



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0034767
 (43) 공개일자 2012년04월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 9/40 (2006.01) A61K 9/20 (2006.01)
 A61K 9/06 (2006.01) A61P 27/14 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2012-7002506(분할)
 (22) 출원일자(국제) 2003년11월26일
 심사청구일자 2012년01월30일
 (62) 원출원 특허 10-2005-7009585
 원출원일자(국제) 2003년11월26일
 심사청구일자 2008년11월26일
 (85) 번역문제출일자 2012년01월30일
 (86) 국제출원번호 PCT/DK2003/000814
 (87) 국제공개번호 WO 2004/047794
 국제공개일자 2004년06월10일
 (30) 우선권주장
 60/429,086 2002년11월26일 미국(US)
 (뒷면에 계속)

(71) 출원인
알크-아벨로 에이/에스
 덴마크, 디케이-2970 허슬름, 보게 알레 6-8
 (72) 발명자
자코비 헨릭 휴고
 덴마크 디케이-2950 베데벡 트로로드뱅크 4
룬데가르드 안네테 톰펠마이어
 덴마크 디케이-2860 쇠보르그 바드가르드스베예
 22비
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
박장원

전체 청구항 수 : 총 25 항

(54) 발명의 명칭 **알레르겐 제형**

(57) 요약

본 발명은 알레르겐 함유 의약품 및 특히 급속 분산성의 고체 알레르겐 제형에 관한 것이다. 특히, 매트릭스와 한 가지 이상의 알레르겐을 함유하고 구강 점막 투여에 적합한 급속 분해되는 비압축 고체 제형이 제공된다. 적절한 매트릭스로서 젤라틴, 전분 및 만니톨이 있다. 제형을 위한 방법 또한 제공된다.

(72) 발명자

호고튼 크리스티안 가우권

덴마크 디케이-2820 겐토프테 씨.엘. 이브센스페예
23 비

아스물-올센 스티그

덴마크 디케이-2942 스코드스보르그 프라이덴룬드
스베예 9

마르케다할 리즈 룬드

덴마크 디케이-3480 프레덴스보르그 키르세베르하
벤 34

안더센 잔 원더가르드

덴마크 디케이-3400 힐러뢰드 트롤레스민데벵겏 12

(30) 우선권주장

PA 2002 01825 2002년11월26일 덴마크(DK)

PA 2003 00279 2003년02월24일 덴마크(DK)

특허청구의 범위

청구항 1

(a) 밀봉 용기에 수납되어 있으며 인간 타액 중 약 60초 내에서 분산되는 복수개의 급속 분산성 고체 경구 투여 제형 (여기서 상기 각각의 고체 경구 투여 제형은 밀봉 용기 안에 수납되어 있고 경구점막 투여에 적합한 알레르겐의 유효량을 포함하여 이루어진다)을 포함하여 이루어지며; 여기서

(b) 상기 알레르겐은 잔디 화분 알레르겐, 먼지 진드기 알레르겐, 두드러기썩 알레르겐, 삼나무 화분 알레르겐, 고양이 알레르겐, 자작나무 화분 알레르겐으로 이루어진 군에서 선택되는 것이고;

(c) 상기 고체 제형 각각은 동일한 양의 알레르겐을 포함하는 것인,

알레르기를 치료하거나 또는 알레르기 증상을 완화하기 위하여 투여량을 증가시킬 필요 없이 완전한 민감화를 달성하기 위한 것인 키트.

청구항 2

제1항에 있어서, 복수개의 고체 제형의 사용에 관한 지침을 추가로 포함하는 것인 키트.

청구항 3

제1항에 있어서, 각각의 고체 제형은 복수개의 블리스터 팩 중에 개별적으로 밀봉된 블리스터 내에 위치하는 것인 키트.

청구항 4

제1항에 있어서, 고체 제형은 젤라틴을 포함하는 것인 키트.

청구항 5

제4항에 있어서, 고체 제형은 만니톨을 추가로 포함하는 것인 키트.

청구항 6

제4항에 있어서, 젤라틴은 어류 젤라틴인 것인 키트.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 알레르겐의 유효량은 0.5 μg - 5 mg 추출물/고체 제형인 것인 키트.

청구항 8

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 알레르겐의 유효량은 0.05 μg - 5 mg 주요 알레르겐/고체 제형인 것인 키트.

청구항 9

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 고체 제형은 65 BAU - 17,600 BAU/고체 제형을 함유하는 것인 키트.

청구항 10

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 알레르겐은 잔디 화분 알레르겐인 것인 키트.

청구항 11

제10항에 있어서, 잔디 1군 알레르겐, 잔디 2/3군 알레르겐, 잔디 5군 알레르겐 및 잔디 6군 알레르겐으로 이루어진 군으로부터 선택된 잔디 화분 알레르겐을 포함하는 것인 키트.

청구항 12

제10항에 있어서, 알레르겐은 잔디 화분 추출물 형태인 것인 키트.

청구항 13

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 알레르겐은 먼지 진드기 알레르겐인 것인 키트.

청구항 14

제13항에 있어서, 진드기 1군 알레르겐 및 진드기 2군 알레르겐으로 이루어진 군으로부터 선택된 먼지 진드기 알레르겐을 포함하는 것인 키트.

청구항 15

제13항에 있어서, 알레르겐은 먼지 진드기 추출물 형태인 것인 키트.

청구항 16

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 알레르겐은 두드러기썩 화분 알레르겐인 것인 키트.

청구항 17

제16항에 있어서, 알레르겐은 두드러기썩 화분 추출물 형태인 것인 키트.

청구항 18

제16항에 있어서, 두드러기썩 화분 1군 및 두드러기썩 화분 2군으로 이루어진 군으로부터 선택된 두드러기썩 화분 알레르겐을 포함하는 것인 키트.

청구항 19

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 알레르겐은 고양이 알레르겐인 것인 키트.

청구항 20

제19항에 있어서, 알레르겐은 고양이 알레르겐 추출물 형태인 것인 키트.

청구항 21

제19항에 있어서, fel d 1 알레르겐을 포함하는 것인 키트.

청구항 22

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 알레르겐은 자작나무 화분 알레르겐인 것인 키트.

청구항 23

제22항에 있어서, 알레르겐은 자작나무 화분 알레르겐 추출물 형태인 것인 키트.

청구항 24

제22항에 있어서, bet v 1 알레르겐을 포함하는 것인 키트.

청구항 25

제1항 내지 제6항 중 어느 하나의 항에 있어서, 적어도 2종의 서로 다른 알레르겐을 포함하는 것인 키트.

명세서

기술분야

본 발명은 알레르겐을 함유하는 의약품에 관한 것으로, 특히, 신속하게 분산되는 고체 알레르겐 제형 및 이러한 제형의 제조 방법에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 알레르기(Allergy)는 생활 방식이 서구형으로 개조된 국가에서의 주요 보건 문제 중 하나이다. 또한, 이들 국가에서의 알레르기 질환의 유병률은 증가하고 있다. 일반적으로, 알레르기는 생명을 위협하는 질병으로 간주되지 않지만, 천식에 의하여 매년 상당한 수의 환자가 사망하고 있다. 10대들의 약 30%의 예외적인 유병률은 삶의 질, 활동 일수 및 비용 면에 있어서의 실질적인 손실을 가져오고, 서방 국가에서의 주요한 보건 문제로 분류되어 있다.
- [0003] 알레르기는 복합 질병이다. 많은 인자들이 민감화 상태에 기여한다. 이러한 인자들 중에, 아직 충분히 밝혀지지 않은 몇몇 유전자간 상호 작용에 의하여 정의되는 개인의 감수성이 있다. 다른 중요한 인자는 일정 역치 이상의 알레르겐 노출이다. 오염, 유년기 감염, 기생충 감염, 장 미생물 등의 몇몇 환경적 요인이 민감화 과정에 중요할 수 있다. 일단 개체가 민감화되고 알레르기성 면역 반응이 확립되면, 단지 미량의 알레르겐의 존재만으로도 유효하게 증상을 일으킬 수 있다.
- [0004] 알레르기 질환의 자연적 경과는 일반적으로 두 가지 수준의 악화 단계를 동반한다. 우선, 증상과 질병 경중도의 진행이 있다. 예컨대, 고초열에서 천식으로의 진행이 있다. 두 번째로, 병원성 알레르겐의 전파는 매우 빈번하게 알레르기성 다반응성을 유발한다. 만성 염증은 점막 방어 기전의 일반적인 약화를 가져와서, 비특이적 자극을 유발하여, 마침내 점막 조직을 파괴시킨다. 유아들은 우선적으로 음식, 즉, 우유에 대하여 민감화되어, 습진 또는 위장 질환을 일으킬 수 있다; 그러나, 대부분의 경우, 이러한 증상들은 자발적으로 없어진다. 이러한 유아들에서는 나중에 흡입 알레르기가 발생할 위험성이 있다.
- [0005] 가장 중요한 알레르겐의 근원은 우리가 호흡하는 공기 중의 특정 크기의 가장 널리 퍼져있는 입자들 중에서 발견된다. 이러한 근원은 매우 보편적이며, 잔디의 꽃가루 및 집안의 먼지 진드기 배설물 입자를 포함하며, 이들은 함께 전체 알레르기의 약 50%를 유발한다. 보편적인 중요한 근원에는 또한 동물의 비듬, 즉, 고양이와 개의 비듬, 쭉 꽃가루 등의 다른 꽃가루, 및 알터나리아(Alternaria) 등의 미세 진균류 등이 있다. 지역성에 기초하여, 북부 및 중부 유럽의 자작 나무 꽃가루, 미국 동부 및 중부의 두드러기쭉(ragweed) 및 일본의 일본 삼나무 꽃가루 등과 같은 다른 꽃가루가 우세할 수 있다. 곤충, 즉, 벌과 말벌의 독, 및 음식물이 각각 전체 알레르기의 약 2%를 차지한다.
- [0006] 알레르기, 즉, I형 과민성은 비병원성 외래 물질에 대한 부적절한 면역 반응에 의하여 유발된다. 중요한 임상적 징후에는 천식, 고초열, 습진 및 위장 장애 등이 있다. 알레르기 반응은 즉발적이고, 병원성 알레르겐에 접촉하고 20 분 이내에 최대점에 도달한다. 또한, 알레르기 반응은 특정 개인이 특정 알레르겐(들)에 민감화되는 한편, 이러한 개인이 알레르기 질환을 유발한다고 알려진 다른 물질에 대해서 반드시 알레르기 반응을 보이는 것은 아니라는 의미에서 특이적이라고 할 수 있다. 알레르기 표현형은 표적 기관의 점막의 뚜렷한 염증과, 순환 내 및 비만 세포 및 호염기구 표면의 IgE 클래스의 알레르겐 특이적 항체의 존재에 의하여 특징지어진다.
- [0007] 알레르겐 특이적 IgE 항체가 비만 세포 및 호염기성 세포의 표면의 고친화성 IgE 특이적 수용체에 결합할 때의 상기 항체와 외래 알레르겐의 작용에 의하여 알레르기의 공격이 개시된다. 비만 세포와 호염기구는 기형성(preformed) 매개체, 즉, 히스타민, 트립타아제 및 다른 물질 등을 포함하며, 이들은 둘 이상의 수용체 결합 IgE 항체의 교차 결합 중에 방출된다. IgE 항체는 동시에 일어나는 알레르기 유발 항원 분자의 결합에 의하여 교차 결합된다. 비만 세포 표면에서의 수용체 결합 IgE의 교차 결합은, 또한, 호산구, 알레르겐 특이적 T-세포 및 다른 유형의 세포를 알레르기 반응 부위로 유인하는 신호 분자의 방출을 유발한다. 알레르겐, IgE 및 효과지 세포와 상호 작용하는 이러한 세포들은 알레르겐과 접촉한 후 12 내지 24 시간 후에 증상의 재생 섬광이 발생하도록 한다 (후기 반응).
- [0008] 알레르기 질환의 관리는 진단 및 예방 치료를 포함하는 치료를 포함한다. 알레르기의 진단은 알레르겐 특이적 IgE의 증명 및 알레르겐 소스의 동정과 관련있다. 많은 경우에 있어서, 병력(면역 기억)이 알레르기를 진단하고 병원성 알레르겐 공급 물질을 동정하기에 충분할 수 있다. 그러나, 보다 많은 경우에 있어서, 진단은 피부 단자 검사, 혈액 검사 또는 유발 반응 검사와 같은 객관적인 방법에 의하여 뒷받침된다.
- [0009] 치료법은 크게 3 개의 카테고리로 나뉘어진다. 첫 번째 치료법은 알레르겐 회피 또는 노출 감소이다. 알레르겐 회피는, 예컨대, 음식물 알레르겐의 경우 유리한 반면, 집 먼지 진드기 알레르겐의 경우에는 매우 어렵거나 비용이 많이 들고, 꽃가루 알레르겐의 경우에는 불가능할 수 있다. 두 번째 치료법은 가장 광범위하게 사용되는 치료법으로서 항히스타민 및 스테로이드와 같은 통상적인 대증(symptomatic) 약물을 처방하는 것이다. 대증 약물은 안전하고 효과적이지만, 질병의 자연적 원인을 변경시키지 못하며, 질병 전과를 제어하지 못한다. 세 번째

대안적 치료법은 대부분의 경우에 있어서 당해 알레르겐에 의하여 유발되는 알레르기 증상을 경감시키거나 완화시키는 특이적 알레르기 백신 접종(vaccination)을 수행하는 것이다.

- [0010] 통상적인 특이적 알레르기 백신 접종은 알레르기 질환에 대한 원인 치료이다. 이는 기본적인 면역 기전을 방해하여 환자의 면역 상태를 지속적으로 개선시킨다. 따라서, 특이적 알레르기 백신 접종의 예방 효과는 대증 약물 치료와 대조적으로 치료 기간을 넘어서까지 연장된다. 이러한 치료를 받은 환자의 일부는 치유되고, 또한, 대부분은 질병의 경중도와 증상이 경감되는 것을 경험하거나, 적어도 질병의 악화가 정지되는 것을 경험한다. 따라서, 특이적 알레르기 백신 접종은 고초열이 천식으로 발전할 위험성을 감소시키고 새로운 민감성이 발생할 위험성을 감소시키는 예방 효과를 갖는다.
- [0011] 성공적인 알레르기 백신 접종의 근원적인 면역 기전은 상세하게 알려지지 않았다. 특정 병원체에 대한 항체 생산 등과 같은 특이적 면역 반응은 적응(adaptive) 면역 반응이라고 알려져 있다. 이러한 반응은 병원체에 대하여 비특이적인 선천적 면역 반응과 구별될 수 있다. 알레르기 백신이 결합하여 T-세포 및 항체 생산 B-세포와 같이 항원 특이성을 갖는 세포와 분자를 포함하는 적응 면역 반응을 이끈다. B-세포는 해당 특이성을 갖는 T-세포의 도움 없이는 항원 생산 세포로 성숙하지 못한다. 알레르기 면역 반응의 자극에 참여하는 T-세포는 일차적으로 Th2형이다. Th1 세포와 Th2 세포 간의 새로운 균형의 확립은 특이적 알레르기 백신 접종의 면역 기전에 유익하고 중심적인 것이라고 제시되어 있다. 이것이 Th2 세포의 감소에 의하여 야기되는 것인지, Th2 세포에서 Th1 세포로의 변경에 의하여 야기되는 것인지, 또는 Th1 세포의 상향 조절에 의하여 야기되는 것인지는 논의의 여지가 있다. 최근, 조절 T-세포가 알레르기 백신 예방에 중요하다고 제시되어 있다. 이러한 모델에 따르면, 조절 T-세포, 즉 Th3 세포 또는 Th1 세포는 상응하는 항원 특이성을 갖는 Th1 세포 및 Th2 세포 모두를 하향 조절시킨다. 이러한 모호성에도 불구하고, 일반적으로, 활성 백신은 알레르겐 특이적 T-세포, 바람직하게는, TH1 세포를 자극하는 능력을 가져야 한다고 생각된다.
- [0012] 특이적 알레르기 백신 접종은 그 장점에도 불구하고 근본적으로 두 가지 이유 때문에 광범위하게 사용되지 못한다. 한 가지 이유는 수 개월에 걸친 주사와 같이 반복적인 백신 접종을 포함하는 통상적인 백신 접종 프로그램과 관련된 불편함이다. 다른 이유는, 보다 중요한 것으로, 알레르기 부작용의 위험성이다. 감염원에 대한 통상의 백신 접종은 단일 또는 수 차례의 고분량 면역화에 의하여 효과적으로 수행된다. 그러나, 병리적 면역 반응이 이미 진행중이기 때문에, 이러한 계획은 알레르기 백신 접종에 사용될 수 없다.
- [0013] 따라서, 통상적인 특이적 알레르기 백신 접종은 연장된 기간에 걸쳐서 적용되는 다중 피하 면역화를 사용하여 수행한다. 그 과정은 투여량 증가기 및 유지기의 두 시기로 나누어진다. 투여량 증가기(up dosing phase)에 있어서, 최소 투여량에서 시작하여, 16 주의 기간에 걸쳐서, 투여량을 증가시키면서 적용한다. 권고된 유지 투여량에 도달하면, 통상적으로 매 6 주마다 주입하면서, 유지기 동안 이 분량을 적용한다. 원칙적으로 드물기는 하지만 생명에 위협을 줄 수 있는 초과민성(anaphylactic) 부작용 때문에, 각각의 주입 후, 환자를 30 분동안 의료진의 간호하에 두어야 한다. 또한, 진료소는 응급 치료를 지원할 수 있는 준비를 갖추어야 한다. 상이한 투여 경로에 기초한 백신이 현재의 피하 투여에 기초하는 백신에 고유한 알레르기 부작용에 대한 위험성을 제거하거나 감소시킬 수 있을 뿐 아니라, 가정에서의 자가 백신 접종을 가능하게 할 수도 있어서 광범위한 사용을 용이하게 할 수 있다는 것이 확실하다.
- [0014] 특이적 알레르기 백신 접종을 위한 백신의 개발을 위한 시도가 30년 이상 동안 수행되어 왔으며 다한 접근이 있어왔다. 몇 가지 접근은 IgE 반응성의 변형을 통한 알레르겐 자체를 다루고 있다. 다른 접근들은 투여 경로에 관한 것이다.
- [0015] 면역계는 구강을 통하여 이용할 접근 가능하며, 알레르겐의 구강 점막 투여, 예컨대 설하 투여가 잘 알려진 투여 경로이다.
- [0016] 통상적으로, 구강 점막 경로를 사용하는 알레르기 백신은 적어도 하루 간격으로 투여되는 알레르겐 용액의 주기적 투여량으로 구성된다. 비교해보면, 주어진 치료적 (누적) 유지 분량은 비교 가능한 피하 주입의 유지 분량을 5 내지 500 계수만큼 초과한다. 이러한 제형 및 투여 경로의 명백한 결점은 환자에 의한 올바른 분량의 정확하고 균일한 자가 투여와 관련된 문제점들이다 (몇 방울 적용시, 각각의 방울의 균일성, 적용 부위의 정확성, 등). 또한, 약물을 냉각시키고 제제 내에 보존제를 함유시킬 필요성이 있다.
- [0017] Netien 등은 "Galenica 16-Medicaments homeopathiques, ed. 2, 1986, p. 77-99"에서 알레르겐과 같은 약제의 설하 투여를 위한 고체 입자 (과립) 상에 흡수된 액체 용액 또는 락토오스, 사카로오스 또는 이들의 혼합물의 통상적인 압축 정제를 기재하고 있다.

- [0018] DD-A.0 107 208는 알레르겐을 함유하는 통상적인 압축 정제를 제조하는 과정을 기재하고 있다. 투여시에, 정제는 타액에 의하여 용해되고, 알레르겐이 구강의 점막을 통하여 흡수된다. 제제는 수불용성 부형제, 즉, 파라핀 및 지방산 뿐 아니라 활석을 함유하는데, 이는 환자의 입안에 불쾌한 잔유물을 남기기 때문에 바람직하지 못하다. 또한, 정제 제조 공정에서 생성된 마찰은 알레르겐의 물리적 안정성에 해로울 수 있다.
- [0019] EP 278 877는 고체 지지체 소구 상에 알레르겐 용액을 분사하여 고형 지지체가 알레르겐 용액으로 코팅된 설하 용도의 약학 조성물을 기재하고 있다. 얻어진 제제가 신속하게 분해되지만 즉시 분해되지는 않는다고 주장하고 있다. 그러나, 이러한 목적을 달성하기 위한 수단은 기재되어 있지 않다. 더욱이, 제제는 알레르겐과 작용하기 쉬운 락토오스 형태의 환원당을 함유하고 있다.
- [0020] 가능한 한 많은 투여 분량의 소정의 알레르겐의 구강 점막에 제시되고, 또한 분해된 산물의 점막과의 접촉 시간이 최대화됨을 보장하기 위하여, 제형이 구강의 타액과 접촉 즉시 분해되는 것이 매우 중요하다. 활성 성분을 구강내로 용이하게 방출하는 급속 분산성 고체 제형이 이 기술 분야에 알려져 있다.
- [0021] 미국 특허 제4,371,516호에는 물에서 급속하게 분해되는 활성 성분을 함유하는 약학적 제형이 개시되어 있다. 약학적 제형은 10 초 이내에 분해되는 담체 물질의 개방 매트릭스 네트워크를 함유한다.
- [0022] WO 00/61117에 기재된 바와 같은 동결 건조된 어류 젤라틴 기재 담체를 구강내 투여시 타액과 접촉 즉시 활성 물질을 방출하도록 설계한다.
- [0023] WO 00/44351에 기재된 바와 같은 동결 건조된 변형 전분 담체를 구강내 투여시 타액과 접촉 즉시 활성 성분을 방출하도록 설계한다.
- [0024] WO 99/21579는 경구용 백신과 아췌반트를 함유하는 급속 분산성 투약 형태를 개시한다.
- [0025] WO 02/13858는 경구용 급속 용해 "케이크(cake)" 형태로 백신을 함유하는 급속 용해성 약학 조성물을 개시한다. WO 02/13858의 목적은 위장관 내에서 손상되지 않고 체류하는 바이러스 또는 박테리아 백신을 제공하는 것으로 보인다. 이는 칼슘 카보네이트 등의 제산제를 상기 케이크에 포함시켜 항원을 위 내의 산성 함유물로부터 보호함으로써 달성한다.
- [0026] WO 00/51568는 타액과 접촉시 30초 이내에 용해되어 삼키기 쉬운 현탁액을 형성하도록 설계된 낮은 마손도의 급속 분해 압축 정제를 기재한다.
- [0027] 미국 특허 제4,371,516호에는 제제가 경구용 백신에 유용하다고 기재되어 있다. WO 00/61117, WO 00/44351, WO 99/21579 및 WO 02/13858의 경우, 고초열 등의 전신 알레르기 증상과 같은 비감염성 면역 제어 증상에 관하여 기재하고 있다. 그러나, 이들 출원 중 어느 것도 알레르겐 백신의 급속 분해 고체 제형이 어떠한 방법으로 제조될 수 있는지에 대한 어떠한 기술적 정보도 실시예도 기재하고 있지 않다. 예컨대, 기재된 제제 중 어느 것에서 대해서도 특정 알레르겐의 적절한 용량에 대한 설명이 기재되어 있지 않다. 알레르겐의 용량이 과다하면 환자에서 초과민 반응 쇼크가 유발될 수 있기 때문에, 알레르겐을 정확한 용량으로 투여하는 것이 매우 중요하다. 더욱이, 이러한 제제의 안정성 또는 마손도와 관련된 적절한 수단에 대한 어떠한 인식도 설명도 제시되어 있지 않다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0028] **발명의 요약**
- [0029] 본 발명은 한 가지 이상의 알레르겐과 매트릭스를 급속 분해 비압축 고체 제형의 형태로 함유하는 알레르겐의 구강 점막 투여에 적합한 약학적 산물에 관한 것으로, 상기 알레르겐 함유 제형이 안정성이 우수하고, 충분한 강도를 가지며, 환자에 의하여 취급시 알레르겐 잔기를 위험량으로 방출하지 않는 것을 특징으로 한다.
- [0030] 또한, 매트릭스 형성제 및 알레르겐을 함유하는 구강 점막 투여에 적합한 급속 분해 비압축 고체 제형에 관한 것으로, 상기 알레르겐은 안정적이고, 알레르겐 방출과 관련하여 낮은 마손도를 갖고, 상기 제형은 급속하게 용해되고 아췌반트를 필요로 하지 않는다.
- [0031] 특히, 본 발명은 구강 점막 투여에 적합한 급속 분산성의 비압축 고체 제형을 함유하는 알레르겐의 투여에 적합한 약학적 산물에 관한 것으로, 상기 약학적 산물은

- [0032] (a) 한 가지 이상의 매트릭스 형성제에 의하여 형성된 매트릭스, 및
 - [0033] (b) 상기 알레르겐에 대한 개인의 탈민감화에 유효한 분량의 알레르겐을 함유하고,
 - [0034] (c) 25℃ 및 상대 습도 60%에서 3 개월간 유지시킨 후 상기 제형 내의 알레르겐 함량 손실이 초기 알레르겐 함량의 50% 이하이고,
 - [0035] (d) 마손도 테스트에 제공될 경우 상기 고체 제형으로부터의 알레르겐의 손실이 알레르겐 추출물 약 0.5 μg 이하 또는 주요 알레르겐 (major allergen) 약 0.05 μg 이하이다.
- [0036] 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서, 고체 제형은 매트릭스 형성제로서 어류 젤라틴과 만니톨을 함유한다.
- [0037] 본 발명의 또 다른 바람직한 구체예에 있어서, 고체 제형은 매트릭스 형성제로서 전분과 만니톨을 함유한다.
- [0038] 본 발명은 또한 이러한 고체 제형의 생산 방법 및 이러한 고체 제형의 투여에 의한 알레르기 치료 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0039] 본 발명은 다수의 놀라운 발견에 기초한 것으로, 이들 중 어느 것도 합리적인 성공의 기대가 선형적으로 예견된 바 없다. 우선, 본 발명은 알레르겐의 투여를 위하여 급속 분산되는 비압축 제형을 사용할 수 있고 이러한 제형을 사용함으로써 효과적인 알레르기 치료 효과를 얻을 수 있다는 발견에 기초한다. 특히, 급속 분산성의 비압축 고체 제형을 사용하여 바람직하지 못한 수준의 부작용을 유발하지 않고 구강 점막 경로를 통하여 충분한 양의 알레르겐을 환자에게 전달하는 것이 실질적으로 가능한 것으로 나타났다. 또한, 본 발명은 용인 불가능한 부작용 없이 치료 효과를 얻기 위한 적정 분량 수준을 제공한다.
- [0040] 두 번째로, 본 발명은 아췌반트를 사용하지 않고 급속 분산성의 비압축 제형을 사용하여 효과적인 치료를 달성할 수 있다는 발견에 기초한다.
- [0041] 세 번째로, 본 발명은 안정성 및 낮은 마손도와 관련하여 알레르겐에 요구되는 특수한 요구 사항을 만족시키면서 급속 분산성의 비압축 제형으로서 알레르겐을 제제화하는 것이 가능하다는 발견에 기초한다. 특히, 충분한 정도로 급속 분해하고, 안정하고 낮은 마손도를 갖는 제형을 얻기 위하여, 한편으로는 제형이 급속 분해하여야 하고, 다른 한편으로는 안정성이 높고 동시에 마손도가 낮아야 한다는 상반되는 요건의 균형을 잡는 것이 가능한 것으로 나타났다.
- [0042] 알레르겐 단백질은 이들이 포함되어 있는 환경의 수 많은 인자에 의하여 영향을 받아서 분해되기 쉽다. 알레르겐이 손상 없이 치료적 적정 분량으로 면역계에 전달되는 것이 알레르기 치료, 특히, 알레르기 백신 접종에 적절한 것으로 나타난다. 따라서, 알레르겐은 생산, 저장 및 사용 동안 안정하게 유지되어야 한다. 본 연구는 알레르겐 분량 및 알레르겐 활성과 관련하여 안정한 급속 분산성의 비압축 제형으로 알레르겐 단백질을 제제화하는 것이 사실상 가능하다는 것을 보여주었다. 또한, 놀랍게도, 이들 제제는 실온에서도 사실상 안정한 것으로 나타났다. 이러한 발견은 최종 산물의 취급에 있어서 상당히 중요한 것이다. 냉각 설비를 면밀하게 모니터링하여야 하고 신뢰성 있는 냉동 설비에 고비용이 투자되기 때문에, 제조 설비에서, 또는 운반 중 또는 약국에서의 저장 중의 냉장(저온) 저장은 종종 고비용과 관련된다. 또한, 환자에 따라서, 제형을 실온에서 저장할 수 있는 것이 바람직할 수도 있다.
- [0043] 따라서, 본 연구는 알레르겐 단백질을 아췌반트 필요 없이 치료적 효과를 갖는 급속 분산성의 비압축 제형으로 제제화하는 것이 사실상 가능하다는 것을 보여준다. 또한, 이러한 알레르겐 함유 고체 제형은 유리한 조건에서 보다 안정적이다.
- [0044] 알레르겐 단백질의 급속 분산성의 비압축 제형으로의 제제화시, 얻어진 제형이 주변 환경 또는 직접 접촉하여 상기 제형을 취급하는 사람에게 실질적으로 알레르겐을 방출하지 않는 것이 보다 유리하다. 선형적으로 급속 분산성의 비압축 고체 제형은, 무르고 부서지기 쉬우며 거의 웨이퍼와 유사한 비압축 매트릭스의 고유 성질 때문에, 압축 정제과 비교하여 기계적 강도가 낮다는 특징을 갖는다. 예컨대, 충전(packing), 저장, 운반 및 환자에 의한 제형의 취급 동안, 알레르겐을 함유하는 잔여 입자들이 환경 및 환자에게 방출될 수 있다. 이는, 그 활성 성분이 알레르겐인 경우, 알레르겐이 영향을 받은 사람에서 알레르기 반응을 일으키거나 알레르기 반응을 유도할 수 있고, 이러한 민감화 또는 알레르기 반응은 분량 의존적이기 때문에, 특히 불리하다. 먼지 중의, 예컨대, 알레르겐의 형태의 환경 오염의 허용 가능한 최대치는, 당해 알레르겐에 따라 다르지만, 집안 먼지 1 그램 당 주요 알레르겐 2 마이크로그램 정도의 낮은 수치로 제안되어 있다 (Allergy. Principles 및 practice (1993,

4. ed.), Mosby-Year book, Vol. I, page 520).

- [0045] 매트릭스 형성제, 활성 성분 및 기타 임의적 작용제를 함유하는 응고된 시스템으로부터 액체를 제거하여 제조되는 비압축 급속 분산성 고체 제형은 인시투(*in situ*)로 제조되는 것이 바람직하다. 인시투(*in situ*) 제조 공정은 일반적으로 블리스터 팩(blisters pack)과 같은 최종 용기 내에서 활성 성분과 매트릭스 형성 부형제를 함유하는 응고된 시스템으로부터 용매를 제거하는 것을 수반한다. 상업적으로 사용되는 인시투(*in situ*) 기술은 제형의 통상적 코팅을 고려하지 않는다. 제형의 코팅 적용은 대부분의 경우 고체 제형의 분산에 영향을 미치지 때문에, 제형의 즉시 방출 특성을 해치게 된다.
- [0046] 따라서, 이러한 상반되는 본질의 요구 사항에도 불구하고, 본 연구는 급속 분산성의 비압축 제형으로 알레르겐의 유효 투여량을 제제화하고, 동시에 낮은 마손도를 얻고 급속 분산성 특성을 유지하는 것이 사실상 가능하다는 것을 입증하였다.
- [0047] 전술한 모든 발견은 적절한 시험 동물 또는 적절한 임상 시험을 사용하는 실험실 연구 또는 전임상 실험에 의하여 뒷받침된다.
- [0048] "급속 분산성 제형(fast-dispersing 제형)"이란 구강 내에서 약 90 초 이내, 바람직하게는 약 60 초 이내, 바람직하게는 약 30 초 이내, 보다 바람직하게는 20 초 이내, 더욱 바람직하게는 약 10 초 이내에 붕해되거나, 보다 더 바람직하게는, 구강에 적용된 후 약 5 초 이내, 가장 바람직하게는 약 2 초 이내에 붕해되는 제형을 의미한다. 본 발명의 고체 제형은 정제, 캡슐, 로젠지 또는 캡ulet) 형태일 수 있다.
- [0049] "비압축(non-compressed)"이란 매트릭스 형성제, 활성성분 및 기타 적절한 성분을 함유하는 응고된 시스템으로부터 액체를 제거하여 알레르겐 함유 고체 매트릭스를 생성하여 제조되는 고체 제형을 의미한다.
- [0050] "고체 제형(고체 제형)"이란 액체가 아니고, 구강으로 투여되는 경우에는 분말이 아닌 단위 제형을 의미하는 것으로, "고체 제형은", 예컨대, 활성 성분의 단위 투여량을 함유하는 정제를 의미한다.
- [0051] 본 명세서에 있어서, 정제, 고체 제형, 백신 제형은 호환성 있게 사용된다.
- [0052] "매트릭스 형성제(matrix forming agent)"는 고체 제형에서 활성 성분의 담체로서 작용할 수 있는 모든 약학적으로 허용 가능한 수용성 또는 수분산성 부형제를 의미한다.
- [0053] "부형제(excipient)"는 활성 성분 이외의 제제에 첨가할 수 있는 모든 성분을 의미한다.
- [0054] "상기 고체 제형 내의 알레르겐 함량 손실"은, 예컨대, 저장, 운반 및 사용 동안의 제형 내 알레르겐의 분해 또는 불활성화 등을 의미한다. 손실은 알레르겐의 생물학적 활성/유효성의 손실 또는 실제 함량의 손실로서 측정할 수 있다. 바람직하게는, 알레르겐 함량의 손실은 한 가지 이상의 주요 알레르겐의 손실로서 측정한다. 손실은, 예컨대, Obispo 등 (Allergy, 1997,52, μ g. 806-813, 알레르겐 특이적 시약 사용)에 기재된 ELISA법으로 측정할 수 있다.
- [0055] "상기 고체 제형으로부터의 알레르겐 함량 손실"은 예컨대, 저장, 운반 및 사용 동안의 제형 내의 알레르겐의 방출 등을 의미한다. 손실은 알레르겐의 생물학적 활성/유효성에 있어서의 손실 또는 실제 함량에 있어서의 손실로서 측정할 수 있다. 바람직하게는, 알레르겐 함량의 손실은 한 가지 이상의 주요 알레르겐의 손실로서 측정한다. 손실은, 예컨대, Obispo 등 (Allergy, 1997,52, μ g. 806-813, 알레르겐 특이적 시약 사용)에 기재된 ELISA법으로 측정할 수 있다.
- [0056] "안정한(stable)"이란 용어는 한 가지 이상의 주요 알레르겐의 생물학적 활성/유효성에 있어서의 손실 또는 함량의 손실 중 어느 하나로서 측정된 25 °C 및 상대습도 60%에서 3 개월 저장된 후의 알레르겐 함량의 손실이 처음 함량의 50% 이하인 제형을 의미한다. 손실은 예컨대 상기한 바와 같은 ELISA법으로 측정할 수 있다.
- [0057] "낮은 마손도(low friability)"은 외력이 가해졌을 때 제형으로부터 손실되는 알레르겐 함유 물질의 양을 의미한다. 고체 제형은, 손실되는 알레르겐 함유 물질이 고체 제형당 0.5 μ g 이하의 알레르겐 추출물 또는 0.05 μ g 이하 주요 알레르겐을 함유하는 경우, 운반, 저장 및 취급되기에 충분한 마손도 및 강도(robustness)를 갖는다. 본 발명의 목적을 위하여, 마손도는 본 발명에 따른 방법에 의하여 측정할 수 있다.
- [0058] "인장 강도(Tensile strength) σ "는 다음의 방정식에 따라서 계산된다:
- [0059]
$$\sigma = 3Wa \times 9.8Nmm^{-2} / 2d^2b$$

- [0060] 식 중, w = 과쇄를 위한 절정 부하 (kgF)
- [0061] a = 지지체 간 거리
- [0062] d = 급속 분산성 고체 제형 두께 (mm)
- [0063] b = 급속 분산성 고체 제형 지름 (mm).
- [0064] "과쇄를 위한 절정 부하(Peak load to fracture)"는 적절한 기구(예컨대, CT5, Engineering Systems, 1 Loach Court, Radford Bridge Road, Nottingham NG8 1NA, UK)를 사용하는 3 지점 밴드 시험(three point bend test)에서의 과쇄에 필요한 절정 힘을 의미한다.
- [0065] "구강 점막 투여(oral mucosal administration)"는, 활성 성분의 국부적 또는 전신적 효과를 얻기 위하여, 제형이 혀 아래 또는 구강내 다른 어떤 곳에 적용되어 활성 성분이 구강의 점막 또는 환자의 인두에 접촉하도록 하는 투여 경로를 의미한다. 구강 점막 투여 경로의 예로서 설하 투여가 있다.
- [0066] "설하 투여(sublingual administration)"는 활성 성분의 국부적 또는 전신적 효과를 얻기 위하여 제형을 혀 하부에 적용하는 투여 경로를 의미한다.
- [0067] "알레르겐(allergen)"은 알레르기, 즉, 개체에 반복적으로 노출시 IgE 매개 반응을 유발하는 것으로 보고되어 있는 모든 자연 발생적 단백질 또는 이들 단백질의 혼합물을 의미한다. 자연 발생적 알레르겐의 예로서 꽃가루 알레르겐 (수목, 잡초, 초본 및 잔디의 꽃가루 알레르겐), 진드기 알레르겐 (예컨대, 집 먼지 진드기 또는 저장 진드기 유래), 곤충 알레르겐 (흡입성, 타액 및 독액 유래 알레르겐), 개, 고양이, 래트, 마우스 등의 타액, 털 및 비듬에서 유래하는 동물 알레르겐, 진균 알레르겐 및 음식물 알레르겐을 포함한다. 알레르겐은 알레르겐 추출물, 정제된 알레르겐, 변형된 알레르겐 또는 재조합 알레르겐 또는 재조합 변이체 알레르겐, 30 아미노산 이상의 알레르겐 단편 또는 이들의 조합 형태로 사용될 수 있다.
- [0068] *본 명세서에 사용된 바로서, "알레르겐 추출물"은 "Allegenic extracts" [H. Ipsen 등, chapter 20 in Allergy, principle 및 practise (Ed. S. Manning) 1993, Mosby-Year Book, St. Louis]에 일반적으로 기재된 바와 같은 생물학적 알레르겐 소스 물질을 추출하여 얻어지는 추출물을 의미한다. 이러한 추출물은 수용성 물질의 수성 추출 후 여과 등의 정제 단계를 거쳐서 용액, 즉, 추출물을 얻는 공정에 의하여 얻을 수 있다. 그리고 나서, 추출물에 정제 및/또는 실질적으로 모든 수분을 제거시키는 동결 건조와 같은 처리를 추가로 수행할 수 있다. 일반적으로, 알레르겐은 단백질 및 다른 분자를 함유한다.
- [0069] 알레르겐 단백질은 종종 주요 알레르겐, 중간 알레르겐, 소수 알레르겐 또는 무분류로 분류된다. 알레르겐 추출물은 일반적으로 주요 및 소수 알레르겐을 함유한다. 주요 알레르겐은 일반적으로 약 5 내지 15%, 보다 빈번하게는 약 10%의 평균 알레르겐으로 구성된 것일 수 있다. 알레르겐의 분류는 특정 알레르겐의 임상적 중요성의 평가에 기초하며, 이를 아래에 나타내었다. 중요한 주요 알레르겐은 잔디 1군, 5군 및 6군 알레르겐 (예컨대, Phl p 1, 5 및 6), 집 먼지 진드기 1군 및 2군 알레르겐 (예컨대, Der p 1, Der p 2), 수목 꽃가루 알레르겐 1 (Bet v 1), 삼나무 꽃가루 알레르겐 1 및 2 (예컨대, Cry j 1, Cry j 2), 두드러기썩 꽃가루 1 및 2 (Amb a 1, Amb a 2), 고양이 알레르겐 1 (즉, Feld1)를 포함하는 추출물에서 찾을 수 있다. 평균의 알레르기성 개체를 한 가지 이상의 주요 알레르겐에 대하여 민감화되고 이에 반응할 수 있으며, 또한 소수 알레르겐에 대하여 민감화되고 이에 반응할 수도 있다.
- [0070] 본 명세서에 기재된 알레르겐 추출물의 양은 이러한 알레르겐 추출물의 건조물 함량을 의미한다.
- [0071] 건조물의 수분 함량은 10 중량%를 넘지 않는 것이 바람직하며, 바람직하게는 5 중량%를 넘지 않는 것이 보다 바람직하다.
- [0072] 본 명세서에 사용된 바로서, "생물학적 알레르겐 소스 물질"은 한 가지 이상의 알레르겐을 함유하는 모든 생물학적 물질을 의미한다. 이러한 물질의 예로서 움진드기류(acarids) PMB (Pure 진드기 Body) 또는 WMC (Whole 진드기 Culture), 잔디, 초본, 잡초 및 수목에서 유래하는 탈지(defatted) 또는 비탈지 꽃가루, 동물 털 및 비듬, 가죽, 진균 균사체 및 포자, 곤충체, 독액(venom) 또는 타액 및 음식물 등이 있다.
- [0073] 생물학적 알레르겐 소스 물질은 왜대 꽃가루 및 알레르겐 화분 근원 물질에 대한 식물 및 꽃 잔사와 같은 오염 물질을 포함할 수 있다.

- [0074] 오염도를 최소화하여야 한다. 바람직하게는, 오염원 함량이 생물학적 근원 물질의 10 % (w/w)를 넘지 않아야 한다.
- [0075] 정상적으로, 알레르겐 추출물은 BCA 또는 Lowry와 같은 표준 단백질 분석법으로 측정시 알레르겐의 건조물 함량의 10 % 이상의 단백질을 함유하고, 나머지는, 지질, 탄수화물 또는 생물학적 알레르겐 소스로부터 유래된 결합수 등과 같은 성분인, 다른 "비단백질 물질"로 구성된다.
- [0076] 알레르겐 추출물을 액체 알레르겐 추출물을 800 마이크로바 이하의 압력에서 100 시간 이하 동안 동결 건조하여 수분을 제거하여 얻을 수 있는 동결 건조 형태로 제제화하고 저장할 수 있다.
- [0077] 알레르기 추출물 분야에 있어서, 국제적으로 인정된 표준화 방법이 없다. 많은 추출물 강도의 단위, 즉, 생물 활성 (bio-potency)가 존재한다. 사용된 방법 및 사용된 단위는 일반적으로 알레르겐 함량 및 생물학적 활성을 측정한다. 그 예로서 SQ-Units (Standardised Quality units), BAU (Biological Allergen Units), BU (biological units), UM (Units of Mass), IU (International Units) 및 IR (Index of Reactivity) 등이 있다. 따라서, 본 명세서에 기재된 것들 이외의 다른 기원의 추출물을 사용하는 경우, SQ units 또는 상기한 단위 중 어느 하나로 이들의 활성을 측정하기 위하여, 이들을 본 명세서에 기재된 추출물에 대하여 표준화하는 것이 필요하다. 주요 내용을 "Allergenic extracts" [H. Ipsen 등, chapter 20 in Allergy, principle 및 practise (Ed. S. Manning) 1993, Mosby- Year Book, St. Louis 및 Lowenstein H. (1980) ArbPaul Ehrlich Inst 75: 122]에서 다루고 있다.
- [0078] 주어진 추출물의 생물 활성 (bio-potency), 즉, 생체내 알레르겐 활성은 많은 인자들에 의해서 달라지며, 가장 중요한 것은 추출물 내의 주요 알레르겐의 함량이며, 이는 생물학적 근원 물질의 조성에 따라서 달라진다.
- [0079] 목적하는 생물 활성을 얻기 위하여 사용되는 알레르겐 추출물의 양 (g)은 당해 추출물의 유형에 따라서 달라지며, 주어진 유형의 추출물에 있어서, 알레르겐 추출물의 양은 추출물의 실제 생물 활성에 따라서 한 배치 (batch)에서 다른 배치까지 다양해진다.
- [0080] 주어진 추출물 배치에 있어서, 목적하는 생물 활성을 얻기 위하여 사용되는 알레르겐 추출물의 양 (g)은 다음과 같은 방법을 사용하여 측정할 수 있다:
- [0081] a) 다양한 양의 참조 추출물의 생물 활성을 한 가지 이상의 면역학적 생체내 시험법을 사용하여 측정하여, 생물 활성과 참조 추출물의 양과의 관계를 밝힌다. 상기 면역학적 생체내 시험법의 예로서, 피부 단자 검사 (Skin Prick Test, SPT), 결막 유발 시험 (Conjunctival Provocation Test, CPT), 알레르겐에 의한 기관지 시험 감염 (Bronchial Challenge with Allergen, BCA) 및 한 가지 이상의 알레르기 증상을 모니터링하는 다양한 임상 실험 등이 있다. 예컨대, "Haugaard 등, J Allergy Clin Immunol, Vol. 91, No. 3, pp 709-722, March 1993" 참조.
- [0082] b) 생물 활성과 참조 추출물 간의 확립된 관계에 기초하여, 본 발명의 제형에 사용하기 위한 한 가지 이상의 적절한 분량은 다음 요인들의 균형을 적절하게 고려하여 선택한다: i) 알레르기 증상의 치료 또는 완화 효과, ii) 면역학적 생체내 시험에서 기록된 부작용, 및 iii) 한 개체에서 다른 개체에 이르기까지의 i) 및 ii)의 변화성. 균형화는 용인 불가능한 수준의 부작용을 경험하지 않고 적절한 최대 치료 효과를 얻기 위하여 수행된다. 상기 요인들의 균형화 방법은 관련 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있다.
- [0083] 발견된 한 가지 이상의 적절한 분량의 생물 활성은 SQ units, BAU, IR units, IU (상기 참조) 등과 같은 이용 가능한 모든 생물 활성 단위로 표현할 수 있다.
- [0084] c) 참조 추출물로부터, 한 가지 이상의 생물 활성 참조 표준 추출물을 제조하고, 사용시, 참조 표준 추출물의 생물 활성 단위값을, 하기되는 바와 같이, 예컨대, FDA에서 얻은 BAU에 대한 기준과 같은, 한 가지 이상의 적절한 분량에 할당된 생물 활성 단위값에 기초하여 계산한다.
- [0085] d) 각각의 추출물 유형의 참조 표준 추출물에 있어서, 추출물의 생물 활성을 평가하기 위한 많은 파라미터를 선택한다. 이러한 평가 파라미터는 전체 알레르겐 활성, 밝혀진 주요 알레르겐의 양 및 추출물의 전체 분자 조성 등이다. 전체 알레르겐 활성은, 예컨대, 마우스 또는 래빗에서 발생되는 항체, 또는 알레르기성 환자의 혈청 풀과 같이, 표준 방법을 사용하여 얻어지는 추출물에 대하여 발생하는 표준화된 항체 혼합물을 사용하는, ELISA 및 MagicLite[®] 발광 면역 분석법(LIA)과 같은 생체외 경쟁 면역 분석법을 사용하여 측정할 수 있다. 주요 알레르겐의 함량은, 예컨대, 로케트 면역 전기영동(rocket immuno-electrophoresis, RIE)에 의하여 정량하고, 참조 표준과 비교할 수 있다. 전체 분자 조성은, 예컨대, 교차 면역 전기 영동 (crossed immunoelectrophoresis,

CIE) 및 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴 아마이드 젤 전기 영동 (SDS-PAGE)을 사용하여 검사할 수 있다.

- [0086] e) 주어진 배치의 미지의 생물 활성을 갖는 추출물 (시험 추출물)에 있어서, 목적하는 생물 활성 수준을 얻기 위하여 사용되는 추출물의 양 (본 발명에 따라서 고체 제형에 사용하기에 효과적인 분량)을 다음과 같이 측정할 수 있다: 선택된 각각의 평가 파라미터에 대하여, 전술한 바와 같은 적절한 측정법을 사용하여 시험 추출물을 참조 표준 추출물과 비교하고, 이러한 측정 결과에 기초하여 목적하는 생물 활성을 갖는 추출물의 양을 계산한다.
- [0087] SQ-Unit: SQ-Unit는 ALK-Abello A/S의 "SQ biopotency" 표준화 방법에 의하여 측정하며, 여기서 100,000 SQ units는 표준 피하 유지 분량에 해당한다. 일반적으로, 추출물 1 mg은, 이들이 유래하는 알레르겐 소스 및 사용된 제조 방법에 따라서, 100,000 내지 1,000,000의 SQ-Units를 포함한다. 정확한 알레르겐의 양은 면역 분석법, 즉, 전체 주요 알레르겐 함량 및 전체 알레르겐 활성에 의하여 측정할 수 있다.
- [0088] BAU (Biological Allergen Units)은 "Quantitative determination of relative potency of allergenic extracts" ("Methods of the allergen products testing Laboratory" "ELISA competition assay" Page 15, #49N-0012, FDA, October 1993)에 기재된 알레르겐 산물에 대한 FDA의 요건에 따라서 결정된 바와 같은 생물 활성 단위이다. 100,000 분량의 SQ-Units를 함유하는 잔디 추출물은 상기한 방법에 따라서 2600 내지 4700 BAU 함량에 해당한다. 유사하게, 상기한 방법에 따라서 다른 추출물을 평가할 수 있다.
- [0089] "탈민감화를 위한 알레르겐의 유효 분량"이란 용어는, 한 번 또는 단일 분량으로 또는 증가하는 분량으로 반복적으로 섭취시, 예컨대, 적응 면역 반응을 일으키고, 따라서 알레르기 환자를 탈민감화시키기 위한 수단으로 사용할 수 있는 분량을 의미한다. 바람직하게는, 상기 용어는 치료 투약 계획 (수 개월 동안 수 차례 적용에서 하루에 한번 적용까지의 범위의 기간에 걸친)에 따라서 상기 고체 제형을 반복 투여한 후 적응 면역 반응을 유발하는데 필요한 각각의 제형 내의 알레르기 항원의 양을 의미한다. 바람직하게는, 탈민감화는 상기 분량의 투여시 알레르기 증상이 완화되는 것을 포함한다. 임상적 알레르기 증상은 피부, 눈, 코, 상부 기도 및 하부 기도에서 눈과 코의 붉어짐, 가려움증 및 콧물, 코칭(coaching), 위장(weezing), 짧은 호호브 가려움증 및 조직 부종과 같은 일반적인 증상을 동반하는 비염, 결막염, 천식, 두드러기, 습진 등을 포함한다.
- [0090] 본 명세서에 사용된 바로서, "함량 균일성"은 정해진 분량에 대한 분량 단위의 편차를 의미한다.
- [0091] 본 명세서에 사용된 바로서, "수분 함량"은 Karl Fischer 적정 원리를 사용하여 정량적으로 측정된 고체 투약 단위 내의 잔류 수분 함량을 의미한다. 이러한 방법은 주어진 I₂의 양이 동등량의 물의 변환을 일으킨다는 원리를 기초로 한다 (European Pharmacopoeia (EP) 3rd edition, 2.5. 12).
- [0092] 본 명세서에 사용된 바로서, "수분 활성 a_w"은 시료 내의 유효 수분을 의미한다. 수분 활성 측정은 염화리튬 전극을 사용하거나 전기 저항 또는 전기 용량을 변화시키는 센서를 사용하여 상대 습도를 측정하는 냉각 거울 이슬점 기술(chilled mirror dew point technology) 등과 같이 이 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 방법으로 수행한다:
- [0093] a_w는 다음의 방정식에 의하여 계산할 수 있다:
- [0094] $a_w = p/p_s = ERH (\%)/100$
- [0095] 식 중
- [0096] p = 산물 표면에서의 수증기 분압,
- [0097] p_s = 산물 온도에서의 순수 이상의 수증기의 분압 또는 포화,
- [0098] ERH = 평형 상대 습도.
- [0099] "약" 또는 "대략"이란 표현은 이 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에 의하여 결정되는 바와 같은 특정 수치에 대하여 허용 가능한 범위 내를 의미하며, 예컨대, 측정 시스템의 한계 등과 같이 상기 수치에 어떠한 방법으로 측정 또는 결정되는가에 따라 부분적으로 달라진다. 예컨대, "약"은 주어진 수치의 20%까지, 바람직하게는 10%까지, 보다 바람직하게는 5%까지, 더욱 바람직하게는 1%까지의 범위를 의미할 수 있다.
- [0100] 놀랍게도, 본 발명에 따른 고체 제형이, 용량-반응 방식으로 알레르겐 특이적 면역 반응을 일으키고 허용 가능한 부작용을 갖는 알레르겐의 유효 분량을 제공하는, 구강 점막용 알레르겐 의약 제품을 제공하는 것으로 나타

났다.

- [0101] 또한, 충분한 강도를 갖고 환자가 취급시 위험량의 잔기가 방출되지 않는, 알레르겐을 함유하고 낮은 마손도를 갖는 비압축 급속 분산성 고체 제형을 제조하는 것이 실제로 가능한 것으로 나타났다.
- [0102] 또한, 놀랍게도 이러한 제제는 실온에서 안정한 것으로 나타났다.
- [0103] 알레르겐은, 다양한 정도로, 알레르겐 수용액 또는 높은 수분 함량 및/또는 높은 수분 활성을 갖는 산물과 같은 수성 환경에서 분해에 특히 민감하다.
- [0104] 알레르겐 제품에 대한 유럽 약전 논문 모노그래프 및 "Note for guidance on allergen products" [CPMP (London 13, March 1996)]에 함유 정도는 동결 건조 제품 (즉, 유리병 내의 알레르겐 추출물)에 경우 5%를 넘지 않아야 하며, 이들을 냉동 보관 (-20℃) 하여야 한다고 기재되어 있다. 제한된 저장 수명을 추가로 갖는 액체 기재 설하 제제의 경우, 저온 보관 (2 내지 8℃)이 또한 필요하다. 놀랍게도, 불안정한 알레르겐을 포함하는 알레르겐이 실온 조건에서 안정한 것으로 나타났다. 본 발명에 따른 제형은 규정된 최대 수준인 5% 이상의 수분을 함유하는 경우라도 실온에서 안정하다. 이는, 이론과 결부시키지 않고도, 급속 분산성 고체 제형의 부형제가 제형 내의 잔존 수분에 결합하여 알레르겐 고체 제형 내의 수분 활성을 감소시킨다는 사실에 의하여 설명될 수 있다. 따라서, 제제의 수분 활성을 감소시킴으로써, 수분 함량이 유리병 내의 알레르겐에 대하여 규정된 최대 수치 5%보다 높은 경우라도, 알레르겐이 분해되지 않는 안정한 제제를 얻는 것이 가능하다.
- [0105] 수분 활성은 제품의 저장 수명에 공헌하는 중요한 인자 중 하나이다. 제품의 수분 활성이 약제의 안정성, 유효성 및 경도 뿐 아니라 세균 증식에 영향을 미친다는 사실이 잘 알려져 있다. 또한, 단백질 안정성은 단백질의 상대적으로 유약한 본질에 기인하여 수분 활성에 의하여 상당히 영향을 받는다. 대부분의 단백질은 활성을 유지할 수 있는 입체 형태를 유지하여야 한다. 낮은 수분 활성 수준을 유지하는 것은 입체 형태 변화를 방해하거나 유발시키는데 도움이 되며, 그 결과로 알레르겐 형태의 단백질이 안정하다는 사실을 보장하는 데 중요하다. 또한, 단백질의 가수 분해는, 효소에 의한 것인지 여부에 관계없이, 수분 활성에 영향을 받는다.
- [0106] 또한, 수분 함량은 고체 제형의 기계적 강도에 영향을 미칠 것이라고 생각된다. 일반적으로, 높은 수치는 고체 제형이 보다 잘 용해되도록 하는 위험성을 증가시키는 반면, 낮은 수치는 고체 제형의 단단함에 영향을 미쳐서, 예컨대, 고체 제형을 보다 약하고 부서지기 쉽게 한다.
- [0107] 수분 활성 측정은 염화리튬 전극을 사용하거나 전기 저항 또는 전기 용량을 변화시키는 센서를 사용하여 상대 습도를 측정하는 냉각 거울 이슬점 기술 등과 같이 이 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 방법으로 수행한다.
- [0108] 고체 제형의 수분 활성은 0.70을 넘지 않는 것이 바람직하며, 바람직하게는 0.1 내지 0.7이고, 보다 바람직하게는 0.2 내지 0.6이고, 더욱 바람직하게는 0.3 내지 0.5이며, 가장 바람직하게는 0.4 내지 0.5이다.
- [0109] 실시예 1에 기재된 방법에 따라서 측정된 고체 제형의 수분 함량은 수분 25%를 넘지 않는 것이 바람직하고, 바람직하게는 0.1% 내지 20%이고, 보다 바람직하게는 0.5 내지 15%이고, 더욱 바람직하게는 2 내지 8%이고, 보다 더 바람직하게는 4 내지 7%이고, 가장 바람직하게는 4.5 내지 6% 이다.
- [0110] 본 발명의 한 구체예에 있어서, 알레르겐 제약 산물은 급속 분산성 고체 제형 내에 제공되며, 상기 제형은 구강 내에서 타액과 접촉시 급속하게 용해되어, 알레르겐을 점막의 면역 관련 조직과 밀접하게 접촉시키고, 알레르겐이 이들을 어드레스하도록 한다. 자연 발생 알레르겐의 예로서 꽃가루 알레르겐 (수목, 초본, 잡초 및 잔디 꽃가루 알레르겐), 곤충 알레르겐 (흡입성, 타액 및 독액 알레르겐, 예컨대, 진드기 알레르겐, 바퀴벌레 및 작은 벌레 알레르겐, 벌목 (hymenoptera) 독액 알레르겐), 동물 털 및 비듬 알레르겐 (예컨대, 개, 고양이, 말, 래트, 마우스 등 유래), 및 음식물 알레르겐 등이 있다. 수목, 잔디 및 초본에서 유래하는 중요한 꽃가루 알레르겐은 파갈레스(Fagales), 올레알레스(Oleales), 소나무목(Pinales) 및, 예컨대, 자작나무 (Betula), 오리나무 (Alnus), 개암나무 (Corylus), 서나무 (hornbeam, Carpinus) 및 올리브나무 (Olea), 삼나무 (Cryptomeria 및 Juniperus), 플라틴 나무 (Platanus)를 포함하는 플라타너스(Platanaceae) 분류목, 롤리움속(Lolium), 플레움속(Phleum), 포아속(Poa), 시노돈속(Cynodon), 닥틸리스속(Dactylis), 홀커스속(Holcus), 팔라리스속(Phalaris), 세칼레속(Secale), 및 수수속(Sorghum)를 포함하는 닭의 장풀 분류목, 예컨대 암브로시아속(Ambrosia), 아테미시아속(Artemisia) 및 파리에타리아속(Parietaria) 등의 잔디를 포함하는 아스트랄레스목(Astrales) 및 췌기풀목(Urticales) 등의 분류목에서 유래하는 것들이다. 다른 중요한 흡입성 알레르겐은 데마토파고이드스속(Dermatophagoides) 및 유로글리푸스(Euroglyphus)속 등의 집먼지 진드기, 레피도글리프스속(Lepidoglyphys), 글리시파구스속(Glycyphagus) 및 티로파구스속(Tyrophagus) 등의 저장 진드기에서 유래하는

것들, 예컨대, 블라텔라(Blatella), 페리플라네타(Periplaneta), 치로노무스(Chironomus) 및 스테노셉팔리데스(Ctenocephalides) 등과 같이 벼룩류, 작은 벌레류(midges) 및 바퀴벌레에서 유래하는 것들, 및 고양이(Felis속), 개(Canis속), 소(Bos속) 및 말(Equus속) 등의 포유류에서 유래하는 것들, 벌(Apidae 상과), 말벌(Vespidea 상과) 및 개미(Formicoidae 상과)를 포함하는 벌목의 분류목으로부터 유래하는 것과 같은 쏘거나 무는 곤충에서 유래하는 것을 포함하는 독액 알레르겐 등이 있다. 진균류에서 유래하는 중요한 흡입성 알레르겐에는 예컨대 알터나리아속(Alternaria) 및 클라도스포리움속(Cladosporium)에서 유래하는 것들이 있다.

[0111] 본 발명의 보다 바람직한 구체예에 있어서, 알레르겐은 Bet v 1, Aln g 1, Cora 1 및 Car b 1, Que a 1, Cry j 1, Cry j 2, Cup a 1, Cup s 1, Jun a 1, Jun a 2, jun a 3, Ole e 1, Ligv1, Plal 1, Plaa2, Amba 1, Amba2, Ambt5, Art v 1, Art v 2 Par j 1, Par j 2, Par j 3, Sal k 1, Ave e 1, Cyn d 1, Cyn d 7, Dac g 1, Fes p 1, Hol I 1, Lol p 1 및 5, Pha a 1, Pas n 1, Phi p 1, Phl p 5, Phip6, Poap1, Poap5, Secc1, Secc5, Sorh1, Derf1, Derf2, Derp1, Derp2, Derp7, Derm1, Eurm2, Glyd1, Lepd2, Blot1, Tyrp2, Blag 1, Blag2, Peral, Feld1, Canf1, Canf2, Bosd2, Equc1, Equc2, Equ c3, Musm1, Ratn1, Apism1, Apim2, Vesv1, Vesv2, Vesv5, Dolm 1, Dol m 2, Dol m 5, Pol a 1, Pol a 2, Pol a 5, Sol i 1, Sol i 2, Sol i 3 및 Sol i 4, Alta1, Clah1, Aspfl, Bosd4, MaId 1, Glym 1, Glym2, Glym3, Arah 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 4, Ara h 5 또는 이들 중 어느 것의 분자 육종(Molecular Breeding, Maxygen, Inc.)에서 얻은 서플란트 하이브리드(shufflant hybrids) 등이다.

[0112] 본 발명의 가장 바람직한 구체예에 있어서, 알레르겐은 잔디 꽃가루 알레르겐 또는 먼지 진드기 알레르겐 또는 두드러기쭉 알레르겐 또는 삼나무 꽃가루 또는 고양이 알레르기 유발 항원 또는 자작나무 알레르겐이다.

[0113] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 급속 분산성 고체 제형은 동일한 알레르겐 소스 또는 상이한 알레르겐 소스에서 유래하는 두 가지 이상의 상이한 유형의 알레르겐을 포함한다. 예컨대, 급속 분산성 고체 제형은, 각각 상이한 진드기 및 잔디 종에서 유래하는, 잔디 1 군, 초목 2/3군, 초목 5군 및 초목 6군 알레르겐 또는 진드기 1군 또는 2군 알레르겐, 짧은 및 거대 두드러기쭉 알레르겐과 같은 잡초 항원, 알터나리아 및 클라도스포리움 등과 같은 상이한 진균 알레르겐, 자작나무, 개암나무, 서나무, 떡갈나무 및 오리나무 알레르겐과 같은 수목 알레르겐, 땅콩, 대두 및 우유 알레르겐과 같은 음식물 알레르겐을 함유한다.

[0114] 급속 분산성 고체 제형에 포함된 알레르겐은 추출물, 정제된 알레르겐, 변형된 알레르겐, 재조합 알레르겐 또는 재조합 알레르겐의 변이체 형태일 수 있다. 알레르겐 추출물은 자연스럽게 한 가지 이상의 동일한 알레르겐의 이소형을 포함하는 한편, 재조합 알레르겐은 일반적으로 알레르겐의 한 가지 이소형만을 나타낸다. 바람직한 구체예에 있어서, 알레르겐은 추출물이다. 다른 바람직한 구체예에 있어서, 알레르겐은 재조합알레르겐이다. 또 다른 바람직한 구체예에 있어서, 알레르겐은 자연 발생적 저 IgE 결합 변이체 또는 재조합 저 IgE 결합 변이체이다.

[0115] 알레르겐은 동등 몰의 양으로 존재하거나 존재하는 알레르겐의 비율이, 바람직하게, 1: 20까지일 수 있다.

[0116] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 저 IgE 결합 알레르겐은 WO 99/47680 또는 WO 02/40676 또는 PCT/DK03/00322("Allergen mutants")에 따른 알레르겐이다.

[0117] 알레르겐의 특징화를 위하여 몇 가지 실험실 테스트를 사용할 수 있다. 가장 광범위하게 사용되는 기술은 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴아마이드 젤 전기영동 (SDS-PAGE), 등전 포커싱 (IEF), 교차 면역 전기 영동 (CIE) 및 로케트 면역 전기 영동 (RIE) 등이 있다. 각각의 알레르겐의 정량은 다양한 정량적 면역 전기영동 기술 (QIE), 방사상 면역 확산 (RIE) 또는 효소결합면역흡착법 (enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA)에 의하여 수행할 수 있다. 전체 알레르기 유발 항원 활성의 측정은 방사선 알레르기 흡착 검사(RAST), Magic Lite 에세이 (LIA) 또는 관련 기술에 의하여 가장 빈번하게 수행된다. ELISA 기재 기술을 또한 사용할 수 있다.

[0118] 생물 활성을 측정하는 일반적으로 적용되고 허용 가능한 시험에 대한 안내는, 예컨대, "Note for Guidance on Allergen Product; The European Agency for the Evaluation of Medicinal Product, CPMP_BWP_243_96, London, 1996"에서 찾을 수 있다.

[0119] 주요 알레르겐으로서의 알레르겐의 분류는 몇 가지 시험을 거칠 수 있다. 환자의 25% 이상이 강한 IgE 결합(3점)을 보이고 50%에서 적어도 중간 정도의 결합(2점)을 보이는 경우 알레르겐은 공통적으로 주요 알레르겐으로 분류되며, 상기 결합은 CRIE (Crossed Radio Immune Electrophoresis)에 의하여 측정된다 (CRIE 강한 결합, 즉, 하루 후 X-레이 필름 상에서 가시적 IgE 결합; CRIE 중간 결합, 즉, 3일 후 결합; CRIE 약한 결합, 즉 10일 후 결합). 10% 이상의 환자에서의 강한 IgE 결합은 알레르겐을 중간 알레르겐으로 분류하며, 10% 이하의

환자에서의 명백한 특이적 결합은 소수(minor) 알레르겐으로 분류한다. 예컨대, IgE 결합 측정에 있어서, 예컨대 IgE 블랏트와 같은 다른 방법을 사용할 수도 있다.

- [0120] 급속 분산성 고체 제형 형태의 알레르겐 분량이 특정 최대치까지 증가하는 통상적인 증가 투여 탈민감화에 있어서, 제형의 단위 분량의 바람직한 포텐시는 150 내지 1,000,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 500 내지 500,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 500 내지 375,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 2500 내지 375,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 2500 내지 250,000 SQ-U/제형, 보다 바람직하게는 25,000 내지 250,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게는 25,000 내지 125,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게는 25,000 내지 100,000 SQ-U/제형이고, 가장 바람직하게는 25,000 내지 75,000 SQ-U/제형이다.
- [0121] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 고체 제형은, 바람직하게는 2500-375,000 SQ-U/제형, 보다 바람직하게는 2500 내지 250,000 SQ-U/제형 범위 내, 보다 바람직하게는 25,000-250,000 SQ-U/제형, 보다 바람직하게는 25,000 내지 125,000 SQ-U/제형, 보다 더 바람직하게는 25,000 내지 100,000 SQ-U/제형, 가장 바람직하게는 25,000 내지 75,000 SQ-U/제형 범위 내의 반복적 단일 분량이다.
- [0122] 본 발명의 특정 구체예에 있어서, 고체 제형은 잔디 알레르겐 추출물을 함유하며, 포텐시는 150 내지 1,000,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 500 내지 500,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 500 내지 375,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 2500 내지 375,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게 포텐시는 2500 내지 250,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게는 25,000 내지 250,000SQ-U/제형, 보다 바람직하게는 25,000 내지 125,000 SQ-U/제형이고, 보다 바람직하게는 25,000 내지 100,000 SQ-U/제형이고, 가장 바람직하게는 25,000 내지 75,000 SQ-U/제형이다.
- [0123] 또 다른 구체예에 있어서, 본 발명에 따른 고체 제형의 포텐시는 약 5 내지 50,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 15 내지 25,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 15 내지 17,600 BAU/제형, 보다 바람직하게는 65 내지 17,600 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 65 내지 15,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 650 내지 15,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 650 내지 6,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 650 내지 4,700 BAU/제형, 가장 바람직하게는 650-3,500 BAU/제형이다.
- [0124] 본 발명의 또 다른 구체예에 있어서, 고체 제형은 바람직하게는 약 65 내지 17,600 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 65 내지 15,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 650 내지 15,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 650 내지 6,000 BAU/제형, 보다 더 바람직하게는 650 내지 4,700 BAU/제형, 가장 바람직하게는 650-3,500 BAU/제형 범위 내의 반복적인 단일 분량이다.
- [0125] 특정 바람직한 구체예에 있어서, 고체 제형은, 포텐시가 약 5 내지 50,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 15 내지 25,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 15 내지 17,600 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 65-17,600 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 65-15,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 약 650-15,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 650-6,000 BAU/제형, 보다 바람직하게는 650-4,700 BAU/제형, 가장 바람직하게는 650-3,500 BAU/제형인 잔디 알레르겐 추출물을 함유한다.
- [0126] 알레르겐 추출물 1 mg은 일반적으로 100,000 내지 1,000,000 SQ 단위를 함유한다. 이는 1,000,000 SQ가 알레르겐 추출물 1 mg 내지 10 mg에 함유되어 있고, 100,000 SQ가 알레르겐 추출물 0.1 mg 내지 1 mg에 함유되어 있음을 의미하는 것이다. 유사한 방법으로, 모든 SQ 분량은 알레르겐 분량 범위로 전환될 수 있다. 이에 기초하여, SQ로 주어진 상기 분량 범위는 mg 또는 μg 단위의 알레르겐 추출물 분량 범위로 다시 계산할 수 있으며, 범위의 SQ 하한값의 경우, 상응하는 알레르겐 추출물의 하한값을 사용하고, 범위의 SQ 상한값의 경우, 상응하는 알레르겐 추출물의 상한값을 사용한다.
- [0127] 따라서, 또 다른 구체예에 있어서, 본 발명에 따른 고체 제형의 알레르겐 추출물 함량은 약 0.15 μg 내지 10 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 0.5 μg 내지 5 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 0.5 μg 내지 3.75 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 3.75 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 2.5 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 25 μg 내지 2.5 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 25 μg 내지 1.25 mg/제형, 보다 더 바람직하게는 약 25 μg 내지 1 mg/제형, 가장 바람직하게는 약 25 μg 내지 0.75 mg/제형이다.
- [0128] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 고체 제형은 약 2.5 μg 내지 3.75 mg/제형, 보다 바람직하게는 2.5 μg 내지 2.5mg/제형, 보다 바람직하게는 약 25 μg 내지 2.5 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 1.5 μg 내지 1.25 mg/제형, 보다 더욱 바람직하게는 약 25 μg 내지 1 mg/제형, 가장 바람직하게는 약 25 μg 내지 0.75 mg/제형 범위 내의 반복적인 단일 분량이다.

- [0129] 다른 구체예에 있어서, 본 발명에 따른 고체 제형의 주요 알레르겐 함량은 약 0.015 μg 내지 1 mg/제형, 보다 바람직하게는 약 0.05 μg 내지 500 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 0.05 μg 내지 375 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 0.25 μg 내지 375 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 0.25 μg 내지 250 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 250 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 125 μg /제형, 보다 더 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 100 μg /제형, 가장 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 75 μg /제형이다.
- [0130] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 고체 제형은 바람직하게는 0.25 μg 내지 375 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 0.25 μg 내지 250 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 250 μg /제형, 보다 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 125 μg /제형, 보다 더욱 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 100 μg /제형, 가장 바람직하게는 약 2.5 μg 내지 75 μg /제형 범위 내의 반복적 단일 분량이다.
- [0131] 주요 알레르겐의 함량은 당해 알레르겐 소스에 따른 몇 가지 주요 알레르겐에 의하여 계산할 수 있다. 일반적으로, 주요 알레르겐의 수는 1 내지 10 범위 내이며, 대부분 1 내지 5 범위 내이다.
- [0132] 주요 알레르겐은 알레르겐 추출물에 포함되거나 재조합적으로 생산된다. 재조합 주요 알레르겐은 이러한 주요 알레르겐을 함유하는 알레르겐 추출물 내의 양과 동일한 양 또는 고분량으로 사용할 수 있다. 고분량은 보다 효과적일 것으로 생각되지만, 잠재적으로 보다 빈번한 또는 보다 심각한 부작용의 위험성과 관련있다고도 생각된다.
- [0133] 다른 바람직한 구체예에 있어서, 주요 알레르겐은 잔디 1군 알레르겐, 예컨대, phl p 1, lol p 1, sor h 1, dac g 1, cyn d 1, hol 1, pha a 1, 잔디 2/3군 알레르겐, 예컨대, phl p 2/3, lol p 2/3, 잔디 5군 알레르겐, 예컨대, phl p 5, lol p 5, dac g 5, poa p 5, 잔디 6군 알레르겐, 예컨대, phl p 6, poa p 6, 수목 꽃가루 1군 알레르겐, 예컨대, betv1, aln g 1, cor a 1, car b 1, 진드기 1군 알레르겐, 예컨대, der p 1, der f 1, eur m 1, 진드기 2군 알레르겐, 예컨대, der p 2, der f 2, eur m2, 고양이 알레르겐, 예컨대, fel d 1, 삼나무 1군 및 2군 알레르겐, 예컨대, cry j 1, cry j 2, 짧은 또는 거대 두드러기썩 꽃가루 알레르겐, 예컨대, amb a 1, amb a 2, amb 1, amb t 2 등을 포함한다.
- [0134] 구강 점막 투여된 고체 알레르겐 제형에 대한 용량 반응 효과가 발견된다 (실시예 6 참조). 알레르기 개체들이 동일한 알레르겐에 노출된 경우라도 상이한 증상 및 그 증상에 있어서 상이한 정도의 경중도를 나타내는 비균질한 군이기 때문에, 유효 분량은 달라질 수 있다. 일부 환자는 용인 불가능한 부작용을 경험하지 않고 많은 분량에 관용적일 수 있는 반면, 다른 환자들은 과민할 수 있다. 일부 경우에 있어서, 일반적으로 많은 분량이 보다 효과적인 분량이라고 생각되기 때문에, 단계적으로 증가하는 분량은 고 분량 수준에 도달되게 할 수 있다. 대부분의 평균 알레르기 집단에 있어서, 본 발명에 따른 알레르겐의 유효 분량은 바람직하게는 65 BAU/고체 제형 내지 17,600 BAU/고체 제형이지만, 다른 알레르기 환자의 경우에는 4 BAU 정도의 낮은 분량 및 47,000 BAU 이하의 분량으로 적용할 수도 있다.
- [0135] 유사하게, 알레르겐 추출물 0.5 μg 내지 3.75mg/제형 분량, 또는 주요 알레르겐 함량이 0.05 μg 내지 375 μg /제형인 분량이 평균 알레르기 환자에게 적합할 수 있다.
- [0136] 주요 알레르겐의 저알레르기성 변이체 즉, 중기 또는 후기 알레르기 반응을 유발하는 능력이 감소된 알레르겐의 경우, 본 발명에 따른 제형은 바람직하게는 제형당 10 내지 100배 많은 주요 알레르겐을 함유한다. 이러한 저알레르기성 변이체는 재조합체 또는 자연 유래일 수 있다.
- [0137] 본 발명에 따른 고체 제형의 알레르겐 함량은 주요 알레르겐과 같은 추출물 성분에 대한 ELISA 및 Magic Like Specific IgE 분석법 (LIA)과 면역 분석법 및 CIE (Cross ImmuneElectrophoresis), RIE (Radio Immune Electrophoresis) 및 SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) 등과 같은 통상적인 면역 분석법에 의하여 측정할 수 있다.
- [0138] 최종 산물의 충분한 저장 수명을 보장하기 위하여, 제조 후 물리적 및 화학적 특성, 예컨대 알레르겐의 포텐시 및 함량, 기계적 강도 및 감각 수용성 등과 관련하여 크게 변화하지 않는 제형이 바람직하다.
- [0139] 본 발명의 목적을 위하여, 활성 성분, 즉, 알레르겐의 안정성을 알레르겐 함량에 의하여 평가한다. 이에 더하여, 안정성은 또한 총 알레르겐 활성과 같은 알레르겐의 포텐시 측정에 의하여 평가하는 것이 바람직하다.
- [0140] 고체 제형의 "초기 알레르겐 활성" 또는 "한 가지 이상의 주요 알레르겐의 초기 함량"은 제조 공정 완료 후 최종 제형 내의 "알레르겐 활성" 또는 "한 가지 이상의 주요 알레르겐 함량" 수치를 의미한다.
- [0141] 고체 제형의 "이론적 알레르겐 활성" 또한 "한 가지 이상의 주요 알레르겐의 이론적 함량"은, 고체 제형으로 제

제화되기 전, 예컨대, 추출물 형태로 첨가된 알레르겐 분량의 "알레르겐 활성" 또는 "한 가지 이상의 주요 알레르겐의 함량 수치를 의미한다.

- [0142] 한 가지 이상의 주요 알레르겐의 알레르겐 함량 손실은 바람직하게는 총 초기 함량의 50% 이하이고, 보다 바람직하게는 총 초기 함량의 30% 이하, 보다 바람직하게는 총 초기 함량의 20% 이하, 보다 바람직하게는 총 초기 함량의 15% 이하, 보다 바람직하게는 총 초기 함량의 10% 이하, 보다 바람직하게는 총 초기 함량의 5% 이하, 보다 바람직하게는 총 초기 함량의 2% 이하이다.
- [0143] 또한, 실시예 1에 기재된 방법에 의한 총 알레르겐 활성의 손실은 총 초기 활성의 50% 이하인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 총 초기 활성의 30% 이하, 보다 바람직하게는 총 초기 활성의 20% 이하, 보다 바람직하게는 총 초기 활성의 15% 이하이다.
- [0144] 일반적으로, ICH (예컨대, ICH 안내서 ICQ/Q1A2 (Adopted by CPMP, March 2003, CPMP/ICH/2736/99로 발행) 및 FDA에 의한 현행 안내서에 따라서 안정성 시험을 수행하였다. 안정성 시험의 조건을 종종 구역(zone) 1 내지 4 조건이라 부른다. 구역 1 및 2는 EC, 일본 및 US에서의 기후적 조건을 나타낸다. 일반적으로, 최종 용기에 들어 있는 본 발명에 따른 고체 제형은, "장기간" 조건인 25°C/60%상대습도(RH) 조건 하에서, 보다 바람직하게는 30°C/60% RH, 더욱 바람직하게는 "가속화 조건"인 40°C/75% RH에서, 3 개월 이상 동안 안정적인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 6 개월 이상 동안, 보다 바람직하게는 12 개월 이상 동안, 보다 더 바람직하게는 18 개월 이상 동안, 가장 바람직하게는 2년 이상 동안 안정적이다.
- [0145] 고체 제형이 저장 및 환자에 의하여 취급시 충분한 경도를 갖는다는 것을 보장하기 위하여, 제형은 외력에 대하여 특정 저항을 가질 것이 요구되고, 동시에 고체 제형은 입 안에서 급속하게 분해될 것이 요구된다.
- [0146] 따라서, 활성 성분, 즉, 알레르겐의 안정성에 더하여, 고체 제형은 또한 파쇄를 위한 절정 부하, 인장 강도 및 마손도와 같은 기계적 강도 등의 추가적인 파라미터에 의하여 평가할 수 있다. 또한, 고체 제형의 안정성은 분산 시간과 같은 물리적 특성 및 제형의 시각적 외관과 같은 감각 수용 특성에 의하여 측정할 수 있다.
- [0147] 이러한 파라미터는 예컨대, 본 발명의 고체 제형의 파쇄를 위한 절정 부하 또는 인장 강도의 측정에 의하여 평가할 수 있다. 인장 강도가 계산되는 방정식으로부터 확실한 바와 같이, 인장 강도 값은 변분되는 많은 파라미터에 따라서 얻어진다. 예컨대, 고체 제형의 두께 또는 지름은 수치의 편차에 기여할 것이다. 따라서, 파쇄를 위한 절정 부하는 본 발명의 고체 투여 단위의 강도의 평가의 매우 정확한 파라미터라고 생각된다.
- [0148] 구체예에 있어서, 고체 제형은 0.05 KgF 이상 0.9 KgF 이하의 파쇄를 위한 절정 부하(Peak load to Fracture)를 갖는다. 제형의 파쇄를 위한 절정 부하는 0.05 내지 0.9 KgF인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 0.1 내지 0.8 KgF이고, 가장 바람직하게는 0.1 내지 0.6 KgF이다.
- [0149] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 고체 제형은 1.0 N/mm² 이하, 보다 바람직하게는 0.9 N/mm²이하의 인장 강도를 갖는다.
- [0150] 삼키기 전에 알레르겐의 점막의 면역 성분 조직에의 최대한의 노출을 보장하기 위하여, 급속 분산성 제형은 타액과 접촉시 입 안에서 즉시 또는 급속하게 분해되는 것이 바람직하다. 바람직한 구체예에 있어서, 고체 제형은 약 90 초 이내, 바람직하게는 약 60 초 이내, 바람직하게는 약 30 초 이내, 보다 바람직하게는 약 20초 이내, 보다 바람직하게는 약 15 초 이내, 보다 더 바람직하게는 약 10 초 이내, 보다 더 바람직하게는 약 5 초 이내, 가장 바람직하게는 약 2 초 이내에 구강에서 분해된다.
- [0151] 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서, 본 발명의 조성물은 알레르겐과 모든 수용성 또는 수분산성 매트릭스와의 고체 네트워크를 함유하는 급속 분산성 고체 제형이다. 네트워크는 고체 상태의 조성물로부터 용매를 승화시켜서 얻어지며, 상기 조성물은 알레르겐 및 매트릭스 용액을 함유하는 것이다. 보다 바람직하게, 네트워크는 동결 건조에 의하여 얻어진다.
- [0152] 본 발명에 따른 급속 분산성 고체 제형에서 매트릭스 부분을 형성하는 약학적으로 허용 가능한 부형제는 매트릭스 형성제 및 제산제, 희석제, 증강제, 점막 부착제, 향료제, 쓴맛 차단제, 보존제, 항산화제, 계면 활성제, 점도 증강제, 착색제, pH 조절제, 감미제 등과 같은 추가적인 기타 적절한 부형제이다. 이들 부형제는 모두 알레르겐 치료제 제제화 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자가 이해할 수 있는 방식으로 통상적인 제약 실무에 따라서 선택된 모든 것이다.
- [0153] 본 발명의 용도에 적합한 매트릭스 형성제는 젤라틴류, 텍스트린류 및 콩, 밀 및 질경이씨(PSYLLIUM SEED) 단백질과 같은 동물 또는 식물 단백질; 아카시아, 구아, 아가 및 크산탄과 같은 검; 폴리사카라이드류; 전분 및 변

형 전분, 엘리그네이트(alignates) ; 카복시메틸셀룰로오스; 카라기난류; 텍스트란류; 펙틴류; 폴리비닐피롤리돈과 같은 합성 폴리머; 및 폴리캡타이드/단백질 또는 젤라틴-아카시아 복합체와 같은 폴리사카라이드 복합체로부터 유래하는 부형제를 포함한다. 젤라틴은 수용성 콜로이드 거대분자의 불균질 혼합물이다. 이러한 평균 분자량 분포의 비균질 혼합물은 뼈, 피부, 힘줄, 인대 등과 같이 동물 기원의 콜라겐 풍부 물질에서의 가수분해 작용에 의하여 얻을 수 있다. 젤라틴은 예컨대, 소, 돼지 또는 벌레 또는 한류 어류(cold-water fish)와 같은 비포유류 동물로부터 유래할 수 있다. 젤라틴은 가수분해 또는 비가수분해, 교차 결합 또는 비교차 결합될 수 있다. 또한 젤화형 또는 비젤화형일 수 있으며, 일반적으로 비젤화형은 한류 어류에서 유래한다. 또 다른 구체예에 있어서, 전분을 사용한다. 전분은 탄수화물 폴리머의 복합 혼합물이다.

[0154] 본 발명의 용도를 위한 다른 매트릭스 형성제는 만니톨, 텍스트로오스, 락토오스, 갈락토오스 및 트레할로오스와 같은 당; 시클로덱스트린과 같은 고리형 당; 인산나트륨, 염화나트륨 및 알루미늄 실리케이트와 같은 무기염; 및 글리신, L-알라닌, L-아스파르트산, L-글루탐산, L-히드록시프롤린, L-이소류신, L-류신 및 L-페닐알라닌과 같은 2 내지 12 개의 탄소 원자를 갖는 아미노산 등을 포함한다.

[0155] 고체 제형은 투약 용액의 약 50% W/W 이상의 한 가지 이상의 매트릭스 형성제를 함유하는 것이 바람직하다. 본 문맥에 사용된 바로서, "투약 용액(dosing solution)"은 응고 단계 전에 제조된 매트릭스 형성제, 알레르겐 및 다른 임의적 부형제를 함유하는 제제의 비고형분 부피를 의미한다.

[0156] 본 발명의 구체예에 있어서, 고체 제형을 형성하기 위한 투약 용액은 한 가지 이상의 매트릭스 형성제를 5 내지 30% W/W, 보다 바람직하게는 약 5 내지 20%W/W, 보다 더 바람직하게는 약 5 내지 12% W/W의 양으로 함유한다.

[0157] 투약 용액의 건조물 함량의 요건은 또한 정제의 디멘션에 따라 달라질 것이다. 본 발명에 따른 고체 제형의 지름은 약 3 내지 약 30 mm, 보다 바람직하게는 약 5 내지 약 20 mm인 것이 바람직하다. 본 발명에 따른 고체 제형의 중량은 약 1 내지 약 100 mg인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 약 10 내지 약 50 mg, 가장 바람직하게는 약 25 내지 약 35 mg이다. 본 발명에 따른 고체 제형의 높이는 약 0.5 내지 약 7.5 mm인 것이 바람직하고, 약 1 내지 약 5 mm인 것이 보다 바람직하다.

[0158] 매트릭스 형성 부형제로서 어류 젤라틴과 만니톨을 함유하는 급속 분산성 고체 제형은 안정성, 시각적 외관, 낮은 마손도, 파쇄를 위한 절정 부하 및 구강 느낌과 관련하여 특히 바람직한 것으로 나타났다. 바람직한 구체예에 있어서, 급속 분산성 고체 제형은 알레르겐 및 어류 젤라틴 및 만니톨 형태의 매트릭스 형성제의 고체 네트워크를 포함한다. 고체 네트워크를 얻기 위하여, 어류 젤라틴 대 만니톨의 비율을 조절하여야 한다. 바람직한 구체예에 있어서, 어류 젤라틴 대 만니톨의 비율은 약 2:20 내지 약 20:1이고, 보다 바람직하게는 약 2:10 내지 약 10:1이고, 보다 바람직하게는 약 3:5.5 내지 약 6.5:3이다.

[0159] 또 다른 구체예에 있어서, 어류 젤라틴 대 만니톨의 비율은 4:3이다.

[0160] 또 다른 구체예에 있어서, 어류 젤라틴 대 만니톨의 비율은 6.5:5.5이다.

[0161] 또 다른 구체예에 있어서, 어류 젤라틴 대 만니톨의 비율은 6.0:5.08이다.

[0162] 본 발명에 따른 고체 제형은 투약 용액으로부터 제조할 수 있으며, 이를 우선 동결시킨 다음 동결 건조시켜 제조한다. 바람직한 구체예에 있어서, 어류 젤라틴의 함량은 투약 용액의 약 2 내지 20% W/W이고, 만니톨의 함량은 투약 용액의 약 1 내지 20% W/W이다. 또 다른 바람직한 구체예에 있어서, 어류 젤라틴의 함량은 투약 용액의 약 2 내지 10% W/W이고, 만니톨의 함량은 투약 용액의 약 1 내지 10% W/W이다. 보다 바람직한 구체예에 있어서, 어류 젤라틴의 함량은 투약 용액의 약 3-6.5% W/W이고 만니톨의 함량은 투약 용액의 약 3-5.5% W/W이다.

[0163] 또 다른 구체예에 있어서, 매트릭스는 투약 용액의 약 4% W/W의 어류 젤라틴과 투약 용액의 약 3% W/W의 만니톨을 포함한다.

[0164] 또 다른 구체예에 있어서, 매트릭스는 투약 용액의 약 6.5% W/W의 어류 젤라틴과 투약 용액의 약 5.5% W/W의 만니톨을 포함한다.

[0165] 또 다른 구체예에 있어서, 매트릭스는 투약 용액의 약 6.0% W/W의 어류 젤라틴과 투약 용액의 약 5.08% W/W의 만니톨을 포함한다.

[0166] 매트릭스 형성제 부형제로서 전분과 만니톨을 포함하는 급속 분산성 고체 제형은 안정성, 시각적 외관, 낮은 마손도, 인장 강도, 파쇄를 위한 절정 부하 및 구강 느낌과 관련하여 특히 바람직한 것으로 나타났다. 바람직한 구체예에 있어서, 급속 분산성 고체 제형은 알레르겐과 매트릭스 형성제와의 고체 네트워크를 포함하며, 상기

매트릭스 형성체는 전분 및 만니톨 형태이며, 상기 전분은, 바람직하게는, 예컨대 감자, 밀, 메이즈, 콘 또는 쌀로부터 미리 젤라틴화된 것이다. 바람직한 구체예에 있어서, 만니톨에 대한 전분의 비율은 약 2:20 내지 약 20:1이고, 보다 바람직하게는 약 2:10 내지 약 10:1이고, 가장 바람직하게는 약 3:5.5 내지 약 6.5:3이다.

- [0167] 또 다른 구체예에 있어서, 만니톨에 대한 전분의 비율은 1:1이다.
- [0168] 본 발명에 따른 고체 제형은 투약 용액으로부터 제조되며, 이를 우선 동결시킨 후 동결 건조시켜 제조된다. 바람직한 구체예에 있어서, 전분 함량은 투약 용액의 약 2 내지 20% W/W이고 만니톨 함량은 투약 용액의 약 1 내지 20% W/W이다. 다른 구체예에 있어서, 전분 함량은 투약 용액의 약 2 내지 10% W/W이고, 만니톨 함량은 투약 용액의 약 1 내지 10%W/W이다. 또 다른 보다 바람직한 구체예에 있어서, 전분 함량은 투약 용액의 약 3 내지 6.5% W/W이고, 만니톨 함량은 투약 용액의 약 3 내지 5.5% W/W이다. 또 다른 구체예에 있어서, 매트릭스는 투약 용액의 약 4.4 % W/W의 전분과 투약 용액의 약 4.4 % W/W의 만니톨을 포함한다.
- [0169] 알레르겐의 변성, 침전을 막고 안정한 산물을 보장하기 위하여, 알레르겐과 매트릭스를 함유하는 용액의 응고 전에 pH를 조절하는 것이 바람직하다. 용액 내의 상이한 알레르기 유발 항원에 대한 최적 pH는, 이들의 등전점 (pI)과 같이, 거의 전 pH 범위에 걸쳐있다. 추출물과 같은 알레르겐 혼합물은 추출물 내의 각각의 알레르겐의 농도와 같은 인자에 의하여 결정되는 안정성 및 가용성에 대한 최적 pH를 균일하게 갖는다. 따라서, 본 발명에 따른 제제에 있어서 적합한 pH 범위를 파악할 수 있다. 당해 알레르겐에 대한 최적 pH는 상이한 pH를 갖는 제제를 사용하는 가속화된 안정성 연구를 수행하여 측정한다. 이러한 연구의 설계는 이 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있다.
- [0170] 알레르겐 추출물을 함유하는 매트릭스 조성물의 pH는 3.5 내지 10로 조절하는 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 4 내지 9, 가장 바람직하게는 6 내지 9로 조절한다.
- [0171] 또한, 이온 세기가 우선적으로 그의 동결 건조 과정의 효과를 통하여 동결 건조된 고체 제형의 안정성에 영향을 미치는 파라미터리 수 있다는 사실은 관련 기술 분야에 잘 알려져 있다. 또한, 높은 이온 세기는 침전에 영향을 미친다. 따라서, 최적 범위는 이 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려진 측정법에 의하여 확립되어야 한다. 바람직하게는, 추출물 10 µg/ml의 이온 세기는 1 내지 1500 µS/cm (S=Simens)이고, 보다 바람직하게는 300 내지 800 µS/cm이고, 가장 바람직하게는 약 500 µS/cm이다. 매트릭스와 알레르겐을 함유하는 시스템의 경우, 이온 세기는 1 내지 2000 µS/cm인 것이 바람직하고, 약 500 내지 1500 µS/cm인 것이 보다 바람직하다.
- [0172] 본 발명에 따른 고체 제형은 착색제, 향미제, pH 조절제 또는 쓴맛 차단제를 추가로 함유할 수 있다. 적절한 착색제로서 적색, 흑색 및 황색 철 산화물 및 FD & C 블루 No.2 및 FD & C 레드 No.40과 같은 FD & C 염료 등이 있다. 적절한 향미제로서 민트향, 라스베리향, 감초향, 오렌지향, 레몬향, 그레이프프루트향, 카라멜향, 바닐라향, 체리향 및 포도향 및 이들의 조합 등이 있다. 적절한 pH 조절제로서 슈트르산, 타르타르산, 인산, 염산 및 말레산 등이 있다. 적절한 감미제로서 아스파르트, 아세설팜 K 및 타우마틴 등이 있다. 적절한 쓴맛 차단제는 소듐 비카보네이트, 이온 교환 수지, 시클로덱스트린 함유 화합물, 흡착물 또는 미세 피막 형성된 활성 물질 등이 있다.
- [0173] 알레르겐의 흡수를 증진시키고 알레르겐의 면역 자극 효과를 증진시키기 위하여 일반적으로 아쥬반트를 사용한다.
- [0174] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 본 발명에 따른 급속 분산성 고체 제형은 아쥬반트를 함유하지 않는다.
- [0175] 또한, 놀랍게도, 당해 알레르겐의 면역 자극 특성을 증진시키기 위하여 급속 분산성 고체 제형에 아쥬반트를 함유시킬 필요가 없는 것으로 나타났다. 즉, 본 명세서에 기재된 바와 같은 고체 제형은 실시예 6에서 보여지는 바와 같은 특이적 면역 반응을 일으킬 수 있다.
- [0176] 본 발명의 한 구체예에 있어서, 한 가지 이상의 아쥬반트를 본 발명에 따른 제형에 포함시킨다. 적절한 아쥬반트의 예로서 알루미늄염, Alhydrogel[®] 과 같은 알루미늄 히드록사이드, 비독성 박테리아 단편, 사이토카인류, 콜레라 독소 (및 그의 해독 단편), 콜레라 독소 서브유닛 b, 키토산, E. coli의 동종 열 불안정 단편 (및 그의 해독 단편), 사포닌, 리포폴리사카라이드 (LPS) 및 뮤라밀 디펩타이드 (MDP)와 같은 박테리아 산물, 리포솜, CpG (면역 자극 DNA 서열), 미세 입자 폴리머 형태의 락티드/글리콜리드 호모 코폴리머 등이 있다. 예컨대, 백신과 같은 알레르겐 의약품에서의 아쥬반트의 사용은 당해 알레르겐이 통과하여야 하는 장벽에 침투할 수 없다는 사실에 의하여 종종 추론된다. 따라서, 아쥬반트는 흡수 증강제로서 사용되고, 면역 자극제로서 작용할 수 있다. 그러나, 아쥬반트의 사용은 면역 반응의 다양한 기전의 의도하지 않은 자극, 전신성 루프스 홍반 또는 점

막의 장벽 능력에 영향을 미쳐서 위험한 물질의 통과를 허용하는 등과 같은 심각한 문제점과 관련되어 있을 수 있다. 또한, 산업상의 관점에 있어서, 아주반트의 첨가는 약물 등록에 대한 문헌 조사에 대한 대규모의 요구 이외의 추가적인 제조 및 원료 비용을 구성한다.

- [0177] 비압축 급속 분산성 고체 제형은 어느 정도 점막 부착성일 수 있다. 그러나, 본 발명의 바람직한 구체예에 있어서, 제형과 구강 점막과의 접촉 시간을 증가시키기 위하여, 점막 부착 부형제를 상기 제형에 추가로 첨가하는 것이 필요할 수 있다. 적절한 점막 부착 부형제에는 카보머 및 카보머 유도체와 같은 폴리머; 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 및 소듐 카르복시메틸셀룰로오스와 같은 셀룰로오스 유도체; 젤라틴, 소듐 알지네이트, 펙틴 및 글리세롤과 같은 천연 폴리머 등이 있다.
- [0178] 본 발명의 다른 구체예에 있어서, 예컨대 구강의 점막을 통한 흡수를 위한 충분한 접촉 시간을 허용하기 위하여, 타액에 용해된 알레르겐 제형을 투여 후 3 분 동안 삼키지 않는다.
- [0179] 또 다른 구체예에 있어서, 5분 후까지는 물 등의 액체를 섭취하여 알레르겐 제형을 구강 내에서 희석시키지 않는다.
- [0180] 알레르기 치료와 관련하여 부작용과 역효과가 또한 존재한다고 알려져 있다. 특히, 민감화된 개체에서 진행중인 반응을 조절하는 치료 목적은 알레르겐의 투여시의 부작용을 유발하는 위험성을 내포할 수 있다. 일반적으로, 구강 점막 치료와 관련되어 나타나는 부작용은 눈, 코, 입, 기도 상부 및 하부에서 보고되어 있으며 허용 가능하다고 나타난 정도에 따라서 다르다고 보고되어 있다. 가장 보편적인 것은 가려움증 현상이다. 초과민 쇼크, 기도 상부 및 하부의 부종, 호흡 곤란, 혈압 강하, 심장 정지와 같은 부작용은 용인 불가능하다.
- [0181] 본 발명에 따른 급속 분산성 고체 제형은 상기 고체 제형을 복수개 포함하는 일회용 용기들, 즉, 복수회 투여형 용기 (multi dosage container) 형태로 제조 및 포장될 수 있다. 미국 특허 제5,729,958 및 5,343,762에 기재된 바와 같은 원료 및 방법이 특히 유리하다. 적절한 복수회 투여형 용기의 예로서 올 알루미늄 블리스터 팩 (All Aluminium Blister packs), 예컨대 폴리프로필렌과 같은 폴리머로 만들어진 블리스터 팩, PVC로 된 블리스터 팩 및 PVC/PVdC 적층 플라스틱으로부터 형성되고 캘린더 크래프트 종이, Aclar[®] 또는 Triplex[®]에 적층된 알루미늄으로 밀봉된 블리스터 팩 등이 있다.
- [0182] 구체예에 있어서, 급속 분산성 제형을 PVC/PVdC 적층 플라스틱으로부터 형성되고 캘린더 크래프트 종이에 적층된 알루미늄으로 밀봉된 블리스터 팩으로 제작 및 포장한다. 다른 구체예에 있어서, 블리스터 팩은 캘린더 크래프트 종이에 적층된 알루미늄으로 이루어진 적절한 크기의 알루미늄 봉지에 봉해질 수 있다.
- [0183] 본 발명의 또 다른 구체예에서 급속 분산성 제형은 알루미늄으로 된 블리스터 팩으로 포장하며 칼렌더 크래프트 페이퍼(calendered kraft paper)에 적층된 알루미늄으로 밀봉한다.
- [0184] 본 발명의 또 다른 구체예에서 급속 분산성 제형은 예컨대 다섯 층의 알루미늄 적층체로 된 다층 블리스터 팩으로 포장하며 칼렌더 크래프트 페이퍼에 적층된 알루미늄으로 밀봉한다.
- [0185] 본 발명의 또 다른 구체예에서 급속 분산성 제형은 알루미늄 적층체로 된 블리스터 팩으로 포장하며 칼렌더 크래프트 페이퍼에 적층된 알루미늄으로 밀봉하여 상기 블리스터 팩을 아이들이 열지 못하도록, 즉 아동 안전 팩 (child resistant packs)이 되도록 한다.
- [0186] 이러한 타입의 고체 제형은 비압축 제형의 본질적인 특성 때문에 압축 정제에 비하여 기계적 강도가 낮은 특징이 있다. 이러한 특징으로 인하여 환자가 상기 블리스터 팩에서 상기 제형을 꺼내어 취급하는 과정에서 알레르겐을 포함하는 잔류 입자가 방출된다. 대부분의 경우 이러한 특징은 별로 중요치 않으며 다만 미용상의 중요성이 있을 뿐이다. 그러나, 활성 성분이 알레르겐인 경우에는 이러한 특징이 매우 유해한데, 그 이유는 적은 양의 알레르겐은 노출된(disposed) 사람에게 알레르기 반응을 유발시키고 비민감성인 사람을 민감하게 만들 수 있기 때문이다. 연간 10 µg 범위의 통상적인 노출로 주된 알레르겐 단백질, 예컨대 꽃가루 알레르겐 또는 먼지 진드기 알레르겐이 축적되는데, 이렇게 되면 민감화 내지는 증상이 발현되기 쉽다.
- [0187] 상기 고체 제형을 취급하면, 알레르겐이 기도(氣道)나 눈과 같은 목표 조직에 접촉하며 알레르기 환자에게 반응을 유발시킨다. 하나의 제형에는 한 사람이 노출 태양에 따라 일 년 또는 그 이상에 걸쳐 노출되는 정도의 알레르겐을 포함할 수 있다. 결막성(conjunctival) 알레르겐 공격을 이용하여 알레르기 환자의 눈에 증상을 유도할 수도 있다. 이러한 알레르겐 공격에 대한 연구에 기초하면, 결막성 증상을 유도하는데 얼마나 많은 양의 알레르겐 추출이 필요한지 산정할 수 있다. 잔디 꽃가루로 인한 건초열 환자들의 증가에서 결막성 증상을 일으키는 잔디 꽃가루 추출의 최소량은 3000 SQ-U/ml × 0.05 ml = 150 SQ-U (median value) 인 것으로 제안되었다 (S. R.

Durham, S. M. Walker, E. M. Varga, M. R. Jacobson, F. O'Brien, W. Noble, S. J. Till, Q. A. Hamid, 및 K. T. Nouri-Aria. Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. N.Engl. J. Med. 341 (7): 468- 475, 1999).

- [0188] 고체 제형의 잔사를 포함하는 알레르겐이 복합 투약 용기를 열 때 외부로 방출되지 않도록 하기 위해서는 상기 제형의 마손도를 최대한 낮추어 제형에서 알레르겐이 방출되어 경구 투약하게 되는 위험을 없애는 것이 중요하다.
- [0189] 따라서, 일 구체예에서 손으로 취급할 때 상기 제형으로부터 약 500 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 250 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 150 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 75 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 25 SQ-U 이하, 가장 바람직하게는 약 10 SQ-U 이하로 방출될 수 있다.
- [0190] 다른 구체예에서 손으로 취급할 때 상기 고체 제형으로부터 약 13 BAU 이하로, 더욱 바람직하게는 약 7 BAU 이하로, 더욱 바람직하게는 약 5 BAU 이하, 더욱 바람직하게는 약 1.95 BAU 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.65 BAU 이하, 그리고 가장 바람직하게는 약 0.26 BAU 이하로 방출될 수 있다.
- [0191] 또 다른 구체예에서 손으로 취급할 때 상기 고체 제형으로부터 알레르겐 추출물을 약 0.5 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.25 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.15 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.075 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.025 μ g 이하, 그리고 가장 바람직하게는 약 0.01 μ g 이하로 방출될 수 있다.
- [0192] 또 다른 구체예에서 손으로 취급할 때 상기 고체 제형으로부터 주요 알레르겐이 약 0.05 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.025 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.015 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.0075 μ g 이하, 더욱 바람직하게는 약 0.0025 μ g 이하, 가장 바람직하게는 약 0.001 μ g 이하로 방출될 수 있다.
- [0193] 본 발명의 바람직한 구체예에서 상기 제형을 제거한 후 상기 복합 투약 용기에 잔류하는 먼지의 양은 전체 알레르겐의 약 2%를 초과하지 않으며, 더 바람직하게는 약 0.5%, 더욱 바람직하게는 약 0.2%, 더욱 바람직하게는 약 0.1%, 더욱 바람직하게는 약 0.01%, 더욱 바람직하게는 약 0.005%, 더욱 바람직하게는 약 0.003%, 가장 바람직하게는 약 0.001%를 초과하지 않는다.
- [0194] 본 발명에서 이용한 "마손도(磨損度) 테스트"는 고체 제형을 쉽게 부수고, 파편화시키고, 분말화하여 측정하는데 적절한 테스트를 지칭한다. 본 발명에 이용될 수 있는 적절한 마손도 테스트를 이하에서 설명하며 이 테스트는 European Pharmacopoeia 3rd edition (EP 3rd ed.) Pharmaceutical technical procedures 2.9.7.의 과정을 포함한다. 정제에 대한 표준적인 마손도 테스트는 EP 3rd ed. 2.9.7. 및 USP <1216>에 제시된 바에 따라 수행하며, 이 경우 중량의 감소를 손상이 없는 제형의 파라미터로 추정한다. EP 3rd ed. 2.9.7. 마손도 테스트에서는 직경 286 mm 및 깊이가 약 39 mm 인 드럼을 사용한다. 정제 샘플을 체 크기 100인 체에 놓고 공기압이나 브드러운 브러쉬로 떨어지기 쉬운 잔사를 제거한다. 정제의 무게를 잰 후 드럼 위에 올려 놓는다. 그 다음 전술한 바와 같이 떨어지기 쉬운 잔사를 제거하고 정제의 무게를 다시 잰다. 그 결과를 질량 감소로 나타내고 최초 양에 대한 백분율을 계산한다. USP <1216>에 따르면 직경이 283에서 291 사이, 깊이가 36에서 40 mm 사이의 드럼이 사용될 수 있으며 25 \pm 1 rpm의 속도로 회전한다. 따라서, 본 제형의 손상 여부를 시각적으로 측정할 수 있고 이 방법으로 정제 무게도 측정할 수 있다. 이와 달리, 본 발명에 다른 제형이 무게가 작기 때문에 무게 측정을 관심 알레르겐에 특이한 면역성 조사로 대체할 수도 있다.
- [0195] 이러한 변형된 마손도 테스트는 강건성 및 기계적 강도에 관하여 어떤 성분이 가장 적합한지를 측정하는데 유용한 것으로 밝혀진 바 있다.
- [0196] 일 구체예에서, 방출된 알레르겐의 방출 양으로 측정된 상기 고체 제형의 마손도는 테스트 성분에 충분한 외력을 가할 수 있는 어떠한 마손도 테스트에서도 고체 제형 당 약 500 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 250 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 150 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 75 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 50 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 25 SQ-U 이하, 가장 바람직하게는 약 10 SQ-U 이다.
- [0197] 보다 바람직한 구체예에서 Pharmacopoeia EP3rd ed.에 따라 수행한 마손도 테스트에서 알레르겐의 방출 양으로 측정된 마손도는 고체 제형 당 약 500 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 250 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 150 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 75 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 50 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 25 SQ-U 이하, 가장 바람직하게는 약 10 SQ-U 이하이다.
- [0198] 더욱 바람직한 구체예에서 마손도 테스트에서 알레르겐의 방출 양으로 측정된 마손도는 고체 제형 당 약 500 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 250 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 150 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약

75 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 50 SQ-U 이하, 더욱 바람직하게는 약 25 SQ-U 이하, 가장 바람직하게는 약 10 SQ-U 이하이며, 다음과 같은 공정을 포함하는 방법으로 수행된다;

- [0199] a) 각각 고체 제형을 포함하는 밀봉된 개별 블리스터를 마손도 측정에 적절한 장비에 위치시키는 공정;
 - [0200] b) 고체 제형을 포함하는 상기 밀봉된 블리스터를 적당한 시간 동안 적당한 속도로 움직이는 공정;
 - [0201] c) 고체 제형을 포함하는 상기 밀봉된 블리스터를 꺼내는 공정;
 - [0202] d) 상기 블리스터를 개봉하여 고체 제형 및 잔사를 용기에 담는 공정;
 - [0203] e) 고체 제형 유닛을 상기 용기에서 꺼내고 상기 용기에는 잔사만 남기는 공정;
 - [0204] f) 상기 잔사에 대하여 알레르겐 특이적 분석을 수행하여 상기 잔사의 알레르겐의 함량을 결정하는 공정; 및
 - [0205] g) 임의로, 고체 제형 유닛의 총 알레르겐 함량에 대한 상기 잔사 내의 알레르겐 추출물 함량의 백분율을 계산하는 공정.
- [0206] 또 다른 구체예에서,
- [0207] a) 고체 제형을 함유하는 각각의 밀봉 블리스터를 마손도를 측정하는데 적합한 기기에 넣는 공정;
 - [0208] b) 고체 제형을 함유하는 상기 밀봉 블리스터를 적절한 시간과 적절한 속도로 움직이는 공정;
 - [0209] c) 고체 제형을 함유하는 상기 밀봉 블리스터를 꺼내는 공정;
 - [0210] d) 블리스터를 개봉하여 고체 제형과 여타의 잔사를 용기에 넣는 공정;
 - [0211] e) 용기로부터 고체 제형 유닛을 꺼내어 상기 용기 내에 루스(loose) 잔사를 남기는 공정;
 - [0212] f) 상기 잔사에 대해 알레르겐 특이 분석을 실시하여 상기 잔사 중의 알레르겐 함량을 측정하는 공정; 및
 - [0213] g) 필요에 따라 상기 잔사 중, 고체 제형 유닛의 총 알레르겐 추출물 함량의 알레르겐 추출물 함량의 백분율을 구하는 공정
- [0214] 을 포함하여 이루어지는 방법에 의해 측정할 때, 알레르겐의 방출량으로서 측정된 상기 고체 제형의 마손도는 수동 조작시 고체 제형 1개 당 알레르겐 추출물 약 0.5 μg 미만, 더욱 바람직하게는 고체 제형 1개 당 알레르겐 추출물 약 0.25 μg 미만, 더욱 바람직하게는 고체 제형 1개 당 알레르겐 추출물 약 0.15 μg 미만, 더욱 바람직하게는 고체 제형 1개 당 알레르겐 추출물 약 0.075 μg 미만, 더욱 바람직하게는 고체 제형 1개 당 알레르겐 추출물 약 0.025 μg 미만, 가장 바람직하게는 고체 제형 1개 당 알레르겐 추출물 약 0.01 μg 미만인 것이 좋다.
- [0215] 또 다른 구체예에서,
- [0216] a) 고체 제형을 함유하는 각각의 밀봉 블리스터를 마손도를 측정하는데 적합한 기기에 넣는 공정;
 - [0217] b) 고체 제형을 함유하는 상기 밀봉 블리스터를 적절한 시간과 적절한 속도로 움직이는 공정;
 - [0218] c) 고체 제형을 함유하는 상기 밀봉 블리스터를 꺼내는 공정;
 - [0219] d) 블리스터를 개봉하여 고체 제형과 여타의 잔사를 용기에 넣는 공정;
 - [0220] e) 용기로부터 고체 제형 유닛을 꺼내어 상기 용기 내에 루스(loose) 잔사를 남기는 공정;
 - [0221] f) 상기 잔사에 대해 알레르겐 특이적 분석을 실시하여 상기 잔사 중의 1종 이상의 주요 알레르겐의 알레르겐 함량을 측정하는 공정; 및
 - [0222] g) 필요에 따라 상기 잔사 중, 고체 제형 유닛의 총 주요 알레르겐 함량에 대한 1종 이상의 상기 주요 알레르겐 백분율을 구하는 공정
- [0223] 을 포함하여 이루어지는 방법에 의해 측정할 때, 알레르겐의 방출량으로서 측정된 마손도는 주요 알레르겐 약 0.05 μg 미만, 더욱 바람직하게는 주요 알레르겐 약 0.025 μg 미만, 더욱 바람직하게는 고체 제형 1개 당 주요 알레르겐 약 0.015 μg 미만, 더욱 바람직하게는 고체 제형 1개 당 주요 알레르겐 약 0.0075 μg 미만, 더욱 바람직하게는 고체 제형 1개 당 주요 알레르겐 약 0.0025 μg 미만, 가장 바람직하게는 고체 제형 1개 당 알레르겐 추출물 약 0.001 μg 미만인 것이 좋다.
- [0224] 본 발명의 방법의 또 다른 바람직한 구체예에서,

- [0225] 고체 제형을 함유하는 블리스터 1 내지 100개에 대해 공정 a)에 사용된 European Pharmacopoeia V.2.9.7.에 설명된 바와 같은 마손도 측정을 위한 이큅먼트를 사용하고
- [0226] 공정 b)에서 25 ± 1 rpm의 속도로 고체 제형을 100회 회전시키며, 공정 f)에서의 알레르겐 특이 분석은 면역화학적 알레르겐 특이적 분석이다.
- [0227] 마손도를 측정하는 방법의 또 다른 바람직한 구체예에서 알레르겐 함량은 ELISA 분석법으로 측정하는 것이 좋다.
- [0228] 또한, 경구 제형은 먹음직스러운 외관을 갖추어야 한다. 따라서, 품질관리의 일환으로, 본 발명에 따른 급속 분산성 고체 제형을 예컨대, 색상, 모양, 비규격성 여부 및 결합에 관해 검사하는 것이 좋다.
- [0229] 환자에 대한 최적 순응도를 확보하기 위해, 또한 입안에서의 촉감에 대해서도 제형을 테스트할 수 있다. 예컨대, 상기 제형을 입안에 넣었을 때 환자가 상기 제형을 잘 받아 들여서 봉해시키는지를 시험한다.
- [0230] 알레르겐은 알레르기가 있는 개체에 있어서 생물적으로 매우 강력할 수 있기 때문에, 즉, 소량이라도 반응을 일으킬 수 있기 때문에, 예컨대 환자가 경험한 바 있는 패턴을, 동일한 투여량으로 섭취하였을 때 재생할 수 있도록, 치료시 그 함량을 균일하게 맞추는 것이 중요한 변수가 된다. 바람직하게는, 1개의 복수회 투여형 용기 내의 유닛 알레르겐의 함량 변이는 세트 투여량에 대해 $\pm 10\%$, 바람직하게는 $\pm 7\%$, 가장 바람직하게는 $\pm 5\%$ 인 것이 좋다.
- [0231] 복수회 투여형 용기(multi dosage container)는 급속 분산성 고체 제형을, 생각할 수 있는 어떠한 수만큼이든 함유할 수 있다. 바람직하게는 고체 알레르겐 제형을 포장하여 그룹으로서 사용하는 것이 좋다. 각각의 고체 제형을 개별적인 용기 내로 액상 혼합물로 분배한 다음, 물을 제거함으로써 포장한다. 다중 블리스터(multiple blisters)는 보다 큰 슈트상으로 배치시켜 다중 슈트를 포장하여 함께 판매할 수 있다. 예컨대, 블리스터 팩과 같은 용기는 블리스터 팩 1개당, 바람직하게는 1-100개, 바람직하게는 1-35개, 가장 바람직하게는 1-10개만큼, 고체 제형을 복수개 함유할 수 있다. 또 다른 구체예는 예컨대 1회로 의도된 치료 코스를 2, 3, 4, 5, 6회 또는 그 이상 제공할 수 있는 다중 블리스터 팩을 사용함으로써 제조, 분배 및 보관을 경제적으로 수행할 수 있다. 이와 같은 특수 포장은 특히 1회-투약 치료에 유용하며 본문에 설명된 바와 같이 투여량을 증가시키는 공정이 없는 투여 요법에 의해 가능하다.
- [0232] 또 다른 구체예는 알레르기를 치료하거나 또는 알레르기 증상을 완화시키기 위한 치료 팩을 제공한다. 치료 팩은 유효량의 알레르겐을 각각 포함하는 복수개의 고체 제형이 포함된 밀봉 패키지를 포함한다. 치료 팩은 예컨대 적어도 2, 4, 6, 7, 10, 14, 30, 60, 90, 100, 120, 200, 240개 또는 그 이상의 고체 제형을 함유할 수 있다. 치료 팩은 전체적인 치료에 충분한 제형이나 부분적인 치료에 충분한 제형을 함유할 수 있다. 치료 팩은 유닛 투여량을 적어도 1개월분 만큼 함유하는 것이 유리하다.
- [0233] 본 발명의 또 다른 바람직한 구체예에서, 치료 팩의 모든 고체 제형은 동일한 알레르겐 투여량을 함유하기 때문에, 대상 개체에 있어서 1종의 알레르기를 치료하기 위해 복수개의 투약 유닛을 제조, 분배 및 보관할 필요가 없다.
- [0234] 치료 팩을 포함하는 키트는 고체 제형의 사용에 관한 사용 지침을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 지침은 경고, 투여 요법 지침, 또는 사용자에게 유용한 여타의 정보를 포함하는 것일 수 있다. 이러한 지침은 예컨대 별도의 지침용 팜플렛, 종이, 플래카드, 및/또는 그 유닛 제형이 함유된 박스와 같은 용기 상에 인쇄된 하나 이상의 알림장을 포함할 수 있다. 이러한 지침은 또한 콤팩트 디스크나 기타 컴퓨터 판독가능한 매체, 또는 비디오 카세트로서 공급될 수도 있다.
- [0235] 가장 바람직하게는, 치료 팩의 복수개의 고체 제형이 물 및/또는 기타 유기 용매를 함유할 수 있고 신속히 분산되는 현탁액 및/또는 용매화 액체를 제거하는 인 시투 공정에 의해 액상 혼합물로부터 형성된 것인 것이 좋다.
- [0236] 또 다른 구체예에서는 치료 팩의 각각의 고체 제형이 복수개의 블리스터 팩 중에 개별적으로 밀봉된 블리스터 중에 위치된다.
- [0237] 또 다른 구체예에서는 치료 팩의 고체 제형이 젤라틴, 더욱 바람직하게는 생선 젤라틴을 함유하는 것이 좋다.
- [0238] 또 다른 구체예에서는 치료 팩의 고체 제형이 만니톨을 추가로 포함한다.
- [0239] 치료 팩의 또 다른 구체예에서는 고체 제형의 유효량이 약 $2.5 \mu\text{g}$ 내지 약 3.75 mg 추출물/고체 제형 범위이다.

- [0240] 임상적인 알레르기 발현 및 증상은 다양하며 감수성있는 개체와 알레르기 공격에 따라 변할 수 있다. 부종, 가려움, 발적 및 눈물과 콧물 (비염 및 결막염)과 같은 증상이 흔하며 천명, 재채기, 가쁜 호흡, 습진, 두드러기 및 가려움과 같은 피부 질환이 있다. 피로와 같은 다른 증상도 겪을 수 있다. 대중 요법은 다른 병용 약물에 대한 필요성을 줄이거나 증상의 위중도를 감소 또는 약화시키는데 초점이 맞추어져 있다. 대중적 약물로는 H₁ 및 H₂ 수용체 길항제와 같은 항히스타민제, 비내 및 전신용 코르티코스테로이드, 비스테로이드성 항염 약물, 코의 충혈제거제와 같은 아드레노셉터 작용제를 들 수 있다. 1종 이상의 알레르기 증상의 치료 및 경감 또는 다른 치료약에 대한 필요성의 경감 역시 본 발명의 또 다른 목적이다.
- [0241] 알레르기는 개나 말과 같은 동물과 인간을 비롯한 포유 동물에 흔한 질환이다. 따라서, 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 매트릭스 및 (b) 전술한 구체에 중 적어도 1종의 알레르겐을 함유하는 알레르겐 백신 제형의 유효량을 포유 동물의 구강 점막에 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 포유 동물에 있어서, 알레르기를 치료하거나 알레르기 증상을 완화시키는 방법을 제공하는 데 있다.
- [0242] 특히 건초열과 같은 계절성 알레르기의 치료는 일반적으로 원인이 되는 알레르겐이 존재하거나 증가하는 특정 시기에 노출되는 것과 관련이 있다. 알레르겐 계절은 예컨대 화분과 같은 알레르겐 소스 및 특정 지역에서의 알레르겐 소스의 기후 조건에 따라 변한다. 따라서, 알레르겐 계절은 기후에 따라 세계적으로 지역마다 다르지만, 일반적으로는 그 해의 실제 환경에 따라 동일 지역에서는 그 해의 동일 시기가 될 것이다 (예컨대 "Aerobiology and inhalant allergies", Chapter 19, T.A.E. Platts-Mills & W.R. Solomon (S. Manning 편집) 1993, Mosby-Year Book, St. Louis). 이것은 특정 지역에서 특정 알레르겐에 대한 시즌이 일반적으로 개시된다고 예상되는 시점에서 당업자라면 쉽게 알 수 있을 것이다.
- [0243] 본 발명의 한가지 구체예에서 본 발명에 따른 고체 제형을 알레르겐 계절이 시작되기 전에 미리 투여하는 프리 시즌 (pre-seasonal) 치료법을 비롯한 치료법이 제공된다. 특히 바람직한 구체예에서의 프리 시즌 치료 기간은 본 발명에 따른 고체 제형을 알레르겐 시즌에 앞서 2주일 이상, 더욱 바람직하게는 4-20주일, 가장 바람직하게는 8-12주일간 투여하는 것이다.
- [0244] 본 발명의 또 다른 목적은 (a) 매트릭스 및 (b) 전술한 구체에 중 여하한 1종 이상의 항알레르기 약물, 예컨대 항히스타민제 및 히스타민 합성 억제제를 추가로 포함하는 적어도 1종의 알레르겐을 포함하는 알레르겐 백신 제형의 유효량을 구강 점막에 투여하는 것을 포함하는, 알레르기 또는 알레르기 증상의 치료법을 제공하는 것이다. 이러한 항알레르기 약물로는 브로마페니라민, 세티리진, 펙소페나딘, 시프로헵타딘, 텍스클로르페니아민, 히드록시진, 케토펜, 메퀴타진, 옥소토마이드, 미졸라스틴, 에바스틴, 아스테미졸, 카르비녹사미드, 알리메마진, 부클리진, 사이클리진, 염산염, 독시라민, 트리트퀼린을 들 수 있다.
- [0245] 본 발명은 또한 적어도 1종의 매트릭스 형성제와 알레르겐을 포함하여 이루어지는 급속 분산성 비압축 고체 제형을 포함하는 약학적 제품의 알레르기의 구강 점막 치료 또는 알레르기 증상의 완화를 위한 용도도 포함한다.
- [0246] 본 발명의 또 다른 구체예에서는 (a) 매트릭스, 및 (b) 항히스타민을 추가로 포함하는 1종 이상의 알레르겐을 포함하는, 안정하고 신속 분산되는 비압착형의 마손도가 적은 알레르겐 고체 제형이 제공된다.
- [0247] 또 다른 구체예는 a) 치료 팩 및 b) 증상이 완화될 때까지 치료 팩으로부터 하나 이상의 제형을 구강 점막에 반복 투여하는 것을 포함하여 이루어지는, 알레르기 치료 또는 알레르기 증상의 완화를 위한 방법을 제공한다.
- [0248] 또 다른 구체예는 특정 투여량에 달할 때까지 투여량을 늘리지 않고, 즉, 알레르겐의 상이한 레벨(들)을 증가시키지 않고, 전체 민감화 치료를 완수할 수 있는 1회 투여량을 이용하는 치료 요법을 제공한다. 이 구체예는 1회 치료로 복수 투여량을 요함이 없이 제형을 제조, 분배 및 보관할 수 있으므로 간편하고 경제적으로도 유리하다. 또한, 치료 과정을 단순화시키기 때문에, 환자의 적응도도 향상되고 이는 직접적으로 임상적 효율성을 더욱 증가시켜준다.
- [0249] 본 발명의 또 다른 구체예는, 적어도 1종의 약학적으로 허용되는 재료로 만들어진 매트릭스, 알레르겐에 대한 사람을 탈감작화시키기 위한 알레르겐의 유효량을 포함하는 경구 투여가능한 고체 제형을 함유하는 약학적 제품에 관한 것으로, 상기 제형 중의 알레르겐 함량은 25℃, 60%의 상대 습도에서 3개월 보관 후에도 초기 알레르겐 함량의 적어도 약 50% 함량을 유지하는 것이다. 바람직하게는 상기 약학적 제품은 로젠지, 정제, 캡슐제 또는 카플렛 제형인 것이 좋다.
- [0250] 본 발명에 따른 급속 분산성 고체 제형은 미국특허 제4,371,516호에 개시된 바에 다른 승화법으로 제조할 수 있다. 따라서, 알레르겐의 응고 용액과 매트릭스 형성 부형제를 승화시킨다. 승화 공정은 용액을 동결건조시킵

으로써 수행하는 것이 바람직하다. 동결 건조 공정 동안 복수회 투여형 용기의 함요부(depression) 곳에 넣어 원하는 형상으로 고체 제형을 만든다. 복수회 투여형 용기는 액체 질소나 고체 이산화탄소를 이용하여 냉각시킬 수 있다. 동결 건조 후 복수회 투여형 용기 중에서 동결된 용액을 감압 처리하고, 소망시, 조절적으로 가열시켜 용매의 승화를 돕는다.

- [0251] 본 발명은 또한 (a) 매트릭스, 및 (b) 알레르기 치료 또는 알레르기 증상을 완화시키기 위한 적어도 1종의 알레르겐 제형을 포함하는, 마손도가 적고 안정한 급속 분산성 비압축 알레르겐 백신의 고체 제형의 제조를 위한 알레르겐의 용도도 포함한다.
- [0252] 또 다른 구체예에서는
- [0253] a) 적어도 1종의 알레르겐과 적어도 1종의 매트릭스 형성제를 포함하는 수용액을 제조하는 공정,
- [0254] b) 상기 용액을 몰드의 한곳 이상의 함요부에 넣는 공정,
- [0255] c) 보관 온도 및 챔버 압력의 표준 조건을 이용하여, 로딩된 슈트를 동결 및 동결건조시켜 상기 고체 제형을 각각의 오묘한 곳에서 수득하는 공정
- [0256] 을 포함하는, 1종 이상의 매트릭스 형성제와 1종 이상의 알레르겐에 대해 개체를 탈감작화시키는데 유효한 투여량을 포함하는, 구강 점막내로 투여하는데 적합하고 마손도가 낮으며 안정한, 급속 분산성 비압축 고체 제형을 제조하는 방법이 제공된다.
- [0257] 또 다른 구체예에서는
- [0258] a) 적어도 1종의 알레르겐과 적어도 1종의 매트릭스 형성제를 포함하는 수용액을 제조하는 공정,
- [0259] b) 상기 용액을 적층 블리스터 슈트 내의 함요부에 넣는 공정,
- [0260] c) 자가 온도 및 챔버 압력의 표준 조건을 이용하여, 로딩된 슈트를 동결 및 동결건조시켜 상기 고체 제형을 각각의 오묘한 곳에서 수득하는 공정
- [0261] 을 포함하는, 1종 이상의 매트릭스 형성제와 1종 이상의 알레르겐에 대해 개체를 탈감작화시키는데 유효한 투여량을 포함하는, 구강 점막내로 투여하는데 적합하고, 마손도가 낮으며 안정한, 급속 분산성 비압축 고체 제형을 제조하는 방법이 제공된다.
- [0262] 본 발명의 바람직한 구체예의 방법에서는 블리스터 슈트가 알루미늄 블리스터 슈트인 것이 좋다. 특히 바람직한 본 발명의 방법에서는, 블리스터 슈트가 다층이고 모두 알루미늄 블리스터 슈트이다.
- [0263] 또 다른 구체예에서는
- [0264] 1) 안정한 급속 분산성 비압축 고체 제형을 제조하는 공정,
- [0265] 2) 다음 공정을 포함하여 이루어지는, 상기 제형의 마손도를 측정하는 공정: 즉,
- [0266] a) 안정한 급속 분산성 비압축 고체 제형을 각각 함유하는 밀봉 블리스터들을 마손도를 측정하기에 적합한 기기 내에 넣는 공정;
- [0267] b) 적절한 시간 및 적절한 속도로 상기 고체 제형을 함유하는 밀봉 블리스터를 움직이는 공정;
- [0268] c) 상기 고체 제형을 함유하는 밀봉 블리스터를 꺼내는 공정;
- [0269] d) 블리스터를 개봉하고 고체 제형과 기타 잔사를 용기에 넣는 공정;
- [0270] e) 용기로부터 상기 고체 제형 유닛을 꺼내서 상기 용기 중에 르스 잔사를 남기는 공정;
- [0271] f) 상기 잔사에 대해 알레르겐 특이 분석을 실시하여 상기 잔사 중의 적어도 1종의 주요 알레르겐의 함량을 측정하는 공정; 및
- [0272] g) 상기 잔사 중, 고체 제형 유닛의 총 주요 알레르겐 함량에 대한 알레르겐 상기 주요 알레르겐의 백분율을 구하는 공정
- [0273] 에 의해 제형이 낮은 마손도 요건을 만족하는지를 검사하는 공정;
- [0274] 3) 제형에 대한 요건이 완수될 때까지 공정 1)과 공정 2)를 반복하는 공정

[0275] 을 포함하여 이루어지는, 적어도 1종의 매트릭스 형성제와, 적어도 1종의 알레르겐에 대해 개체를 탈감작화시키는데 유효한 투여량을 포함하여 이루어지는, 구강 점막내로 투여하는데 적합한, 급속 분산성 비압착성의 고체로서 안정한 제형 (이 제형은 마손도가 낮은 것임)을 포함하는 약학적 제품을 얻기 위한 방법이 제공된다.

[0276] 구강 점막 면역요법은 관용성을 유도하여 점막의 백신 접종을 유도하는 방법으로서 간주할 수 있다. 구강 점막은 항원 제시 잠재력이 강한 수상 세포 (dendritic cells)이 풍부하다. 수상 세포는 알레르겐을 프로세싱하여, 국소 임파절로 이동하여 여기서 이들은 알레르겐 유도성 펩타이드들을 알레르겐 특이적인 T 세포에 제시한다. 설하 면역 용법이 진행되는 동안 이 수상 세포 - T 세포 상호반응은 T 세포에 조절적 잠재력을 유발시키거나 알레르겐 특이 Th1 세포 대 알레르겐 특이 Th2 세포의 비율을 증가시키는 것으로 믿어진다. 알레르기 백신 접종시 모니터링되는 몇몇 면역학적 변수들은 단독으로 또는 조합 사용시 치료 효능이나 효과의 적절한 마커일 수 있다. 여기에는 전신 및 점막 항체 반응, 예컨대, 특이적인 IgA, IgG 및 IgE 항체; 시토카인 레벨, 예컨대 혈액이나 점막에서의 INF 감마, IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12 및 TNF 알파 분비; 조절 T 세포, Th1 세포, Th2 세포, CD8 세포, 다른 T 세포 서브셋 또는 B 세포 또는 NK 세포의 활성화, 화학주성, 증식, 신호방출, 시토카인 생산 및 기타의 응답, 및 CD (분화 클러스터:cluster of differentiation) 마커, 예컨대 CD4, CD8, CD23, CD25, CD62L, CLA, 베타 7, CCR9, CD69, CD45RO, CCR3, CXCR5, 호염기구의 총 히스타민 함량과 같은 세포 기능 세포 표면 마커 발현; 혈액, 조직 및 분비물 중의 호산구, 호염기구, 임파구, 단구의 수; 호산구, 호염기구, 임파구, 단구 매개체 방출, 시토카인 생산, 활성화, 화학주성, 증식, 신호방출 및 기타 응답을 들 수 있다.

[0277] 바람직한 구체예에서 본 발명에 따른 백신은 하나 이상의 다음의 면역학적 변화가 발견되는 프로파일을 갖는다: 알레르겐 특이적 IgG 응답의 증가, 알레르겐 특이적 IgA 응답의 증가, 알레르겐 특이적 IgE 응답의 감소, 몇가지 국소적인 부작용; 알레르겐 특이적인 호산구, 호염기구 임파구 및/또는 단구의 이펙터 응답의 감소; 조절 포텐셜을 갖는 T 세포 유발, 알레르겐 특이적인 Th1 세포 대 알레르겐 특이적인 Th2 세포의 비율의 증가, 알레르겐 특이적인 Th2 응답의 감소.

[0278] 알레르기는 특히 가축과 반려 동물과 같은 동물에서도 잘 알려져 있는 질환이다. 이들은 잔디, 집먼지 진드기, 및 기생충을 비롯한 수많은 알레르겐 소스에 대해 알레르기를 일으키는 것으로 알려져 있다. 혈액 섭식형, 즉, 흡혈 곤충에 감염되면 소위 벼룩 알레르기성 피부염 (FAD) 이라는 과민성 반응이 일어난다. 본 발명의 바람직한 구체예의 동물 백신용 알레르겐은 외부기생충 (예컨대 벼룩, 진드기, 모기, 파리), 기생충성 연충독 (개심장 사상충, 예컨대 Dirofilaria 또는 회선사상충증, 예컨대 Onchocerca) 및 집먼지 진드기와 같은 기생충으로부터 유래하거나 옹은 알레르겐을 포함한다. 더욱 바람직한 것은 예컨대 C. canis 및 C. felis와 같은 Ctenocephalides 벼룩, 참진드기, Armblyomma와 같은 딱딱한 진드기, Ornithodoros와 같은 연질 진드기 및 Culicoides와 같은 깔따구 (midges)로부터의 타액 알레르겐이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0279] 실시예
- [0280] 약어:
- [0281] API: 활성 단백질 성분
- [0282] ELISA: 효소결합면역흡착법
- [0283] DDT: 디티오쓰레이틀
- [0284] HRP: 호스 래디쉬 과산화효소
- [0285] LIA: 매직 라이트 특이적인 IgE 측정법
- [0286] LITE-시약: 발광 표지된 항-IgE
- [0287] PMP: 상자성 입자
- [0288] SDS-PAGE: 소듐 도데실 설페이트 폴리아크릴 아미드 젤 전기영동
- [0289] TMB: 테트라메틸벤지딘
- [0290] 실시예 1. 플레넘 프라텐스 (Phlenuum pratense) 잔디 화분 추출물 및 생선 젤라틴을 함유하는 알레르겐 백신.

[0291] **조성:**

표 1

성분	유닛	투약제형 1	제형 2	제형 3	기능
약물 성분: 플레넵 프라텐스	SQ-U	2500	25000	125000	
	mg 추출물	0.0047	0.047	0.235	
기타 성분 정제수	mg	250mg 되게하는 양	250mg 되게하는 양	250mg 되게하는 양	용매
젤라틴 (표준분자량 생선 젤라틴, Croda UK)	mg	10	10	10	매트릭스
만니톨	mg	7.5	7.5	7.5	매트릭스
수산화나트륨	mg	q.s.	q.s.	q.s.	pH 7.5로 조정

[0293] **잔디 추출물**

[0294] 잔디 화분 추출물을 Ipsen 및 Lowensten (1983) Jour. Allergy. Clin. Immunol. 72:2, 150-159 페이지에 설명된 방법으로 제조하였다. 짧은 잔디에서 탄산수소암모늄으로 5°C에서 20시간 동안 화분을 추출하였다. 원심분리에 의해 미립자 물질을 제거하고 상등액을 물로 투석하여 (3회), 동결건조시킨 다음 재조성시킬 때까지 차게 보관하였다.

[0295] **고체 제형:**

[0296] **제조 공정:**

- [0297] 1. 일정 부분 (aliquot)의 정제수 (총 배치 요구량의 50% 이상)에 만니톨을 첨가하여 용해시켰다.
- [0298] 2. 만니톨 용액에 젤라틴을 첨가하고 젤라틴이 완전히 용해될 때까지 자석 막대를 이용하여 용액을 교반하였다.
- [0299] 3. 두번째 일정 부분의 정제수 (총 배치 요구량의 35% 이하)를 이용하여 바이알 내에서 알레르겐 추출물을 재조성시켰다. 재조성시킨 알레르겐 추출물을 만니톨-젤라틴 용액에 첨가하였다.
- [0300] 4. 벌크 배합물의 pH를 갖 제조한 수산화나트륨 용액 (3 중량%)을 이용하여 pH 7.5로 조정하였다.
- [0301] 5. 배합물을 완성하는데 필요한 정제수 부가량을 산출하여 벌크 믹스에 첨가하였다.
- [0302] 6. 용액을 미리 제조해 둔 블리스터 팩에 투여량 충전하였다. 이 용액을 주변 온도 조건에서 투여하였다.
- [0303] 7. 투여 후, 충전된 블리스터 팩을 액체 질소 냉동 터널을 통해 통과시켰다. 동결된 모든 제품을 냉동건조에 앞서, 즉시 냉동 저장고에 넣었다. 유닛들을 보관 온도 및 챔버 압력의 표준 조건을 이용하여 동결 건조 시켰다.
- [0304] 8. 동결 건조된 유닛을 리딩 호일로 밀봉한 다음 마지막으로 사체 형으로 포장하였다.

[0305] 고체 제형의 평균 중량은 18 mg이었고 평균 직경은 11 mm였다.

[0306] **측정법의 간단한 설명:**

[0307] **아이덴티티 (ID), 단백질 프로파일:** 제조사 지침에 따라 Novex Mini Cell Xcell II 시스템 (Invitrogen사)을 이용하여 SDS-PAGE로 단백질 프로파일을 측정하였다. 간단히 설명하면, 샘플을 샘플 완충액 첨가된 환원제 (0.5 M DDT)로 희석하고 70°C에서 10분간 방치시킨 다음 5분간 냉각시켰다. 각 웰 당 샘플, 인하우스 레퍼런스 및 표준 저범위 크기 마커 (BIO-RAD)를 NuPAGE 4-12% Bis-Tris 구배 젤 상에 적용시켰다. 200 V에서 약 35분간 전기영동을 실시하였다. 이어서 젤을 은으로 염색하였다. 단백질 패턴은 인하우스 레퍼런스와 유사하여야 한다.

[0308] ***육안 검사**

[0309] 모든 유닛들을 예컨대 색상, 모양, 불규칙성 및 결함등에 관해 육안 검사를 실시해서 허용가능한 외관을 확보하

도록 하였다.

- [0310] **봉해:** European Pharmacopoeia (제3판) 또는 현행 USP에 설명된 바와 같이 시험하였다.
- [0311] **수분 함량:** Karl Fischer 적정원리에 따라 잔류수를 측정하였다. 이 방법은 주어진 I₂의 양이 동량의 H₂O를 변환시킨다는 이론에 기초해서 샘플 중의 물 시료를 정량적으로 측정하는 방법이다.
- [0312] 간단히 설명하면, KF 표준 샘플과 블라인드 샘플 (회당 4개)과 함께 각각의 바이알 당 1-3 고체 제형을 제조사 지침에 따라 Karl Fisher Titrator 중에서 3회 시험하였다. 실시예 10 참조.
- [0313] **총 알레르겐 활성:** 이 테스트는 경쟁적 면역측정법인 LIA (Eiken외, Allergy, 1992, 47:495-497에 설명됨)를 이용하여 수행하였다. 상자성 입자 (PMP) (ADVIA Centaur PMP, ALK-Abello A/S Denmark)에 결합된 항인간 IgE 모노클로날 항체 100 μl를 3회 세정하고 플레넘 프라텐스 IgE 항체가 있는 환자 혈청 풀 100 μl를 첨가하여 2-8 °C에서 2시간 동안 진탕기 상에서 인큐베이션시켜, 특이적인 IgE를 PMP에 결합시킨다. PMP를 젤라틴 완충액으로 3회 세정하여 IgG 항체를 제거한다. 젤라틴 완충액 중에 10개의 고체 제형을 용해시키고 정제 1개 당 625 SQ-Units 또는 1250 SQ-Units를 제조하였다. 샘플 또는 바이오티닐화 플레넘 프라텐스 API의 함량이 알려진 레퍼런스를 적용시켜 2-8°C에서 밤새 진탕시키면서 인큐베이션하였다. 샘플과 바이오티닐화 API는 IgE 결합 부위를 놓고 경쟁할 것이며, 샘플 중의 알레르겐의 농도가 상승하면, 결합된 바이오티닐화 API의 양은 감소할 것이다. 인큐베이션 후, 샘플을 젤라틴 완충액으로 3회 세정하고, 예컨대 스트렙타비딘 커플링된 아그리디늄 에스테르 화학발광 화합물 (ADVIA Centaur Lite Reagents, ALK-Abello A/S)과 같은 LITE-시약을 적용시킨다. 샘플을 2-8 °C에서 진탕기 상에서 2시간 인큐베이션시키고 젤라틴 완충액으로 3회 세정한 다음 발광계를 판독하였다. 그 응답은 샘플 중의 알레르겐의 농도와 반대의 관계에 있다.
- [0314] **주요 알레르겐 함량:** 이 테스트는 Obispo 등 (Allergy, 1997, 52, pg.806-813)에 따라 ELISA 기술을 이용하여 실시하였다.
- [0315] ELIS 법은 플레넘 프라텐스 주요 알레르겐 5 (Phl p 5)의 농도를 측정한다. Phl p5 분자 상의 서로 다른 에피토프와 반응하는 두개의 모노클로날 항체 (ALK-Abello A/S, DK)를 마이크로적정 플레이트에 도포하여 4°C에서 밤새 바치시켰다. 세정 (세정 완충액인 0.1M PBS, 0.05% Tween-20으로 4회 세정)하고 차단 완충액 (2% 카제인 완충액)으로 플레이트를 차단시킨 다음, 샘플/레퍼런스를 항체에 결합, 적용시켰다. 다시 세정한 후 (세정 완충액으로 4회) 플레넘 프라텐스 항원에 대한 바이오티닐화된 토끼의 폴리클로날 항체 (ALK-Abello A/S, DK)를 웰에 적용하여 반응시켰다.
- [0316] 세정 완충액으로 4회 세정한 후, HRP (호스 래디쉬 과산화효소)에 커플링된 스트렙타비딘을 웰에 적용시켜 실온에서 1시간 반응시켰다 (진탕시킴). 세정 완충액 매트릭스 (TMB, KEM, EN TEC)로 4회 세정한 후 HRP 효소를 적용하여 20분간 반응시킨 후 0.5 N 황산으로 반응을 중단시켰다. 예컨대 다중표지된 카운터 Victor 2와 같은 스펙트로포토미터를 이용하여 450 nm에서의 발색을 측정하였다.
- [0317] 마손도:
- [0318] 급속 분산성 제형의 마손도를 다음 방법에 따라 측정하였다.
- [0319] 각각의 블리스터마다 고체 제형을 함유하는 블리스터를 10개 함유하는 밀봉 블리스터 슈트를 10개의 개별적인 블리스터로 절단하고 각각의 블리스터들을 EP 3판 (V. 2.9.7.)에 설명된 바와 같은 마손도 측정에 적합한 기기편에 넣고, 이 유닛을 25±1 rpm에서 100회 회전시켰다. 각각의 블리스터를 꺼내어 개봉하고 고체 제형을 적절한 용기 내로 옮겼다. 이어서 고체 제형을 용개로부터 제거하고, 상기 용기 중에 여하한 루스 잔사를 남겼다. 면역화학적 알레르겐 특이 측정법 (ELISA)를 실시하여 잔사 중의 알레르겐의 함량을 측정하였다 (전기 내용 참조).
- [0320] **안정성 결과:**

표 2

[0321] 제품	플레넘 파텐스 2500 SQ-U를 함유하는 제형
보관 조건	25°C/60% RH

테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	수분 함량 (%)	육안 검사	주요 알레르기 유발항원 함량 (%)	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)						
출발	0.000	8	5.5	합격	96	101
1	n.m.	5	4.9	합격	79	91
2	n.m.	6	5.4	합격	96	102
3	0.000	5	5.2	합격	94	82
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	0.000	5	5.3	합격	83	105
보관 조건	40°C/75% RH					
테스트:						
샘플링 (개월)	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	수분 함량 (%)	육안 검사	주요 알레르기 유발항원 함량 (%)	총알레르겐 활성(%)
1	n.m.	3	4.8	합격	85	86
2	n.m.	8	5.2	합격	85	100
3	0.005	6	5.4	합격	94	83
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	0.005	4	5.1	합격	70	92

표 3

제품	플레넘 파텐스 25000 SQ-U를 함유하는 제형						
보관 조건	25°C/60% RH						
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	주요 알레르기 유발항원 함량 (%)	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)							
출발	0.000	8	합격	6.3	합격	106	104
1	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
2	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
3	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
6	n.m.	7	합격	n.m.	합격	87	141
9	0.000	4	합격	5.1	합격	79	105
보관 조건	40°C/75% RH						
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	주요 알레르기 유발항원 함량 (%)	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)			ID				
1	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
2	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
3	0.005	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
6	n.m.	6	합격	n.m.	합격	84	135
9	0.005	4	합격	5.0	합격	77	105

[0322]

표 4

[0323]

제품	플레넴 프라텐스 12500 SQ-U를 함유하는 제형						
보관 조건	25°C/60% RH						
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	주요 알레르기 유발항원 함량 (%)	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)							
출발	0.000	5	합격	4.7	합격	100	100
1	n.m.	10	합격	3.9.	합격	8.4	93
2	n.m.	5	합격	4.5.	합격	92	104
3	n.m.	8	합격	4.8.	합격	80	88
6	n.m.	6	합격	n.m.	합격	n.m.	n.m.
9	0.003	5	합격	4.5	합격	77	106
보관 조건	40°C/75% RH						
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	주요 알레르기 유발항원 함량 (%)	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)							
1	n.m.	4	합격	4.1	합격	90	92
2	n.m.	6	합격	4.6	합격	91	109
3	0.001	7	합격	4.5	합격	83	89
6	n.m.	5	합격	n.m.	합격	n.m.	n.m.
9	n.m.	5*	합격	4.6	합격	78	118

[0324]

실시에 2. 플레넴 프라텐스 잔디 화분 추출물 및 전분을 함유하는 알레르겐 백신

[0325]

조성

표 5

[0326]

성분	유닛	투약제형 1	투약제형 2	투약제형 3	기능
약물 성분 플레넴 프라텐스	SQ-U	2500	25000	125000	API
	mg 추출물	0.0047	0.047	0.235	
기타 성분 정제수	Mg	250mg 되게 하는 양	250 mg 되게 하는 양	250 mg 되게 하는 양	용매
미리 젤라틴화시킨 전분	Mg	8 mg	9 mg	11 mg	매트릭스
만니톨	Mg	8 mg	9 mg	11 mg	매트릭스
수산화나트륨	Mg	q.s.	q.s.	q.s.	pH 7.5로 조정

[0327]

제조 공정:

[0328]

실시에 1과 마찬가지로 수행하며 단, 젤라틴 (생선 원료) 대신, 미리 젤라틴화시킨 전분을 첨가하였다. 고체 제형의 평균 중량은 19 mg이었고 평균 직경은 11 mm였다.

[0329]

측정법의 간단한 설명:

[0330]

실시에 1과 동일함.

[0331]

안정성 시험 결과:

표 6

제품	플레넘 파텐스 2500 SQ-U를 함유하는 제형				
보관 조건	25℃/60% RH				
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	수분 함량 (%)	육안 검사	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)					
출발	0.008	8	3.5	합격	101
1	n.m.	5	3.0	합격	80
2	n.m.	6	3.6	합격	99
3	0.021	5	3.9	합격	69
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	0.010	5	3.5	합격	101
보관 조건	40℃/75% RH				
테스트:					
샘플링 (개월)	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	수분 함량 (%)	육안 검사	총알레르겐 활성(%)
1	n.m.	3	2.9	합격	74
2	n.m.	8	3.7	합격	98
3	0.022	6	4.3	합격	73
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	0.003	4	n.m.	합격	75

표 7

제품	플레넘 파텐스 25000 SQ-U를 함유하는 제형					
보관 조건	25℃/60% RH					
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)						
출발	0.022	10	합격	3.3	합격	106
1	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.
2	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.
3	n.m.	n.m.	합격	n.m.	n.m.	n.m.
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	0.010	160	n.m.	3.5	잔사	99
보관 조건	40℃/75% RH					
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)			ID			
1	n.m.	n.m.	합격	합격	n.m.	n.m.
2	n.m.	n.m.	합격	합격	n.m.	n.m.
3	n.m.	n.m.	합격	합격	n.m.	n.m.
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	0.050	60	n.m.	n.m.	잔사	96

표 8

[0334] 제품 플레넴 프라텐스 125000 SQ-U를 함유하는 제형						
보관 조건 25°C/60% RH						
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)						
출발	0.041	11	합격	2.6	합격	121
1	n.m.	18	합격	2.4	잔사	102
2	n.m.	30	합격	3.0	잔사	126
3	0.055	28	합격	3.6	잔사	102
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	0.0030	58	n.m.	2.9	잔사	99
보관 조건 40°C/75% RH						
테스트:	마손도 추출물(API)의 총 함량 손실%	붕해 (초)	ID	수분 함량 (%)	육안 검사	총알레르겐 활성(%)
샘플링 (개월)			ID			
1	n.m.	58	합격	2.5	잔사	96
2	n.m.	25	합격	3.1	잔사	121
3	0.033	25	합격	3.5	잔사	97
6	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
9	n.m.	70	n.m.	2.7	잔사	110

[0335] 실시예 3. 잔디 추출물과 생선 젤라틴을 함유하는 알레르겐 백신

표 9

[0336] 성분	유닛	투약제형 1	투약제형 2	투약제형 3	기능
활성 물질 플레넴 프라텐스	SQ-U	2500	25000	75000	활성 물질
	mg 추출물	0.0047	0.047	0.141	
기타 성분 정제수	mg	250mg 되게 하는 양	250 mg 되게 하는 양	250 mg 되게 하는 양	용매
미리 젤라틴화시킨 전분	mg	16	16	16	매트릭스
만니톨	mg	14	14	14	매트릭스
수산화나트륨	mg	q. s.	q. s.	q. s.	pH 7.5로 조정

[0337] 제조 공정:

[0338] 실시예 1과 동일함.

[0339] 고체 제형의 평균 중량은 30 mg이었고 평균 직경은 12 mm였다.

[0340] 측정법의 간단한 설명:

[0341] 마손도와 안정성을 측정하지 않은 것을 제외하고 실시예 1과 동일함.

[0342] 측정 결과:

표 10

[0343]

테스트 방법	주요 알레르기 유발항원 함량 (%) ELISA	총 알레르기 유발항원 활성(%) LIA	붕해 (초)	수분 함량 (%)
강도				
2500 SQ-U/제형	97	102	1	5.5
25000 SQ-U/제형	100	89	1	5.3
75000 SQ-U/제형	94	95	1	5.2

[0344]

상기 결과는 6.5%의 생선 젤라틴과 5.5%의 만니톨로 구성된 매트릭스 형성제 중의 잔디 알레르겐 추출물을 세가지 서로 다른 투여량으로 함유하는 알레르겐 함유 고체 제형의 구체예를 제공한다. 제형 중의 알레르겐 함량과 알레르겐 활성은 제조 후 허용가능한 한계 범위 이내였다 (하기 내용 참조). 또한, 이 결과는 모든 제형의 수분 함량이 바람직한 범위인 4-7%임을 보여준다.

[0345]

결과

[0346]

실시에 1, 2 및 3으로부터 분명히 알 수 있는 바와 같이, 즉각적으로 붕해하는 급속 분산성 고체 알레르겐 백신 제형을 제조하는 것이 가능하다. 비록 육안 검사에 의해 몇몇 블리스터 팩에서 잔사가 검출되긴 했지만 (주요 성분 함유 매트릭스의 경우 그 정도가 높음), 잔사의 양, 즉, 알레르겐 함량 손실의 양은 허용가능한 한계범위 이내, 즉, 0.5 µg 추출물 미만이었으므로, 추출물의 총함량 손실은 허용가능한 범위 이내인 것으로 밝혀졌다. 따라서, 알레르겐을 함유하며 마손도가 적은, 비압착성 급속 분산성 고체 제형을 제조할 수 있다.

[0347]

안정성 데이터는 상기 배합물들이 실온과 고온 및 습도에 대해 9개월간 안정함을 보여준다. 알레르겐 함량과 총 알레르겐 활성은 변함없이 유지되었다 (EP 제3판에 따른 변형 측정법. Allergen Products 모노그래프: 총 알레르겐 활성은 이론치의 50-200%, 주요 알레르겐 함량은 이론치의 65-135%임)

[0348]

제조된 모든 배치를 육안 검사하자 허용가능한 한계 범위 이내인 것으로 나타났다.

[0349]

실시예 4: 알레르겐 백신 조성물

[0350]

매트릭스 형성제를 다양한 비율로 함유하는 고체 알레르겐 백신 제형을 제조하였다.

표 11

[0351]

여러가지 팩으로 제조된 75,000 SQ-U 플레넵 프라텐스 잔디 화분 추출물을 함유하는 고체 제형				
% 젤라틴	% 만니톨	팩 유형	절단 부하(Kgf)	붕해 시간 (초)
4.00	3.00	5층 호일	0.158	< 2
4.00	3.00	PVC/PVdC	0.199	< 2
5.00	3.75	5층 호일	0.296	< 2
5.00	3.75	PVC/PVdC	0.264	< 2
6.00	4.50	5층 호일	0.342	< 2
6.00	4.50	PVC/PVdC	0.386	< 2
7.00	5.25	5층 호일	0.491	< 2
7.00	5.25	PVC/PVdC	0.421	< 2

[0352]

모든 제형은 전술한 바와 같이 유닛 직경이 12 mm인 블리스터 팩으로 제조하였다. 신속하게 붕해된 모든 제형은 육안 검사, 인장 강도 및 최고 절단 부하량 등으로 평가시 견고하였다.

표 12

[0353]

생선 젤라틴과 만니톨 중에 제조된 75,000 SQ-U 플레넵 프라텐스 잔디 화분 추출물을 함유하는 고체 제형				
% 젤라틴	% 만니톨	인장강도 (N/mm ²)	최고 절단 부하(Kgf)	붕해 시간 (초)
5	4	0.239	0.168	< 2
6.5	5	0.361	0.265	< 2
6.5	5.5	0.425	0.277	< 2

5	7	0.389	0.239	< 2
8	4	0.531	0.308	< 2
8	7	0.708	0.465	< 2
7	7	0.543	0.355	< 2
7	5	0.458	0.311	< 2
6	4	0.263	0.169	< 2
6	7	0.381	0.265	< 2

[0354] 모든 제형은 진술한 바와 같이 유닛 직경이 12 mm인 블리스터 팩으로 제조하였다.

[0355] 신속하게 봉해된 모든 제형은 육안 검사와 최고 절단 부하량으로 평가시 견고하였다.

[0356] **실시예 5 균일성**

[0357] 실시예 1에 설명된 바와 같은 조성 및 제조방법에 따라 제형을 알레르겐 함량의 균일성에 대해 테스트하였다. 알레르겐 함량은 25000 및 125000 SQ-유닛을 각각 함유하는 제형에 대해 실시예 1에서 설명된 ELISA 측정법에 의해 잔디 화분 Phlenu m 5의 강도의 균일성으로서 평가하였다. 블리스터 팩으로부터의 10개의 개별적인 유닛을 표 13 및 표 14에 비교하여 나타내었다.

표 13

[0358]

ID (제형 번호)	총 알레르겐 함량 %
1	97.0
2	98.6
3	97.7
4	95.6
5	97.2
6	99.3
7	95.7
8	96.9
9	97.4
10	98.3
평균값	97.4

표 14

[0359]

ID (제형 번호)	총 알레르겐 함량 %
1	101.4
2	102.4
3	102.3
4	101.9
5	104.4
6	100.5
7	101.1
8	104.0
9	113.4
10	97.1
평균값	102.8

[0360] 모든 편차는 허용가능한 한계범위 이내였으며 알레르겐 함량의 균일성은 우수한 것으로 밝혀졌다.

[0361] **실시예 6. 개에 대한 플레넘 프라텐스 잔디 화분 백신의 투여**

[0362] 각 연구 그룹 당 성별로 균일하게 개들을 분포시키고 다음 표 15에 따라 백신을 투여하였다.

표 15

그룹 배정				
그룹	투여량 레벨 (SQ-유닛)	제형의 수 ^a	개의 마릿수	회수된 개의 마릿수
1	0	1	8	4
2	25000	1	8	-
3	500000	4	8	4

^a 그룹 1에게는 위약(플라시보) 제형을, 그룹 2에게는 실시예 1에서 만든 25000 SQ-유닛 제형을, 그룹 3에게는 실시예 1에서 만든 125000 SQ-유닛 제형을 투여하였다.

[0363] 개들에게 표 15에 제시된 바와 같이 설하 투약하였다. 제형을 혀 밑에 놓고 제형이 용해되도록 개의 주둥이를 꼭 닫은 채로 붙잡는다. 하루 한번씩 4주일 연속하여 개에게 투약한다. 치료 기간이 끝난 후 모든 그룹의 개로부터 채혈하였다. 위약 처리된 개 4마리와 고투여량 그룹은 각각 4주일간의 회복 기간을 주었으며 그 후 채혈하였다.

[0365] 방법:

[0366] 혈청 또는 혈장 중의 플레넘 프라텐스 (Phl p) 특이적인 IgG를 다음과 같이 측정하였다: ELISA 플레이트 (Costar)를 4°C에서 밤새 10 µg/ml의 Phl p 추출물로 도포하였다. 실온에서 1시간 동안 2% 카제인 완충액을 이용하여 플레이트를 4회 1분간 침지시켜 비특이적 결합을 차단하였다. 각각의 혈청 또는 혈장 샘플을 폴리프로필렌 플레이트에 희석시키고 ELISA 플레이트에 옮겨서 실온에서 2시간 인큐베이션시켰다. 세정 후, HPR로 마킹한 항개 IgG (ICN)을 ELISA 플레이트에 첨가하고 실온에서 1시간 인큐베이션시켰다. 또 다시 세정하고, ELISA 플레이트에 TMB를 첨가하고, 커버시킨 다음 실온에서 20분간 인큐베이션시켰다. 0.5M 황산을 이용하여 반응을 중단시켰다. 450 nm에서의 흡수도 (OD)를 분광광도계로 측정하였다.

[0367] 1:200 희석시의 OD 값을 3 그룹의 개들에 대해 비교하였다: 위약, 25000 SQ/투여량 및 500000 SQ/투여량. 3개의 그룹들 간의 통계적 차이를 두개의 쌍을 이루지 않은 그룹들을 비교하는 비변수매개 테스트인 Mann-Whitney 랭크 총계 테스트로 구하였다. 500000 SQ 유닛을 투여받은 개들은 25000 유닛을 투여받은 개와 위약을 투여받은 개들에 비해 높은 평균치를 나타냈는데 이는 특이적인 항체 반응을 시사하는 것이다.

[0368] 결과:

[0369] 표 16에 Mann-Whitney 테스트로부터 얻은 P 값을 나타내었다.

표 16

그룹	P 값
위약 대 25000 SQ-U/투여량	0.059
위약 대 500000 SQ-U/투여량	0.004

[0370] P-레벨 ≤ 0.05 = 95% 정확도로 유의적임.

[0371] 위약 그룹과 500,000 SQ-U/투여량 그룹 사이에는 명백하게 유의적인 차이가 있는데 이는 500,000 SQ-U/투여량으로 4주일간 설하 투여 치료된 그룹이 더 높은 체액성 특이적 IgG 레벨을 나타냄을 가리키는 것이다. 위약 그룹과 25,000 SQ-U/투여량 그룹 간에도 경계적으로 유의적인 차이가 있었는데 이는, 25,000 SQ-U/투여량 그룹이 비록 500000 SQ-U/투여량으로 치료받은 그룹보다는 약하기는 하나, 체액성 특이적인 IgG 레벨을 부여함을 가리키는 것이다.

[0372] 실시예 7. 알레르기에 대한 플레넘 프라텐스 잔디 화분 백신의 투여

[0373] 18-65세의 잔디 화분 알레르기가 있는 것으로 진단된 여성과 남성의 알레르기 환자들에게 실시예 1에 따라 잔디 화분 추출물을 함유하는 고체 제형을 무작위적으로 이중 맹검, 위약-조절 설계 방식으로 1회, 2회 또는 3회 단일 투여량으로서 및/또는 복수 투여량으로서 설하 투여하였다.

[0374] 안정성/관용성을 단일 투여량에 대해 평가하였다. 위약, 2,500, 25,000, 75,000, 125,000 및 375,000 SQ-U의 단일 투여량을 위약과 활성 정제 (직경 12 mm이고 건조 중량 약 18 mg)의 조합을 이용하여 투여량을 점차 증가

시키는 방식으로 필요 투여량을 만족시키도록 투여하였다. 잔디 화분에 대해 알레르기가 있는 47명의 환자들을 치료하였다. 제형을 혀 밑에 넣고 삼키기 전까지 1분 동안 놓아 두었다. 고체 제형을 투여한 후 5분간은 음식물을 먹거나 마시지 못하게 하였다. 환자들의 증상을 2시간 동안 관찰하였다. 모든 부작용을 기록하고, 매 투여 후에 환자들의 관용성을 Visual Analogous Scale로 기록하였다. 투여량을 함유하는 제형은 125,000 SQ-U를 포함하는 것까지는 잘 관용되는 것으로 나타났는데 이는, 그 부작용이 대부분 심하지 않았고 입과 목구멍에서 "가려움" 현상으로 국한되었기 때문이다. 부작용은 또한 위약 그룹에서도 보고되었다. "가려운 입 (itching mouth)" 는 예컨대 투여량이 증가할수록 자주 보고되었고, 부작용의 진행은 투여량의 진행과 관계 있다.

[0376] 또한, 반복 투여시의 안전성/관용성을 25,00 25,000 및 75,000 SQ-U의 세가지 선택 투여량 및 위약에 대해 테스트하였다. 잔디 화분에 대해 알레르기가 있는 47명의 환자들을 엇비슷한 크기의 4 그룹으로 배정하고, 8주일 동안 매일 설하투여하였다. 위약, 2500 및/또는 25,000 SQ-U (직경 12 mm 및 건조 중량 약 18 mg)를 함유하는 세가지 정제의 조합물을 투여하여 필요 투여량을 달성하였다. 부작용을 기록하고 환자 일지에 증상을 수집하였다. 제형에 함유된 투여량은 세가지 활성 치료 그룹 모두에서 잘 관용되는 것으로 나타났다. 부작용 및 부외의 증상은 투여량 증가시 더 빈번하게 나타나는 것으로 보고되었다.

[0377] 따라서, 테스트된 고체 제형은 투여량을 증가시키고 단일 제형을 반복 투여하는 두가지 요법 모두에서 임상적으로 이용될 수 있는 것으로 여겨진다.

[0378] 실시예 8. 플레넘 프라텐스 잔디 화분 추출물 및 생선 젤라틴을 함유하는 알레르겐 백신.

[0379] 실시예 1의 표 1에 설명되고 실시예 1에 따라 제조된 고체 제형을 25℃/60% RH 조건에서 12개월 동안 보관하고 육안 검사, 봉해도, 수분 함량, 질량 균일성 및 아이덴티티 (단백질 프로파일), 주요 알레르겐 함량 및 총 알레르겐 활성에 대해 측정하였다. 모든 테스트를 실시예 1에 설명된 바와 같이 수행하였다. 달리 언급하지 않는 한 10개의 정제 풀에 대해 중복 시험한 측정 평균값을 나타내었다.

표 17

보관 조건: 25℃/60% RH								
제품		2500 SQ-U/정제						
테스트	육안 검사	질량의 균일성	봉해 (초)	총 알레르기 유발 활성 (LIA)	주요 알레르겐 함량 (ELISA)	마손도	수분 함량(%)	
0	합격	합격	6	122%	97%	0.00%	6.1%	
12	합격	합격	1	105%	99%	N/A	4.8%	
제품		25000 SQ-U/정제						
테스트	육안 검사	ID (SDS-page)	질량의 균일성	봉해 (초)	총 알레르기 유발 활성 (LIA)	주요 알레르겐 함량 (ELISA)	마손도	수분 함량 (%)
0	합격	합격	합격	5	108%	100%	0.00%	5.7%
12	N/A	합격	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
제품		125000 SQ-U/정제						
테스트	육안 검사	ID (SDS-page)	질량의 균일성	봉해 (초)	총 알레르기 유발 활성 (LIA)	주요 알레르겐 함량 (ELISA)	마손도	수분 함량 (%)
0	합격	합격	합격	7	110%	99%	0.00%	5.4%
12	합격	합격	합격	1	119%	104%	N/A	4.2%

[0381] 육안 검사:

[0382] 연구 기간 동안 정제의 외관에는 아무런 변화가 없었다.

[0383] 봉해:

[0384] 연구 기간 동안 봉해 시간에는 이렇다할 변화가 없었다. 모든 테스트 샘플은 즉시 봉해되었다.

- [0385] 질량의 균일성:
- [0386] 연구 기간 동안 질량 균일성에 별다른 변화는 없었다 (정제 20개 평가시).
- [0387] 수분 함량:
- [0388] 연구 기간 동안 수분 함량에는 별다른 변화는 없었다.
- [0389] 아이덴티티 SDS-page
- [0390] 연구 기간 동안 단백질 프로파일에 극적인 변화는 없었다; 샘플들은 모든 테스트 시간에서 레퍼런스와 유사하였다.
- [0391] 총 알레르겐 활성:
- [0392] 정제에 대해 총 알레르겐 활성의 유의적인 손실은 측정되지 않았다 (12개월 제에 상이한 강도에 대해 이론치의 105%-119% 범위로 변화하였지만, 이것은 수행 테스트의 편차 이내 이다).
- [0393] **실시예 9. 플레넘 프라텐스 잔디 화분 추출물과 생선 젤라틴을 함유하는 알레르겐 백신.**
- [0394] 조성은 실시예 1의 표 1에 설명된 것과 동일하다.
- [0395] 실시예 1에 따라 제조된 고체 제형을 25°C/60% RH 조건에서 18개월 동안 보관한 다음 제형, 예컨대 정제를 육안 검사하여 평가하고, 봉해도, 수분 함량, 질량 균일성 및 아이덴티티 (단백질 프로파일), 주요 알레르겐 함량 및 총 알레르겐 활성에 대해 측정하였다. 모든 테스트를 실시예 1에 설명된 바와 같이 수행하였다. 달리 언급하지 않는 한 10개의 정제 풀에 대해 중복 시험한 측정 평균값을 나타내었다.

표 18

[0396]

보관 조건: 25°C/60% RH								
제품 2500 SQ-U/정제								
테스트	육안 검사	질량의 균일성	봉해도 (초)	총 알레르기 유발 활성 (LIA)	주요 알레르겐 함량 (ELISA)	마손도	수분 함량(%)	
0개월	합격	합격	6	122%	97%	0.00%	6.1%	
18개월	합격	합격	1	115%	90%	N/A	5.0	
제품 125000 SQ-U/정제								
테스트	육안 검사	ID (SDS-page)	질량의 균일성	봉해도 (초)	총 알레르기 유발 활성 (LIA)	주요 알레르겐 함량 (ELISA)	마손도	수분 함량(%)
0개월	합격	합격	합격	7	110%	99%	0.00%	5.4%
18개월	합격	합격	합격	1	117%	94%	N/A	4.4%

- [0397] 25,000 SQ-유닛/고체 제형을 함유하는 고체 제형에 대해서만 ID 분석을 수행하였다. 보관한지 18개월 후의 ID 패턴은 0개월째의 보관 패턴과 유사한 것으로 밝혀졌다 (데이터 나타내지 않음).
- [0398] 고체 제형은 안정하다. 즉, 알레르겐 함량과 총 알레르겐 활성은 25°C/60% RH에서 18개월 보관한 후에도 변함없이 유지되었다 (EP 제3판, monograph for Allergen Products 변형 측정법으로 측정시; 총 알레르겐 활성은 이론치의 50-200%였고 주요 알레르겐 함량은 이론치의 65-135%였음). 또한, 연구 기간 중 테스트된 모든 알레르겐 투여량에 있어서 고체 제형의 외관에는 변화가 없었다. 뿐만 아니라, 연구 기간 중 시험된 제형의 질량 균일성에도 변화가 없었다. 수분 함량의 경우, 인식할만한 변화는 없었으며, 바람직한 범위인 4-7% 이내였다.
- [0399] **실시예 10. 플레넘 프라텐스 잔디 화분 추출물 및 생선 젤라틴을 함유하는 알레르겐 백신**
- [0400] 이 고체 제형의 조성은 실시예 1의 표 9에 나타낸 바와 같다.
- [0401] 구체 제형을 실시예 1에 따라 제조하여 그의 안정성을 시험하였다.
- [0402] 모든 테스트는 실시예 1에 설명된 바와 같이 수행하였다.

[0403] 안정성 결과

표 19

[0404]

제품	2500 SQ-U/제형				
보관 조건:	25°C/75% RH				
테스트	육안검사	붕해	총 알레르기 유발항원 활성 (LIA)	주요 알레르기 유발항원 함량 (ELISA)	수분 함량 (%)
샘플링 (개월)					
0	합격	1초	129%	82%	5.0%
1	합격	1초	87%	98%	5.3%
3	합격	1초	130%	116%	5.2%
6	합격	1초	97%	100%	5.2%
보관 조건:	40°C/75% RH				
1	합격	1초	97%	90%	5.2%
3	합격	1초	124%	114%	5.5%
6	합격	1초	101%	93%	5.9%

표 20

[0405]

제품	25000 SQ-U/제형					
보관조건:	25°C/60% RH					
테스트	육안검사	ID (SDS-page)	붕해	총 알레르기 유발항원 활성 (LIA)	주요 알레르기 유발항원 함량 (ELISA)	수분 함량 (%)
샘플링 (개월)						
0	합격	레퍼런스와 유사	1초	101%	82%	5.0%
1	n.m.	레퍼런스와 유사	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
3	n.m.	레퍼런스와 유사	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
6	n.m.	레퍼런스와 유사	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
보관조건:	40°C/75% RH					
1	합격	레퍼런스와 유사	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
3	합격	레퍼런스와 유사	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
6	합격	레퍼런스와 유사	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.

표 21

[0406]

제품	75000 SQ-U/제형					
보관조건:	25°C/60% RH					
테스트	육안검사	ID (SDS-page)	붕해	총 알레르기 유발항원 활성 (LIA)	주요 알레르기 유발항원 함량 (ELISA)	수분 함량 (%)
샘플링 (개월)						
0	합격	레퍼런스와 유사	1초	109%	77%	5.0%
1	합격	레퍼런스와 유사	1초	75%	92%	5.1%
3	합격	레퍼런스와 유사	1초	113%	108%	5.0%
6	합격	레퍼런스와 유사	1초	99%	95%	5.2%
보관조건:	40°C/75% RH					
1	합격	레퍼런스와 유사	1초	79%	92%	5.3%
3	합격	레퍼런스와 유사	1초	105%	100%	5.5%
6	합격	레퍼런스와 유사	1초	99%	95%	5.9%

- [0407] n.m. = 미측정
- [0408] 제형의 품질을 제형 (즉, 정제)의 육안 검사 및 봉쇄시간, 수분 함량, 질량의 균일성, 아이덴티티 (단백질 프로파일), 주요 알레르겐 함량 및 총 알레르겐 활성 (데이터는 표시하지 않음)의 평가에 의해 판단하였다.
- [0409] 모든 고체 제형은 안정한 것으로 나타났으며, 즉, 알레르겐 함량과 총 알레르겐 활성은 25°C/60% RH 및 40°C/75% RH에서 6개월 보관한 후에도 변함없이 유지되었다 (EMA 제3판, monograph for Allergen Products 변형 측정법으로 측정시; 총 알레르겐 활성은 이론치의 50-200%였고 주요 알레르겐 함량은 이론치의 65-135%였음). 또한, 연구 기간 중 테스트된 모든 알레르겐 투여량에 있어서 고체 제형의 외관에는 변함이 없었다. 뿐만 아니라, 연구 기간 중 테스트된 제형의 질량 균일성에도 변함이 없었다. 수분 함량의 경우, 연구 기간 중 인식가능한 정도의 변화는 나타나지 않았다. 40°C/75% RH에서 보관시 모든 투여량에서 수분 함량이 약간 증가되는 것으로 나타났지만, 모든 테스트 샘플에 있어서 4-7%의 바람직한 범위 이내였다.
- [0410] 실시예 11. 플레넴 프라텐스 잔디 화분 추출물 및 생선 젤라틴을 함유하는 알레르겐 제형에 있어서 수분 함량 및 수분 활성의 측정.

[0411] 조성

표 22

성분명	배합물 P (5.5% 생선 젤라틴)	배합물 F (4% 생선 젤라틴)	기능
정제수	250.00 mg 되게 하는 양	250.00 mg 되게 하는 양	용매
플레넴 프라텐스	2500, 25000, 또는 75000 SQ-U	2500, 25000, 또는 75000 SQ-U	활성 물질
	0.0047 mg, 0.047 mg, 0.141 mg	0.0047 mg, 0.047 mg, 0.235 mg	
젤라틴 (생선 원료)	16 mg	10 mg	매트릭스
만니톨	14 mg	7.5 mg	매트릭스
수산화나트륨	pH 7.5가 되게 하는 양	pH 7.5가 되게 하는 양	pH 조정제

- [0413] 고체 제형을 실시예 1에 따라 제조하였다.
- [0414] Rotronic Hygroskop BT-RS1 (Rotronic ag, Switzerland)을 이용하여, 다양한 고체 제형의 수분 활성을 측정하였다. 10개의 정제를 각 측정시마다 사용하였다. 안정한 판독 신호는 평형에 달하였음을 가리키며, 상대 습도를 다음의 관계를 이용해서 수분 활성으로 변환시켰다.

[0415]
$$a_w = \frac{P_w}{P_w^*} = \frac{RH_{equ}}{100}$$

- [0416] 식 중,
- [0417] a_w 는 샘플의 수분 활성,
- [0418] P_w 는 샘플 상의 수증기 부분압,
- [0419] P_w^* 는 정제수의 수증기 압력이고,
- [0420] RH_{equ} (ERH: 상대 습도 평형)는 샘플의 상대 습도이다.

[0421] 정제 중의 수분 함량 측정을 위해 774 오븐 샘플 프로세서 (Metrohm, Heisau, Switzerland)를 756 Karl Fischer Coulometer와 함께 이용하였다. 유리 바이알에 1-3개의 정제를 넣고 PTFE-코팅 캡(Metrohm, Heisau, Switzerland)로 밀봉하였다. 샘플 바이알을 774 오븐 샘플 프로세서 (Metrohm, Heisau, Switzerland)에 넣고, 샘플 중에 존재하는 모든 수분을 130°C에서 증발시켰다. 질소 가스를 이용하여 증발된 수분을 Hydranal[®]-Coulomat Oven 시약 (Riedel-de Haen)을 함유하는 반응 셀로 옮기고, 이어서 제조사 지침에 따라 Karl Fischer 적정에 의해 수분 방출량을 정량하였다. 그 결과를 표 24에 나타내었다.

표 23

[0422]

플레넘 프라텐스 잔디 화분 추출물 및 생선 젤라틴을 함유하는 다양한 알레르겐 제형의 수분 활성 및 수분 함량						
샘플	수분 함량 (%)			수분 함량 (%)		
	N	평균	SD	N	평균	SD
위약	3	0.46	0.022	3	5.59	0.060
	2	0.45	0.004	3	4.93	0.071
	2	0.41	0.001	3	4.67	0.021
	2	0.41	0.005	3	4.66	0.053
	1	0.44	-	3	5.45	0.070
	1	0.46	-	3	5.19	0.055
	1	0.44	-	3	4.80	0.056

[0423]

SD = 표준 편차

[0424]

모든 고체 제형의 평균 수분 활성은, 비록 몇가지의 수분 함량이 5%를 넘었음에도 불구하고, 0.41-0.46이었다.

[0425]

실시예 12: 플레넘 프라텐스 화분 추출물을 함유하는 알레르겐 백신

[0426]

조성

표 24

[0427]

성분	조성 (중량%)	제형 1 위약	제형 2 25,000	제형 3 75,000
생선 젤라틴 (Norland, Canada)	6.0	14 mg		
만니톨	5.08	12.7 mg		
API(잔디 화분 추출물)		0		
NaOH	pH 7.5가 되게 하는 양	pH 7.5가 되게 하는 양	pH 7.5가 되게 하는 양	pH 7.5가 되게 하는 양
정제수	250 mg이 되게 하는 양	250 mg이 되게 하는 양	250 mg이 되게 하는 양	250 mg이 되게 하는 양
습충전 중량의 총%	100%	250 mg	250 mg	250 mg
건조 중량		27.7 mg	27.7 mg	27.7 mg

[0428]

Norland, Canada사 제품의 생선 젤라틴을 사용한 것을 제외하고는 실시예 1에 설명된 방법으로 배합물을 제조하였다. 고체 제형의 평균 직경은 13 mm였다.

표 25

[0429]

제형의 투여량	마손도 (추출물 (API) 총 함량의 손실 %)
25,000 SQ-유닛	0.000*
75,000 SQ-유닛	0.000*

[0430]

상기 결과들은 잔디 알레르겐 추출물의 두가지 상이한 투여량과, 생선 젤라틴 6.0% 및 만니톨 5.08%로 구성된 매트릭스 형성체를 포함하는 알레르겐 함유 고체 제형의 추가적인 구체예를 제공한다. 이 제형을 실시예 1에 설명된 방법에 따라 마손도에 대해 측정하였다. 그 결과 이들 배합물들은 알레르겐 방출이 검출되었으므로 마손도 측면에서 안정한 것으로 나타났다.