것이다.

[0005] 심장 또는 뇌 조직의 허혈후 괴사에서 초기에 관찰된 PARP1-매개 괴사는, PARP1 효소에 의한 과도한 DNA-복구 활성으로 인한 세포 에너지 (NAD^+ 및 ATP)의 고갈에 의해 유발된다. 유전자 손상에 대한 반응으로 PARP1/PARG의 과활성화는 NAD^+ 및 ATP 세포 에너지 재화(commodities)의 고갈을 유발하며, 이는 후속하여 MPTP 활성화로 인한 미토콘드리아-개시 괴사를 유발한다. 이러한 일련의 사건들을 도 1에 도시한다. 괴사 메카니즘은 p53-매개 세포자멸을 우회하기 때문에, 이 메커니즘이 암 (NPL3)을 표적화함에 사용될 수 있다고 제안되었다. 그러나, 시도했던 방법들이 너무 유독한 것으로 판명되었기 때문에, 이 아이디어를 임상적으로 유용한 치료학적 치료로 전환시키는 것에 아무도 성공하지 못했다. PARP1-매개 괴사는 과도한 방사선 노출 및/또는 독소루비신과 같은 고독성화학요법제의 투여에 의해 실험 종양에서만 유도 될 수 있었다. PARP1-매개 괴사를 활성화시키기 위해 독성 물질을 사용함에 따른 또 다른 문제는 이러한 물질이 또한 p53 단백질을 아임계 수준에서 활성화시켰으며, 그리하여 p53-유도된 PARP1 효소들의 결편화를 통해 PARP1-매개 괴사를 효과적으로 비활성화시킨다는 것이었다. 종양 내 약물 분포가 물리적 및 구조적 제약으로 인해 이질적이라는 점을 고려하면, 독성 물질들이 동시에 암 종양 덩어리의 대부분에서 PARP1을 없게 하고, 그리하여 PARP1-매개 괴사에 둔감하게 하는 것으로 추측되었다.

[0006] 많은 수의 임상 암 사례에서 해결해야 할 문제는 일부 암은 기존의 항암 약물에 고유하게 내성이고 다른 암은 전신 치료 과정에서 다약제 내성을 발달시켜 치료 실패를 가져온다는 것이다. 방사선 및 화학요법제의 과도한 투여를 통한 PARP1-매개 종양 괴사를 이용하는 것이 암을 치료하는데 사용될 수 있다는 이론적 제안이 있었지만, 이러한 잠재적 결과를 구현하는 것은 치료제의 고유한 독성 및 상기 언급한 메커니즘의 고유한 자기 모순적 성질로 인해 어려웠다. 따라서, PARP1-매개 종양 괴사를 능동적으로 유도하는 것에 기반한 조성물 및/또는 치료방법을 찾아야 할 필요성이 여전히 해결되지 않고 있다. 또한, 종양 괴사 과정을 방해하거나 과도하게 독성이지 않으면서 이러한 유도인자를 종양 조직에 특이적으로 전달할 수 있는 담체 및 표적화 시스템을 포함하는 조성물 및/또는 치료 방법이 매우 바람직하다. 또한 광범위한 암 유형들 및/또는 약물 내성 특성들에 대해 요구되는 종양파괴 용량을 감소시키고, 건강한 조직에서 원치않는 유해 효과를 감소시키는 것에 대한 지속적인 요구가 존재한다.

[0007] 아연 염의 신경독성을 평가한 보고서는 간단한 아연 염 ($400 \mu\text{M}$ 또는 26 pg/mL)에서 고농도의 아연 이온이 PARP/PARG-매개 NAD^+ 및 ATP 고갈과 배양 피질 세포 (NPL6)의 후속 괴사를 유발한다고 설명한다. 그러나 이 보고서는 아연 염의 종양세포치사 활성이나 암에 대한 이의 치료적 용도에 대해서는 연구하지 않았다.

[0008] 면역 세포에 대한 징크 피리티온의 독성을 평가한 보고서는, 나노몰 농도의 징크 피리티온이 쥐과 흉선 세포, 쥐과 비장 림프구, 인간 라모스 B 및 인간 저컷 T 세포 (NPL7)를 비롯한 다양한 백혈구 유래 세포에서 아연-특이적 세포자멸을 유도함을 보여주었다. 상기 보고서는 징크 피리티온이 괴사성 세포 사멸을 차단하는 효과를 갖는 카스파제 9의 활성화를 통해 세포자멸을 유도하였음을 개시하였다 (NPL11). 종합적으로, 이들 보고서는 나노몰 용량의 징크 피리티온이 연구 면역 세포에서 세포자멸 세포 사멸은 유도하며 괴사성 세포 사멸은 유도하지 않음을 나타낸다.

[0009] 이후, 마이크로몰 농도의 징크 피리티온 ($1-10 \mu\text{M}$)은 ATP-고갈 그리고, 궁극적으로 안드로겐-의존성 LNCaP 및

안드로겐 독립성 PC3, DU145 전립선 암 세포 계통에서 ERK 및 PKC-의존성 괴사를 유도하였음이 입증되었다 (NPL2). 그러나, 괴사를 유도하기 위해 NPL2에서 사용된 징크 피리티온의 용량은 9~14일의 식이 투여 (240 ppm) 후 랫트에서 근육 위축증 및 음경 탈출증과 함께 진행성 뒷다리 약화, 운동 협응불능, 척추 후만증의 임상 증상들을 가지는 급성 신경 독성을 유발하는 것으로 기존에 밝혀졌다 (NPL10).

[0010] 따라서, 징크 피리티온이 전립선 암 세포 계통에 대한 선택적 괴사성 세포 사멸을 유발할 수 있다는 보고가 있었지만, 이러한 사멸은 해당 물질의 높은 (μM) 농도를 필요로 하였으며 (NPL2), 징크 피리티온은 이러한 농도에서 심각한 그리고 영구적인 신경독성을 유발하는 것으로 나타나 (NPL12), 이의 항종양 치료제로의 개발 시도는 이루어지지 않았다. 또한, NPL2는 다수의 암 세포 유형에 대한 광범위한 항암 활성을 나타내지 않았고, MDR1 또는 MRP1 다양체 내성 유전자 과발현으로부터 발생하는 약물 내성을 역전시키는 효능을 나타내지 않았으며, 또는 임의의 동물 암 모델에서 괴사 효능을 나타내지 않았다.

[0011] NPL5는 인슐린 모방 아연 (2+) 착물을 발달시켰으며, 제2형 당뇨병 KKA^y 마우스에서 아연 (감마-폴리글루탐산) 착물의 생체내 항당뇨 효과 뿐만 아니라 시험관내 인슐린 모방 활성을 조사하였다. 구체적으로, 이 연구는 감마-폴리글루탐산-착화 아연으로 30일 동안 체중 kg 당 10-20 mg Zn의 경구 투여가 KKA^y 마우스에서 고혈당증을 정상화하고, 손상된 포도당 내성, 상승된 HbA (1c) 수준, 및 ZnSO₄를 이용한 치료와 관련된 대사 증후군을 개선하였음을 보여주었다 (NPL5). NPL5에서 저자들은 아연 (감마-폴리글루탐산) 착물은 고혈당-저하 효과 및 인슐린의 β 세포 분비에 있어서의 장애를 완화시키는 능력 그리고 제2형 당뇨병 KKA^y 마우스의 인슐린 내성에 의한 항당뇨 효능을 가진다는 결론을 내렸으나, 이들은 착물의 인슐린 모방 활성을 담당하는 작용 메카니즘을 이해하지 못했고, 아연 (감마-폴리글루탐산) 착물에 의한 항종양 활성 또는 약물-불용성 암 유형들에 대한 이의 효과 어느 것도 어떠한 방식으로도 제시하지 못했다.

[0012] 요컨대, 해당 기술분야에서 중요한 약물-내성 특성들을 가지는 암들을 비롯한 생체내 광범위한 암을 효과적으로 치료하는 상기 언급한 목표를 구현하기 위해, 그리고 또한 심각한 독성 위험이 없이 이를 구현하기 위해 아연 화합물을 사용하는 것을 제안조차도, 심지어 성공조차도 하지 못했다. 그러므로 많은 암 유형들 그리고 약물-내성 표현형 (예컨대, 기능이상 p53, MDR1 과발현, MRP1 과발현)을 가지는 암 유형들 전반에 걸쳐 독성 문제 없이 작용하는, 암 치료를 위한 임상적으로 활성이고 안전한 아연 조성물에 대한 필요성이 여전히 충족되지 않고 있다. 또한, 생물학적 시스템 (예를 들어, 세포, 조직, 동물 등)에서의 대부분의 연구는 감마 형태의 폴리(글루탐산)을 사용해왔다. 상기 언급된 문제를 해결하기 위해 우리는 현장에서 체계적인 연구를 수행하고 폴리(α -글루탐산) 또는 α -PGA로도 지칭되는 알파 형태의 폴리(글루탐산)과의 아연 착물 제제를 개발하여, 이러한 필요성을 충족시키고 이에 따라 본 명세서에 기재된 우리의 발명을 완성하였다.

인용문헌

- [0014] NPL1. Aoki, T., Kataoka, H., Ishibashi, R., Nakagami, H., Nozaki, K., Morishita, R., and Hashimoto, N. (2009). Pitavastatin suppresses formation and progression of cerebral aneurysms through inhibition of the nuclear factor kappaB pathway. *Neurosurgery* 64, 357-365; discussion 365-356.
- [0015] NPL2. Carraway, R.E., and Dobner, P.R. (2012). Zinc pyrithione induces ERK- and PKC-dependent necrosis distinct from TPEN-induced apoptosis in prostate cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1823, 544-557.
- [0016] NPL3. Cho, Y.S., and Park, S.Y. (2014). Harnessing of Programmed Necrosis for Fighting against Cancers. *Biomolecules & Therapeutics* 22, 167-175.
- [0017] NPL4. Cvek, B., and Dvorak, Z. (2007). Targeting of nuclear factor-kappaB and proteasome by dithiocarbamate complexes with metals. *Current Pharmaceutical Design* 13, 3155-3167.
- [0018] NPL5. Karmaker, S., Saha, T.K., Yoshikawa, Y., and Sakurai, H. (2009). A Zinc(II)/poly(gamma-glutamic acid) complex as an oral therapeutic for the treatment of type-2 diabetic KKAY mice. *Macromolecular Bioscience* 9, 279-286.
- [0019] NPL6. Kim, Y.H., and Koh, J.Y. (2002). The role of NADPH oxidase and neuronal nitric oxide synthase in zinc-induced poly(ADP-ribose) polymerase activation and cell death in cortical culture. *Experimental Neurology* 177, 407-418.

- [0020] NPL7. Mann, J.J., and Fraker, P.J. (2005). Zinc pyrithione induces apoptosis and increases expression of Bim. *Apoptosis : An International Journal on Programmed Cell Death* 10, 369-379.
- [0021] NPL8. Mason, R.P. (2011). Optimal therapeutic strategy for treating patients with hypertension and atherosclerosis: focus on olmesartan medoxomil. *Vascular Health and Risk Management* 7, 405-416.
- [0022] NPL9. Nakano, A., Hattori, Y., Aoki, C., Jojima, T., and Kasai, K. (2009). Telmisartan inhibits cytokine-induced nuclear factor-kappaB activation independently of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Hypertension Research : Official Journal of the Japanese Society of Hypertension* 32, 765-769.
- [0023] NPL10. Snyder, D.R., de Jesus, C.P., Towfighi, J., Jacoby, R.O., and Wedig, J.H. (1979). Neurological, microscopic and enzyme-histochemical assessment of zinc pyrithione toxicity. *Food and Cosmetics Toxicology* 17, 651-660.
- [0024] NPL11. Uchiyama, R., Kawamura, I., Fujimura, T., Kawanishi, M., Tsuchiya, K., Tominaga, T., Kaku, T., Fukasawa, Y., Sakai, S., Nomura, T., et al. (2007). Involvement of caspase-9 in the inhibition of necrosis of RAW 264 cells infected with Mycobacterium tuberculosis. *Infection and Immunity* 75, 2894-2902.
- [0025] NPL12. Vaitilingam, B., Chelvam, V., Kularatne, S.A., Poh, S., Ayala-Lopez, W., and Low, P.S. (2012). A folate receptor- α -specific ligand that targets cancer tissue and not sites of inflammation. *The Journal of Nuclear Medicine* 53, 1127-1134.
- [0026] NPL13. Leamon, C.P., Parker, M.A., Vlahov, I.R., Xu, L., Reddy, J.A., Vetzel, M., and Douglas, N. (2002). Synthesis and biological evaluation of EC20: a new folate-derived, 99m Tc-based radiopharmaceutical. *Bioconjugate Chemistry* 13, 1200-1210.

발명의 내용

발명의 요약

- [0028] 본원에 개시된 조성물, 제약학적 제제 및 방법은 아연 및 α -폴리글루탐산 (α -PGA)의 착물이 다양한 인간 및 마우스 암 세포 계통에서 괴사성 세포 사멸을 유도 할 수 있다는 놀라운 관찰에 기반한 것이다.
- [0029] 본 발명은 PARP1-매개 괴사성 세포 사멸 메커니즘을 유발하는 아연-함유 α -폴리글루탐산 조성물에 관한 것이다. 이론에 의해 제한되지 않고, 아연은 PARP1을 과-활성화시키고, 이는 결국 세포에서 ATP 및 NAD⁺의 고갈을 초래한다. 결과적으로, 세포는 에너지원이 고갈된 다음 괴사성 세포 사멸 경로로 들어간다.
- [0030] 괴사를 유도하는 이러한 메커니즘은 대부분의 암 세포 유형에 유사하게 이용가능할 것으로 예상되며, 따라서 아연-함유 α -폴리글루탐산 조성물은 광범위한 종양세포치료 활성을 나타낸다. 또한, 이러한 메커니즘은 상이한 종양세포치료 메커니즘과 관련한 약물-내성 표현형을 갖는 종양이 이러한 PARP1-매개 메커니즘에 반응 할 수 있음을 또한 제시한다.
- [0031] 본 발명에 따른 조성물은 (i) 활성 성분으로서 아연(II) 종 (동일하게는, Zn²⁺) 및 (ii) 담체로서 비변형 형태 및/또는 변형된 형태의 α -PGA를 포함하며, 이 때 엽산 및/또는 RGD 종양 표적화 웹티드는 α -PGA에 공유 결합된다. 조성물은 종양 세포들을 민감화시키기 위해 (Zn(II) 및 α -PGA의 종양세포치료 효과에 보다 취약해지게 하기 위해) NF-kB 억제제 또는 NF-kB 신호전달 캐스케이드 억제제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0032] 상기 조성물은 경구 투여를 위해 제형화될 수 있다. 일부 구체예에서, 위의 강산성 환경에서 착물로부터의 아연 이온 해리를 방지, 지연 또는 약화시키기 위해 장내 결합 및 코팅제, 또는 왁스 코팅제와 같은 위-내성 재료를 포함하는 경구 제형이 제공된다.
- [0033] 본 발명은 또한 상기 언급된 조성물 및 제약학적 제제의 제조 방법 및 이의 치료 용도에 관한 것이다.
- [0034] PARP1-매개 종양 괴사를 능동적으로 유도 할 수 있는 조성물을 제공하는 것이 본 발명의 하나의 목적이며, 환자에게 독성이 없는 조성물 및 제형을 사용하여 이를 구현하는 것이 또 다른 목적이다.

- [0035] 본 발명의 또 다른 목적은 환자에서 약물 내성 표현형을 갖는 광범위한 종양 및 암 세포를 치료하는데 사용하기 위한 제약학적 제제를 제공하는 것이다.
- [0036] 본 발명의 또 다른 목적은 Zn (II)의 종양 세포로의 전달을 표적화 할 수 있는 α -PGA 담체를 포함하는 조성물을 제공하는 것이다. 또한, 본 발명의 목적은 감소된 용량 요건을 가지거나, 건강한 조직에서 원치 않는 유해효과의 프로파일이 감소된 강력한 종양세포치사 물질을 제공하는 것이다.
- [0037] 환자의 종양에서 PARP1-매개 종양 피사를 유도하는 방법의 한 구체예는 치료적 유효량의 Zn(II) 염 및 α -폴리글루탐산 담체를 종양 환자에게 투여하는 단계를 포함하고, 이 때 상기 α -폴리글루탐산 담체는 α -폴리글루탐산 및/또는 종양-표적화 α -폴리글루탐산 유도체 및/또는 전하-변형된 α -폴리글루탐산 유도체 및/또는 종양표적화 전하-변형된 α -폴리글루탐산 유도체를 포함한다. 또 다른 방법 구체예에서, 치료적 유효량의 Zn(II) 염 및 α -폴리글루탐산 담체 (달리 지시되지 않는 한, α -폴리글루탐산 담체 또는 조성물에 대한 지침은 상기 열거된 다양한 유형의 α -폴리글루탐산의 유도체들을 포함하는 조성물을 포함한다)는 약물-내성 표현형을 가지는 종양 환자에게 투여된다.
- [0038] 또 다른 방법 구체예에서, 치료 유효량의 Zn(II) 염 및 α -폴리글루탐산 담체는 치료량의 NF-kB 억제제 및/또는 NF-kB 신호전달 캐스케이드 억제제와 조합하여 투여된다.
- [0039] 한 구체예에서, 치료량의 Zn(II) 염 및 α -폴리글루탐산 담체는 고체 투약형 또는 액체 투약형으로 함께 투여된다. 몇몇 구체예들에서, 고체 투약형은 정제, 미니탭, 경질 캡슐, 연질 캡슐, 캐플릿, 젤캡, 경구 봉해 필름, 과립, 웰렛, 페이스트 및 분말 샤텟제에서 선택된다. 몇몇 구체예들에서, 액체 투약형은 액체 용액, 액체 혼탁액, 시럽 및 경구 스프레이에서 선택된다.
- [0040] 몇몇 구체예들에서, 치료량의 Zn(II) 염 및 α -폴리글루탐산 담체는 경구 투여 또는 주사 투여에 의해 함께 투여된다.
- [0041] 본 발명의 한 구체예는 (i) 제약학적으로 허용되는 Zn(II) 염, (ii) 종양-표적화 모이어티 및/또는 전하-변형 모이어티를 함유하는 α -폴리글루탐산을 포함하고, 그리고 (iii) 선택적으로 α -폴리글루탐산을 추가로 포함하는 제약 조성물이다.
- [0042] 몇몇 구체예들에서, 상기 종양-표적 모이어티는 엽산, 디메틸 테트라하이드로폴레이트 (DMTHF) 및 RGD 웨티드로부터 선택되며, 상기 모이어티의 임의의 조합은 α -폴리글루탐산에 공유 결합된다. 몇몇 구체예에서, 상기 전하-변형 모이어티는 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산, 1,4,7,10-테트라사이클로도데칸-N, N', N'', N'''-테트라아세트산 및 디에틸렌트리아민 웬타아세트산으로부터 선택되고, 상기 모이어티들의 임의의 조합은 α -폴리글루탐산에 공유 결합된다.
- [0043] 또 다른 구체예에서, 제약 조성물은 α -폴리글루탐산을 추가로 포함한다. 또 다른 구체예에서, 제약 조성물에서 상기 Zn(II) 염의 상당 부분은 α -폴리글루탐산 및/또는 상기 종양-표적화 모이어티 및/또는 상기 전하-변형 모이어티와 Zn(II) 이온의 결합 착물이다. 또 다른 구체예에서, 제약 조성물에서 Zn(II) 염 및 (ii) 상기 α -폴리글루탐산 중합체는 고체 혼합물로 함께 혼합된다.
- [0044] 또 다른 구체예에서, 제약 조성물은 NF-kB 억제제 및/또는 NF-kB 신호전달 캐스케이드 억제제를 추가로 포함한다.
- [0045] 다른 구체예들에서, 임의의 상기 제약 조성물은 고체 투약형으로 제형화된다. 몇몇 추가 구체예들에서, 고체 투약형은 위-내성 결합제 및/또는 위-내성 외부 코팅제를 추가로 포함한다. 다른 구체예들에서, 임의의 상기 제약 조성물은 액체 투약형으로 제형화된다. 일부 구체예에서, 액체 투약형은 주사용으로 제형화된다. 추가 구체예에서, 액체 투약형은 위-내성 재료를 추가로 포함하는 제약 조성물의 혼탁액이다. 추가 구체예에서, 액체 투약형은 임의의 상기 제약 조성물 및 선택적으로 위-내성 재료를 포함하는 왁스-코팅된 미립자의 혼탁액이다.
- [0046] 환자의 종양 치료 방법의 한 구체예는 제약 조성물에 관한 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 치료적 유효량의 제약 조성물을 종양 환자에게 투여하는 단계를 포함한다. 또 다른 방법 구체예에서, 치료적 유효량의 전술한 제약 조성물들은 약물-내성 표현형을 가진 종양 환자에게 투여된다.
- [0047] 이러한 그리고 그 외의 본 발명의 목적 및 특징들은 하기 본 발명의 상세한 설명 및 청구범위로부터 당업자에게 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0048] 도 1은 PARP1-매개 괴사에 관한 도식적 요약이다.

도 2는 HEK-293 세포, HeLa 세포, MCF7 세포, 및 A549 세포를 Zn(II)/ α -PGA 조성물로 처리한 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0049] 발명의 상세한 설명

[0050] 본원에 기재된 조성물, 제제 및 방법에 사용되는 성분들은 제약 용도, 식품 용도, 또는 인간 소비용 제품에서의 용도에 대해 규제 기관에 의해 허용되는 등급이다. 일부 경우 상기 성분들은 제약 등급 또는 의료 등급 화합물 또는 물질들이다.

[0051] 본원에서 사용된 약어의 의미는 다음과 같다 : "kDa"는 킬로달톤을 의미하고; "중량%"는 중량 퍼센트를 의미한다.

[0052] 아연은 아연(II) 염 (균등하게는 Zn^{2+} 염)으로서 제공되며, 반대이온 (음이온)은 임의의 적합한 무기 또는 유기 음이온 일 수 있다. 적합한 음이온은 독성이 아닌 것들을 비롯하여 인체에서 관용되는 것들이다. 일반적으로, 아연 염은 화학식 $Zn^{2+}X^{2-}$ 또는 $Zn^{2+}(X^-)_2$ 또는 심지어 $Zn^{2+}(X^-)(Y^-)$ 로 표현 될 수 있으며, 여기서 X 및 Y는 적합한 음이온이다. 음이온은 승인된 제약 성분인 음이온 그룹으로부터 선택 될 수 있다. 일부 구체예에서, 아연(II) 염은 제약상 허용되는 아연 염이며, 여기서 상기 아연(II) 염은 제약 조성물에 사용이 승인된 아연(II) 염 그룹으로부터 선택된다. 음이온은 FDA 승인 제약제품의 성분인 음이온 그룹으로부터 선택 될 수 있다. 일부 구체예에서, 아연(II) 염은 제약상 허용되는 아연 염이다. 다른 구체예에서, 음이온은 승인된 식품 첨가물 또는 영양 보충제의 성분인 음이온 그룹으로부터 선택 될 수 있다. 아연 염의 예는 염화 아연, 황산 아연, 시트르산 아연, 아세트산 아연, 피콜린산 아연, 클루콘산 아연, 아미노산-아연 칼레이트, 가령, 글리신산 아연, 또는 해당 분야에 공지되고 사용된 다른 아미노산을 포함한다. 둘 이상의 상이한 아연 염은 임의의 비율로 함께 사용되어, 임의의 조성물 또는 제제에 Zn(II)을 제공할 수 있다.

[0053] 일부 구체예에서, Zn(II)는 조성물 또는 제제에서 α -폴리글루탐산 화합물에 착물을 형성하여 제공된다. 전형적으로, 착물 형태의 Zn(II) 및 α -PGA ("ZnPGA")가 제공 될 때, ZnPGA가 정제되고 유리 Zn(II) 이온 및 Zn 양이온에 대한 본래 반대이온이 공정에서 실질적으로 제거된다.

[0054] 단일 고체 투약형에 포함된 아연의 양은 일반적으로 약 1 내지 약 100 mg의 아연 (아연(II) 이온)의 범위이다. 따라서, 염의 양은 반대이온의 중량을 고려해야 하기 때문에 제제화된 조성물에 사용되는 아연 염(들)의 특정 양은 더 커질 것이다. 아연(II)만을 고려하면, 투약형으로 제공되는 양은 최대 약 100mg, 최대 약 75mg, 최대 약 50mg, 최대 약 25mg, 최대 약 10mg의 아연 또는 최대 약 5 mg 일 수 있다. 고체 투약형으로 제공되는 아연(II)의 양은 일반적으로 약 1 mg 이상이다. 비교하여, 일반적으로 이용 가능한 보충제는 예를 들어 20, 25, 30, 50, 75 및 심지어 100 mg의 아연을 제공한다. 제공되는 양이 생리적으로 과도한 수준의 아연이 흡수되게 하지 않는 한, 이 범위의 아연 양, 또는 심지어 그 보다 높은 임의의 양이 허용된다. 그러나, 과도한 수준 및 그로 인한 위험으로 간주 될 수 있는 것은 종양을 치료함으로써 얻어지는 치료 이점과 비교되어야 한다. 대부분의 성인에서 관용되는 아연의 상한 섭취 수준은 약 40 mg/일 (그리고 어린이의 경우 더 낮음)이지만, 경구 복용되는 고체 투약형에서 모든 아연은 흡수되지 않을 수 있으며; 이 중 일부는 흡수되지 않고 신체를 통과하게 될 것임을 알아야 한다. 흡수되는 아연의 양은 또한 제형에 따라 달라질 것이기 때문에, 해당 제형에 의해 제공되는 흡수 수준을 확인하기 위해 특정 제형에서 아연 함량의 상한을 해당 분야에 공지된 방법으로 테스트 할 수 있고, 이어서 제제를 투여함으로써 얻는 치료에 있어서의 치료적 이점의 관점에서, 주어진 투약형 또는 제제에 대한 투여량을 이에 따라 조정할 수 있다.

[0055] 액체 투약형의 조성물 또는 제제에 제공되는 아연의 농도는 일반적으로 약 1 mg/L 내지 약 100 g/L의 아연 (아연(II) 이온) 범위이다. 이는 약 0.0001 중량% 내지 약 10 중량% 범위의 아연에 해당한다. Zn(II)의 농도는 약 10 mg/L 이상, 또는 약 100 mg/L 이상, 또는 약 1 g/L 이상, 또는 약 10 g/L 이상일 수 있으며, 또는 Zn(II)의 농도 범위는 이러한 예시 농도 중 임의의 2개 범위내에 속할 수 있다. 일 구체예에서, 농도는 약 100 mg/L 내지 약 500 mg/L의 범위 일 수 있다. 투약형으로 제공된 액체의 양은 총 투여량을 결정할 것이다. 예를 들어, 100mL 양의 액체는 예시적인 범위에 대해 약 10mg 내지 약 50mg의 Zn(II)을 제공 할 것이다. 또 다른 구체예에서, 농도는 약 1000mg/L (1mg/mL) 일 수 있고, 따라서 밀리리터당 약 1mg을 제공한다. 고체 투약형의 아연의 투여량에

관한 개시는 액체 투여량으로서 제공하기 위한 Zn(II) 용액의 양에 대한 지침으로서 사용될 수 있다.

[0056] 아연은 또한 액체에 혼탁된 고체의 일부로서 제공 될 수 있다. 아연(II)의 양 및 제공된 혼탁액의 부피는 고체 및 액체 투약형에 대해 상기 제시된 지침을 따른다.

[0057] 알파-폴리글루탐산 (대안적으로 α -폴리글루탐산 또는 α -PGA)은 아미노산인 글루탐산의 중합체이며, 이 때 중합체 골격은 아미노산 측쇄의 카르복실기가 아닌 α -탄소의 카르복실기와 아미노기를 결합시키는 웨티드 결합 (단백질에서 형성되는 전형적인 웨티드 결합)에 의해 형성된다. α -PGA는 글루탐산의 L 이성질체, D 이성질체, 또는 DL 라세미체로부터 형성될 수 있다. 이를 형태 중 임의의 것이 사용될 수 있고, 둘 이상의 상이한 형태가 임의의 비율로 함께 사용될 수 있다. α -PGA의 다양한 이성질체 형태는 합성이거나 천연 공급원으로부터 유도될 수 있다. 유기체는 보통 L 이성질체로부터 폴리(아미노산)만을 생산하는 반면, α -PGA를 생성하는 특정 박테리아 효소는 어느 하나의 이성질체 또는 두 이성질체로부터 중합체를 생산할 수 있다.

[0058] 다양한 크기 및 다양한 중합체 분산도의 α -PGA가 사용될 수 있다. α -PGA의 중합체 분자량은 일반적으로 약 1kDa 이상 및 최대 약 1000kDa이다. 일부 구체예에서, α -PGA의 중합체 분자량은 약 1kDa 이상, 또는 약 5kDa 이상, 또는 약 10kDa 이상, 또는 약 20kDa 이상, 또는 약 30kDa 이상, 또는 약 35 이상 kDa, 또는 약 40 kDa 이상, 또는 약 50 kDa 이상이다. 일부 구체예에서, α -PGA의 중합체 분자량은 최대 약 700 kDa, 또는 최대 약 500 kDa, 또는 최대 약 300 kDa, 또는 최대 약 200 kDa, 또는 최대 약 100 kDa이다. 허용되는 중합체 분자량 범위는 상기 나타낸 중합체 분자량 값 중 임의의 것으로부터 선택 될 수 있다. 일부 구체예에서, 중합체 분자량은 약 5 kDa 내지 약 500 kDa의 범위이다. 다른 구체예에서, 중합체 분자량은 약 5 kDa 내지 약 300 kDa의 범위이다. 일부 구체예에서, 중합체 분자량은 약 50 kDa 내지 약 100 kDa의 범위이다. 일부 구체예에서, 중합체 분자량은 약 100 kDa이다. 일부 구체예에서, 중합체 분자량은 약 50 kDa이다. 조성물 또는 제제는 하나 이상의 중합체 분자량 형태의 α -PGA를 포함 할 수 있다.

[0059] 중합체 분자량은 전형적으로 예를 들어 겔 투과 크로마토그래피 (GPC)에 의한 측정에 기초한 수 평균 분자량 (M_n)으로서 제공된다. 상기 중합체 질량은 M_n 으로 언급되고; 예를 들어, 질량(중량) 평균 분자량 (M_w)을 결정하기 위해 다른 측정 기술이 사용될 수 있고, 임의의 주어진 중합체에 대한 사양은 다양한 중합체 질량 표현들 간에 변환 될 수 있다.

[0060] 고체 투약형에 포함된 α -PGA의 양은 일반적으로 약 10 중량% 내지 약 40 중량% 범위이다. 일부 구체예에서, 상기 양은 약 20 중량% 또는 약 30 중량%이다. 사용되는 양은 일반적으로 아연과 폴리글루탐산 단량체 단위 사이의 원하는 몰비, 아연 염의 질량 (반대이온의 중량을 고려함), 및 허용되는 제제화된 제형을 제공하는데 필요한 부형제의 양을 기준으로 한다. 예를 들어, 사용된 α -PGA 및 아연 염의 양이 많을수록 주어진 전체 투약형 크기에 대해 첨가 될 수 있는 부형제의 양이 적다. 당업자는 안정한 투여 형태를 수득하는데 필요한 활성 성분의 양 대 부형제의 양 및 유형의 균형을 쉽게 맞출 수 있다. 아연과 α -PGA 사이의 원하는 비율은 또한 투약형 당 아연 밀리그램 대 α -PGA의 중량% 비율로 표현 될 수 있다. 예시적인 비율은 5 mg: 10 중량%; 5 mg: 20 중량%; 5 mg: 40 중량%; 30 mg: 10 중량%; 30 mg: 20 중량%; 30 mg: 40 중량%; 또는 심지어 100 mg: 10 중량%; 100 mg: 20 중량%; 100 mg: 40 중량%; 또는 이들 예시적인 비율에 의해 제시된 범위 내의 또는 본 명세서의 각 성분에 대해 언급된 값으로부터 명백한 임의의 다른 값 세트를 포함한다.

[0061] 액체 투약형에 포함된 α -PGA의 양은 일반적으로 약 0.01 중량% 내지 약 10 중량%의 범위이다. 일부 구체예에서, 상기 양은 약 0.1 중량% 내지 약 1 중량%이다.

[0062] 사용 된 양은 일반적으로 아연과 알파-폴리 글루탐산 단량체 단위 사이의 바람직한 몰비, α -PGA 담체의 성질 (즉, 이것이 비변형되는지 또는 종양표적화 모이어티 및/또는 전하-변형 모이어티로 변형되는지 여부), 및 α -PGA 담체와의 Zn(II) 착물 형성 정도에 기초한다. 예를 들어, 실시예 1 및 2에 예시된 바와 같이, ZnPGA 착물은 대략 400 μ g/mL (mg/L)의 착화 아연과 함께 대략 1 중량%의 α -PGA를 포함하는 용액으로서 수득된다. 이론에 구속되지 않고, 액체 투약형을 제조 할 때, 아연 염과 α -PGA 담체를 용액으로 혼합하면 일반적으로 아연 이온과 α -PGA 담체의 착물이 형성되므로 형성된 착물을 단리 또는 정제하는 별도의 단계가 필요하지 않을 수 있음을 이해하여야 한다. 다른 예시적인 비율은 액체 투약형에 포함된 α -PGA의 양과 조합하여 액체 투약형으로 조성물 또는 제제에 제공되는 아연의 농도에 관한 상기 기재에 기초한 범위를 포함한다.

[0063] 유효량의 Zn(II) 염 및 α -폴리글루탐산 담체를 갖는 적합한 고체 또는 액체 조성물 및 제제에 도달하기 위해, α -PGA 담체 및 아연의 상대적인 양 및 각각의 농도는 본원에 따라 해당 분야의 숙련된 기술자가 용이하게 조정 할 수 있다. 본원에 개시된 조성물에서, α -PGA 성분은 α -PGA 또는 α -PGA 담체로 지칭 될 수 있다. 언급한 바

와 같이, α -PGA의 유도체 또한 고려되며, 변형된 α -PGA 또는 α -PGA 접합체 등으로 다양하게 지칭 될 수 있다.

[0064] α -PGA는 종양-표적화 모이어티를 포함 할 수 있다. 이러한 모이어티는 엽산, N⁵, N¹⁰-디메틸 테트라하이드로폴레이트 (DMTHF), 및 RGD 웨티드로부터 선택될 수 있다. 상기 모이어티들 중 일부 또는 전부는 α -폴리글루탐산에 공유 결합되어 α -PGA의 폴레이트 접합체 및/또는 DMTHF 접합체 및/또는 RGD 웨티드 접합체를 형성 할 수 있다. 폴레이트 수용체 단백질은 종종 많은 인간 종양들에서 발현된다.

[0065] 폴레이트는 자연적으로 폴레이트 수용체에 대해 높은 친화성을 가지며, 또한, 결합시, 폴레이트 및 부착된 접합체는 세포내섭취에 의해 세포 내부로 수송 될 수 있다. 이러한 방식으로, 엽산으로 변형된 ZnPGA는 종양 세포에서 표적화 및 축적되어 아연(II)을 종양 세포 내부로 전달할 수 있다. DMTHF 또한 폴레이트 수용체에 대해 높은 친화성을 갖는 것으로 알려져 있다. DMTHF의 준비는 NPL13에 설명되어 있다. 더욱이, 폴레이트 수용체 (FR), FR- α 및 FR- β 의 2가지 주요 아이소형이 존재하며, DMTHF는 FR- β 에 비해 FR- α 에 대해 더 높은 친화성을 가지는 것으로 나타났다 (NPL12). FR- α 는 많은 악성 세포 유형에서 과발현되는 반면, FR- β 는 염증성 질환과 관련된 대식세포에서 과발현되기 때문에 이는 종양 세포를 표적화하는데 유리하다. 따라서 DMTHF를 α -PGA에 접합시키는 것은 종양 세포에 의해 발현되는 폴레이트 수용체에 선택적으로 결합 할 수 있는 접합체를 제공한다. 유사하게, RGD 웨티드는 $\alpha(V)\beta(3)$ 인테그린에 강하게 결합하는 것으로 알려져 있으며, 이는 종양 내피 세포 및 일부 종양 세포에서 발현된다. 따라서, RGD 접합체는 항종양제를 표적화하고 해당 부위에 전달하기 위한 전략이다. 본 발명에서 고려되는 바와 같이, α -PGA는 이를 종양 표적화제 중 어느 하나 또는 둘 또는 전부와 접합 (즉, 변형) 될 수 있으며, 둘 이상이 존재할 경우, 이들 물질의 상대적인 비율은 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, α -PGA 담체는 α -PGA와 (a) 엽산, (b) DMTHF, (c) RGD, (d) 엽산 및 DMTHF, (e) 엽산 및 RGD, (f) DMTHF 및 RGD 또는 (g) 엽산, DMTHF 및 RGD의 접합체를 포함할 수 있다. 다른 유사한 종양 표적화 모이어티 또한 본 발명의 범위에 속한다.

[0066] α -PGA는 각각의 글루탐산 단위의 γ -탄소에 유리 카르복실산기를 가지며 이는 엽산, DMTHF 및 RGD 웨티드와의 접합체를 형성하는데 사용될 수 있다. 엽산은 외항고리 아민기를 가지며 이는 글루탐산의 γ -탄소 카르복실산기와 커플링하여, 이 둘을 결합시키는 아미드 결합을 형성할 수 있다. DMTHF에서 아미드 결합 형성을 위해 엽산에서와 동일한 외항고리 아민기를 이용할 수 있다. RGD 접합체 또한 해당 분야에 잘 알려져 있으며, 이 또한, 예를 들어 RGD의 유리 α -아미노기를 통해, γ -카본 카르복실산기에 유사하게 공유 결합 될 수 있다. 대안적으로, 어느 하나의 모이어티가 스페이서기, 가령, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜 아민을 통해 α -PGA에 접합될 수 있다. α -PGA의 γ -탄소 카르복실레이트기와 아미노기 사이의 접합 반응의 예는 Bai 등의 미국 특허 제 9,636,411 호에서 찾을 수 있으며, 아미노 및 하이드록실기와의 반응은 Van 등의 미국 등록전 공개특허 공보 제 2008/0279778 호에서 찾을 수 있다. 관련 중합체 γ 에 대한 엽산 및 시트르산의 접합 반응의 예는 WO 2014/155142에서 찾을 수 있다.

[0067] α -PGA는 전하-변형 모이어티를 포함할 수 있다. 이러한 모이어티는 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 1,4,7,10-테트라사이클로도데칸-N, N', N'', N'''-테트라아세트산 (DOTA) 및 디에틸렌트리아민 펜타아세트산(DTPA)으로부터 선택될 수 있다. 상기 모이어티들의 임의의 조합은 γ -탄소 카르복실산에서 다시 α -폴리글루탐산에 공유 결합될 수 있다. 시트르산은 에스터 링키지를 형성함으로써 α -PGA의 γ 탄소 카르복실산기에 접합 될 수 있다. (유사한 접합 반응에 대해서는 예를 들어 WO 2014/155142 참조) EDTA, DOTA 및 DTPA는 예를 들어 스페이서기를 사용하여 α -PGA에 연결되어 이들 모이어티들의 아민이 α -PGA의 γ 탄소 카르복실산기에 연결될 수 있다. 숙련된 기술자는 수많은 옵션을 이용가능하다. 전하-변형 잔기는 Zn(II) 이온을 촉화하기 위한 부위로서 사용될 수 있고, 이러한 전하-변형은 ZnPGA 착물 수송 및 용해도에 영향을 미치며, 따라서 상기 담체 및 ZnPGA의 착물의 제약학적 효과를 조정하는데 사용될 수 있다 단지.

[0068] α -PGA는 종양-표적화 및 전하-변형 모이어티를 모두 포함 할 수 있어서 두 가지 유형의 모이어티의 이점 및 가능성이 α -PGA 담체에 부여 될 수 있다. 종양-표적화 및 전하-변형 모이어티의 임의의 조합이 α -PGA에 접합 될 수 있으며, 모이어티의 상대 비율은 특별히 제한되지 않는다.

[0069] 본 발명에 따른 조성을 및 제제는 또한 NF-kB 억제제를 포함 할 수 있다. 본원에서 사용되는 NF-kB 억제제는 적접적인 억제제, 뿐만 아니라 신호전달 캐스케이드를 억제 할 수 있는 화합물, 또는 NF-kB의 효과를 억제하여 종양 세포의 증식 또는 생존을 제한하는 임의의 화합물을 포함한다. 본원에 정의된 NF-kB 억제제로서 사용될 수 있는 예시적인 화합물은 피롤리딘 티오카르바메이트 (PDTC) (NPL4), 텔미사르탄 (NPL9), 올메사르탄 (NPL1), 발사르탄 (NPL8), 디솔피람 (NPL4) 또는 이의 제약상 허용되는 염을 포함한다. 이들 억제제는 또한 민감제로 지칭

될 수 있는데, 이는 이들이 종양 세포의 생존력을 제한하고 이에 따라 본 발명의 조성물 및 제제와 같은 다른 종양세포치사 물질의 효과에 종양 세포들을 민감하게 만들기 때문이다.

[0070] 액체 제형

아연(II) 및 α -PGA 담체 성분은 액체로서 제형화 될 수 있다. 적합한 액체 제형들은 액체 용액, 액체 혼탁액, 시럽 및 구강 스프레이를 포함한다. 액체 용액은 경구 섭취되거나, 또는 주사로, 예를 들어, 정맥내, 피내, 근육내, 경막내, 또는 피하로, 또는 종양에 직접 또는 종양 근처에 투여되는 반면, 액체 혼탁액, 시럽 및 스프레이는 일반적으로 경구 투여에 적합하다.

[0072] 액체 투약형의 제조 방법

액체 투약형을 제조하는 방법은 원하는 양의 (i) 아연 염(들) 및 α -PGA 담체 및/또는 (ii) ZnPGA 착물을 적합한 부형제와 함께 혼합하는 단계를 포함한다. 일부 구체예는 제제에 위-내성 결합제 및/또는 코팅제를 추가로 포함한다.

액체 용액 제제는 적합한 담체, 희석제, 완충제, 보존제 또는 투여 형태와 관련하여 적합하게 선택된 다른 부형제와 함께 제조 될 수 있다. 예를 들어, 정맥내 제제는 적합한 pH에서 완충되어 등장화제와 함께 제조 될 수 있다.

주사 또는 경구 전달에 적합한 액체 제제의 구체예는 아연(II) 염, α -PGA 담체 (상기 설명한 바와 같은, 비변형된 α -PGA 및/또는 임의의 형태의 변형된 α -PGA) 및 물을 포함한다. 추가의 구체예에서, 액체 제제는 완충제 및/또는 염, 가령, 소듐 클로라이드를 추가로 포함 할 수 있다. 완충제가 포함되는 경우, 바람직한 완충 pH는 약 pH 4 내지 약 pH 9의 범위이다. 주사 될 때, 바람직하게는 상기 용액은 제제가 주사되는 내부 용액과 등장성이며 pH가 적합하다. 한 구체예에서, 징크 살레이트 헵타하이드레이트, α -PGA, 및 소듐 클로라이드는 물에서 조합되며, 이 때 아연(II)의 농도는 1 mg/mL이고 α -PGA는 10 mg/mL이다. α -PGA의 중합체 분자량은 상기 기재된 임의의 범위로부터 선택 될 수 있다. 일 구체예에서, 분자량은 약 5 kDa 내지 약 100 kDa의 범위이고, 다른 구체 예에서 분자량은 약 1 kDa 내지 약 100 kDa의 범위이다. 임의의 구체예에서, 하나 이상의 중합체 분자량 형태의 α -PGA가 포함될 수 있다.

일부 구체예에서, 아연 염(들) 및 α -PGA 담체는 ZnPGA 착물로서 제조 될 수 있다. 일반적으로, ZnPGA 착물을 형성하기 위해, 아연 염(들) 및 α -PGA 담체는 예를 들어, 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이 조합 및 정제된다. 수득된 ZnPGA 착물 용액은 액체 투약형의 제조 절차에서 사용하기 위하여 희석되거나 실질적으로 건조되어 보다 농축된 형태로 재구성 될 수 있다. ZnPGA 착물은 주사용 용액, 또는 액체 혼탁액, 시럽 또는 스프레이로서 제형화 될 수 있다.

아연 염 및 α -PGA 조성물은 본 발명의 방법에 사용하기 위한 액체 혼탁액으로서 제형화 될 수 있다. 예를 들어, 먼저, Zn(II) 염과 α -PGA 담체 (비변형 및 또는 임의의 변형된 형태의 α -PGA 포함)의 혼합물을 포함하는 과립화된 조성물은 과립화된 고체에 포함된 위-내성 결합제를 사용하여 제조된다. (고체 제제의 제조 방법에 관한 아래 논의 참조.) α -PGA 담체는 약 5 kDa 내지 약 500 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 약 500 kDa, 또는 약 5 kDa 내지 약 100 kDa, 또는 약 1 kDa 내지 약 100 kDa 범위의 평균 분자량을 갖는 α -PGA로부터 제조 될 수 있다. 과립화된 고체는 이후 섭취에 적합한 산성 액체에 혼탁된다. 용액의 pH는 약 pH 6 미만일 수 있어, 과립화된 고체는 위-내성 결합제의 결과로서 안정하게 유지된다. 일 구체예에서, 액체 혼탁액 제제는 또한 중점제 또는 점도 향상제를 함유하므로 과립화된 고체는 충분히 혼탁된 상태로 유지되고 용기로부터 효율적으로 섭취 될 수 있다.

액체 혼탁액의 다른 구체예에서, 과립화된 고체는 먼저 ZnPGA 착물을 제조함으로써 제조되며, 이 때 Zn(II)는 α -PGA 담체와 착화된다. 이러한 제제의 예는 예를 들어 실시예 1 및 2에 제공된다. 그 후, ZnPGA는 위-내성 결합제 및 다른 적합한 부형제를 사용하여 과립화 될 수 있다. 이어서, 이러한 과립화된 혼합물을 바로 위에 기재된 바와 같이 액체 혼탁액으로서 제조 될 수 있다.

액체 제제의 다른 구체예는 입자, 가령, 미세구, 미립자, 과립 또는 다른 적합한 고체 형태의 아연 염 및 α -PGA 착물을 형성하고, 이러한 입자를 얇은 왁스층으로 코팅하는 것을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 입자는 위-내성 결합제를 추가로 포함한다. 코팅된 입자는 액체 혼탁액 제형으로 제형화된다. 입자상의 왁스 코팅은 입자의 물리적 완전성을 촉진하고 투과성을 감소시키지만, 코팅은 아연 및 α -PGA 착물의 장애 대한 전달을 허용한다.

- [0080] 코팅에 적합한 과립은 상기 언급된 임의의 방법에 따라 제조 될 수 있다. 아연 염, α -PGA, 및 위-내성 결합제의 미세구 또는 미립자는 단일 에멀젼 방법, 이중 에멀젼 방법, 중합, 계면 중합, 상 분리 및 액적형성(coacervation), 분무 건조, 분무 응고, 용매 추출, 분산상의 동결 건조를 비롯한 해당 분야에 공지된 임의의 수많은 방법에 의해 제조 될 수 있다. 이러한 미세구 또는 미립자의 크기는 수십 마이크론 내지 수천 마이크론 범위일 수 있다. 예로서, 미세구 입자를 제조하는 한 가지 방법은 아연 염 및 α -PGA를 포함하는 미분된 (예를 들어, 분말화된) 고체 혼합물을 파라핀 오일과 같은 혼탁액 매질에서 교반하고, 중합체 위-내성 결합제 용액을 교반된 혼탁액에 첨가하는 것을 포함한다. 미세구가 형성되면, 클로로포름과 같은 비-용매를 첨가하여 미세구를 침전시키고, 이를 수집, 건조 및 후속적으로 왁스로 코팅한다.
- [0081] 왁스 코팅은 생체적합성이고 비-면역원성이며 약물을 내장관으로 포획 및 전달하는데 적합한 것으로 인식된다. 입자 (미세구, 미립자, 과립 등)는 해당 분야에 공지된 방법에 따라 왁스, 예컨대, 카르나우바 왁스, 밀랍, 세토스테아릴 알코올, 경랍 및 기타 왁스로 코팅 될 수 있다. 예를 들어, 왁스를 백색 파라핀 오일에 용해시키고, 용액을 45°C 미만으로 냉각시킨 다음, 입자가 코팅 될 때까지 기계-교반 왁스/파라핀 오일 용액에 입자를 첨가함으로써 입자를 카르나우바 왁스로 코팅 할 수 있다. 교반 속도 및 시간, 및 왁스 용액의 온도를 조정하여 왁스 코팅의 두께를 변경할 수 있다.
- [0082] 왁스-코팅된 아연 염 및 α -PGA 입자는 투여를 위해 액체 혼탁액으로 제형화된다. 코팅된 아연/ α -PGA 입자는 최종 제제화된 혼탁액에 약 5 중량% 내지 30 중량%로 존재한다. 전형적으로, 액체 혼탁액 제제는 혼탁 중합체, 점도제 및 완충제를 포함한다. 상기 제제는 또한 감미제, 향미제, 및/또는 보존제 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다.
- [0083] 혼탁 중합체는 잔탄 검, 카보머, 미세결정질 셀룰로스, 카르복시메틸 셀룰로스 및 소듐 카르복시메틸 셀룰로스로부터 선택 될 수 있으며, 이들은 단독으로 또는 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 해당 분야에 공지된 기타 유사한 물질들 또한 사용될 수 있다. 전체적으로, 혼탁 중합체 성분은 최종 제제에서 약 0.02 중량% 내지 약 5 중량%로 존재한다.
- [0084] 점도제는 글리세린, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 포비돈, 구아 검 및 로커스트 콩 검으로부터 선택 될 수 있으며, 이들은 단독으로 또는 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 해당 분야에 공지된 기타 유사한 물질들 또한 사용될 수 있다. 전체적으로, 점도제 성분은 최종 제제에서 약 0.05 중량% 내지 약 50 중량%로 존재한다.
- [0085] 완충제는 포스페이트 완충제, 아세테이트 완충제, 락테이트 완충제 및 시트레이트 완충제, 또는 지정된 범위에서 완충 능력을 가지는 다른 제약상 허용되는 완충제로부터 선택 될 수 있다. 완충제는 약 6 이하의 pH를 가지도록 조정된다. 일부 구체예에서, pH는 약 3 내지 약 6 이다. 일부 구체예에서, pH는 4.5 내지 5이고, 다른 구체예에서 pH는 4 내지 5이고, 또 다른 구체예에서 pH는 3 내지 5이다.
- [0086] 감미제는 자당, 역 자당, 자일리톨, 소르비톨, 말티톨, 아스파탐, 사카린 및 수크랄로스로부터 선택 될 수 있으며, 이들은 단독으로 또는 임의의 조합으로 사용될 수 있다. 해당 분야에 공지된 기타 유사한 물질들 또한 사용될 수 있다. 전체적으로, 감미제 성분은 최종 제제에서 약 5 중량% 내지 40 중량%로 존재할 수 있다.
- [0087] 향미제는 임의의 제약상 허용되는 향미제, 또는 해당 분야에 공지된 바와 같은 식품 또는 보충제에 사용되는 임의의 물질들로부터 선택 될 수 있고, 산업 관행에 합치하는 최종 제제의 양으로 첨가 될 수 있다.
- [0088] 보존제는 소듐 벤조에이트, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 벤질 알코올, 포타슘 소르베이트 및 시트르산으로부터 선택 될 수 있으며, 이들은 단독으로 또는 임의의 조합으로 사용될 수 있으며, 산업 관행에 합치되는 양으로 최종 제제에 첨가 될 수 있다. 해당 분야에 공지된 기타 유사한 물질들 또한 사용될 수 있다.
- [0089] 제제 및 일부 구체예에 따른 액체 제형을 제조하기 위한 방법은 하기 실시예 5에 제공된다.
- [0090] 액체 혼탁액 제형에 대한 임의의 이들 구체예에서, α -PGA 담체는 일반적으로 약 0.01 중량% 내지 약 10 중량%의 농도로 존재하며, 일부 구체 예에서 양은 약 0.1 중량% 또는 약 1 중량%이다. Zn(II)는 일반적으로 약 0.001 중량% 내지 약 10 중량%의 농도로 존재한다.
- [0091] 액체 투여 제형들은 또한 NF-kB 억제제를 포함하도록 제조될 수 있다. 제제에 이러한 NF-kB 억제제를 포함하지 않는 구체예에서, NF-kB 억제제는 임의의 다른 적합한 제제 및 투여 형태를 사용하여 공동-투여 될 수 있다.

고체 제형

- [0093] 아연 염 및 α -PGA 담체는 경구 투여를 위한 경구 고체 투약형, 가령, 정제, 경질 캡슐, 연질 캡슐 또는 관련 형태들, 가령, 미니정제, 캐플릿, 겔캡, 경구 봉해 필름 등으로 제형화될 수 있다. 이러한 투약형은 위-내성 결합제 및/또는 위-내성 코팅제를 포함하도록 추가로 제형화된다.
- [0094] 아연 염 및 α -PGA 담체는 제약 제품에 사용하기에 적합하고 정제 또는 캡슐 등과 같은 특정 투약형을 제조하기에 적합한 부형제와 조합된다. 전형적인 부형제는 충전제, 결합제, 봉해제, 활택제, 윤활제, 및 완충제, 보존제, 산화방지제, 향미제, 감미제, 착색제 등을 포함한다. 첨가되는 부형제의 양 및 유형은 투약형의 개선된 완전성, 개선된 생체이용률, 안정성, 제조, 코팅, 외관 및/또는 순응성과 같은 다양한 목적을 위해 선택 될 수 있다. 일부 부형제는 하나 이상의 목적을 달성하거나 및/또는 하나 이상의 개선된 특성을 제공 할 수 있다.
- [0095] 충전제는 수용성 또는 수 불용성 일 수 있고, 각각의 유형 중 하나 이상이 조합 될 수 있다. 수용성 충전제의 예는 해당 분야에 공지된 글루코스, 프럭토스, 수크로스, 만노스, 텍스트로스, 갈락토스 등과 같은 당, 및 만니톨, 소르비톨, 자일리톨 등과 같은 당 알코올을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 수 불용성 충전제의 예는 해당 분야에 공지된 왁스, 장쇄 지방산, 활석, 카울린, 이산화 규소, 이산화 티타늄, 알루미나, 전분, 분말 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스 등을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.
- [0096] 결합제는, 제한 없이, 해당 분야에 공지된, 셀룰로스 유도체, 가령, 카르복시메틸셀룰로스 칼슘, 카르복시메틸 셀룰로스 소듐, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 에틸 셀룰로오스, 하이드록시에틸 셀룰로오스, 하이드록시에틸메틸 셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 미세결정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 뿐만 아니라 전분, 변형 전분, 가령, 부분 가수분해 전분, 예컨대, 말토덱스트린, 사카라이드, 젤라틴, 천연 또는 합성 검, 등을 포함한다.
- [0097] 전술한 바와 같이, 일부 구체예들에서, 위-내성 재료는 위-내성 결합제 및/또는 위-내성 외부 코팅제로서 포함된다. 위-내성 결합제 또는 외부 코팅을 구성하는 재료는 위를 통과하여 장에 들어갈 때까지 투약형으로부터 아연 염 및 α -PGA의 방출을 지연시키는 기능을 한다. 위-내성 결합제 또는 코팅제가 사용될 때, 이는 다른 (비-위-내성) 결합제 또는 코팅제와 조합하여 사용될 수 있다.
- [0098] 일반적으로, 위-내성 재료는 위의 산성 환경 (pH ~3)에서는 눈에 띄게 용해되거나 팽창하지 않지만 내용물이 장의 약 알칼리성 환경 (pH 7-9)에 중성 상태로 방출될 정도로 충분히 용해되거나 팽창하게 되는 매트릭스 또는 중합체 또는 기타 장벽이다. 장용 코팅 및 장용 바인더는 위-내성 재료의 예이다.
- [0099] 위-내성 재료의 예에는 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 셀룰로스 아세테이트 숙시네이트, 셀룰로스 아세테이트 트리멜리테이트, 하이드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트, (i) 아크릴레이트 에스터, (ii) 메틸아크릴레이트 에스터 및 (iii) 메타크릴산, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트, 하이프로멜로스 아세테이트 숙시네이트, 하이프로멜로스 프탈레이트, 소듐 알지네이트, 셀락 및 제인에서 선택된 둘 이상의 단량체의 공중합체가 포함된다.
- [0100] 위-내성 재료에 대해 수많은 등급 및 약리학적 표준이 존재하며, 이들은 아연 및 α -PGA를 장에 전달하는 기능을 제공하기에 적합한 재료를 선택하는 것에 대한 유용한 지침을 제공한다. 외부 코팅제에서 코팅 두께 및 중합체 조성, 또는 결합제와 중합체 조성물의 양을 제어함으로써, 방출 지점은 보다 초기 또는 보다 이후, 또는 장의 특정 근사 영역 내에서 발생하도록 조정될 수 있다. 구현 될 수 있는 제어 정도의 예는 코렐 파마 챔 (Corel Pharma Chem) (인도)에서 상표명 Acrycoat[®]로 이용가능한 메타크릴산 공중합체 라인에서 찾을 수 있으며, 이는 다음과 같은 다양한 약리학적 표준을 만족시킨다: 4-5%로 사용되며 전형적으로 투약형 내용물을 공장에 전달하는 USP/NF 메타크릴산 공중합체, 유형 A-NF; 4-5%로 사용되며 전형적으로 투약형 내용물을 십이지장에 전달하는 USP/NF 메타크릴산 공중합체, 유형 C-NF; 및 10-20%로 사용되며 전형적으로 투약형 내용물을 결장에 전달하는 USP/NF 메타크릴산 공중합체, 유형 B-NF. 후자 (유형 B-NF)는 pH-의존성 중합체와 함께 상기 전달을 구현하지만, pH-독립성 중합체 또한 결장 또는 장으로의 전달을 위해 사용될 수 있다.
- [0101] 봉해제는, 제한없이, 해당 분야에 공지된, 카르멜로스, 카르멜로스 소듐, 크로스카르멜로스 소듐, 크로스포비돈, 알지네이트, 저 치환 하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이드록시프로필 전분, 부분 전젤라틴화 전분 등을 포함한다.
- [0102] 활택제는 해당 분야에 공지된 실리카, 실리케이트, 활석, 칼슘 포스페이트 등을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.
- [0103] 윤활제는 해당 분야에 공지된 알칼리 금속 또는 알칼리 토금속 스테아레이트, 올레이아이트, 벤조에이트, 아세테

이트, 클로라이드 등을 제한없이 포함한다.

[0104] 다른 유형의 부형제들, 가령, 완충제, 보존제, 산화 방지제, 향미제, 감미제, 착색제가 잘 공지되어 있으며 해당 분야의 숙련된 기술자는 이러한 성분들을 용이하게 선택하여 제제에 적용할 수 있다.

[0105] 고체 투여 제형들은 또한 NF-kB 억제제를 포함하도록 제조될 수 있다. 고체 제제에 이러한 NF-kB 억제제를 포함하지 않는 구체예에서, NF-kB 억제제는 임의의 다른 적합한 제제 및 투여 형태를 사용하여 공동-투여 될 수 있다.

[0106] 달리 언급이 없는 한, 다른 유형의 활성 성분, 예를 들어, 비타민, 미네랄, 영양소, 및 장에서 흡수되기 쉬운 다른 영양 또는 식이 보충제가 본 발명의 범위를 벗어나지 않고 본원에 기재된 액체 또는 고체 조성물 및 제제에 첨가 될 수 있다.

[0107] 본원에 기재된 조성물 및 제제는, 본 명세서의 내용과 합치하는 한, 대안적으로 아연 염(들) 및 α -PGA 담체 및 위-내성 외부 코팅제 및/또는 위-내성 결합제를 포함하거나, 이들로 구성되거나 이들로 본질적으로 구성될 수 있다. 조성물 및 제제들은 또한 선행 기술 조성물에서 발견되거나 또는 본 발명에 달리 반드시 필요하지 않은 임의의 성분(들), 예를 들어, 활성 성분 및/또는 부형제가 없거나 실질적으로 없을 수 있다.

고체 투약형의 제조 방법

[0108] 아연 염 및 α -PGA, 및 선택된 부형제는 개별적으로 또는 조합하여 사이징, 분쇄(declump) 또는 분말화 될 수 있다. 다양한 성분은 건식 혼합에 의해 조합되거나, 습식 또는 건식 과립화, 분무, 압출, 롤링 또는 유동층 과립화에 의해 과립화 될 수 있고, 이후 선택적으로 분쇄 (milling) 될 수 있거나, 또는 해당 분야에 공지된 다른 이러한 기술들로 처리될 수 있다.

[0109] 일부 구체예에서, 아연 염(들) 및 α -PGA 담체 (상기 기재한 바와 같이 비변형된 α -PGA 및/또는 임의의 형태의 변형된 α -PGA)는 ZnPGA 착물로서 제조 될 수 있다. 일반적으로, 아연 염(들) 및 α -PGA 담체는, 예를 들어, 실시예 1 및 2에 기재된 바와 같이 조합 및 정제된다. 편의상, 수득된 ZnPGA 착물의 용액은 실질적으로 건조되어 고체 투약형의 제조 절차에서 건조 또는 실질적 분말로서 사용될 수 있다.

[0110] 고체 투약형을 제조하는 방법은 원하는 양의 (i) 아연 염(들) 및 α -PGA 담체 및/또는 (ii) ZnPGA 착물 및 부형제를 함께 혼합하는 것을 포함하며, 이러한 부형제는 하나 이상의 충전제 및/또는 하나 이상의 결합제 및/또는 하나 이상의 봉해제 및/또는 하나 이상의 윤활제 및/또는 하나 이상의 홀택제를 포함한다. 전술한 바와 같이, 일부 구체예에서, 상기 하나 이상의 결합제는 위-내성 결합제일 수 있고, 다른 (비-위-내성) 결합제와 조합하여 사용될 수 있다. 과립화 단계가 포함되는 경우, 임의의 부형제를 과립화 단계 전, 단계 중 또는 단계 후에 전부 또는 일부 첨가 할 수 있다. 일부 구체예에서, 윤활제의 일부 또는 전부는 과립화 단계 후에 혼합된다. 일부 이들 구체예에서, 홀택제는 또한 과립화 단계 후에 혼합된다.

[0111] 과립화 단계가 성분들의 배합물이 과립화될 때 용매, 가령, 물, 또는 유기 용매, 또는 수성 유기 용액을 사용하여 습윤시키는 것을 포함하는 경우, 생성된 생성물은 일반적으로 잔류 용매를 제거하기 위해 건조된다. 유기 용매의 예는 해당 분야에 공지된 바와 같이 에탄올 및 이소프로판을 등을 포함한다. 바람직하게는, 실질적으로 모든 유기 용매가 건조 단계에서 제거된다. 과립화 단계에서 사용된 용매의 일부가 물인 경우, 건조 후 바람직하게는 10 중량% 이하, 또는 5 중량% 이하, 또는 2 중량% 이하의 물이 남으며 다음 단계로 진행된다.

[0112] 혼합 또는 과립화된 고체는 압축, 치밀화 또는 성형 (molding)을 사용하여 고체를 정제화 (tableting) 함으로써 정제로 형성 될 수 있다. 그 후, 일부 구체예에서, 정제는 전술한 바와 같이 위-내성 코팅제로 코팅된다. 일반적으로, 위-내성 물질 및 선택적으로 다른 부형제, 예를 들어, 가소제, 유화제는 수성 또는 유기 용매에 용해 또는 분산 된 후 분무 코팅, 유동층 코팅, 팬 코팅 등을 포함하여 해당 분야에 공지된 수많은 방법 중 하나를 사용하여 처리된다. 일부 구체예에서, 정제는 외관, 기계적 안정성, 화학적 안정성 등의 목적을 위해 그러나 위-내성 재료를 코팅제에 포함시키지 않고 코팅된다.

[0113] 대안적으로, 혼합 또는 과립화된 고체는 캡슐 또는 캠플릿에 충전되어 내부에 봉입될 수 있다. 용어 캡슐은 연질 캡슐, 경질 캡슐, 젤캡, 식물성 캡슐을 포함하고, 1-피스 또는 2-피스 캡슐 일 수 있다. 장용-코팅된 캡슐을 이용할 수 있으며 (예컨대, 장용 캡슐 약물 전달 기술), 또는 캡슐은 충전, 봉입, 그 후 선택적으로 다른 부형제들과 함께 상기 물질의 용액 또는 분산액을 사용하여 상기 언급된 방법들에 의해 위-내성 코팅제로 코팅될 수 있다. 다른 구체예에서, 혼합 또는 과립화된 고체는 위-내성 결합제 재료를 포함하고, 이러한 고체는 장용 코팅이 있는 또는 없는 캡슐에 부하될 수 있다.

- [0115] 정제 또는 캡슐의 크기 및 모양은 특별히 제한되지 않는다. 아연 염 및 α -PGA의 원하는 투여량은 과도하게 크지 않은 정제 또는 캡슐로 제형화 될 수 있을 것으로 예상된다.
- [0116] 본 발명의 구체예에 따른 정제 투약형을 제조하기 위한 예시적인 방법은 하기 실시예 6 및 7에 제공된다.
- [0117] **투여량 및 투여**
- [0118] 본원에 기재된 투약형은 대상체에서 원하는 생물학적 반응을 구현하는 치료적 유효량의 아연을 제공하도록 투여될 수 있다. 치료적 유효량은 Zn, α -PGA, 및 α -PGA에 대한 임의의 변형, 임의의 ZnPGA 착물의 형태, NF-kB 억제제의 존재 또는 부재, 및/또는 투약형의 전달 효율성, 등의 조합된 효과를 통해 치료를 필요로 하는 환자에게 전달되는 아연의 양이 원하는 생물학적 반응을 구현하게 됨을 의미한다.
- [0119] 바람직한 생물학적 반응은 대상체, 가령, 포유동물, 가령, 인간 (또한 환자로도 지칭될 수 있음)에서 종양 또는 암의 발병 또는 발달의 예방, 종양 또는 암의 진행의 부분적 또는 전체적 예방, 지연 또는 억제, 또는 종양 또는 암의 재발의 예방, 지연 또는 억제를 포함한다.
- [0120] PARP1-매개 괴사에 민감한 모든 종양 유형은 본원에 개시된 치료 방법에 따라 치료 될 수 있는 적응증인 것으로 고려된다.
- [0121] 치료 적 유효량을 달성하는 것은 제형의 특성에 따라 달라질 것이며, 각 개체의 성별, 연령, 상태 및 유전자 구성에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 유전적 원인 또는 흡수 불량 또는 심각한 식이 제한의 다른 원인으로 인해 아연이 충분하지 않은 개체는 일반적으로 적절한 수준의 아연을 가진 개체들과 비교하여 상이한 양의 치료 효과를 필요로 할 수 있다.
- [0122] 대상체는 일반적으로 하루에 약 1 mg 내지 약 300 mg 아연의 아연 양을 투여받는다. 예를 들어, 하루에 약 25 mg, 또는 50 mg, 또는 75 mg, 또는 100 mg, 또는 150 mg 또는 200 mg의 아연. 다수의 투약형들이 하루에 함께 또는 별도로 복용될 수 있다. 경구 투약형은 일반적으로 식사 시간에 관계없이 투여 될 수 있다. 치료는 일반적으로 원하는 치료 효과가 구현 될 때까지 계속된다. 본원에 기재된 조성물 및 제제들의 낮은 투여량 수준은 또한 종양이 퇴행하거나 억제되고 있는 중인 경우, 그 재발을 예방, 지연, 또는 억제하기 위해 본 발명의 일 구체예에 따른 치료제로서 계속 사용될 수 있으며, 또는 예방 치료제로서 사용될 수도 있다.
- [0123] **실시예**
- [0124] **실시예 1:** 결합되지 않은 과량의 아연을 제거하기 위해 인산염-침전법을 사용하여 pH 7.0에서 ZnPGA를 제조 및 특성화
- [0125] ZnPGA를 제조하기 위해, 55 mg α -PGA, 소듐 염, 60 kDa 평균 분자량 (단일 분산액) (Alamanda Polymers, Huntsville, AL)을 실온에서 10 μ M ZnSO₄를 함유하는 5 mL 10 μ M MES 완충액, pH 7.0에 용해시킨 다음 10분 동안 얼음 위에 두면서 초음파 처리하였다. 이어서, 0.5 mL 200 μ M 포스페이트 완충액, pH 7.0을 상기 용액에 첨가하여 유리 아연 이온을 침전시키고, 혼합물을 0.2 μ m 주사기 멸균 필터를 통해 여과시켰다. 아연 함량은 ICP-MS를 사용하고 4-(2-페리딜라조)-레조르시놀 분석에 의해 측정된다. 예를 들어, 1% (중량/부피) PGA 및 400 μ g/mL의 결합된 아연 이온을 함유하는 ZnPGA의 스톡 용액을 제조하여 경구 투여에 사용할 수 있다.
- [0126] **실시예 1:** 결합되지 않은 과량의 아연을 제거하기 위해 투석법을 사용하여 pH 7.0에서 ZnPGA를 제조 및 특성화
- [0127] ZnPGA를 제조하기 위해, 55 mg α -PGA, 소듐 염, 60 kDa 평균 분자량 (단일 분산액) (Alamanda Polymers, Huntsville, AL)을 실온에서 10 μ M ZnSO₄를 함유하는 5 mL 10 μ M MES 완충액, pH 7.0에 용해시킨 다음 10분 동안 얼음 위에 두면서 초음파 처리하였다. 이어서, 용액을 얼음 위에서 1L 10 μ M MES, pH 7.0에 대해 2시간 동안 연속 3회, 6시간에 걸쳐 총 3부피로 투석한다. 회수된 용액을 0.2 μ m 주사기 멸균 필터를 통해 여과한다. 아연 함량은 ICP-MS를 사용하고 4-(2-페리딜라조)-레조르시놀 분석에 의해 측정된다. 예를 들어, 1% (중량/부피) PGA 및 400 pg/mL의 결합된 아연 이온을 함유하는 ZnPGA의 스톡 용액을 제조하여 경구 투여에 사용할 수 있다.
- [0128] **실시예 2:** 액체 제제.
- [0129] 예를 들어, 주사에 적합한 액체 제제의 예시적인 구체예의 조성물은 아연(II) 염, α -PGA, 소듐 클로라이드 및 물을 포함한다. 조성물은 징크 설페이트 헵타하이드레이트, α -PGA 소듐 염, 60 kDa 평균 분자량 (단일 분산액)

(Alamanda Polymers, Huntsville, AL), 소듐 클로라이드를 배합하고 해당 부피에 물을 첨가하여 제조되며, 여기서 각 성분의 농도는 1 mg/mL 아연(II), 10 mg/mL α -PGA, 및 6.5 mg/mL 소듐 클로라이드이다. 대략 276 mOsm/kg 삼투압 및 pH 5.68의 생성 조성물은 인간 환자의 주사용으로 적합하다.

[0130] **실시예 3:** Zn(II) 농도, 60 kDa α -PGA 중합체를 달리한 Zn(II)/ α -PGA 용액으로 처리시 4개의 세포 유형에 대한 시험관내 세포 생존 분석.

[0131] A. Zn/ α -PGA 용액의 제조. α -PGA, 소듐 염, 60 kDa 평균 분자량 (단일 분산액) (Alamanda Polymers, Huntsville, AL)을 준비하고 다음과 같이 7가지 농도의 Zn(II)에서 Zn/ α -PGA 용액을 제조하였다. α -PGA를 물에 용해시키고, Tris-HCl을 첨가하고, 용액을 pH 7.0에서 완충시킨 다음, ZnSO₄·7H₂O를 첨가하여 아연(ii) 농도가 1.5625, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 및 100 mg/mL인 용액을 생성하였으며, 이 때 아연:글루타메이트 단량체 비는 1:8 이었다. 이들 용액은 다음에 설명되는 MTT 세포 생존 분석에 사용되었다.

[0132] B. MTT 분석. HEK-293, HeLa, MCF7 및 A549 세포의 세포 생존력에 대한 Zn/ α -PGA의 효과는 MTT [3-(4,5-디메틸티아졸-2-일)-2,5-디페닐테트라졸리움 브로마이드] 분석법을 사용하여 결정되었다. 간단히, 4 x 10⁴ 세포/웰의 밀도로 배양된 세포 (하기 참조)를 96-웰 플레이트에 분배하였다. 다양한 Zn(II) 농도를 갖는 Zn/ α -PGA의 용액을 첨가하고 (각 조건을 4회 수행하였음 (N=4)), 24 hr 동안 배양한 후 웰 내용물을 원심분리하여 세포를 수집하고 배지를 제거하였다. MTT 용액 (150 μ L의 1 mg/mL 실험 용액)을 각 웰에 첨가하고, 3 hr 동안 배양하여 결정 포르마잔을 발달시키고, 원심분리하여 세포 및 결정 포르마잔을 수집하였다. 형성된 결정 포르마잔을 200 μ L DMSO에 용해시키고 540 nm에서 광 흡광도를 측정함으로써 세포 생존력을 결정하였다.

[0133] C. 세포 배양. HEK-293, HeLa, MCF7 및 A549 세포를 95% 대기 및 5.0% CO₂ 의 습한 대기하에 37°C 200mL 둘베코 수정 이글 배지 (DMEM) 및 10% 소 태아 혈청 (FBS) 및 1% 항생제를 함유하는 (RPMI)의 96-웰 세포 배양 플레이트에서 24h 동안 배양하였다.

[0134] D. 분석 결과. 분석 결과들을 도 2에 도시한다. 결과로부터 Zn/ α -PGA는 세포독성이 있고 60 kDa α -PGA 중합체에 대한 Zn(II) 농도가 증가함에 따라 효과가 증가한다는 것이 명백하다.

[0135] **실시예 4:** α -폴리글루탐산-아연 액체 조성물.

[0136] 일 구체예에 따라 본 발명을 실시하는데 유용한 조성물이 표 1에 제시되어 있다. 상기 조성물은 0.68 mg의 Zn²⁺를 제공한다.

[0137] 왁스-코팅된 입자들을 포함하는 액체 혼탁액 제제로서 100 g 당 (Zn²⁺ 이온). 상기 제제를 제조하는 방법은 표를 따른다. 이 조성물은 본 발명에 유용한 많은 조성물 중 하나의 예시 일 뿐이다.

[0138] 표 1.

현탁된 고체 성분들	양
황산 아연 7H ₂ O	3.011 mg
α -PGA (MW(Mn) £ 100 kDa)	6.848 mg
수크로스	9.5107 g
HPMC-P	0.3804 g
왁스	98.91 mg
소계	10 g
용액 성분들	양
잔탄 검	0.3 g
구아 검	0.3 g
자일리톨	10 g
시트르산	0.5 g
리모넨	0.1 g
포타슘 소르베이트	0.025 g
물	78.7 mL
계	99.925 g

[0139]

[0140]

A. 코팅된 ZnPGA 미세구 (cZPM) 제조. 10g 수크로스 (5% w/v), 45mg α -PGA 및 19.79mg의 징크 설페이트 헵타하이드레이트 (원소 Zn으로서 4.5mg)를 함유하는 200mL의 물을 제조하고 동결 건조시킨다. 생성된 분말을 최대 5% 옥수수 전분을 함유하는 세분된 수크로스와 함께 1:4비율로 배산시키고, No. 50 미국 표준 스테인리스 스틸 체 (48 메쉬)를 통해 가압한다. 이 분말을 400 mL 비이커에서 200 mL의 백색 파라핀 오일에 혼탁시킨다. 혼합물을 고-토크 교반기 (Type RXR1, CafraM, Ontario, Wiarton, Ontario)에 장착된 44 mm 폴리에틸렌 3날 패들을 사용하여 260 rpm으로 교반함으로써 분산시킨다. 이 혼탁액에 아세톤-95% 에탄올 (9:1)에서의 10% (w/v) 하이드록시프로필 메틸셀룰로스-프탈레이트 (HPMC-P) 20 mL를 첨가하였다. 5분 동안 계속 교반하여 미세구를 형성한 다음 75 mL의 클로로포름을 첨가한다. 혼탁 매질을 따라내고, 미세구들을 75 mL의 클로로포름에 간단히 재 혼탁시킨다. 주위 온도에서 대기건조시킨다. 건조시, 미세구는 카르나우바 왁스로 코팅된다. 구체적으로, 1 g의 카르나우바 왁스를 70°C에서 200 mL의 백색 파라핀 오일에 용해시키고 45°C 미만으로 냉각시킨다. 이러한 냉각된 왁스-파라핀 용액에, 제조된 미세구를 첨가하고 일정하게 교반하면서 15분 동안 혼탁시킨다. 왁스 용액을 따라내고, 미세구들을 여과지에 수집하여 과량의 왁스 용액을 흡수시켜 코팅된 ZnPGA 미세구 (cZPM)를 수득한다.

[0141]

B. 코팅된 ZnPGA 미세구 (cZPM)의 액체 혼탁 용액 제조. 다음과 같은 성분들: 0.3 g 잔탄 검 (예컨대, 혼탁 중합체로서); 0.3 g 구아 검 (예컨대, 점도제로서); 10 g 자일리톨 (예컨대, 감미제로서); 0.5 g 시트르산 완충제 (예컨대, 완충제로서); 0.1 g 리모넨 (예컨대, 향미제로서); 0.025 g 포타슘 소르베이트 (예컨대, 보존제로서)을 78.7 mL 물에 용해시킨다. 수용액의 pH를 pH 4.5로 조정하고, 10g cZPM을 수용액에 혼탁시켜 cZPM 액체 혼탁액을 수득한다.

[0142]

실시예 5: α -폴리글루탐산-아연 조성물.

[0143]

일 구체예에 따라 본 발명을 실시하는데 유용한 조성물이 표 2에 제시되어 있다. 상기 조성물은 정제 당 25 mg의 Zn (Zn^{2+} 이온)을 제공한다. 상기 정제를 제조하는 방법은 표를 따른다. 이 조성물은 본 발명에 유용한 많은 조성물 중 하나의 예시 일 뿐이다.

[0144]

표 2.

성분	정제 당 양	중량 %
황산 아연	110 mg	22%
α -폴리글루탐산 ($MW(M_n) \approx 100$ kDa)	110 mg	22%
미세결정질 셀룰로스	100 mg	20%
전분	85 mg	17%
이산화규소	50 mg	10%
마그네슘 스테아레이트	25 mg	5%
셀룰로스 아세테이트 프탈레이트	20 mg	4%
계	500 mg	100%

[0145]

표 2에 나타낸 조성을 갖는 코팅된 정제는 습식 과립화 기술을 사용하여 제조 될 수 있다. 먼저, 황산 아연과 α -폴리글루탐산을 함께 혼합하여 건조시킨다. 미세결정질 셀룰로스, 전분 및 이산화규소가 추가로 첨가되고, 건조 성분들 모두 함께 더 혼합된다. 혼합된 성분을 과립화기로 옮기고 적절한 양의 수성 에탄올을 첨가하고 과립화를 수행한다. 수득된 과립화 혼합물을 50-70°C에서 건조시켜 약 5% 미만의 수분 함량을 갖는 과립화된 조성물을 수득한다. 마그네슘 스테아레이트를 과립화된 조성물에 첨가하여 혼합한다. 수득된 혼합물을 정제로 압축 한다. 마지막으로, 정제는 숙련된 기술자에게 알려진 표준 기술을 사용하여 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트로 코팅된다.

[0146]

실시예 6: α -폴리글루탐산-아연 조성물.

[0147]

일 구체예에 따라 본 발명을 실시하는데 유용한 조성물이 표 3에 제시되어 있다. 상기 조성물은 정제 당 30 mg의 Zn (Zn^{2+} 이온)을 제공한다. 상기 정제를 제조하는 방법은 표를 따른다. 이 조성물은 본 발명에 유용한 많은 조성물 중 하나의 예시 일 뿐이다.

[0149]

표 3.

성분 - 정제 코어	정제 당 양	중량 %
황산 아연 7H ₂ O	132.3 mg	26.5%
α-PGA (MW(Mn) ≤ 100 kDa)	132.3 mg	26.5%
미세결정질 셀룰로스	102.5 mg	20.5%
HPMC-P	65.0	13%
말토덱스트린	37.9	7.6%
카르복시메틸셀룰로스-Ca	5.0 mg	1.0%
Aerosil®	5.0 mg	1.0%
마그네슘 스테아레이트	5.0 mg	1.0%
70% 에탄올	q.s	NA*
정제수	q.s	NA*
소계	485	
성분 - 정제 코팅제	양	중량 %
HPMC-P	10.0	2.0%
HPMC	5.0 mg	1.0%
이소프로필 알코올	0.16	NA*
정제수	0.13	NA*
계	500	100%

[0150]

[0151]

* 여기서, 용매 (에탄올, 이소프로필 알코올 및 물)는 제형화된 정제에 미미한 양으로 존재한다고 가정한다.

[0152]

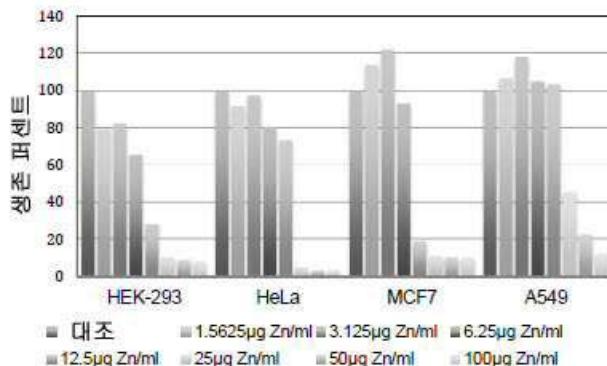
표 3에 제시된 조성을 갖는 코팅된 정제들은 다음과 같이 제조될 수 있다. 먼저, 황산 아연, α-폴리글루탐산, 미세결정질 셀룰로스, HPMC-P (하이드록시프로필메틸셀룰로스 프탈레이트), 말토덱스트린 및 카르복시메틸셀룰로스-칼슘을 함께 혼합하여 건조시킨다. 혼합된 성분을 과립화기로 옮기고 적절한 양의 70% 수성 에탄올을 첨가하고 습식 과립화를 수행하였다. 수득된 과립화 혼합물을 최대 약 60°C에서 건조시켜 약 3% 미만의 LOD (건조시 손실)를 가지는 과립화된 조성물을 수득한다. 실리카 (예를 들어, Aerosil® 및 마그네슘 스테아레이트를 과립화된 조성물에 첨가하여 혼합한다. 수득된 혼합물을 정제로 압축한다. 정제는 먼저 HPMC-P의 이소프로필 알코올 용액을 사용하여 코팅된 후, 제 2 단계에서 숙련된 기술자에게 공지된 표준 기술을 사용하여 HPMC 수용액을 사용하여 코팅된다.

도면

도면1



도면2



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 1

【변경전】

환자의 종양을 치료하기 위한 PARP1-매개 종양 괴사를 유도하는 제약 조성물로서, 상기 제약 조성물은 일 투약 형의 α -폴리글루탐산 담체중에 α -폴리글루탐산의 카르복실레이트 모이어티에 착체화된 치료적 유효량의 Zn(II)을 포함하고;

상기 α -폴리글루탐산 담체는, α -폴리글루탐산, 종양-표적화 α -폴리글루탐산, 전하-변형된 α -폴리글루탐산, 및 종양-표적화 전하-변형된 α -폴리글루탐산으로부터 선택되는 1 또는 그 이상의 담체를 포함하는 것인, 제약 조성물.

【변경후】

환자의 종양을 치료하기 위한 PARP1-매개 종양 괴사를 유도하는 제약 조성물로서, 상기 제약 조성물은 일 투약 형의 α -폴리글루탐산 담체중에 α -폴리글루탐산의 카르복실레이트 모이어티에 착체화된 치료적 유효량의 Zn(II)을 포함하고;

상기 α -폴리글루탐산 담체는, α -폴리글루탐산, 종양-표적화 α -폴리글루탐산, 전하-변형된 α -폴리글루탐산, 및 종양-표적화 전하-변형된 α -폴리글루탐산으로부터 선택되는 1 또는 그 이상의 담체를 포함하는 것인, 제약 조성물.

【직권보정 2】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 11

【변경전】

(i) α -폴리글루탐산의 카르복실레이트 모이어티에 착체화된 제약상 허용되는 Zn(II) 및 (ii) 종양-표적화 모이어티 및 전하-변형된 모이어티로부터 선택된 하나 이상의 모이어티로 변형된 α -폴리글루탐산을 포함하는 α -폴리글루탐산 담체를 포함하는 것인, 제약 조성물.

【변경후】

환자의 종양을 치료하기 위한 제약조성물로서, (i) α -폴리글루탐산의 카르복실레이트 모이어티에 착체화 된 제약상 허용되는 Zn(II) 및 (ii) 종양-표적화 모이어티 및 전하-변형된 모이어티로부터 선택된 하나 이상의 모이어티로 변형된 α -폴리글루탐산을 포함하는 α -폴리글루탐산 담체를 포함하는 것인, 제약 조성물.