(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년05월14일
(11) 등록번호 10-1395370
(24) 등록일자 2014년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 38/43 (2006.01) *A61K 31/122* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2006-7016800
(22) 출원일자(국제) 2005년01월21일
심사청구일자 2009년11월23일
(85) 번역문제출일자 2006년08월22일
(65) 공개번호 10-2007-0012349
(43) 공개일자 2007년01월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US2005/001581
(87) 국제공개번호 WO 2005/069916
국제공개일자 2005년08월04일
(30) 우선권주장
60/538,319 2004년01월22일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20020156302 A1*
US6582723 A
US20020039595 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
유니버시티 오브 마이애미
미국, 플로리다 33136, 마이애미, 슈트 110, 1951 엔더블유 7티에이치 애비뉴
(72) 발명자
시아, 성, 란
미국, 플로리다 33158, 마이애미, 72엔드 에스더블유, 애비뉴13701
나라인, 니벤, 라진
미국, 플로리다 33136, 마이애미, 아파트 1607더블유, 엔.마이애미 애비뉴 850
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
에스앤아이피특허법인

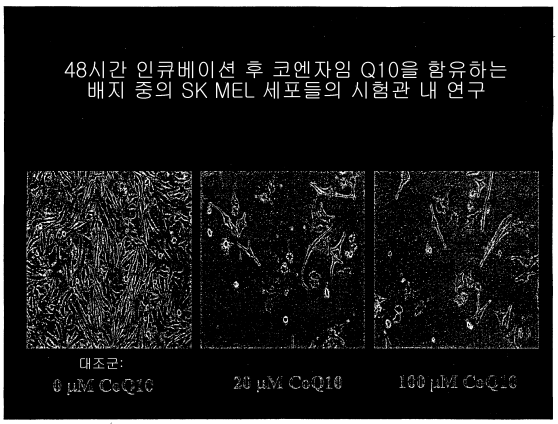
전체 청구항 수 : 총 14 항 심사관 : 안규정

(54) 발명의 명칭 **국소용 코-엔자임 큐10 제형 및 그의 사용 방법**

(57) 요 약

CoQ10의 국소용 제형은 동물 피검자에서 종양 성장 속도를 감소시킨다. 본원에 개시된 실험들에서, CoQ10은 피부암 세포들의 배양액에서 아폽토시스의 속도를 증가시키지만, 정상 세포들에서는 그렇지 않은 것으로 보였다. 더욱이, CoQ10의 국소용 제형으로 종양-생성 동물들을 치료하는 것은 동물들에서 종양 성장 속도를 극적으로 감소시키는 것으로 나타났다.

대 표 도 - 도1



(72) 발명자

리, 지에

미국, 플로리다 33156, 마이애미, 엔. 켄돌 드라이브 #에프30769-04

러셀, 캐쓰린, 제이.

미국, 플로리다 34238, 사라소타, 보카 포인테 드라이브 3871

워안, 캐런, 브이.

미국, 플로리다 33414, 웰링톤, 레드 파인 트레일 1516

페르사우드, 인더세카르

미국, 플로리다 33031, 홈스테드, 에스더블유 240 쓰 스트리트168-30

특허청구의 범위

청구항 1

치료 유효량의 코엔자임 Q10을 포함하는 암 치료용 제약학 조성물로서,

상기 조성물은 1% 내지 15%(w/w)의 코엔자임 Q10을 포함하고,

상기 암은 흑색종(melanoma)이고,

상기 조성물은 상기 흑색종의 성장을 감소시키는 유효량이 상기 흑색종의 위치에 국소적인 투여로 사용되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 코엔자임 Q10을 포함하는 상기 조성물은 국소 크림으로 제형되는 것인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 치료 유효량의 상기 코엔자임 Q10을 포함하는 상기 조성물은 추가적인 항암제와 투여되는 것인 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 추가적인 항암제는 1개 이상의 화학요법제인 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 추가적인 항암제는 치료 유효량의 코엔자임 Q10을 포함하는 상기 조성물과 동시-투여되는 것인 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 추가적인 항암제는 치료 유효량의 코엔자임 Q10을 포함하는 상기 조성물 보다 선행하여 투여되는 것인 조성물.

청구항 7

제4항에 있어서, 상기 추가적인 항암제는 치료 유효량의 코엔자임 Q10을 포함하는 상기 조성물 이후에 투여되는 것인 조성물.

청구항 8

제4항에 있어서, 상기 화학요법제는 사이클로포스파미드(CTX, 25 mg/kg/일, p.o.), 탁산류(paclitaxel 또는 docetaxel), 부설판, 시스플라틴, 시클로포스파미드, 메토트렉세이트, 다우노루비신, 독소루비신, 멜팔란, 클라드리빈, 빈크리스틴, 빈블라스틴 및 클로람부실로 구성된 군에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 9

제3항에 있어서, 상기 추가적인 항암제는 항-맥관 형성제인 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 코엔자임 Q10을 포함하는 상기 조성물은 리포좀인 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 조성물은 1% 내지 10%(w/w)의 코엔자임 Q10을 포함하는 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 조성물은 1% 내지 5%(w/w)의 코엔자임 Q10을 포함하는 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 조성물은 흑색종 세포에서 아폽토시스의 증가를 유도하는 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 조성물은 흑색종이 매개된 맥관 형성 억제를 유도하는 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 코-엔자임 Q10 (CoQ10)을 함유하는 제약 조성물 및 암의 치료, 암 세포 성장의 선택적 약화, 암 세포들에서 아폽토시스의 유도 및 종양 매개된 신생 혈관 생성의 억제를 위해 CoQ10을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암은 현재 선진국들에서 주요 사망 원인들 중의 하나이다. 최근의 연구는 종양 발생의 많은 분자적 기작들에 대한 우리의 이해를 크게 증가시켜 왔고, 암 치료를 위한 수많은 새로운 방도를 제공해 왔지만, 대부분의 악성 종양에 대한 표준 치료법들은 총 절제술, 화학요법 및 방사선요법에 머물러 있다. 점점 성공적이지만, 이들 치료법들 각각은 여전히 수많은 원치 않는 부작용들을 유발한다. 예를 들면, 수술은 통증, 건강한 조직에 대한 외상성 상해 및 흉터를 초래한다. 방사선요법 및 화학요법은 구토, 면역 억제, 위궤양 및 2차 종양 발생을 유발한다.

발명의 상세한 설명

[0003] 본 발명은 CoQ10의 국소 제형들이 동물 피검자에서 종양 성장 속도를 감소시킬 수 있다는 발견에 관한 것이다. 본원에 개시된 실험들에서, CoQ10은 피부암 세포들의 배양물에서 아폽토시스 속도를 증가시키지만 정상 세포들에서는 그렇지 않은 것으로 나타났다. 더욱이, CoQ10의 국소 제형으로 종양을 가진 동물들을 치료하는 것은 동물들에서 종양 성장 속도를 극적으로 감소시키는 것으로 보였다.

[0004] 경구 전달을 위해 제형된 CoQ10은 규정 보충식으로서 이미 사용되어 왔다. 그러나, 경구 투여된 CoQ10은 간에 축적되어 그의 전신 적합성을 감소시키는 것으로 보였다. 국소 도포된 CoQ10에 의해 관찰된 항-종양 반응들은 CoQ10의 규정 보충식 형태들에 비해 더 큰 생체 적합성에 관련할 수 있다.

[0005] 따라서, 본 발명은 피검자에서 종양 세포 성장 속도를 감소시키거나 또는 종양 세포들에서 아폽토시스 속도를 증가시키는 방법을 특징으로 한다. 이 방법은 복수개의 종양 세포들을 갖는 피검자를 제공하는 단계 및 유효량의 CoQ10 및 제약학상 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 피검자에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0006] 다른 국면에서, 본 발명은 유효량의 CoQ10 및 제약학상 허용되는 담체를 포함하는 조성물을 특징으로 한다.

[0007] 바람직한 실시예에서, 이 조성물은 적어도 약 0.01 중량 %의 CoQ10 내지 30중량%(w/w)의 CoQ10 및 이 CoQ10을 국소로 전달하기 적절한 담체를 포함하는 CoQ10의 국소 제형이다. 바람직하게는, 이 제약 조성물은 활성 성분으로서 CoQ10 및 제약학상 허용되는 담체를 포함한다. 이 조성물은 코엔자임 Q10, 포스포리폰 90, 글리세롤, 부틸화된 히드록실톨루엔(BHT), 에탄올, 중간쇄 트리글리세리드들(MCT) 및 라벤더를 포함한다. 바람직하게는, 포스포리폰 90은 포스포리폰 90G 및/또는 포스포리폰 90H이다.

[0008] 바람직한 실시예에서, 제약 조성물은 적어도 약 0.01% 내지 약 30%(w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다. 바람직하게는, 이 제약 조성물은 약 1% 내지 약 25%(w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다.

[0009] 다른 바람직한 실시예에서, 본 발명은 치료 효과량의 코엔자임 Q10을 포함하는 조성물을 치료를 요하는 환자에게 투여하는 단계;

[0010] 종양 세포의 파괴를 초래하는 조성물과 종양 세포를 접촉시키는 단계;

[0011] 그에 따라 암 환자를 치료하는 단계를 포함하는, 암 환자의 치료 방법을 제공한다.

[0012] 바람직하게는, 이 제약 조성물은 적어도 약 0.01% 내지 30% w/w의 코엔자임 Q10을을 포함하고, 바람직하게는, 이 조성물은 약 1% 내지 약 25% w/w의 코엔자임 Q10을 포함한다.

[0013] 다른 바람직한 실시예에서, 이 제약 조성물은 임의의 경피 인핸서와 함께 국소 크림제로 제형된다.

[0014] 다른 바람직한 실시예들에서, 치료 효과량의 코엔자임 Q10 조성물은 1개 이상의 화학 치료제와 함께 투여된다. 이들 화학 치료제들은 코엔자임 Q10와 동시-투여될 수 있거나, 선행 투여되거나, 또는 그 후에 투여될 수 있다. 화학 치료제들의 비제한적인 예들은 사이클로포스파미드(CTX, 25 mg/kg/일, p.o.), 탁산류(paclitaxel 또는 docetaxel), 부설판, 시스플라틴, 시클로포스파미드, 메토트렉세이트, 다우노루비신, 독소루비신, 멜팔란, 클라

드리빈, 빈크리스틴, 빈블라스틴 및 클로람부실을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다.

[0015] 다른 바람직한 실시예에서, 제약 조성물인 코엔자임 Q10 조성물은 피검자에서 종양 세포 성장을 억제하고, 그 방법은 치료 효과량의 CoQ10을 포함하는 제약 조성물을 피검자에게 투여하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 제약 조성물 중의 치료 효과량의 코엔자임 Q10은 약 0.01% 내지 30% w/w의 코엔자임 Q10을 포함한다. 종양 세포 성장의 억제는 1개 이상의 다음 효과들: 즉, (1) (i) 성장 서행 및 (ii) 완전한 성장 정지를 포함하여 어느 정도까지 종양 성장의 억제; (2) 종양 세포들의 수의 감소; (3) 종양 크기 유지; (4) 종양 크기의 감소; (5) 주변 장기들 내로 종양 세포 침윤의 (i) 감소, (ii) 서행 또는 (iii) 완전 예방을 포함하는 억제; (6) 전이의 (i) 감소, (ii) 서행 또는 (iii) 완전 예방을 포함하는 억제; (7) (i) 종양 크기 유지, (ii) 종양 크기 감소, (iii) 종양 성장의 서행, (iv) 내습의 감소, 서행 또는 예방을 초래할 수 있는 항-종양 면역 반응의 증진 및/또는 (8) 그 질환과 연관된 1가지 이상의 증상의 수 또는 중증도의 어느 정도까지의 완화에 관한 것이다.

[0016] 다른 바람직한 실시예에서, 본 발명은 종양 세포에서 아폽토시스를 선택적으로 유도하는 방법을 제공하고, 이 방법은 표준 분석들에서 측정한 바와 같이 코엔자임 Q10을 포함하는 제약 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 바람직하게는, 이 제약 조성물은 적어도 약 0.01% 내지 30 % w/w의 코엔자임 Q10을 포함한다. 아폽토시스를 측정하는 방법들은 미토콘드리아 막 염료 분석 및/또는 애넥신(Annexin)-VPE 분석을 포함하지만, 그것으로 제한되지 않는다. 바람직한 실시예에서, 이 제약 조성물은 미토콘드리아 막 염료 분석 및/또는 애넥신(Annexin)-VPE 분석에 의해 측정된 바와 같이 적어도 약 30%의 종양 세포들에서 아폽토시스를 유도한다. 바람직하게는, 이 제약 조성물은 미토콘드리아 막 염료 분석 및/또는 애넥신(Annexin)-VPE 분석에 의해 측정한 바 약 60% 종양 세포들에서 아폽토시스를 유도하고, 더욱 바람직하게는, 이 제약 조성물은 미토콘드리아 막 염료 분석 및/또는 애넥신(Annexin)-VPE 분석에서 측정한 바 약 75% 종양 세포들에서 아폽토시스를 유도하고, 더욱 바람직하게는, 이 제약 조성물은 미토콘드리아 막 염료 분석 및/또는 애넥신(Annexin)-VPE 분석에서 측정한 바 약 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 및 100%의 종양 세포들에서 아폽토시스를 유도한다.

[0017] 다른 바람직한 실시예에서, 본 발명은 종양에서 맥관 형성을 억제하는 방법을 제공하고, 이 방법은 코엔자임 Q10을 포함하는 제약 조성물과 종양을 접촉시키는 단계를 포함한다. 바람직하게는, 이 제약 조성물은 적어도 약 0.01% 내지 30% w/w의 코엔자임 Q10을 포함한다.

[0018] 본원 발명의 화합물들에 대한 추가의 용도들은 아테롬성 동맥 경화증, 염증 및 항-맥관 형성제로서 특히 암, 특히 충실성 암, 예를 들면 허파, 유방, 간, 뇌 또는 기타 조직에 있는 암들의 치료에서의 사용을 포함한다.

[0019] 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 용어들은 본 발명이 속하는 당업계의 통상의 기술을 가진 자들이 통상으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 의료 용어들의 통상적으로 이해되는 정의들은 문헌(Thomas Lathrop Stedman, Stedman's Medical Dictionary, Lippincott, Williams & Wilkins: Philadelphia, PA 2000)에서 찾을 수 있다.

[0020] 본원에 언급된 모든 공고, 특허 출원들, 특허 및 기타 참고 문헌들은 본원에 참고 문헌으로 전문 첨부한다. 상충하는 경우, 정의들을 포함하는 본원 특허 명세서는 조절될 것이다. 아래 고찰된 특정 실시예들은 단지 예시적인 것으로 제한되도록 의도되지 않는다.

[0021] 본 발명의 다른 국면들은 아래 기재된다.

실 시 예

[0208] 다음 실시예들은 본 발명을 제한 없이 예시하도록 작용한다. 본 발명의 정신 및 범위에서 벗어나지 않는 변화들 및 변형들이 이루어질 수 있음이 이해될 것이다.

[0209] 실시예 1 - 아폽토시스 분석을 위한 재료 및 방법들

[0210] 분석에 사용된 세포주들은 SK-Mel28 및 nFIB였다. 세포들 (SK-Mel28 및 nFIB)은 배지를 단독으로 또는 치료제와 함께 배지를 함유하는 웰 내로 파종되고 (5×10^4 세포들/웰), 37℃, 5% CO_2, 가습된 조건들 하에 48시간 동안 인큐베이터에 놓였다. 각각의 조건은 2중으로 수행되었고, 다음 프로토콜에 적용되었다:

[0211] BD 파밍겐 애넥신-VPE 프로토콜의 프로토몰당 아폽토시스 분석

[0212] 시약들은 애넥신 V-PE (BD Pharmingen, 캘리포니아주 샌디에고), 7-AAD (BD Pharmingen, 캘리포니아주 샌디에고), 결합 완충액(10x: 0.1 M 헤페스/NaOH, 1.4— NaCl, 25mM $CaCl_2$)(실험에 사용하기 위해 1x(9mL PBS 및 1mL

결합 완충액)으로 희석됨)(BD Pharmingen, 캘리포니아주 샌디에고), 트립신-EDTA (Gibco, 뉴욕 그랜드 아일랜드) 및 목적하는 배지를 포함한다.

[0213] 0.5mL 트립신을 각각의 웰에 부가하고, 대략 10초 후에 트립신을 제거하고, 0.5mL 트립신을 각각의 웰에 부가한다. 인큐베이터에 웰들을 놓고, 4분 후 현미경으로 분리 레벨을 관찰하고, 분리를 돕기 위해 측면 및 바닥을 부드럽게 두드린다. 세포들이 분리될 때, 0.5mL 혈청-보충된 배지로 중화시킨다. 세포 용액을 원심 분리관으로 옮기고, 세포들을 2000 RPM으로 5분 동안 원심분리시키고, 상층액을 흡기시키고, 6 mL PBS에 재현탁시키고, 6mL를 3개의 원심 분리 관(각각 2mL)으로 분리한다. 세포들을 2000 RPM으로 5분 동안 원심분리시키고, 상층액을 흡기시키고, 100㎕의 결합 완충 혼합물에 재현탁시키고, 각각의 원심분리관에 50㎕의 애넥신 V-PE 및 50㎕의 7-AAD를 부가하고, 회전시키고, 암실에 15분 동안 놓는다. 350㎕의 결합 완충액을 각각의 관에 부가하고, 유속 세포 분석기를 사용하여 분석을 수행한다.

[0214] 기저선 역시 플라스크로부터 신선하게 배양된 세포들을 사용하여 생성되었다. 세포들은 2차 배양되고, 차가운 PBS로 2회 세척되었다. 순차로, 이들 세포는 1 x 10^6 세포/mL의 농도까지 1 x 결합 완충액에 재현탁시켰다. 100㎕의 세포 현탁액을 전체 1 x 10^5/관으로 3개의 시험관들 내로 이동시켰다. 하나의 관은 어떠한 염색도 도입하지 않고 네거티브 대조군으로서 작용하였다. 다른 것은 단지 애넥신 V-PE로 염색하는 한편, 최종 물질은 단지 7-AAD로 염색하였다. 50㎕의 염색 용액을 각각의 시험관 내에 넣었다. 이어서, 이들 관은 그 시간 후 15분 동안 암실에 두었고, 350㎕의 결합 완충액을 각각에 부가하였다. 이어서, 이들을 처리된 세포 및 대조군 세포 전에 유속 세포 분석기에 의해 분석하였다.

[0215] 실험 1: 인간 유방암 세포들에서 아폽토시스 레벨에 대한 코엔자임 Q10의 효과

[0216]

MCF-7 대조군	MCF-7 대조군	MCF-7 대조군
100㎛M CoQ10	100㎛M CoQ10	100㎛M CoQ10

[0217] - 50,000 세포들/웰로 파종됨

[0218] - 72시간 후 아폽토시스 분석(애넥신 PI)에서 100,000 세포/시료의 기저선에 비교한다.

[0219] 실험 2: 흑색종 세포들에서 아폽토시스 레벨에 대한 2-프로판올 비히클의 효과

[0220]

SK-MEL 28 대조군	SK-MEL 28 대조군	SK-MEL 28 대조군
50㎛M의 CoQ10인 경우 등가 부피. (1% 2-프로판올)	50㎛M의 CoQ10인 경우 등가 부피. (1% 2-프로판올)	50㎛M의 CoQ10인 경우 등가 부피. (1% 2-프로판올)

[0221] - 50,000 세포들/웰로 파종됨

[0222] - 48시간 후 아폽토시스 분석(애넥신 PI)에서 100,000 세포/시료의 기저선에 비교한다.

[0223] 실험 3: 신생아 섬유아세포들에서 아폽토시스 레벨에 대한 2-프로판올 비히클의 효과

[0224]

nFIB(P)6 대조군	nFIB(P)6 대조군	nFIB(P)6 대조군
50㎛M의 CoQ10인 경우 등가 부피. (1% 2-프로판올)	50㎛M의 CoQ10인 경우 등가 부피. (1% 2-프로판올)	50㎛M의 CoQ10인 경우 등가 부피. (1% 2-프로판올)

[0225] - 50,000 세포들/웰로 파종됨

[0226] - 48시간 후 아폽토시스 분석(애넥신 PI)에서 100,000 세포/시료의 기저선에 비교한다.

[0227] DMEM/F12 배지의 제조

[0228] 재료:

[0229] - DMEM/F12 배지 (Ca# 11330-032 Gibco-Invitrogen Corp. 뉴욕 그랜드아일랜드)

[0230] - 실리콘화된 멸균 피펫 팁들 - PipettMan으로 사용될 1mL 및 25mL

[0231] -FBS (태아 송아지 혈청) 보충물 (Gibco-Invitrogen Corp, 뉴욕 그랜드 아일랜드)

[0232] - PSA (페니실린 스트렙토마이신 암포테로신 B) - 항미생물제 보충물 (Cascade Biologics, 오레곤주 포틀랜드)

[0233] 절차:

[0234] 적절한 양의 FBS를 DMEM/12 (예, 10% 혈청 농도를 위해 500 mL 배지 중의 50 mL FBS)로 옮긴다. 적당한 양의 PSA를 부가하여 최종 농도 100 U/mL의 페니실린 G, 100㎍/mL의 스트렙토마이신 설페이트 및 0.25㎍/mL의 암포테리신 B (예, 1mL의 500mL 배지 중의 500xPSA)의 용액을 얻는다. 피펫팅하고, 병을 인버팅하여 혼합한다. 사용 전까지 4℃에서 저장한다.

[0235] EpiLife 배지의 제조

[0236] 재료:

[0237] 실리콘화된 멸균 피펫 팁 - PipettMan으로 사용될 5mL, 10mL

[0238] - EpiLife 배지 (M-EPI-500, Cascade Biologicals)

[0239] - PSA (500X 페니실린 스트렙토마이신 암포테로신 B) - 항미생물제 보충물 (R-004-10 Cascade Biologics)

[0240] - EDGS (Epidermal Growth Supplement)(S-012-5 Cascade Biologics)

[0241] 절차:

[0242] EDGS (5mL) 및 PSA (1mL)의 하나의 바이알을 EpiLife 배지에 옮겨 100 U/mL의 페니실린 G, 100㎍/mL의 스트렙토마이신 설페이트 및 0.25㎍/mL의 암포테리신 B (예, 1mL의 500mL 배지 중의 500xPSA)의 용액을 얻는다. 피펫팅하고 및 인버팅하여 혼합한다. 사용전까지 4℃에서 저장한다.

[0243] 배지 프로토콜 중의 Q10의 균질한 용액의 생성

[0244] 재료:

[0245] - 폴리스티렌 멸균 피펫 팁들 - 자동 피펫들로 사용될 200-1000㎕

[0246] - 실리콘화된 멸균 피펫 팁들 - PipettMan으로 사용될 10mL

[0247] - 15 mL 원심분리관

[0248] - 배지

[0249] - 코엔자임 Q10 (Compound Solutions, Inc. 캘리포니아주 에스콘디도)

[0250] - 2-프로판올 (Cat#9083-3, J.T. Baker Chemical Co., 뉴저지주 필립스버리)

[0251] 절차:

[0252] -20℃로 저장된 Q10 원료를 회수하고, 약 4.4 mg 칭량한다. Q10을 원심분리관으로 옮긴다. 1 mL의 2-프로판올을 원심분리관에 부가한다. 환류시키고 뜨거운 수조(55℃)에 침지시켜 용해를 촉진시킨다. 9mL의 배지를 원심분리관에 부가한다. 필요할 경우 환류시키고 뜨거운 수조(55℃)에 침지시켜 균질한 용액을 생성한다. 이는 500 ㎛M Q10 용액을 초래한다. 치료 농도까지 일련하여 희석한다.

[0253] 세포 해동 프로토콜

[0254] 재료:

[0255] - 실리콘화된 멸균 피펫 팁들 - PipettMan으로 사용될 1mL, 10mL

[0256] - 75cm^2 세포 배양물 플라스크들

[0257] - 15 mL 원심분리관

[0258] 절차:

[0259] 시약들을 수조에서 37℃로 순화시킨다. 액체 질소 탱크에서 세포들을 제거한다. 바이알을 손으로 잡아 해동시킨다. 완전히 녹을 때까지 37℃에 수조에 담근다. 세포들을 10 mL의 성장 배지와 함께 15 mL의 원심분리관으로 옮긴다. 피페팅으로 혼합한다. 2500 RPM으로 8분 동안 원심분리한다. 상층액을 흡기시킨다. 적절한 배지로 펠렛을 재현탁시킨다. 환류 및 피펫팅에 의해 혼합하여 세포 현탁액을 균질화시킨다. 75cm^2 세포 배양물 플라스크(들)로 옮긴다.

[0260] 2차 배양 세포 프로토콜

[0261] 재료들:

[0262] - 실리콘화된 멸균 피펫 팁들 - PipettMan으로 사용될 5mL, 10mL

[0263] - 75cm^2(T75) 세포 배양물 플라스크들

[0264] - 6 웰 조직 배양물 플레이트들

[0265] - 15 mL 원심분리관

[0266] - 배지

[0267] - 0.05% 트립신 (Cat# 25-052-CI-1X 트립신-EDTA, Cellgro by Mediatech, Herndon, VA)

[0268] 절차:

[0269] 시약들을 수조에서 37℃로 순화시킨다. 세포 배양물 플라스크로부터 배지를 제거한다(세포들은 약 85% 합류될 때 2차 배양에 용이하다). 1-2 mL의 트립신을 플라스크에 30초 동안 부가하여 준비한다. 플라스크에서 트립신을 제거한다. 5 mL의 트립신을 플라스크에 부가한다. 플라스크를 약 4분 동안 37℃에서 인큐베이터에 넣는다. 제거하고 현미경으로 분리 정도를 관찰한다. 필요한 경우, 플라스크를 완만하게 태핑시켜 분리를 돕는다. 5 mL의 혈청-함유 배지를 부가한다. 피페팅하고 세포 현탁액으로 플라스크를 세척하여 혼합한다. 세포 현탁액을 15 mL의 원심분리관으로 옮긴다. 원심분리관을 와동시킨다. 2500 RPM으로 8분 동안 원심분리한다. 상층액을 흡기시킨다. 펠렛을 적절한 배지에 재현탁시킨다. 피페팅 및 와동에 의해 균질한 세포 현탁액을 생성한다. 실험을 위해 새로운 T75 플라스크 또는 웰플레이트 내로 세포들을 파종한다.

[0270] 세포 카운팅 프로토콜

[0271] 재료:

[0272] - Beckman Coulter® Z1 세포 및 입자 카운터 (Beckman Coulter, Inc., 캘리포니아주 풀러톤)

[0273] - Coulter 카운터 (Beckman Coulter, Inc.)

[0274] - Isoton II 희석액 (#8546719, Beckman Coulter)

[0275] - Coulter CLENZ (#8546929, Beckman Coulter)

[0276] - 플리스티렌 멸균 피펫 팁 - 자동 피펫들로 사용할 20 - 200 μM, 200 - 1000 μM

[0277] 절차:

[0278] 2차 배양(상기 2차 배양 세포 프로토콜에 따름) 후, 자동 피펫을 사용하여 Coulter 카운터 바이알(Beckman, Inc.) 내로 카운트(0.25-1 mL)하기 위해 목적하는 부피의 세포 현탁액들을 피페팅한다. Beckman Coulter® Z1 세포 및 입자 카운터는 플러쉬하기 위해 Coulter CLENZ (Beckman, Inc., 캘리포니아주 풀러톤)를 사용하여 세정되게 보장한다. 장치는 일단 Isoton II 희석액으로 씻어낸다. 전체 10 mL의 부피가 되도록 세포 함유 바이알에 Isoton II 희석액을 부가한다. 정확도를 보장하기 위해 세포들을 2회 카운트하도록 장치의 출력 모드를 사용한다. 카운트들을 함께 평균하고 체적당 전체 세포수를 계산한다.

[0279] 시험관 내 실험 프로토콜들의 수행

[0280] 재료:

[0281] - 플리스티렌 멸균 피펫 팁 - 자동 피펫들로 사용할 20 - 200 μM, 200 - 1000 μM

[0282] - 실리콘화된 멸균 피펫 팁들 - PipettMan으로 사용될 5mL, 10mL

[0283] - 75cm^2 세포 배양물 플라스크들

[0284] - 6 웰 조직 배양물 플레이트들

[0285] - 15 mL 원심분리관

[0286] - Coulter 카운터 바이알 (Beckman Coulter, Inc.)

[0287] - 0.05% 트립신 (Cat# 25-052-CI-1X 트립신-EDTA, Cellgro)

[0288] 절차:

[0289] 시약들을 수조에서 37℃로 순화시킨다. 배지 중의 Q10의 균질한 용액을 생성하기 위해 상기 프로토콜에 따라 Q10의 원료 용액을 제조한다. 목적하는 농도까지 일련의 희석을 수행한다. 각각의 웰 내로 2 mL의 배지를 넣는다. 세포들을 2차 배양하기 위해 상기 프로토콜에 따라 플라스크들을 2차 배양한다. 균질한 세포 현탁액(약 5 mL)을 생성하기에 충분한 배지로 세포들을 재현탁시킨다. 세포들을 카운트하기 위해 상기 프로토콜에 따라 세포 농도를 결정한다. 목적하는 양의 파종할 세포들이 50-500 μL 내에 함유되도록 세포 현탁액을 희석한다. 목적하는 양의 세포들을 각각의 웰 내로 파종한다. 37℃, 5% CO_2, 및 가습 조건들 하에 목적하는 기간 동안 인큐베이션시킨다. 웰들로부터 배지를 흡기시킨다. 0.5 mL의 트립신을 각각의 웰에 넣는다. 약 4분 동안 인큐베이션시킨다. 현미경으로 분리 정도를 체크한다. 필요할 경우 분리를 돕기 위해, 흔들고, 측면을 완만하게 태핑하고, 바닥을 부드럽게 두드린다. 트립신을 0.5 mL 배지로 중화시킨다. 세포 분리를 돕고 덩어리들을 파괴하기 위해 피페팅한다. 0.5 mL 세포 현탁액을 제거하고, Coulter 카운터 바이알 (Beckman Coulter, Inc.)에 넣는다. 세포들을 카운트하기 위해 상기 프로토콜에 따라 세포들을 카운트한다.

[0290] 동물들의 접종 프로토콜

[0291] 재료:

[0292] - 인산염 완충 용액(PBS)(Gibco-Invitrogen Corp, 뉴욕 그랜드 아일랜드)

[0293] - 플리스티렌 멸균 피펫 팁 - 자동 피펫들로 사용할 20 - 200 μM, 200 - 1000 μM

[0294] - 실리콘화된 멸균 피펫 팁들 - PipettMan으로 사용될 5mL, 10mL

[0295] - 75cm^2 세포 배양물 플라스크들

[0296] - 15 mL 원심분리관

[0297] - Coulter 카운터 바이알 (Beckman Coulter, Inc.)

[0298] - 0.05% 트립신 (Cat# 25-052-CI-1X 트립신-EDTA, Cellgro)

[0299] - 원심 분리관 (2mL)

[0300] - 마취제 (Aventin)

[0301] 절차:

[0302] 상기 세포 2차 배양 프로토콜에 따라 플라스크들을 2차 배양한다. 상층액을 흡기시킨 후, 5mL 피펫에 의해 약간 희석된 각각의 플라스크로부터 펠렛들을 합한다. 100 μL 당 약 천만개의 세포들을 함유하도록 최종 세포 현탁액을 희석한다. 세포 현탁액을 마이크로-원심분리관 (2 mL)으로 옮긴다. 즉시 얼음에 넣고, 주입될 때까지 얼음속에 남겨둔다. 0.3cc의 아벤틴으로 복강내 주입을 통해 생쥐를 마취시킨다. 부위당 0.1cc 세포 현탁액으로 각각의 동물을 피하로 접종한다. 임의의 나머지 세포들을 15 mL 원심분리관으로 옮긴다. 배지로 10 mL까지 희석한다. 2500 RPM으로 8분 동안 원심분리시킨다. 상층액을 흡기시킨다. 10 mL의 배지를 원심 분리관에 부가한다. 피페팅 및 와동에 의해 균질한 세포 현탁액을 생성한다. 실험 세포 생활성을 보장하기 위해 T75 플라스크에 세포들을 파종한다.

[0303] 실시예 2 - 생쥐들에서 SK-MEL28 종양들에 대한 코엔자임 Q10의 국소 제형의 효과

[0304] 피하층으로 SK-MEL28을 주사함으로써 생쥐들에서 흑색종 종양들을 유도하였다. 동물 연구는 각각 4마리의 생쥐

를 포함하는 대조군과 치료군으로 구성되었다. 생쥐들은 2개의 종양들로 접종되었고, 도 14의 그래프는 각각의 생쥐에서 종양들에 대해 초래된 평균 질량을 나타낸다. 코엔자임 Q10(10%)의 국소 제형은 30일의 기간 동안 매일 치료군의 종양들에 도포되었다. 그 후, 종양들이 절개되고 그 질량이 측정되었다. 치료 군의 전체적인 평균 질량의 차이는 대조군에 비해 현저하였다 ($P<0.05$).

[0305] 실시예 3 - 국소 CoQ10 크림의 제조

[0306] 시약:

[0307] - 포스포리폰 90G (American Lechitin, 코네티컷주 스탠포드)

[0308] - 글리세롤

[0309] - BHT

[0310] - 에탄올

[0311] - MCT

[0312] - 라벤더 (Sigma-Aldrich)

[0313] - CoQ10 (Pure Prescriptions, 캘리포니아주 샌디에고)

[0314] 절차:

[0315] 6g의 포스포리폰 90G (American Lechitin, 코네티컷주 스탠포드)를 5.8g의 글리세롤(Sigma-Aldrich, 미조리주 세인트 루이스), 0.2g의 BHT (Sigma-Aldrich), 4ml의 에탄올(Sigma-Aldrich) 및 18g의 MCT(Sigma-Aldrich)의 혼합물에 60℃에서 용해시켰다. 20g의 CoQ10 (Pure Prescriptions)을 결과의 혼합물 내로 용해시켰다. 90ml의 1mM 인산염 완충액(pH 8.2)을 질소 포화수에 의해 제조하고, 0.2 ml 라벤더(Sigma-Aldrich)를 부가하고, 혼합물을 고속 블렌더에서 12,000 RPM으로 혼합하여 크림을 형성하였다. 이 크림을 사용 전까지 4℃에 저장하였다.

[0316] 실시예 4: JC-1 염색에 대한 아폽토시스 분석

[0317] 미토콘르이아 막 염료 JC-1,5,5',6,6'-테트라클로로-1,1',3,3'-테트라에틸-벤즈이미다졸릴카르보시아닌 클로라이드 (Molecular Probe, 오레곤주 유진)를 사용하여 아폽토시스를 측정하였다. 1X PSA, 5% FBS 및 0, 50, 100 및 200 μM 농도의 코엔자임 Q10으로 보충된 DMEM-F12로 구성된 치료제가 60 x 15 mm 조직 배양 디시 (Costar-Cambride, MA) 중에서 제조되었다. PC-3 세포들을 디시당 500,000 세포들로 파종하고, 24시간 동안 인큐베이션시켰다. 세포들을 2 mL의 트립신-EDTA를 사용하여 트립신화하고, 2,500 rpm으로 8분 동안 원심분리시켰다. 이들을 혈청 및 페놀 레드(Cascade Biologics, Inc-Portland, OR)가 결여된 Ham의 F12 배지 1 mL에 재현탁시키고, 순간적으로 얼음 위에 놓았다. JC-1의 1 mg/ml 원료 용액을 멸균 DMSO를 사용하여 제조하고, 부드럽게 와동시키면서 각각의 세포 현탁액에 10μL를 부가하였다. 세포들을 37℃에서 15분 동안 인큐베이션시키고, Ham의 F12 배지 4 ml로 희석하고, 600 rpm으로 7분 동안 원심분리시켰다. 5 ml의 차가운 PBS(Gibco- 뉴욕 그랜드 아일랜드)에 재현탁시키고, 세포들을 다시 600 rpm으로 7분 동안 원심분리시켰다. 이어서, 세포 펠렛을 1 ml의 차가운 PBS에 현탁시키고, 호일로 커버된 나일론 필터 탑 유속 세포 분석 관으로 이동시켜 빛이 침투하는 것을 방지하였다. 형광 염료의 흡수율 변화에 대해 유속 세포 분석기로 분석하였다. 모노머 JC-1는 녹색 형광(λ_{em}= 527nm)을 디스플레이하는 한편, J-집괴물은 적색 형광(λ_{em}= 590nm)을 디스플레이한다. 삼투 가능한 미토콘드리아는 아폽토시스 전 및 그 동안에 JC-1 모노머를 축적한다.

[0318] 기타 실시예들

[0319] 본 발명이 그의 상세한 설명과 관련하여 기재되었지만, 상기 설명은 본 발명의 범위를 제한시키려는 것이 아니라 예시하고자 의도되고, 첨부된 특허 청구의 범위에 의해 정의되는 것이 이해되어야 한다. 다른 국면, 장점들 및 변형들은 다음 특허 청구의 범위에 속한다.

도면의 간단한 설명

[0022] 본 발명은 특히 첨부된 특허 청구의 범위에서 지적된다. 본 발명의 상기 장점들 및 추가의 장점들은 수반되는 도면과 관련한 다음 상세한 설명을 참조함으로써 더 잘 이해될 것이다.

[0023] 도 1은 시험관 내 배양물에서 인간 흑색종 세포들(SKMEL28)에 대한 CoQ10의 효과를 보여주는 일련의 현미경 사

진.

[0024] 도 2는 CoQ10이 36시간의 시험관 내 배양물에서 인간 흑색종 세포주(SKMEL28)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0025] 도 3은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양물에서 인간 흑색종 세포주(SKMEL28)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0026] 도 4는 비히클 대조군이 48시간의 시험관 내 배양물에서 인간 흑색종 세포주(SKMEL28)의 증식을 감소시키지 않는 것을 보여주는 그래프.

[0027] 도 5는 시험관 내 배양물에서 인간 흑색종과 신생아 섬유아세포 사이의 아폽토시스에 대한 CoQ10의 효과를 비교하는 그래프.

[0028] 도 6은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양물에서 인간 신생아 섬유아세포의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0029] 도 7은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양물에서 인간 신생아 섬유아세포의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0030] 도 8은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양물에서 인간 신생아 케라티노사이트들의 증식을 증가시키는 것을 보여주는 그래프.

[0031] 도 9는 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양물에서 유방 선암 세포주(MCF-7)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프(MCF-7 세포주는 WNT7B 온코진을 발현시키고, Tx-4 온코진을 포함함).

[0032] 도 10은 CoQ10이 72시간의 시험관 내 배양물에서 유방 선암 세포주(MCF-7)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0033] 도 11은 30일 동안 CoQ10의 국소 제형에 의한 치료 후 CoQ10-치료된 쥐들 및 대조군에서 유도된 종양들을 보여주는 사진.

[0034] 도 12는 30일 동안 CoQ10의 국소 제형에 의한 치료 후 CoQ10-치료된 쥐들 및 대조군에서 유도된 종양들을 보여주는 사진.

[0035] 도 13은 도 11은 CoQ10-치료된 쥐들 및 대조군으로부터 절개된 종양들을 보여주는 사진.

[0036] 도 14는 30일 동안 대조군 또는 CoQ10으로 치료받은 생쥐 상의 종양 크기에 대한 CoQ10 투여 효과를 보여주는 그래프(대조군 대 치료군에 대한 평균 종양 질량은 각각 52.3% 및 54.0%로 감소된다).

[0037] 도 15는 시험관 내 배양액 중의 인간 유방 선암 세포들(SK-BR-3)에 대한 CoQ10의 효과를 보여주는 일련의 현미경 사진(SK-BR-3 세포들은 Her2/c-erb-2 유전자들인 유전자 생성물(ATCC)을 과다발현시킨다).

[0038] 도 16은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 유방 선암 세포주(SK-BR-3)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프(SK-BR-3 세포주는 Her2/c-erb-2 유전자들인 유전자 생성물(ATCC)을 과다발현시킨다).

[0039] 도 17은 CoQ10이 72시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 유방 선암 세포주(SK-BR-3)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프(SK-BR-3 세포주는 Her2/c-erb-2 유전자들인 유전자 생성물(ATCC)을 과다발현시킨다).

[0040] 도 18은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 유방 선암 세포주(MDA-MB-468)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프(MDA-MB-468 세포주는 p53 유전자(ATCC)에서 돌연변이를 갖는다).

[0041] 도 19는 CoQ10이 72시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 유방 선암 세포주(MDA-MB-468)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프(MDA-MB-468 세포주는 p53 유전자(ATCC)에서 돌연변이를 갖는다).

[0042] 도 20은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 유방 선암 세포주(BT-20)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프(BT-20 세포주는 WNT7B 및 WNT3 온코진(ATCC)을 발현시킨다).

[0043] 도 21은 CoQ10이 72시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 유방 선암 세포주(BT-20)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프(BT-20 세포주는 WNT7B 및 WNT3 온코진(ATCC)을 발현시킨다).

[0044] 도 22는 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 간세포 암 세포주(Hep 3B)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0045] 도 23은 CoQ10이 72시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 간세포 암 세포주(Hep 3B)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0046] 도 24는 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 골암 세포주(143B)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0047] 도 25는 CoQ10이 72시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 골암 세포주(143B)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0048] 도 26은 CoQ10이 48시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 전립선 선암 세포주(PC-3)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0049] 도 27은 CoQ10이 72시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 전립선 선암 세포주(PC-3)의 증식을 감소시키는 것을 보여주는 그래프.

[0050] 도 28은 24시간의 시험관 내 배양액 중의 인간 전립선 선암 세포주(PC-3)의 미토콘드리아 편광(아폽토시스의 지시자)에 대한 CoQ10의 효과를 보여주는 그래프(PC-3 세포 배양물들은 24시간 동안 0.05, 0.1, 및 0.2mM 농도로 Q10으로 처리하고, 이어서 30분 동안 10㎍/mL의 농도로 JC-1로 처리하였다. 녹색 형광의 섭취율 및 레벨들은 유속 혈구 계산기, FL1(녹색 형광)로 측정하였다. 주: 녹색 형광의 현저한 증가는 0.2mM Q10 처리된 세포들(황색 그래프)에서 관찰되었다).

[0051] 도 29A 및 29B는 CoQ10을 함유하는 조성물 부재 하의 대조군과 비교한 바 CoQ10을 포함하는 조성물(도 29B)에 의한 조직 내 종양-매개된 맥관 형성의 억제를 보여주는 사진.

[0052] 상세한 설명

[0053] 본 발명은 종양 세포 성장 속도를 감소시키거나 또는 종양 세포 아폽토시스 속도를 증가시키는 조성물 및 그 방법들을 제공한다. 본 발명의 조성물들은 항-종양제로서 치료 효과량의 CoQ10 및 담체를 포함한다. 본 발명의 바람직한 조성물은 적어도 약 15%의 CoQ10 및 CoQ10의 국소 전달을 촉진시키는 담체를 포함하는 CoQ10의 국소 제형이다. 본 발명의 가장 바람직한 조성물은 약 1% 내지 15%의 CoQ10 및 CoQ10의 국소 전달을 촉진시키는 담체를 포함하는 CoQ10의 국소 제형이다. 종양 세포를 치사하거나 또는 그의 성장률을 감소시키는 방법들은 효과적인 농도의 CoQ10과 그 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0054] 아래 기재된 바람직한 실시예들은 이들 조성물들 및 그 방법들의 적용을 예시한다. 뿐만 아니라, 이들 실시예들의 설명으로부터, 본 발명의 다른 국면들은 아래 제공된 설명에 기초하여 이루어지고(이루어지거나) 실시될 수 있다.

[0055] 본 발명이 개시되고 기재되기 전에, 본 발명은 본원에 개시된 특정 구조물들, 공정 단계들, 또는 재료들로 제한되지 않고, 관련 업계의 통상의 기술을 가진 자들에 의해 인식될 수 있는 바로 확장되는 것을 이해해야 한다. 본원에 사용된 용어는 단지 특정 실시예들을 기재할 목적으로 사용된 것으로 제한하고자 의도되지 않음을 역시 이해해야 한다.

[0056] 정의

[0057] 본 발명에 따라, 본원에 사용된 바와 같이, 다음 용어들은 달리 명확히 지시되지 않는 한, 다음 의미로 정의된다.

[0058] 본원에 사용된 바의 "하나의", "한 개의" 또는 "그"는 문맥에서 달리 명확히 지적되지 않는 한 복수개의 참조물들을 포함한다.

[0059] 본원에 사용된 바의, "제약학적으로 허용되는" 성분은 타당한 이익/위험 비율과 상응하는 불필요한 부작용(독성, 자극 및 알레르기 반응 등) 없이 인간 및/또는 동물들에 사용하기 적절한 것이다.

[0060] 본원에 사용된 바의 "안전한 치료 효과량"은 본 발명의 방식으로 사용될 때 타당한 이익/위험 비율과 상응하는 불필요한 부작용(독성, 자극 및 알레르기 반응 등) 없이 목적하는 치료 반응을 내기에 충분한 성분의 정량을 의미한다. "치료학적으로 효과량"은 목적하는 치료 반응을 내기에 효과적인 본 발명의 화합물의 양을 의미한다. 예를 들면, 육종 또는 임파종과 같은 암의 성장 또는 그의 유발을 지연시키거나 또는 암을 수축시키거나 또는 전이를 예방하는데 효과적인 양을 의미한다. 특히 안전하고 효과적인 양 또는 치료 효과량은 치료중인 특정 상태, 환자의 육체 상태, 치료 중인 포유 동물 또는 동물의 종, 치료 기간, 현행 요법의 특성(존재한다면), 및 화

합물들 또는 그의 유도체들의 구조 및 사용된 국소 제형 등의 인자에 따라 변화할 것이다.

[0061] 본원에 사용된 바의 "제약학적 염"은 아민 등의 염기성 잔기들의 무기산 또는 유기산염; 카르복실산 등의 산성 잔기들의 알칼리 또는 유기염을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다. 바람직하게는, 이 염들은 유기산 또는 무기산을 사용하여 제조된다. 이들 바람직한 산 염들은 염화물들, 브롬화물들, 황산염들, 질산염들, 인산염들, 술폰산염들, 포름산염들, 타르타르산염들, 말레산염들, 능금산염들, 시트르산염들, 벤조산염들, 살리실산염들, 아스코르브산염들 등이다. 가장 바람직한 염은 염산염이다.

[0062] 본원에 사용된 바의 "암"은 백혈병, 임파종, 흑색종, 악성 종양 및 육종을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는 포유 동물들에서 발견되는 모든 종류의 암 또는 신생물 또는 악성 종양들을 의미한다. 바람직한 실시예들에서, CoQ10 조성물들은 여러 가지 유형의 유방암; 전립선암; 간암; 골암의 치료를 위해 사용된다. 그러나, CoQ10 조성물을 사용하는 치료는 이들 유형의 암들로 제한되지 않는다.

[0063] 암들의 예는 뇌암, 유방암, 췌장암, 자궁 경부암, 결장암, 머리 및 목의 암, 신장암, 폐암, 비-소 세포 폐암, 흑색종, 중피종, 난소암, 육종, 위암, 자궁암 및 수아세포종이다. 본원에 사용된 바의 "암", "신생물" 및 "종양"은 교환 가능하게 단수 또는 복수 형태로 사용되고, 숙주 유기체를 병적으로 만드는 악성 변환을 겪는 세포들을 의미한다. 1차 암세포들(즉, 악성 변환 부위 근처에서 얻어진 세포들)은 잘-확립된 기술들, 특히 조직학적 조사에 의해 비-암세포들로부터 용이하게 구별될 수 있다. 본원에 사용된 바의 암 세포의 정의는 1차 암세포 뿐만 아니라 암 세포 조상으로부터 유도된 임의의 세포를 포함한다. 이것은 전이된 암세포들, 및 시험관 내 배양물들 및 암세포들로부터 유도된 세포주들을 포함한다. 충실성 종양으로서 통상적으로 만연되는 유형의 암을 의미할 때, "임상적으로 검출 가능한" 종양은 예를 들면 CAT 스캔, MR 이미지화, X-선, 초음파 또는 촉진 등의 절차에 의해 종양 덩어리에 기초하여 검출될 수 있는 것 및/또는 환자로부터 얻을 수 있는 시료에서 1개 이상의 암-특이적 항원들의 발현 때문에 검출될 수 있는 것이다.

[0064] "육종"이라는 용어는 일반적으로 배아 결합 조직과 같은 기질로 구성되고, 일반적으로, 모근 또는 균질한 기질에 내포된 치밀하게 패킹된 세포들로 구성된 종양을 의미한다. 본 발명이 조성물 및 임의로 효능제 및/또는 화학요법제로 치료할 수 있는 육종들의 예는 연골 육종, 섬유 육종, 림프 육종, 흑색 육종, 점액 육종, 골 육종, 애비메티 육종, 아디포스 육종, 지방 육종, 포상 육종, 연조직 육종, 에나멜 아세포 육종, 포도상 육종, 녹색 육종, 맥락막 육종, 배아 육종, 빌름의 종양 육종, 자궁 내막 육종, 기질 육종, 어윙 육종, 근막 육종, 섬유아세포 육종, 거대 세포 육종, 과립구 육종, 호지킨 육종, 특발성 다발성 착색 출혈성 육종, B 세포들의 이뮤노블라스트 육종, T-세포들의 이뮤노블라스트 육종, 젠센 육종 카포시 육종, 쿠퍼 세포 육종, 혈관 육종, 류코육종, 악성 간엽 세포 육종, 방골 육종, 망상 적혈구 육종, Rous 육종, 장액 낭종성 육종, 관절 활액 육종 및 모세관 육종을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다.

[0065] "흑색종"이라는 용어는 피부 및 기타 장기들의 멜라닌 생성 세포 시스템으로부터 발생하는 종양을 의미한다. 본 발명의 조성물들 및 임의로 효능제 및/또는 화학요법제로 치료할 수 있는 흑색종은 선단 사지-흑자 흑색종, 멜라닌 결핍 흑색종, 양성 유년성 흑색종, 클라우드만 흑색종, S91 흑색종, 하딩-패시 흑색종, 유년성 흑색종, 색소성 건피증 흑색종, 악성 흑색종, 소결절 흑색종, 조하 흑색종 및 표피 확산 흑색종을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다.

[0066] "암"이라는 용어는 주변 조직들로 침윤하여 전이를 일으키는 경향이 있는 상피 세포들로 구성된 악성 신생 성장물을 의미한다. 본 발명의 조성물들 및 임의로 효능제 및/또는 화학요법제로 치료될 수 있는 암은 예를 들면 선포 암, 소포 암, 선낭포 암, 아데노이드 낭포성 암, 선양암, 부신 피질 암, 폐포 암, 폐포 세포암, 기저세포암(basal cell carcinoma, carcinoma basocellulare, basaloid carcinoma), 바소퀴아머스 세포 암, 기관지 폐포암, 세기관지암, 기관지원성 암, 뇌암, 담도 세포암, 맥락막 암, 교양암, 면포암, 자궁체부암, 소공질체암, 흉부암, 피부암, 원주형 세포함, 분비관암, 경성암, 태생기암, 뇌양암, 표피암, 선상피암, 외장성 자궁암, 위궤양암, 섬유암, 젤라틴형암, 교양 종양, 거대 세포암(giant cell carcinoma, carcinoma gigantocellulare), 선암, 난소과립막 세포암, 모모조직암, 혈액암, 간세포암, 허틀레 세포암, 초자상암, hypemephroid 암, 소아암, 상피내암(carcinoma in situ), 표피내암, 상피내암(intraepithelial carcinoma), 크롬페처암, 쿨치츠키-세포암, 대세포암, 렌즈양암, 렌즈형암, 지방종양암, 임파상피종암, 수양암, 수질암, 흑색암, 연성암, 점액성암종, 점액성 교양암, 점액세포암, 점액성 유표피암, mucosum 암, 점액성 암, 점액종양암, 비인두암, 연맥세포암, 화골성암, 골암, 유두상암, 문맥주위암, 조직 침범 전암, 바늘형 세포암, 연성암, 신장의 신장부 세포암, 저장 세포암, 육종양암, 스나이더 암, 경성암, 음낭암, 인환 세포암, 단순암, 소세포암, 감자상암, 구상세포암, 방추 세포암, 해면질암, 측두린암, 편평 세포암, 단선암, 혈관확장암, 모세혈관확장암, 이행세포암, 튜

버로섬암, 관상암, 사마귀상 암 및 융모양암을 포함하지만, 이것들로만 제한되지 않는다.

[0067] 본 발명의 조성물들로 치료될 수 있는 추가의 암들은 예를 들면 호지킨병, 비호지킨성 임파종, 다발성 골수종, 신경아세포종, 유방암, 난소암, 폐암, 횡문근육종, 초기 혈소판증가증, 초기 매크로글로불린혈증, 소세포 폐 종양, 초기 뇌종양, 위암, 결장암, 악성 췌장 인슐라노마, 악성 암양종, 방광암, 전암 상태의 피부 병변, 고환암, 임파종, 갑상선암, 신경아세포종, 식도암, 비뇨 생식기암, 악성 칼슘 과다 혈증, 자궁 경관암, 자궁 내막암, 부신 피질암 및 전립선암을 포함한다.

[0068] "진단학" 또는 "진단된"이란 병리학적 상태의 존재 또는 특성을 식별하는 것을 의미한다. 진단 방법들은 그의 민감도 및 특이성에서 상이하다. 진단 분석의 "민감도"는 시험된 병든 개체들이 포지티브인 백분율("참 포지티브"의 백분율)이다. 분석에 의해 검출되지 않는 병든 개체들은 "가성 네가티브"이다. 진단 분석의 "특이성"은 1 - 가성 포지티브 비율이고, 여기서 "가성 포지티브" 비율은 시험한 병들지 않은 개체들이 포지티브인 비율로 정의된다. 특수 진단법이 상태의 명확한 진단을 제공할 수 없지만, 그 방법이 진단을 보조하는 포지티브 지시를 제공하는 경우에 어려움을 겪는다.

[0069] "환자" 또는 "개체"는 본원에 교환 가능하게 사용되고, 이는 치료 받아야 하는 포유 동물 피검자를 의미하고, 인간 환자가 바람직하다. 일부 경우에, 본 발명의 방법들은 실험 동물들에서, 수의학적 용도에서 및 생쥐, 쥐, 및 햄스터를 포함하는 설치류; 및 영장류를 포함하지만 이들로만 제한되지 않는 동물 모델들에서 그 용도를 찾을 수 있다.

[0070] "시료"는 본원에서 가장 광범위한 의미로 사용된다. 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 펩티드 항체 등을 포함하는 시료는 체액; 세포 제제의 가용성 분획 또는 세포들이 성장하는 배지;세포로부터 단리되거나 또는 추출된 염색체, 세포 기관, 또는 막;용액 중에 있거나 또는 기질에 결합된 게놈 DNA, RNA 또는 cDNA, 폴리펩티드 또는 펩티드; 세포; 조직; 조직 프린트; 지문, 피부 또는 머리카락 등을 포함한다.

[0071] "치료"는 진행을 방지하거나 또는 질병의 병인 또는 증상을 변화시키고자 본 발명에 의해 수행되는 간섭이다. 따라서, "치료"는 치료학적 치료 및 예방 또는 방지 대책 모두를 의미한다. 치료가 필요한 자들은 그 질병에 이미 걸린 자들 뿐만 아니라 그 질병이 예방되어야 하는 자들을 포함한다. 종양(예, 암) 치료에서, 치료제는 종양 세포들의 병인을 직접적으로 감소시키거나, 또는 다른 치료제에 의한 치료, 예를 들면 조사 및/또는 화학요법에 종양 세포들을 보다 민감하게 한다. 본원에 사용된 바의 "완화된" 또는 "치료"는 정규화된 값(예를 들면 건강한 환자 또는 개체에서 얻어진 값)에 도달한 증상, 예를 들면 정규화된 값과 50% 미만 상이하고, 바람직하게는 정규화된 값과 약 25% 미만 상이하고, 더욱 바람직하게는, 정규화된 값과 10% 미만 상이하고, 더 바람직하게는 통상의 통계학적 시험들을 사용하여 결정된 바의 정규화된 값과 크게 상이하지 않은 증상을 의미한다. 예를 들면, "암의 치료" 또는 "종양 세포들의 치료"는 (1) (i) 성장 서행 및 (ii) 완전한 성장 정지를 포함하여 어느 정도까지 종양 성장의 억제; (2) 종양 세포들의 수의 감소; (3) 종양 크기 유지; (4) 종양 크기의 감소; (5) 주변 장기들 내로 종양 세포 침윤의 (i) 감소, (ii) 서행 또는 (iii) 완전 예방을 포함하는 억제; (6) 전이의 (i) 감소, (ii) 서행 또는 (iii) 완전 예방을 포함하는 억제; (7) (i) 종양 크기 유지, (ii) 종양 크기 감소, (iii) 종양 성장의 서행, (iv) 내습의 감소, 서행 또는 예방을 초래할 수 있는 항-종양 면역 반응의 증진 및/또는 (8) 그 질환과 연관된 1가지 이상의 증상의 수 또는 중증도의 어느 정도까지의 완화에 관한 것이다.

[0072] 본원에 사용된 바의 "완화된 증상" 또는 "치료된 증상"은 정규화된 값에 도달한 증상, 예를 들면 정규화된 값과 50% 미만 상이하고, 바람직하게는 정규화된 값과 약 25% 미만 상이하고, 더욱 바람직하게는, 정규화된 값과 10% 미만 상이하고, 더 바람직하게는 통상의 통계학적 시험들을 사용하여 결정된 바의 정규화된 값과 크게 상이하지 않은 증상을 의미한다.

[0073] "케모킨"은 식세포 및 림프구를 포함하여 세포들의 이동 및 활성화에 연관된 작은 시토킨이고, 염증 반응에서 일역을 한다.

[0074] "시토킨"은 시토킨이 작용하는 세포들의 표면 상의 "시토킨 수용체"를 통해 다른 세포들의 작용에 영향을 미치는 세포에 의해 만들어진 단백질이다. 림프구들에 의해 제조된 시토킨들은 때때로 "림포킨"이라 칭한다. 시토킨들은 또한 타입 I (예, IL-2 및 IFN-γ) 및 타입 II (예, IL-4 및 IL-10)으로 특징된다.

[0075] "변조한다"라는 용어는 임의의 언급된 활성들이 예를 들면 증가되고, 증진되고, 작용되고(아고니스트로 작용함), 촉진되고, 감소되고, 축소되고, 억제되고, 봉쇄되거나, 또는 길항되는(아고니스트로 작용함) 것을 의미한다. 변조는 기저 값에 비해 1-배, 2-배, 3-배, 5-배, 10-배, 100-배 이상 활성을 증가시킬 수 있다. 변조는 또한 기저 값들 아래로 그의 활성을 감소시킬 수도 있다.

[0076] 본원에 사용된 바의 "종양 세포들에 대해 선택적"이라는 용어는 아래 실시예들에 상세히 기재된 바와 같이 정상 세포들에 적용될 때 검출될 수 없는, 종양 성장의 억제, 아폽토시스, 항-맥관형성 효과 등의 코엔자임 Q10 제약 조성물들의 효과를 의미한다.

[0077] CoQ10 조성물들

[0078] 바람직한 실시예에서, 본 발명은 암의 치료를 위해 CoQ10 조성물들을 제공한다. 바람직하게는, 이 조성물들은 적어도 약 1% 내지 약 25% CoQ10 w/w, 더욱 바람직하게는, 약 1% 내지 약 20% CoQ10 w/w를 포함한다. 아래 실시예 부분에 개시된 대표적인 실시 형태에서, CoQ10의 국소 제형은 종양의 성장 속도를 감소시키도록 종양을 가진 동물의 피부에 도포된다. Pure Prescriptions(캘리포니아, 샌디에고)로부터 입수한 CoQ10은 임의의 적절한 정량(예, 1 킬로그램)의 산제 형태이다. CoQ10-함유 조성물을 전달하기 위해, 임의의 적절한 담체가 사용될 수 있다. 예를 들면, 리포좀이 담체로서 사용될 수 있다. 전형적인 리포좀 제형은 포스포리폰 90G(코네티켓주, 스탠포드, American Lechitin), 포스포리폰 90H(코네티켓주, 스탠포드, American Lechitin), 글리세롤, 부틸화된 히드록시톨루엔(BHT), 에탄올, 중쇄 트리글리세리드들(MCT), 라벤더(미조리주, 세인트루이스, Sigma-Aldrich) 및 코엔자임 CoQ10(캘리포니아주, 샌디에고, Pure Prescriptions)로 구성된다. 이러한 제형을 제조하기 위한 프로토콜의 예는 먼저 75℃에서 1.5g MCT, 0.3g BHT 및 9ml 에탄올과 함께 10g의 포스포리폰 90H, 5g의 포스포리폰 90G를 용해시키는 것을 필요로 한다. 다음으로, 12g의 코엔자임 CoQ10이 혼합물 내로 용해된다. 질소 포화수, 13.3g의 글리세롤 및 50μL의 라벤더와 함께 제조된 65ml의 1mM 인산염 완충액(pH 8.2)가 부가된다. 상기 혼합물은 고속 블렌더에서 12,000 RPM으로 혼합되어 크림을 형성한다. 이 크림은 사용될 때까지 4℃에서 저장된다.

[0079] 피검자들

[0080] 많은 상이한 종들의 피검자들은 종양들을 갖고, 종양을 획득하는데 민감하기 때문에, 본 발명은 많은 종류의 동물 피검자들에 사용될 수 있다. 그러한 동물들의 비-독점적인 전형적인 리스트는 생쥐, 쥐, 토끼, 염소, 양, 돼지, 말, 소, 개, 고양이 등의 포유 동물들 및 원숭이, 꼬리 없는 원숭이 및 인간과 같은 영장류들을 포함한다. 피부암으로 고통받는 것으로 알려진 동물 피검자들은 본 발명에 사용하는데 바람직하다. 특히, 피부암 또는 다른 종양들로 고통받는 인간 환자들은 본 발명에 사용하기 적절한 동물 피검자들이다. 본원에서 교시된 방법들을 의학 및 수의학에 공지된 다른 방법들에 적용함으로써(예, 동물 피검자의 체중에 따라 투여되는 기질의 도즈를 조절함), 본 발명에 이용되는 조성물들은 다른 동물들에서 사용하기 용이하게 최적화될 수 있다.

[0081] 제약 조성물들 및 피검자에 대한 투여

[0082] 바람직한 실시 형태에서, CoQ10를 포함하는 조성물들은 국소로 투여된다. 활성 성분, 즉, CoQ10을 즉 제약학적 제형으로서 제공하는 것이 바람직하다. 전형적인 조성물들은 이어지는 실시예들에 상세히 개시된다. 활성 성분은 국소 제형을 위해 최종 생성물의 제형의 0.001% 내지 약 20% w/w를 포함하지만, 이는 30% w/w, 바람직하게는 약 1% 내지 약 20% w/w를 포함할 수 있다. 본 발명의 국소 제형들은 활성 성분과 함께 그의 1개 이상의 허용되는 담체(들) 및 임의로 임의의 기타 치료 성분(들)을 포함한다. 이 담체(들)은 제형의 다른 성분들과 호환될 수 있고, 그의 수용체를 악화시키지 않는 의미로 "허용될 수" 있어야 한다.

[0083] 본 발명의 조성물들은 그것이 적절한 담체들 또는 부형제(들)과 혼합되는 경우 그 자체로 또는 제약 조성물로 환자에게 투여될 수 있다. 관심의 질병을 보이는 환자를 치료하는데 있어서, 이들과 같이 치료 효과량의 시약 또는 시약들이 투여된다. 치료 효과량의 도즈는 증상을 완화시키거나 또는 환자의 생존률을 지연시키는 화합물의 양을 의미한다.

[0084] 그러한 화합물들의 독성 및 치료 효능은 예를 들면 LD_{50}(개체군의 50%가 치사하는 도즈) 및 ED_{50}(개체군의 50%에서 치료 효과가 있는 도즈)를 결정하기 위해 세포 배양물 또는 실험 동물들에서 표준 제약 절차들에 의해 결정될 수 있다. 독성과 치료 효과 사이의 도즈 비율은 치료 지수이고, 그것은 LD_{50}/ED_{50} 비율로 표현될 수 있다. 큰 치료 지수를 나타내는 화합물들이 바람직하다. 이들 세포 배양물 분석 및 동물 연구로부터 얻어진 데이터는 인간에게 사용하기 위한 복용량 범위를 제형화하는데 사용될 수 있다. 그러한 화합물들의 복용량은 독성이 거의 없거나 또는 전혀 없는 ED_{50}를 포함하여 순환하는 농도 범위 내에 놓이는 것이 바람직하다. 그 복용량은 사용된 복용량 및 이용된 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 변화할 수 있다.

[0085] 본 발명의 방법에 사용된 임의의 화합물에 대해, 치료 효과량의 도즈는 세포 배양물 분석으로부터 초기에 추정될 수 있다. 예를 들면, 도즈는 세포 배양물에서 결정되는 바와 같이 IC_{50}을 포함하는 순환하는 플라즈마 농도

범위를 달성하기 위해 동물 모델들에서 제형될 수 있다. 그러한 정보는 인간에게 유용한 도즈들을 보다 정확히 결정하기 위해 사용될 수 있고, 플라즈마의 레벨들은 예를 들면 HPLC에 의해 측정될 수 있다.

[0086] 정확한 제형, 투여 경로 및 복용량은 환자의 상태를 관찰한 개별 내과의에 의해 선택될 수 있다(Fingl 등, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 1975, 1장, 1페이지). 주치 내과의는 독성 또는 장기 기능 이상으로 인해 어떻게 그리고 언제 투여를 종료하거나, 중지하거나 또는 조절해야 할지 알 수 있어야 함에 주의해야 한다. 반대로, 주의 내과의는 임상 반응이 적절하지 않은 경우(독성 배제) 보다 높은 레벨로 치료를 조절하는 것을 알 수도 있다. 관심있는 온코진 질환의 관리에서 투여된 도주의 크기는 치료해야 하는 증상의 심각도 및 투여 경로에 따라 변화할 것이다. 증상의 심각도는 예를 들면 표준 진단 평가 방법들에 의해 부분적으로 평가될 수 있다. 더욱이, 도즈 및 도즈 빈도는 개개의 환자의 연령, 체중 및 반응에 따라 변화할 수도 있다. 상기 고찰된 바에 필적하는 프로그램은 수의학에 사용될 수도 있다.

[0087] 치료 중인 특정 증상에 따라, 그러한 시약들은 제형될 수 있고, 전신으로 또는 국소로 투여될 수 있다. 제형 기술 및 투여는 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18판, Mack Publishing Co., 펜실베니아주, 이스턴(1990))에서 찾을 수 있다. 적절한 경로들은 경구, 직장, 경피, 질내, 점막내 또는 장내 투여; 근육내, 피하, 골수내 주입 뿐만 아니라 낭내, 직접 심실내, 정맥내, 복강내, 비내 또는 안내 주입을 포함하는 비경구적 전달을 포함할 수 있으며, 단지 몇몇을 지명하였다.

[0088] 상기 조성물들은 임의의 적절한 제형으로 피검자에게 투여될 수 있다. CoQ10의 국소 제형으로 암을 치료하는 것 외에, 본 발명의 다른 국면들에서, CoQ10는 다른 방법들에 전달될 수도 있다. 예를 들면, CoQ10는 비경구적 전달을 위해, 예를 들면 피하, 정맥내, 근육내 또는 종양내 주입을 위해 제형될 수도 있다. 다른 전달 방법들, 예를 들면 본원 조성물과 함침된 디바이스로부터 리포좀 전달 또는 확산이 사용될지도 모른다. 이 조성물은 단일회 거환 주입, 다중회 주입 또는 연속 주입(예를 들면, 정맥내 또는 복강 투석에 의해)에 의해 투여될 수 있다. 비경구적 투여를 위해, 이 조성물들은 멸균된 무발열원 형태로 제형되는 것이 바람직하다. 본 발명의 조성물들은 세포가 함유된 유체에 조성물을 단순히 부가함으로써 (예를 들면, 시험관 내 배양물의 암 세포에서 아폽토시스를 유도하기 위해) 세포에 시험관 내로 투여될 수도 있다.

[0089] 치료 중인 특이적 증상들에 따라, 그러한 시약들이 제형될 수 있고, 전신으로 또는 국소로 투여될 수 있다. 제형 기술 및 투여는 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences, 18판, Mack Publishing Co., 펜실베니아주, 이스턴(1990))에서 찾을 수 있다. 적절한 경로들은 경구, 직장, 경피, 질내, 점막내 또는 장내 투여; 근육내, 피하, 골수내 주입 뿐만 아니라 낭내, 직접 심실내, 정맥내, 복강내, 비내 또는 안내 주입을 포함하는 비경구적 전달을 포함할 수 있으며, 단지 몇몇을 지명하였다.

[0090] 주입을 위해, 본 발명의 시약들은 수용액으로, 바람직하게는 Hanks액, Ringer액 또는 생리적 염수 완충액 등의 생리학상 상용될 수 있는 완충액들 중으로 제형될 수 있다. 그러한 경점막 투여를 위해, 침투되어야 할 배리어로 적절한 침윤제들이 제형에 사용된다. 그러한 침윤제들은 일반적으로 당업계에 공지되어 있다.

[0091] 전신 투여에 적절한 복용량들로 본 발명을 실시하기 위해 본원에 개시된 화합물들을 제형하기 위한 제약학상 허용되는 담체들의 사용은 본 발명의 범위 내이다. 담체의 적절한 선택 및 적절한 제조 방법에 따라, 본 발명의 조성물들, 특히 용액으로 제형된 것들은 비경구적으로, 예를 들면 정맥내 주입으로 투여될 수 있다. 이 화합물들은 경구 투여에 적절한 복용량들로 당업계에 잘 공지된 제약학상 허용되는 담체들을 사용하여 용이하게 제형될 수 있다. 그러한 담체들은 치료받을 환자에 의해 경구 소화를 위해 본 발명의 화합물들을 정제, 필, 캡슐제, 액상제, 겔제, 시럽, 슬러리, 현탁액 등으로 제형될 수 있게 한다.

[0092] 세포 내로 투여되도록 의도된 시약들은 당업계의 통상의 기술을 가진 자들에게 잘 공지된 기술들을 사용하여 투여될 수 있다. 예를 들면, 그러한 시약들은 리포좀으로 캡슐화될 수 있고, 상기한 바와 같이 투여될 수 있다. 리포좀들은 수성 내부를 갖는 구상 액체 2층 구조이다. 리포좀 제형과 동시에 수용액에 존재하는 모든 분자들은 수성 내부 내로 혼입된다. 리포좀 함량들은 모두 외부 미생물 환경으로부터 보호되고, 리포좀들은 세포막들과 융합되기 때문에, 세포질 내로 효율적으로 전달된다. 추가로, 이들의 소수성으로 인해, 작은 유기 분자들이 세포 내로 직접적으로 투여될 수 있다.

[0093] 본 발명에 사용하기 적절한 제약 조성물들은 활성 성분들이 그의 의도된 목적을 달성하는데 효과적인 양으로 포함된 조성물들을 포함한다. 예를 들면 도 14 참조. 효과량의 결정은 당업계의 숙련자들의 능력 내에서, 특히 본원에 제공된 상세한 개시 내용에 비추어 이루어진다. 활성 성분들 외에, 이들 제약 조성물들은 제약학적으로 사용될 수 있는 제제 내로 활성 화합물들의 가공을 고무시키는 부형제들 및 보조제들을 포함하는 적절한 제약학

적으로 허용되는 담체들을 함유할 수 있다. 경구 투여를 위해 제형된 제제들은 정제, 당의정, 캡슐제 또는 용액제의 형태일 수 있다. 본 발명의 제약 조성물은 예를 들면 종래의 혼합, 용해, 과립화, 당의정 제조, 압축, 유화, 캡슐화, 트랩화 또는 친액화 공정에 의해 자체 공지된 방식으로 제조될 수 있다.

[0094] 국소 투여에 적절한 제형들은 피부를 통해 치료가 필요한 부위에 침투시키기 적절한 액상 또는 반액상 제제들, 예를 들면 도포제, 로션, 크림, 연고 또는 페이스트들 및 눈, 귀 또는 코에 투여하기 적절한 드롭제를 포함한다. 본 발명에 따른 드롭제들은 멸균 수용액 또는 유성 용액 또는 현탁액들을 포함하고, 살균제 및/또는 살진균제 및/또는 임의의 기타 적절한 보존제의 적절한 수용액, 및 바람직하게는 표면 활성제를 포함하는 수용액에 활성 성분을 용해시킴으로써 제조될 수 있다. 이어서, 결과의 용액은 여과에 의해 투명해지고 멸균될 수 있으며, 무균 기술에 의해 용기로 옮겨질 수 있다. 드롭제에 포함시키기 적절한 살균제 및 살진균제의 예는 페닐수은 나이트레이트 또는 아세테이트(0.002%), 벤잘코늄 클로라이드(0.01%) 및 클로헥시딘 아세테이트(0.01%)이다. 유상 용액의 제조에 적절한 용매들로는 글리세롤, 희석 알콜 및 프로필렌 글리콜을 들 수 있다.

[0095] 본 발명에 따른 로션제는 피부 또는 눈에 적용하기 적절한 것들을 포함한다. 안약은 임의로 살균제를 함유하는 멸균 수용액을 포함할 수 있고, 드롭제를 제조하기 위한 것들과 유사한 방법들에 의해 제조될 수 있다. 피부에 도포하기 위한 로션 또는 도포제는 피부의 건조 또는 냉각을 촉진시키는 시약, 예를 들면 알콜 또는 아세톤 및/또는 보습제, 예를 들면 글리세롤 또는 오일, 예를 들면 피마자유 또는 아라키 오일을 포함할 수도 있다.

[0096] 본 발명에 따른 크림, 연고 또는 페이스트들은 외부 도포를 위해 활성 성분의 반-고체 제형들이다. 이들은 미세-분할되거나 또는 분쇄된 형태의 활성 성분을 단독으로 또는 적절한 기계의 도움으로 수성 또는 비-수성 유체 중의 용액 또는 현탁액 중에서 지방질 또는 비-지방질 베이스들과 혼합함으로써 제조될 수 있다. 이 베이스들은 경질, 연질 또는 액상 파라핀, 글리세롤, 밀랍, 금속성 비누 등의 탄화수소; 아교; 아몬드, 옥수수, 아라키 오일, 피마자유 또는 올리브 오일 등의 천연물 기원 오일; 양모지 또는 그의 유도체, 또는 스테아르산 또는 올레산 등의 지방산을 프로필렌 글리콜 또는 마크로겔 등의 알콜과 함께 포함할 수 있다. 이 제형은 소르비탄 에스테르들 또는 그의 폴리옥시에틸렌 유도체들과 같은 양이온성, 음이온성 또는 비이온성 표면 활성제 등의 임의의 적절한 표면 활성제를 혼입시킬 수 있다. 현탁제들, 예를 들면 천연 검, 셀룰로스 유도체 또는 무기 미네랄, 예를 들면 버드나무 실리카 및 기타 성분들, 예를 들면 라놀린이 포함될 수도 있다.

[0097] 비경구 투여를 위한 제약 제형들은 수용성 형태로 활성 화합물들의 수용액들을 포함한다. 추가로, 활성 화합물들의 현탁액들은 적절한 유상 주입 현탁액들로 제조될 수 있다. 적절한 호지성 용매들 또는 비히클들은 지방 오일들, 예를 들면 참기름, 또는 합성 지방산 에스테르들, 예를 들면 에틸 올레에이트 또는 트리글리세리드들 또는 리포좀을 포함한다. 수성 주입 현탁액들은 현탁액의 점도를 증가시키는 기질들, 예를 들면 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 소르비톨 또는 덱스트란을 함유할 수 있다. 임의로, 이 현탁액은 고도로 농축된 용액들의 제제를 허용하도록 화합물들의 용해도를 증가시키는 적절한 안정제들 또는 시약들을 함유할 수도 있다.

[0098] 경구용으로 사용하기 위한 제약 제제들은 활성 화합물들을 고체 부형제와 조합하고, 임으로 결과의 혼합물을 분쇄하고, 필요할 경우 정제 또는 당의정 코어들을 얻기 위해 적절한 보조제들을 부가한 후 과립들의 혼합물들을 가공함으로써 얻을 수 있다. 적절한 부형제들은 특히 락토스, 자당, 만니톨 또는 솔비톨을 포함하는 당 등의 충전제; 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분, 감자 전분, 젤라틴, 검 트라가칸쓰, 메틸 셀룰로스, 히드록시프로필메틸 셀룰로스, 소듐 카르복시-메틸셀룰로스 및/또는 폴리비닐 피롤리돈(PVP) 등의 셀룰로스 제제들이다. 필요한 경우, 붕해제들, 예를 들면 가교된 폴리비닐 피롤리돈, 한천 또는 알긴산 또는 그의 염, 예를 들면 알긴산 나트륨이 첨가될 수 있다.

[0099] 당의정 코어들은 적절한 코팅에 의해 제공된다. 이러한 목적으로, 임의로 아라비아 검, 활석, 폴리비닐 피롤리돈, 카르보폴 겔, 폴리에틸렌 글리콜 및/또는 이산화 티탄, 래커 용액 및 적절한 유기 용매 또는 용매 혼합물들을 함유할 수 있는 농축된 당 용액들이 사용될 수 있다. 염료 또는 안료들이 활성 화합물 도즈들을 식별하거나 또는 이들의 상이한 조합들을 특징짓기 위해 정제 또는 당의정 코팅들에 부가될 수 있다.

[0100] 경구로 사용될 수 있는 제약 제제들은 젤라틴으로 제조된 푸쉬-피트 캡슐 뿐만 아니라 젤라틴으로 제조된 연성의 시일된 캡슐 및 글리세롤 도는 솔비톨과 같은 가소제를 포함한다. 푸쉬-피트 캡슐은 락토스 등의 충전제, 전분 등의 결합제 및/또는 활석 또는 스테아르산 마그네슘과 같은 윤활제들 및 임의로 안정제들과의 혼합물로서 활성 성분들을 함유할 수 있다. 연질 캡슐들에서, 활성 화합물들은 지방 오일들, 액상 파라핀 또는 액상 폴리에틸렌 글리콜들 등의 적절한 액체들 중에 용해 또는 현탁될 수 있다. 또한, 안정제들이 부가될 수 있다.

[0101] 이 조성물은 필요할 경우 완충 시스템을 포함할 수 있다. 완충 시스템들은 목적 범위 내에서 조성물들의 pH를

유지하거나 또는 완충시키도록 선택된다. 본원에 사용된 바의 "완충 시스템" 또는 "완충액"은 수용액 중에서, 산 또는 염기가 그에 부가될 때 pH(또는 수소 이온 농도 또는 활성)의 주요 변화에 반하여 그러한 용액을 안정시킬 수 있는 용질 시약 또는 시약들을 의미한다. 상기 지시된 범위에서 시작하는 완충된 pH 값으로부터 pH의 변화 또는 저항에 책임이 있는 용질 시약 또는 시약들은 잘 공지되어 있다. 셀수 없이 많은 적적한 완충액들이 있지만, 인산 칼륨 일수화물이 바람직한 완충액이다.

[0102] 제약 조성물의 최종 pH 값은 생리학상 상용되는 범위 내에서 변화할 수 있다. 필연적으로, 최종 pH 값은 인간의 피부를 자극하지 않는 것이고, 바람직하게는 활성 화합물, 즉, CoQ10의 경피 수송이 고무된다. 이러한 구속 요건을 위반하지 않고, pH는 CoQ10 화합물의 안전성을 개선시키고, 필요할 때 컨시스턴시를 조절하기 위해 선택될 수 있다. 일 실시예에서, 바람직한 pH 값은 약 3.0 내지 7.4, 더욱 바람직하게는 약 3.0 내지 약 6.5, 가장 바람직하게는 약 3.5 내지 약 6.0이다.

[0103] 바람직한 국소 전달 비히클들에 대해, 조성물의 나머지 성분은 반드시 정제된 물, 예를 들면 탈이온수이다. 그러한 전달 비히클 조성물들은 조성물의 총 중량에 기초하여 약 50% 내지 약 95% 범위의 물을 함유한다. 존재하는 물의 특정량은 중요하지 않지만, 다른 성분들의 목적하는 점도(보편적으로 약 50 cps 내지 약 10,000 cps) 및/또는 농도를 얻기 위해 조절될 수 있는 것이다. 국소 전달 비히클은 바람직하게는 적어도 약 30 센티포이즈의 점도를 갖는다.

[0104] 다른 공지된 경피 피부 침투 증진제들은 CoQ10의 전달을 촉진시키기 위해 사용될 수도 있다. 디메틸술폭사이드(DMSO) 등의 솔폭사이드들; 1-도데실아자시클로헵탄-2-온(AZONE™, Nelson Research, Inc.의 등록 상표) 등의 시클릭 아미드들; N,N-디메틸 아세트아미드(DMA), N,N-디에틸 톨루아미드, N,N-디메틸 포름아미드, N,N-디메틸 옥타미드, N,N-디메틸 데카미드 등의 아미드들; N-메틸-2-피롤리돈, 2-피롤리돈, 2-피롤리돈-5-카르복실산, N-(2-히드록시에틸)-2-피롤리돈 또는 그의 지방산 에스테르, 1-라우릴-4-메톡시카르보닐-2-피롤리돈, N-탈로윌킬피롤리돈 등의 피롤리돈 유도체들; 프로필렌 글리콜, 에틸렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 디프로필렌 글리콜, 글리세롤, 헥산트리올 등의 폴리올들; 올레산, 라우르산, 발레산, 헵타노산, 카프로산, 미리스트산, 이소발레산, 네오펜타노산, 트리메틸 헥사노산, 이소스테아르산 등의 선형 및 분지된 지방산들; 에탄올, 프로판올, 부탄올, 옥탄올, 올레일, 스테아릴, 리놀레일 등의 알콜; 소듐 라우레이트, 소듐 라우릴 설페이트 등의 양이온성 계면활성제; 벤잘코늄 클로라이드, 도데실트리메틸암모늄 클로라이드, 세틸트리메틸암모늄 브로마이드 등의 음이온성 계면활성제들; 프로폭실화된 폴리옥시에틸렌 에테르, 예, 폴록사머 231, 폴록사머 182, 폴록사머 184 등, 에톡실화된 지방산, 예 트윈 20, 미르지 45 등; 솔비탄 유도체들, 예 트윈 40, 트윈 60, 트윈 80, 스팬 60 등, 에톡실화된 알콜, 예 폴리에틸렌(4) 라우릴 에테르(Brij 30), 폴리옥시에틸렌(2) 올레일 에테르(Brij 93) 등, 레시틴 및 레시틴 유도체 등의 비이온성 계면활성제; d-리모넨, α-피넨, β-카렌, α-테르피네올, 카르볼, 카르본, 멘톤, 리모넨 산화물, α-피넨 산화물, 유칼립투스 오일 등의 테르펜들이 예시된다.

[0105] 피부 침투 증진제로서 유기산 및 에스테르들, 예를 들면 살리실산, 메틸 살리실레이트, 시트르산, 숙신산 등이 또한 적절하다.

[0106] 맥관 형성 및 맥관 형성-의존 질병

[0107] 본원에 사용된 바의 "맥관 형성 억제", "맥관 형성을 억제하는" 또는 "항-맥관 형성"이라는 용어들은 맥관형성(vasculogensis)을 포함하고, 신 혈관 형성의 정도, 양 또는 그 속도의 감소에 영향을 미치는 것을 의미하도록 의도된다. 조직 내피 세포 증식 또는 이동의 정도, 양 또는 그의 속도의 감소에 영향을 미치는 것은 맥관 형성을 억제하는 특수 예이다.

[0108] "맥관 형성 억제 조성물"이라는 용어는 내피 세포 이동, 증식, 관 형성 등의 종양 매개된 맥관 형성을 억제하고, 순차로 현존하는 것들로부터 신생 혈관들의 발생을 억제하고, 결과적으로 맥관 형성-의존 질병들, 예를 들면 종양들에 의해 매개된 맥관 형성의 억제를 유도하는 CoQ10을 포함하는 조성물을 의미한다. 예를 들면, CoQ10을 포함하는 조성물이 임의의 CoQ10의 부재 하의 대조군 조직에 비교한 바 조직 내에서 종양-매개된 맥관 형성을 억제하는 도 29A 및 29B 참조. CoQ10을 포함하는 조성물은 아래 실시예들에 상세히 기재되어 있다.

[0109] 본원에 사용된 바의 "맥관 형성-의존 질병"이라는 용어는 맥관 형성(angiogensis 또는 vasculogenesis) 과정이 병리학적 증상을 유지하거나 또는 확대시키는 질병을 의미하도록 의도된다. 특히, 맥관 형성-의존 질병은 종양-매개된 맥관 형성을 의미한다.

[0110] 맥관 형성은 이미-존재하는 모세관들 또는 후-모세관 세정맥으로부터 신생 혈관들의 형성이다. 맥관 형성은 내피 세포 전구 물질들인 혈관아세포로부터 발생하는 신생 혈관들의 형성으로 초래된다. 두 공정들은 신생 혈관

형성에 기인하고, 맥관 형성-의존 질병이라는 용어의 의미에 포함된다. 마찬가지로, 본원에 사용된 바의 "맥관 형성"이라는 용어는 맥관 형성 뿐만 아니라 현존하는 혈관, 모세관 및 세정맥의 분지화 및 스프라우팅으로 발생하는 것들에서 발생하는 바의 혈관의 신행 형성을 포함하도록 의도된다.

[0111] 혈관 형성을 포함하는 맥관 형성은 배아 발달이 없고 부상 치료가 발생하지 않는 중요한 생리학적 과정이다. 그러나, 맥관 형성은 감염된 조직 내의 세포들에 적절한 혈액 및 영양분을 제공하는 수단으로서 수많은 병리학적 증상들로 부적절하게 보충되기도 한다. 이들 병리학적 증상들의 다수는 비정상적인 세포 증식 또는 조절을 포함한다. 맥관 형성이 중요한 것으로 믿어지는 그러한 증상들은 맥관 형성-의존 질병으로서 본원에 언급되어 있다. 그러나, 본 발명의 방법들은 또한 정상적인 생리학적 공정들과 연관된 맥관 형성을 유리하게 억제하기 위해 사용될 수도 있다. 예를 들면, 월경 주기와 연관된 맥관 형성의 억제는 효과적인 출생 조절 방법으로서 예방적으로 사용될 수 있다. 따라서, 맥관-형성 의존 질병의 치료를 참조한 아래 설명은 또한 예방 또는 치료 필요성 또는 이익이 존재하는 경우 정상적인 맥관 형성 반응들의 억제에 적용될 수도 있다.

[0112] 맥관 형성-의존 질병들은 예를 들면 면역 및 비-면역 염증, 류머티스성 관절염, 만성 관절 류머티즘 및 건선 등의 염증 질환; 당뇨병성 망막증, 신생 혈관성 녹내장, 미숙아 망막증, 반점 변성, 각막 이식 거부, 수정체 뒤 섬유 증식증, 피부 조홍, 아테롬성 동맥 경화증 플라크들의 모세관 증식 및 골다공증 등의 혈관들의 부적절하거나 또는 시기를 놓친 침입과 연관된 질환들; 및 예를 들면 충실성 종양, 종양 전이, 혈액에서 발생하는 종양, 예를 들면 백혈병, 섬유성 혈관종, 카포시 육종, 양성 종양, 예를 들면 혈관종, 청각 신경종, 신경 섬유종, 트라코마 및 화농성 육아종 등을 포함하는 암 관련 질환들 뿐만 아니라 종양 성장을 지원하는 신생 혈관 생성을 필요로하는 다른 암들을 포함한다. 맥관 형성-의존 질병들의 추가의 예들은 예를 들면 오슬러-웨버 증후군; 심근성 맥관 형성; 플라크 신 혈관 형성; 모세관 확장증; 혈우병성 연골 및 상처 육아 형성을 포함한다. 맥관 형성이 병리학적 상태의 유지 또는 진행에서 일역을 하는 다른 질병들은 당업계의 숙련자들에게 공지되어 있으며, 유사하게 본원에 사용된 용어의 의미 내에 포함되도록 의도된다. 바람직하게는, 맥관 형성-매개된 질병들은 조양 유도된 맥관 형성을 의미한다.

[0113] 맥관 형성 억제 활성의 시험관 내 생물학적 분석

[0114] 본 발명의 CoQ10 화합물들은 당업계의 통상의 기술을 가진 자의 지식 내에서 잘 알려진 시험관 내의 여러 분석 시스템들에서 이들의 맥관 형성 억제 활성에 대해 시험될 수 있다. 내피 세포들, 예를 들면 인간의 제대 정맥 내피 세포(HUVEC) 또는 인간의 미세 혈관 내피 세포들(HMVEC)은 제조될 수 있거나, 또는 상업적으로 입수할 수 있고, 1:1(v/v) 비율로 인산염 완충된 염수(BPS) 중에서 피브리노겐 5mg/mL와 함께 $2x10^5$ 세포/mL의 농도로 혼합된다. 트롬빈이 부가되고 (5 유닛/mL의 최종 농도) 혼합물은 즉시 24-웰 플레이트로 (웰당 0.5 mL) 전이된다. 피브린 겔이 형성되도록 허용되고, 이어서 혈관 내피 성장 인자(VEGF) 및 섬유아세포 성장 인자 베이직(FGF2)이 아래 실시예들에 개시된 바와 같이 시험 화합물과 함께 웰들에 (각각 5 ng/mL의 최종 농도로) 부가된다. 셀들은 4일 동안 5% CO_2 중에서 37℃에서 인큐베이션되고, 그 시점에 각각의 웰 내의 세포들은 라운드되거나, 분지 없이 신장되거나, 하나의 분지로 신장되거나, 또는 2개 이상의 분지들로 신장된 것으로서 계수 및 분류된다. 결과는 화합물의 각각의 농도에 대해 5가지 상이한 웰들의 평균으로서 발현된다. 전형적으로, 맥관 형성 억제제들의 존재 하에, 세포들은 라운드되지 않게 남겨지거나 또는 분화되지 않은 관들(예, 0 또는 1개의 분지)을 형성한다. 이러한 분석은 생체내 맥관 형성 효능(또는 맥관 형성 억제 활성)을 예측하는 것으로 당업계에 인식된다 (Grant 등, In Vitro Cell Dev. Biol. 27A:327-336(1991); Min 등, Cancer Res. 56:2428-2433(1996)).

[0115] 대안의 분석에서, 내피 세포 관 형성은 내피 세포들인 펜실베니아주 베드포드의 Becton Dickinson으로부터 상업적으로 입수할 수 있는 Matrigel™ 매트릭스-코팅된 플레이트들 상에서 배양될 때 관찰된다 (Schnaper 등, J. Cell. Physiol. 165:107-118(1995)). 내피 세포들($1 X 10^4$ 세포/웰)은 Matrigel™ 매트릭스-코팅된 24-웰 플레이트들 상으로 옮겨지고, 관 형성은 48시간 후에 정량화된다. 억제제들은 내피 세포들과 동시에 또는 그 이후 여러 시점에 이들을 부가함으로써 시험된다.

[0116] 이 분석은 특정 유형의 기저막, 즉 이동하고 분화되는 내피 세포들이 먼저 직면할 것으로 예상되는 매트릭스 층을 내피 세포들에 제공함으로써 맥관 형성을 모델로 한다. 바운드 성장 인자들 외에, Matrigel™ 매트릭스 (및 기저막 자체) 또는 그의 단백질 분해 생성물들에서 발견되는 매트릭스 성분들은 이 모델을 피브린 겔 맥관 형성 모델에 대해 상보적으로 만드는 내피 세포 관 형성에 대해 자극받을 수도 있다.

[0117] 추가로, 본 발명의 화합물들의 맥관 형성 활성들은 병아리 장뇨막 (CAM) 분석에 의해 평가될 수 있다 (Oikawa 등, Cancer Lett. 59:57-66(1991)).

[0118] 조합 치료법들

[0119] 본 발명의 CoQ10 치료 조성물들은 환자가 나타내는 특정 종양, 질병 또는 질환의 치료에 일반적으로 사용되는 임의의 방법들과 조합될 수 있다. 특정 치료 접근법이 환자의 증상 자체에 해로운 것으로 알려지지 않고, CoQ10 조성물 치료에 현저히 거스르지 않는 한, 본 발명과 그의 조합이 예상된다.

[0120] 충실성 종양 치료와 관련하여, 본 발명은 고전적인 시도들, 예를 들면 수술, 방사선 요법, 화학요법 등과 합하여 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 CoQ10 치료 조성물들이 수술 또는 방사선 치료와 동시에, 또는 그 전후에 사용되거나; 또는 종래의 화학요법제, 방사선 치료제 또는 기타 항-맥관형성제, 또는 표적된 면역 독소 또는 코아글리건드들과 함께 또는 그 전후에 환자들에게 투여된다.

[0121] 다른 혈관 질병들에 대한 조합 치료 역시 예상된다. 그러한 특정 예는 양성 전립선 증식증(BPH)으로, 이는 당업계에서 현재 실시되는 다른 치료법들과 조합하여 CoQ10 조성물들에 의해 치료될 수 있다. 예를 들면, 마커들에 대한 면역 독소들의 타겟화는 PSA 등의 BPH 내에 편재된다.

[0122] 1개 이상의 시약들이 CoQ10 조성물들과 조합하여 사용될 때, 각각의 치료가 별개로 수행될 때 관찰된 효과들이 합해진 결과들에 부가될 필요는 없다. 적어도 부가적인 효과들이 일반적으로 바람직하지만, 단일 치료법들 중의 상기 임의의 증가된 항-종양 효과가 유리할 수 있다. 또한, 이것이 특히 가능하고 유리하더라도 상승 효과를 나타내기 위해 조합된 치료들에 대한 어떠한 특정 요건도 없다

[0123] 조합된 항-종양 치료를 실시하기 위해, 누구나 간단히 동물에서 조합된 항-종양 작용을 초래하는데 효과적인 방식으로 다른 항암제와 조합하여 작제된 CoQ10 조성물을 동물에 투여할 수 있다. 따라서, 이 시약들은 효과적인 양으로, 종양 맥관 구조에서 이들의 조합된 존재를 초래하는데 효과적인 기간 동안 제공될 수 있고, 이들의 조합된 작용들은 종양 환경에 제공된다. 이러한 목표를 달성하기 위해, CoQ10 조성물들 및 기타 항암제들은 단일 조성물로 또는 상이한 투여 경로를 사용하는 2가지 독특한 조성물들로 동물에 동시에 투여될 수 있다.

[0124] 대안으로, CoQ10 조성물 매개된 치료는 몇분에서 몇주에 이르는 범위의 간격 만큼 제2 항암 치료에 선행하거나 또는 그에 후속할 수 있다. 특정 실시예들에서, 항암제 및 CoQ10 조성물들이 별개로 동물에 도포되는 경우, 유효 기간은 각각의 전달 시간 사이에 만기되지 않음을 확신할 수 있으므로, 항암제 및 CoQ10 조성물은 종양에 대해 유리하게 조합된 효과를 여전히 발휘할 수 있다. 그러한 경우, 누구나 각각 약 5분 내지 약 1주, 더욱 바람직하게는 각각 약 12-72 시간 내에 두 시약들과 종양을 접촉시킬 수 있고, 단지 약 12-48시간의 지연 시간이 가장 바람직하다.

[0125] 암 치료에서 기질들의 조합물들의 일반적인 사용은 잘 공지되어 있다. 예를 들면, 미합중국 특허 제5,710,134호(본원에 참고 문헌으로서 포함됨)는 비-독성 기질들 또는 "프로드러그들"과 조합하여 종양들의 괴사를 유도하는 성분들을 개시한다. 괴사 공정들에 의해 자유롭게 설정된 효소들은 비-독성 "프로드러그"를 독성 "약물"로 분해하여 종양 세포 치사를 유도한다. 또한, 미합중국 특허 제5,747,469호(본원에 참고 문헌으로서 포함됨)는 p53을 인코딩하는 바이러스성 벡터 및 DNA 손상 시약들의 조합 사용을 개시한다. 임의의 그러한 유사한 시도들은 본 발명과 함께 사용될 수 있다.

[0126] 일부 상황들에서, 치료 기간을 확장시키는 것이 크게 바람직할 수 있고, 여기서 수일(2, 3, 4, 5, 6 또는 7), 수주(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8) 또는 심지어 수개월(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8)이 각각의 투여 사이에 경과된다. 이는 하나의 치료가 CoQ10 조성물 치료와 같이 종양을 실질적으로 파괴하도록 의도되고, 다른 치료가 항-맥관 형성제의 투여와 같이 미소 전이 또는 종양 재-성장을 방지하도록 의도되는 상황들에서 유리할 수 있다.

[0127] CoQ10 조성물 또는 다른 항암제의 1회 이상의 투여가 이용되는 것이 상상되기도 한다. CoQ10 조성물 및 항암제들은 교환 가능하게 격일 또는 격주로 투여될 수 있거나; 또는 CoQ10 조성물 치료 순서가 주어질 수 있거나, 항암제 치료 순서에 이어진다. 임의의 경우, 조합 치료를 사용하는 종양 퇴화를 달성하기 위해, 필요한 모든 것은 투여 시간과 무관하게 항-종양 효과를 발휘하는데 효과적인 조합된 양으로 두 시약들을 전달하는 것이다.

[0128] 수술의 경우, 임의의 수술 개입은 본 발명과 조합하여 실시될 수 있다. 방사선 요법과 연결하여, 종양 세포들 내에 국소로 DNA 손상을 유도하기 위한 임의의 메카니즘이 γ-조사, X-선, UV-조사, 마이크로파 및 심지어 전자파 방출 등으로 예상된다. 종양 세포들에 대한 방사선 동위 원소의 직접 전달 역시 예상되고, 이는 표적화 항

체 또는 다른 표적화 수단과 연결되어 사용될 수 있다.

[0129] 시토킨 치료법은 조합된 치료 양생법을 위한 효과적인 파트너인 것으로 입증되었다. 여러 가지 시토킨들이 그와 같이 조합된 시도들에 사용될 수 있다. 시토킨들의 예는 IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, TGF-β, GM-CSF, M-CSF, G-CSF, TNFα, TNFβ, LAF, TCGF, BCGF, TRF, BAF, BDG, MP, LIF, OSM, 슬, PDGF, IFN-α, IFN-β, IFN-γ를 포함한다. 시토킨들은 환자의 증상 및 시토킨의 상대적 독성 등의 임상 지시와 일치하는 표준 양생법에 따라 투여된다. 유테로글리빈들 역시 전이를 방지 또는 억제하기 위해 사용될 수 있다(미합중국 특허 제5,696,092호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨).

[0130] CoQ10 조성물들 및 조합 화학요법제

[0131] 특정 실시예들에서, 본 발명의 CoQ10 조성물은 다른 화학요법제와 조합하여 투여될 수 있다. 아래 메카니즘(들)과 무관하게, 각종 화학요법제들이 본원에 개시된 조합 치료 방법들에 사용될 수 있다. 이 치료제들은 화학요법제, 예를 들면 시클로포스파미드(CTX, 25mg/kg/일, p.o.), 탁산류(paclitaxel 또는 docetaxel), 부설판, 시스플라틴, 메토트렉세이트, 다우노루비신, 독소루비신, 멜팔란, 클라드리빈, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 클로람부실, 타목시펜, 탁솔, 에토포시드(VP-16), 아드리아마이신, 5-플루우로우라실(5FU), 캄토테신, 악티노마이신-D, 미토마이신 C, 시스플라틴(CDDP), 콤브레타스타틴(들) 및 이들의 유도체들 및 프로드러그들을 포함한다.

[0132] 당업계의 통상의 기술을 가진 자들에 의해 이해되는 바와 같이, 화학요법제들의 적절한 도즈는 일반적으로 화학요법제들이 단독으로 투여되거나 또는 다른 화학요법제와 조합하여 투여될 때 임상 용법에 이미 사용된 것들일 것이다. 실시예로써, 시스플라틴 등의 시약 및 기타 DNA 알킬화제가 사용될 수 있다. 시스플라틴은 암을 치료하기 위해 널리 사용되고 있으며, 효능있는 도즈는 전체 3가지 과정으로 3주마다 5일 동안 20 mg/m^2의 임상 도포로 사용된다. 시스플라틴은 경구로 흡수되지 않으므로, 정맥내, 피하, 종양내 또는 복강내 주입을 통해 전달되어야 한다.

[0133] 추가의 유용한 시약들은 DNA 복제, 유사분열 및 염색체 분리에 의해 간섭받는 화합물들을 포함한다. 그러한 화학요법제 화합물들은 아드리아마이신을 포함하고, 또한 독소루비신, 에토포시드, 베라파밀, 포도필로톡신 등으로 공지되어 있다. 신생물들의 치료를 위한 임상에 널리 사용되는 이들 화합물들은 아드리아마이신에 대해 21일 간격으로 25-75 mg/m^2 범위의 도즈로 정맥내로 거환 주입을 통해 투여되고, 에토포시드에 대해 35-50 mg/m^2으로 정맥내로 또는 정맥내 도즈의 두배로 경구로 투여된다.

[0134] 폴리뉴클레오티드 전구물질들의 합성 및 충실도를 방해하는 시약들이 사용될 수도 있다. 광범위하게 시험되고, 용이하게 입수할 수 있는 시약들이 특히 유용하다. 그와 같이, 5-플루오로우라실(5-FU) 등의 시약들이 신생물 조직에 의해 우선적으로 사용되고, 이 시약을 신생물 세포들에 대해 표적화하는데 특히 유용하게 한다. 상당한 독성의 5-FU가 국소를 포함하는 광범위한 범위의 담체들에 적용될 수 있지만, 3 내지 15 mg/kg/일 범위의 도즈를 갖는 정맥내 투여가 통상적으로 사용되고 있다.

[0135] 숙련자는 CoQ10 조성물들에 의해 조합 치료들에 사용될 수 있는 다른 화학요법제들에 대한 비제한적인 예들에 대해 "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15판, 33장 624-652 페이지의 지시에 따른다. 복용량의 일부 변화는 시험받는 환자의 증상에 따라 반드시 발생할 것이다. 투여를 책임지는 내과의는 개개의 피검자에 대해 적절한 도즈를 결정할 수 있을 것이다.

[0136] 항-맥관 형성제

[0137] "항-맥관 형성"이라는 용어는 일반적으로 조직 또는 장기 내로 신생 혈관의 발생을 의미한다. 정상적인 생리적 상태에서, 인간 또는 동물들은 매우 특이적으로 제한된 상황에서만 맥관 형성을 겪는다. 예를 들면, 맥관 형성은 보편적으로 상처 치료, 태아 및 배아 발육 및 황체, 내막 및 태반의 형성에서 관찰된다. 미조절(지속적 및/또는 미조절) 맥관 형성은 여러 가지 질병 상태에 관련되고, 종양 성장 및 전이 중에 발생한다.

[0138] 조절되고 미조절된 맥관 형성 모두는 유사한 방식으로 진행되도록 교시된다. 기저막으로 포위된 내피 세포들 및 혈관 주위 세포들은 모세관들을 형성한다. 맥관 형성은 내피 세포들 및 백혈구에 의해 방출된 효소들에 의한 기저막의 마모로 시작된다. 혈관의 내강의 안을 대는 내피 세포들은 이어서 기저막을 통해 돌출한다. 맥관 형성 자극제들은 마모된 기저막을 통해 이동하는 내피 세포들을 유도한다. 이동하는 세포들은 부모 혈관 밖으로 "발아"를 형성하고, 여기서 내피 세포들은 유사 분열 및 증식을 수행한다. 내피 발아들은 서로 합쳐져 모세관 루프들을 형성하여 신생 혈관을 생성한다.

[0139] 지속적인 미조절 맥관 형성이 종양 발달 및 전이 중에 발생함으로써, 본 발명의 치료 방법들은 임의의 1개 이상의 "항-맥관 형성" 치료법들과 조합하여 사용될 수 있다. 조합된 치료와 관련하여 유용한 전형적인 항-맥관 형성제들은 표 1에 열거된다. 여기 열거된 시료들 각각은 예시적인 것으로 결코 제한시키고자 함이 아니다.

[0140]

표 1

맥관 형성 기질들의 억제제 및 네거티브 조절제들

안지오스타틴
엔도스타틴
16 kDa 프로락틴 단편
라미닌 펩티드들
피브로넥틴 펩티드들
조직 메탈로프로테이나제 억제제들 (TIMP 1, 2, 3, 4)
플라미노겐 활성제 억제제들 (PAI-1, -2)
종양 괴사 인자 알파 (높은 도즈, 시험관 내)
TGF-β1
인터페론 (IFN-α, -β, γ)
ELR-CXC 케모킨: IL-12; SDF-1; MIG; 혈소판 인자 4 (PF-4);
IP-10
트롬보스포딘 (TSP)
SPARC
2-메톡시에스트라디올
프로리페린-관련 단백질
서라민
탈리도마이드
코르티손
푸마길린 (AGM-1470; TNP-470)
타목시펜
한국산 겨우살이 추출물(Viscum album coloratum)
레티노이드
CM101
텍사메타손
백혈병 억제 인자(LIF)

[0141] 맥관 형성을 억제하는데 사용하기 위한 특히 바람직한 성분은 "안지오스타틴"이라 명명된 단백질이다. 이 성분은 미합중국 특허 제5,776,704호; 제5,639,725호 및 제5,733,876호에 개시되어 있으며, 각각 참고 문헌으로서 본원에 포함된다. 안지오스타틴은 폴리아크릴아미드 겔 전기 이동을 감소시킴으로써 측정한 바 약 38 kD 내지 약 45 kD의 분자량을 갖고, 대략적으로 크링글 영역 1 내지 4의 플라스미노겐 분자를 함유하는 단백질이다. 안지오스타틴은 일반적으로 순수한 생쥐 플라스미노겐 분자의 아미노산 번호 98로 시작하는 생쥐 플라스미노겐 단편의 그것과 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는다.

[0142] 안지오스타틴의 아미노산 서열은 종들 사이에서 약간 변화한다. 예를 들면, 인간의 안지오스타틴에서, 아미노산 서열은 상기 생쥐의 플라스미노겐 단편의 서열과 실질적으로 유사하지만, 활성 인간 안지오스타틴 서열은 순수한 인간 플라스미노겐 아미노산 서열의 아미노산 번호 97 또는 99로 시작할 수 있다. 추가로, 인간의 플라스미노겐은 그것이 생쥐의 종양 모델에 나타낸 바와 같이 유사한 항-맥관 형성 활성을 갖기 때문에 사용될 수 있다.

[0143] 특정 항-맥관 형성 치료법은 종양 억제를 유발하는 것으로 이미 알려져 있고, 안지오스타틴이 그러한 시약의 하나이다. 엔도스타틴, 콜라겐 XVIII의 20 kDa COOH-말단 단편, 세균성 다당류 CM101, 및 항체 LM609 역시 안지오스타틱 활성을 갖는다. 그러나, 이들의 다른 특성들에 비추어, 이들은 항-혈관 치료법 또는 종양 혈관 독소들이라 언급되고, 이들은 맥관 형성을 억제할 뿐만 아니라 대부분의 정의되지 않은 메커니즘들을 통해 종양 혈관들의 파괴를 개시하기도 한다. 본 발명과 이들의 조합은 분명히 예상된다.

[0144] 안지오스타틴 및 엔도스타틴은 이들이 생쥐들에서 종양 성장을 억제할 뿐만 아니라 종양 억제를 유발하는 능력을 나타내는 최초의 맥관 형성 억제제들이기 때문에 광범위한 연구 대상이 되고 있다. 알레스타제, 마크로파지 메탈로엘라스타제(MME), 마트릴신(MMP-7) 및 92kDa 젤라티나제 B/타입 IV 콜라게나제 (MMP-9)를 포함하여 플라스미노겐으로부터 안지오스타틴을 생성하는 것으로 보이는 다수의 프로테아제들이 있다.

[0145] MME는 종양들에서 플라스미노겐으로부터 안지오스타틴을 생산할 수 있고, 과립구-마크로파지 콜로니-자극 인자(GMCSF)는 안지오스타틴의 생산을 유도하는 마크로파지들에 의해 MME의 발현을 상향 조절한다. 안지오스타틴 발생에서 MME의 역할은 MME가 사실상 환자들로부터 간세포암의 임상 시료들에서 발현된다는 발견에 의해 지지된다. 안지오스타틴을 생산할 수 있는 것으로 교시된 다른 프로테아제는 스트로멜리신-1(MMP-3)이다. MMP-3은 시험관 내에서 플라스미노겐으로부터 안지오스타틴형 단편들을 생산하는 것으로 알려져 있다.

[0146] CM101은 종양들에서 신생 혈관 염증을 유도하는 그의 능력을 특징으로 하는 세균성 다당류이다. CM101은 보충 시스템의 활성화를 자극하는 분화되지 않은 내피에 결합되어 그 위에서 발현되는 가교 결합 수용체들이다. 종양을 선택적으로 표적으로 하는 사이토킨-구동 염증 반응을 개시하기도 한다. 그것은 발현 VEGF 및 그의 수용체들을 하향 조절하는 항병원성 맥관 형성제이다.

[0147] 트롬보스포딘(TSP-1) 및 혈소판 인자 4(PF4) 역시 본 발명과 조합하여 사용될 수 있다. 이들은 모드 헤파린과 연관되고, 혈소판 α-그래뉼들에서 발견되는 맥관 형성 억제제들이다. TSP-1은 세포외 매트릭스를 구성하는 큰 450 kDa 멀티-도메인 글리코단백질이다. TSP-1은 HSPGs, 피브로넥틴, 라미닌 및 상이한 유형의 콜라겐을 포함하여 세포외 매트릭스에서 발견되는 많은 프로테오글리칸 분자들에 결합된다. TSP-1은 시험관 내 내피 세포 이동 및 증식 및 생체 내 맥관 형성을 억제한다. TSP-1은 변형된 내피 세포들의 악상 페노타입 및 종양 형성을 억제할 수도 있다. 종양 억제 유전자 p53은 TSP-1의 발현을 직접적으로 조절함으로써, p53 활성의 손실이 TSP-1 생산의 극적인 감소 및 종양 개시된 맥관 형성에서 부수되는 증가를 유발한다.

[0148] pf4는 시험관 내 내피 세포 증식 및 생체 내 맥관 형성을 잠정적으로 억제할 수 있는 케모틴의 CXC ELR-족의 구성원인 70aa 단백질이다. 아데노바이러스성 벡터에 의해 종양 내로 투여되거나 또는 전달되는 PF4는 종양 성장의 억제를 유발할 수 있다.

[0149] 인터페론들 및 메탈로프로테이나제 억제제들은 본 발명과 조합될 수 있는 자연 발생 맥관 형성 억제제들의 2가지 다른 부류이다. 인터페론들의 항-내피 활성은 1980년대 초반 이래 공지되어 있지만, 그 억제 메카니즘은 아직 분명하지 않다. 이들 인터페론은 내피 세포 이동을 억제할 수 있고, 종양 세포들에 의한 맥관 형성 촉진제들의 생산을 억제하는 능력에 의해 매개될 수 있는 일부 항-맥관 형성 활성을 갖는 것으로 공지되어 있다. 혈관 종양들은 특히 인터페론에 민감하고, 예를 들면 증식되는 혈관종은 IFNα로 치료될 수 있다.

[0150] 메탈로프로테이나제(TIMPs)의 조직 억제제들은 맥관 형성을 억제할 수 있고, 본 발명의 조합 치료 프로토콜들에 사용될 수 있는 매트릭스 메탈로프로테아제(MMP)의 자연 발생하는 억제제들의 일족이다. MMP는 혈관 네트워크를 연장시키거나 또는 재모델링할 때 내피 세포들 및 섬유아세포들이 이동하는 것을 통해 이들이 매트릭스를 저하시킴으로써 맥관 형성 공정에서 중요한 역할을 한다. 사실 상, MMPs 중의 하나의 구성원인 MMP-2는 이러한 목적으로 인테그린 αvβ3을 통해 활성화된 내피와 연관되는 것으로 보였다. 이러한 상호작용이 MMP-2 단편에 의해 방해되는 경우, 맥관 형성은 하향 조절되고, 종양 성장은 억제된다.

[0151] 맥관 형성을 억제하는 많은 약리학적 시약들이 있고, 그중 임의의 1개 이상은 본 발명과 조합하여 사용될 수 있다. 이들은 AGM-1470/TNP-470, 탈리도마이드 및 카르복시아미도트리아졸(CAI)을 포함한다. 푸마길린은 1990에 맥관 형성의 잠재적인 억제제인 것으로 밝혀졌고, 그 이래 푸마길린의 합성 유사체인 AGM-1470 및 TNP-470이 개발되고 있다. 이들 약물 모두는 시험관 내 내피 세포 증식 및 생체 내 맥관 형성을 억제한다. TNP-470은 장기 투여가 최적임을 제안하는 데이터에 의한 인간 임상 시험들에서 광범위하게 연구되고 있다.

[0152] 탈리도마이드는 원래 진정제로 사용되었지만, 잠재적인 기형 물질인 것으로 밝혀져 중단되었다. 1994년에 탈리도마이드는 맥관 형성 억제제로 밝혀졌다. 탈리도마이드는 항암제 뿐만 아니라 혈관성 눈병의 치료제로서 현재 임상 시험되고 있다.

[0153] CAI는 액틴 재조직화, 내피 세포 이동 및 콜라겐 IV 상의 스프레딩을 방지하는 칼슘 채널 봉쇄제로서 작용하는 맥관 형성의 소분자량 합성 억제제이다. CAI는 생리학상 얻을 수 있는 농도로 신생 혈관 형성을 억제하고, 암 환자들이 경구로 잘 취하고 있다. CAI에 의한 임상 시험은 치료 전에 진행성 질병을 앓고 있는 암 환자들의 49%에서 질병을 안정화시켰다.

[0154] 헤파린 또는 헤파린 단편들의 존재 하의 코르티손은 내피 세포 증식을 봉쇄함으로써 생쥐들에서 종양 성장을 억제하는 것으로 보였다. 스테로이드 및 헤파린의 부가적인 억제 효과에 연루된 메카니즘은 불분명하지만, 이 헤파린은 내피 세포들에 의해 스테로이드의 흡수를 증가시킬 수 있는 것으로 생각된다. 혼합물은 새롭게 형성된 모세관 아래 기저막의 용해를 증가시키는 것으로 보이고, 이는 또한 부가적인 안지오스태틱 효과를 설명할 수 있다. 헤파린-코르티졸 콘주게이트들은 또한 잠재적인 안지오스태틱 및 생체 내 항-종양 활성을 갖는다.

[0155] 항-침습 인자인 레티노산 및 파클리탁셀(미합중국 특허 제5,716,981호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); AGM-1470(Ingber 등, Nature, 48:555-557 1990; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 상어 연골 추출물(미합중국 특허 제5,618,925호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 양이온성 폴리아미드 또는 폴리우레아 올리고머(미합중국 특허 제5,593,664호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 옥시놀 유도체(미합중국 특허 제5,576,330호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 에스트라디올 유도체(미합중국 특허 제5,504,074호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 및 티아졸로피리미딘 유도체(미합중국 특허 제5,599,813호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨)을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는 추가의 특이적인 맥관 형성 억제제들이 본 발명의 조합 사용을 위한 항-맥관 형성 조성물로서 사용될 것으로 예상된다.

[0156] $\alpha_v\beta_3$ 인테그린의 길항질을 포함하는 조성물들 역시 본 발명과 조합하여 맥관 형성을 억제하기 위해 사용될 수 있다. 미합중국 특허 제5,766,591호(참고 문헌으로서 본원에 포함됨)에 개시된 바와 같이, 시클릭 폴리펩티드들을 포함하는 RGD-함유 폴리펩티드들 및 이들의 염들은 $\alpha_v\beta_3$ 인테그린의 길항질의 적절한 예이다.

[0157] $\alpha_v\beta_3$ 인테그린에 반하는 항체 LM609 역시 종양 억제를 유도한다. 인테그린 $\alpha_v\beta_3$ 길항질, 예를 들면 LM609는 맥관 형성 내피 세포들의 아폽토시스를 유도하여, 진정기의 혈관을 감염시키지 않고 남긴다. LM609 또는 기타 $\alpha_v\beta_3$ 길항질은 또한 $\alpha_v\beta_3$ 및 MMP-2의 상호 작용을 억제함으로써 작용할 수 있고, 단백질 분해 효소는 내피 세포들 및 섬유아세포들의 이동에서 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

[0158] 이러한 경우 맥관 형성 내피의 아폽토시스는 혈관 네트워크의 휴식에 대한 케스케이드 효과를 가질 수 있다. 종양 혈관 네트워크가 확장될 종양 신호에 완전히 응답하는 것을 억제함으로써 사실상 종양 세포 사멸 및 종양 부피의 손실을 초래하는 네트워크의 부분적 또는 완전한 붕괴를 개시할 수 있다. 엔도스타틴 및 안지오스타틴은 유사한 형식으로 기능할 수 있다. LM609가 진정기의 혈관들에 영향을 미치지 않고, 종양 억제를 유발할 수 있다는 사실은 종양 내의 모든 혈관들이 항-종양 효과를 얻기 위한 치료를 위해 표적화될 필요가 없음을 강력히 제안한다.

[0159] 비-표적화된 안지오포이에틴, 예를 들면 안지오포이에틴-2는 본 발명과 조합되어 사용될 수도 있다. 여러 가지 조절제들의 맥관 형성 효과들은 안지오포이에틴-2와 접속된 오토트린 루프를 포함한다. 안지오포이에틴-2, 안지오포이에틴-1, 안지오포이에틴-3 및 안지오포이에틴-4의 사용은 본 발명과 관련하여 예상된다. Tie2 수용체를 통한 시그널링을 변경시킴에 기초한 치료 개입 방법들 역시 본원과 조합하여 사용될 수 있고, 예를 들면 Tie2 활성화를 봉쇄할 수 있는 가용성 Tie2 수용체를 사용할 수 있다(Lin 등, Proc. Natl. Acad. Sci., 미국, 95(15):8829-34, 1998). 재조합 아데노바이러스성 유전자 치료법을 사용한 그러한 작제물의 전달은 암을 치료하고 전이를 감소시키는데 효과적인 것으로 보인다(Lin 등, 1998).

[0160] CoQ10 조성물 및 아폽토시스-유도 시약들에 의한 조합 치료

[0161] CoQ10 조성물 치료는 종양 세포들 및 종양 혈관 내피 세포들을 포함하여 종양 내의 임의의 세포에서 아폽토시스를 유도하는 치료 방법들과 조합될 수도 있다. 많은 항암제들이 이들의 작용 메카니즘의 일부로서 아폽토시스-유도 효과를 가질 수 있지만, 특정 시약들이 이래 개시된 바와 같이 주요 메카니즘으로서 이에 의해 발견되거나, 설계되거나 또는 선택된다.

[0162] 아폽토시스를 억제하거나 또는 세포 사멸을 프로그램한 많은 온코진들이 개시되었다. 이러한 범주에서 전형적인 온코진들은 bcr-abl, bcl-2(bcl-1로부터 구별, cyclin D1; GenBank 수탁 번호 M14745, X06487; 미합중국 특허 제5,650,491호 ㅁ 제5,539,094호; 각각 참고 문헌으로서 본원에 포함됨) 및 Bcl-티, Mcl-1, Bak, A1, A20을 포함하는 부류 구성원들을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다. bcl-2의 중복 발현은 T 세포 임파종에서 먼저 발견되었다. bcl-2는 아폽토틱 경로에서 단백질인 Bax를 결합 및 불활성화시킴으로써 온코진으로서 기능한다. bcl-2기능의 억제는 Bax의 불활성화를 방지하고, 아폽토틱 경로가 진행되게 한다. 따라서, 예를 들면 안티센스 뉴클레오티드 서열들을 사용하는 이러한 부류의 온코진들의 억제는 여러 면에서 본 발명에 사용될 것으로 예상되고, 여기서 아폽토시스의 증진이 바람직하다(미합중국 특허 제5,650,491호; 제5,539,094호 및 제

5,583,034호; 각각 참고 문헌으로서 본원에 포함됨).

[0163] 많은 형태의 암들이 종양 억제 유전자들, 예를 들면 p53 등의 돌연변이로 보고되었다. p53의 불활성화는 아폽토시스를 촉진시키는데 있어서 실패를 초래한다. 이러한 실패에 의해, 암 세포들은 세포 사멸을 목적하기보다는 종양 형성으로 진행된다. 따라서, 종양 억제제들의 제공은 또한 세포 사멸을 자극하기 위해 본 발명에 사용될 것으로 예상된다. 전형적인 종양 억제제들은 p53, 망막아세포종 유전자(Rb), 빌름 종양(WT1), bax 알파, 인터류킨-1β-변환 효소 및 MEN-1 유전자, 신생 섬유종증 타입 1(NF1), cdk 억제제 p16, 결장암 유전자(DCC), 가족성 아데노마토시스 폴리포시스 유전자(FAP), 다발성 종양 억제제 유전자(MTS-1), BRCA1 및 BRCA2를 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다.

[0164] p53(미합중국 특허 제5,747,469호; 제5,677,178호 및 제5,756,455호; 각각 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 망막아세포종, BRCA1(미합중국 특허 제5,750,400호; 제5,654,155호; 제5,710,001호; 제5,756,294호; 제5,709,999호; 제5,693,473호; 제5,753,441호; 제5,622,829호; 및 제5,747,282호; 각각 참고 문헌으로서 본원에 포함됨), MEN-1(GenBank 수탁 번호 u93236) 및 아데노바이러스 E1A(미합중국 특허 제5,776,743호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨) 유전자들이 사용되기 바람직하다.

[0165] 사용될 수 있는 다른 조성물들은 트레일 말단의 아폽토시스 유도 리간드 및 TRAIL 폴리펩티드 관련 종양 괴사 인자(미합중국 특허 제5,763,223호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 24 kDa 아폽토시스-연관 프로테아제 (미합중국 특허 제5,605,826호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); Fas-연관된 인자 1, FAF1 (미합중국 특허 제5,618,925호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨)를 인코딩하는 유전자들을 포함한다. 또한, 본 발명의 이들 국면에 사용될 것으로 예상되는 것은 인터류킨-1β-변환 효소 및 그 부류 구성원들의 제공이고, 이는 아폽토시스를 자극하는 것으로 보고되어 있다.

[0166] 카르보스티릴 유도체들(미합중국 특허 제5,672,603호; 및 제5,464,833호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 분지된 아포겐성 펩티드들(미합중국 특허 제5,591,717호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 포스포티로신 억제제 및 비-가수분해성 포스포티로신 유사체들(미합중국 특허 제5,565,491호; 및 제5,693,627호; 각각 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); PXR 망막상 수용체의 길항질(미합중국 특허 제5,399,586호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨); 및 심지어 항산화제들(미합중국 특허 제5,571,523호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨) 등의 화합물들이 사용될 수도 있다. 티로신 키나제 억제제들, 예를 들면 제니스테인이 세포 표면 수용체를 표적으로 하는 리간드들에 결합될 수도 있다(미합중국 특허 제5,587,459호; 참고 문헌으로서 본원에 포함됨).

[0167] 효과량

[0168] 상기 조성물들은 피검자에게 효과량으로 투여되는 것이 바람직하다. 효과량은 (예를 들면, 동물 또는 배양물에서 세포의 아폽토시스를 유도하거나 또는 유사 분열을 손상시키기 위해) 치료한 동물 또는 세포에서 바람직한 결과를 낼 수 있는 양이다. 의학 및 수의학 분야에 잘 공지된 바와 같이, 임의의 하나의 동물에 대한 복용량은 특정 동물의 크기, 신체 표면적, 연령, 투여되어야 하는 특정 조성물, 투여 시간 및 경로, 일반 건강 상태, 및 동시 투여되고 있는 다른 약물들 등을 포함하는 많은 인자들에 의존한다. 본 발명의 조성물들의 국소 투여를 위한 적절한 복용량은 약 1.5 - 4.0 mg CoQ10/체중 kg 범위 (예, 110 내지300 lbs 범위의 피검자들에 대해 200 mg)일 수 있음이 예상된다. 배양액 중의 세포와 사용하기 위한 효과량 역시 변화할 것이지만, (예를 들면, 변화하는 농도를 세포에 부가하고, 목적하는 결과를 최상으로 내는 농도를 선택함으로써) 실험에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 적절한 농도는 약 5 - 200 μM의 범위 내일 수 있는 것으로 예상된다.

[0169] 암세포 성장의 억제 방법

[0170] 본 발명은 종양 세포 성장을 억제하고 종양 세포 아폽토시스 속도를 증가시키는 방법을 제공한다. 이 방법은 종양 세포를 사멸시키거나 또는 종양 세포에서 유사 분열을 적어도 지연시키기 위해 충분한 양의 CoQ10을 포함하는 조성물과 종양 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 이 방법은 수많은 유형의 암과 같은 종양 세포들의 성장을 억제시키기 위해 사용될 수 있다. 코엔자임 Q10은 흑색종, 육종 및 유방암 세포들에 반하여 시험되고 효과적인 것으로 보인다. 코엔자임 Q10은 다른 암들, 특히 상피, 중간엽, 및 조혈 장기들로부터 유도된 것들에 반하여 효과적인 것으로 기대된다.

[0171] CoQ10의 임의의 적절한 제형은 본 발명의 방법들에 사용될 수 있다. 전형적인 제형들은 변화하는 농도의 코엔자임 Q10의 국소 리포좀 제형들이다. 국소 투여 외에, CoQ10-함유 제형들은 주사를 통해 (예, IP, IV, IM, SQ) 피검자에게 투여될 수 있다.

[0172] 종양 세포 성장 속도를 감소시키거나 또는 시험관 내 종양 세포 아폽토시스 속도를 증가시키는 방법에서, CoQ10

은 바람직한 배지 (아래 실시예 1에 개시된 바)에서 희석시킴으로써 2-프로판올에 용해된다. 종양 세포 성장 속도를 감소시키거나 또는 종양 세포 아폽토시스 속도를 증가시키는 생체내 방법에서, CoQ10-함유 크림은 종양 억제가 발생할 때까지 표적 부위에 매일 국소로 도포된다 (실시예 2 및 3에 개시된 바). 다른 생체 내 방법에서, CoQ10-함유 제형은 주사를 통해 (예, IP, IV, IM, SQ) 피검자에게 투여된다.

[0173] 본원에 개시된 CoQ10 조성물, 즉 약 1% 내지 약 25% 코엔자임 Q10을 포함하는 조성물들의 투여에 의해 나타나는 종양 세포 성장의 억제는 1개 이상의 다음 효과들: 즉, (1) (i) 성장 서행 및 (ii) 완전한 성장 정지를 포함하여 어느 정도까지 종양 성장의 억제; (2) 종양 세포들의 수의 감소; (3) 종양 크기 유지; (4) 종양 크기의 감소; (5) 주변 장기들 내로 종양 세포 침윤의 (i) 감소, (ii) 서행 또는 (iii) 완전 예방을 포함하는 억제; (6) 전이의 (i) 감소, (ii) 서행 또는 (iii) 완전 예방을 포함하는 억제; (7) (i) 종양 크기 유지, (ii) 종양 크기 감소, (iii) 종양 성장의 서행, (iv) 내습의 감소, 서행 또는 예방을 초래할 수 있는 항-종양 면역 반응의 증진 및/또는 (8) 그 질환과 연관된 1가지 이상의 증상의 수 또는 중증도의 어느 정도까지의 완화를 의미한다.

[0174] 바람직한 실시예들에서, 코엔자임 Q10 조성물들의 투여는 억제되고 있는 종양 세포의 1개 이상의 페노타입들을 초래한다. 예를 들면, 종양 성장의 억제, 종양 크기의 감소, 전이의 억제, 종양 세포 수의 감소 등을 초래한다. 종양 세포의 이들 페노타입 각각은 예를 들면 이미지화, 기계적 측정, 시험관 내 분석 등의 표준 분석을 사용하여 측정될 수 있다.

[0175] 키트들 및 제형들

[0176] 본 발명은 또한 피검자에서 종양 성장 속도를 감소시키기 위해 키트를 제공한다. 본 발명의 키트는 CoQ10 및 제약학상 허용되는 담체를 포함하는 조성물 뿐만 아니라 피검자에서 종양 성장 속도를 감소시키기 위해 조성물을 사용하는 인쇄된 지시문을 포함한다.

[0177] 활성 성분들은 고체, 반-고체 또는 액체 형태로 존재할 수 있다. 고체 형태들은 예를 들면 산제, 과립들 및 플레이크들을 포함한다. 반-고체 형태는 예를 들면 겔제, 크림제, 젤라틴 및 연고를 포함한다. 본 발명에 포함되는 이들 활성제 및 기타 활성제들은 당업계의 통상의 기술을 가진 자들에게 공지되어 있으며, 대부분의 경우 캘리포니아주 에스콘디도의 Compound Solutions, Inc. 등의 공급업체들로부터 상업적으로 입수할 수 있다. 본 발명에 의해 포함되는 이들 및 기타 활성 및 불활성제들 및 이들의 상업적인 공급업체들에 대한 정보는 여러 가지 거래 매뉴얼, 특히 레밍턴의 제약학, 미합중국 약전(USP), 내셔널 포뮬러리(NF), 머크 인덱스, Physician's Desk Reference(PDR) 및 화학 초록에서 입수할 수 있다.

[0178] 본 발명의 키트들은 또한 일반적으로 적어도 하나의 불활성제를 함유한다. 본원에 사용된 바의 불활성제는 이들이 투여되는 피검자에게 임의의 치료 이득을 제공하지 않는 시약이다. 대신에, 불활성제는 활상제가 용해되거나 또는 현탁될 수 있는 베이스를 제공하고, 투여에 따라 적절한 도즈를 제공하기 위해 활성제를 희석시키고, 활성제의 용해 또는 현탁을 촉진시키거나, 또는 최종 컴파운드된 현탁액으로부터 공기 방울들을 제거함으로써 활성제의 산화를 방지하는 많은 다른 방식으로 기능할 수 있다. 본 발명의 일부 실시 형태에서, 키트들은 불활성제가 결여되어 있고, 오히려 2개 이상의 활성제들을 함유한다.

[0179] 크림제, 오일, 겔 또는 연고 등의 베이스 시약은 국소용 또는 좌약용으로 적합하다. 본 발명의 키트에 사용하기 적절한 불활성 베이스 시약의 선택은 컴파운드될 활성제에 좌우될 것이다. 적절한 베이스제는 통상의 기술을 가진 자에게 공지될 것이다. 대안으로, 레밍턴의 제약학, Physician's Desk Reference(PDR) 및 상기 나열된 기타 매뉴얼들은 이러한 결정을 내리는데 참조될 수 있다.

[0180] 불활성 베이스 시약 또는 성분들의 예는 예를 들면 라놀린, 친수성 연고, 백색 연고, 황색 연고, 폴리에틸렌 글리콜 연고, 피트로락탐, 친수성 피트로락탐, 장미 향수 연고, 스쿠알렌, 수소 첨가된 식물성 오일(타입 II), 초음파 겔, 플루론성 레시틴 오르가노겔(PLO) 젤, 크림을 포함한다.

[0181] 본원에 사용된 바의 "피트로락탐"이라는 용어는 피트로락탐 연고, 피트로락탐 겔 또는 피트로락탐 크림을 의미하고, 이들 모두는 상업적으로 입수할 수 있다. 그것은 피트로락탐의 어느 형태가 특정 키트에 가장 적절한지 결정하기 위해 통상의 제약 종사자들의 분야에 속한다.

[0182] 상업적으로 입수할 수 있는 초음파 베이스는 POLYSONIC™ (초음파 겔) 초음파 로션 또는 Parker 러버러토리스 인크가 제조한 아쿠아소틱 초음파 100겔 또는 Eco-Med (Mississauga, 캐나다 온타리오)rk 제조한 EcoGel 100 또는 EcoGel 200이고, 그의 조성물들은 세틸 알콜, 액체 파라핀, 폴리머, 계면활성제, 보존제들, 예를 들면 제균 농도의 프로필 파라벤 및 메틸 파라벤, 향료 및 역삼투수를 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바의 겔은 로션보

다 큰 점도를 갖는 베이스이다. POLYSONIC™ (초음파 겔) 초음파 로션 및 EcoGel 100의 물리적 특성은 6.5-7.0의 pH 범위, 1.04 g/cm^{3}의 밀도, 35,000 내지 70,000 cps의 점도 및 1.60 (10^5 g/cm^2 sec)의 음향 임피던스이다. 아쿠아소닉 초음파 100 겔 또는 EcoGel 200의 물리적 특성은 이들의 점도가 80,000 내지 110,000 cps인 것을 제외하고는 POLYSONIC™ (초음파 겔) 초음파 로션 및 EcoGel 100의 그것들과 유사하다. 이들 로션 및 겔들은 투명한 무색 형태로 또는 청색 형태로 입수할 수 있다.

[0183] 액체 베이스들은 경구로 투여되는 제약품에 대해 권장된다. 본 발명의 일부 실시 형태들에서, 적어도 하나의 활성제, 예를 들면 CoQ10은 불활성제와 이미 공동-혼합되어 공급될 것이다. 이것의 예는 수산화 마그네슘 및 수산화 알루미늄 (MAALOX™ (수산화 마그네슘/수산화 알루미늄)로서 상업적으로 입수할 수 있음) 및 디페닐히드라민 HCl (BENADRYL™ (디페닐히드라민 히드로클로라이드)로서 상업적으로 입수할 수 있음))을 포함한다. MAALOX™ (수산화 마그네슘/수산화 알루미늄) 및 BENADRYL™ (디페닐히드라민 히드로클로라이드) 모두는 활성제 및 불활성제의 조합물로서 이들의 각각의 제조업자들에 의해 공급된다.

[0184] 멸균 베이스 용액들은 비경구용(즉, 주사제), 에어로졸(즉, 흡입) 및 안과적 투여 경로에 바람직하다. 투여는 예를 들면 정맥내, 복강내, 근육내, 낭내, 피하 또는 경피일 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제는 멸균 수성 또는 비수성 용액, 현탁액 및 에멀젼을 포함한다. 컴파운드된 제약품, 바람직하게는 비경구 투여, 흡입 또는 안과적 투여 경로들을 위해 의도된 것들이 바람직할 수 있고, 제약학적으로 허용되는 불활성 시약들 중에서 투여될 수 있다. 본원에 사용된 바의 제약학적으로 허용되는 담체는 활성제의 생물학적 활성의 효과에 의해 간섭받지 않고, 조직 또는 유기체의 생물학적 시스템들과 호환되는 무독성 물질을 의미한다. 생리학상 허용되는 담체는 생체내 투여를 위해 멸균되어야 한다. 제약학상 허용되는 담체들은 희석제, 충전제, 염, 완충제, 안정제, 용해제 및 기타 당업계에 잘-공지된 재료들을 포함한다. 담체의 특성은 투여 경로에 의존할 것이다. 일반적으로, 제약학상 허용되는 시약 또는 담체는 당업계의 통상의 기술을 가진 자들에게 잘 공지되어 있다. 일부 실시 형태들에서, 적절한 멸균 용액들은 알부테롤 및 이프라트로피움 흡입 용액; 파파베린, 펜톨아민 및 프로스타글란딘 주입 용액; 펜타닐 시트레이트 주입 용액 및 시클로스포린 안약 드롭제를 포함한다.

[0185] 비수성 용매의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예를 들면 올리브 오일, 주사용 유기 에스테르, 예를 들면 에틸올리에이트이다. 수성 담체들은 염수 및 완충 배지를 포함하여 물, 알콜성.수성 용액들, 에멀젼들 또는 현탁액들을 포함한다. 비경구용 비히클들은 염화 나트륨 용액, 링커의 덱스트로스, 염화 덱스트로스 및 염화 나트륨, 락테이트화된 링거 오일 또는 고정 오일을 포함한다. 정맥내 비히클들은 유체 및 영양분 보충제, 전해질 보충제(링거의 덱스트로스에 기초한 것들 등), 등을 포함한다. 보존제 및 기타 첨가제들, 예를 들면 항미생물제, 항산화제, 킬레이트제 및 불활성 가스들 등 역시 제공될 수 있다. 당업계의 숙련자들은 목적하지 않는 실험 없이 이들 대체 제약 조성물들을 제조하기 위한 여러 가지 파라메터들을 용이하게 결정할 수 있다.

[0186] 불활성 시약들은 컴파운드된 제형의 통합성을 보존하는 기능을 하는 성분들을 포함할 수도 있다. 불활성 시약들의 이러한 카테고리는 예를 들면 기포 방지제이다. 기포 방지제는 아마도 혼합 또는 진통 중에 조성물 중에 포집되는 원치 않는 공기를 제거하는 기능을 하는 시약이다. 기포 방지제의 사용은 공기 기포들에 의한 신호 전송의 임피던스로 인한 초음파 이미징에 사용될 제약품의 제조에 특히 유용하다. 본 발명의 조성물들에 유용한 다른 기포 방지제들의 예는 비스페닐헥사메티콘, 디메티콘, 디메티콘올, 헥사메틸디실록산, 헥실 알콜, 이소프로필 알콜, 석유 증류물, 페네틸 디실록산, 페닐 트리메티콘, 폴리실리콘-7, 프로필 알콜, 실리카 디메틸 실릴레이트, 실리카 실릴레이트, 테트라메틸 데신디올 및 트리메틸실록시실리케이트를 포함한다. 바람직한 기포 방지제는 시메티콘이다. 시메티콘은 약 90% 디메티콘 및 10% 이산화규소(w/w)의 혼합물이다. 시메티콘은 GAS-X™ (시메티콘), MAALOX™ (수산화 마그네슘/수산화 알루미늄), MYLANTA™ (알루미늄, 마그네슘 시메티콘), PHAZYME™ (시메티콘), GENAZYME™ (시메티콘) 및 MYLICOX™ (시메티콘) 드롭제 등의 제약 생성물 중의 가스 방지제로서 광범위하게 사용된다. 시메티콘은 본 발명에 포괄되는 임의의 제형 중에 기포 방지제로서 사용될 수도 있다.

[0187] 본 발명의 제형들에 포함될 수 있는 다른 불활성제는 시트르산 등의 안정제, 소듐 메타비설파이트 등의 항산화제 및 메틸 또는 프로필 파라벤 등의 보존제를 포함한다.

[0188] 다른 부류의 불활성제는 현탁제이다. 현탁제들은 현탁을 촉진시키고, 일부 경우에 베이스 중의 활성제의 용해

를 촉진시키는 시약들이다. 일반적으로, 현탁제들은 활성 성분 및 베이스 성분들의 보다 균일한 혼합을 보장한다. 환자에 대한 컴파운드된 제약품의 보다 균일한 도즈를 투여하기 위해, 컴파운드된 성분들은 적절하고 균일하게 조합되어야 한다. 활성제가 분말로서 존재하는 경우, 균일한 분산은 때때로 전통적인 컴파운딩 형태를 사용하여 달성하기 곤란하다.

[0189] 현탁제들의 하위 범주는 용해제이다. 용해제들은 베이스 불활성제 중에 고체 또는 일부 경우 반-고체 시약을 용해시키는 것을 촉진하는 시약이다. 본 발명의 일부 실시 형태들에서, 고체형 활성제는 그것을 베이스 시약과 혼합하기에 앞서 현탁제에 용해될 수 있다. 반대로, 현탁제 및 베이스 시약은 함께 미리 패키징될 수 있고, 특히 고체(즉, 분말) 활성제의 손실 보다 베이스 성분 내에서 활성제를 균일하게 혼합하는 것을 보장하는 것이 염려되는 경우에 그러하다. 또 다른 변화들에서, 현탁제는 베이스 불활성제와 미리 혼합될 수 있다.

[0190] 본 발명의 조성물들에 유용한 적절한 현탁제들은 글리세린, 헥실렌 글리콜, 프로필렌 글리콜, 소르비톨, 아카시아, 콜레스테롤, 디에탄올아민(부속물), 글리세릴 모노스테아레이트, 라놀린 알콜, 리세틴, 모노- 및 디-글리세리드, 모노에탄올아민(부속물), 올레산(부속물), 올레일 알콜(안정제), 폴록사머, 폴리옥시에틸렌 50 스테아레이트, 폴리옥실 35 피마자유, 폴리옥실 40 수소 첨가된 피마자유, 폴리옥실 10 올레일 에텔, 폴리옥실 20 세토스테아릴 에테르, 폴리옥실 40 스테아레이트, 폴리스로베이트 20, 폴르소르베이트 40, 폴르소르베이트 60, 폴리소르페이트 80, 프로필렌 글리콜 디아세테이트, 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 소듐 라우릴 설페이트, 소듐 스테아레이트, 소르비탄 모노라우레이트, 소르비탄 모노올레에이트, 소르비탄 모노팔미테이트, 소르비탄 모노스테아레이트, 스테아르산, 트롤라민, 유화 왁스, 벤잘코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드, 세틸피리디늄 클로라이드, 도큐제이트 나트륨, 노녹시놀 9, 노녹시놀 10, 옥톡시놀 9, 폴리옥실 50 스테아레이트 및 틸록사폴을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다.

[0191] 또 다른 현탁제들은 습윤제 및 보습제들을 포함한다. 습윤제들은 습기를 유지하는 시약이다. 습윤제들의 예는 글리세린, 헥실렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 및 소르비톨을 포함하지만, 이들로만 제한되지 않는다. 베이스 및 베이스가 아닌 불활성제의 양은 제조되어야 할 특정 컴파운드된 제약품에 의존할 것이다. 베이스 시약들은 중량 또는 부피로 베이스 시약의 0.5% 내지 99.99%를 함유하는 최종 컴파운드 제제들에 대응하는 정량으로 제공될 수 있다. 바람직한 실시예들에서, 베이스 시약의 최종 농도는 20%-80%이다. 훨씬 더 바람직한 실시예들에서, 베이스 시약의 최종 농도는 40%-80%이다.

[0192] 일반적으로, 베이스가 아닌 시약의 양은 각각의 베이스가 아닌 불활성제가 조성물의 0.01%-50%(w/w)를 나타내는 최종 제형들을 제공하기에 충분할 것이다. 현탁제들은 최종 제형의 1%-50%(w/w)를 나타낼 수 있다. 바람직하게는, 현탁제들은 최종 제형의 1%-40%, 더욱 바람직하게는 5%-30%를 나타낼 것이다. 기포 방지제는 최종 제형의 0.01%-20%(w/w)를 나타낼 수 있다. 더욱 바람직하게는, 기포 방지제들은 최종 제형의 0.05%-10%, 더욱 바람직하게는 0.1% 내지 5%를 나타낸다.

[0193] 일부 바람직한 실시예들에서, 사용 키트들의 단일 또는 다중 유닛은 활성제 및 불활성제의 물리적 혼합 후, 1%, 5%, 10% 또는 20% w/w의 CoQ10을 포함하는 컴파운드된 제약 제형들을 생산하도록 설계되어 있다.

[0194] 본 발명의 키트들은 미리-측정된 정량으로 주어진 컴파운드 제약품을 제조하는데 필요한 각각의 모든 성분을 제공할 것이다. 각각의 성분의 측정은 현행 굳 매뉴팩춰링 프랙티스 (cGMP, 연방 법규 코드 또는 CFR로 제정)를 사용하여 수행될 것이고, 각각의 성분의 패키지화 및 라벨링 및 그의 실체로 키트의 최종 패키지화 및 라벨링에 의해 그러할 것이다. 이러한 방식으로, 이 키트들은 표준화되고, 배치에서 배치로의 변화는 최소이거나 또는 존재하지 않을 것이고, 개개의 성분들의 측정의 정확도 및 정밀도는 약사들이 현재 사용하는 방법들에 비해 상당히 개선될 것이다. 지시 사항들은 임의의 용기에 별개로 제공될 수 있지만, 키트 내에 포함될 수도 있다. 대안으로, 지시 사항들은 용기 위해 위치할 수 있고, 예를 들면 뚜껑 등의 외부 표면 또는 내부 표면 상에 위치할 수 있다.

[0195] 키트의 활성제 및 불활성제 모두가 용기에 제공된다. 키트는 적어도 하나의 활성제 및 적어도 하나의 불활성제, 또는 불활성제들과 미리 제형된 적어도 2개의 활성제들을 함유할 것이기 때문에, 주어진 키트의 용기의 최소 수는 2이다. 바람직한 실시 형태들에서, 키트의 용기들의 최대수는 4개 이하일 것이다. 이 용기들은 하나의 용기로부터 다른 용기로 성분들을 혼합하거나 또는 옮기는데 유용한 임의의 크기 및 형상으로 형성될 수 있다. 예를 들면, 각각의 용기는 바이알, 병, 스퀴즈 병, 단지, 밀봉된 슬리브, 엔벨로프 또는 파우치, 튜브 또는 블리스터 패키지들의 형태 또는 임의의 다른 적절한 형태일 수 있지만, 용기는 성분들의 미숙한 혼합을 방지하도록 밀봉된다. 본원에 사용된 바의 용기는 바이알, 튜브, 단지, 또는 엔벨로프, 또는 슬리브 또는 블리스터 패키지 또는 병 내에 격벽 또는 챔버가 있을 수 있고, 단 하나의 격벽의 내용물들은 약사 또는 내과의에 의

한 혼합을 고려하기 전에 다른 격벽의 내용물들과 물리적으로 연관될 수 없다.

[0196] 본 발명은 다른 부속물들에 대한 필요 없이 컴파운드된 제약품의 사용 유닛을 제조하기 위해 단일 키트 내에 모든 필요한 성분들, 용기들 및 교반 또는 혼합 소자들을 제공하도록 의도된다. 본 발명의 키트들은 글러브들 또는 스필 패드들 등의 아이템들을 포함할 수도 있다. 당업계의 숙련자들은 내부에 수용되고 혼합된 개개의 성분들에 적절한 용기의 선택을 용이하게 변형시킬 수 있다.

[0197] 본 발명의 일부 실시 형태들에서, 최종 컴파운드된 제형은 불활성제, 또는 베이스, 화합물을 원래 수용하는 용기로 환자에게 제공될 것이다. 다른 실시 형태들에서, 최종 컴파운드된 제형은 활성제를 원래 수용하는 용기로 제공될 것이다. 또 다른 실시 형태에서, 컴파운드된 제약품을 제조하는데 필요한 모든 성분들은 하나의 용기에 포함되지만, 그러한 용기 내에서 물리적으로 분리된다. 예를 들면, 불활성제는 용기, 예를 들면 단지의 하위 부분에 포함될 수 있고, 플라스틱 피일-오프 랩으로 커버될 수 있다. 활성제는 이러한 동일한 단지에 수용될 수 있지만, 단지의 뚜껑에 고정되어 파우치 또는 슬리브로 제공된다. 가장 작은 포장 배치로 모든 성분들을 함께 제공하는 능력은 일부 상황들에서 바람직하다. 컴파운드된 제약품의 제조에 필요한 혼합 요소들 역시 동일한 용기 내에 위치할 수 있고, 예를 들면 용기의 뚜경의 내부 표면에 고정될 수 있다.

[0198] 본 발명의 또 다른 실시예에서, 활성제 및 불활성제는 단일 하우징 용기의 인접한 격벽들에 제공되고, 이들 격벽으로부터 제3 격벽으로 기계적으로 제거된다. 일 예로써, 특정 컴파운드 제약품을 제조하는데 필요한 모든 화학적 성분들은 다일 튜브, 예를 들면 별개의 격벽들로 분할되는 내부를 갖는 치약 튜브와 유사한 튜브에 제공될 수 있다. 이들 격벽 각각은 베이스 시약 또는 활성제를 다시 수용한다. 베이스 시약이나 활성제는 본원에 개시된 바와 같이 기포 방지제 및/또는 현탁제와 미리 혼합될 수 있다. 튜브에 전체적으로 압력을 가함으로써, 이 성분들은 이들의 각각의 격벽을 빠져 나가도록 제조된다. 이들 성분은 이어서 인접하는 격벽 또는 물리적으로 별개의 격벽에서 혼합될 수 있다. 튜브의 외부 표면의 스퀴징 또는 프레싱은 튜브 내에 수용된 개개의 성분들을 회수하는데 필요한 것일 수 있다. 또 다른 실시 형태에서, 용기의 모든 챔버들의 내용물들은 제3 용기로 펌핑될 수 있다. 관련 실시 형태에서, 각각의 격벽의 내용물들이 빠져 나와 제3 격벽으로 흘러가는데 필요한 것 외에, 성분들은 제거 가능한 시트 또는 필름에 의해 분리될 수 있는 것으로 보이기도 한다. 따라서, 그러한 시트 또는 필름을 제거함에 따라, 2개의 격벽의 내용물들은 접촉하고, 완전히 혼합되는 진탕 또는 위아래 전환만을 필요로 할 수 있다. 이러한 후자의 실시 형태는 혼합 요소들에 대한 필요성을 제거할 수 있고, 특히 지시사항들이 용기 자체 상에 기입된 경우 외부 패키지에 대해 잠재적으로 그러하다.

[0199] 본 발명의 일부 양태들에 따라, 각각의 용기는 1개 이상의 활성제들 또는 1개 이상의 불활성제들을 포함할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 일부 실시 형태들에서, 용기들 중의 어느 것도 약사 또는 내과의가 혼합하기 전에 활성제 및 불활성제 모드를 포함할 수 없다. 그러나, 본 발명은 용기가 활성제 및 적어도 하나의 불활성제, 예를 들면 베이스 시약, 현탁제 또는 기포 방지제를 함유할 수 있는 키트를 제공하기도 한다.

[0200] 바람직한 실시 형태에서, 활성제는 불활성제와 미리 혼합되어 제공된다. 이는 주로 CoQ10가 고체, 예를 들면 분말 및 약사 또는 내과의에 의한 컴파운딩을 촉진시키는 현탁제와 분말의 예비 혼합물로서 상업적으로 입수할 수 있을 때, 주로 적용된다. 또 다른 실시 형태에서, 적어도 2개의 불활성제는 본 발명의 키트에 제공되는 바와 같이 예비-혼합될 수 있다.

[0201] 일부 실시 형태에서, 활성제가 베이스 성분에 부가되는 경우, 단지 부분적으로 채워지는 용기에 베이스 성분을 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 바람직한 실시 형태들에서, 베이스 성분이 위치하는 용기는 전체 부피로 100% 미만이다. 다른 실시 형태에서, 용기들은 전체 부피로 95%, 905, 80%, 75%, 70%, 60%, 505, 40%, 30%, 25%, 20% 또는 그 미만이다. 다른 실시 형태들에서, 활성제 또는 불활성제는 100% 에서 1%, 및 그 사이의 모든 정수 백분율 범위의 각각의 용기의 체적을 포함한다. 바람직한 실시 형태에서, 불활성제는 제2 용기의 부피에서 활성제의 부피를 뺀 것과 같거나 또는 더 작은 제2 용기의 부피를 점유한다.

[0202] 본 발명에 따라 사용된 바와 같이, 활성제 및 불활성제는 컴파운드된 제약품을 생산하기 위해 약사에 의해 물리적으로 조합된다. 키트의 성분들은 제1 또는 제2 용기의 완만한 진탕, 흔들기, 교반, 폴딩 또는 위아래 전환에 의해 합해질 수 있다. 일부 경우에, 활성제 및 불활성제들의 적절한 혼합은 단순히 서로 부가하고, 이어서 용기의 밀봉 및 진탕에 의해 수행될 수 있다. 이는 특히 성분들이 모드 액체 또는 반-고체인 경우이다. 다른 경우에, 혼합 요소와 함께 성분들을 교반시킬 필요가 있다. 혼합 요소들은 제약 업계의 통상의 기술을 가진 자들에게 잘 공지되어 있고, 예를 들면 원심분리기, 혼합 막대, 예를 들면 유리 막대, 스푼, 스패튤라 또는 딥스틱을 포함할 수 있다. 필요할 경우, 혼합 요소가 키트에 제공된다. 혼합 요소의 존재는 키트의 성분들에 의해 제조될 컴파운드 제약 제형에 따라 변화할 것이다.

[0203] 최종 컴파운드 제약품은 고체, 반-고체, 액체 또는 가스상 형태, 예를 들면 정제, 캡슐제, 산제, 과립제, 연고, 용액제, 좌약, 흡입제 및 주사제 형태 및 경구, 비경구 또는 외과적 투여를 위한 보편적인 방식의 제제로 제형될 수 있다. 본 발명은 또한 본 발명의 컴파운드 제약품들을 국소로 투여하는 것, 예를 들면 임플란트로서 투여하는 것을 포함하기도 한다. 이들 제형들은 경구 투여, 국소 투여, 점막 투여, 비경구 투여(예, 주사용), 직장 또는 질내 투여되도록 의도된다. 바람직한 실시예들에서, 최종 컴파운드 제형들은 자체-투여될 수 있다.

[0204] 본 발명의 키트들은 본 발명의 2개 이상의 용기들을 치밀한 한계로 수용하도록 격벽 처리될 수 있는 패키지를 포함할 수도 있다. 일부 실시 형태에서, 패키지는 카드보드 또는 강화 종이 등의 적절한 강성 재료로 제조된 박스형일 수 있다. 다른 실시 형태들에서, 패키지는 백일 수 있다. 본원에 개시된 바의 또 다른 실시 형태들에서, 어떠한 외부 패키징도 없고, 모든 용기들은 활성제 또는 불활성제를 수용하는 용기들 중의 하나에 포함될 수 있다. 후자의 실시 형태는 활성제 또는 불활성제 뿐만 아니라, 주요 용기의 뚜껑 내부에 컴파운딩에 필요한 임의의 혼합 요소들을 함유하는 파우치, 슬리브, 또는 쌕 등의 용기들을 고정시킴으로써 수행될 수 있다. 당업계의 개개의 숙련자는 각각의 키트 및 각각의 용도에 대한 개개의 필요성에 부합되도록 패키지를 용이하게 변형시킬 수 있다. 본 발명의 키트는 내부에서 발견되는 성분들의 적절한 용도에 대한 지시 사항들을 초가로 포함한다.

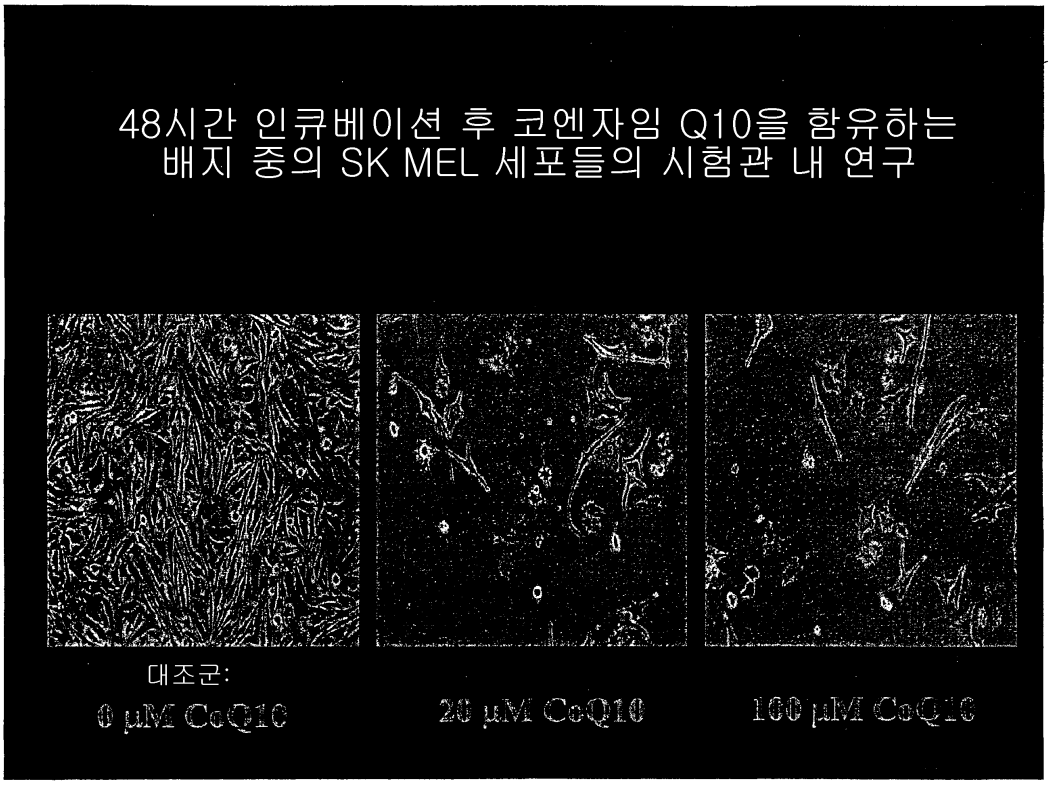
[0205] 본 발명의 키트들은 인간, 개, 고양이, 말, 물고기, 돼지, 소, 양, 사슴, 동물원의 동물들 및 실험실 동물들(예, 생쥐, 쥐, 토끼, 원숭이 등)을 포함하는 다양한 피검자의 수많은 질병들의 치료 또는 예방에 사용되도록 의도된다. 본 발명은 상기 제제들을 함유하는 키트들의 사용 유닛을 포함하도록 의도된다.

[0206] 다음 실시예들은 예시의 목적으로 제공되고, 제한시키고자 함이 아니다. 특정 실시예들이 제공되었지만, 상기 설명은 예시적인 것으로 제한적이지 않다. 이미 개시된 실시 형태들의 임의의 1개 이상의 특징들은 본 발명의 임의의 다른 실시 형태들의 1개 이상의 특징들과 임의의 방식으로 조합될 수 있다. 더욱이, 본 발명의 많은 변화들은 본 명세서를 검토함에 따라 당업계의 숙련자들에게 명백해질 것이다. 따라서, 본 발명의 범위는 상기 설명을 참조해서 결정되는 것이 아니라, 대신에 이들의 동등물의 완전한 범위에 따라 첨부된 특허 청구의 범위를 참조하여 결정되어야 한다.

[0207] 본원 발명에 인용된 모든 공고 및 특허 문서들은 각각의 개별적 공고 또는 특허 문서가 그와 같이 개별적으로 표시되는 경우와 동일한 정도까지 모든 목적들에 적당한 부분에 참고로 포함된다. 본원 문서에 여러 참고 문헌들을 인용함으로써, 충원인들은 임의의 특정 참고 문헌이 그 발명들에 대해 "선행 기술"임을 인정하지 않는다.

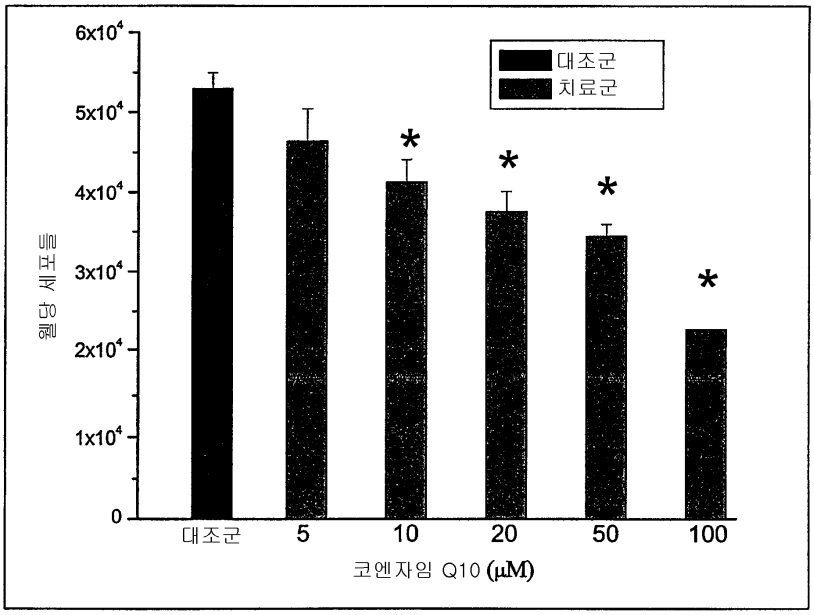
도면

도면1


48시간 인큐베이션 후 코엔자임 Q10을 함유하는
배지 중의 SK MEL 세포들의 시험관 내 연구
대조군:
0 μM CoQ10
20 μM CoQ10
100 μM CoQ10

도면2

인간의 흑색종 세포주 SKMEL 28에 대한
코엔자임 Q10의 효과

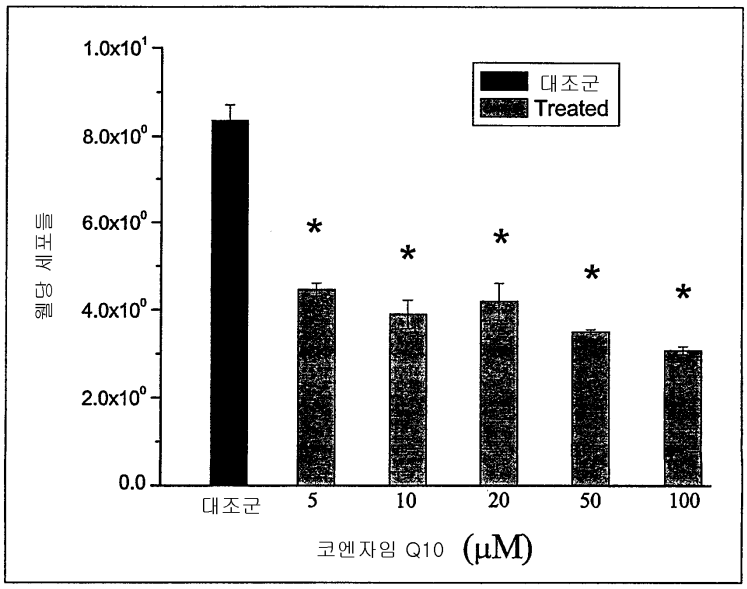


36시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면3

인간의 흑색종 세포주 SKMEL 28에 대한 코엔자임 Q10의 효과

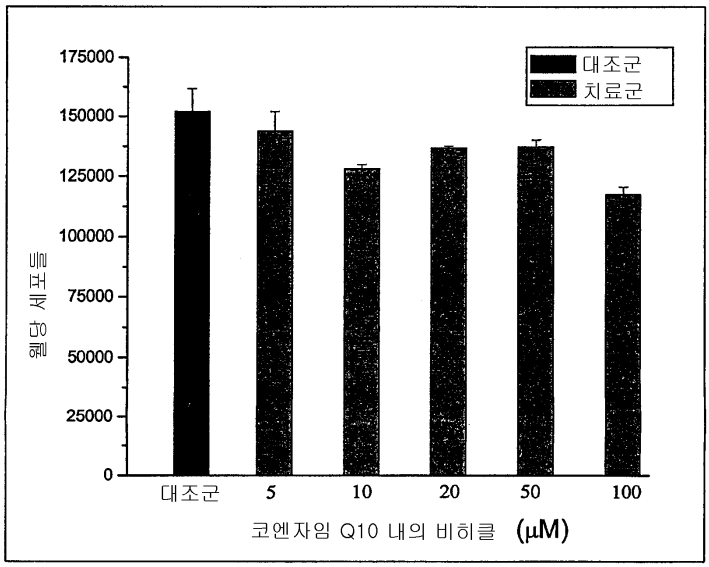


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면4

인간의 흑색종 세포주 SKMEL 28에 대한 코엔자임 Q10 비히클의 효과

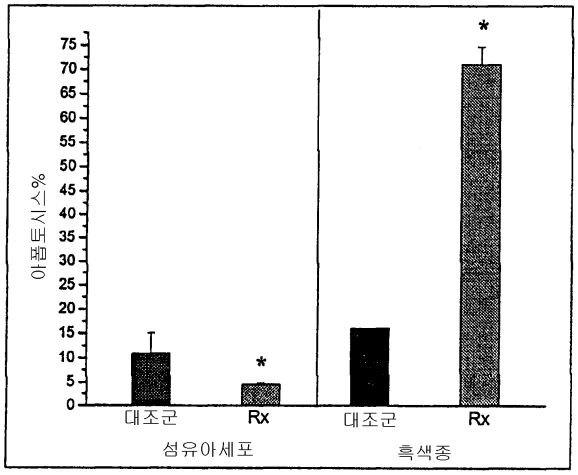


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면5

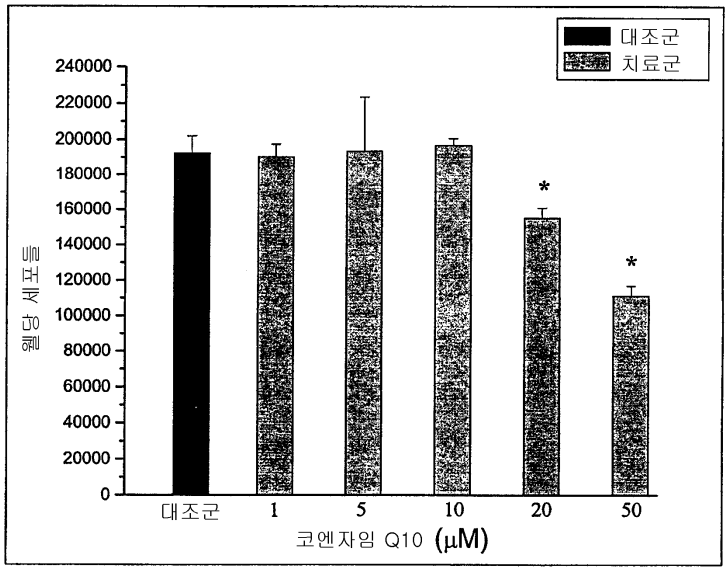
인간의 흑색종 및 섬유아세포 세포들에서 아폽토시스에 대한 코엔자임 Q10의 효과



* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면6

유두종 세포들에 대한 코엔자임 Q10의 효과

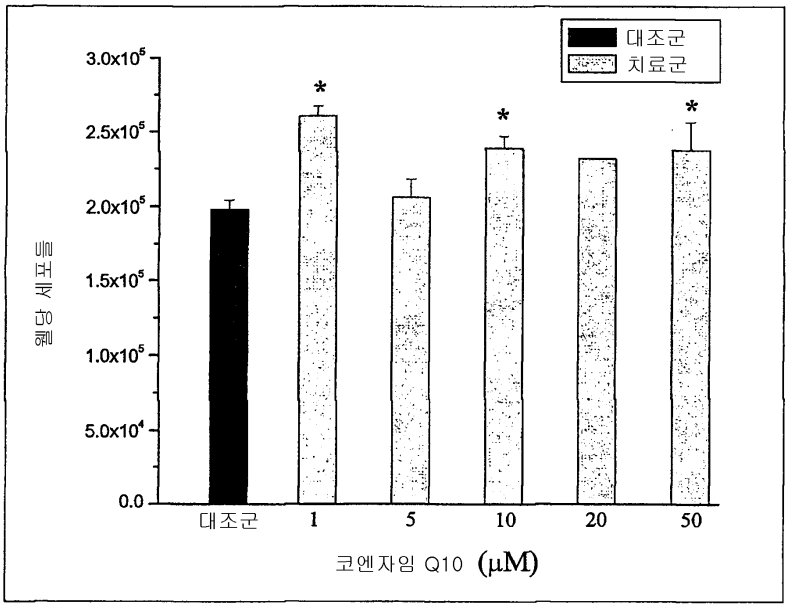


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면7

인간 신생아 섬유아세포에 대한 코엔자임 Q10의 효과

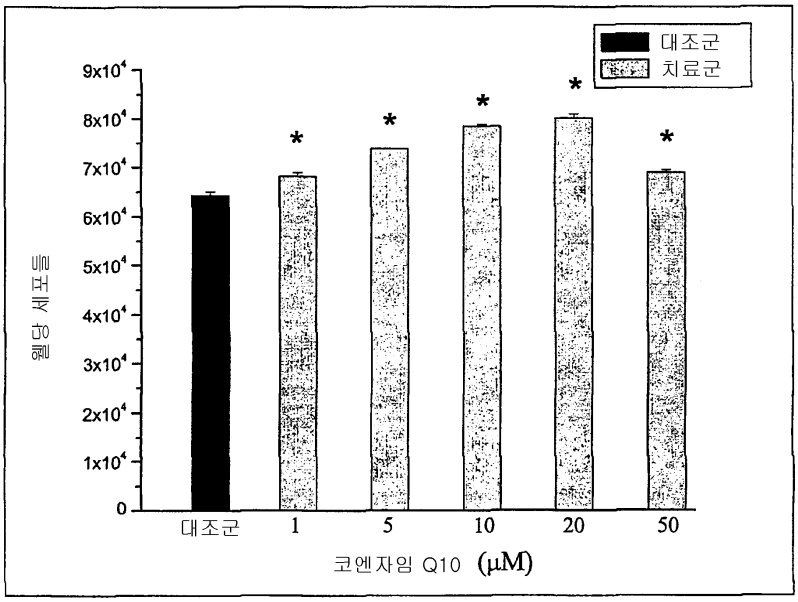


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면8

인간 신생아 케라티노사이트들에 대한 코엔자임 Q10의 효과

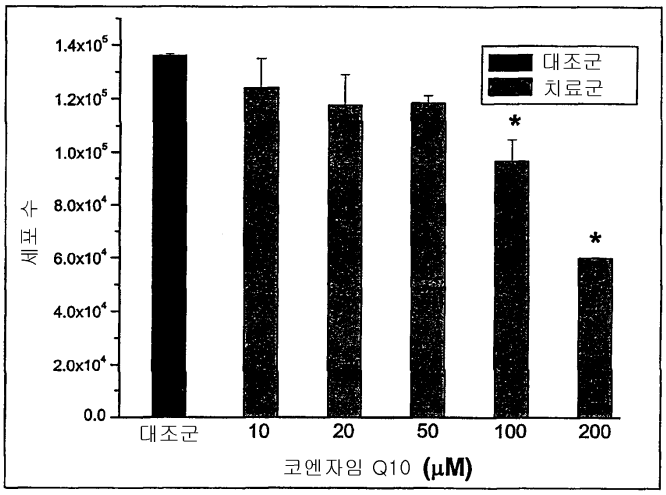


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면9

Rx 효과 인간의 유방 선암 MCF-7 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

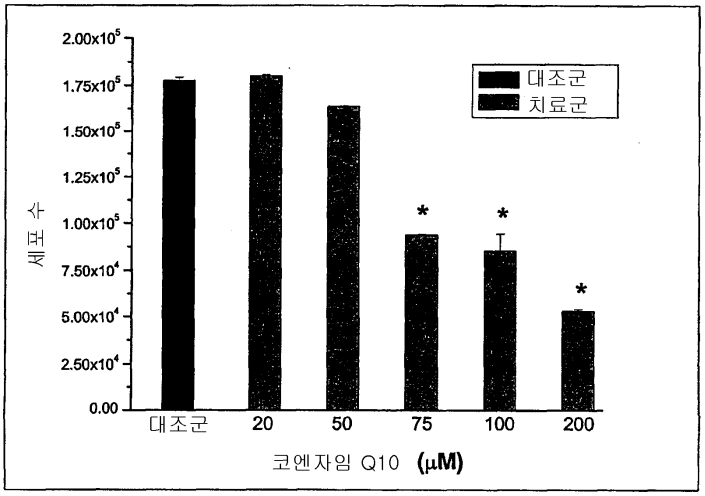


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

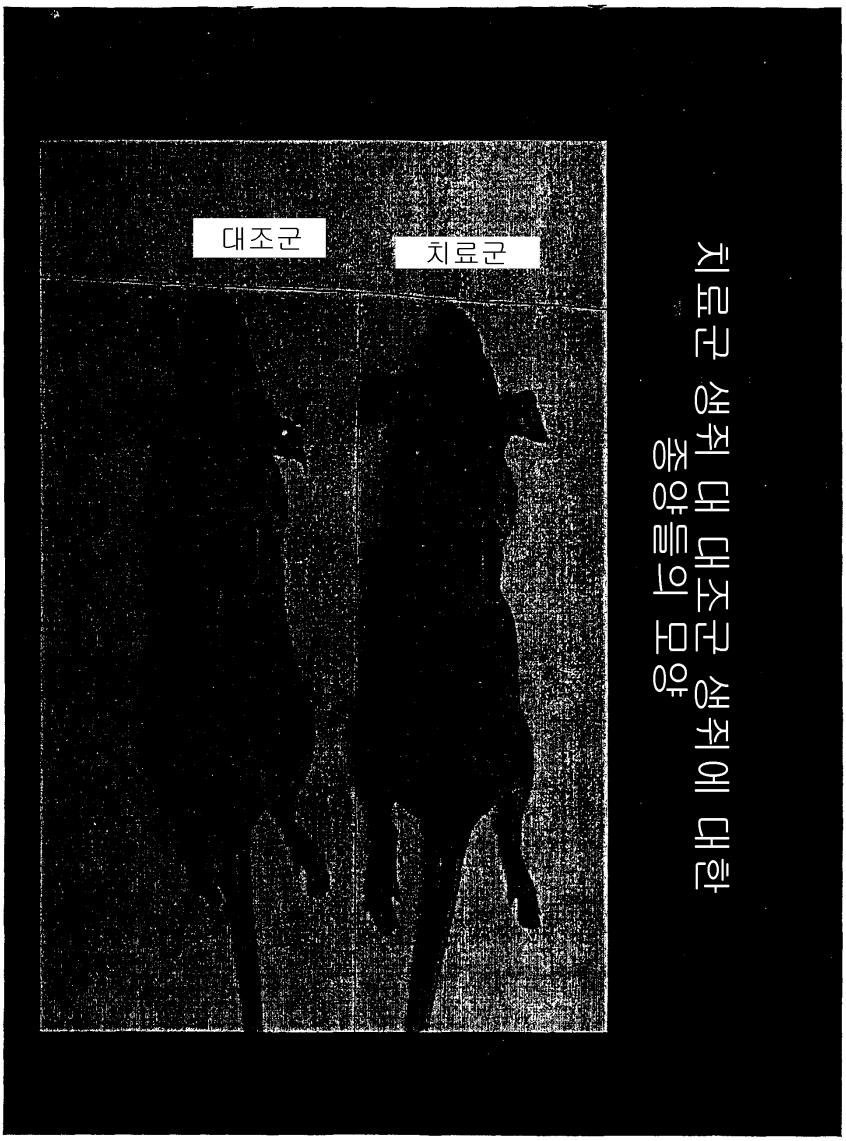
도면10

Rx 효과 인간의 유방 선암 MCF-7 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

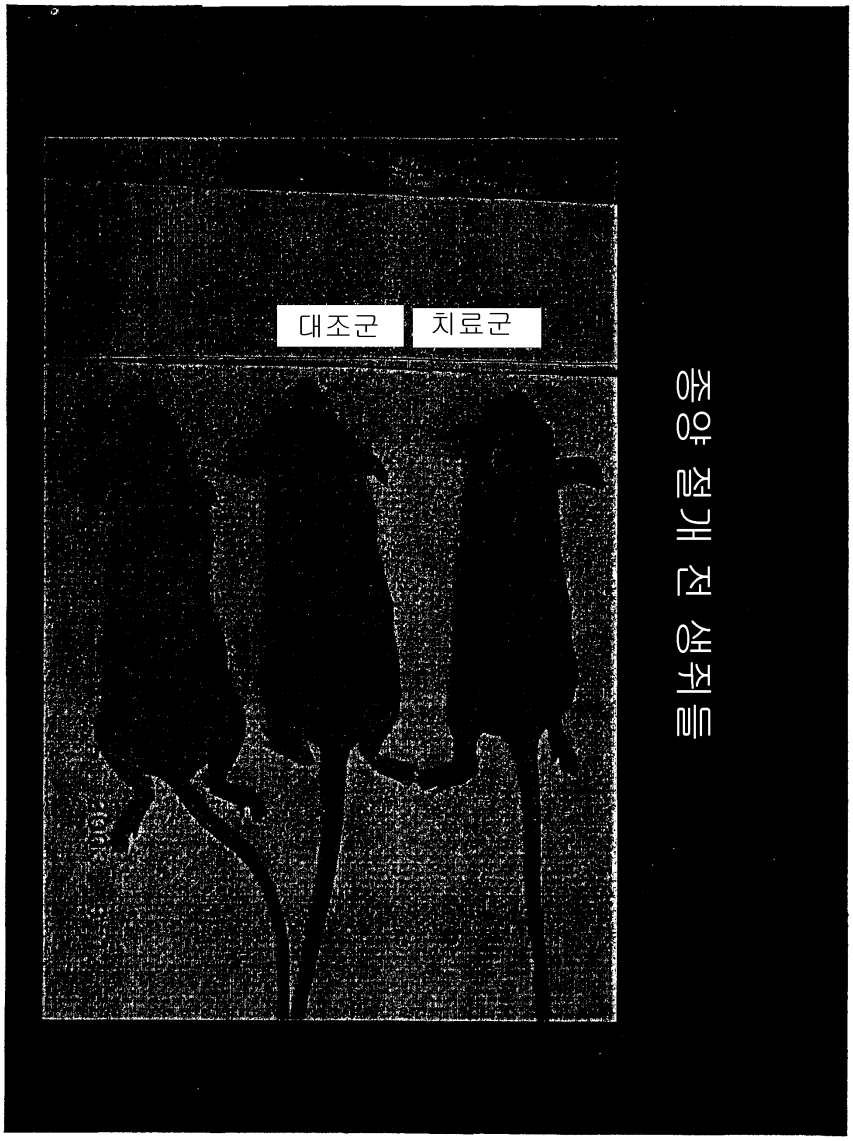


72시간 인큐베이션 후
* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

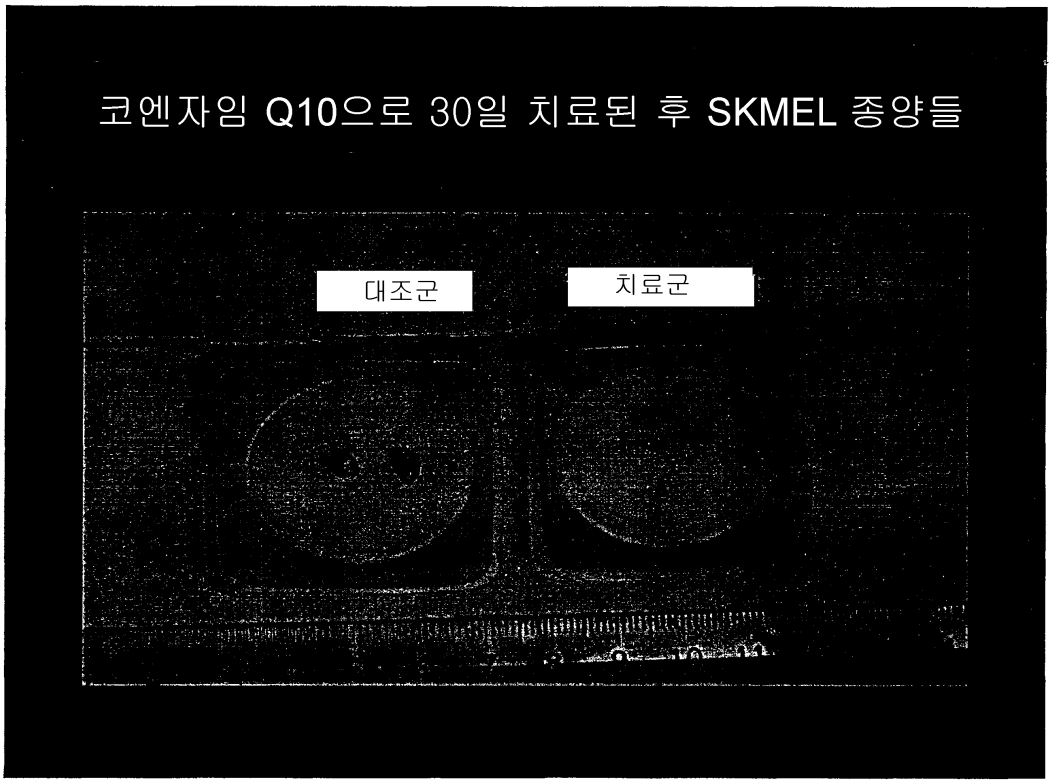
도면11



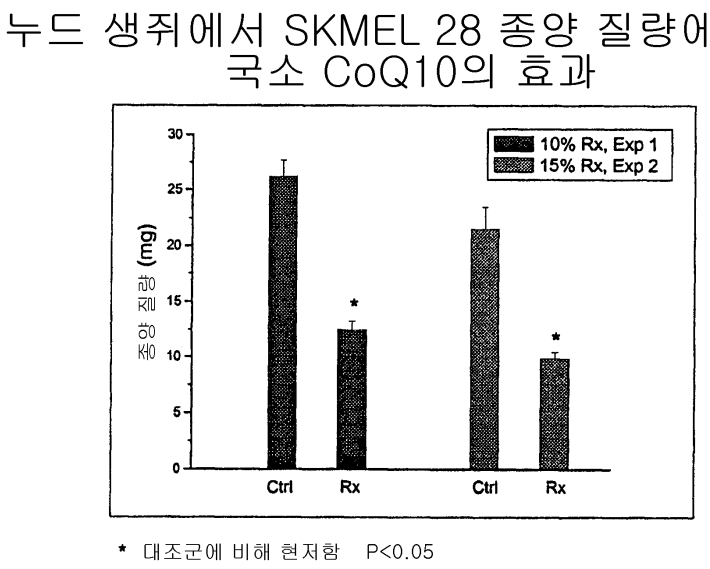
도면12



도면13

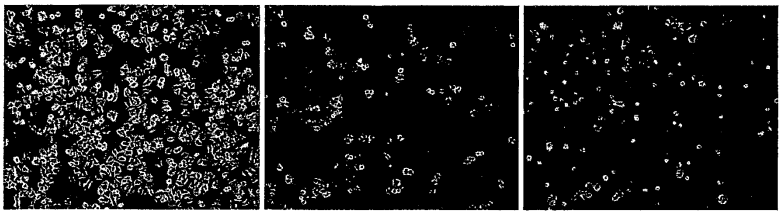

코엔자임 Q10으로 30일 치료된 후 SKMEL 종양들
대조군
치료군

도면14


누드 생쥐에서 SKMEL 28 종양 질량에 대한
국소 CoQ10의 효과
10% Rx, Exp 1
15% Rx, Exp 2
종양 질량 (mg)
30
25
20
15
10
5
0
Ctrl
Rx
Ctrl
Rx
* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면15

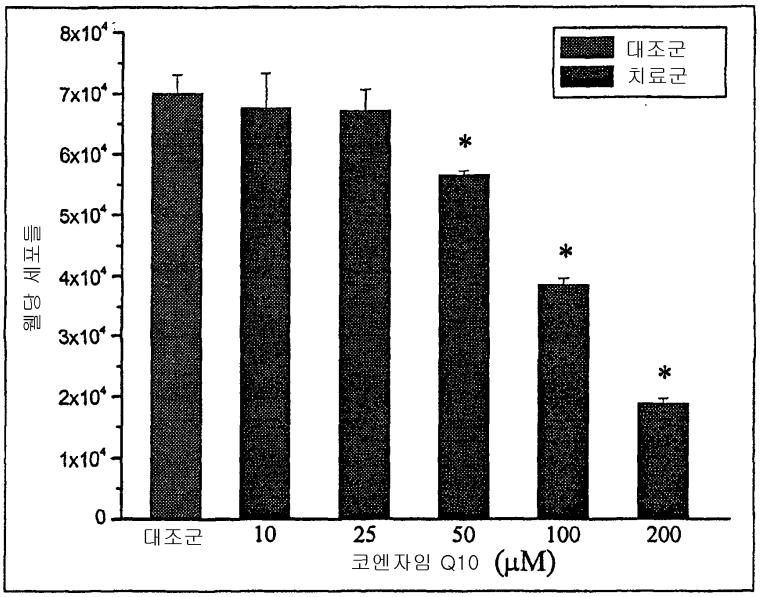
72시간 동안 코엔자임 Q10이 보충된 배지 중에서
인큐베이션된 인간 유방 선암 세포주 SK-BR-3의
시험관 내 연구



대조군 **0 μM CoQ10** **100 μM CoQ10** **200 μM CoQ10**

도면16

유방암 SK-BR-3 세포주에 대한
코엔자임 Q10의 효과

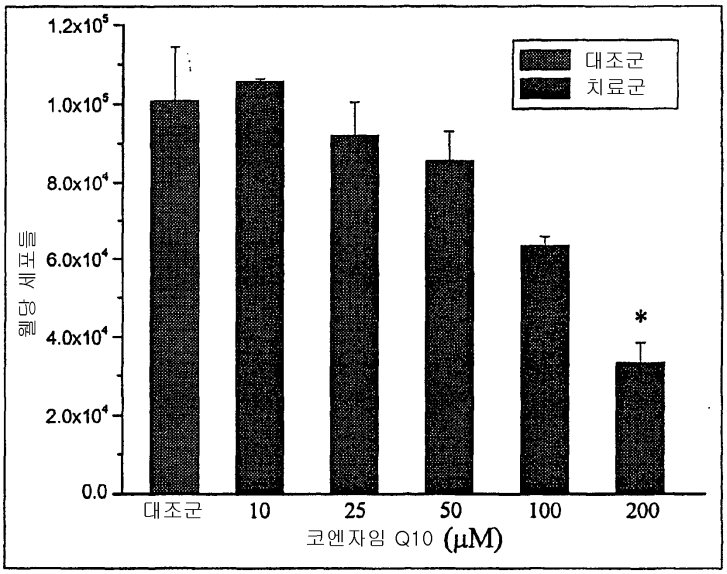


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면17

유방암 SK-BR-3 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

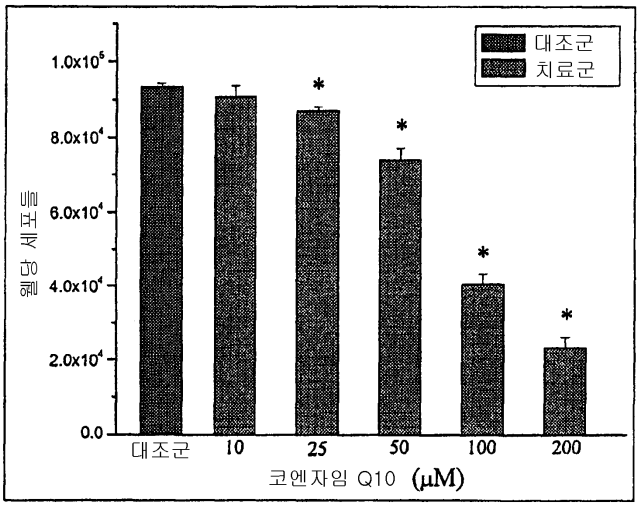


72시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면18

유방암 MDA-MB-468 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

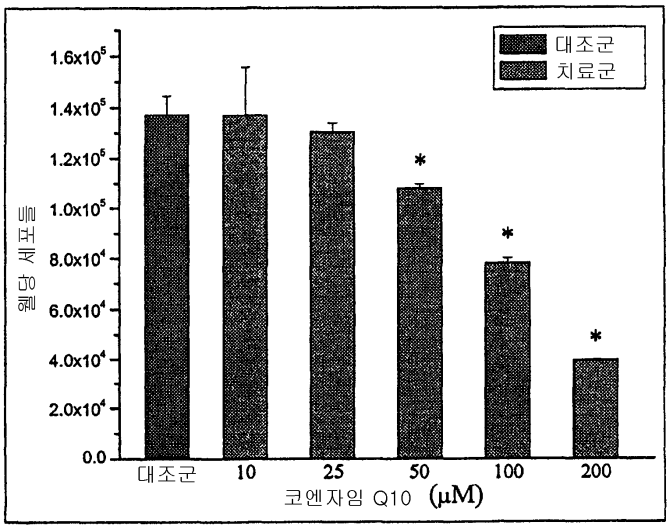


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면19

유방암 MDA-MB-468 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

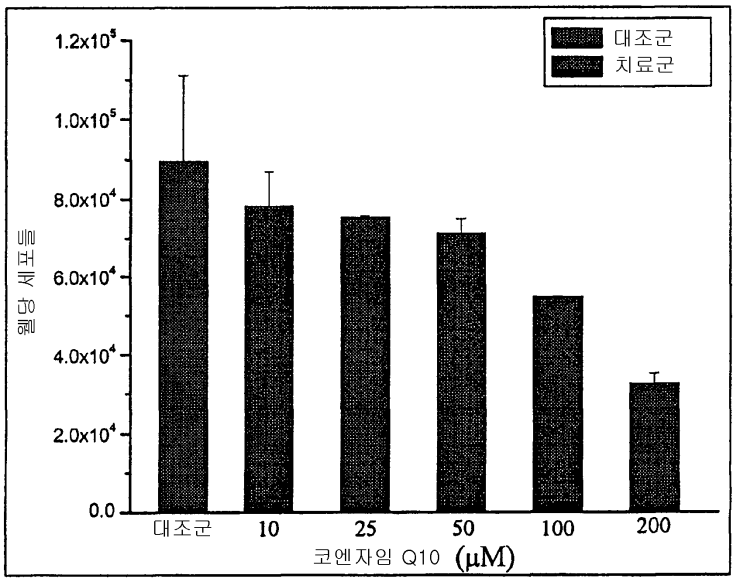


72시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면20

유방암 BT-20 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

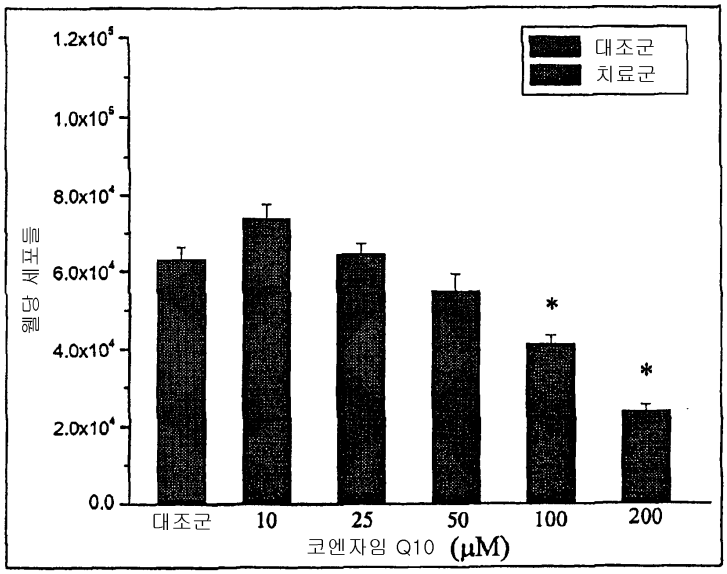


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면21

유방암 BT-20 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

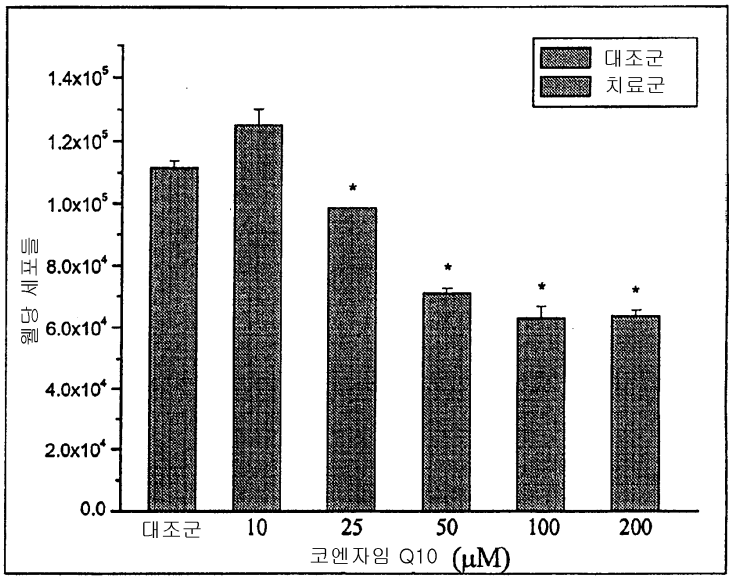


72시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면22

간암 Hep 3B 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

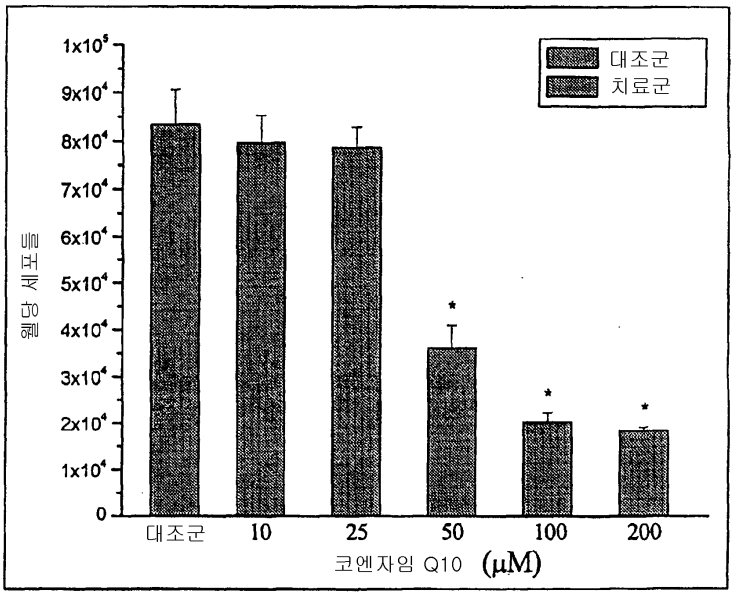


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면23

간암 Hep 3B 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

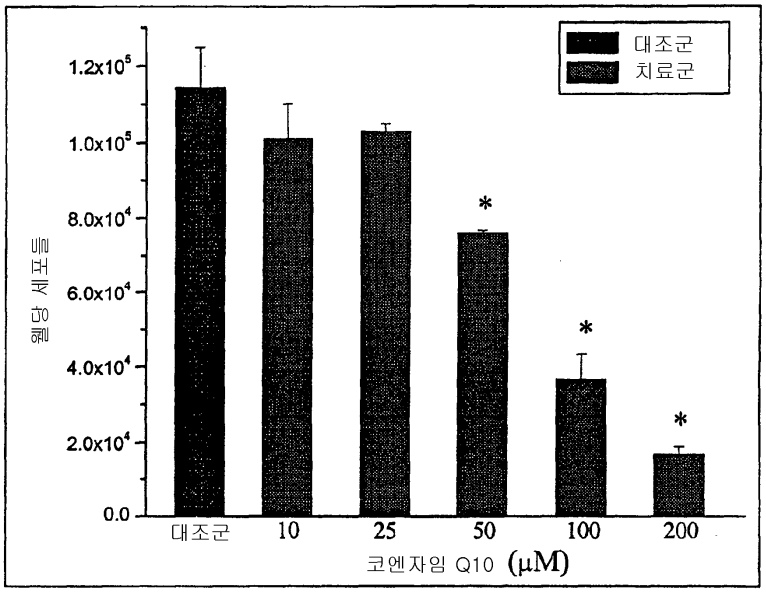


72시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면24

인간 골암 143B 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

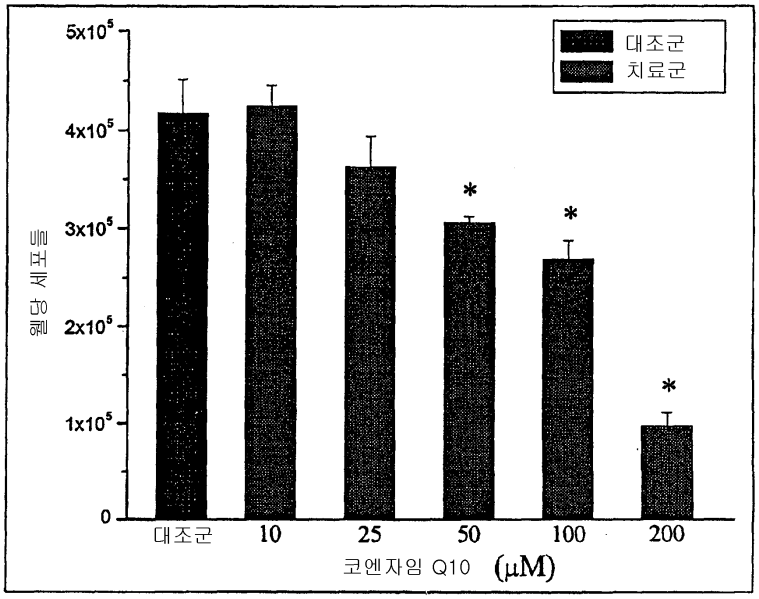


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면25

인간 골암 143B 세포주에 대한
코엔자임 Q10의 효과

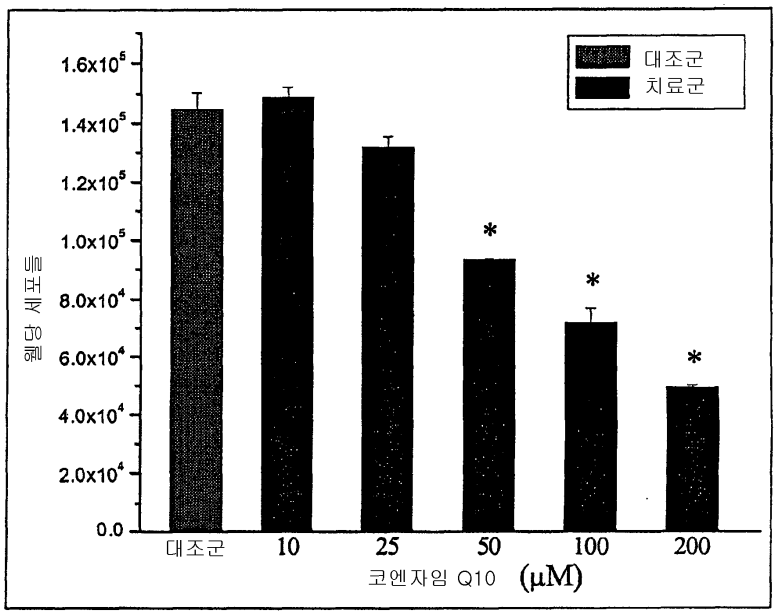


72시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면26

전립선암 PC-3 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

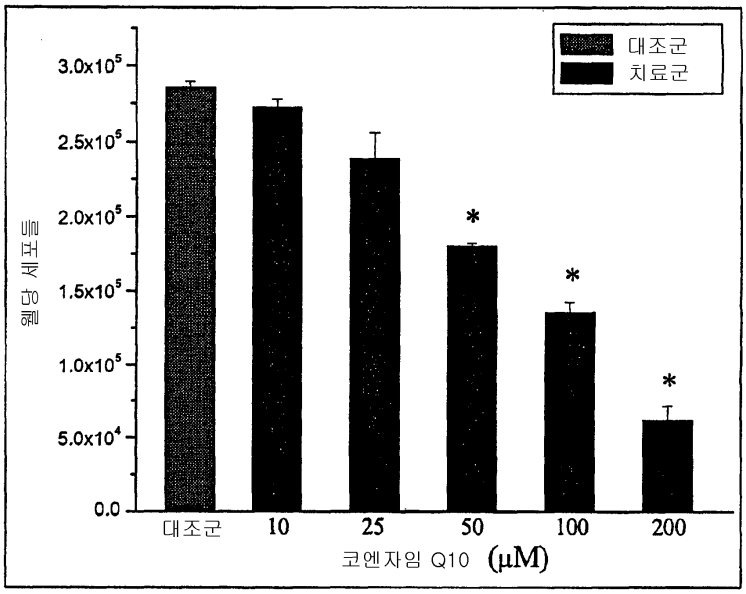


48시간 인큐베이션 후

* 대조군에 비해 현저함 $P<0.05$

도면27

전립선암 PC-3 세포주에 대한 코엔자임 Q10의 효과

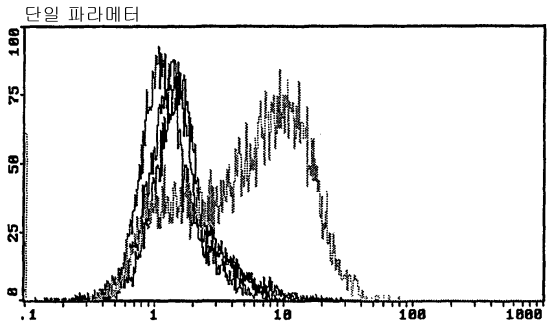


72시간 인큐베이션 후

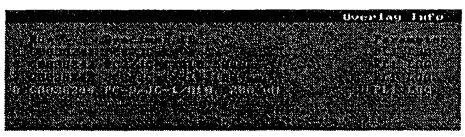
* 대조군에 비해 현저함 P<0.05

도면28

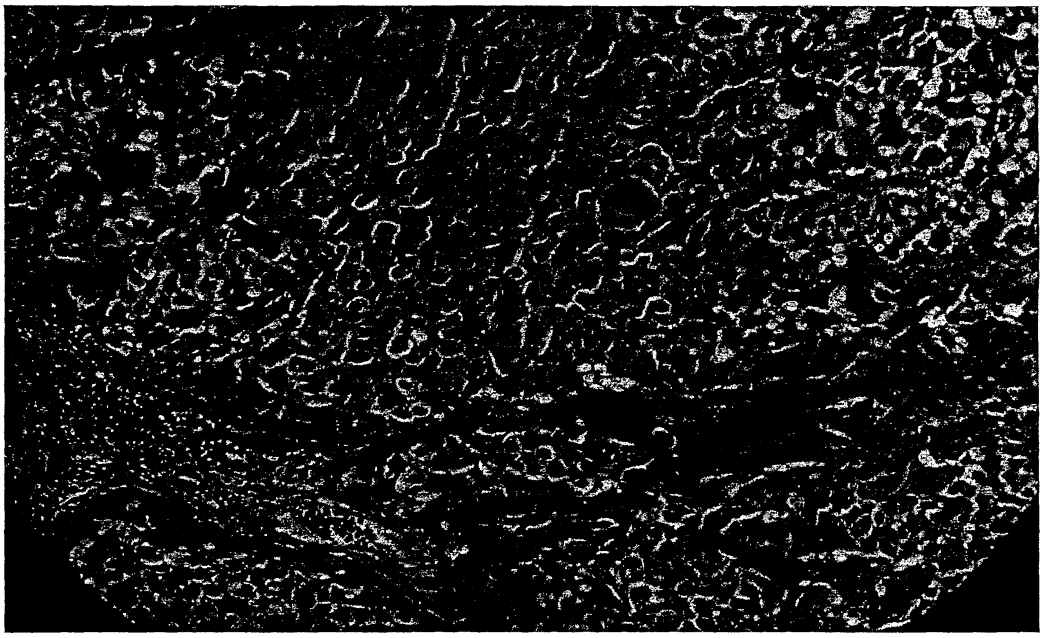
PC-3 세포들에서 Q10 및 미토콘드리아 삼투성: JC-1 섭취율



녹색 편광 로그



도면29A



도면29B

