



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년03월05일
(11) 등록번호 10-1114618
(24) 등록일자 2012년02월02일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/48 (2006.01)
(21) 출원번호 10-1999-7005219
(22) 출원일자(국제) 1997년12월11일
심사청구일자 2002년12월10일
(85) 번역문제출일자 1999년06월11일
(65) 공개번호 10-2000-0069432
(43) 공개일자 2000년11월25일
(86) 국제출원번호 PCT/US1997/022881
(87) 국제공개번호 WO 1998/25642
국제공개일자 1998년06월18일
(30) 우선권주장
08/762,747 1996년12월11일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO 94/15587*
EP 0601799A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
프래시스 파마슈티컬즈 인코포레이티드
미국 메사츄세츠 02139 캄브리지 원 햄프셔 스트리트
(72) 발명자
게프터말콤엘
미국메사츄세츠01773링컨베이크브리지로드46
바커니콜라스
미국메사츄세츠01772사우스버로우이스트브룩팜레인10
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
황광현

전체 청구항 수 : 총 14 항

심사관 : 김문경

(54) 발명의 명칭 LHRH 유사체로 치료할 수 있는 증상을 치료하기 위한 약학적 조성물 및 포장 제형

(57) 요약

본 발명은 펩티드 화합물 (예를들어, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 펩티드의태물등)의 불수용성 복합체를 함유하는 서방성 제제에 관한 것이다. 본 발명의 제제는 고농도의 작은 체적의 펩티드 화합물을 갖도록 하여 복합체 투여 후 장기간, 예를들어 일개월 동안 제약학적 활성 펩티드 화합물을 방출한다. 본 발명의 화합물은 미세 분말로 분쇄 또는 파쇄할 수 있다. 분말 형태에 있어서는, 복합체를 주사에 적합한, 안정한 현탁액과 분산액으로 형성시킬 수 있다. 바람직한 구성으로는, 복합체의 펩티드 화합물이 LHRH 유사체, 바람직하기로는 LHRH 작용제이고, 담체 고분자가 음이온성 중합체, 바람직하게는 카르복시메틸셀룰로오스일 때이다. 또한 LHRH 유사체로 치료가능한 증상을 치료하는 LHRH-유사체-함유 복합체의 사용방법과 본 발명의 복합체의 제조방법에 관한 것이다.

(72) 발명자

무쏘계리

미국메사츄세츠01748홉킨턴프락터스트리트38

폴리니옥스크리스트퍼제이

미국메사츄세츠02146브루클린센터스트리트69

(81) 지정국

AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, GH, SL, YU, ZW, ID, AP(KE, LS, MW, SD, SZ, UG, GH, ZW, GM), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, FI), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG),

특허청구의 범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

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

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

Ac-D-Nal-4-Cl-D-Phe-D-Pal-Ser-N-Me-Tyr-D-Asn-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala 또는 Ac-D-Nal-4-Cl-D-Phe-D-Pal-Ser-Tyr-D-Asn-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala-NH₂ 의 구조를 갖는 LHRH 길항물질, 및 카르복시메틸셀룰로스 및 알긴산염 중에서 선택한 담체 고분자의 이온성 상호작용에 의해 형성이 매개되는 불수용성 복합체를 포함하는, 전립선암, 고환암, 및 양성 전립선 비대증 중에서 선택한 질병을 치료하기 위한 약학적 조성물이되, 여기에서 상기 LHRH 길항물질과 복합되기 전에 상기 담체 고분자는 수용성이고, 상기 복합체 중 LHRH 길항물질의 함량이 57-79 중량 % 인 약학적 조성물.

청구항 92

삭제

청구항 93

제 91 항에 있어서, 상기 복합체는 γ-선 조사로 멸균한 후 안정하게 유지됨을 특징으로 하는 약학

적 조성물.

청구항 94

제 91 항에 있어서, 복합체는 약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 1 주일 동안 상기 피실험자에게 LHRH 길항물질의 서방성을 제공함을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 95

제 91 항에 있어서, 복합체는 약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 2 주일 동안 상기 피실험자에게 LHRH 길항물질의 서방성을 제공함을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 96

제 91 항에 있어서, 복합체는 약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 3 주일 동안 상기 피실험자에게 LHRH 길항물질의 서방성을 제공함을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 97

제 91 항에 있어서, 복합체는 약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 4 주일 동안 상기 피실험자에게 LHRH 길항물질의 서방성을 제공함을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 98

제 91 항에 있어서, 동결건조된 고체 형태임을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 99

제 91 항에 있어서, 상기 불수용성 복합체는 액상 현탁액(liquid suspension)으로서 현탁되거나 또는 반-고체 분산물로서 분산됨을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 100

삭제

청구항 101

제 91 항에 있어서, LHRH 길항물질은 펩티드이며, 여기에서 천연 포유류 LHRH 의 위치 6 의 아미노산에 해당하는 상기 펩티드의 잔기가 D-아스파라긴 구조를 가짐을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

제 91 항에 있어서, 약학적 조성물을 비경구 경로에 의해 피실험자에게 투여함을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 106

제 91 항에 있어서, 약학적 조성물을 경구적으로 피실험자에게 투여함을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 107

제 91 항에 있어서, 약학적 조성물을 근육내 주사 또는 피하/피내 주사에 의해 피실험자에게 투여함을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 108

Ac-D-Nal-4-Cl-D-Phe-D-Pal-Ser-N-Me-Tyr-D-Asn-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala 의 구조를 갖는 LHRH 길항물질, 및 카르복시메틸셀룰로스의 이온성 상호작용에 의해 형성이 매개되는 불수용성 복합체를 포함하며, 전립선암, 고환암, 및 양성 전립선 비대증 중에서 선택한 질병을 갖는 피실험자를 치료하는 상기 복합체를 사용하기 위한 설명서와 함께 포장한, 전립선암, 고환암, 및 양성 전립선 비대증 중에서 선택한 질병을 갖는 피실험자를 치료하기 위한 포장 제형(packaged formulation)이되, 여기에서, 상기 복합체 중 LHRH 길항물질의 함량이 57-79 중량 % 인 포장 제형.

청구항 109

삭제

청구항 110

루멘에 Ac-D-Nal-4-Cl-D-Phe-D-Pal-Ser-N-Me-Tyr-D-Asn-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala 의 구조를 갖는 LHRH 길항물질, 및 카르복시메틸셀룰로스의 이온성 상호작용에 의해 형성이 매개되는 불수용성 복합체의 액상 현탁액을 포함하는, 상기 루멘을 갖는 주사기이되, 여기에서, 상기 복합체 중 LHRH 길항물질의 함량이 57-79 중량 % 인 주사기.

청구항 111

삭제

명세서

배경기술

[0001] 여러가지 질환과 임상적 질병은 제약학적 활성 펩티드를 투여하여 치료한다. 이와같은 예의 하나는 전립선 암이 있는데, 이는 성호르몬 의존형 암으로서 남성 호르몬의 합성을 조절하는, 황체 형성 호르몬(LH)의 생성을 저해하는 황체 형성 호르몬 방출 호르몬(LHRH) 유사체를 투여하여 치료할 수 있다. 특히, LH 생성을 감소시키기 위하여, 류프롤라이드와 고세레린과 같은, 황체형성 호르몬 방출 호르몬 수용체의 초작용제(superagonist)로서 작용하는 LHRH 의 펩티드 유사체를 사용한다.

[0002] 여러가지 경우에, 제약학적 활성 펩티드의 치료적 효과는 장기간동안 생체내에 계속적으로 존재하는데 따른다. 생체내에서 펩티드를 계속적으로 방출하기 위하여는 반복적 투여의 필요성을 피하여 서방성 또는 지효성 제제가 바람직하다. 서방성 약제에 대한 한가지 방법은 마이크로 캡슐화에 의한 것이 있는데, 이는 활성 성분을 중합체 막으로 봉하여 미세입자로 만드는 것이다. 예를들면, 대표적으로 류프롤라이드와 고세레린과 같은, LHRH 초작용제를 폴리-락티드/폴리-글리코리드 공중합체를 함유하는 미세입자로 캡슐화하여 몇 주 내지 몇 개월 이상으로 초작용제의 서방성을 제공하는 축적주사(depot injection)에 적합한 제제를 만든다(참조, 예를들어 미국특허 제 4,675,189 호 ; 제 4,677,191 호 ; 제 5,480,656 호와 제 4,728,721 호).

[0003] 장기간동안 계속적으로 생체내에 제약학적 활성 펩티드를 투여하기 위해서는 부가적 서방성 제제가 필요하다.

[0004] 발명의 요약

[0005] 본 발명은 펩티드 화합물(예를들어, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 펩티드의태물 등), 바람직하게는 제약학적 활성 펩티드 화합물과, 복합체 투여 후 생체내에서 펩티드 화합물이 서방성을 갖도록하는 담체 고분자로 이루어지는 안정한 불수용성 복합체를 함유하는 제약학적 조성물을 제공한다. 따라서, 본 발명의 복합체는 장기간, 예를들어 일 개월 동안 피실험자에게 제약학적 활성 펩티드 화합물을 계속적으로 방출할 수 있다. 더욱이, 펩티드 화합물과 담체 고분자가 조밀하고 안정하게 복합되면, 제제내에 고농도로 펩티드 화합물이 함유된다.

[0006] 본 발명의 복합체는 실제로 불수용성 복합체를 형성하는 조건하에서 펩티드 화합물과 담체 고분자를 조합하여 형성시키며, 예를들면 펩티드 화합물과 담체 고분자의 수용액을 복합체가 침전할 때까지 혼합한다. 복합체는 고체(예를들어, 페이스트, 과립, 분말 또는 동결건조체)의 형태로 할 수 있고 또는 복합체의 분말 형태는 충분히 미세하게 분쇄하여 안정한 현탁액 또는 반-고체 분산물로 형성시킬 수 있다.

[0007] 바람직한 구성에서는, 불수용성 복합체의 펩티드 화합물이 LHRH 유사체, 더 바람직하게는 LHRH 길항 물질이고, 담체 고분자가 음이온성 중합체, 바람직하게는 카르복시메틸셀룰로오스일 때이다. 본 발명의 복합체는 생체내에 투여하기전에 감마선 조사, 또는 전자 빔 조사에 의하여 살균하는데 적합하다.

[0008] 또한 본 발명의 LHRH - 유사체 - 함유 조성물을 피실험자에게 투여하여 LHRH 유사체로 치료할 수 있는 증상을 갖는 피실험자를 치료하는 방법을 제공한다. 바람직한 구성으로는, 본 발명의 치료방법을 전립선 암을 치료하는데 사용하는 것이다.

발명의 상세한 설명

[0014] 본 발명은 펩티드 화합물(예를들어, 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 펩티드의태물 등)과 담체 고분자로 이루어지는 안정한 불수용성 복합체를 함유하는 제약학적 조성물, 이러한 조성물의 제조방법과 이러한 조성물의 사용방법에 관한 것이다. 본 발명의 제약학적 조성물의 장점은 장기간(예를들어, 몇 주, 일 개월 또는 몇 개월)동안, 전신 또는 국부적으로 제약학적 활성 펩티드 화합물을 방출하는 능력과 고농도의 펩티드 화합물을 복합체에 함유되도록 하는 능력에 있다.

[0015] 본 발명을 더 쉽게 이해시키기 위하여, 먼저 용어를 정의한다.

[0016] 여기서 사용된 "펩티드 화합물" 이란 용어는 아미드 결합(즉 펩티드 결합)에 의하여 연결된 최소한 부분의 아미노산 잔기로 이루어진 화합물을 뜻한다. "펩티드 화합물"에는 펩티드, 폴리펩티드와 단백질이 있다. 대표적으로 펩티드는 약 100 개 이하의 아미노산, 특히 약 50 개 이하의 아미노산 잔기, 더욱이 약 25 개 이하의 아미노산 잔기로 이루어진다. 또한 "펩티드 화합물"에는 자연-발생 아미노산으로 이루어진 펩티드의 화학 구조를 흉내내는 펩티드의태물, 펩티드 유사체와 펩티드 유도체가 있다. 펩티드 유사체의 예를들면 하나 또는 그 이상의 비-천연 아미노산을 함유하는 펩티드가 있고, 펩티드 유도체의 예를들면 아미노산 측쇄, 펩티드 골격 또는 아미노-또는 카르복시-말단이 유도되는 펩티드(예를들어 메틸화 아미드 연결을 갖는 펩티드 화합물)가 있다. 펩티드의 태물의 예를들면 펩티드 골격이 하나 또는 그 이상의 벤조디아제핀 분자로 치환된 펩티드 화합물이 있다(참조, 예를들어 제임스, 지.엘. 등(1993), Science 260 ; 1937-1942). 모든 L-아미노산이 대응하는 D-아미노산으로 치환된 "inverso" 펩티드, 아미노산 서열이 역으로 되고("retro"), 모든 L-아미노산이 D-아미노산으로 대체되는("inverso") "retro-inverso" 펩티드와, 펩티드 골격(즉 아미드 결합)의태물과 같은 등배전자체에는 아미드질소, α -탄소, 아미드카르보닐, 아미드결합의 완전한 치환, 확대, 삭제 또는 골격 교차 결합의 변형을 포함한다. 몇가지 펩티드 골격 변형은 알려져 있으며, $\Psi[\text{CH}_2\text{S}]$, $\Psi[\text{CH}_2\text{NH}]$, $\Psi[\text{CSNH}_2]$, $\Psi[\text{NHCO}]$, $\Psi[\text{COCH}_2]$ 와, $\Psi[(\text{E}) \text{ 또는 } (\text{Z}) \text{CH}=\text{CH}]$ 가 있다.

상기 사용된 술어에서, Ψ 는 아마이드 결합이 없는 것을 나타낸다. 아마이드기를 치환한 구조는 괄호내에 명시한다. 기타 가능한 변형에는 N-알킬(또는 아릴)치환 (4[CONR]), 락탐을 구성하는 골격 교차 결합과 기타 고리 구조가 있고, 다른 유도체에는 C-말단 히드록시 메틸 유도, O-변형유도체와 알킬 아마이드와 히드라지드와 같은 치환된 아마이드를 포함하는 N-말단 변형 유도체가 있다.

[0017] 여기서 사용된, "제약학적 활성 펩티드 화합물"이란 용어는 생체내에 존재하는 형태로 아니면 처리에 따라 약리학적 활성을 나타내는 펩티드 화합물을 뜻하며(즉, 제약학적 활성 펩티드 화합물에는 구조적인 약리학적 활성을 갖는 펩티드 화합물과 약리학적 활성을 나타내기 위하여 투여한 다음 생체내에서 몇가지 방법으로 대사기키거나 또는 처리되는 "약물전구체" 형태의 펩티드 화합물이 있다).

[0018] 여기서 사용된 "다가 양이온 펩티드 화합물" 과 "다가 음이온 펩티드 화합물" 이란 용어는 각각 양전하 또는 음전하의 다양성을 갖는 펩티드 화합물을 뜻한다. "이가 양이온" 또는 "이가 음이온" 펩티드 화합물이란 각각 두 양전하 또는 음전하를 갖는 펩티드 화합물을 뜻한다. "삼가 양이온" 또는 "삼가 음이온" 펩티드 화합물이란 각각 세개의 양전하 또는 음전하를 갖는 펩티드 화합물을 뜻한다.

[0019] 여기서 사용된 "LHRH 유사체" 란 용어는 황체형성 호르몬 방출 호르몬의 구조를 흉내내는 펩티드 화합물을 뜻한다. LHRH 유사체에는 LHRH 작동제 또는 LHRH 길항물질이 있다.

[0020] 여기서 사용된 "LHRH 작동제" 는 황체형성 호르몬의 방출을 자극하는 황체형성 호르몬 방출 호르몬 수용체(LHRH-R)를 자극하는 화합물을 뜻하고, 또는 "LHRH 길항물질" 은 황체형성 호르몬의 방출을 억제하는 LHRH-R 을 억제하는 화합물을 뜻한다. LHRH 작동제의 예를들면 류프롤라이드(상품명 : Lupron[®] ; 아보트/TAP), 고세레린(상품명 : Zoladex[®] ; 제네카), 부세레린(획스트), 트리프로테린(데카펩틸, D-Trp-6-LHRH 와 Debiopharm[®] ; 입셀/비유포어), 나파레린(상품명 Synarel[®] ; 신텍스), 루트레린(위에트), 시스토레린(획스트), 고나도레린(아이엘스트)과 히스트레린(오르토)이 있다.

[0021] 여기서 사용된 "LHRH 길항물질" 이란 용어는 황체형성 호르몬의 방출을 억제하는 황체형성 호르몬 방출 호르몬 수용체를 억제하는 화합물을 뜻한다. LHRH 길항물질의 예를들면 안타이드(Antide), Cetrorelix, 폴커스 등의 미국특허 제 5,470,947 호 ; 폴커스 등의 PCT 공고번호 WO 89/01944 ; 하비브의 미국특허 제 5,413,990 호 ; 하비브의 미국특허 제 5,300,492 호 ; 코엘버 등의 미국특허 제 5,371,070 호 ; 호에거 등의 미국특허 제 5,296,468 호 ; 자나키 등의 미국특허 제 5,171,835 호 ; 코이 등의 미국특허 제 5,003,011 호 ; 코이의 미국특허 제 4,431,635 호 ; 디 등의 미국특허 제 4,992,421 호 ; 로에스크의 미국특허 제 4,851,385 호 ; 네스토어 제이알. 등의 미국특허 제 4,801,577 호와 로에스크 등의 미국특허 제 4,689,396 호에 기재된 화합물과 미국 출원번호 08/480,494 명칭 "LHRH 길항물질 펩티드" 와 이의 해당 PCT 출원(PCT 출원번호 PCT/US96/09852), 명칭 "LHRH 길항물질 펩티드" 에 기재된 화합물이 있고, 이들 둘의 전체 내용은 특히 참고적으로 본원에 인용되어 있다. 특히 바람직한 LHRH 길항물질은 다음 구조를 가지며 : Ac-D-Nal¹, 4-Cl-D-Phe², D-Pal³, N-Me-Tyr⁵, D-Asn⁶, Lys(iPr)⁸, D-Ala¹⁰-LHRH, 여기서 PPI-149 로서 언급된다.

[0022] 여기서 사용된 "담체 고분자" 란 용어는 펩티드 화합물과 부합하여 불수용성 복합체를 형성할 수 있는 고분자를 뜻한다. 펩티드 화합물과 복합하기 전에, 대체적으로 담체 고분자는 수용성이다. 바람직하기로는, 고분자가 최소한 5 KDa, 바람직하기로는 10 KDa 의 분자량을 갖는 것이다. "음이온 담체 고분자" 란 음이온성 중합체와 같은 음전하된 고분자량의 분자를 뜻한다.

"양이온 담체 고분자"란 양이온성 중합체와 같은, 양전하된 고분자량의 분자를 뜻한다.

[0023] 여기서 사용된 "불수용성 복합체(water-insoluble complex)"란 용어는 본원에 기재된 공정에 따라 펩티드 화합물과 담체 고분자를 적당하게 조합하여 형성된 물리적 및 화학적으로 안정한 복합체를 뜻한다. 이 복합체는 대체로 펩티드 화합물과 담체 고분자의 수성 제제형을 조합하여 제조되는 침전물 형태를 취한다. 본 발명의 바람직한 불수용성 복합체의 형성은, 메카니즘에 의하여 한정되는 것은 아니지만, 펩티드 화합물이 양이온성이고 담체 분자가 음이온성이거나 또는 그 반대인 상태에서의 이온성 상호작용(ionic interactions)과 관련된 것으로(즉, 적어도 부분적으로 매개됨) 생각된다. 부가적으로 또는 선택적으로, 본 발명의 불수용성 복합체의 형성은 소수성 상호작용(hydrophobic interactions)과 관련될 수 있다(즉, 적어도 부분적으로 매개됨). 또한, 본 발명의 불수용성 복합체의 형성은 공유결합 상호작용(covalent interactions)과 관련될 수 있다(즉, 적어도 부분적으로 매개됨). "불수용성"인 복합체의 설명은 복합체가 수용액에서 침전을 나타내는 것과 같이, 물에 실질적으로 또는 쉽게 용해되지 않는 것을 나타낸다. 그러나, 본 발명의 "불수용성" 복합체는 시험관내 또는 생체내의 수성 생리적 환경에서 물에 대하여 제한된 용해도(즉, 부분적 용해도)를 나타내는 것으로 이해되어야 한다.

[0024] 여기서 사용된 "서방성"이란 용어는 투여한 다음의 기간, 바람직하게는 최소한 수일, 한주일 또는, 수주일 동안 생체내에 약제를 계속적으로 방출하는 것이다. 약제의 서방성은 예를들어, 시간 이상으로 약제의 계속적인 치료 효과에 의하여 증명될 수 있다(예를들면, LHRH 유사체에 있어서, 유사체의 서방성은 시간 이상으로 테스토스테론 합성의 계속된 억제에 의하여 증명될 수 있다). 또한, 약제의 서방성은 시간 이상으로 약제의 존재를 검출함으로써 증명될 수 있다.

[0025] 여기서 사용된 "피실험자"란 용어는, 온혈동물, 바람직하게로는 포유류, 더 바람직하게는 영장류, 가장 바람직하게는 사람을 뜻한다.

[0026] 여기서 사용된 "피실험자에 투여"란 용어는 비경구 또는 경구 방법, 근육내 주사, 피하/내피 주사, 정맥주사, 구강 투여, 경피 방출과 직장, 결장, 질, 코내 또는 호흡기관 경로에 투여에 의한 방출을 포함하며, 피실험자의 원하는 위치에 조성물을 방출하는 적당한 방법에 의하여 피실험자에게 조성물(예를들어 제약학적 제제)를 분배시키거나 방출하거나 사용하는 것을 뜻한다.

[0027] 여기서 사용된 "LHRH 유사체로 치료할 수 있는 증상"이란 용어는 LHRH 작동제 또는 LHRH 길항물질의 투여로 원하는 효과, 예를들어 치료적으로 유익한 효과를 갖는 질환, 질병과 기타 증상을 뜻한다. LHRH 유사체로 치료할 수 있는 증상의 예를들면 호르몬-의존형 암(전립선암, 유방암, 난소암, 자궁암과 고환암), 양성 전립선 비대증, 성조발증, 자궁내막증, 자궁유섬유종, 불임증(생체의 임신으로)과 수정능력(즉, 피임제 사용)이 있다.

[0028] 본 발명의 하나의 양상은 약학적 활성 펩티드 화합물과 담체 고분자의 불수용성 복합체를 함유하는 약학적 조성물에 관한 것이다. 바람직한 실시형태에 있어서, 불수용성 복합체의 형성은 약학적 활성 펩티드와 담체 고분자 사이의 이온성 상호작용에 의하여 적어도 일부분으로 조절된다. 이러한 실시형태에서는, 약학적 활성 펩티드 화합물이 양이온성이고 담체 고분자가 음이온성이거나 또는 약학적 활성 펩티드 화합물이 음이온성이고 담체 고분자가 양이온성이다. 다른 실시형태에서는, 불수용성 복합체의 형성이 약학적 활성 펩티드 화합물과 담체 고분자 사이의 소수성 상호작용에 의하여 적어도 일부분으로 조절된다. 바람직한 실시형태에서는, 복합체에 사용된 펩티드 화합물은 이가 또는 삼가 양이온성 펩티드 화합물과 같은 다가 양이온성 펩티드 화합물이고, 담체 고분자는 음이온성 고분자이다.

[0029] 본 발명의 제약학적 조성물은 피실험자에게 조성물을 투여한 후 생체내에서 피실험자에게 펩티드 화합물을 서방하고, 여기서 서방 기간은 복합체를 형성하는 데 사용되는 펩티드 화합물과 담체 고분자의 농도에 따라 변경될 수 있다. 예를들면, 한 구성에 있어, 단일 투약량의 불수용성 복합체는 제약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 최소한 일주일 동안 피실험자에게 펩티드 화합물의 서방성을 제공한다. 다른 구성에 있어서, 단일 투약량의 불수용성 복합체는 제약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 최소한 두주일 동안 피실험자에게 펩티드 화합물의 서방성을 제공한다. 또다른 구성에 있어서, 단일 투약량의 불수용성 복합체는 제약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 최소한 삼주일 동안 피실험자에게 펩티드 화합물의 서방성을 제공한다. 또다른 구성에 있어서, 단일 투약량의 불수용성 복합체는 제약학적 조성물을 피실험자에게 투여한 후 최소한 4 주일 동안 피실험자에게 펩티드 화합물의 서방성을 제공한다. 또한 1 일, 1 - 7 일, 1 개월, 2 개월, 3 개월 등 동안 계속적 방출을 제공하는 제제와 같이, 더 길거나 더 짧은 기간 동안 서방성을 제공하는 제제도 본 발명에 포함된다. 수개월의 기간 동안 펩티드 화합물을 계속적으로 방출하는 것은 예를들어 매일 투약을 반복하여 성취할 수 있는데, 각 투약은 약 일개월 동안 펩티드 화합물의 서방성을 제공한다(참조, 예를들어 실시예 14).

[0030] 펩티드 화합물이 펩티드 화합물과 담체 고분자의 조합에 따라 담체 고분자를 갖는 불수용성 비공유가 복합체를 형성하는 능력을 갖는 한 어떠한 크기의 펩티드 화합물도 복합체에 사용하는 데 적합하다. 그러나, 바람직한 구성으로는 펩티드 화합물이 약 5 내지 약 20 개 아미노산 같이, 약 8 내지 약 15 개 아미노산 길이 또는 약 8 내지 약 12 개 아미노산 길이를 갖는 펩티드일 때이다. 여러가지 제약학적 활성 펩티드를 제제에 사용할 수 있으며 이들의 비제한적인 예를들면, LHRH 유사체 (하기에 더 설명), 브라디키닌 유사체, 부갑상선 호르몬, 선종 부신피질자극 호르몬 (ACTH), 칼시토닌과 바소프레신 유사체(예를들어, 1-테아미노-8-D-알기닌 바소프레신(DDAVP))가 있다.

[0031] 여러가지 담체 고분자가 본 발명의 불수용성 복합체의 형성에 적합하지만, 바람직한 고분자는 중합체, 바람직한 수용성 중합체이다. 바람직한 구성에 있어서, 담체 고분자는 음이온성 폴리알코올 유도체, 또는 이의 단편 및 이의 염(예를들어 나트륨염)과 같은 음이온성 중합체가 있다. 다가알코올을 유도할 수 있는 음이온성 부분은, 예를들면 카르복실레이트, 인산염 또는 황산염이 있다. 특히 바람직한 음이온성 중합체는 음이온성 다당류 유도체, 또는 이의 단편과 이의 염(예를들어, 나트륨염)이 있다. 담체 고분자는 단일 분자종(예를들어 단일형의 중합체) 또는 둘 또는 그 이상의 다른 분자종(예를들어 두 형의 중합체의 혼합물)이 있다. 특수한 음이온성 중합체의 예를들면 카르복시메틸셀룰로오스, 알긴, 알긴산염, 음이온성 초산염 중합체, 음이온성 아크릴 중합체, 크산탐 검, 나트륨전분 글리콜레이트와 이들의 단편, 유도체와 제약학적으로 수용할 수 있는 염 및 음이온성 카라기난 유도체, 음이온성 폴리갈락투론산 유도체와, 황산화 및 술폰산화된 폴리스티렌 유도체가 있다. 음이온성 중합체는 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨염이 바람직하다. 양이온성 중합체의 예를들면 폴리-L-리신과 기타 염기성 아미노산의 중합체가 있다.

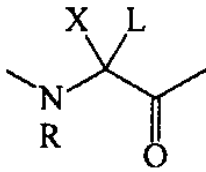
[0032] 본 발명의 특히 바람직한 구성으로는, 불수용성 복합체의 펩티드 화합물이 LHRH, 예를들어 LHRH 작동제 또는 더 바람직하기로는 LHRH 길항물질일 때이다. 이와 같은 LHRH 유사체는 대표적으로 10 개 아미노산 길이가 있다. 바람직한 LHRH 길항물질에는 천연 포유류 LHRH 의 위치 6 에서 아미노산에 해당하는 펩티드 화합물의 잔기가 D-아스파라긴(D-Asn) 구조를 갖는, 펩티드 화합물을 함유하는 LHRH 길항물질이 있다. 여기서 사용된 "D-아스파라긴 구조"란 용어는 D-Asn 과 D-Asn 의 기능적 활성을 보유하는 이의 유사체, 유도체와 의태물임을 뜻한다. 다른 바람직한 길항물질에는 다음 구조를 갖는 펩티드 화합물을 함유하는 LHRH 길항물질 또는 이의 제약학적으로 용인 가능한 염이 있다 : A-B-C-D-E-F-G-H-I-J

[0033] 여기서,

[0034] A 는 pyro-Glu, Ac-D-Nal, Ac-D-Qal, Ac-Sar 또는 Ac-D-Pal 이고,

[0035] B 는 His 또는 4-Cl-D-Phe 이고,

- [0036] C 는 Trp, D-Pal, D-Nal, D-Pal(N-O) 또는 D-Trp 이고,
 [0037] D 는 Ser 이고,
 [0038] E 는 N-Me-Ala, Tyr, N-Me-Tyr, Ser, Lys(iPr), 4-Cl-Phe, His, Asn, Met, Ala, Arg 또는 Ile 이고 ;



- [0039] F 는 이고

- [0040] 여기에서
 [0041] R 과 X 는 독립적으로 H 또는 알킬이고 ;
 [0042] L 은 비교적 극성인 부분을 포함하며 ;
 [0043] G 는 Leu 또는 Trp 이고 ;
 [0044] H 는 Lys(iPr), Gln, Met 또는 Arg 이고,
 [0045] I 는 Pro 이고 ;
 [0046] J 는 Gly-NH₂ 또는 D-Ala-NH₂ 이다.

- [0047] "비교적 극성인 부분(small polar moiety)" 이란 용어는 작은 입체 벌크(small steric bulk)를 갖고 비교적 극성을 나타내는 부분을 뜻한다. 극성은 P 스케일에 의하여 친수성으로 측정한다. 1-옥탄올과 물 사이의 분배계수(partition coefficient), P 는 화합물의 친수성을 측정하는 데 기준으로 사용된다. 친수성은 log P, 분배 계수의 로그로 표현될 수 있다[Hansch 등의 Nature 194 : 178(1962) ; Fujita 등의 J. Am. Chem. Soc. 86 : 5175(1964) 참조]. 여러 분자의 친수성 기준표와 여러 기능기의 친유성(소수성) 치환기 상수(π 표시)를 작성한다[참조, 예를 들어, Hansch 및 Leo 의 "Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology", 뉴욕 뉴욕 소재의 윌리(1979)]. 광범위한 후보 친수성 부분의 친수성은 이들 표의 도움으로 아주 정확하게 예측할 수 있다. 예를 들면, 나프탈렌의 측정된 log P(옥탄올/물) 는 3.45 이다. -OH 의 치환기 상수 p 는 -0.67 이다. 그러므로, β -나프톨에 대해 예측되는 log P 는 3.45+(-0.67)=2.78 이다. 이 값은 β -나프톨에 대해 2.84 로 측정된 log P 와 거의 일치한다. 본원에서 사용된 "비교적 극성인 부분" 이란 용어는 -1 과 +2 사이의 log P 를 갖는 부분 및 Trp 의 입체 벌크(steric bulk) 보다 작은 입체 벌크를 뜻한다.

- [0048] 어떠한 실시형태에 있어서, F 가 D-Cit, D-Hci 또는 D-Cit 나 D-Hci 의 저급 알킬 유도체가 아니라면 L 은 비교적 극성인 부분(small polar moiety)을 포함한다. 바람직하게, F 는 D-Asn, D-Gln 및 D-Thr 중에서 선택한다. 더 바람직하게, F 는 D-Asn 이다. E 가 티로신(Tyr) 또는 N-메틸-티로신(N-Me-Tyr)일 때가 바람직하다. 특히 바람직한 실시형태로는, LHRH 길항 물질이 다음 구조를 갖는 것이다 :

- [0049] Ac-D-Nal¹, 4-Cl-D-Phe², D-Pal³, N-Me-Tyr⁵, D-Asn⁶, Lys(iPr)⁸, D-Ala¹⁰-LHRH (여기서 PPI-149 로 언급함). 본 발명의 특히 바람직한 복합체는 PPI-149 와 카르복시메틸셀룰로오스를 함유한다.

- [0050] 불수용성 복합체와 더불어 본 발명의 제약학적 제제는 부가적으로 제약학적으로 용인가능한 담체 및/또는 부형제를 함유할 수 있다. 여기서 사용된 "제약학적으로 용인가능한 담체" 란 모든 용

때, 분산 매체, 피복물, 항박테리아제와 항균제, 등장제와 흡수지연제 등의 생리적으로 상화할 수 있는 것이 있다. 담체가 정맥내, 근육내, 피하 또는 비경구 투여(예를들어 주사에 의하여)에 적합한 것이 바람직하다. 부형제에는 제약학적으로 용인가능한 안정화제와 분해제가 있다.

[0051] 담체 고분자와 복합된 LHRH 유사체의 약학적 제제형과 더불어 본 발명은 이러한 복합체를 함유하는 포장 제형 및 이러한 복합체를 함유하는 주사기를 포함한다. 예를 들면, 본 발명은 LHRH 유사체로 치료할 수 있는 증상의 피실험자를 치료하는 불수용성 복합체를 사용하기 위한 설명서와 함께, LHRH 유사체(바람직하기로는 PPI-149) 및 담체 고분자(바람직하기로는 카르복시메틸셀룰로오스)의 불수용성 복합체를 함유하는, LHRH 유사체로 치료할 수 있는 증상의 피실험자를 치료하기 위한 포장 제형을 제공한다. 다른 실시형태로, 본 발명은 LHRH 유사체(바람직하게는 PPI-149) 및 담체 고분자(바람직하게는 카르복시메틸셀룰로오스)가 루멘에 포함되는, 루멘을 갖는 주사기를 공급한다.

[0052] 본 발명의 복합체는 펩티드 화합물과 담체 고분자의 불수용성 복합체를 형성하는 조건하에서 펩티드 화합물과 담체 고분자를 조합하여 제조한다. 따라서, 본 발명의 다른 특징은 제약학적 제제의 제조방법에 관한 것이다. 이 방법은,

[0053] 펩티드 화합물과 담체 고분자를 공급하고 ;

[0054] 펩티드 화합물과 담체 고분자의 불수용성 복합체를 형성하는 조건하에 펩티드 화합물과 담체 고분자를 조합하고 ;

[0055] 불수용성 복합체를 함유하는 제약학적 제제를 제조함을 포함한다. 예를들면 펩티드 화합물과 담체 고분자가 용액에서 침전할 때까지 펩티드 화합물의 용액과 담체 고분자의 용액을 조합한다. 어떠한 구성에 있어서는, 펩티드 화합물과 담체 고분자의 용액은 수용액이다. 또한 펩티드 화합물 또는 담체 분자(또는 둘다)는 둘을 조합하기 전에 실질적으로 수용성이 아니면, 복합체의 두 성분을 조합하기 전에 알코올(예를들어, 에탄올)과 같은, 물-혼화성 용매에 용해시킬 수 있다. 불수용성 복합체를 제조하는 방법의 다른 구성으로, 펩티드 화합물의 용액과 담체 고분자 용액을 펩티드 화합물과 담체 고분자의 불수용성 복합체가 용액에서 침전될 때까지 조합하고 가열한다. 불수용성 복합체를 이루는 데 필요한 펩티드 화합물과 담체 고분자의 양은 복합체를 이루기 위하여 사용되는 특수한 펩티드 화합물과 담체 고분자, 사용되는 특수한 용매 및/또는 사용되는 공정에 따라 변할 수 있다. 그러나, 대체적으로 펩티드 화합물은 물을 기준하여 담체 고분자에 비하여 초과되어야 한다. 또한, 펩티드 화합물도 실시예들에서 증명되는 바와 같이 중량/중량 기준으로하여 초과되어야 한다. 어떠한 구성에 있어, 담체 고분자, 바람직하기로는, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨과 펩티드 화합물, 바람직하기로는 PPI-149 를 0.2 : 1(w/w)의 담체 고분자 : 펩티드 화합물 비율로 조합한다. 본 발명의 불수용성 복합체를 제조하는 조건과 공정의 비제한 실시예들은 실시예 1 - 5 와 8 - 9 에 기재되어 있다.

[0056] 일단 펩티드 화합물/고분자 복합체가 용액에서 침전하면, 침전물은 여과(예를들어, 0.45 미크론 나일론 막을 통하여), 원심분리와 같은 본 분야에 공지되어 있는 수단에 의하여 용액에서 제거할 수 있다. 회수된 페이스트를 건조(예를들어, 진공에서 또는 70 °C 오븐에서)한 다음 고체를 본 분야에 공지되어 있는 수단(예를들어, 해머 또는 고어분쇄, 또는 약절구와 막자로 분쇄)으로 분쇄 또는 파쇄하여 분말화 할 수 있다. 분쇄 또는 파쇄한 다음, 분말을 스크린(바람직하게는 90 미크론 스크린)을 통하여 채질하여 균일한 입자 분포를 얻을 수 있다. 더욱이, 회수된 페이스트를 냉동과 동결건조로 건조시킬 수 있다. 분말 형태의 복합체를 담체 용액에 분산시켜서 주사에 적합한 현탁액 또는 반-고체 분산물로 형성시킬 수 있다. 따라서, 여러가지 구성에 있어 본 발명의 제약학적 제제는 건조 고체, 현탁액 또는 반-고체 분산물이다. 현탁액에 사용하는 데 적합한 액체 담체의 예를들면, 소금용액, 글리세린 용액과 레시틴 용액이 있다.

[0057] 다른 구성에 있어, 본 발명의 제약학적 제제는 살균제제이다. 예를들면, 불수용성 복합체를

형성한 다음, 감마선 조사 또는 전자 빔 살균에 의하여 복합체를 최적으로 살균할 수 있다. 따라서, 상술한 본 발명의 제약학적 제제의 제조방법에 감마선 조사 또는 전자 빔 조사에 의한 불수용성 복합체의 살균을 더 포함할 수 있다. 바람직하기로는, 제제는 최소한 15 KGy의 감마선 조사량을 사용하여 감마선 조사에 의하여 살균한다. 다른 구성에서는 최소한 19 KGy 또는 최소한 24 KGy의 감마선 조사량을 사용하여 제제를 감마선 조사에 의하여 살균한다. 실시예 11에서 증명되는 바와 같이, 본 발명의 제제는 감마선 조사에서 수용할 수 있는 안정성을 갖는다.

[0058] 또한, 살균한 제약학적 제제를 제조하기 위하여, 불수용성 복합체는 통상의 살균방법을 사용하여(예를 들어, 살균 출발물질을 사용하여 무균으로 제조방법을 행하여) 분리시킬 수 있다. 따라서, 상술한 제약학적 제제를 제조하는 방법의 다른 구성으로는, 무균 공정을 사용하여 불수용성 복합체를 형성하는 것이다.

[0059] 본 발명의 불수용성 복합체의 형성 방법은 실시예 1 - 5와 8 - 9에 기재되어 있다. 또한, 본 발명의 방법에 따라 제조된, 분제, 현탁액, 반-고체 분산물, 건조 고체(예를 들어, 동결건조된 고체)와 이들의 살균된 형태를 포함한, 제약학적 제제도 본 발명에 포함된다.

[0060] 본 발명의 또다른 특징은 불수용성 복합체에 포함되는 제약학적 활성 펩티드 화합물에 의하여 치료될 수 있는 증상으로 고통을 받는 피실험자를 치료하기 위하여 본 발명의 제약학적 제제를 사용하는 방법에 관한 것이다. 따라서, 바람직한 구성으로는 본 발명에서 LHRH 유사체와 담체 고분자의 불수용성 복합체를 함유하는 제약학적 제제를 피실험자에게 투여함을 포함하는, LHRH 유사체로 치료할 수 있는 증상을 갖는 피실험자의 치료 방법을 제공하는 것이다.

[0061] 바람직한 투여 방법이 비경구 방법, 특히 근육내(i.m.) 주사와 피하/피내(s.c./i.d.) 주사일지라도 원하는 치료 결과를 성취하는데 적합한 방법으로 제약학적 제제를 피실험자에게 투여할 수 있다. 또한, 제제를 경구적으로 피실험자에게 투여할 수 있다. 다른 적합한 비경구 방법에는 정맥주사, 구강투여, 경피방출과 직장, 질, 코내 또는 호흡기관 경로에 투약하는 것이 있다. i.m. 또는 s.c./i.d. 방법에 의하여 수주일 또는 수개월 동안 서방성을 제공하는 제제를 선택적인 방법으로 투여할 때, 다른 생리적 메카니즘에 의한 약제의 소멸(즉, 투약 형태는 이들이 i.m. 또는 s.c./i.d. 주사로 관찰되는 한 연장된 치료효과가 기간동안 관찰되지 않는 방출 부위에서 소멸될 수 있다)로 인하여 동등한 길이의 시간동안 약제의 서방성은 없을 수 있음을 알 수 있다.

[0062] 제약학적 제제는 치료적 유효량의 LHRH 유사체를 함유한다. "치료학적 유효량"이란 원하는 결과를 성취하는데 필요한 시간동안, 단위 투약에 유효한 양을 뜻한다. LHRH의 치료적 유효량은 질병상태, 나이, 개개의 체중과 같은 인자와, 개개의 원하는 반응을 유도하는 LHRH 유사체(단독 또는 하나 또는 그 이상의 다른 약제와 조합)의 능력에 따라 변할 수 있다. 투약 섭생을 조절하여 최적의 치료적 반응을 제공할 수 있다. 또한 치료적 유효량은 길항물질의 독성 또는 장해 작용이 치료적으로 유익한 효과에 의하여 보다 가치가 있는 것이다. LHRH 유사체의 치료적 유효량의 비제한 범위는 0.01 - 10 mg/kg이다. 28일 동안 혈장 테스토스테론 수준이 지속적으로 감소하는 LHRH 유사체 PPI-149의 바람직한 투약량은 약 1 ml 또는 그 이상의 현탁액 제형에서 약 0.1 - 10 mg/kg, 더 바람직하기로는 0.3 - 12 mg/kg(유리 펩티드로서 표현한다)이다. 투약량의 값은 증상이 완화되는 심도에 따라 변할 수 있음을 알 수 있다. 특별한 피실험자에 있어서, 특수한 투약 섭생은 개별적 필요성과 조성물의 투여를 감독하거나 투약하는 개인의 직업적 판단에 따라서 시간을 조정해야 하고, 여기에 열거한 투약량 범위는 단지 예들든 것 뿐이고 특허청구된 조성물의 범위 또는 실시를 제한하는 것은 아님을 이해할 것이다.

[0063] 본 발명의 치료방법은 LHRH 유사체를 투여하여 원하는 임상적 효과를 갖는 여러가지 증상, 질병과 질환의 치료에 사용할 수 있다. 질병과 질환의 예를들면, 전립선 암, 유방암, 난소암, 자궁암과 고환암, 양성 전립선 비대증, 성조발증, 자궁 내막증과 자궁유섬유종과 같은 호르몬-의존형 암이 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 제약학적 제제를 투여하여 이들 질병과 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 더불어, LHRH 유사체를 사용하여 수태를 변경할 수 있다. 따라서 본 발명의 방법은 생체외의 수정과 피임 목적에 사용될 수 있다.

[0064] 특히 바람직한 구성으로는, 방법을 사용하여 전립선 암을 치료하고, 제제에 사용되는 LHRH 유사체는 LHRH 길항물질, 가장 바람직하기로는 PPI-149 로 하고, 방법에서 근육내 또는 피하 투약으로 투여한 후 최소한 4 주 동안 생체내에서 LHRH 유사체가 서방되도록 한다. 본 발명에 따라 제조된, LHRH 유사체, 바람직하기로는 PPI-149 를 사용하여 전립선 암으로 고통을 받고 있는 피실험자에게 LHRH 유사체를 투여하여 전립선 암 세포의 성장을 억제시킬 수 있다. 더욱이, LHRH 작동제로 치료를 시작하기 전에 전립선 암으로 고통을 받는 피실험자에게, LHRH 길항물질, 바람직하기로는 PPI-149 를 선투여하여 LHRH 작동제의 사용을 수반한 테스토스테론 급상승을 억제하는 데 본 발명에 따라 제조된, LHRH 길항물질, 바람직하기로는 PPI-149 를 사용할 수 있다. 본 발명의 제제를 사용할 수 있는, LHRH 작동제 - 유도 테스토스테론 급상승의 억제 방법과, LHRH 길항물질을 사용한 다른 전립선암의 치료 방법은 1995년 12월 15일자 출원된 미국특허 출원번호 08/573,109, 명칭 "Methods For Treating Prostate Using LHRH Antagonists" 와 1996년 11월 25일자 출원된 이의 미국 계속특허출원번호 08/755,593, 명칭, "Methods For Treating Prostate Using LHRH Antagonists" 에 기재되어 있으며, 이들 두 출원의 내용에 공고된 PCT 출원 WO 97/22357 에 인용되어 있다. 미국출원들과 공고된 PCT 출원의 전체 내용은 참고적으로 특별히 여기에 인용되어 있다. 제약학적 활성 펩티드 화합물과 담체 고분자를 복합한 특수방법은 하기 실시예 1~5 와 8-9 에 열거되어 있다. 또한 LHRH 길항물질 - 함유 복합체가 생체내에서 제약학적 활성 펩티드의 서방성을 제공할 수 있고(실시예 6), LHRH - 작동제 유도 테스토스테론 급상승(실시예 7)을 억제할 수 있음을 증명하는 시험 결과가 기재되어 있다. 다음 실시예는, 본 발명을 예시한 것이고, 제한하는 것이 아님을 이해해야한다. 본원에 인용된 모든 참고문헌, 특허와 공고된 특허 출원의 내용은 여기에 참고적으로 인용한다.

실시예

실시예 1

[0066] 6.25 mg/ml 의 PPI-149 를 물에 용해시켜서 LHRH 길항물질 PPI-149 의 100 ml 용액을 제조한다. USP 카르복시메틸셀룰로오스나트륨(CMC)(낮은 점도급, 허큘터스 케미칼 칼파니)의 동일한 시료(최소 100 ml)를 0.125 % W/V 로 제조하고 용해될때까지 혼합한다. 동일부의 PPI-149 와 CMC 용액을 혼합하여(CMC : 펩티드 비율 0.2 : 1 (W/W)을 나타낸다)고체 물질을 얻는다. 고체물질을 하루밤 교반한 다음 0.45 미크론 나일론 필터에서 여과하여 수집한다. 최소한 95 % 의 PPI-149 화합물을 나타내는 용액 여과물을 HPLC 평가하여 고체 복합체로 변환시키고 용액에서 제거한다. 회수된 백색 페이스트를 물로 두번 세척한 다음 작은 병에 옮기고 진공에서 건조한다. 72 시간 동안 건조하면 633 mg 의 백색 분말을 얻는다. 고체 물질을 약절구와 막자로 분말화한다. 원소분석하면 복합체에서 57 % 의 펩티드를 나타낸다.

[0067] 실시예 2

[0068] 25 mg 의 PPI-149 를 1 ml 의 물에 용해시킨다. 이에 1 ml 의 0.5 % 카르복시메틸셀룰로오스 용액을 가하고, 혼합하면 혼합물이 은백색 고체를 형성한다. 혼합물을 5 분동안 환류하에 가열하면 응집한 백색 침전물이 형성된다. 이물질을 원심분리/경사분리에 의하여 분리한다.

고체를 물에 재현탁시키고 원심분리를 반복하여 수집한다. 용액 여과물을 HPLC 평가하면 최소한 90 %의 PPI-149를 나타내고, 이는 고체 복합체로 변환된다. 백색 침전물을 진공에서 건조하고 고체물질을 약절구와 막자로 분쇄한다. 원소 분석하면 복합체에서 77 %의 펩티드를 나타낸다.

[0069] 실시예 3

[0070] 50 mg의 PPI-149를 2 ml의 5 % 만니톨에 용해시키고, 2 ml의 0.5 % 카르복시메틸셀룰로오스(지점도, USP, 스펙트럼 켈리티 케미칼스)와 혼합한다. 혼합물을 교반하면 즉시 백색 침전물이 생성된다. 현탁액을 냉동시키고 동결건조하면 PPI-149 서방성 복합체를 얻는다.

[0071] 실시예 4

[0072] 25 mg PPI-149를 1 ml의 물에 용해시키고, 이에 1 ml의 0.5 % 알긴산 나트륨, USP(스펙트럼)을 가한다. 혼합하면 혼합물은 즉시 백색 침전물을 형성한다. 이 물질을 원심분리/경사분리하여 분리시킨다. 고체를 물에 재현탁시키고 원심분리를 반복하여 수집한다. 백색침전물을 진공에서 건조한다. 원소 분석을 행하면 66 % 함량의 펩티드를 얻는다.

[0073] 실시예 5

[0074] 25 mg의 PPI-149를 1 ml의 물에 용해시키고, 암모니아를 첨가하여 pH를 11.0까지 조정한다. 이에 1 ml의 0.5 % 알긴산, USP(스펙트럼)를 가한다. 혼합하면 혼합물은 즉시 백색 침전물을 형성한다. 고체를 물에 재현탁시키고 원심분리를 반복하여 수집한다. 백색 침전물을 진공에서 건조하고, 원소 분석을 행하면 79 % 함량의 펩티드를 얻는다.

[0075] 실시예 6

[0076] 전술한 실시예에 따라서 LHRH 길항물질 PPI-149와 카르복시메틸 셀룰로오스의 불수용성 복합체를 제조한다. PPI-149/CMC 복합체의 현탁액을 제조하고 일회 투약량을 랫과 개의 근육내에 주사한다. 랫의 투약량은 $50 \mu\text{g/kg/일} \times 60$ 일이고 개에 대한 투약량은 $40 \mu\text{g/kg/일} \times 28$ 일이다. 동물에서 LHRH 길항물질의 활성을 측정한 바와 같이 여러가지 시간점에서 혈장 테스토스테론 수준(ng/ml)을 측정한다. 대표적인 결과는 도 1의 그래프에 표시했고, 이는 PPI-149/CMC 복합체의 근육내 주사가 쥐에서는 최소한 42일 동안 개에서는 최소한 28일 동안 혈장 테스토스테론 수준(도 1에서 개방 박스로 표시)의 지속적인 억압을 유도함을 증명하고, LHRH 길항물질의 서방성을 증명한다. PPI-149의 혈장 수준(ng/ml)은 동물에서 감시했다(도 1에서 밀폐 박스로 표시).

[0077] PPI-149의 초기 스파이크는 약 첫번째 8일 동안 관찰되었고, 그후 PPI-149는 혈장에서 본질적으로 검출되지 않았다. 약 8일 이상 혈장에서 PPI-149를 검출할 수 없었음에도 불구하고, 결과적인 테스토스테론 수준은 PPI-149가 실험 과정에서 생체내에 치료적 활성을 가짐을 증명한다.

[0078] 실시예 7

[0079] 전술한 실시예들에 따라서 LHRH 길항물질 PPI-149 와 카르복시메틸셀룰로오스의 불수용성 복합체를 제조한다. PPI-149/CMC 의 현탁액을 제조하고 일회 투약량을 0 일에 랫의 근육내에 주사한다.

30 일째에, LHRH 작동제 LupronTM(튜프로리드)를 랫에 주사한다. 동물에서 LHRH 길항물질의 활성을 측정한 바와같이 여러가지 시간점에서 혈장 테스토스테론 수준(ng/ml ; 도 2 에서 개방 박스포 표시)을 측정한다. 또한 PPI-149 의 혈장수준(ng/ml)도 동물에서 모니터한다(도 2 에서 밀폐 박스포 표시). 도 2 의 그래프로 표시된, 대표적인 결과는 PPI-149/CMC 복합체로 선처리하면, 거세 수준까지 혈장 테스토스테론을 급격히 감소시키고, 더욱이, LHRH 작동제 - 유도 테스토스테론 급상승을 차단시킴을 증명한다. 약 8 일 이상 혈장에서 PPI-149 를 검출하는 무능에도 불구하고, 테스토스테론 수준 결과는 PPI-149 가 아직 실험 과정에서 생체내에 치료적 활성을 가짐을 증명한다.

[0080] 실시예 8

[0081] 이 실시예에서는, LHRH 유사체 PPI-258 과 카르복시메틸셀룰로오스(CMC)사이 에 불용성 복합체를 형성시킨다. PPI-258 은 다음구조를 갖는다 : 아세틸-D-나프틸알라닐-D-4-Cl-페닐알라닐-D-피리딜알라닐-L-세틸-L-티로실-D-아스파라기닐-L-류실-L-N^e-이소프로필-리실-L-프로필-D-알라닐-아미드 PPI-258/CMC 저류물을 제조하기 위하여, PPI-258 의 174.8 mg(148.6 mg 순중량)을 29.72 ml 의 물에 가하고 물질을 교반하여 펩티드를 현탁시키고 용해시킨다. 이 교반된 용액에 1.85 ml 2 % 나트륨 CMC 용액(허큘레스)을 가한다. 즉시 고체 침전물이 관찰된다. 현탁액을 환류하에 가열하면 반투명으로 된 다음 백색 침전물로 나타난다. 반응물을 5 분 환류시킨후 냉각시키고 원심분리에 의하여 고체를 분리한다. 고체를 물로 세척하고, 하룻밤 진공에서 건조한다. 건조된 분말을 약 절구와 막자로 분쇄하고 90 미크론 스테인레스강 스크린으로 체질한다. 체질한 분말(90 미크론체)을 수집하고 특성화한다. 전체 수량은 198.4 mg 의 건조 고체이고, 이는 분쇄 공정후 110.8 mg 의 입자화된 분말로 생성되었다. 특성화는 복합체의 다음 조성물구성을 제공한다 : 펩티드 PPI-258-80 %, CMC-18.8 %, 물-6.6 %.

[0082] 실시예 9

[0083] 이 실시예에서는 LHRH 유사체 CetorelixTM(또한 SB-75 로 알려져 있음)와 카르복시메틸셀룰로오스(CMC)사이 에 불용성 복합체를 형성시킨다.

[0084] CetorelixTM 는 다음 구조를 갖는다 : 아세틸-D-나프틸알라닐-D-4-Cl-페닐알라닐-D-피리딜알라닐-L-세틸-L-티로실-D-시트룰릴-L-류실-L-알기닐-L-프롤릴-D-알라닐-아미드. Cetorelix/CMC 저류물을 제조하기 위하여, 102.8 mg(순중량 87 mg)의 CetorelixTM를 17.4 ml 의 물에 가하고 물질을 교반하여 펩티드를 현탁시키고 용해시킨다. 이 교반된 용액에 1.1 ml 의 2 % 나트륨 CMC 용액(허큘레스)을 가한다. 즉시 피상 백색 침전물을 관찰한다. 현탁액을 5 분동안 환류하에 가열하고 냉각하면 고체 백색 침전물이 생성된다. 원심분리하여 고체를 분리하고, 물로 세척하고, 하룻밤 진공에서 건조한다. 건조된 분말을 약절구와 막자로 분쇄하고 90 미크론 스테인레스강 스크린으로 체질한다. 분말을 수집하여 특성화한다. 전체 수량은 95 mg 의 건조고체이고 이는 분쇄공정후 60 mg 의 입자화된 분말로 생성된다. 특성화는 복합체의 다음 조성물 구성을 제공한다 : 펩티드 CetorelixTM-75 %, CMC-20.7 %, 물-6.5 %.

[0085] 실시예 10

[0086] 이 실시예에서는 전술한 세 실시예들에 기재된 CMC 저류물 제제표시 제조한, 세가지 다른 LHRH 유사

체, PPI-149, PPI-258 와 CetorelixTM의 서방성을 생체내에서 시험한다. 세가지 다른 제제의 부형제는 염수, 글리세린(15 % 글리세린/4 % 텍스트로스)와 레시틴으로 시험한다. 스프래그 도리 랫(25 마리 수컷, 중량범위 300 ~ 325 g)를 사용하고 LHRH 유사체의 효능을 혈장 테스토스테론 수준의 감소를 기초로하여 측정한다.

[0087] 투약량과 투여 방법은 다음과 같다 :

그룹	화합물	투약량 (mg/kg)	투약량 (μ g/kg/일)	투약량 (mg/랫)	부형제	투여방법
A	PPI-149	9	300	2.7	염수	IM
B	PPI-149	9	300	2.7	글리세린	IM
C	PPI-149	9	300	2.7	글리세린	SC
D	PPI-149	9	300	2.7	레시틴	IM
E	PPI-258	9	300	2.7	염수	IM
F	Cetorelix TM	9	300	2.7	염수	IM

[0088]

펩티드의 실제 투약량은 30 일동안 300 μ l/kg/일이고, 이는 단일 200 μ l 근육내(IM) 또는 피하(SC)주사로 주어진 2.7 mg/랫이다. 5 랫/그룹을 주사하는데 요구되는 전체 체적은 13.5 mg/ml 활성펩티드의 농도에서 1.3 ml 이었다. 주사 체적은 일정하게 유지했고 분말의 중량은 다음과 같이 전체 펩티드 함량에 대하여 조정했다 :

그룹	요구된체적 mL	요구된중량 mg분말	사용된중량 mg분말	사용된체적 mL
A	1.3	22.5	29.5	1.7 mL 염수
B, C	2.6	45	71.1	4.1 mL 글리세린/텍스트로스
D	1.3	22.5	35.2	2.03 mL 0.5% 레시틴/만니톨
E	1.3	22.5	31	1.79 mL 염수
F	1.3	22.5	20.9	1.21 mL 염수

[0090]

[0091] 시험물품의 단일 200 μ l 근육내, 또는 피하 주사를 마취하에 0 일에 각각 좌측 뒷사지의 위 옆구리에 또는 어깨뼈사이의 피부에 행한다.

[0092] 혈장 테스토스테론 수준을 시험하기위하여, 투약후 1 일과 3, 7, 14, 21, 28 과 35 일에 역 - 케도 공동에서 약 0.4 ml 의 혈액을 제거한다. 혈액을 혈장으로 처리하고 표준방법으로 테스토스테론 혈장수준을 측정하는 동안 드라이 아이스로 냉동시킨다.

[0093] 도 3A-3C 에 표시된, 대표적인 결과는 수컷의 스프래그 도리 랫에서 혈장 테스토스테론 수준이 감소되고 CMC 저류물 제제로서 제조된 LHRH 유사체 PPI-149, PPI-258 과 CentrolixTM의 서방성에 반응하여 50 일동안과 최소한 28 일동안 저수준에서 유지되는 것을 증명한다(각각 도 3A, 3B 와 3C 에 표시한다). 이러한 결과는 세가지 모든 제제가 생체내에서 혈장 테스토스테론 수준을 감소시키고 규정시간외에 감소된 혈장 테스토스테론 수준을 유지하는데 효과적임을 나타낸다.

[0094] 실시예 11

[0095] 이 실시예에서, PPI-149-CMC 제제를 살균하기위하여 감마선 조사에 노출시킨다음, 조사된 제제의 물리 화학적 성질을 평가한다. 하기에 기재한 데이터는 γ -조사가 PPI-149-CMC 저류물의 생존가능한 살균 수단임을 나타낸다.

[0096] 펩티드 안정성

[0097] 약 40 mg 의 각각 두개로 분리된 PPI-149-CMC 룯을 여러가지의 형 1 유리병에 분리하여(공기 상부공간 하에)충전하고, 고무 마개와 알루미늄 시일로 밀봉한다. 다음 유리병을 여러가지 소량의 감마 - 조사량을 받게한다. 각 두 룯에 대한 γ -조사 노출의 각 수준에서 두 유리병을 펩티드 순도(% 로 표시)에 대하여 분석한다. 그결과 24 KGy 를 포함하는 γ -조사량에서 PPI-149-CMC 가 일관되게 펩티드 순도에 있어

[0098] 2 % 이하의 감소(HPLC 불순물 형상에 의하여 측정)를 나타냄을 알 수 있다. 더 높은 조사량의 감마 노출을 이용한 이차 연구를 PPI-149-CMC 의 부가적 실험 룯으로 행한다. PPI-149-CMC 는 높은 γ -조사량에 노출했을때 아주 양호한 화학적 안정성을 나타냈다.

[0099] 다음 선제제 연구를 행하여 PPI-149-CMC-조사이후에 얻은 분해 형상과 PPI-149 주사액(1 mg/ml)을 가압가열한 후에 얻은것과 비교한다. 두 시료 : a)19 KGy γ -조사에 노출된 PPI-149-CMC ; b)가압가열(121 °C/20 분)을 받은 PPI-149 용액(1 mg/ml)을 제조한다. 두시료의 HPLC 크로마토그램으로 두시료의 분해 형상이 정량적으로 비슷함을 나타냄(주요 피이크의 유사한 상대 체류시간을 나타냄)을 알수있다.

[0100] 감마 - 조사에 따른 응력 안정성 저장

[0101] 응력 - 저장 선제제 연구를 유리병 후 - 감마조사로 행한다. PPI-149-CMC 의 두 실험 룯으로된 밀봉된 유리병을 19 KGy 감마 - 조사에 노출시키고 2 개월 이하동안 25 °C, 37 °C 와 50 °C 에서 저장한다. 이러한 선제제 연구의 화학적 안정성 데이터에서는 19 KGy 의 조사량으로한 γ -조사 다음의 응력 - 저장 안정도는 높은 응력 - 저장 조건(예를들어 50 °C 에서 1 주일)하에서까지 주요한 화학적 불안정성을 가져오지 않음을 나타낸다. 데이터는 19 KGy 이하를 포함하는 γ -조사량에서 50 °C 또는 그이하에서 28 일까지 PPI-149-CMC 의 저장을 나타내고, 펩티드 순도에 있어 일관되게 2 % 이하의 감소 나타냈다(HPLC 불순물 형상에 의하여 측정). 연구된 두 룯사이의 초기 수분에서 분명한 차이가 있음에도 불구하고, 초기 선제제 안정성 시료 또는 일개월이하 동안 저장된 시료에서 펩티드 순도의 뚜렷한 차이는 측정되지 않았다.

[0102] PPI-149-CMC 입자크기 분석

[0103] 레이저 광선 산란을 이용한 입자크기 방법을 전개하여, 이를 PPI-149-CMC 의 입자크기연구에 적용한다. 방법의 실용성을 예시하기위하여, 선제제 실험을 실행하여 PPI-149-CMC 의 입자크기에 관한 감마 - 조사의 효과를 연구한다. 이 실험에서는 저장시에 무정형 고체 물질을 미리 처리하여 입자가 고화되게 함을 사전 이해해야한다. 실험 룯의 PPI-149-CMC 의 두 시료를 제 I 형 유리병에 충전하고, 회색 부틸고무마개로 밀폐하고, 알루미늄 시일로 밀봉한다. 15.5 KGy 의 감마 조사량에 노출하기 전후에 입자평가를 행한다. 입자평가는 레이저 광선 산란으로 행한다(역 포우리에 렌즈가 장치된 Malvern MastersizerTM 을 이용). 레이저 광선 산란에 의한 입자크기 분석을 위한 20 mg 시료를 강하게 흔들면서 약 0.5 ml 의 탈염수에 분산시킨다음, 5 분

동안 상온의 욕조에서 음과파쇄한다. 바탕계수를 조작한후, 방법적격 실험을 행한다. 시료 분산물을 약 20 %의 불투명도를 얻을때까지 연속 공급 저장기(약 60 ml 공칭 체적)에 적가한다. 실험에서 혼합기 회전 속도를 2700 rpm 으로 유지한다(플러스 바탕점검). 이 속도에서 소용돌이-유도-기포는 발생하지 않았지만, 충분히 안정한 분산은 유지한다. 8 회의 주사를 행하고, 얻은 데이터를 분석하면, 취한 데이터점의 최대치로서 <0.03 %의 표준편차를 나타냈다. 15 분동안 시료분산을 저장기에서 유지한 다음 재 - 조작했을때 뚜렷한 변화는 없었고, 실험 과정에서 입자용해는 나타나지 않았다.

[0104] 상기에서 주어진 실험 파라미터를 이용하여 시료를 분석한다. 8 회의 주사를 행하여 평균입자 직경 데이터를 측정한다. 두가지 별개의 크기 분포를 주시하여 보면, 모두 높이 - 말단 입자크기에서 선명하게 절단되었으며, 입자응집은 나타나지 않았다. PPI-149-CMC의 한 룯은 시료 후 - 조사보다 감마 조사전에 분명하게 더 낮은 평균 체적 직경을 가졌다. 이러한 선제제 연구에서, 살균 과정에서 일어난 약간의 입자 고화를 나타냄을 볼 수 있다.

[0105] 실시예 12

[0106] 이 실시예에서는 여러가지 선제제 실험을 행하여 PPI-149-CMC의 고체상 형태에 관한 감마 - 조사와 온도/습도의 효과를 연구한다.

[0107] X-선 분말 회절

[0108] 초기 실험에서, PPI-149-CMC의 두 60 mg 시료를 제 I형 유리병에 충전하고(공기 상부 공간하에), 회색 부틸 고무마개로 밀폐하고 알루미늄 시일로 밀봉한다. 다음 한 시료를 19.0 KGy의 감마 - 조사량에 노출시킨다. 두 60 mg 시료의 고체상 형태를 X-선 분말 회절로 연구한다. 19.0 KGy의 감마조사량에 노출한 전후에 회절그람을 비교한다.

[0109] 다음 연구에서, PPI-149-CMC(후 감마-조사)의 60 mg 시료를 제 I형 유리병에 넣고 5 일동안 50 °C /75 % 상대습도에서 선 - 평형 상수 습도 보온기에 넣는다. 보온기에서 제거한 직후, 시료 용기를 회색 부틸 고무 마개로 밀폐하고 알루미늄 시일로 밀봉한다. 이러한 압축된 시료의 X-선 분말 회절그람을 밀폐된 용기에서 실온에서 유지된 동일한 룯의 다른 시료와 비교한다. 흑연 단색화 장치와, 50 KV, 40 mA에서 조작되는 Cu($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$)X-선 급원이 설치된 지멘스 D 500 자동 분말 회절계를 사용하여 시료를 분석한다. 두 - 데타 주사 범위는 $0.05^\circ /1, 2$ 초 단계의 단계 주사 윈도우를 사용할때 $4-40^\circ$ 이다. 임 공극은 번호(1) 1° , (2) 1° , (3) 1° , (4) 0.15° 와 (5) 0.15° 폭에서 고정된다. 두 - 데타 교정은 NBS 운모표준(SRM 675)을 사용하여 행한다. 영 바탕 시료판을 사용하여 시료를 분석한다.

[0110] 데이터로 감마 조사전에, PPI-149-CMC는 겉보기 결정 또는 유사 - 결정 구조를 갖지 않음을 알 수 있다. 실제, 이는 무정형 고체의 X-선 분말 회절패턴 특성(회절그람에서 뚜렷한 피크를 갖지 않는, $2 \sim 20^\circ$ 2 θ 사이의 넓은 험프)을 나타낸다. PPI-149-CMC 시료 후 - 조사는 비 - 조사 시료와 매우 유사한 회절 패턴을 일으키고, 감마 - 조사 처리(19 KGy 이하를 갖는 조사량에서)는 물질내에서 고체-상 다형태 변화를 뚜렷하게 유도하지 않음을 나타낸다. 유사한 방법으로서, PPI-149-CMC의 온도/습도 압축 시료가 두 비 - 조사 시료와 조사시료와 매우 유사한 회절 패턴을 일으키고, 이는 물질내에 고체 - 상 다형태 변화를 과도하게 유도하는 경향이 있음을 제시한다.

[0111] 흡습성

PPI-149-CMC(후 - 조사)에 관한 선제적 연구를 행하여 여러가지 상대 습도의 조건하에 일정 온도(25 ℃)에서 평형 수분흡수(중량증가에 의하여 측정)를 측정한다. 상대 습도(% RH)의 함수로서 평형수분(% 물)을 분석하면 수분이 약 80% 상대습도까지 점차적으로 증가함을 나타낸다. PPI-149-CMC 는 높은 상대습도(95 % RH)에서 현저하게 흡습을 할 수 있다. 80 % RH 또는 그이하의 상대 습도에서 수 분으로부터의 보호에 관한 상당한 주의를 할 필요가 없으며 ; 따라서, 제조 단계는 주위 습도 조건(극치의 습도공급은 피한다)하에서 실시할 수 있다.

[0113] 실시예 13

[0114] 이 실시예에서는, PPI-149-CMC 에 관한 용해 연구를 행한다. 흡입과 비 - 흡입 조건을 이용하여 실험을 행한다. PPI-149-CMC 는 pH 3.3 의 0.1 M 인산염 완충 식염수에서 25 ℃ 하에 약 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 용해도(유리 펩티드로 측정하여 표시)를 갖는다. 흡입 조건(주어진 온도하에 시스템의 <10 % 포화 용해도로써 정의)하에서, PPI-149-CMC 는 교반없이도 빠르게 용해된다(유리 펩티드로 측정하여 표시). 비슷한 실험으로, 세 시료 : PPI-149-CMC 단독, 10 % 부가적(중량)PPI-149(유리 펩티드로 표시하지만, 초산염과 연관된 PPI-149 로 주입한다)의 존재하의 PPI-149-CMC 및 50 % 부가적(중량) 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨 USP 의 존재하의 PPI-149-CMC 을 사용하여, pH 7.3 의 0.1 M 인산염 완충 식염수에서 25 ℃ 하에 PPI-149-CMC 의 평형 용해도를 측정한다(유리 펩티드로 측정하여 표시). 세 시료 모두는 외견상으로 유사한 펩티드 평형 용해도를 나타낸다. 선택된 완충계는 생리적 조건에 근접하기 때문에, 부가적 유리 카르복시메틸셀룰로오스의 존재 또는 PPI-149-CMC 에 존재하는 펩티드종은 용해도에 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

[0115] 실시예 14

[0116] 이 실시예 에서는, PPI-149-CMC 의 반복되는 피하(SC)와 근육내(IM)투약량의 약동학, 약물학과 안전성을 개에서 특성화 한다.

[0117] 3 개월동안 행하는, 첫번째 연구에서는, 여러가지 재구성 부형제에서 1,2 mg/kg (1 일), 0.3 또는 0.6 mg/kg (29 일)과 1.2 mg/kg (57 일)으로 PPI-149-CMC 를 40 마리의 수컷의 비글 개에 매달 IM 또는 SC 주사하여 평가한다. 5 마리개로된 여덟그룹을 하기에 표시된 연구에 배당한다 :

그룹	N	재구성 부형제 ^{a,b}			투약량 ^c (mg/kg)			투여방법
		1일	29일	57일	1일	29일	57일	
A ^d	5	염수	글리세린	레시틴	0	0	0	IM
B	5	글리세린	글리세린	레시틴	1.2	0.3	1.2	IM
C	5	글리세린	글리세린	레시틴	1.2	0.6	1.2	IM
D	5	PEG	글리세린	레시틴	1.2	0.3	1.2	IM
E	5	PEG	글리세린	레시틴	1.2	0.3	1.2	SC
F ^d	5	레시틴	글리세린	레시틴	1.2	0.6	1.2	IM
G ^d	5	레시틴	글리세린	레시틴	1.2	0.6	1.2	SC
H	5	글리세린	글리세린	레시틴	1.2	0.3	1.2	SC

[0118]

- [0119] a. 재구성 부형제는 특별한 현탁액으로서 PPI-149-CMC 를 재구성하는데 사용한다.
- [0120] 이들은 다음 성분(물에서)을 함유한다 :
- [0121] 1. 글리세린 = 15 % 글리세린/5 % 텍스트로스
- [0122] 2. PEG = 4 % 폴리에틸렌글리콜-3350/4 % 만니톨
- [0123] 3. 레시틴 = 0.5 % 레시틴/5 % 만니톨
- [0124] b. 주 : 임상 연구에 사용되는 재구성 부형제는 0.9 % 염화나트륨 USP 이다.
- [0125] c. 모든 투약량은 펩티드(PPI-149)함량으로 표현된다.
- [0126] d. 세 동물은 완전한 해부학적 및 미시적 조직 구조에서 85 일에 희생되었다.

이 연구는 다른 부형제에서 초기 투약량에서의 PPI-149-CMC 의 효능을 처리 첫달동안 평가하도록 계획되었다. 연구 두달동안 개는 효능있는 "유지" 투약량을 측정하기위한 시도에 있어 더 낮은 PPI-149-CMC 투약량을 수용했다. 석달째는 PPI-149-CMC 의 장기간 안전과 효능 특성을 평가하기 위하여 계획되었다.

- [0128] 재구성 부형제중 하나로 제제된 PPI-149-CMC 의 IM 또는 SC 투약량, 또는 비교물의 IM 투약량을 우측 뒷사지(IM)의 위 옆구리에 또는 중간-어깨뼈 부분(SC)에 일일 투약량으로 투여한다. 물질을 23 g 의 짧은 베벨침을 갖는 1cc 투베르쿨린 주사기로 넣는다. 투약하기전에 즉시 알콜을 면봉으로 주사 부위를 닦는다. 주사하는 체적은 펩티드/kg 체중의 특수한 투약량을 기초로한다. 모든 투약량은 투여되는 PPI-149 펩티드의 양과 관련됨을 알수있다.

- [0129] 일반행동과 외양에서 독성 또는 약리학적 효과를 명백하게 나타내는 것을 전체적으로 연구하는동안 각 동물을 매일 최소한 2 회는 관찰한다. 비정상적인 임상 관찰은 모두 기록한다.

- [0130] 완전한 혈구 계산(CBC), 혈청 화학분석과, 방사면역측정법에 의하여 주 2 회 PPI-149 와 테스토스테론 농도를 측정하기위하여, 첫번째 투약량을 투여하기전에 혈액을 수집하고, 투약한다음 수회 혈액을 수집한다.

- [0131] 연구 3 개월후, 9 마리의 동물이 희생되었고 전체 병리학적 및 조직 병리학적 분석을 하기위하여 이들의 조직을 수집한다. 3 개월 희생물에서 전체 병리학과 조직 병리학을 위하여 수집된 조직에는 투여부위(SC 또는 IM), 신장선, 대동맥, 뼈, 골수, 뇌, 횡격막, 부고환, 식도, 시신경을 갖는 눈, 심장, 신장, 대장(맹장, 결장), 쓸개를 갖는 간, 기관지를 갖는 폐, 림프절, 췌장, 점액샘, 요도를 갖는 전립선, 침샘, 좌골신경, 골격근육, 피부, 소장(십이지장, 공장, 회장), 척수, 비장, 위, 고환, 흉선, 부갑상선을 갖는 갑상선, 혀, 호흡관, 방광과 전체 장애조직이 있다.

- [0132] 처리된 동물 아니면 비교 동물에 대하여 연구를 하는 동안 기준선에서 혈액학 또는 혈액 화학의 현저한 변화는 없었다. 3 개월 희생물에서의 전체 및 조직학적 평가에 있어서는 이러한 LHRH 길항물질에서 기대한, 고환과 전립선의 변환을 제외하고, PPI-149-CMC 처리개와 비교(부형제-처리)동물 사이에서 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다.

- [0133] PPI-149-CMC 약동력학에 있어서, 여러가지 재구성 부형제에 재현탁된 1,2 mg/kg PPI-149-CMC 로 처리되고

IM 또는 SC 에 투여된 모든 개는 유사한 혈장 PPI-149 약동력학적 형상을 나타내며, 혈장 농도는 첫번째 2 일에 최고점에 도달한후 다음달에 지수 방법에서 서서히 감소한다. PPI-149-CMC 는 연구에 사용된 세가지 재구성 부형제중 어느것에 현탁시켰을때 PPI-149 의 유사한 혈장 분포를 나타냈다.

[0134] PPI-149-CMC 내분비샘 효능에 있어서, 테스토스테론의 거세 수준(<1.6 mg/ml)은 모든 개에 투약한 PPI-149-CMC 의 초기 24 시간내에 관찰되었고, 수준은 일반적으로 재구성 부형제의 투여 또는 선택의 방법에 관계없이 첫번째 달동안 거세 범위에 남아있었다. 35 마리 개중 이십육(26)마리(75 %)는 29 일에 PPI-149-CMC 의 두번째 투약량을 투여하기 직전에 얻은 혈액 시료에서 테스토스테론의 거세 수준을 가졌다. 이러한 결과는 개에 1.2 mg/kg 의 초기 투약량이 혈장 테스토스테론의 신속하고, 장기간-지속적 억압(> 28 일)을 성공적으로 유도함을 나타낸다. 두번째 달의 투약에서, "유지" 투약량(초기 투약량 보다 더 낮은 투약량)의 효능을 연구했을때, 그결과는 PPI-149-CMC 의 0.3 또는 0.6 mg/kg 을 투여하면 35 마리의 개중 30 마리가 20 일 이상 동안 테스토스테론의 거세 수준을 유지했음을 나타낸다. 처리 두번째 달 끝에(57 일), 35 마리의 개중 21 마리(60 %)가 거세에 남은 반면에, 14 마리의 동물은 정상 범위(> 0.6 % mg/ml)의 테스토스테론을 가졌다. 1.2 mg/kg 의 투약량은 세번째 달 초기에 투여했다. PPI-149 의 혈장 농도는 다음 28 일기간동안 지속되는 반면에 테스토스테론의 혈장 수준은 다시 "거세" 에 있었다. 세번째 달 말에(85 일), 테스토스테론의 혈장 수준은 35 마리의 PPI-149-CMC-처리 개중 30 마리가 거세 범위에 있음을 나타낸다.

[0135] 요약하면, 삼십오(35)마리의 개는 여러가지 재구성 부형제를 IM 또는 SC 투약에 사용했을때, 1 일에 1.2 mg/kg PPI-149-CMC 29 일에 0.3 또는 0.6 mg/kg 과 57 일에 1.2 mg/kg PPI-149-CMC 를 수용했다. 이들 35 마리 개중, 19 마리 동물(54 %)은 전체치료과정동안 거세 범위에 남아있는 혈장 테스토스테론 수준을 가졌다. 따라서, 28 일 간격으로 PPI-149-CMC 을 투여하면 신속하고(모든 동물이 24 시간 내에 거세 수준을 갖는다)장기간 - 지속(투여 과정에서 유지된다)하는 혈장 테스토스테론의 완전한 억압을 가져올수 있다.

[0136] 상술한 것과 유사한 연구를 개에서 6 개월 동안 행하여 PPI-149-CMC 의 장기간 안전과 효능특성을 더 평가한다. 동물들은 IM 또는 SC 에 1.2 mg/kg PPI-149-CMC 의 초기 투약량과 28 일 간격으로 다섯번의 투약량(0.3 mg/kg, 0.6 mg/kg 또는 1.2 mg/kg)을 수용했다. 혈장 테스토스테론과 PPI-149 수준은 규칙적인 간격으로 방사면역측정법으로 평가한다. 대표적인 결과는 도 4(SC 처리에 대하여)와 도 5(IM 처리에 대하여)에 표시했고, 이는 혈장 테스토스테론 수준(개방 박스)과 PPI-149 수준(밀폐 박스)을 예시한 것이다. PPI-149-CMC 의 각 투여에 사용된 특별한 투약량은 그래프에 표시했다. 도 4 와 5 에 예시된 결과는 28 일 간격에서 PPI-149-CMC 를 투여하면 신속하고 장기간-지속하는 혈장 테스토스테론의 완전한 억압을 가져올수 있음을 좀더 증명하며, 감소된 혈장 테스토스테론 수준은 6 개월동안 유지된다.

[0137] 동등한 내용설명

[0138] 본 분야의 전문가는 여기에 기재된 본 발명의 특수한 구성에 대한 여러가지 동등한 내용을 일상적인 실험을 이용하지 않고도 인식할 수 있고, 또는 확인 할 수 있을 것이다. 이와같은 동등한 내용은 다음 특허청구범위에 의하여 완성될 것이다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1 은 PPI-149 와 카르복시메틸셀룰로오스의 복합체를 근육내 주사한 다음의 시간동안 랫(좌측 그래프)과 개(우측 그래프)의 혈장 테스토스테론 수준(ng/ml ; 개방 흑색 박스)과 혈장 PPI-149 수

준(ng/ml ; 밀폐 박스)을 나타낸 그래프를 나타낸다.

[0010] 도 2 는 0 일에 LHRH 길항물질 PPI-149 와 카르복시메틸셀룰로오스의 복합체를 근육내에 주사하고 30 일에 LHRH 작용제 LupronTM 을 주사한 다음의 시간동안 랫의 혈장 테스토스테론 수준(ng/ml ; 개방 박스)과 혈장 PPI-149 수준(ng/ml ; 밀폐 박스)을 나타내고, PPI-149 선처리에 의한 LupronTM - 유도 테스토스테론 급상승의 억제를 증명하는 그래프이다.

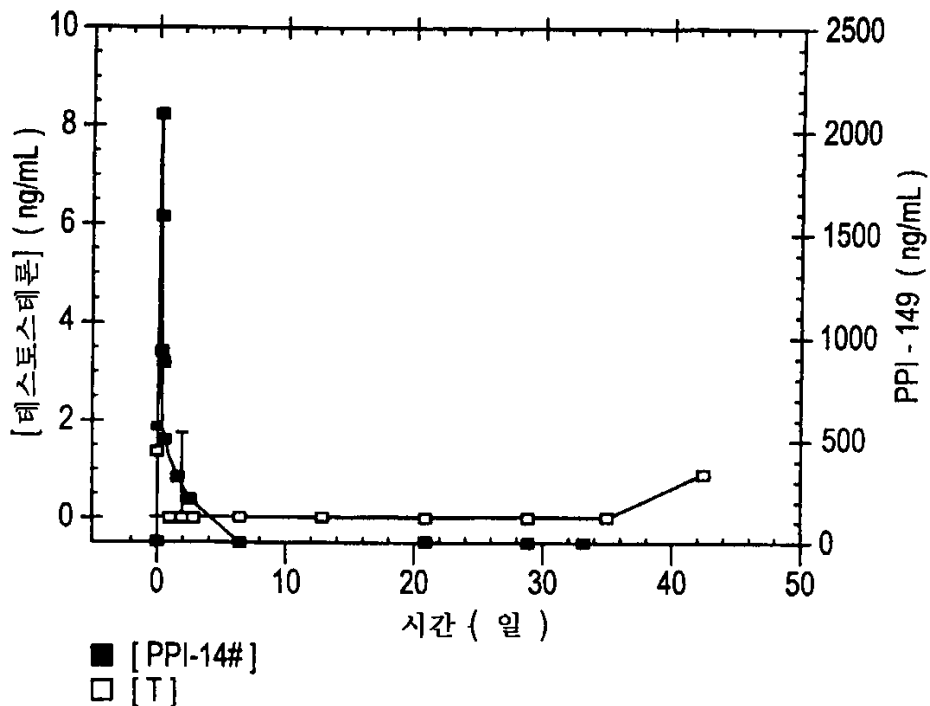
[0011] 도 3A - 3C 는 PPI - 149 - CMC(도 3A), PPI - 258 - CMC(도 3B) 또는 CetrorelixTM-CMC(도 3C)를 근육내 주사한 다음의 시간 동안 수컷의 스프래그 도리 랫의 혈장 테스토스테론 수준(ng/ml)을 나타낸 일련의 그래프이다.

[0012] 도 4 는 28 일 간격으로 표시된 투약량으로 PPI-149-CMC 를 피하주사한 다음의 시간동안 개의 혈장 테스토스테론 수준(ng/ml ; 개방 박스)과 혈장 PPI-149 수준(ng/ml ; 밀폐 박스)을 나타내고, 혈장 테스토스테론 수준의 연장된 억제를 증명하는 그래프이다.

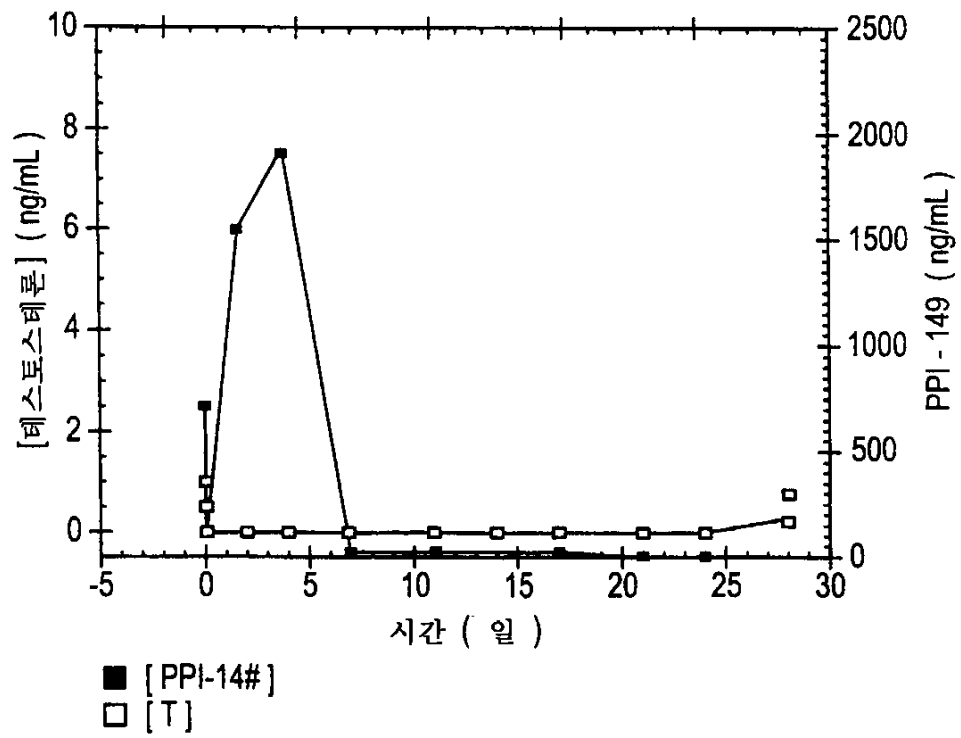
[0013] 도 5 는 28 일 간격으로 표시된 투약량으로 PPI-149-CMC 를 근육내 주사한 다음의 시간동안 개의 혈장 테스토스테론 수준(ng/ml ; 개방 박스)과 혈장 PPI-149(ng/ml ; 밀폐 박스)을 나타내고, 혈장 테스토스테론 수준의 연장된 억제를 증명하는 그래프이다.

도면

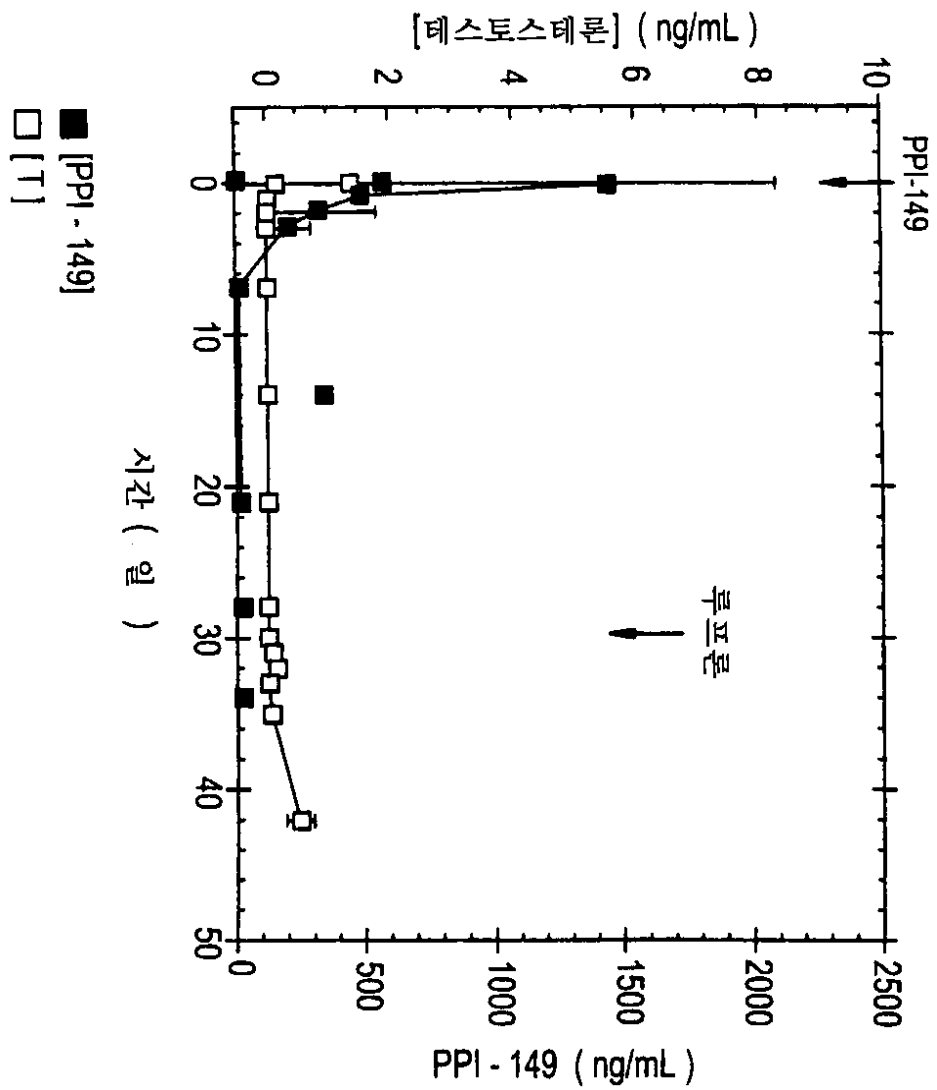
도면1A



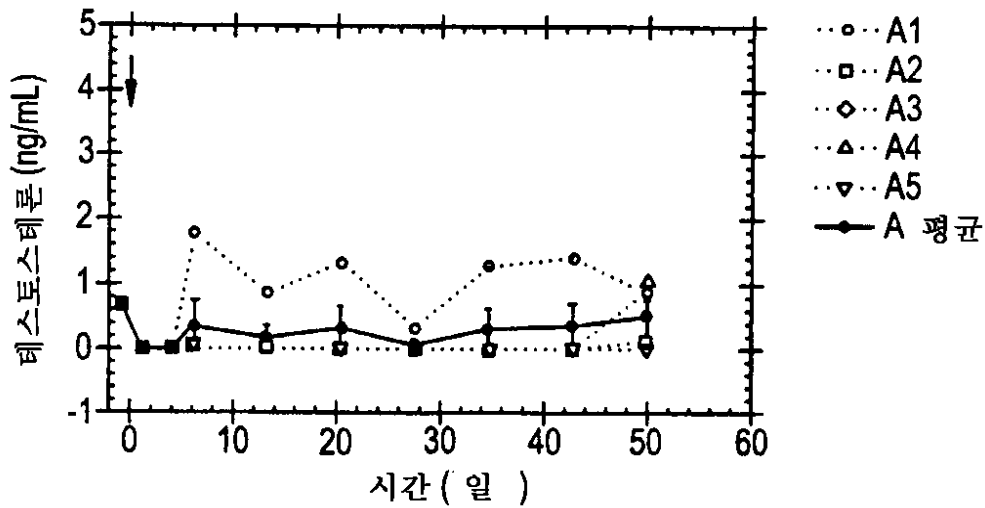
도면1B



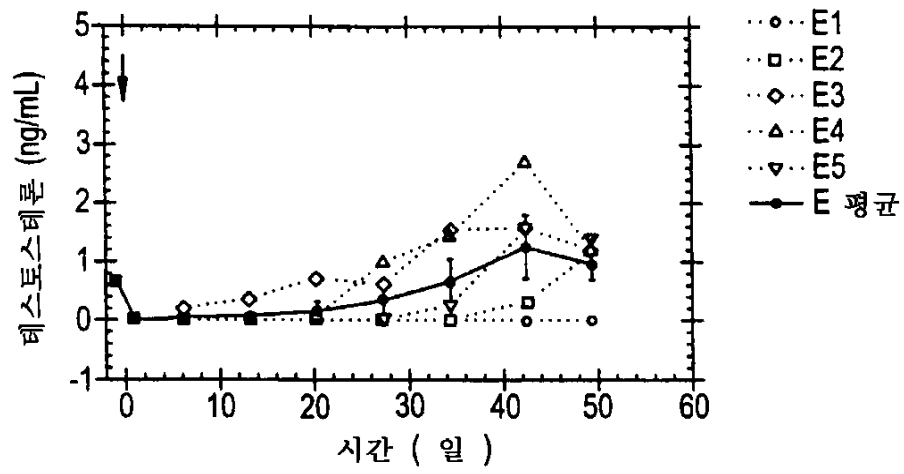
도면2



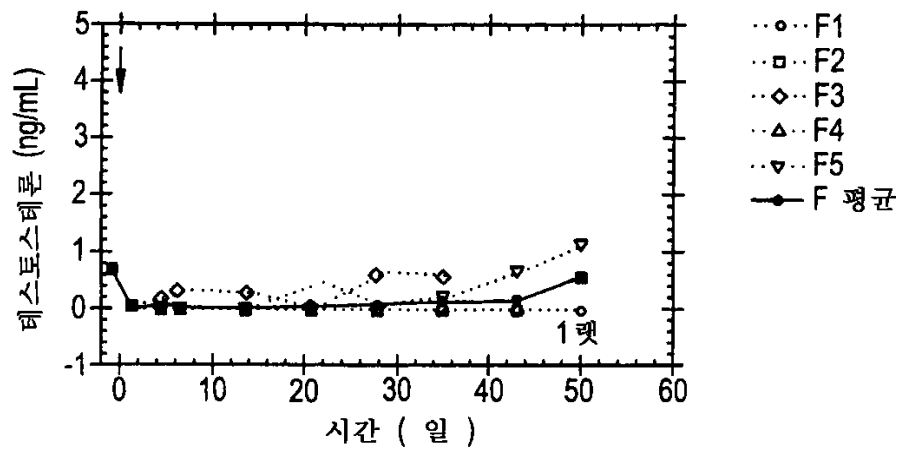
도면3A



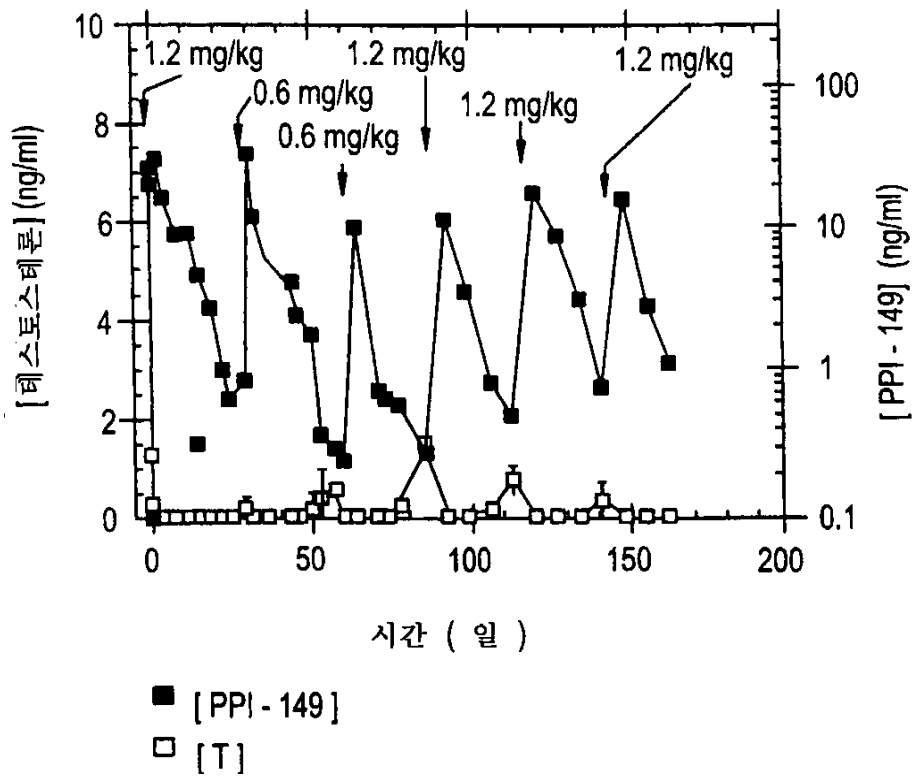
도면3B



도면3C



도면4



도면5

