



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0102995
(43) 공개일자 2015년09월09일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/145 (2006.01) A61K 47/32 (2006.01)
(52) CPC특허분류(Coo. Cl.)
A61K 9/0073 (2013.01)
A61K 39/145 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7016766
(22) 출원일자(국제) 2013년10월23일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2015년06월23일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2013/078721
(87) 국제공개번호 WO 2014/103488
국제공개일자 2014년07월03일
(30) 우선권주장
JP-P-2012-287900 2012년12월28일 일본(JP)

(71) 출원인
고쿠리쵸 간센쇼 겐큐쇼쵸가 다이효스루 니혼고꾸
일본국 162-8640 도쿄도 신주쿠구 토야마 1 초메
23-1
도쿄 야쿠힌 교교 가부시카가이사
일본 오사카후 오사카시 기타구 나니와쵸 14-25
(72) 발명자
하세가와, 히데키
일본국 도쿄도 신주쿠구 토야마 1초메 23-1 국립
감염증연구소 내
스즈키, 타다키
일본국 도쿄도 신주쿠구 토야마 1초메 23-1 국립
감염증연구소 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김윤배, 강철중

전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 경비 인플루엔자 백신 조성물

(57) 요약

본 발명은 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 및 카르복시비닐폴리머를 함유하는 겔 기재를 포함하고 애주 번트를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류(Coo. C1.)

A61K 47/32 (2013.01)

A61K 9/0043 (2013.01)

A61K 2039/5252 (2013.01)

A61K 2039/543 (2013.01)

A61K 2039/55555 (2013.01)

C12N 2760/16134 (2013.01)

C12N 2760/16234 (2013.01)

(72) 발명자

아이나이, 아키라

일본국 도쿄도 신주쿠구 토야마 1쵸메 23-1 국립감염
염증연구소 내

카미시타, 타이조

일본국 오사카후 오사카시 기타구 나니와쵸 14-25
도쿄 야쿠힌 교교 가부시키키가이샤 내

미야자키, 타카시

일본국 오사카후 오사카시 기타구 나니와쵸 14-25
도쿄 야쿠힌 교교 가부시키키가이샤 내

특허청구의 범위

청구항 1

(i) 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자(inactivated whole influenza virion) 및 (ii) 분무 성능을 부가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머를 함유하는 겔 기재를 포함하고, 에쥬번트를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는, 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

(i)의 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자가 1 종의 백신 바이러스 주 당 1 ~ 500 $\mu\text{gHA/mL}$ 인, 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

0.1 w/v% 내지 1.0 w/v%의 카르복시비닐폴리머를 함유하는, 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

분무 성능은, (1) 제제 입도 분포, (2) 분무 밀도 균일성, 및/또는 (3) 분사 각도를 조절하기 위한 것인, 경비 점막 스프레이 투여 형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

0.5 w/v% 내지 2.0 w/v%의 카르복시비닐폴리머를 함유하는 겔 기재를 이용하여, 분무 성능으로, (1) 제제 입도 분포, (2) 분무 밀도 균일성, 및/또는 (3) 분사 각도를 조절하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리하여 스프레이 투여 겔 기재 물질을 얻은 후, 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자를 포함하는 바이러스 원액과 스트레스를 가하지 않고 단시간에 균일하게 혼합하여 얻을 수 있는, 경비 점막 스프레이 투여 형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

외부에서 전단력을 가하여, (1) 제제 입도 분포에서 제제 평균 입경이 30 μm 내지 80 μm 의 범위, 입도 분포가 10 μm 내지 100 μm 의 범위가 80 % 이상이며, (2) 분무 밀도가 치우치지 않는 균등한 풀콘형이며, (3) 분사 각도가 30° 내지 70°의 범위로 제어된 분무 성능을 부가한 카르복시비닐폴리머 함유 스프레이 투여 겔 기재를 이용하여 제조하는, 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 7

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

외부에서 전단력을 가하여, (1) 제제 입도 분포에서 제제 평균 입도가 40 μm 내지 70 μm 의 범위, 입도 분포가 10 μm 내지 100 μm 의 범위가 90% 이상이며, (2) 분무 밀도가 치우치지 않는 균등한 풀콘형이며, (3) 분사 각도가 40° 내지 60°의 범위로 제어된 분무 성능을 부가한 카르복시비닐폴리머 함유 스프레이 투여 겔 기재를 이용하여 제조하는, 경비 점막 스프레이 투여 형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,

펌프 기능이 없는 스프레이 가능한 장치를 이용하여 분무 투여를 가능하게 하기 위해, (1) 제제 입도 분포 범위, (2) 분무 밀도 균일성, (3) 분사 각도 제어를 추가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시 비닐폴리머를 함유하는 스프레이 투여 겔 기재를 이용한, 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항의 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물을, 그것을 필요로 하는 대상에 각 비공으로부터 비강 내 점막에 점성 제제를 분무 가능하게 하는 장치를 이용하여 투여하는 것을 포함하는 인플루엔자의 예방 방법.

청구항 10

인플루엔자를 예방하기 위한, 제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항의 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물의 사용.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 경비(nasal) 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 인플루엔자는 인플루엔자 바이러스에 의한 급성 호흡기 감염증이며, 특히 겨울에 있어서는 매년 유행한다. 또한 세계적인 대유행이 되는 경우도 있고, 중증 화하고 죽음에 이르는 경우도 적지 않다. 인플루엔자에 대해서는, 인플루엔자 백신을 접종하는 것에 의해 일정한 예방 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 유행시기 전에 널리 접종이 이루어지고 있다.

[0003] 인플루엔자 백신은 일본에서는 인플루엔자 바이러스 항원의 불활화 단백질 성분을 피하 주사하는 것만이 허용되고 있으며, 현재 이 스플릿 백신이 계절성 인플루엔자 백신으로 이용되고있다. 이러한 피하 접종 백신은 폐렴과 같은 인플루엔자 중증화 예방에는 효과가 높지만, 인플루엔자 바이러스의 감염부위인 상기도 점막에 대해서 항체 유도능이 낮고, 감염 방어 효과가 충분하다고는 말할 수 없다. 또한 주사 투여에 의한 통증과 접종부위염증 등의 부작용이 관찰된다는 문제점도있다.

[0004] 이러한 문제점 때문에 현재까지 다양한 측면에서 많은 시도가 이루어지고 있으며, 새로운 백신 접종 방법으로 경비 투여(nasal administration)형 백신이 주목 받고있다. 그러나 현재 범용되고있는 스플릿 백신을 그대로 경비 투여한 경우에는 인플루엔자 바이러스에 대한 양호한 면역 반응을 유도하지 못한다는 것이 실험 동물 및 인간에서보고되고있다.

[0005] 이런 가운데 대장균 이열성 독소를 애주번트로 사용한 세계 최초의 스플릿 백신의 경비 투여형 인플루엔자 백신이 스위스에서 허용되어 2000 년 10 월부터 판매되고 있었지만 [Berna Biotech 사 (스위스) 제 상품명 Nasalflu], 애주번트의 독성 때문에 2004 년 2 월에 임상 사용이 중지되어 있다. 또한 특허 문헌 1에도 애주번트를 포함하는 경비 투여형 인플루엔자 백신이 개시되어 있으며, 애주번트를 포함하여 면역 유도능이 향상된 것이 나타나 있지만, 실용화를 위해서는 사용된 애주번트의 독성이 우려된다.

[0006] 또한 경비 투여시에도 복잡한 비강내 구조에 대해 광범위하게 인플루엔자 백신을 골고루 퍼뜨리고 오랫동안 정착·체류시키는 것이 요구되고 있으며, 특허 문헌 2에 표시된 기제로 스프레이 방식으로 투여하는 것 등이 필요하다.

[0007] 이상과 같이 피하 및 근육 내 등에 접종하는 기존의 인플루엔자 백신에서 차세대 인플루엔자 백신으로 경비 투여형 백신으로의 개발과 실용화가 요구되고는 있지만, 면역 유도능을 향상시키기 위해 사용되는 애주번트의 독성을 어떻게 소화할지 등 실용화를 향해서는 여러 가지 문제가 있었다.

[0008] 선행 기술 문헌

[0009] 특허 문헌

[0010] 특허 문헌 1 : W02010 / 114169

[0011] 특허 문헌 2 : W02007 / 123193

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 본 발명의 목적은 이전에 승인되어 이용되고 있던 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 백신을 항원으로 사용하여, 애주번트를 이용하지 않고, 더 적은 항원량에서 유효하고 또한 부작용 반응이 적은 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물 및 그 제조 방법 및 인플루엔자의 예방 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명자들은 상기 문제점을 감안하여 예의 검토 한 결과, 분무 성능을 부가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머로 이루어진 경비 점막 스프레이 투여 겔 기재를 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 백신과 조합하는 것에 의해, 애주번트를 사용하지 않고 인간에게 면역 유도능을 높일 수 있다는 것을 발견함으로써 본 발명을 완성하기에 이르렀다. 즉, 본 발명은 아래와 같다.

[0014] [1] (i) 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자(inactivated whole influenza virion) 및 (ii) 분무 성능을 부가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머를 함유하는 겔 기재를 포함하고,

[0015] 애주번트를 포함하지 않는 것을 특징으로 하는 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0016] [2] (i)의 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자가 1 종의 백신 바이러스 주 당 1 ~ 500 μ gHA/mL인, [1]에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0017] [3] 0.1 w/v% 내지 1.0 w/v%의 카르복시비닐폴리머를 함유하는, [1] 또는 [2]에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0018] [4] 분무 성능으로, (1) 제제 입도 분포 범위, (2) 분무 밀도 균일성, 및/또는 (3) 분사 각도 제어를 추가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머를 함유하는 스프레이 투여 겔 기재를 이용한, [1] 내지 [3] 중 어느 하나에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0019] [5] 0.5 w/v% 내지 2.0 w/v%의 카르복시비닐폴리머를 함유하는 겔 기재를 이용하여, 분무 성능으로, (1) 제제 입도 분포 범위, (2) 분무 밀도 균일성, 및/또는 (3) 분사 각도 제어를 추가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리하여 스프레이 투여 겔 기재를 얻은 후, 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자를 포함하는 바이러스 원액과 스트레스를 가하지 않고 단시간에 균일하게 혼합하여 얻을 수 있는, [1] 내지 [4] 중 어느 하나에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0020] [6] 카르복시비닐폴리머를 함유하는 기재에 외부에서 전단력을 가하여, (1) 제제 입도 분포에서 제제 평균 입경이 30 μ m 내지 80 μ m의 범위, 입도 분포가 10 μ m 내지 100 μ m의 범위가 80 % 이상이며, (2) 분무 밀도가 치우치지 않는 균등한 풀콘이며, (3) 분사 각도가 30° 내지 70°의 범위로 제어된 분무 성능을 부가한 스프레이 투여 겔 기재를 이용하여 제조하는, [1] 내지 [5] 중 어느 하나에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0021] [7] 카르복시비닐폴리머를 함유하는 기재에 외부에서 전단력을 가하여, (1) 제제 입도 분포에서 제제 평균 입도가 40 μ m 내지 70 μ m의 범위, 입도 분포가 10 μ m 내지 100 μ m의 범위가 90% 이상이며, (2) 분무 밀도가 치우치지 않는 균등한 풀콘이며, (3) 분사 각도가 40° 내지 60°의 범위로 제어된 분무 성능을 부가한 스프레이 투여 겔 기재를 이용하여 제조하는, [1] 내지 [5] 중 어느 하나에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0022] [8] 펌프 기능이 없는 스프레이 가능한 장치를 이용하여 분무 투여를 가능하게 하기 위해, (1) 제제 입도 분포 범위, (2) 분무 밀도 균일성, (3) 분사 각도 제어를 추가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머를 함유하는 스프레이 투여 겔 기재를 이용한, [1] 내지 [7] 중 어느 하나에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물.

[0023] [9] [1] 내지 [8] 중 어느 하나에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물을, 그것을 필요로 하는 대상에 각 비공으로부터 비강 내 점막에 점성 제제를 분무 가능하게하는 장치를 이용하여 투여하는 것을

포함하는 인플루엔자의 예방 방법.

- [0024] [10] 인플루엔자를 예방하기 위한, [1] 내지 [8] 중 어느 하나에 기재된 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물의 사용.

발명의 효과

- [0025] 본 발명에 따르면, 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자를 유효 성분으로, 애주번트를 이용하지 않고 더 적은 항원량에서 유효한 면역 반응을 유도하고, 또한, 애주번트를 사용하지 않기 때문에 부작용이 적은 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물을 제공하는 것이 가능하기 때문에, 인플루엔자의 유행에 정확하게 대처할 수 있다.
- [0026] 본 발명의 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물은, 분무 성능을 부가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머로 이루어진 경비 점막 스프레이 투여 겔 기재를 함유하기 때문에, 비강 점막에 넓게 오랫동안 전착·체류함으로써 더 적은 항원량에서 유효한 면역 반응을 유도 가능하다.
- [0027] 본 발명의 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물의 제조 방법에 따르면, 스트레스를 가하지 않고 단시간에 처리 할 수 있기 때문에 바이러스 불활화 전입자의 항원성을 양호하게 유지할 수 있고, 유효한 면역 응답을 유도하고, 또한 부작용이 적은 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물을 제공 할 수 있다.
- [0028] 또한, 본 발명은 면역 증강제인 애주번트를 포함하지 않지만, 인플루엔자 바이러스 백신과 애주번트로 이루어진 조성물과 동등하거나 더 강한 상기도 점막 및 전신의 면역 유도를 제공 할 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 본 발명은 분무 성능을 부가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머로 이루어진 경비 점막 스프레이 투여 겔 기재와 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 함유 애주번트를 이용하지 않는 것을 특징으로 하는 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물을 제공한다.
- [0030] 본 발명에서 사용하는 『분무 성능을 부가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머를 함유하는 겔 기재』는 예를 들면 W02007 / 123193에 개시된 『피부·점막 부착제를 함유하는 겔 기재』를 의미하며, 카르복시비닐폴리머를 함유하고, 젤란검을 적절히 함유하고, 외부에서 전단력을 가하여 점도를 조정한 기재이다. 소요 기재는 외부에서 전단력을 가하여 다양한 점도로 조절할 수 있으며, 분무 용기로부터의 분사 각도, 분사 밀도를 목적에 맞게 관리할 수 있는 것을 특징으로 한다. 또한 개발 도상국에서 많은 사람에게 접종 및 전염병 대비로는, W02007/123193 및 W02007/123207에 기재되어 있는 멀티 도즈 분무용기로서 상향 배압 에어리스 식 분무 용기를 이용하여, 분무 용기의 투여가 어떠한 각도 또는 각도의 범위에서도 용기내 잔량 없이 사용할 수 있으며, 그 목적을 달성 할 수 있다. 본 발명은 이러한 스프레이 투여 겔 기재를 이용함으로써 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자의 비강 점막에서의 전착성을 광범위하게 장시간 향상시키는 것에 의해 백신의 면역 원성이 강화되는 것이다.
- [0031] 경비 점막 스프레이 투여용 기재의 원료가 되는 카르복시비닐폴리머는 아크릴산을 주성분으로 중합하여 얻어지는 친수성 폴리머이며, 수성 겔제를 제조하기 위해 통상적으로 사용되는 의약품첨가물(부형제)을 제한 없이 사용할 수 있다.
- [0032] 분무 성능을 부가하기 위해 외부에서 전단력을 가하여 처리한 카르복시비닐폴리머를 함유하는 겔 기재의 함량은 카르복시비닐폴리머의 함량으로 환산하여 0.1 ~ 1.0 % w/v이고, 바람직하게는 0.3 ~ 0.7 w/v%이다.
- [0033] 본 발명의 백신은 항원으로 인플루엔자 바이러스 불활화 항원 입자를 함유하는 것을 특징으로 한다. 본 발명에서 이용되는 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자는 인플루엔자 바이러스를 배양하여 얻은 바이러스 부유액에서 바이러스의 형태를 유지한 채로 정제된 바이러스 입자를 말한다. 따라서, 본 발명의 인플루엔자 백신은 서브비리온을 포함하는 스플릿 백신 및 정제 HA 또는 NA를 포함하는 서브유닛 백신을 제외한 백신을 의미하며, 전입자 백신이라고도 불린다.
- [0034] 상기 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자는 계면 활성제 및 에테르류의 비존재 하에 바이러스 부유액으로부터 정제된 것이 바람직하다. 경비 점막 스프레이 투여 겔 기재와 혼합을 위해 정제 또는 농축된 불활화 인플루엔자 바이러스 전입자를 포함하는 바이러스 액을 바이러스 원액라고 칭한다. 본 발명의 백신은 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자의 농도가 1 종의 백신 바이러스 주 당 1~500 μ gHA/mL (HA 환산)인 것이 바람직하고,

20~250 μ gHA/mL (HA 환산)이 더욱 바람직하다. 상기 농도는 HA 단백질의 농도를 측정함으로써 얻어진다.

- [0035] 본 발명에서 인플루엔자 바이러스는 현재 알려진 모든 유형 및 아형, 및 향후 단리, 동정되는 유형 및 아형을 포함한다. 또한 추가적으로, 지금까지 인간에서의 유행이 관찰되지 않고, 향후 인간에의 감염을 유효하게 방지한다는 관점에서 인플루엔자 바이러스 A 형의 H1과 H3을 제외한 H1~16 (즉, H2 및 H4~16)에서 선택된 아형과 N1~9에서 선택된 아형과의 조합으로 이루어진 아형이 바람직하다. 이러한 아형은 신종 플루 바이러스라고도 한다. 상기 아형은 H5, 7 및 9에서 선택되는 아형과 N1~9에서 선택되는 아형과의 조합이 더욱 바람직하다. 인플루엔자 바이러스는 동일한 아형에 속하는 1 종의 주일 수도 있고, 동일한 아형에 속하는 2 종 이상의 주일 수도 있고, 다른 아형에 속하는 2 종 이상의 주일 수도 있다.
- [0036] 또한 인플루엔자 바이러스는 감염 동물 또는 환자에서 분리된 주일 수도, 유전공학적으로 배양 세포에서 수립된 재조합 바이러스일 수도 있다. 인플루엔자 바이러스의 배양 방법은 달걀의 요막강내에 바이러스를 접종하여 배양할 수도 있고, 배양 세포에 감염시켜 배양할 수도 있다.
- [0037] 애주번트는 면역반응의 강화나 억제 등의 조절 활성을 갖는 물질의 총칭이며, 항원의 면역원성을 높이기 위해 백신에 첨가되는 면역 증강제이며, 지금까지 많은 물질이 검토 되어있다. 한편, 애주번트를 사용함으로써 백신의 면역 효과는 향상하는 반면, 염증 등의 부작용이 생긴다는 단점도 있다. 당연히, 경비 투여 백신의 애주번트로도 여러 후보가 제기되지만, 널리 안전성이 인정되고있는 애주번트가 없기 때문에 유효성·안전성이 확립되는 애주번트를 함유하는 경비 투여 백신은 아직 허가되지 않았다.
- [0038] 본 발명자는 상기와 같이 뛰어난 분무 성능을 가진 비강 점막 전착률이 높은 경비 점막 스프레이 투여 겔 기재를 상기 전입자 백신에 대해 사용함으로써, 애주번트를 사용하지 않고 더욱 적은 항원량으로 유효하고 부작용이 적은 백신을 얻을 수 있으며, 점조성이 높은 겔 기재도 분무 가능하게 하는 장치와 조합하는 것에 의해서 분무된 제제 평균 입경이 30 μ m 내지 80 μ m의 범위 (바람직하게는 40 μ m 내지 70 μ m의 범위)의 적절한 범위, 입도 분포가 10 μ m 내지 100 μ m의 범위에 80% 이상 (바람직하게는 10 μ m 내지 100 μ m 범위에 90 %)이며, 비강 내의 필요한 부위에 투여 할 수 있도록 장치에서의 분사 각도를 30° 내지 70°의 범위 (바람직하게는 40° 내지 60°의 범위)로 하여, 분사 밀도를 풀콘 균등하게 비강내 분무 투여를 가능하게 하는 경비 점막 스프레이 투여형 인플루엔자 백신 조성물을 찾아내고, 그 제법 및 그것을 이용한 예방 방법을 발견하는 것에 의해 본 발명에 이르렀다.
- [0039] 본 발명의 백신은 인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 및 경비 점막 스프레이 투여 겔 기재 이외에, 추가로 의약품에 허용될 수있는 담체를 포함 할 수 있다. 상기 담체로는 백신 및 비강 내 투여형 제제의 제조에 통상적으로 사용되는 담체를 사용할 수 있으며, 구체적으로는 식염수, 완충 식염수, 텍스트로스, 물, 글리세린, 등장수성 완충액 및 이들의 조합을 들 수 있다. 또한 이에 보존제 (예를 들어, 티메로살), 등장화제, pH 조절제, 계면활성제 및 불활화제 (예를 들어, 포르말린) 등이 적절하게 배합된다.
- [0040] 본 발명의 백신은 비강에 분무 투여하는 것이다.
- [0041] 본 발명의 백신을 이용하여 인플루엔자를 예방하거나 증상을 완화 할 수있다.
- [0042] 백신의 투여 방법으로는 멀티 도즈 스프레이 점비(点鼻)용기 또는 양쪽 콧 구멍에 대해 펌프 기능이 없는 스프레이 가능한 장치, 일반적으로 펌프 기능이 없는 스프레이 가능한 일회용 장치를 사용할 수 있다.
- [0043] 투여량은 대상의 연령, 성별, 체중 등을 고려하여 결정되지만, 항원으로서 1 종 백신 바이러스 주 당 보통 1~150 μ g HA, 바람직하게는 5 ~ 50 μ g HA를 1 회 또는 2 회 이상 투여할 수 있다. 가급적 여러 번 투여하며, 이 경우 1~4 주 간격으로 투여하는 것이 바람직하다.
- [0044] 실시예
- [0045] 이하, 실시예에 의해 본 발명을 상세하게 설명하지만, 본 발명은 이러한 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.
- [0046] 다음과 같은 방법으로 겔 기재 및 3 종의 바이러스 원액을 조제하고, 양자를 다음과 같이 혼합하여 실시예로서 인플루엔자 백신 조성물을 제조하였다.
- [0047] [겔 기재의 제조]

[0048]

겔 기재 예 1

성분	배합량	제조방법
카르복시비닐폴리머	11.0 mg	왼쪽에 기재한 성분 및 분량의 조합비대로 혼합하여 균질해질때 까지 교반한 후, 단속 제트류 발생형 고속회전형 유화장치에 의해 고속회전시켜 전단력을 가하여 점도를 적절히 조정처리한 기제를 90°C에서 20 분간 가열처리하여 스프레이 투여 겔 기제를 제조하였다. 성상 : 무색투명한 겔 기제로서, 거의 무취 pH : 7.15 점도 : 4,000 mPa·s
L-아르기닌	24.0 mg	
농축 글리세린	20.0 mg	
정제수	적량	
합계	1.0 mL	

[0049]

[0050]

[불활화 인플루엔자 바이러스 전입자를 포함하는 바이러스 원액 제조]

[0051]

바이러스 원액 예 1

성분	배합량	제조방법
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Victoria/210/2009 (H3N2)	180 µg HA	해당 백신 제조용 주를 부화계란의 요막강내에 접종하여 배양하고, 바이러스 부유액을 회수한다. 많은 액을 얻기 위하여, 원심분리 또는 여과를 수행하고, 농축을 위해 한외여과를 수행하고, 그 이후 바이러스 정제를 위해 설탕밀도구배원심분리등의 초원심을 수행하여, 정제 바이러스액을 수득하였다. 정제 바이러스액은 포르말린으로 불활화하여 불활화 정제 바이러스액으로 만든 다음, 한외여과를 수행하여 바이러스 원액을 제조하였다.
인산수소나트륨 수화물	3.53 mg	
인산이수소나트륨	0.54 mg	
염화나트륨	8.50 mg	
정제수	전량 1.0 mL	

[0052]

[0053]

바이러스 원액 예 2

성분	배합량	제조방법
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Indonesia/5/05 (H5N1)	180 µg HA	해당 백신 제조용 주를 부화계란의 요막강내에 접종하여 배양하고, 바이러스 부유액을 회수한다. 많은 액을 얻기 위하여, 원심분리 또는 여과를 수행하고, 농축을 위해 한외여과를 수행하고, 그 이후 바이러스 정제를 위해 설탕밀도구배원심분리등의 초원심을 수행하여, 정제 바이러스액을 수득하였다. 정제 바이러스액은 포르말린으로 불활화하여 불활화 정제 바이러스액으로 만든 다음, 한외여과를 수행하여 바이러스 원액을 제조하였다.
인산수소나트륨 수화물	3.53 mg	
인산이수소나트륨	0.54 mg	
염화나트륨	8.50 mg	
정제수	전량 1.0 mL	

[0054]

[0055]

바이러스 원액 예 3

성분	배합량	제조방법
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/California/7/2009 (H1N1) pdm09	60 µg HA	해당 백신 제조용 주를 부화계란의 요막강내에 접종하여 배양하고, 바이러스 부유액을 회수한다. 많은 액을 얻기 위하여, 원심분리 또는 여과를 수행하고, 농축을 위해 한외여과를 수행하고, 그 이후 바이러스 정제를 위해 설탕밀도구배원심분리등의 초원심을 수행하여, 정제 바이러스액을 수득하였다. 정제 바이러스액은 포르말린으로 불활화하여 불활화 정제 바이러스액으로 만든 다음, 한외여과를 수행하여 바이러스 원액을 제조하였다.
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Victoria/365/2011(H3N2)	60 µg HA	
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 B/Wisconsin/01/2010	60 µg HA	
인산수소나트륨 수화물	3.53mg	
인산이수소나트륨	0.54 mg	
염화나트륨	8.50 mg	
정제수	전량 1.0 mL	

[0056]

[0057]

[겔 기재와 바이러스 원액의 혼합]

[0058]

상기 겔 기재 예 1과 바이러스 원액 예 1-3을 각각 (1 : 1)의 비율로 혼합 교반하여 균일한 인플루엔자 백신 조

성물 실시예 1, 실시예 2 및 실시예 3을 얻었다. 각 실시예에서 얻어진 조성물의 조성 및 그 물성치/분무 성능을 아래 표에 나타내었다. 이 혼합 교반은 바이러스 불활화 전입자 항원에 스트레스를 가하지 않고 느린 혼합 교반으로 단시간에 달성 할 수 있다. 수득한 인플루엔자 백신 조성물의 성분 분량 및 물성치 및 적절한 장치를 이용하여 분무한 경우의 추가 된 분무 성능을 나타낸다.

실시예 1

성분	배합량	물성치/분무성능
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Victoria/210/2009 (H3N2)	90 µg HA	pH : 7.25 점도 : 500 mPa·s 펌프 기능이 없는 장치를 이용해 250 µL 분무한 경우의 분무성능 - 분무된 제제 평균 입경 : 52.7 µm - 입경 10 µm 내지 100 µm 범위 : 91.5% - 장치부터의 분무각도 : 53° - 분사밀도 : 풀콘 균등원형
카르복시비닐폴리머	5.50 mg	
L-아르기닌	12.00 mg	
농축 글리세린	10.00 mg	
인산수소나트륨 수화물	1.765 mg	
인산이수소나트륨	0.270 mg	
염화나트륨	4.25 mg	
정제수	적량	
합계	1.0 mL	

[0061]

실시예 2

성분	배합량	물성치/분무성능
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Indonesia/5/05(H5N1)	90 µg HA	pH : 7.10 점도 : 430 mPa·s 삼투압 : 293 mOsm 펌프 기능이 없는 장치를 이용해 250 µL 분무한 경우의 분무성능 - 분무된 제제 평균 입경 : 55.2 µm - 입경 10 µm 내지 100 µm 범위 : 95.0% - 장치부터의 분무각도 : 51° - 분사밀도 : 풀콘 균등원형
카르복시비닐폴리머	5.50 mg	
L-아르기닌	12.00 mg	
농축 글리세린	10.00 mg	
인산수소나트륨 수화물	1.765 mg	
인산이수소나트륨	0.270 mg	
염화나트륨	4.25 mg	
정제수	적량	
합계	1.0 mL	

[0062]

[0063]

실시예 3

성분	배합량	물성치/분무성능
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/California/7/2009 (H1N1) pdm09	30 µg HA	pH : 7.15 점도 : 520 mPa·s 삼투압 : 295 mOsm 펌프 가능하지 않은 장치를 이용해 250 µL 분무한 경우의 분무성능 - 분무된 제제 평균 입경 : 57.4 µm - 입경 10 µm 내지 100 µm 범위 : 95.0% - 장치부터의 분무각도 : 52° - 분사밀도 : 풀콘 균등원형
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Victoria/365/2011(H3N2)	30 µg HA	
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 B/Wisconsin/01/2010	30 µg HA	
카르복시비닐폴리머	5.50 mg	
L-아르기닌	12.00 mg	
농축 글리세린	10.00 mg	
인산수소나트륨 수화물	1.765 mg	
인산이수소나트륨	0.270 mg	
염화나트륨	4.25 mg	
정제수	적량	
합계	1.0 mL	

[0064]

[0065]

겔 기제를 포함하지 않는 인플루엔자 백신 조성물을, 상기 실시예에서 사용한 불활화 전입자 항원을 적절히 사

용하여 다음 표와 같은 조성으로 제조하여 비교예 1 ~ 4로 하였다.

비교예 1

성분	배합량
인플루엔자 바이러스 불활화 스플릿 항원 A/Uruguay/716/2007(H3N2)	90 µg HA
인산수소나트륨 수화물	3.53 mg
인산이수소나트륨	0.54 mg
염화나트륨	8.50 mg
정제수	적량
합계	1.0 mL

비교예 2

성분	배합량
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Indonesia/5/05 (H5N1)	90 µg HA
인산수소나트륨 수화물	3.53 mg
인산이수소나트륨	0.54 mg
염화나트륨	8.50 mg
정제수	적량
합계	1.0 mL

비교예 3

성분	배합량
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/California/7/2009 (H1N1) pdm09	30 µg HA
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 A/Victoria/365/2011(H3N2)	30 µg HA
인플루엔자 바이러스 불활화 전입자 항원 B/Wisconsin/01/2010	30 µg HA
인산수소나트륨 수화물	3.53 mg
인산이수소나트륨	0.54 mg
염화나트륨	8.50 mg
정제수	적량
합계	1.0 mL

비교예 4

성분	배합량
인플루엔자 바이러스 불활화 스플릿 항원 A/California/7/2009 (H1N1) pdm09	30 µg HA
인플루엔자 바이러스 불활화 스플릿 항원 A/Victoria/365/2011(H3N2)	30 µg HA
인플루엔자 바이러스 불활화 스플릿 항원 B/Wisconsin/01/2010	30 µg HA
인산수소나트륨 수화물	3.53 mg
인산이수소나트륨	0.54 mg
염화나트륨	8.50 mg
정제수	적량
합계	1.0 mL

면역 반응의 분석 시험 (1)

실시에 1 및 비교예 1에서 제조된 인플루엔자 백신 조성물을 적절한 일회용 장치로 각각 성인 자원자 4 명씩 3 주 간격으로 2 회, 한쪽 코에 0.25 mL를 경비 분무 접종 (양쪽 콧구멍 총 45 µgHA)했다.

차례대로 채혈 및 비강 세정액의 회수를 실시하고, 백신 주에 대한 중화 항체가를 측정하여 평가했다. 결과를 실시예 1은 표 1에, 비교예 1은 표 2에 나타내었다.

[표 1]

No.	성별	혈청 중화항체가			비강세정액 중화항체가		
		0주 후(pre)	3주 후	6주 후	0주 후(pre)	3주 후	6주 후
01	남	80	≥1280	≥1280	40	640	640
02	남	5	5	40	<20	<20	40
03	여	20	160	320	<20	40	40
04	여	640	≥1280	≥1280	40	40	160

[표 2]

No.	성별	혈청 중화항체가			비강세정액 중화항체가		
		0주 후(pre)	3주 후	6주 후	0주 후(pre)	3주 후	6주 후
01	남	40	160	160	20	80	160
02	남	<10	<10	10	20	20	80
03	남	20	20	20	40	80	320
04	남	<10	<10	<10	20	20	80

실시에 1 백신 (바이러스 원액 + 스프레이 투여 겔 기재)과 비교예 1 백신 (겔 기재를 포함하지 않는 불활화 스플릿 인플루엔자 바이러스 항원 조성물)을 비교하면, 비교예 1 백신에서는 혈청 중화 항체가는 3/4에서 항체가의 상승이 인정되고 있지 않지만, 실시예 1 백신에 있어서는 4/4에서 항체가의 상승이 인정되며, 그 정도도 유의하다는 것을 보여 주었다. 비강 세정액의 중화 항체가의 상승은 실시예 1과 비교예 1에서 둘 다 모든 대상자에서 인정되지만, 그 정도는 실시예 1 쪽이 크다고 확인할 수 있었다.

면역 반응의 분석 시험 (2)

실시에 2 및 비교예 2에서 제조된 인플루엔자 백신 조성물을 적절한 일회용 장치로 각각 성인 자원자 실시예 2 : 25 명, 비교예 2 : 24 명씩 3 주 간격으로 2 회, 다시 약 반년 후에 추가로 총 3 회 한쪽 코에 0.25 mL를 경

비 분무 접종 (양쪽 콧구멍 총 45 μ gHA)했다.

3 회 접종 3 주 후에 채혈 및 비강 세정액의 회수를 실시, 백신 주에 대한 중화 항체가를 측정하여 평가했다. 결과를 표 3에 나타내었다.

[표 3]

	A/Indonesia/5/05(H5N1)에 대한 중화항체가 추이							
	혈청				비강세정액			
	실시에 2		비교예 2		실시에 2		비교예 2	
	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
기하평균치* (GMT)	5.0 (<10)	164.5	5.0 (<10)	84.8	10.0 (<20)	105.6	10.0 (<20)	46.2
GMT 상승률		32.9		17.0		10.5		4.6

실시에 2 백신 (바이러스 원액 + 스프레이 투여 겔 기재)과 비교예 2 백신 (바이러스 원액 만)를 비교하면 스프레이 투여 겔 기재를 포함한 실시에 2 백신 쪽이 비교예 2 백신과 비교하여 그 응답은 명확히 높은 상승률이 인정되었다.

처음으로 인플루엔자 바이러스 항원에 접촉하는 나이브한 상태에있는 사람 (유아·소아)에서의 면역 반응은 유도하기 어렵다고 되어 있으며, 나이브한 개체에서의 면역 반응은 많은 건강한 성인이 접촉 한 적 없는 고병원성 조류 인플루엔자 바이러스 (H5N1 주) 백신에 대한 항체 반응을 고려하여 추정 할 수 있다고 생각된다.

위 결과에서 알 수 있듯이 나이브한 피험자에서도 실시에 2 백신 (바이러스 원액 + 스프레이 투여 겔 기재)의 경비 접종을 3 회 실시하여 혈청 및 비강 세정액 중에 높은 수준의 중화 항체가가 유도 된 것이 발견되었다.

면역 반응의 분석 시험 (3)

실시에 3, 비교예 3 및 비교예 4에서 제조된 인플루엔자 백신 조성물을 적절한 일회용 장치 및 피하 접종에서 각각 성인 자원자에게 실시에 3- 경비 접종 : 26 명, 비교예 3- 경비 접종 : 25 명씩 3 주 간격으로 2 회, 한쪽 코에 0.25 mL를 경비 분무 접종 (양쪽 콧구멍 총 15 μ gHA / 주 /0.5 mL) 및 비교예 4 (현행 백신) - 피하 주사 : 38 각 1 회 0.5 mL를 피하 접종 (15 μ gHA / 주 /0.5 mL) 하였다.

1 회 접종 또는 2 회 접종 3 주 후에 채혈 및 비강 세정액의 회수를 실시, 백신 주에 대한 중화 항체가를 측정하여 평가했다. 결과를 표 4에 나타내었다.

[표 4]

	A/Victoria/365/2011(H3N2)에 대한 중화항체가의 추이					
	혈청중화항체가					
	실시에 3		비교예 3		비교예 4	
	경비접종		경비접종		피하접종	
	pre	post	pre	post	pre	post
기하평균치* (GMT)	55.1	182.8	62.3	146.0	121.7	297.5
GMT 상승률		3.32		2.34		2.44

실시에 3 백신 (바이러스 원액 + 스프레이 투여 겔 기재)의 경비 접종과 비교예 3 백신 (바이러스 원액 만)의 경비 접종 및 비교예 4 백신 (현재 일본에서 사용되는 피하 접종 백신)의 피하 접종을 비교하면, 스프레이 투여 겔 기재를 포함한 실시에 3 백신의 비강 접종 쪽이 비교예 3 백신의 비강 접종 및 비교예 4 백신 피하 접종 (현행 백신)와 비교하여 그 응답은 명확히 높은 상승률이 인정되었다.