



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0042045
(43) 공개일자 2008년05월14일

(51) Int. Cl.

A61K 9/127 (2006.01) *A61K 38/21* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-7029917

(22) 출원일자 2007년12월21일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2007년12월21일

(86) 국제출원번호 PCT/US2006/019118

국제출원일자 2006년05월16일

(87) 국제공개번호 WO 2006/127360

국제공개일자 2006년11월30일

(30) 우선권주장

11/384,575 2006년03월20일 미국(US)

60/683,878 2005년05월23일 미국(US)

(71) 출원인

에스디지, 인코포레이티드

미합중국44691

오하이오우스터사우스베버스트리트146

(72) 발명자

라우, 존, 알.

미국 43028 오하이오주 하워드 킹 비치 드라이브
585

지호, 더블유. 블레어

미국 44691 오하이오주 우스터 비치우드 드라이브
533

(74) 대리인

양영준, 양영환

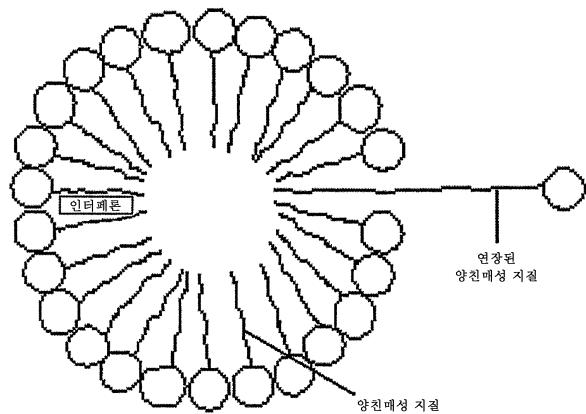
전체 청구항 수 : 총 56 항

(54) 포유동물로의 인터페론 전달용 지질 구조물

(57) 요 약

본 발명은 양친매성 지질 분자 및 수용체 결합 분자를 포함하는 지질 구조물과 회합된 인터페론을 포함하는 간세포 표적화 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 유리 인터페론 및 복합체와 회합된 인터페론의 혼합물을 포함한다. 상기 조성물은 인터페론 및 복합체가 분해되지 않게 보호하도록 개질될 수 있다. 본 발명은 또한 상기 조성물의 제조 방법 및 상기 조성물에 인터페론을 담지하는 방법 및 상기 조성물의 각종 성분을 재순환시키는 방법, 및 C형 간염바이러스 및 기타 바이러스에 감염된 개인을 치료하는 방법을 포함한다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물로서, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 상기 구조물에 연결시키고, 원위부는 상기 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시키는 것인 지질 구조물.

청구항 2

제1항에 있어서, 인터페론이 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화(pegylated) 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택된 것인 지질 구조물.

청구항 3

인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물로서, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 상기 구조물에 연결시키고, 원위부는 상기 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하고, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시키는 것인 지질 구조물.

청구항 4

제1항에 있어서, 활성 성분이 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제를 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 5

제1항에 있어서, 지질 구조물과 회합된 불용성 형태의 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함하는 지질 구조물.

청구항 6

제1항에 있어서, 양친매성 지질이 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세롤-[3-포스포-rac-(1-글리세로)], 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 이들의 유도체 및 임의의 상기 화합물의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 지질을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 7

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질의 근위부가 주쇄(backbone)에 결합된 1개 이상이되 2개 이하인 장쇄 아실 탄화수소 쇄를 포함하고, 여기서의 각 탄화수소 쇄는 포화 탄화수소 쇄 및 불포화 탄화수소 쇄로 구성된 군에서 독립적으로 선택된 것인 지질 구조물.

청구항 8

제7항에 있어서, 주쇄가 글리세롤을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 9

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질의 원위부가 바이오틴, 바이오틴 유도체, 이미노바이오틴, 이미노바이오틴 유도체, 바이오시틴, 바이오시틴 유도체, 이미노바이오시틴, 이미노바이오시틴 유도체, 및 간세포상의 수용체에 결합하는 간세포 특이적 분자로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 구성원을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 10

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질이 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 바이오틴, 술포-NHS-바이오틴, N-히드록

시숙신이미드 장쇄 바이오틴, 술포-N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴, D-바이오틴, 바이오시틴, 술포-N-히드록시숙신이미드-S-S-바이오틴, 바이오틴-BMCC, 바이오틴-HPDP, 요오도아세틸-LC-바이오틴, 바이오틴-히드라지드, 바이오틴-LC-히드라지드, 바이오시틴 히드라지드, 바이오틴 카다베린, 카르복시바이오틴, 포토바이오틴, ρ -아미노벤조일 바이오시틴 트리플루오로아세테이트, ρ -디아조벤조일 바이오시틴, 바이오틴-DHPE, 바이오틴-X-DHPE, 12-((바이오틴)아미노)도데칸산, 12-((바이오틴)아미노)도데칸산 숙신이미딜 에스테르, S-바이오틴 호모시스테인, 바이오시틴-X, 바이오시틴 X-히드라지드, 바이오틴에틸렌디아민, 바이오틴-XL, 바이오틴-X-에틸렌디아민, 바이오틴-XX 히드라지드, 바이오틴-XX-SE, SSE, 바이오틴-X-카다베린, α -(t-BOC)바이오시틴, N-(바이오틴)-N'-(요오도아세틸)에틸렌디아민, DNP-X-바이오시틴-X-SE, 바이오틴-X-히드라지드, 노르바이오틴아민 히드로클로라이드, 3-(N-말레이미딜프로페오닐)바이오시틴, ARP, 바이오틴-1-술폭시드, 바이오틴 메틸 에스테르, 바이오틴-말레이미드, 바이오틴-폴리(에틸렌글리콜)아민, (+) 바이오틴 4-아미도벤조산 나트륨 염, 바이오틴 2-N-아세틸아미노-2-데옥시- β -D-글루코파라노시드, 바이오틴- α -D-N-아세틸뉴라미니드, 바이오틴- α -L-푸코시드, 바이오틴 락토-N-바이오시드, 바이오틴-루이스-A 트리사카라이드, 바이오틴-루이스-Y 테트라사카라이드, 바이오틴- α -D-만노파라노시드, 바이오틴 6-O-포스포- α -D-만노파라노시드 및 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노]디아세트산으로 구성된 군에서 선택된 것인 지질 구조물.

청구항 11

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질의 중위부가 티오-아세틸 트리글리신 중합체 또는 그의 유도체를 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질 분자는 지질 구조물의 표면 바깥으로 연장된 것인 지질 구조물.

청구항 12

제1항에 있어서, 수불용성 표적 분자 복합체와 회합된 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함하고, 상기 복합체는 복수개의 연결된 개개의 단위를 포함하며, 여기서의 개개의 단위는

- a. 전이 원소, 내부 전이 원소, 전이 원소의 인접 원소 및 임의의 상기 원소의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 가교 성분, 및
- b. 복합체 형성 성분

을 포함하지만, 전이 원소가 크롬인 경우에는 크롬 표적 분자 복합체가 형성되는 것인 지질 구조물.

청구항 13

제12항에 있어서, 표적 분자 복합체와 회합되지 않은 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함하는 지질 구조물.

청구항 14

제12항에 있어서, 가교 성분이 크롬인 지질 구조물.

청구항 15

제12항에 있어서, 복합체 형성 성분이
폴리(비스)-[(N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노)디아세트산]을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 16

제51항에 있어서, 지질 성분이 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤 및 디세틸 포스페이트의 혼합물을 포함하는 간세포-표적화 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질의 원위 성분이 비극성 유도체화 벤젠 고리 또는 헤테로비시클릭 고리 구조를 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 18

제1항에 있어서, 양전하, 음전하 또는 이들의 조합을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 19

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질이 원위부 말단부에서 약 13.5 Å 이하의 거리를 두고 위치한 1개 이상의 카르보닐 부분을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 20

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질이 2급 아민을 포함하는 1개 이상의 카르바모일 부분을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 21

제1항에 있어서, 연장된 양친매성 지질이 중위 지점에 대전된 크롬을 포함하는 것인 지질 구조물.

청구항 22

제1항에 있어서, 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 추가로 포함하는 지질 구조물.

청구항 23

- a. 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 혼합물을 생성하는 단계,
- b. 1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물로서 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 상기 구조물에 연결시키고 원위부는 상기 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며 중위부는 근위부와 원위부를 연결시키는 것인 지질 구조물의 혼탁액을 수성 매질 중에서 형성하는 단계, 및
- c. 활성 성분을 지질 구조물에 담지(loading)하는 단계

를 포함하는, 상기 지질 구조물의 제조 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 활성 성분을 지질 구조물에 담지하는 단계가 평형 담지 및 비-평형 담지를 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제23항에 있어서, 활성 성분을 지질 구조물에 담지하는 단계가 유리 활성 성분 함유 용액을 수성 매질 중 지질 구조물의 혼합물에 첨가하고, 평형 도달시까지 활성 성분이 상기 혼합물과의 접촉을 유지하도록 하는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제25항에 있어서,

- d. 상기 혼합물이 평형에 도달한 후에 활성 성분을 지질 구조물에 마지막으로 담지하고, 유리 활성 성분 함유 용액을 구조물로부터 제거하는 단계

를 추가로 포함하며, 여기서의 상기 구조물은 그와 화합된 1종 이상의 활성 성분을 추가로 함유하는 것인 방법.

청구항 27

제25항에 있어서,

- e. 급속 여과 절차, 여과기 원심분리, 여과기 원심분리, 및 이온-교환 수지 또는 바이오틴, 이미노바이오틴 또는 이들의 유도체에 대해 친화성을 갖는 스트렙타비딘 아가로스 친화성-수지 겔을 이용한 크로마토그래피로 구성된 군에서 선택된 공정을 통해 유리 활성 성분 함유 용액을 그와 화합된 1종 이상의 활성 성분을 함유하는 지질 구조물로부터 제거하는 단계

를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 28

제23항에 있어서,

- f. 복수개의 연결된 개개의 단위를 포함하는 크롬 복합체를 상기 지질 구조물에 첨가하는 단계
를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 29

제23항에 있어서,

- g. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 상기 지질 구조물에 첨가하는 단계
를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 30

제23항에 있어서,

- h. 활성 성분, 이온-교환 수지 및 스트렙타비딘 아가로스 친화성 젤로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 물질을
상기 공정으로부터 회수하는 단계
를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 31

- a. 1종 이상의 활성 성분을 복수개의 비-공유결합 다중-톱니형(multi-dentate) 결합 부위를 포함하는 지질 구조
물과 배합하는 단계, 및

- b. 활성 성분을 함유하는 상기 구조물을 환자에게 투여하는 단계
를 포함하는, 환자에서 1종 이상의 활성 성분의 생체이용률을 증가시키는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 1종 이상의 활성 성분의 등전점을 조정하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 33

제31항에 있어서, 활성 성분이 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 34

제31항에 있어서, 활성 성분이 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 항-바이러스제인 방법.

청구항 35

제31항에 있어서, 활성 성분이 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-
바이러스제를 포함하는 것인 방법.

청구항 36

제31항에 있어서, 지질 구조물이 인터페론, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸
포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-[3-포스포-rac-(1-글리세롤)], 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스
포에탄올아민 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐) 또는 이들의 유도체 및 간세포 수
용체 결합 분자를 포함하는 것인 방법.

청구항 37

- a. 지질 구조물을 이미노바이오틴 또는 이미노바이오틴 유도체를 포함하는 지질을 통해 pH 9.5 이상의 스트렙타 비딘 아가로스 친화성 겔에 결합시켜서, 상기 구조물을 벌크 상(bulk phase) 매질로부터 제거하는 단계,
- b. 상기 구조물을 벌크 상 매질로부터 분리하는 단계, 및
- c. 친화성 겔 수성 혼합물의 pH를 pH 4.5로 조정하여, 상기 구조물을 친화성 겔로부터 방출시키는 단계

를 포함하고, 방출된 구조물은 1종 이상의 불용성 활성 성분을 함유하며, 상기 구조물은 온혈 숙주에게 투여시에 불용성 활성 성분이 숙주 내의 생리적 pH 조건하에 재용해되는 것인, 숙주에서 1종 이상의 활성 성분의 생체 이용률을 증가시키는 지속 방출형 조성물의 형성 방법.

청구항 38

1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물로서 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 구조물에 연결시키고 원위부는 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며 중위부는 근위부와 원위부를 연결시키는 것인 유효량의 지질 구조물을 간염 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 간염 환자의 치료 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 환자가 A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, F형 간염 및 G형 간염으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 간염 환자인 방법.

청구항 40

제38항에 있어서, 활성 성분이 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택된 것인 방법.

청구항 41

제38항에 있어서, 활성 성분이 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 항-바이러스제인 방법.

청구항 42

제38항에 있어서, 활성 성분이 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제를 포함하는 것인 방법.

청구항 43

제38항에 있어서, 지질 구조물이 표적 분자 복합체를 추가로 포함하고, 상기 복합체는 복수개의 연결된 개개의 단위를 포함하며, 여기서의 연결된 개개의 단위는

- a. 전이 원소, 내부 전이 원소, 전이 원소의 인접 원소 및 임의의 상기 원소의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 가교 성분, 및
- b. 복합체 형성 성분

을 포함하지만, 전이 원소가 크롬인 경우에는 크롬 표적 분자 복합체가 형성되는 것인 방법.

청구항 44

제38항에 있어서, 지질 구조물이 표적 분자 복합체와 회합되지 않은 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 45

제38항에 있어서, 투여 경로가 경구, 비경구, 피하, 폐 및 협측(頸側)으로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 46

바이러스에 감염된 환자에게 1종 이상의 활성 성분, 양친매성 지질 및 연장된 지질을 포함하고 상기 연장된 지질이 간세포 수용체 결합 부분을 포함하는 것인 여러 크기의 지질 구조물을 투여하여, 바이러스에 감염된 환자의 간에서 1종 이상의 활성 성분이 간세포로 전달되는 것을 증가시키는 방법.

청구항 47

제46항에 있어서, 환자가 A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, F형 간염 또는 G형 간염으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 간염의 바이러스 또는 상기 언급한 간염바이러스의 조합물에 감염된 것인 방법.

청구항 48

제46항에 있어서, 활성 성분이 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 49

제46항에 있어서, 활성 성분이 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 항-바이러스제인 방법.

청구항 50

제46항에 있어서, 활성 성분이 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제를 포함하는 것인 방법.

청구항 51

제46항에 있어서, 가수분해 효소가 지질 구조물 내의 활성 성분에 접근하지 못하도록 하는 지질 분자의 3차원 구조 배열(array)을 제공하여 지질 구조물 내의 활성 성분이 가수분해되지 않도록 보호하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 52

제46항에 있어서, 셀룰로스 아세테이트 히드로겔 프탈레이트를 지질 구조물에 첨가하여, 개개의 지질 분자와 반응시키는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 53

제46항에 있어서, 지질 구조물 내에 불용화 투여 형태의 활성 성분을 생성하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 54

지질 구조물, 생리적 완충액, 투여기(applicator) 및 사용 지침서를 포함하고, 상기 지질 구조물은 1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 상기 구조물에 연결시키고, 원위부는 상기 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시키는 것인, 바이러스에 감염된 포유동물의 치료용 키트.

청구항 55

제54항에 있어서, 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함하는 키트.

청구항 56

제54항에 있어서, 환자가 A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, F형 간염 및 G형 간염으로 구성

된 군에서 선택된 1종 이상의 간염의 바이러스에 감염된 것인 키트.

명세서

배경기술

<1>

C형 간염바이러스 (HCV) 감염은 미국에서 가장 흔한 만성 혈액류 감염이다. 미국 질병 통제 센터 (CDC, Center for Disease Control)는 1980년대 동안에 매해 평균 240,000건의 새로운 감염이 발생했다고 추정하고 있다. 1980년대 이후, 새로운 감염의 수는 해마다 감소되어 2003년에는 약 30,000건에 이어졌다. 미국 인구의 약 1.8 %에 해당하는 대략 390만 명의 미국인이 HCV에 감염되었던 것으로 추정된다. 이 사람들 중 대략 270만 명이 만성 감염되어 있으며, 임상적으로 아픈 것은 아니기 때문에 자신들이 감염된 것을 알지 못할 수 있다. 감염된 사람은 다른 사람에게 전달 공급원이 되고, 초기 감염후 처음 20년 이상 동안에는 만성 간 질환 또는 기타 HCV-관련 만성 질환의 위험이 있다.

<2>

C형 간염에 대한 현행 치료 프로토콜은 근육내 또는 피하 주사로 투여되는 각종 인터페론-알파 제제의 사용을 기초로 한다. 인터페론 알파는 바이러스 감염에 대한 반응으로 세포가 분비하는 천연 당단백질이다. 인터페론-알파는 면역조정, 항-증식 및 항-바이러스 성질을 가지며, 막 수용체에 결합하여 효과를 발휘한다. 인터페론-알파는 면역계의 균형 유지에 중대한 역할을 하며, 질환 부위에서 필요한 농도를 달성하기 위해 높은 투여량의 투여가 요구되는 통상의 주사형 인터페론 요법과 비교할 때 신체에 의해서는 일반적으로 매우 낮은 농도로 생성된다. 인터페론 알파가 혈류에 직접 투여된다면, 질환에 걸린 조직에 충분한 양이 도달할 만큼 매우 높은 투여량 (수백만 국제 단위 (IU, International Unit))이 요구된다. 방출된 인터페론-알파는 표적화된 신체 부위에 전달되는 것이 아니라 신체 내에서 광범위한 시스템에 도달하게 된다. 인터페론-알파가 연장된 기간에 걸쳐 비교적 일정 속도로 방출되며, 함유된 인터페론-알파의 일부가 간으로 전달되도록 표적화되어 C형 간염바이러스를 더 많이 감소시키거나 없애는 인터페론-알파의 조성물이 요구된다.

<3>

인터페론 알파-2a (로페론-에이(ROFERON-A)[®], 호프만-라 로쉐(Hoffmann-La Roche)), 인터페론 알파-2b (인트론-에이(INTRON-A)[®], 쇼링-플로우(Schering-Plough)) 및 인터페론 알파콘-1 (인페르겐(INFERGEN)[®], 인터뮨(Intermune))은 미국에서 만성 C형 간염에 걸린 성인의 치료용 단독 작용제로서 승인을 받았다. 만성 C형 간염의 치료시에 인터페론 알파-2b 및 알파-2a의 권장 투여량은 1주 3회 3,000,000 유닛으로 사용하여 피하 또는 근육내 주사로 투여하는 것이다. 치료 기간은 6개월 내지 2년 동안의 투여이다. 인터페론 알파콘-1의 경우, 권장 투여량은 1차 치료기에는 1주 3회 9 µg이며 반응이 없거나 재발한 환자에게는 추가의 6개월 동안 1주 3회 15 µg이다. 인터페론만을 사용한 치료시에는 대상체 중 15% 미만에서 지속적인 반응이 있다. 광범위한 스펙트럼의 바이러스에 대하여 활성을 갖는 합성 뉴클레오시드인 리바비린(Ribavirin)은 만성 C형 간염의 치료시에 흔히 인터페론-알파와 병행 투여된다.

<4>

최근, 때때로 PEG화(pegylated) 인터페론이라고도 불리는 PEG-인터페론-알파가 만성 C형 간염의 치료에 사용되고 있다. 하기하는 PEG-인터페론-알파의 2가지 제제가 C형 간염 환자에서 연구되었다: PEG-인터페론-알파-2b (PEG-인트론(PEG-INTRON)[®], 쇼링-플로우) 및 PEG-인터페론-알파-2a (페가시스(PEGASYS)[®], 호프만-라 로쉐). PEG-인터페론-알파는 폴리에틸렌 글리콜 분자가 인터페론 분자에 부착되어 있다는 점에서 미변형 인터페론-알파와 다른다. 이러한 구조적 변형은 신체로부터 더 느리게 제거되도록 하여, 덜 빈번한 투여로도 인터페론-알파의 혈액 수준이 더 높고 더 일정하게 달성된다. 만성 C형 간염 치료를 위해서 1주 3회 주사되어야 하는 미변형 인터페론-알파와는 달리, PEG-인터페론-알파는 1주에 단지 1회 주사만이 요구된다.

<5>

만성 C형 간염 치료의 주요 목적은 검출가능한 바이러스 RNA를 혈액으로부터 없애는 것이다. 요법 완료 후 6개월 동안 검출가능한 C형 간염바이러스 RNA가 혈액에 없는 것은 지속적 반응이라고 알려져 있다.

<6>

따라서, 당업계에는 C형 간염바이러스에 감염된 환자 치료용 조성물 및 방법에 대한 요구가 충족되지 못하였다. 본 발명은, 간으로 전달되도록 표적화된 장기 작용 조성물을 제공하여 이러한 요구를 충족시킨다.

<7>

발명의 간단한 요약

<8>

한 측면에서, 본 발명은 1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물을 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 구조물을 연결시키고, 원위부는 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며, 중위부

는 근위부와 원위부를 연결시킨다.

- <9> 또 다른 측면에서, 인터페론은 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택된다.
- <10> 또 다른 측면에서, 지질 구조물은 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하고, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시킨다.
- <11> 또 다른 측면에서, 활성 성분은 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제를 포함한다.
- <12> 또 다른 측면에서, 지질 구조물은 그와 회합된 불용성 형태의 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함한다.
- <13> 또 다른 측면에서, 양친매성 지질은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세롤-[3-포스포-rac-(1-글리세로)], 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 이들의 유도체 및 임의의 상기 화합물의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 지질을 포함한다.
- <14> 또 다른 측면에서, 연장된 양친매성 지질의 근위부는 주쇄(backbone)에 결합된 1개 이상이되 2개 이하인 장쇄 아실 탄화수소 쇄를 포함하고, 여기서의 각 탄화수소 쇄는 포화 탄화수소 쇄 및 불포화 탄화수소 쇄로 구성된 군에서 독립적으로 선택된다.
- <15> 또 다른 측면에서, 주쇄는 글리세롤을 포함한다.
- <16> 또 다른 측면에서, 연장된 양친매성 지질의 원위부는 바이오틴, 바이오틴 유도체, 이미노바이오틴, 이미노바이오틴 유도체, 바이오시틴, 바이오시틴 유도체, 이미노바이오시틴, 이미노바이오시틴 유도체, 및 간세포상의 수용체에 결합하는 간세포 특이적 분자로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 구성원을 포함한다.
- <17> 또 다른 측면에서, 연장된 양친매성 지질은 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 바이오틴, 술포-NHS-바이오틴, N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴, 술포-N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴, D-바이오틴, 바이오시틴, 술포-N-히드록시숙신이미드-S-S-바이오틴, 바이오틴-BMCC, 바이오틴-HPDP, 요오도아세틸-LC-바이오틴, 바이오틴-히드라지드, 바이오틴-LC-히드라지드, 바이오시틴 히드라지드, 바이오틴 카다베린, 카르복시바이오틴, 포토바이오틴, ρ-아미노벤조일 바이오시틴 트리플루오로아세테이트, ρ-디아조벤조일 바이오시틴, 바이오틴 DHPE, 바이오틴-X-DHPE, 12-((바이오틴)아미노)도데칸산, 12-((바이오틴)아미노)도데칸산 숙신이미딜 에스테르, S-바이오틴 호모시스테인, 바이오시틴-X, 바이오시틴 x-히드라지드, 바이오틴에틸렌디아민, 바이오틴-XL, 바이오틴-X-에틸렌디아민, 바이오틴-XX 히드라지드, 바이오틴-XX-SE, 바이오틴-XX, SSE, 바이오틴-X-카다베린, α-(t-BOC)바이오시틴, N-(바이오틴)-N'-(요오도아세틸)에틸렌디아민, DNP-X-바이오시틴-X-SE, 바이오틴-X-히드라지드, 노르바이오틴아민 히드로클로라이드, 3-(N-말레이이미딜프로피오닐)바이오시틴, ARP, 바이오틴-1-술폭시드, 바이오틴 메틸 에스테르, 바이오틴-말레이이미드, 바이오틴-폴리(에틸렌글리콜)아민, (+) 바이오틴 4-아미도벤조산 나트륨 염, 바이오틴 2-N-아세틸아미노-2-데옥시-β-D-글루코파라노시드, 바이오틴-α-D-N-아세틸뉴라미니드, 바이오틴-α-L-푸코시드, 바이오틴 락토-N-바이오시드, 바이오틴-루이스-A 트리사카라이드, 바이오틴-루이스-Y 테트라사카라이드, 바이오틴-α-D-만노파라노시드, 바이오틴 6-O-포스포-α-D-만노파라노시드 및 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)아미노]디아세트산으로 구성된 군에서 선택된다.
- <18> 추가의 측면에서, 연장된 양친매성 지질의 중위부는 티오-아세틸 트리글리신 중합체 또는 그의 유도체를 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질 분자는 지질 구조물의 표면 바깥으로 연장된다.
- <19> 한 측면에서, 상기 구조물은 수불용성 표적 분자 복합체와 회합된 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함하고, 상기 복합체는 복수개의 연결된 개개의 단위를 포함하며, 여기서의 개개의 단위는 전이 원소, 내부 전이 원소, 전이 원소의 인접 원소 및 임의의 상기 원소의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 가교 성분, 및 복합체 형성 성분을 포함하지만, 전이 원소가 크롬인 경우에는 크롬 표적 분자 복합체가 형성된다.

- <20> 또 다른 측면에서, 상기 구조물은 표적 분자 복합체와 회합되지 않은 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함한다.
- <21> 또 다른 측면에서, 가교 성분은 크롬이다.
- <22> 또 다른 측면에서, 복합체 형성 성분은 폴리(비스)-[(N-(2,6-디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노디아세트산]을 포함한다.
- <23> 한 측면에서, 연장된 양친매성 지질의 원위 성분은 비극성 유도체화 벤젠 고리 또는 헤테로비시클릭 고리 구조를 포함한다.
- <24> 또 다른 측면에서, 상기 구조물은 양전하, 음전하 또는 이들의 조합을 포함한다.
- <25> 또 다른 측면에서, 연장된 양친매성 지질은 원위부 말단부에서 약 13.5 Å 이하의 거리를 두고 위치한 1개 이상의 카르보닐 부분을 포함한다.
- <26> 추가의 측면에서, 연장된 양친매성 지질은 2급 아민을 포함하는 1개 이상의 카르바모일 부분을 포함한다.
- <27> 한 측면에서, 연장된 양친매성 지질은 중위 지점에 대전된 크롬을 포함한다.
- <28> 또 다른 측면에서, 지질 구조물은 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 추가로 포함한다.
- <29> 한 측면에서, 본 발명은 1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물로서, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 상기 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시키는 것인 지질 구조물의 제조 방법을 포함하며, 상기 방법은 물 중에서 상기 지질 구조물의 혼탁액을 형성하고, 활성 성분을 지질 구조물에 담지(loader)하여 수행된다.
- <30> 또 다른 측면에서, 활성 성분을 지질 구조물에 담지하는 단계는 평형 담지 및 비-평형 담지를 포함한다.
- <31> 한 측면에서, 활성 성분을 지질 구조물에 담지하는 단계는 유리 활성 성분 함유 용액을 물 중 지질 구조물의 혼합물에 첨가하고, 평형 도달시까지 활성 성분이 상기 혼합물과의 접촉을 유지하도록 하는 것을 포함한다.
- <32> 또 다른 측면에서, 인터페론 결합 지질 구조물의 제조 방법은 상기 혼합물이 평형에 도달한 후에 활성 성분을 지질 구조물에 마지막으로 담지하고, 상기 유리 활성 성분 함유 용액은 구조물로부터 제거하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서의 상기 구조물은 그와 회합된 1종 이상의 활성 성분을 추가로 함유한다.
- <33> 또 다른 측면에서, 인터페론 결합 지질 구조물의 제조 방법은 급속 여과 절차, 원심분리, 여과기 원심분리, 및 바이오틴, 이미노바이오틴 또는 이들의 유도체에 대해 친화성을 갖는 스트렙타비딘 아가로스 친화성-수지 젤 또는 이온-교환 수지를 이용한 크로마토그래피로 구성된 군에서 선택된 공정을 통해 유리 활성 성분 함유 용액을, 그와 회합된 1종 이상의 활성 성분을 함유하는 지질 구조물로부터 제거하는 단계를 추가로 포함한다.
- <34> 또 다른 측면에서, 인터페론 결합 지질 구조물의 제조 방법은 복수개의 연결된 개개의 단위를 포함하는 크롬 복합체를 상기 지질 구조물에 첨가하는 단계를 추가로 포함한다.
- <35> 또 다른 측면에서, 인터페론 결합 지질 구조물의 제조 방법은 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 상기 지질 구조물에 첨가하는 단계를 추가로 포함한다.
- <36> 또 다른 측면에서, 인터페론 결합 지질 구조물의 제조 방법은 활성 성분, 이온-교환 수지 및 스트렙타비딘 아가로스 친화성 젤로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 물질을 상기 공정으로부터 회수하는 단계를 추가로 포함한다.
- <37> 한 측면에서, 환자에서 1종 이상의 활성 성분의 생체이용률을 증가시키는 방법은 1종 이상의 활성 성분을 복수 개의 비-공유결합 다중-톱니형(multi-dentate) 결합 부위를 포함하는 지질 구조물과 배합하는 단계, 및 활성 성분을 함유하는 상기 구조물을 환자에게 투여하는 단계를 포함한다.
- <38> 또 다른 측면에서, 생체이용률의 증가는 1종 이상의 활성 성분의 등전점 조정 단계를 추가로 포함한다.
- <39> 또 다른 측면에서, 활성 성분은 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임

의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택된다.

<40> 또다른 측면에서, 활성 성분은 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 항-바이러스제이다.

<41> 또다른 측면에서, 활성 성분은 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제를 포함한다.

<42> 또다른 측면에서, 지질 구조물은 인터페론, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-[3-포스포-rac-(1-글리세롤)], 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐) 또는 이들의 유도체 및 간세포 수용체 결합 분자를 포함한다.

<43> 한 측면에서, 숙주에서 1종 이상의 활성 성분의 생체이용률을 증가시키는 지속 방출형 조성물의 형성 방법은, 지질 구조물을 이미노바이오틴 또는 이미노바이오틴 유도체를 포함하는 지질을 통해 pH 9.5 이상의 스트랩타비딘 아가로스 친화성 겔에 결합시켜서, 상기 구조물을 벌크 상(bulk phase) 매질로부터 제거하는 단계, 상기 구조물을 벌크 상 매질로부터 분리하는 단계, 친화성 겔 수성 혼합물의 pH를 pH 4.5로 조정하여, 상기 구조물을 친화성 겔로부터 방출시키는 단계를 포함하고, 방출된 구조물은 1종 이상의 불용성 활성 성분을 함유하며, 상기 구조물은 온혈 숙주에게 투여시에 불용성 활성 성분이 숙주 내의 생리적 pH 조건하에 재용해된다.

<44> 또다른 측면에서, 간염 환자의 치료 방법은 1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 유효량의 지질 구조물을 간염 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시킨다.

<45> 또다른 측면에서, 환자는 A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, F형 간염 및 G형 간염으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 간염에 감염되어 있다.

<46> 한 측면에서, 활성 성분은 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택된다.

<47> 또다른 측면에서, 활성 성분은 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 항-바이러스제이다.

<48> 또다른 측면에서, 활성 성분은 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제를 포함한다.

<49> 또다른 측면에서, 지질 구조물은 표적 분자 복합체를 추가로 포함하고, 상기 복합체는 복수개의 연결된 개개의 단위를 포함하며, 추가로 여기서의 연결된 개개의 단위는 전이 원소, 내부 전이 원소, 전이 원소의 인접 원소 및 임의의 상기 원소의 혼합물로 구성된 군에서 선택된 가교 성분, 및 복합체 형성 성분을 포함하지만, 전이 원소가 크롬인 경우에는 크롬 표적 분자 복합체가 형성된다.

<50> 또다른 측면에서, 지질 구조물은 표적 분자 복합체와 회합되지 않은 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함한다.

<51> 또다른 측면에서, 투여는 경구 또는 피하이다.

<52> 한 측면에서, 본 발명은 간염 환자에게 인터페론 및 간세포 수용체 결합 부분을 포함하는 연장된 지질 분자를 포함하며, 여러가지 크기로 존재하는 지질 구조물을 투여하여, 간염 환자의 간에서 간세포로의 인터페론 전달을 증가시키는 방법을 포함하며, 이때의 간세포 수용체는 최적 크기의 구조물과 결합하여 세포내이입(endocytosis)을 증대시키고 지질 구조물의 의도된 약리 작용을 유발한다.

<53> 또다른 측면에서, 환자는 A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, F형 간염 또는 G형 간염으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 간염의 바이러스 또는 상기 언급한 간염바이러스의 조합물로 감염되어 있다.

<54> 또다른 측면에서, 활성 성분은 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임

의의 인터페론의 조합물로 구성된 군에서 선택된다.

<55> 또다른 측면에서, 활성 성분은 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 항-바이러스제이다.

<56> 또다른 측면에서, 활성 성분은 1종 이상의 인터페론, 및 인터페론 또는 인터페론 유도체가 아닌 1종 이상의 항-바이러스제를 포함한다.

<57> 또다른 측면에서, 환자의 치료 방법은 가수분해 효소가 지질 구조물 내의 활성 성분에 접근하지 못하도록 하는 지질 분자의 3차원 구조 배열(array)을 제공하여 지질 구조물 내의 활성 성분이 가수분해되지 않도록 보호하는 단계를 추가로 포함한다.

<58> 또다른 측면에서, 상기 방법은 셀룰로스 아세테이트 히드로겔 프탈레이트를 지질 구조물에 첨가하여, 개개의 지질 분자와 반응시키는 단계를 추가로 포함한다.

<59> 또다른 측면에서, 상기 방법은 지질 구조물 내에 불용화 투여 형태의 활성 성분을 생성하는 단계를 추가로 포함한다.

<60> 한 측면에서, 본 발명은, 지질 구조물, 생리적 완충액, 투여기(applicator) 및 사용 지침서를 포함하고, 상기 지질 구조물은 1종 이상의 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 양친매성 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 표적화하며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시키는 것인, 바이러스에 감염된 포유동물의 치료용 키트를 포함한다.

<61> 또다른 측면에서, 키트는 1종 이상의 활성 성분을 추가로 포함한다.

<62> 또다른 측면에서, 키트는 A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, F형 간염 및 G형 간염으로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 간염의 바이러스에 감염된 환자를 치료하기 위한 것이다.

발명의 상세한 설명

<77> 본 발명은 인터페론이 구조물 내에서 수불용성 표적 분자 복합체와 회합되어 있는 간세포 표적화 제약 조성물을 포함하며, 상기 조성물은 환자 간의 간세포에 표적화되어 C형 간염바이러스 및 기타 바이러스를 관리하는 유효 수단을 제공한다.

<78> 본 발명은 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질 (수용체 결합 분자)을 포함하는 지질 구조물을 포함한다. 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함한다. 근위부는 연장된 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간 내의 간세포 결합 수용체에 연결시키며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시킨다.

<79> 지질 구조물은 개개의 지질 분자들이 협동적으로 상호작용하여 매질 중에서 이것이 형성된 부분을 밀폐하고 고립시키는 양극성 지질 막을 생성하는 구형 지질 및 인지질 입자이다. 지질 구조물은 인터페론을 간 내 간세포로 전달하는 것을 표적으로 할 수 있고, 인터페론의 지속 방출을 제공하여 간에 손상을 주는 C형 간염바이러스 또는 기타 바이러스를 더 많이 감소시키거나 없앨 수 있다.

<80> 본 발명의 조성물은 C형 간염바이러스 및 기타 바이러스에 감염된 포유동물을 치료하기 위한 목적으로, 피하 또는 경구 등을 비롯한 각종 경로로 투여될 수 있다.

<81> 추가로, 본 발명은 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물의 제조 방법을 제공한다. 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함한다. 근위부는 연장된 지질을 구조물에 연결시킨다. 원위부는 구조물을 간세포 결합 수용체에 연결시키고, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시킨다.

<82> 본 발명은 또한 구조물 내에 유리 인터페론 및 수불용성 표적 분자 복합체와 회합된 인터페론을 포함하고, 상기 복합체를 간세포에 전달하는 것을 표적으로 하는 조성물의 제조 방법을 제공한다. 표적 분자 복합체는 지질 구조 매트릭스 내에 함유된 금속 복합체에 의해 형성된 구조의 다수개 연결된 개개의 단위들로 구성된다.

<83> 추가로, 본 발명은 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하고 간세포로 전달되도록 표적화된 유효 투여량의 지질 구조물을 투여하여, C형 간염바이러스 및 기타 바이러스에 감염된 개인을 치료하는 방법을 제공한다.

<84> 본 발명은 또한 인터페론, 양친매성 지질, 연장된 양친매성 지질 및 수불용성 표적 분자 복합체를 포함하고 간

세포로 전달되도록 표적화된 유효 투여량의 지질 구조물을 투여하여, C형 간염바이러스 및 기타 바이러스에 감염된 개인을 치료하는 방법을 제공한다.

정의

- <85>
- <86> 달리 정의하지 않는다면, 본원에서 사용된 모든 기술적이고 학술적인 용어들은 일반적으로 본 발명이 속한 당업계의 통상의 숙련가가 통상적으로 이해하고 있는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본원에서 사용된 명칭 및 유기 화학 및 단백질 화학 실험 절차는 당업계에 공지되어 있으며 통상적으로 이용되는 것들이다.
- <87> 본원에서, "a" 및 "an"의 관사는 문법적 지침 대상을 1개 또는 1개 초과 (즉, 1개 이상)을 지칭하는데 사용된다. 예를 들어, "원소"는 1종의 원소 또는 1종 초과의 원소를 의미한다.
- <88> 용어 "활성 성분"은 인터페론 및 다른 항-바이러스 화합물을 지칭한다.
- <89> 용어 "저급"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 기를 의미한다.
- <90> 용어 "알킬"은 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 표시된 수의 탄소 원자 (예를 들어 C_1-C_6 은 1개 내지 6개의 탄소를 의미함)를 갖는 직쇄, 분지쇄 또는 고리쇄 탄화수소를 의미하며, 직쇄, 분지쇄 또는 고리형 기를 포함한다. 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, tert-부틸, 펜틸, 네오펜틸, 헥실, 시클로헥실 및 시클로프로필메틸 등이 있다. 가장 바람직한 것은 (C_1-C_3)알킬, 특히 에틸, 메틸 및 이소프로필 등이다.
- <91> 용어 "알킬렌"은 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 2개의 치환 부위를 갖는 직쇄, 분지쇄 또는 고리쇄 탄화수소를 의미하며, 예를 들어 메틸렌 ($-CH_2-$), 에틸렌 ($-CH_2CH_2-$), 이소프로필렌 ($-CH(CH_3)=CH_2$) 등이 있다.
- <92> 용어 "아릴"은 단독으로 사용되거나 다른 용어와 함께 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 포화되거나 포화되지 않고, 1개 이상의 고리 (전형적으로는 1개, 2개 또는 3개의 고리)를 함유하며, 이때의 고리는 비페닐 등과 같이 펜던트(pendant) 방식으로 함께 부착될 수도 있고, 또는 나프탈렌 등과 같이 융합될 수도 있는 시클릭 탄소 고리 구조를 의미한다. 예로는 페닐, 안트라실 및 나프틸 등이 있다. 상기 구조는 알콜, 알콕시, 아미드, 아미노, 시아나이드, 할로겐 및 니트로 등과 같은 관능기가 결합되는 1개 이상의 치환 부위를 가질 수 있다.
- <93> 용어 "아릴저급알킬"은 아릴기가 저급 알킬렌기에 부착된 관능기, 예를 들어 $-CH_2CH_2-$ -페닐을 의미한다.
- <94> 용어 "알콕시"는 단독으로 사용되거나 다른 용어와 함께 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 표시된 수의 탄소 원자를 갖는 알킬기 또는 히드록실기와 같은 치환체를 함유하며 표시된 수의 탄소 원자를 갖는 알킬기가 산소 원자를 통해 분자의 나머지에 연결된 것을 의미하며, 예를 들어 $-OCHOH-$, $-OCH_2OH$, 메톡시 ($-OCH_3$), 에톡시 ($-OCH_2CH_3$), 1-프로폭시 ($-OCH_2CH_2CH_3$), 2-프로폭시 (이소프로폭시), 부톡시 ($-OCH_2CH_2CH_2CH_3$), 펜톡시 ($-OCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$) 및 더 고급의 동족체 및 이성질체 등이 있다.
- <95> 용어 "아실"은 일반식 $-C(=O)R$ (여기서, R은 수소, 히드로카르빌, 아미노 또는 알콕시임)의 관능기를 의미한다. 예로는 아세틸 ($-C(=O)CH_3$), 프로피오닐 ($-C(=O)CH_2CH_3$), 벤조일 ($-C(=O)C_6H_5$), 페닐아세틸 ($-C(=O)CH_2C_6H_5$), 카르보에톡시 ($-CO_2CH_2CH_3$) 및 디메틸카르바모일 ($-C(=O)N(CH_3)_2$) 등이 있다.
- <96> 용어 "할로" 또는 "할로겐"은 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자를 의미한다.
- <97> 용어 "헤테로사이클" 또는 "헤테로시클릴" 또는 "헤테로시클릭"은 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 치환되지 않거나 치환되고 안정하며, 탄소 원자 및 N, O 및 S를 포함하는 군에서 선택된 1개 이상의 이종원자를 포함하고 상기 질소 및 황 이종원자는 임의로 산화될 수 있고 질소 원자는 임의로 4차화될 수 있는 것인 단일 고리형 또는 다중 고리형 헤테로시클릭 고리 시스템을 의미한다. 헤테로시클릭 시스템은 달리 언급하지 않는다면 안정한 구조에 영향을 주는 임의의 이종원자 또는 탄소 원자에서 부착될 수 있다. 예로는 피롤, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 프탈레이인, 피리데닐, 피라닐, 푸라닐, 티아졸, 티오펜, 옥사졸, 피라졸, 3-피롤린, 피롤리덴, 피리미딘, 퓨린, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 카르바졸 등이 있다.
- <98> 본원에서 사용된 바와 같이, 아미노산은 그의 완전 명칭 또는 하기 표에 표시한 것처럼 그에 상응하는 3문자 코

드로 나타낸다:

<99>

완전 명칭	3문자 코드	완전 명칭	3문자 코드
알라닌	Ala	루이신	Leu
아르기닌	Arg	리신	Lys
아스파라진	Asn	메티오닌	Met
아스파르트산	Asp	페닐알라닌	Phe
시스테인	Cys	프롤린	Pro
시스틴	Cys-Cys	세린	Ser
글루탐산	Glu	트레오닌	Thr
글루타민	Gln	트립토판	Trp
글리신	Gly	티로신	Tyr
히스티딘	His	발린	Val
이소루이신	Ile		

<100>

용어 "크롬 표적 분자 복합체"는 수많은 개개의 단위를 포함하는 복합체를 지칭하고, 여기서의 각 단위는 다가 분자로 인한 최대 6개 이하의 리간드, 예를 들어 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)아미노디아세트산의 수많은 분자로부터의 리간드를 수용할 수 있는 크롬 (Cr) 원자를 포함한다. 개개의 단위는 서로 연결되어, 3차원 배열로 연결된 복잡한 중합체 구조를 형성한다. 중합체성 복합체는 물 중에서는 불용성이지만 유기 용매 중에서는 가용성이다.

<101>

용어 "지질 구조물"은 개개의 지질 분자들이 협동적으로 상호작용하여 매질 중에서 이것이 형성된 부분을 밀폐하고 고립시키는 양친매성 지질 막을 생성하는 구형 지질 및/또는 인지질 입자를 지칭한다.

<102>

용어 "양친매성 지질 분자"는 극성 및 비극성 말단을 갖는 지질 분자를 의미한다.

<103>

용어 "연장된 양친매성 지질"은 지질 구조물의 일부가 지질 구조물로부터 구조물 주변 매질로 연장되고 수용체와 결합하거나 상호작용할 수 있는 구조를 갖는 양친매성 분자를 의미한다.

<104>

"복합체 형성제"는 선택된 금속 가교제, 예를 들어 크롬, 지르코늄 등의 염과 중합체성 복합체를 형성하는 화합물이며, 상기 중합체성 복합체는 물 중에서는 실질적으로 불용성이고 유기 용매 중에서는 가용성인 중합체 성질을 나타낸다.

<105>

"수성 매질"은 물 또는 완충제 또는 염을 함유하는 물을 의미한다.

<106>

"실질적으로 가용성"은 예를 들어 복합체 형성제로부터 형성된 조성물 중에서 결정질 또는 무정질일 수 있는 중합체성 크롬 표적 분자 복합체 또는 다른 금속 표적화 복합체 등의 물질을 의미하며, 실온에서는 물 중에 불용성인 성질을 나타낸다. 이러한 중합체성 복합체 또는 그의 해리 형태는 지질 구조 매트릭스와 회합될 경우에 온혈 속주의 간 내 간세포로 인터페론을 운반하고 전달하는 기능을 하는 수송체를 형성한다.

<107>

용어 "~와 회합된"의 사용은, 언급된 물질이 지질 구조 매트릭스 내 또는 그의 표면상에 또는 그 내부에 흔입된 것을 의미한다.

<108>

용어 "유리"의 사용은, 언급된 물질 용액 중에 존재하며, 지질 구조물 또는 표적 분자 복합체와 회합되지 않은 것을 의미한다.

<109>

용어 "인터페론"은 천연 또는 재조합 형태의 인터페론을 지칭하며, 알파, 베타, 감마 및 기타 형태의 인터페론, PEG-인터페론 및 상기 언급한 인터페론의 유도체 등이 있다. 인터페론의 예로는 인터페론-알파, 인터페론 알파-1a, PEG화 인터페론 알파-1a, 인터페론-알파-n1, 인터페론-알파-2a, 인터페론-알파-2b, 인터페론-알파-n3, 인터페론 알파콘-1, 인터페론 n-3, PEG-인터페론 알파 2a, PEG-인터페론 알파 2b, 인터페론 베타, 인터페론 베타-1a, 인터페론 베타-1b, 인터페론 감마, 인터페론 감마-1a, 인터페론 감마-1b, PEG화 인터페론 베타-1a, PEG화 인터페론 베타-1b, 이들의 유도체 및 상기 언급한 임의의 인터페론의 조합 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

<110>

용어 "유도체"는 유사한 화합물로부터 형성된 화합물, 1개의 원자가 또 다른 원자 또는 원자 군으로 대체된 경우에는 또 다른 화합물로부터 유도된 것으로 예상될 수 있는 화합물, 또는 적어도 이론적으로는 명명된 화합물로부터 형성될 수 있는 화합물을 지칭한다.

<111>

용어 "평형"은 유리 활성 성분이 지질 구조물과 회합되는 속도가 지질 구조물과 회합된 활성 성분이 상기 지질

구조물로부터 해리되어 유리 활성 성분이 되는 속도와 대략 동일한 상태를 지칭한다.

<112> 용어 "생체이용률"은 인터페론 또는 또다른 항-바이러스 화합물이 전신 순환에 이르고 작용 부위에서 이용가능하게 되는 속도 및 정도의 측정치를 지칭한다.

<113> 본원에서 사용된 바와 같이, 생물학적 또는 화학적 과정 또는 상태를 "조정"하거나 상기 상태의 "조정"이라는 용어는 생물학적 또는 화학적 과정의 정상적인 진행 추세가 변경되거나, 생물학적 또는 화학적 과정의 상태가 기준의 상태와 다른 새로운 상태로 변화된 것을 지칭한다. 예를 들어, 폴리펩티드의 등전점 조정은 폴리펩티드의 등전점을 증가시키는 변화를 수반할 수 있다. 별법으로, 폴리펩티드의 등전점 조정은 폴리펩티드의 등전점을 감소시키는 변화를 수반할 수 있다.

<114> "HDV" 또는 "간세포 전달 비히클(Hepatocyte Delivery Vehicle)"은 금속 가교제 및 복합체 형성제의 배합에 의해 형성된 구조의 다수개 연결된 개개의 단위들을 함유하는 지질 구조 매트릭스를 포함하는 수불용성 표적 분자 복합체이다. "HDV"는 WO 99/59545 (발명의 영문 명칭: Targeted Liposomal Drug Delivery System)에 기재되어 있다.

<115> "통계적 구조"는 하나의 지질 구조물로부터 다른 지질 구조물로 이동할 수 있는 문자로부터 형성된 구조를 의미하며, 상기 구조는 가우스 분포로 대표될 수 있는 복수개의 입도로 존재한다.

<116> "다중-톱니형 결합"은 지질 구조물 내의 다수의 결합 부위를 이용하는 화학적 결합 과정으로, 예를 들어 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트, 인지질 및 인터페론 등이 있다. 이를 결합 부위는, 개개의 문자가 병렬식으로 작동하여 2개 이상의 문자를 결합시키거나 연결시키는 기능을 하는 비-공유결합을 형성하는 수소 결합, 이온-쌍극자 및 쌍극자-쌍극자 상호작용을 촉진시킨다.

<117> 본원에서 사용된 바와 같이, "치료"한다는 것은 환자가 질환, 장애 또는 해로운 상태 등의 증상을 갖게 되는 빈도를 줄이는 것을 의미한다.

<118> 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "제약상 허용가능한 담체"는 활성 성분과 배합될 수 있고, 배합 후에는 활성 성분을 대상체에게 투여하는데 사용될 수 있는 화학적 조성물을 의미한다.

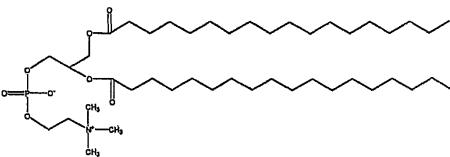
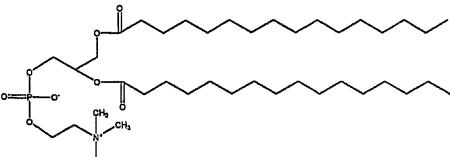
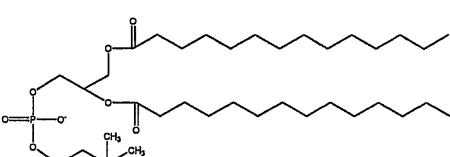
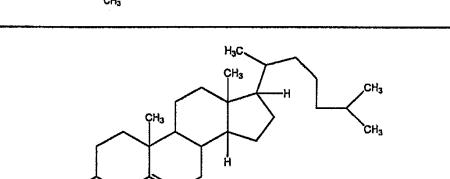
<119> 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "생리적으로 허용가능한"은 조성물이 투여될 대상체에게 성분이 유해하지 않음을 의미한다.

발명의 기재- 조성물

<121> 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 인터페론 결합 지질 구조물의 도시는 도 1에 나타내었다. 수용체 결합 문자라고도 알려진 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간 내의 간세포 결합 수용체에 연결시키며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시킨다. 적합한 양친매성 지질은 일반적으로 글리세롤-주체를 통해 서로에게 부착된 극성 헤드(head)기 및 비극성 테일(tail)기를 포함한다.

<122> 적합한 양친매성 지질로는 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 콜레스테롤 올레아이트, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨 염), 트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트 및 임의의 상기 지질들의 혼합물 또는 하기 표 1에 나타낸 이를 지질들의 적절한 유도체 등이 있다:

표 1

1	1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 2,3-비스(스테아로일옥시)프로필 2-(트리메틸암모니오)에틸 포스페이트	
2	3. 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 2,3-비스(팔미토일옥시)프로필 2-(트리메틸암모니오)에틸 포스페이트	
3	1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 2,3-비스(페트라데카노일옥시)프로필 2-(트리메틸암모니오)에틸 포스페이트	
4	콜레스테롤 10,13-디메틸-17-(6-메틸헵坦-2-일)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-페트라데카하이드로-1H-시클로펜타[a]페난트レン-3-올	

<123>

<124>

한 실시양태에서, 양친매성 지질로는 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨 염)트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트 및 임의의 상기 지질들의 혼합물 등이 있다.

<125>

연장된 양친매성 지질은 수용체 결합 분자라고도 공지되어 있으며, 근위부, 중위부 및 원위부를 포함한다. 근위부는 연장된 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 상기 구조물을 간 내의 간세포 결합 수용체에 연결시킨다. 근위부 및 원위부는 중위부를 통해 연결되어 있다. 각종 수용체 결합 분자들의 조성물은 하기에 기재한다. 지질 구조물 내에는 하기 군 중 하나 이상의 간세포 수용체 결합 분자가 존재하여 상기 구조물을 간 세포 내의 수용체에 결합시킬 수 있다.

<126>

제1 군의 간세포 수용체 결합 분자는 말단 바이오틴 또는 이미노바이오틴 부분 및 이들의 유도체를 포함한다. 바이오틴, 이미노바이오틴, 카르복시바이오틴 및 바이오시틴의 구조식은 하기 표 2에 나타내었다:

표 2

1	바이오틴 5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d] 이미다졸-4-일)펜탄산	
2	이미노바이오틴 5-((3aS,6aR)-2- 이미노헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d] 이미다졸-4-일)펜탄산	
3	카르복시바이오틴 5-((3aS,6aR)-1- (카르복시메틸)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d] 이미다졸-4-일)펜탄산	
4	바이오시틴 2-아미노-6-(5- ((3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d] 이미다졸-4-일) 펜탄아미도)헥산산	

<127>

<128>

이들 분자는 다양한 기술로 인지질 분자에 부착되어, 지질 구조물로 삽입(intercalating)될 수 있는 지질 고정 분자를 생성할 수 있다. 이들 간세포 수용체 결합 분자는 지질 구조물에 대한 근위 지점에 위치한 고정 부위를 포함한다. 고정 부위는 지질 구조물 내의 인지질 분자상에 존재하는 다른 친지성 탄화수소 쇄와 회합하고 결합할 수 있는 2개의 친지성 탄화수소 쇄를 포함한다.

<129>

바람직한 실시양태에서, 제2 군의 간세포 수용체 결합 분자는 지질 구조물로부터의 원위 지점에 위치한 말단 바이오틴 또는 이미노바이오틴 부분을 포함한다. 바이오틴 및 이미노바이오틴 모두가 비시클릭 고리상의 4-탄소 지점에서 5-탄소 발레르산 쇄에 부착된 온화한 친지성의 비시클릭 고리 구조를 함유한다. 한 실시양태에서, 발레르산의 카르복실기를 L-리신의 N-말단 α -아미노기 또는 ε -아미노기와 반응시켜서, L-리신 아미노산을 발레르산 C-말단 카르복실 관능기에 공유결합으로 결합시킬 수 있다. 이러한 커플링 반응은 카르보디이미드 접합 방법을 이용하여 수행되며, 도 2에 예시한 바와 같이 L-리신과 바이오틴 사이에 아미드 결합이 형성된다.

<130>

제3 군의 간세포 수용체 결합 분자는 아미노산 L-리신의 α -아미노기 또는 ε 아미노기에 아미드 결합을 통해 부착된 발레르산 측쇄를 갖는 이미노바이오시틴, 카르복시바이오틴 및 바이오시틴을 포함한다. 바람직한 실시양태는 도 3에 나타낸 바와 같이 이미노바이오시틴 부분 형성시에 이미노바이오틴을 이용한다. 간세포 수용체 결합 분자의 합성 동안, 이미노바이오시틴의 α -아미노기는 도 4에 나타낸 바와 같이 활성화 에스테르 벤조일 티오아세틸 트리글리신-술포-N-히드록시숙신이미드 (BTA-3-gly-술포-NHS)과 반응하여 활성 간세포 결합 분자 (BTA-3-gly-이미노바이오시틴)을 형성할 수 있다. BTA-3-gly-이미노바이오시틴은 결국 이후의 커플링 반응에 이용될 수 있는 활성 친핵성 술피드랄 관능기를 나타내는 분자 스페이서(spacer)로서 기능한다. 상기 스페이서는 지질 구조물과의 관계에서 중위 지점에 위치하며, 말단 이미노바이오시틴 부분이 지질 구조물의 표면에서 대략 30 Å 만큼 연장되도록 하여, 이미노바이오시틴이 간세포 수용체에 결합하는데 최적이며 비-제한적인 배향을 갖도록 한다. 중위 스페이서는 말단 바이오틴 부분에게 올바른 입체-화학적 배향을 제공하는 다른 유도체를 포함할 수 있다. 중위 스페이서의 주요 기능은 근위부와 원위부를 선형 배열로 적당하게 공유결합으로 연결시키는 것이다.

<131>

간세포 수용체 결합 분자의 BTA-3-gly-술포-NHS 부위는 수많은 수단으로 합성될 수 있고, 이후의 단계에서 바이오시틴 또는 이미노바이오시틴에 연결될 수 있다. 처음 단계는 벤조일 클로라이드를 티오아세트산에 첨가하여

친핵체 첨가에 의해 활성 티오 관능성에 대한 보호기를 형성하는 것을 포함한다. 상기 반응의 생성물은 도 5에 나타낸 바와 같이 벤조일 티오아세트산 복합체 및 염산이다. 상기 합성에서의 추가 단계는 도 5에 도시한 바와 같이 디시클로헥실카르보디이미드 또는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드를 커플링제로서 사용하여 벤조일 티오아세트산을 술포-N-히드록시숙신이미드와 반응시켜서, 벤조일 티오아세틸 술포-N-히드록시숙신이미드 (BTA-술포-NHS)를 형성하는 것을 수반한다. 이어서, 벤조일 티오아세틸 술포-N-히드록시숙신이미드 (BTA-술포-NHS)를 형성하는 것을 수반한다. 이어서, 벤조일 티오아세틸 술포-N-히드록시숙신이미드를 아미노산 중합체 (글리신-글리신-글리신)와 반응시킨다. 도 5에 나타낸 바와 같이, 트리글리신의 α -아미노기에 의한 친핵성 공격 후에는 벤조일 티오아세틸 트리글리신 (BTA-3-gly)이 형성되면서 술포-N-히드록시숙신이미드 이탈기는 수성 매질에 의해 용해된다. 도 6에 나타낸 바와 같이, 벤조일 티오아세틸 트리글리신을 다시 디시클로헥실카르보디이미드 또는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드와 반응시켜서 술포-N-히드록시숙신이미드와의 에스테르 결합을 형성한다. 이어서, 활성화 벤조일 티오아세틸 트리글리신 (BTA-3-gly-술포-NHS)의 술포-N-히드록시숙신이미드 에스테르를 바이오시틴 또는 아미노바이오시틴의 L-리신 관능기의 α -아미노기와 반응시켜서 도 7에 예시한 벤조일 티오아세틸 트리글리신-아미노바이오시틴 (BTA-3-gly-아미노바이오시틴)의 연장된 양친매성 지질 분자인 간세포 수용체 결합 부분을 형성한다.

<132>

간세포 수용체 결합 분자의 합성을 위한 두번째 주요 커플링 반응은 벤조일 티오아세틸 트리글리신 아미노바이오시틴이 티오에테르 결합을 통해 바람직한 인지질 고정 분자인 N-파라-말레이미도페닐부티레이트 포스파티딜에탄올아민에 공유결합으로 부착되는 것으로 예시된다. 상기 반응으로, 말단 아미노바이오시틴 고리와 지질 구조물 사이에 올바른 문자 간격을 제공하는 문자가 생성된다. 연장된 양친매성 지질 분자로서 기능하는 간세포 수용체 결합 분자를 형성하기 위한 전체 반응식은 도 8에 도시되어 있다. 벤조일 티오아세틸 트리글리신 아미노바이오시틴을 N-파라-말레이미도페닐부티레이트 포스파티딜에탄올아민과 반응시켜서 티오에테르 연결부를 형성하기 전에, 가열하여 벤조일 보호기를 제거하여 유리 술피드랄 관능기를 노출시킨다. 상기 반응은 술피드랄이 디술피드로 산화되는 것을 최소로 하기 위해서 산소가 없는 환경에서 수행되어야 한다. 추가의 산화는 술플론, 술풀록시드, 술펜산 또는 술폰산 유도체 형성을 야기할 수 있다.

<133>

한 실시양태에서, 상기 문자의 고정 부분은 상기 문자의 지질 부위를 형성하는 한쌍의 아실 탄화수소 쇄를 함유한다. 상기 문자의 이 부위는 지질 구조물의 지질 도메인 내에서 비-공유결합으로 결합된다. 한 실시양태에서, 고정 부분은 N-파라-말레이미도페닐부티레이트 포스파티딜에탄올아민으로부터 생성된다. 다른 고정 문자가 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 고정 문자로는 티오-콜레스테롤, 콜레스테롤 올레아이트, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨 염) 및 이들의 혼합물 등을 들 수 있다. 완전히 개발되어 LA-HRBM라고 명명되는 지질 고정부 및 간세포 수용체 결합 문자의 전반적인 문자 구조는 도 8에 나타내었다.

<134>

제4 군의 간세포 수용체 결합 문자는 수용성 부분 및 수불용성 부분을 둘다 갖는 양친매성 유기 문자를 포함한다. 수불용성 부분은 배위 및 생체접합 화학 반응으로 중위부 또는 연결기 부분과 반응하며, 수불용성 부분은 간 내의 간세포 결합 수용체에 결합한다. 상기 문자는 예를 들어 2,6-디이소프로필벤젠 유도체 등과 같은 비극성 유도체화 벤젠 고리 또는 친지성 헤테로비시클릭 고리 구조를 포함하는 원위 성분을 함유한다. 전체 간세포 수용체 결합 문자는 양전하 또는 음전하이거나 이들의 여러가지 조합인 고정 전하 또는 일시적 전하를 보유한다. 이들 문자는 원위부 말단부로부터 대략 13.5 Å 이하이지만 그를 초과하지는 않게 위치한 1개 이상의 카르보닐기 및 2급 아민 및 카르보닐기를 함유하는 1개 이상의 카르바모일 부분을 함유한다. 카르바모일 부분(들)의 존재는 상기 유기 문자의 문자 안정성을 향상시킨다. 문자 내에는 복수개의 2급 아민이 존재할 수 있다. 이들 2급 아민은 구조물 내에서 다른 문자와의 이온-쌍극자 및 쌍극자-쌍극자 결합 상호작용을 허용하는 한쌍의 미공유 전자를 함유한다. 이들 아민은 문자 안정성을 향상시키고, 원위부와 상호작용하여 간세포 수용체 결합 및 특이성을 촉진시키는 부분적으로 생성된 음전하를 제공한다. 이러한 군의 수용체 결합 문자의 예로는 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)아미노 디아세트산] 등이 있다. 한 실시양태에서, 간세포 수용체 결합 문자의 중위 지점에 크롬 III이 위치한다. 간세포 특이적 결합 문자의 근위부는 상기 문자가 지질 구조물 내로 삽입되고 이후에는 그 안에서 결합되도록 하는 소수성 및/또는 비극성 구조를 함유한다. 중위부 및 근위부 또한 간세포 수용체 결합 문자 원위부가 올바르게 입체-화학적 배향되도록 한다.

<135>

지질 구조물의 구조 및 성질은 지질의 구조 및 지질 사이의 상호작용의 지배를 받는다. 지질의 구조는 주로 공유결합의 지배를 받는다. 공유결합은 지질 구조물의 개개의 성분을 포함하는 문자의 구조적 일체성(integrity)을 보유하는데 요구되는 문자 결합력이다. 지질 사이의 비-공유결합 상호작용을 통해, 지질 구조물은 3차원 형상으로 유지된다.

- <136> 비-공유결합은 이온-쌍극자 또는 유도된 이온-쌍극자 결합, 및 지질 헤드의 각종 극성 기와 관련된 수소 결합이라는 일반 용어로 대표될 수 있다. 소수성 결합 및 반 데르 발스 상호작용은 지질 아실 쇄 사이의 유도된 쌍극자 결합을 통해 생성될 수 있다. 이러한 결합 메카니즘은 그 성질상 일시적이며 펨토초(femtosecond)에 미치지 못하는 시간 간격으로 일어나는 결합 형성 및 결합 파괴 과정을 초래한다. 예를 들어, 반 데르 발스 상호작용은 오비탈 전자가 한 원자 또는 분자의 한쪽으로 잠시 이동해서 인접한 원자 또는 분자에서도 유사한 이동을 유발하여 발생하는 쌍극자 모멘트의 순간적 변화로 인한다. 양성자는 δ^+ 전하 및 단일 전자 δ^- 전하로 추정되며 때문에 쌍극자를 형성한다. 쌍극자 상호작용은 양친매성 지질 분자의 탄화수소 아실 쇄 사이에서 매우 높은 빈도로 발생한다. 일단 개개의 쌍극자가 형성되면, 이것들은 메틸렌형 ($-\text{CH}_2-$) 관능기를 함유하는 이웃 원자에서 새로운 쌍극자를 순간적으로 유도할 수 있다. 지질 구조물 전체에 걸쳐서 아실 지질 쇄 사이에는 복수개의 일시 유도된 쌍극자 상호작용이 형성된다. 이러한 유도된 쌍극자 상호작용은 단지 펨토초 (1×10^{-15} 초)의 일부 동안만 지속되지만, 함께 기능하면 강력한 힘을 발휘한다. 이러한 상호작용은 일정하게 변화하고 있으며 공유결합 강도의 대략 1/20에 해당하는 힘을 갖는다. 그럼에도 불구하고, 이것들은, 구조물의 3차원 통계 구조 및 지질 구조물 내 분자들의 입체-특이적 분자 배향을 결정하는 안정적인 공유결합 분자 사이의 일시적 결합을 담당한다.
- <137> 이러한 유도된 쌍극자 상호작용의 결과로서, 지질 구조물의 구조는 구조물들 사이에서의 지질 성분 교환으로 유지된다. 구조물 개개 성분들의 조성은 고정되어 있지만, 지질 구조물의 개개의 성분은 구조물들 사이에서 교환 반응의 대상이다. 이러한 교환은 처음에 지질 성분이 지질 구조물에서 이탈될 경우에는 0차 역학에 의해 지배를 받는다. 지질 성분은 지질 구조물로부터 방출된 후에 이웃하는 지질 구조물에 의해 재포획될 수 있다. 방출된 성분의 재포획은 2차 반응 역학에 의한 제어를 받는데, 이것은 상기 방출된 성분을 포획한 구조물 주변의 수성 매질 중 상기 성분의 농도 및 방출된 성분을 포획하고 있는 지질 구조물의 농도에 의한 영향을 받는다.
- <138> 연장된 양친매성 지질의 예 및 표 3에 나타낸 이들 각각의 번호는 다음과 같다: N-히드록시숙신이미드 (NHS) 바이오틴 [1], 술포-NHS-바이오틴 [2], N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴 [3], 술포-N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴 [4], D-바이오틴 [5], 바이오시틴 [6], 술포-N-히드록시숙신이미드-S-S-바이오틴 [7], 바이오틴-BMCC [8], 바이오틴-HPDP [9], 요오도아세틸-LC-바이오틴 [10], 바이오틴-히드라지드 [11], 바이오틴-LC-히드라지드 [12], 바이오시틴 히드라지드 [13], 바이오틴 카다베린 [14], 카르복시바이오틴 [15], 포토바이오틴 [16], ρ -아미노벤조일 바이오시틴 트리플루오로아세테이트 [17], ρ -디아조벤조일 바이오시틴 [18], 바이오틴 DHPE [19], 바이오틴-X-DHPE [20], 12-((바이오틴)아미노)도데칸산 [21], 12-((바이오틴)아미노)도데칸산 숙신이미딜 에스테르 [22], S-바이오틴 호모시스테인 [23], 바이오시틴-X [24], 바이오시틴 x-히드라지드 [25], 바이오틴에틸렌디아민 [26], 바이오틴-XL [27], 바이오틴-X-에틸렌디아민 [28], 바이오틴-XX 히드라지드 [29], 바이오틴-XX-SE [30], 바이오틴-XX, SSE [31], 바이오틴-X-카다베린 [32], α -(t-BOC)바이오시틴 [33], N-(바이오틴)-N'-(요오도아세틸)에틸렌디아민 [34], DNP-X-바이오시틴-X-SE [35], 바이오틴-X-히드라지드 [36], 노르바이오틴아민 히드로클로라이드 [37], 3-(N-말레이미딜프로피오닐)바이오시틴 [38], ARP [39], 바이오틴-1-술폭시드 [40], 바이오틴 메틸 에스테르 [41], 바이오틴-말레이미드 [42], 바이오틴-폴리(에틸렌글리콜)아민 [43], (+) 바이오틴 4-아미도벤조산 나트륨 염 [44], 바이오틴 2-N-아세틸아미노-2-데옥시- β -D-글루코파라노시드 [45], 바이오틴- α -D-N-아세틸뉴라마니드 [46], 바이오틴- α -L-푸코시드 [47], 바이오틴 락토-N-바이오시드 [48], 바이오틴-루이스-A 트리사카라이드 [49], 바이오틴-루이스-Y 테트라사카라이드 [50], 바이오틴- α -D-만노파라노시드 [51], 바이오틴 6-O-포스포- α -D-만노파라노시드 [52] 및 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노]디아세트산 [53].
- <139> 한 실시양태에서, 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 중합체가 지질 구조물에 혼입되어, 인터페론 분자상의 친수성 관능기에 결합하여 인터페론이 가수분해되지 않도록 보호할 수 있다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트는
- <140> 중합체 배열로 베타 (1→4) 연결된 2개의 글루코스 분자를 포함하며, 여기서 상기 중합체의 히드록실기에 존재하는 수소 원자 일부는 아세틸 관능기 (카르보닐 탄소에 결합된 메틸기) 또는 프탈레이트기 (벤젠 고리의 첫번째 및 두번째 위치에 2개의 카르복실기를 갖는 벤젠 고리로 대표됨)로 대체된다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 중합체의 구조식은 도 9에 나타내었다. 프탈레이트 고리 구조에서 오직 1개의 카르복실기만이 셀룰로스 아세테이트 분자와의 공유결합 에스테르 연결에 관여한다. 다른 카르복실기는 카르보닐 탄소 및 히드록실 관능기를 함유하며, 이것들은 인터페론 및 각종 지질 분자에 존재하는 이웃하는 음전하 및 양전하 쌍극자와의 수소 결합에 참여한다.

<141>

한 실시양태에서, 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 중합체는 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 포스페이트 및 디세틸 포스페이트 분자와의 이온-쌍극자 결합을 통해 지질과 상호작용한다. 이온-쌍극자 결합은 셀룰로스 히드록실기에 존재하는 δ^+ 수소와 인지질 분자의 포스페이트 부분에 존재하는 음으로 대전된 산소 원자 사이에 발생한다. 이온-쌍극자 상호작용에서 가장 큰 역할을 하는 관능기는 인지질 분자의 포스페이트기에 존재하는 음으로 대전된 산소 원자, 히드록실기에 존재하는 수소 원자, 및 인터페론 분자의 아미드 결합에 존재하는 수소 원자이다. 음으로 대전된 관능기는 이온-쌍극자 상호작용을 하고 개개의 히드록실기 및 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트에 존재하는 카르복실 관능기의 히드록실기의 δ^+ 수소 원자와 반응하는 부위를 형성한다. 이온-쌍극자는 포스포콜린 관능기의 양으로 대전된 4차 아민과 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 및 인터페론에 존재하는 δ^- 카르보닐 산소 사이에 형성될 수 있다. 인터페론 내 분지형 친수성 구조를 포함하는 당 분자는 수소 결합 및 이온-쌍극자 상호작용에 참여할 수 있다.

표 3

1 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 바이오틴	2,5-디옥소피콜리딘-1-일 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)-펜타노에이트	
2 술포-NHS-바이오틴	나트륨 2,5-디옥소-3-(트리옥시다닐티오)피콜리딘-1-일 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)-펜타노에이트	
3 N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴	2,5-디옥소피콜리딘-1-일 6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)-펜타노미도)헥사노에이트	

<142>

4	술포-N-(히드록시숙신이미드 장쇄 바이오린	나트륨 2,5-디옥소-3- (트리옥시다닐티오) 페롤리딘- 1-일 6-(5-(3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일)펜틴아미도)헥사-노에이트	
5	D-비아오린	5-(3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜탄산	
6	바이오시린	2-아미노-6-(5-(3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜탄아미도)헥산산	

7	<p>슬포-N-히드록시숙신이미드- S-S-바이오틴 나트륨 2,5-디옥소-3- (트리옥시다닐티오) 피롤리딘- 1-일 3-(2-(4-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일)부틸아미노) 에틸)디술파닐)프로카보-에이- 트</p>	
8	바이오틴-BMCC	
9	바이오틴-HPDP	

10	요오도아세틸-LC-바이오틴	<p>N-(6-(2- 요오도아세트아미도)헥실)-5- ((3aS,6aR)-2-옥소헥사)히드로- 1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일)페틴아미드</p>
11	바이오틴-3-히드라지드	<p>5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사)히드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일)페틴히드라지드</p>
12	바이오틴-LC-히드라지드	<p>N-(6-(3- 옥소헥사)히드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일)페틴아미드</p>

13	바이오시틴 헤드라지드	N-(5-아미노-6-히드라지닐-6-옥소헥실)-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타이미드	
14	바이오틴 카디베린	N-(5-아미노펜틸)-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타이미드	
15	카르복시바이오틴	(3aS,6aR)-4-(4-카르복시부틸)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-1-카르복실산	

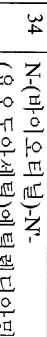
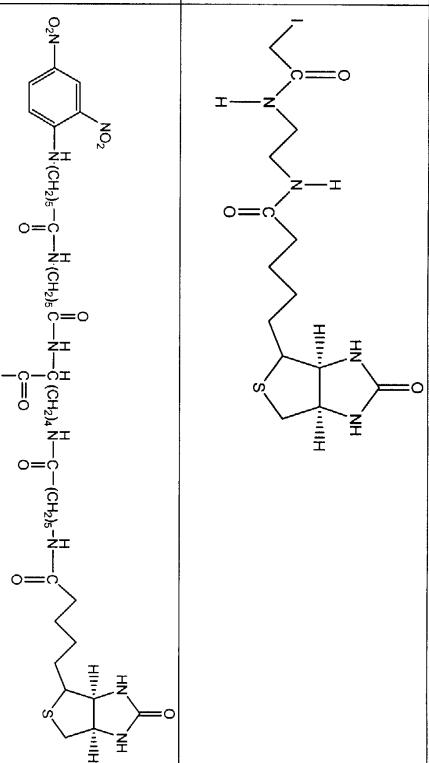
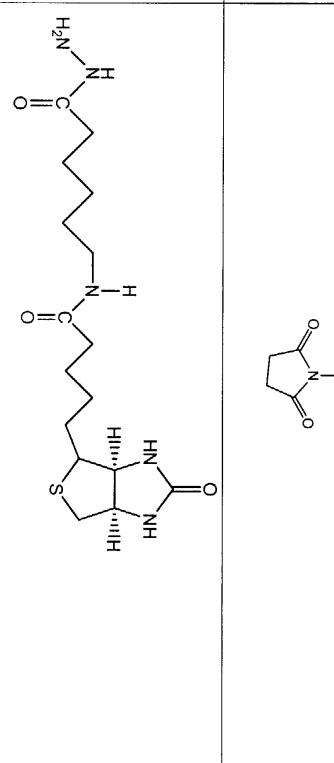
16	포토바이오틴	N-3-((3-(4-아이지)-2-나트로페닐아미노)프로필)(메틸)아미노)프로필)-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티)에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜린아미드	
17	ρ -아미노벤조일 바이오시틴 트리풀루오로아세테이트	2-(4-아미노벤즈아미도)-6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티)에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜린아미도)헥산산 2,2-트리풀루오로아세테이트	
18	ρ -디아조벤조일 바이오시틴	4-(1-카르복시-5-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티)에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜린아미도)펜릴카르바모일)벤젠디아조늄 클로라이드	

19	바이오틴-DHPE	<p>트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)페타이미도)에틸포스페이트</p>	
20	바이오틴-X-DHPE	<p>트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)페타이미도)헥산이미도)에틸포스페이트</p>	
21	12-((바이오틴)아미노)도데칸산 (12-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)페타이미도)도데칸산		

22	12-((바이)오퍼닐)아미노)도데칸산 숙신이미딜 에스테르	
23	S-비아)오퍼닐 호모시스테인	
24	비아)오시틴-X	

25	바이오시틴 x-하이드라지드	
26	바이오틴에틸렌디아민	
27	비아오틴-X	

28	바이오린-X-에틸렌디아민	<p>N-(2-아미노에틸)-6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사-1H-티에노[3,4-에이미]다졸-4-일)페타이미도)헥산아미드</p>
29	바이오린-XX 히드록시드	<p>N-(6-하이드라지닐-6-옥소헥실)-6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하드로-1H-티에노[3,4-디이미]다졸-4-일)페타이미도)헥산아미드</p>
30	바이오린-XX-SE	<p>2,5-디옥소페놀리딘-1-일 6-(6-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하드로-1H-티에노[3,4-디이미]다졸-4-일)페타이미도)헥산아미도)헥사노에이트</p>

34	N-(비-이)오타[닐]-N ^r - (요오도아세틸)에틸 렌디아민 N-2-(2- 요오도아세트아미도)에틸-5- ((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로- 1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일) 펜타이미드	
35	DNP-X-바이오시틴-X-SE 2,5-디옥소파롤리딘-1-일 2-(6- (6-(2,4-디나트로페닐아미노) 헥산아미도)헥산아미도)-6-(6- (5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜타이미도)헥산아미도) 헥사노에이트	
36	바이오틴-X-호[드라자인] N-(6-히드록시-6-옥소헥실)- 5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사하이드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜타이미드	

37	노르바이오틴아민 히드로클로라이드	
38	4((3aS,6aR)-2- 옥소헥사히드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 부탄-1-아미늄클로라이드 3-(N-말레이미딜프로파오닐) 바이오시틴	
39	ARP; N ^t -2-(아미노옥시)아세틸)-5- ((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로- 1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜탄히드라지드	

40	바이오틴-1-솔푸시드	$\text{5-}((3\text{aS},6\text{aR})\text{-2-}\text{옥소}\text{-}\text{헥사하이드로-}\text{1H-}\text{티에노[3,4-d]이미다졸-4-일})\text{-}\text{펜탄산}\text{-}\text{솔푸시드}$	
41	바이오틴-메틸 에스테르	$\text{메틸 5-}((3\text{aS},6\text{aR})\text{-2-}\text{옥소}\text{-}\text{헥사하이드로-}\text{1H-}\text{티에노[3,4-d]이미다졸-4-일})\text{-}\text{펜타노에이트}$	
42	바이오틴-말레이미드	$\text{6-(2,5-디옥소-2,5-디하이드로-}\text{1H-}\text{페롤-1-일)-N'}\text{-}(\text{5-}((3\text{aS},6\text{aR})\text{-2-}\text{옥소}\text{-}\text{헥사하이드로-}\text{1H-}\text{티에노[3,4-d]이미다졸-4-일})\text{-}\text{펜타노일})\text{-}\text{헥산하이드라지드}$	

43	<p>바이오틴- 폴리(에틸렌글리콜)아민 아미노메틸 폴리에틸 엔 5- ((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로- 1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일) 펜타노에이트</p>	
44	<p>(+) 바이오틴 4-아미도벤조산 나트륨 염</p>	
45	<p>나트륨 4-5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜타노에이트</p>	

46	바이오틴- α -D-N-아세틸뉴라미나드	
47	바이오틴- α -L-푸코사이드	
48	비-이오린-락토-N-비-이오시드	

49	바이오틴-루이스(Lewis)-A 트리사카라이드	명청에 대해서는 표의 말단부 참조	
50	바이오틴-루이스-Y 테트라사카라이드	명청에 대해서는 표의 말단부 참조	
51	바이오틴- α -D-민노파라노시드	((1R,4R)-2,3,4-트리하يد록시-5-(히드록시메틸)-1,2,3,4,5-펜타메틸시클로헥실)메틸 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4- β]이미다졸-4-일) 펜터노에이트	

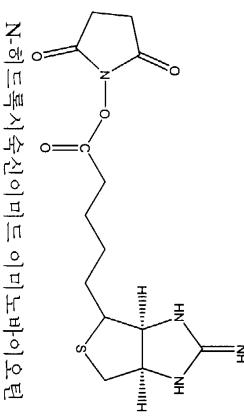
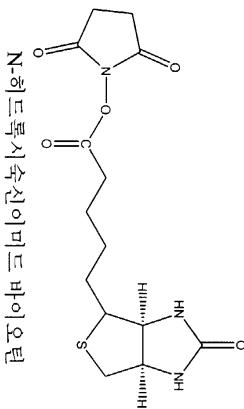
화합물 48 내지 50의 명칭.

48. ((2R,5S)-3-아세트아미도-5-히드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,6-테트라메틸테트라하이드로-2H-페란-2-일)메틸-4-(((2S,5R)-3,4,5-트리하이드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸테트라하이드로-2H-페란-2-일)메틸) 테트라하이드로-2H-페란-2-일)메틸-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트 ((2R,5S)-3-아세트아미도-5-히드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,6-테트라메틸-4-(((2S,5R)-3,4,5-트리하이드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸테트라하이드로-2H-페란-2-일)메틸) 테트라하이드로-2H-페란-2-일)메틸-4-(((2S,5R)-3,4,5-트리하이드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸테트라하이드로-2H-페란-2-일)메틸) 테트라하이드로-2H-페란-2-일)펜타노에이트

49. (2R,3R,5S)-5-(((2S,3S,SS)-3-아세트아미도-5-히드록시-6-(히드록시메틸)-2,4,6-트리메틸-4(((2S,5R)-3,4,5-트리히드록시-2,3,4,5,6-펜타메틸페트라히드로-2H-페란-2-일)메톡시)메틸)페트라히드로-2H-페란-2-일 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트

50. (2S,5S)-3-아세트아미도-4-(((2R,5S)-5-(((2R,5S)-4,5-디히드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸-3-(((2S,5S)-3,4,5-트리히드록시-2,3,4,5,6,6-헥사메틸페트라히드로-2H-페란-2-일)메톡시)메틸)페트라히드로-2H-페란-2-일)메톡시)메틸)-3,4-디히드록시-2,3,4,5,6,6-헥사메틸페트라히드로-2H-페란-2-일 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-

이미노바이오틴 화합물의 구조는 표 3에 나타나 있지 않다. 이미노바이오틴 구조는 바이오틴이기가 이미노바이오틴 기에 의해 대체된 바이오틴 구조 유사체이다. 예로는 이하에 나타낸 유사체인 N-히드록시숙신이미드 바이오틴 및 N-히드록시숙신이미드 이미노바이오틴이 있다.



<160>

<161>

중합체(분자량이 약 15,000 이상임)의 분자 배치 및 크기는 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트가 친수성 헤드 기의 영역에서 지질 구조물의 개개의 인지질 분자를 코팅할 수 있도록 한다. 이러한 코팅은 지질 구조물 내의 인터페론을 위의 산 환경으로부터 보호한다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 지질 구조물 내의 분자의 표면에 부착시킬 수 있는 여러 방법이 있다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 지질 구조물의 표면에 연결하는 바람직한 수단은 지질 구조물의 표면으로부터 돌출되어 있는 당을 제공하는 인터페론 분자의 테일에 중합체성 셀룰로스 종을 부착하는 것이다. 이는 인터페론의 단백질성(proteinaceous) 테일을 효소적 가수분해로부터 보호한다.

<162>

연장된 양친매성 지질은 수용체로의 부착을 위한 다양한 다중-톱니형 결합 부위를 포함한다. 본원에 정의된 바와 같은 다중-톱니형 결합은 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 중합체 상의 카르보닐, 카르복실 및 히드록실 관능기와 연계(interface)될 수 있는 지질 구조물 상에서뿐만 아니라 인터페론 및 그의 수반된 당 부분의 표면상에서 복수개의 잠재적인 결합 부위를 필요로 한다. 이는 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 중합체가 지질 구조물뿐만 아니라 인터페론의 분자 상의 복수개의 친수성 영역과 결합함으로써 지질 구조물에 대해 가수분해 보호의 방어를 확립할 수 있도록 한다. 이러한 방식으로, 인터페론 및 지질 구조물은 둘 다 인터페론 투여 제형의 경구 투여 후 위의 산 환경으로부터 보호된다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트가 위를 통과하면서 지질 구조물 내부와 이 구조물의 표면 상에서 개개의 지질 분자를 덮거나 보호하더라도, 구조물이 소장의 알칼리 영역으로 이동하면, 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트는 가수분해에 의해 분해된다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트가 지질 구조물의 분자의 표면으로부터 제거된 다음, 지질 고정

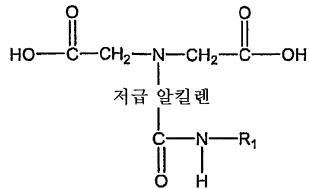
부-간세포 수용체 결합 분자, 예를 들면 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐)이 노출되며, 이어서 수용체와 결합할 수 있게 된다. 인터페론 및 지질 구조물 상의 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 코팅의 이용은 인터페론의 더 높은 생체이용률이 달성되도록 보장하는데 필요하다.

<163> 한 실시양태에서, 지질 구조물은 가교 성분과 복합체 형성제의 복합체를 형성함으로써 얻어진 다수개 연결된 개개의 단위들을 포함하는 표적 분자 복합체를 포함한다. 가교 성분은 복합체 형성제와의 수불용성 배위결합된 복합체를 형성할 수 있는 금속의 수용성 염이다. 적합한 금속은 전이 및 내부 전이 금속 또는 전이 금속과 이웃하는 금속으로부터 선택된다. 전이 및 내부 전이 금속으로서 금속은 Sc (스칸듐), Y (이트륨), La (란탄), Ac (악티늄), 악티니드 계열, Ti (티탄), Zr (지르코늄), Hf (하프늄), V (바나듐), Nb (니오븀), Ta (탄탈륨), Cr (크롬), Mo (몰리브덴), W (텅스텐), Mn (망간), Tc (테크네튬), Re (레늄), Fe (철), Co (코발트), Ni (니켈), Ru (루테늄), Rh (로듐), Pd (팔라듐), Os (オス뮴), Ir (이리듐) 및 Pt (백금)으로부터 선택된다. 전이 금속의 인접 금속으로서 금속은 Cu (구리), Ag (은), Au (금), Zn (아연), Cd (카드뮴), Hg (수은), Al (알루미늄), Ga (갈륨), In (인듐), Tl (탈륨), Ge (게르마늄), Sn (주석), Pb (납), Sb (안티몬) 및 Bi (비스무트), 및 Po (폴로늄)으로부터 선택될 수 있다. 가교제로서 유용한 금속 화합물의 예로는 크롬 클로라이드 (III) 육수화물, 크롬 (III) 플루오라이드 사수화물, 크롬 (III) 브로마이드 육수화물, 지르코늄 (IV) 시트레이트 암모늄 복합체, 지르코늄 (IV) 클로라이드, 지르코늄 (IV) 플루오라이드 수화물, 지르코늄 (IV) 요오다이드, 몰리브데늄 (III) 브로마이드, 몰리브데늄 (III) 클로라이드, 몰리브데늄 (IV) 술퍼드, 철 (III) 수화물, 철 (III) 포스페이트 사수화물 및 철 (III) 술퍼레이트 오수화물 등을 들 수 있다.

<164> 복합체 형성제는 가교 성분과의 수용성 배위결합된 복합체를 형성할 수 있는 화합물이다. 적합한 복합체 형성제의 여러 패밀리가 존재한다.

<165> 복합체 형성제는 R₁이 저급알킬, 아릴, 아릴저급알킬, 및 헤테로시클릭 치환체인 하기 화학식 1의 이미노디아세트산 패밀리로부터 선택될 수 있다.

<화학식 1>



<167>

화학식 1의 적합한 화합물로는 이하의 것들이 포함된다:

<168> N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<169> N-(2,6-디에틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<170> N-(2,6-디메틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<171> N-(4-이소프로필페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<172> N-(4-부틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<173> N-(4-부틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<174> N-(2,3-디메틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<175> N-(2,4-디메틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<176> N-(2,5-디메틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<177> N-(3,4-디메틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

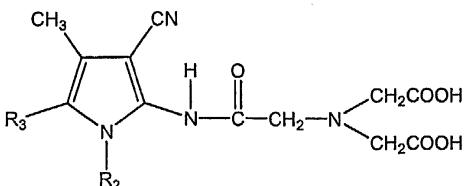
<178> N-(3,5-디메틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<179> N-(3-부틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<180> N-(2-부틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

<181> N-(4-tert. 부틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,

- <182> N-(3-부톡시페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,
- <183> N-(2-헥실옥시페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,
- <184> N-(4-헥실옥시페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,
- <185> 아미노피롤 이미노디아세트산,
- <186> N-(3-브로모-2,4,6-트리메틸페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산,
- <187> 벤즈이미다졸 메틸 이미노디아세트산,
- <188> N-(3-시아노-4,5-디메틸-2-페릴카르바모일메틸) 이미노디아세트산,
- <189> N-(3-시아노-4-메틸-5-벤질-2-페릴카르바모일메틸) 이미노디아세트산, 및
- <190> N-(3-시아노-4-메틸-2-페릴카르바모일메틸) 이미노디아세트산 및
- <191> 하기 화학식 2의 N-(3-시아노-4-메틸-2-페릴카르바모일메틸) 이미노디아세트산의 다른 유도체
- <192> <화학식 2>



<193>

상기 식에서, R_2 및 R_3 은 다음과 같다:

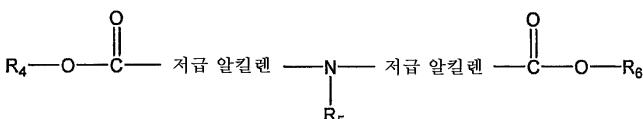
R_2	R_3
H	이소- C_4H_9
H	$CH_2CH_2SCH_3$
H	$CH_2C_6H_4-p-OH$
CH_3	CH_3
CH_3	이소- C_4H_9
CH_3	$CH_2CH_2SCH_3$
CH_3	C_6H_5
CH_3	$CH_2C_6H_5$
CH_3	$CH_2C_6H_4-p-OCH_3$

<195>

복합체 형성제는 R_4 , R_5 및 R_6 이 서로 독립적이며 수소, 저급알킬, 아릴, 아릴저급알킬, 알콕시저급알킬 및 헤테로시클릭일 수 있는 하기 화학식 3의 이미노 이산(diacid) 유도체의 패밀리로부터 선택된다.

<197>

<화학식 3>



<198>

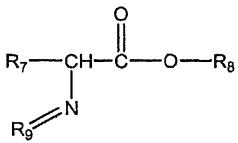
화학식 3의 적합한 화합물로는 N'-(2-아세틸나프틸) 이미노디아세트산 (NAIDA), N'-(2-나프틸메틸) 이미노디아세트산 (NMIDA), 이미노디카르복시메틸-2-나프틸케톤 프탈레이인 복합체, 3 (3: 7a: 12a: 트리히드록시-24-노르콜아닐-23-이미노디아세트산, 벤즈이미다졸 메틸 이미노디아세트산, 및 N-(5,프레그넨-3-p-올-2-오일 카르바모일메틸) 이미노디아세트산이 포함된다.

<200>

복합체 형성제는 하기 화학식 4의 아미노산의 패밀리로부터 선택된다.

<201>

<화학식 4>



<202>

상기 식에서, R_7 은 아미노산 측쇄이고, R_8 은 저급알킬, 아릴, 아릴저급알킬이며, R_9 는 피리독실리덴이다.

<203>

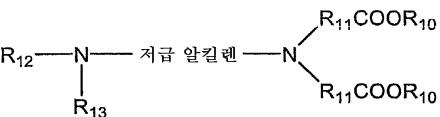
화학식 4의 적합한 아미노산으로는 글리신, 알라닌, 발린, 루이신, 이소루이신을 비롯한 지방족 아미노산, 세린 및 트레오닌을 비롯한 히드록시아미노산, 아스파르트산, 아스파라진, 글루탐산, 글루타민을 비롯한 디카르복실산 아미노산 및 그의 아미드, 리신, 히드록시리신, 히스티딘, 아르기닌을 비롯한 염기성 관능기를 갖는 아미노산, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판, 티록신을 비롯한 방향족 아미노산, 및 시스틴, 메티오닌을 비롯한 황-함유 아미노산이 있으나 이에 한정되지 않는다.

<204>

복합체 형성제는 (3-알라닌-γ-아미노) 부티르산, 0-디아조아세틸세린 (아자세린), 호모세린, 오르니틴, 시트룰린, 페니실라민을 포함하지만 반드시 이들로 제한되지는 않는 아미노산 유도체, 및 피리독실리덴 글루타메이트, 피리독실리덴 이소루이신, 피리독실리덴 페닐알라닌, 피리독실리덴 트립토판, 피리독실리덴-5-메틸 트립토판, 피리독실리덴-5-히드록시트립타민, 및 피리독실리덴-5-부틸트립타민을 포함하지만 이에 한정되지 않는 피리독실리덴 화합물 군의 구성원으로부터 선택된다. 복합체 형성제는 하기 화학식 6의 디아민의 패밀리로부터 선택된다.

<205>

<화학식 6>



<206>

상기 식에서, R_{10} 은 수소, 저급알킬, 또는 아릴이고, R_{11} 은 저급알킬렌 또는 아릴저급알킬이고, R_{12} 및 R_{13} 은 독립적으로 수소, 저급알킬, 알킬, 아릴, 아릴저급알킬, 아실헤테로시클릭, 툴루엔, 술포닐 또는 토실레이트이다.

<207>

화학식 6의 몇몇 적합한 디아민으로는 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, 에틸렌디아민-N,N-비스(-2-히드록시-5-브로모페닐) 아세테이트, N'-아세틸에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-벤조일 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-톨루엔술포닐) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-t-부틸벤조일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(벤젠술포닐) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-클로로벤젠술포닐) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-에틸벤젠술포닐) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(아실 및 N'-술포닐 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-n-프로필벤젠술포닐) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(나프탈렌-2-술포닐) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, 및 N'-(2,5-디메틸벤젠술포닐) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

<208>

다른 적합한 복합체 형성 화합물 또는 형성제로는 페니실라민, p-메르캅토이소부티르산, 디히드로티옥트산, 6-메르캅토퓨린, 케톡살-비스(티오세미카르바존), 간담즙(Hepatobiliary) 아민 복합체, 1-히드라지노프탈라진 (히드랄라진), 술포닐 우레아, 간담즙 아미노산 쉬프(Schiff) 염기 복합체, 피리독실리덴 글루타메이트, 피리독실리덴 이소루이신, 피리독실리덴 페닐알라닌, 피리독실리덴 트립토판, 피리독실리덴 5-메틸 트립토판, 피리독실리덴-5-히드록시트립타민, 피리독실리덴-5-부틸트립타민, 테트라사이클린, 7-카르복시-p-히드록시퀴놀린, 페놀프탈레이인, 에오신 I 청색(bluish), 에오신 I 황색(yellowish), 베로그라핀, 3-히드록실-4-포르밀-피리덴 글루탐산, 아조 치환된 이미노디아세트산, 간담즙 염료 복합체, 예를 들면 로즈 벵갈(rose bengal), 콩고 레드(congo red), 브로모술포프탈레이인, 브로모페놀 블루, 톨루이дин 블루, 및 인도시아닌 그린, 간담즙 조영제, 예를 들면 요오디파미드, 및 요오글리캄산, 블루 염, 예를 들면 빌리루빈, 콜기실요오도히스타민, 및 티록신, 간담즙 티오복합체, 예를 들면 페니실라민, p-메르캅토이소부티르산, 디히드로티오시트산, 6-메르캅토퓨린, 및 케톡살-비스(티오세미카르바존), 간담즙 아민 복합체, 예를 들면 1-히드라지노프탈라진 (히드랄라진), 및 술포닐 우레아, 피리독실리덴-5-히드록시트립타민 및 피리독실리덴-5-부틸트립타민을 비롯한 간담즙 아미노산 쉬프 염기 복합체, 간담즙 단백질 복합체, 예를 들면 프로토민, 페리틴, 및 아시알로-오로소뮤코이드, 및 아시알로복합체, 예를 들면 락토스아민화 알부민, 이뮤노글로불린 G, IgG, 및 혜모글로빈 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

- <211> 가교체와 복합체 형성체를 복합체화하여 제조된 3차원 표적 분자 복합체는 본원에 참고로 포함되는 WO 99/59545에 기재되어 있다. 한 실시양태에서, 가교체는 금속 염, 예를 들면 복합체 형성체, 예를 들면 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸) 이미노디아세트산과 배위결합된 복합체를 형성할 수 있는 크롬 클로라이드 육수화물과 같은 금속 염이다. 가교체와 복합체 형성체를 복합체화하여 3 차원 배열에서 다중 연결된 단위로 이루어진 복합체를 형성한다. 바람직한 실시양태에서, 복합체는 함께 연결된 크롬 (비스) [N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노 디아세트산]의 다중 단위로 이루어진다. 한 실시양태에서, 크롬 표적 분자 복합체 물질은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 디세틸 포스페이트 및 콜레스테롤을 함유하는 지질의 혼합물 중에서 가용성이다. 복합체는 상기 기재된 지질의 군으로부터 형성된 지질 구조물 내에 혼입된다.
- <212> 한 실시양태에서, 인터페론을 항-바이러스제, 예를 들면 리비비린, 아시클로비르, 이중 가타 DNA, 올리고뉴클레오티드, 프로테아제 억제제, 역전사효소 억제제, 및 그 자체로는 효과가 없지만 HDV 중에서 전달되는 경우에는 유효한 다른 가능한 항-바이러스 물질과 적정 비율로 혼합한다.
- <213> 지질 구조물을 제조하는 본 발명의 방법에 대한 설명
- <214> 도 11은 양친매성 지질, 연장된 양친매성 지질 및 인터페론을 포함하는 지질 구조물의 제조 공정에 대한 개요도를 나타낸다.
- <215> 조성물의 제조는 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물을 제조하는 단계, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물로부터 지질 구조물을 제조하는 단계 및 인터페론을 지질 구조물로 배합하는 단계의 3개의 전반적인 단계를 포함한다.
- <216> 지질은 본원에 개시된 방법 및 미국 특허 제4,946,787호, 동 제4,603,044호, 및 동 제5,104,661호 및 이들 문헌에 인용된 참고문헌에 기재된 방법에 의해 제조 및 로딩된다. 전형적으로, 본 발명의 수성 지질 구조물 제제는 임의로 염 및 완충제를 함유하는 수성 용액 중의 지질 0.1 중량% 내지 4 중량% 및 활성제 0.1 중량% 내지 10 중량% (즉, ml 당 약물 1 내지 10 mg)를 100 부피%를 제조하기 위한 양으로 포함한다. 활성제 0.1 % 내지 5 %를 포함하는 제제가 바람직하다. 활성제 0.01 중량% 내지 5 중량%, 및 지질 성분 2 중량% 이하를 100 부피%를 제조하기에 충분한 (적정량) 수성 용액의 양으로 포함하는 제제가 가장 바람직하다.
- <217> 한 실시양태에서, 지질 구조물은 이하의 절차에 의해 제조된다. 용매에 수반될 수 있는 임의의 잔류 물을 제거하기 위해 대략 2 시간 동안 분자체 상에서 용매를 건조시킨 유기 용매 시스템 중에서 개개의 지질 구성성분들을 함께 혼합한다. 한 실시양태에서, 용매 시스템은 클로로포름 및 메탄올의 혼합물을 2:1의 부피비로 포함한다. 건조된 지질의 혼합물로부터 쉽게 제거될 수 있는 다른 유기 용매를 또한 사용할 수 있다. 초기 혼합 절차에서 지질 구성성분들을 1-단계 첨가로 사용함으로써, 지질 구조물의 구조를 불필요하게 복잡하게 하고 추가의 분리 절차를 필요로 하는 임의의 추가 커플링 반응의 도입 필요성을 제거한다. 지질 성분 및 간세포 수용체 결합 분자를 용매에 용해시킨 다음, 지질의 건조된 혼합물이 형성될 때까지 용매를 고 진공하에 제거한다. 한 실시양태에서, 회전증발기 또는 당업계에 공지된 다른 방법을 이용해서 약 2 시간 동안 대략 60 °C에서 천천히 회전시켜 용매를 제거한다. 이러한 지질 혼합물은 추가의 사용을 위해 저장하거나 또는 직접 사용할 수 있다.
- <218> 지질 구조물은 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질의 건조된 혼합물로부터 제조된다. 지질의 건조된 혼합물을 적절한 양의 수성 완충된 매질에 첨가하고, 이어서 혼합물에 소용돌이를 일으켜 균질 혼탁액을 형성한다. 이후, 지질 혼합물을 건조 질소 분위기하에 약 30 분 동안 대략 80 °C에서 혼합하면서 가열한다. 가열된 균질 혼탁액을 약 70 °C로 예비가열된 미세유동화기(microfluidizer)로 즉시 전달한다. 혼탁액을 미세유동화기로 통과시킨다. 균질 지질 미세현탁액을 얻기 위해서는 추가로 혼탁액을 미세유동화기로 통과시키는 것이 필요할 수 있다. 한 실시양태에서, 제1 통과시의 압력이 대략 9,000 psig인 모델(Model) #M-110 EHI 미세유동화기를 사용하였다. 균질 지질 미세현탁액의 성질을 나타내는 생성물을 제조하기 위해서는 지질 혼탁액을 미세유동화기에 두 번째로 통과시킬 필요가 있다. 이 생성물은 구조 및 형태학적으로는 간세포 수용체 결합 분자를 함유하는 3 차원 지질 구조물로서 정의된다.
- <219> 평형 담지 및 비-평형 담지의 두 가지 방법 중 하나를 이용해서 인터페론을 지질 구조물에 로딩한다. 인터페론의 평형 담지는 인터페론을 지질 구조물의 혼탁액에 첨가할 때 시작된다. 일정 시간에 걸쳐, 인터페론 분자는 지질 구조물 내부 및 외부로 이동한다. 이동은 먼저 인터페론을 혼탁액으로 도입한 다음 인터페론을 지질 구조물로 이동시키는 것으로 평형을 분배함으로써 제어된다.
- <220> 인터페론의 지질 구조물로의 비-평형 담지는 인터페론을 지질 구조물 내부로 국소화한다. 유리 인터페론의 지질 구조물로의 평형 담지를 수행하면, 유리 인터페론을 함유하는 벌크 상 매질이 제거된다. 비-평형 담지 절차

는 외부 벌크 상 물질을 제거할 때 시작되는 백터-유도된 공정이다. 인터페론을 함유하는 수성 상이 제거되었을 때, 인터페론이 지질 구조물 외부로 이동하는 농도구배 포텐셜이 제거된다. 구조물 내부로부터의 인터페론의 이동이 제거되기 때문에, 전체 공정에 의해 최종 지질 구조물 내부에 더 높은 농도의 인터페론이 존재한다. 인터페론의 평형 담지는 시간-의존적 현상이고, 반면 비-평형 담지 절차는 사실상 순간적이다. 비-평형 담지는 용액 중의 물질을 지질 구조물로부터 분리하는 다양한 공정에 의해 개시할 수 있다. 이러한 공정의 예로는 여과, 센트리콘(centricon) 여과, 원심분리, 배치 스타일 친화성 크로마토그래피, 스트렙타비딘 아가로스 친화성 겔 크로마토그래피 또는 배치 스타일 이온-교환 크로마토그래피 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 인터페론 확산 및 노출에 대한 농도구배 포텐셜을 제거하고 인터페론이 지질 구조물에 의해 보유되도록 하는 임의의 수단을 이용할 수 있다.

<221> 배치-스타일 크로마토그래피를 사용하는 경우, 친화성 또는 이온-교환 겔을 인터페론 및 구조물의 혼합물과 신속하게 혼합한다. 크로마토그래피 매질로의 결합은 신속하게 일어나며, 크로마토그래피 매질은 수성 상을 따라내거나 또는 전형적인 여과 기술, 예를 들면 여과지 및 부흐너(Buchner) 깔때기를 사용함으로써 수성 매질로부터 제거한다.

<222> 지질 구조물은 지질 구조물의 안쪽뿐만 아니라 지질 구조물의 내부 및 표면 상에 위치하는 분리된 양의 로딩된 인터페론을 함유한다. 생성된 지질 구조물은 물질의 새롭고 신규한 조성물이며 비-평형 담지의 결과로서 유효량의 인터페론을 전달하기 위한 조성물이 된다. 인터페론의 지질 구조물로의 담지에 이어서 벌크 상 인터페론의 제거는 외부 상 매질의 제거에 필요한 시간의 길이를 단축함으로써 지질 구조물 중 고농도의 인터페론을 나타낸다. 이온-교환 또는 겔-여과 크로마토그래피와 같은 시간-의존적 절차를 이용해서 이러한 수준으로 인터페론을 구조물로 담지하는 것은 어려운데, 그 이유는 상기 절차가 고농도의 인터페론을 포함하는 완충제의 일정한 주입을 필요로 하기 때문이다. 예를 들어, 소규모 컬럼 크로마토그래피를 사용해서 인터페론을 구조물로 담지하는 데는 인터페론을 함유하는 구조물로부터 인터페론을 함유하는 외부 벌크 상 매질을 제거하기 위해 대략 20분이 필요하다. 이 기간 동안 구조물로부터 인터페론의 이동에 의해 평형 상태가 재확립된다. 지질 구조물 내부 및 이 구조물 상에 인터페론을 고농도로 유지하는 것은 비-평형 담지의 긍정적인 이점들 중 하나이다.

<223> 비-평형 담지 공정의 연장으로, 인터페론이 평형 담지를 수행한 후이되 비-평형 담지 공정이 개시되기 전에 인터페론을 지질 구조물에 담지하는 단계 동안 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 지질 구조물에 첨가한다. 인터페론 분자의 특성 및 구조에 따라 인터페론 분자는 인터페론이 지질 구조물 전반에 분산될 때 지질 구조물에 삽입될 수 있다. 인터페론의 친수성 부위, 및 분자형 복합체 당 및 추가의 관능기는 지질 구조물의 표면으로부터 벌크 상 매질로 연장된다. 인터페론의 상기 연장된 친수성 부위는 도 10에 예시된 바와 같이 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트의 히드록실기, 카르복실기 및 카르보닐 관능기를 갖는 지질 구조물의 표면에서 수소 결합, 쌍극자-쌍극자 및 이온-쌍극자 상호작용에 참여할 수 있다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트는 지질 구조물의 분자와 결합하는 독특한 수단을 부여함으로써 위의 소화 환경으로부터 지질 구조물의 함유물을 차폐하기 위한 우수한 보호를 제공한다. 위에서의 소화 과정은 효소 펩신에 의한 단백질성 기질의 가수분해 절단 및 산 가수분해에 의한 절단으로부터 일어난다. 위의 산 환경은 유리 인터페론을 분해하며 인지질 분자에서 아실 탄화수소 쇄를 글리세롤 주쇄로 보유시키는 에스테르 결합을 가수분해할 수 있다. 가수분해 절단은 또한 포스포콜린 기에서 포스페이트 관능기의 각 측면에서 일어날 수 있다. 위의 산 영역으로부터 소장의 알칼리 영역으로의 소화 시스템 변화는 트립신 및 키모트립신의 효소 작용이 일어나는 것이었다. 아미노산 용해 효소, 예를 들면 알파 아미노 펩티다제는 인터페론과 같은 단백질을 N-말단 단부로부터 분해할 수 있다. 지질 구조물 내의 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트의 존재는 인터페론을 가수분해로부터 보호한다. 소장의 알칼리 환경이 지질 구조물의 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 보호를 가수분해에 의해 분해함에 따라, 간세포 수용체 결합 분자는 구조물을 간세포 결합 수용체에 직접 결합시키는 데 이용될 수 있다. 임의의 특정 이론에 얹매이고자 하는 것은 아니지만, 비-평형 담지의 종말점에서 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트의 첨가시 가수분해 보호의 상승작용이 존재한다. 보호는 인터페론 및 개개의 지질 분자뿐만 아니라 전체 지질 구조물로 분포된다. 이러한 상승작용은 효소 및 산 가수분해로부터 개개의 분자뿐만 아니라 전체 분자를 보호한다.

<224> 한 실시양태에서, 다양한 방법을 이용해서 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 인터페론 또는 지질 구조물에 공유 결합시킨다. 예를 들어, 한가지 방법은 만니치(Mannich) 반응을 이용해서 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 상의 히드록실기를 인터페론 분자 내의 10 개의 L-리신의 ϵ -아미노기 또는 1,2-디아실-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 상의 아민 관능기와 커플링시키는 것을 포함한다.

<225> 한 실시양태에서, 인터페론을 구조물로 평형 담지하는 동안 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 지질

구조물에 로딩한다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트의 히드록실 및 카르보닐 관능기는 지질 구조물 내의 지질 분자와 수소 결합한다. 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트와 구조물 사이의 수소 결합은, 평형 상태하에서 인터페론이 지질 구조물로 로딩되어 인터페론 및 구조물 주변에 방어막을 생성시키는 것과 동시에 형성된다.

<226> HDV 인터페론을 스트렙타비딘-아가로스 이미노바이오틴에 결합시킴으로써 HDV 인터페론을 수성 매질로부터 회수하여 재활용한다. 시아노겐 브로마이드 활성화된 아가로스에 공유 결합된 스트렙타비딘은 인터페론을 구조물로 비-평형 담지하는 것의 말기에 수성 매질 내의 인터페론으로부터 이미노바이오틴-기재 지질 구조물을 분리하는 수단을 제공한다. 한 실시양태에서, 이미노바이오틴 유도체는 지질 구조물 내에 인지질 부분의 간세포 수용체 결합 부위를 형성한다. 지질 고정 분자의 수용성 부위를 지질 표면으로부터 대략 30 Å를 연장함으로써 인지질 부분의 간세포 수용체 결합 부위와 간세포 수용체의 결합을 촉진시켜 지질 구조물을 스트렙타비딘에 부착시키는 것을 보조한다.

<227> 스트렙타비딘은 9.5 이상의 pH 값에서 이미노바이오틴에 가역적으로 결합하는데, 이미노바이오틴의 비대전된 구 아니디노 관능기는 단백질의 표면 하의 대략 9 Å에 위치하는 스트렙타비딘 상의 4 개의 결합 부위들 중 하나에 강하게 결합한다. 20 mM 나트륨 탄산염-나트륨 중탄산염 완충제를 첨가해서 구조물의 수성 혼합물의 pH를 pH 9.5로 상승시킴으로써 이미노바이오틴을 함유하는 지질 구조물을 완충된 매질로부터 제거한다. 상기 pH에서, 벌크 상 매질은 여과, 원심분리 또는 크로마토그래피를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 절차를 이용해서 지질 구조물로부터 재생 및 분리된 유리 인터페론을 함유한다.

<228> 이어서, pH 9.5의 혼합물을 스트렙타비딘-아가로스 가교-결합된 비드와 혼합하며, 이때 구조물은 스트렙타비딘 상에 흡수된다. 직경이 대략 120 μm인 비드를 여과에 의해 용액으로부터 분리한다. pH 4.5의 20 mM 나트륨 아세테이트-아세트산 완충제를 첨가해서 pH를 pH 9.5에서 pH 4.5로 감소시킴으로써 지질 구조물을 스트렙타비딘-아가로스 친화성 겔로부터 방출시킨다. pH 4.5에서, 이미노바이오틴의 구아니디노 기는 도 10에 나타낸 바와 같이 양성자화되어 양으로 대전된다. 여과에 의해 스트렙타비딘-아가로스 비드로부터 지질 구조물을 방출시켜 분리한다. 스트렙타비딘-아가로스 비드는 추가의 사용을 위해 재생된다. 따라서, 유리 인터페론 및 스트렙타비딘 아가로스는 둘 다 보존되며 재사용될 수 있다.

<229> 한 실시양태에서, 스트렙타비딘-아가로스 비드를 사용해서 이미노바이오틴 또는 이미노바이오시틴 지질 구조물을 인터페론 알파와 함께 로딩시킬 때 인터페론의 연장된 방출을 제공하는 조성물을 제조한다. 상기 언급된 구조물의 pH가 pH 9.5에서 pH 4.5로 조정될 때, 인터페론-알파는 대략 pH 5.9에서 지질 구조물 내에 침전될 것이다. 인터페론-알파의 등전점은 pH 5.9이며, 이는 인터페론-알파가 그의 최저 수용해도를 갖는 pH를 나타낸다. pH 5.9 내지 pH 6.7의 pH 범위에서 인터페론-알파는 본질적으로 불용성으로 잔류하며, 통상적으로 미립자 물질에 기인하는 성질을 나타낸다. 지질 구조물 내의 불용화 인터페론-알파는 피하 주사에 의해 또는 경구 투여를 통해 투여되는 경우 지속 방출형 인터페론-알파 분자를 제공하는 신규 인터페론-알파 제제를 생성시킨다. 지질 구조물의 pH가 pH 7.4에 접근함에 따라 인터페론-알파의 가용화가 개시된다.

<230> 지질 구조물은 투여에 앞서 동결-건조되거나 또는 비-수성 환경에서 유지된다. 수성 투여 형태의 인터페론-알파에서, 인터페론-알파를 불용성 형태로 유지하기 위해 인터페론-알파 용액의 pH를 대략 pH 6.5에서 유지한다. 인터페론-알파가 외부 pH 농도구배로 노출되는 경우, 생체내 인터페론-알파는 용해되어 지질 구조물로부터 이동하며, 이에 따라 인터페론-알파가 다른 바이러스-보유(harboring) 조직으로 공급된다. 지질 구조물과 함께 잔류하는 인터페론은 간 내의 간세포 상의 간세포 결합 수용체로 지정되는 능력을 유지한다. 따라서, 이러한 특정 지질 구조물로부터 두 가지 형태의 인터페론-알파가 생성된다. 생체내 환경에서, 유리 및 지질 회합된 인터페론-알파는 시간-의존적인 방식으로 생성된다. 앞서 기술된 바와 같이 지질 회합된 인터페론-알파의 가용화는 지정된 지속 방출형 기간에 걸쳐 인터페론을 방출하도록 제조될 수 있을 것으로 예상된다. 이로써 바이러스에 감염된 환자에 대해 더 적은 빈도의 투여 스케줄이 얻어진다.

<231> 바람직한 실시양태에서, 인터페론 분자는 지질 구조물로 이동하며, 로딩된 지질 구조물의 지질 도메인 내부에 격리된다. 화학적 평형이 파괴될 때 인터페론 담지 절차의 마지막 단계 동안 백터-유래된 공정을 이용해서 인터페론 분자를 한 방향으로 이동시킨다. 인터페론 담지의 마지막 단계 동안, 완충제 또는 수성 매질을 신속하게 제거하여, 지질 구조물과 회합된 인터페론 분자가 이동하게 되는 외부 매질이 제거되도록 한다. 외부 매질의 제거는 지질 구조물과 회합된 인터페론과 외부 매질 중에 가용화된 인터페론 사이의 평형을 효과적으로 켄칭한다. 이 과정을 본원에 기재된 바와 같이 비-평형 담지라고 한다.

<232> 한 실시양태에서, 평형 방법을 이용해서 지질 구조물을 인터페론과 함께 로딩한다. 단백질 μg 당 인터페론

273,000 유닛의 인터페론 농도를 선택해서 담지 절차를 개시한다. 지질 구조물이 인터페론으로 포화될 때까지 평형 담지가 계속된다.

<233> 인터페론을 지질 구조물로 비-평형 담지하는 것의 종결 공정에서는 유리 인터페론을 함유하는 완충된 매질로부터 고체 지질 구조물을 분리하는 절차를 이용하는 것이 필요하다. 한 실시양태에서, 매우 미세한 마이크로포어 합성 막을 사용한 여과 절차를 이용해서 지질 구조물을 외부 매질로부터 분리한다. 또 다른 실시양태에서, 나노 세프(NanoSep) 여과기와 같이 100,000 분자량 컷오프 막을 갖는 적절한 여과기가 구비된 센트리콘 장치와 같은 여과 원심분리 장치를 사용해서 유리 인터페론을 함유하는 완충된 매질로부터 지질 구조물을 제거한다. 지질 구조물 내의 인터페론의 농도는 유지되는데, 이는 회합된 인터페론이 구조물로부터 제거된 벌크 상 매질 중에 위치된 유리 인터페론 분자와 더 이상 평형으로 존재하지 않기 때문이다. 용액 중에 있었던 유리 인터페론은 다른 지질 구조물을 로딩하는데 이용될 수 있다. 따라서, 인터페론을 지질 구조물 내에 놓축시키는 백터-유래의 공정은 본질적으로 시간-의존적인 절차로 1-단계로 달성된다.

<234> 지질 구조물이 벌크 상 매질로부터 단리된 다음, 상기 구조물은 직경이 대략 0.0200 μm 내지 0.4000 μm 의 크기 범위일 수 있다. 지질 구조물은 일반적으로 가우스 분포를 따르는 여러 입도를 포함한다. 의도된 약리 효능을 달성하는데 필요한 지질 구조물의 적절한 크기는 간세포 결합 수용체에 의해 가우스 분포의 입도를 포함하는 지질 구조물로부터 선택될 수 있다.

<235> 더 큰 지질 구조물을 더 작은 구조물로 분해하는 고 전단력을 제공하는 미세-유동화 공정을 이용해서 인터페론, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물을 제조한다. 지질 구조물의 양친매성 지질 구성성분은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨 염), 트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사하이드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트 및 적절한 이들의 유도체 (이의 대표적인 구조는 표 3에 나타나 있음)를 포함할 수 있다.

<236> 한 실시양태에서, 구조물은 가교 성분과 복합체 형성제를 복합체화함으로써 형성된 다수개 연결된 개개의 단위들을 포함하는 표적 분자 복합체를 포함한다. 전형적으로, 표적 분자 복합체는 선택된 금속 화합물, 예를 들어 크롬 클로라이드 (III) 육수화물과 복합체 형성제의 수성 완충된 용액을 복합체화함으로써 형성된다. 한 실시양태에서, 복합체 형성제의 수성 완충된 용액은 복합체 형성제, 예를 들어 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산을 수성 완충된 용액, 예를 들어 10 mM 나트륨 아세테이트 완충제 중에 pH 3.2 내지 3.3의 최종 pH로 용해시킴으로써 제조된다. 금속 화합물은 복합체 형성제의 단리 가능한 부위와 복합체를 형성하기에 충분한 양의 과량으로 첨가되며, 반응은 20 °C 내지 33 °C의 온도에서 24 내지 96 시간 동안 또는 생성된 복합체가 수성 완충된 용액으로부터 침전될 때까지 수행한다. 이어서, 중합체성 성질을 입증하는 침전된 복합체 형성제를 추후의 사용을 위해 단리한다. 이 복합체는 지질 구조물을 제조하기에 앞서 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물을 첨가한다.

본 발명의 설명 - 이용 방법

<237> 간염에 걸린 환자에게 유리 인터페론 및 수불용성 표적 분자 복합체와 회합된 인터페론의 혼합물을 포함하는 유효량의 간세포 표적화 조성물을 투여한다. 한 실시양태에서, 인터페론을 항-바이러스제, 예를 들면 리비비린, 아시클로비르, 이중 가닥 DNA, 올리고뉴클레오티드, 프로테아제 억제제, 역전사효소 억제제, 및 그 자체로는 비효과적일 수 있지만 HDV 중에 전달되는 경우 효과적일 수 있는 다른 가능한 항-바이러스 물질과 적절한 비율로 혼합한다. 한 실시양태에서, 조성물은 피하 또는 경구 경로에 의해 투여될 수 있다.

<238> 조성물을 피하 주사에 의해 환자에게 투여한 다음, 주사 부위에서 생리적 pH의 원 위치(*in situ*) 환경은 유리 인터페론 및 수불용성 표적 분자 복합체와 회합된 인터페론의 형태 및 화학적 구조에 영향을 주는 pH의 증가를 나타낸다. 인터페론 주변 환경의 pH가 증가함에 따라, 인터페론은 지질 구조물 내에서 가용성 형태로 변해서 지질 구조물에 부착되며, 지질 구조물은 순환 시스템을 통해 간으로 이동할 수 있다.

<239> 표적 분자 복합체와 회합된 인터페론을 포함하는 제약 조성물의 경구 투여 후, 표적 분자 복합체와 회합된 인터페론은 소장에서 신체의 순환 시스템으로 흡수되며 여기서 생리적 pH의 혈액에 노출된다. 지질 구조물은 간으로의 전달을 위해 표적화된다. 한 실시양태에서, 지질 구조물은 구조물 내의 셀룰로스 아세테이트 허드로겐 프탈레이트의 존재하에 가수분해 효소로부터 보호된다. 경구 투여 과정에서, 보호된 지질 구조물은 구강을 횡단

하고 위를 통과해서 소장으로 이동하며, 소장의 알칼리 pH는 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트 방어막을 분해한다. 탈보호된 지질 구조물은 순환 시스템으로 흡수된다. 이는 지질 구조물이 간의 동양혈관(sinusoid)으로 전달될 수 있도록 한다. 수용체 결합 분자, 예를 들면 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐) 또는 상기 언급된 다른 간세포 특이적 분자는 지질 구조물이 수용체에 결합한 다음 간세포에 의해 휩싸여지거나 또는 세포내이입되는 수단을 제공한다. 이어서, 인터페론은 지질 구조물로부터 방출되는데, 세포 환경으로 접근하게 되면 인터페론은 감염성 바이러스, 예를 들면 A형 간염, B형 간염, C형 간염, D형 간염, E형 간염, F형 간염, 및 G형 간염 및 기타 간염의 바이러스에 대항하는 물질로서 작용하는 것에 대해 그의 지정된 기능을 수행한다.

<241> 본 발명의 지질 구조물 구조는 인터페론을 숙주로 투여하기 위한 제약상 용도에 유용한 물질을 제공한다. 따라서, 본 발명의 구조는 제약상 허용가능한 담체와 조합되는 제약 조성물로서 유용하다. 본원에 기재된 구조의 투여는 투여하고자 하는 인터페론에 대해 허용되는 임의의 투여 방식에 의한 것일 수 있다. 이를 방법은 경구, 비경구, 비축 및 다른 시스템 또는 에어로졸 형태를 포함한다.

<242> 투여되는 인터페론의 양은 치료될 대상체, 고통의 유형 및 중증도, 투여 방식 및 처방의사의 판단에 따라 달라질 것이다. 관심이 있는 특이적 생물학적 활성 물질에 대한 유효 투여량 범위는 다양한 인자에 따라 달라지며 일반적으로 당업자에게 공지되어 있지만, 몇몇 투여량 지침이 일반적으로 정의될 수 있다. 대부분의 투여 형태의 경우, 지질 성분은 수성 용액 중에 혼탁될 것이며, 일반적으로 전체 제제의 4.0% (w/v)를 초과하지 않는다. 제제의 약물 성분은 가장 가능하게는 제제의 20% (w/v) 미만이며, 일반적으로는 0.01% (w/v)를 초과한다.

<243> 비-독성 담체로부터 제조된 균형으로 0.005% 내지 5% 범위의 활성 성분을 함유하는 투여 제형 또는 조성물을 제조할 수 있다.

<244> 이들 제제의 정확한 조성은 해당 약물의 특정 성질에 따라 폭넓게 달라질 수 있다. 그러나, 상기 제제는 고 효능 약물의 경우 일반적으로 0.01% 내지 5%, 바람직하게는 0.05% 내지 1%의 활성 성분을 포함하며, 중간 활성 약물의 경우 2% 내지 4%의 활성 성분을 포함한다.

<245> 이러한 비경구 조성물에 함유된 활성 화합물의 퍼센트는 화합물의 활성 및 대상체의 필요뿐만 아니라 화합물의 특이적 성질에 크게 의존한다. 그러나, 용액 중 0.01% 내지 5%의 활성 성분 퍼센트를 이용할 수 있으며, 조성물이 고체이고 이후에 상기 퍼센트로 회석되는 경우에는 활성 성분 퍼센트는 그보다 더 높을 것이다. 바람직하게는 조성물은 용액 중 0.2% 내지 2.0%의 활성제를 포함한다.

<246> 본원에 기재한 제약 조성물 제제는 공지되어 있거나 또는 약리학 분야에서 차후 개발될 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 이러한 제조 방법은 활성 성분을 담체 또는 하나 이상의 다른 성분과 회합시키는 단계, 및 이어서 필요하거나 또는 원한다면, 생성물을 원하는 1회 또는 다수회 투여 단위로 성형 또는 패키지화하는 단계를 포함한다.

<247> 본원에서 제공되는 제약 조성물의 기재가 주로 인간에게의 윤리적인 투여에 적합한 제약 조성물에 관한 것이지만, 당업자라면 이러한 조성물이 일반적으로 모든 종류의 동물에게 투여하기에 적합하다는 것을 이해할 것이다. 인간에게 투여하기에 적합한 제약 조성물을 개질해서 이 조성물이 각종 동물에게 투여하기에 적합하도록 만드는 것은 충분히 이해되며, 통상의 지식을 갖는 수의학 약리학자라면 있다 하더라도 통상의 실험만으로 그러한 개질을 설계 및 수행할 수 있다. 본 발명의 제약 조성물이 투여되는 대상으로는 인간 및 다른 영장류, 상업적으로 적절한 포유동물, 예를 들면 소, 돼지, 말, 양, 고양이 및 개를 비롯한 포유동물 등이 있으나 이에 제한되지 않는 것으로 고려된다.

<248> 본 발명의 방법에 유용한 제약 조성물은 경구, 비경구, 폐, 비내, 협측(頰側), 또는 또 다른 투여 경로에 적합한 제제로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다.

<249> 본 발명의 제약 조성물은 단일 단위 투여 또는 복수개의 단일 단위 투여량으로서 별크로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "단위 투여량"은 소정량의 활성 성분을 포함하는 제약 조성물의 분리된 양이다. 활성 성분의 양은 일반적으로 대상체에게 투여되는 활성 성분의 투여량과 동등하거나 또는 이러한 투여량의 알맞은 비율, 예를 들어 상기 투여량의 1/2 또는 1/3이다. 그러나, 본 발명에 기재된 활성제의 전달은 인터페론 치료제의 표적화된 특성으로 인해 일반적으로 투여되는 투여량의 1/10, 1/100 또는 1/1,000 만큼 적거나 또는 이보다 더 적을 수 있다.

<250> 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분, 제약상 허용가능한 담체, 및 임의의 추가 성분의 상대적 양은 치료받는 대상체의 고유성, 사이즈 및 상태 및 추가로 조성물이 투여되는 경로에 따라 달라질 것이다. 예를 들면, 조성

물은 0.1% 내지 100% (w/w)의 활성 성분을 포함할 수 있다.

<251> 경구 투여에 적합한 본 발명의 제약 조성물의 제제는 각각 소정량의 활성 성분을 포함하는 정제, 경질 또는 연질 캡슐제, 사세제, 트로키제 또는 로젠키제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 분리된 고체 투여 단위 형태로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 경구 투여에 적합한 다른 제제로는 분말 또는 과립상 제제, 수성 또는 유성 혼탁액, 수성 또는 유성 용액, 또는 에멀젼 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

<252> 본원에서 사용된 바와 같이, "유성" 액체는 탄소-함유 액체 분자를 포함하며 물보다 극성 특징을 적게 나타내는 액체이다.

<253> 활성 성분을 포함하는 정제는 예를 들어 활성 성분을 임의로 하나 이상의 추가의 성분과 함께 압착하거나 또는 성형함으로써 제조할 수 있다. 압착된 정제는 적합한 장치에서 유리 유동성 형태의 활성 성분, 예를 들면 임의로 결합제, 윤활제, 부형제, 표면 활성제 및 분산제 중 하나 이상과 혼합된 분말 또는 과립상 제제를 압착시킴으로써 제조할 수 있다. 성형된 정제는 적합한 장치에서 활성 성분, 제약상 허용가능한 담체, 및 적어도 혼합물을 습윤시키기에 충분한 액체의 혼합물을 성형함으로써 제조할 수 있다. 정제의 제조에 사용되는 제약상 허용가능한 부형제로는 불활성 희석제, 과립화제 및 봉해제, 결합제, 및 윤활제 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 분산제로는 감자 전분 및 나트륨 전분 글리콜레이트 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 표면 활성제로는 나트륨 라우릴 숤페이트 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 희석제로는 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 미세결정질 셀룰로스, 인산칼슘, 인산수소칼슘, 및 인산나트륨 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 과립화제 및 봉해제로는 옥수수 전분 및 알긴산 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 결합제로는 젤라틴, 아카시아, 예비젤라틴화 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈, 및 히드록시프로필 메틸셀룰로스 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 윤활제로는 스테아르산마그네슘, 스테아르산, 실리카 및 탈크 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

<254> 정제는 코팅하지 않거나 또는 공지된 방법으로 코팅해서 대상체의 위장관에서의 지연된 봉해를 달성함으로써 활성 성분의 지속 방출 및 흡수를 제공할 수 있다. 예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트와 같은 물질을 사용해서 정제를 코팅할 수 있다. 추가로 예를 들어, 미국 특허 제4,256,108호, 동 제4,160,452호 및 동 제4,265,874호에 기재된 방법을 이용해서 정제를 코팅함으로써 삼투적으로 조절된 방출 정제를 형성시킬 수 있다. 정제는 제약상 정밀하고 구미에 맞는 제제를 제공하기 위해 감미제, 향미제, 착색제, 보존제 또는 이들 몇몇의 조합물을 추가로 포함할 수 있다.

<255> 활성 성분을 포함하는 경질 캡슐은 생리적으로 분해가능한 조성물, 예를 들면 젤라틴을 사용해서 제조할 수 있다. 이러한 경질 캡슐은 활성 성분을 포함하며, 예를 들어 불활성 고체 희석제, 예를 들면 탄산칼슘, 인산칼슘, 카올린 또는 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 비롯한 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다.

<256> 활성 성분을 포함하는 연질 젤라틴 캡슐은 생리적으로 분해가능한 조성물, 예를 들면 젤라틴을 사용해서 제조할 수 있다. 이러한 연질 캡슐은 물 또는 오일 매질, 예를 들면 땅콩 오일, 액체 파라핀 또는 올리브 오일과 혼합될 수 있는 활성 성분을 포함한다.

<257> 경구 투여에 적합한 본 발명의 제약 조성물의 액체 제제는 액체 형태 또는 사용에 앞서 물 또는 또다른 적합한 비히클과 재구성하기 위한 건조 생성물 형태로 제조, 패키지화 및 판매될 수 있다.

<258> 액체 혼탁액은 수성 또는 유성 비히클 중 활성 성분의 혼탁액을 얻기 위한 통상의 방법을 이용해서 제조할 수 있다. 수성 비히클로는 예를 들어 물 및 등장성 염수를 들 수 있다. 유성 비히클로는 예를 들어 아몬드 오일, 유성 에스테르, 에틸 알콜, 식물성 오일, 예를 들면 아라키스, 올리브, 참기름, 또는 코코넛 오일, 분별 식물성 오일, 및 미네랄 오일, 예를 들면 액체 파라핀을 들 수 있다. 액체 혼탁액은 혼탁제, 분산제 또는 습윤제, 유화제, 점활제, 보존제, 완충제, 염, 향미제, 착색제, 및 감미제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 유성 혼탁액은 증점제를 추가로 포함할 수 있다. 공지된 혼탁제로는 소르비톨 시럽, 수소화 식용 지방, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트라가간쓰 검, 아카시아 검, 및 셀룰로스 유도체, 예를 들면 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 분산제 또는 습윤제로는 천연 포스파티드, 예를 들면 레시틴, 알킬렌 옥시드와 지방산의 축합 생성물, 알킬렌 옥시드와 장쇄 지방 알콜의 축합 생성물, 알킬렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨로부터 유도된 부분 에스테르의 축합 생성물, 또는 알킬렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도된 부분 에스테르의 축합 생성물 (예를 들어, 각각 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 헵타데카에틸렌옥시세타놀, 폴리옥시에틸

렌 소르비톨 모노올레이트, 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트) 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 유화제로는 레시틴 및 아카시아 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 보존제로는 메틸, 에틸, 또는 n-프로필 파라 히드록시벤조에이트, 아스코르브산, 및 소르브산 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 감미제로는 예를 들어 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨, 수크로스, 및 사카린을 들 수 있다. 유성 혼탁액에 대한 공지된 증점제로는 예를 들어 밀랍, 경질 파라핀, 및 세틸 알콜을 들 수 있다.

<259> 수성 또는 유성 용매 중 활성 성분의 액체 용액은 액체 혼탁액과 실질적으로 동일한 방식으로 제조할 수 있으며, 주된 차이는 활성 성분이 용매 중에 혼탁되기보다는 용해된다는 것이다. 본 발명의 제약 조성물의 액체 용액은 액체 혼탁액에 대해 기재된 각 성분을 포함할 수 있는데, 혼탁제는 용매 중 활성 성분의 용해를 반드시 보조하는 것은 아니라고 이해된다. 수성 용매로는 예를 들어 물 및 등장성 염수를 들 수 있다. 유성 용매로는 예를 들어 아몬드 오일, 유성 에스테르, 에틸 알콜, 식물성 오일, 예를 들면 아라키스, 올리브, 참기름, 또는 코코넛 오일, 분별 식물성 오일, 및 미네랄 오일, 예를 들면 액체 파라핀을 들 수 있다.

<260> 본 발명의 제약 제제의 분말 및 과립 제제는 공지된 방법을 이용해서 제조할 수 있다. 이러한 제제는 대상체에 직접 투여하거나, 상기 제제를 사용해서 예를 들어 정제를 형성하거나, 캡슐을 충전하거나, 또는 수성 또는 유성 비히클을 첨가해서 수성 또는 유성 혼탁액 또는 용액을 제조할 수 있다. 이들 제제 각각은 분산제 또는 습윤제, 혼탁제 및 보존제 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다. 이들 제제에는 추가의 부형제, 예를 들면 충전제 및 감미제, 향미제 또는 착색제를 포함시킬 수도 있다.

<261> 본 발명의 제약 조성물은 또한 수중유 에멀젼 또는 유중수 에멀젼 형태로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 유성 상은 식물성 오일, 예를 들면 올리브 또는 아라키스 오일, 미네랄 오일, 예를 들면 액체 파라핀, 또는 이들의 조합물일 수 있다. 이러한 조성물은 하나 이상의 유화제, 예를 들면 천연 검, 예컨대 아카시아 검 또는 트라가칸쓰 검, 자연 발생적인 포스파티드, 예를 들면 대두 또는 레시틴 포스파티드, 지방산 및 헥시톨 무수물의 조합물로부터 유도된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들면 소르비탄 모노올레이트, 및 이러한 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들면 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트를 추가로 포함할 수 있다. 이들 에멀젼은 또한 예를 들어 감미제 또는 향미제를 비롯한 추가의 성분을 함유할 수 있다.

<262> 본원에서 사용된 바와 같이, 제약 조성물의 "비경구 투여"는 대상체의 조직의 물리적 파괴를 특징으로 하는 투여 경로 및 조직에서의 파괴를 통한 제약 조성물의 투여의 임의의 경로를 포함한다. 따라서, 비경구 투여는 조성물의 주사, 수술적 절개를 통한 조성물의 적용, 및 조직-투과성 비-수술적 상처를 통한 조성물의 적용 등에 의한 제약 조성물의 투여를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 특히, 비경구 투여는 피하, 복강내, 근육내, 흉골내 주사, 및 신장 투석 주입 기술을 포함하지만 이에 한정되지 않는 것으로 생각된다.

<263> 비경구 투여에 적합한 제약 조성물의 제제는 제약상 허용가능한 담체, 예를 들면 멸균 물 또는 멸균 등장성 염수와 조합된 활성 성분을 포함한다. 이러한 제제는 볼루스 투여 또는 연속 투여에 적합한 형태로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 주사가능한 제제는 보존제를 함유하는 다중 투여 용기 또는 앰플과 같은 단위 투여 제형으로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 비경구 투여용 제제로는 혼탁액, 용액, 유성 또는 수성 비히클 중의 에멀젼, 페이스트, 및 이식가능한 지연-방출 또는 생분해성 제제 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 이러한 제제는 혼탁제, 안정화제 또는 분산제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 비경구 투여용 제제의 한 실시양태에서, 활성 성분은 재구성된 조성물의 비경구 투여에 앞서 적합한 비히클(예를 들어, 멸균 발열물질(pyrogen)-무함유 물)을 사용한 재구성을 위한 건조(즉, 분말 또는 과립) 형태로 제공된다.

<264> 제약 조성물은 멸균 주사가능한 수성 또는 유성 혼탁액 또는 용액의 형태로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 이러한 혼탁액 또는 용액은 공지된 기술에 따라 제제화될 수 있으며, 활성 성분에 더하여 추가의 성분, 예를 들면 본원에 기재된 분산제, 습윤제 또는 혼탁제를 포함할 수 있다. 이러한 멸균 주사가능한 제제는 예를 들어 물 또는 1,3-부탄 디올과 같은 용매 또는 비독성의 비경구적으로 허용가능한 희석제를 사용해서 제조할 수 있다. 다른 허용가능한 희석제 및 용매로는 링거(Ringer) 용액, 등장성 염화나트륨 용액, 및 비휘발성유, 예를 들면 합성 모노- 또는 디-글리세라이드 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 유용한 다른 비경구 투여가능한 제제로는 미세결정질 형태의 활성 성분을 지질 구조물 제제 중에 또는 생분해성 중합체 시스템의 성분으로서 포함하는 것들을 들 수 있다. 지속 방출 또는 이식을 위한 조성물은 제약상 허용가능한 중합체성 또는 소수성 물질, 예를 들면 에멀젼, 이온 교환 수지, 난용성 중합체, 또는 난용성 염을 포함할 수 있다.

<265> 본 발명의 제약 조성물은 협측 강을 통한 폐 투여에 적합한 제제로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수

있다. 이러한 제제는 활성 성분을 포함하며 약 0.5 내지 약 7 μm 범위, 바람직하게는 약 1 내지 약 6 μm 범위의 직경을 갖는 건조 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물은, 추진제의 스트림이 분말을 분산시키도록 지시될 수 있는 건조 분말 저장기(reservoir)를 포함하는 장치를 사용하거나 또는 자가-추진 용매/분말-분배 용기, 예를 들면 밀봉된 용기에서 저비점 추진제 중에 용해되거나 또는 혼탁된 활성 성분을 포함하는 장치를 사용하는 투여의 경우, 건조 분말 형태인 것이 편리하다. 바람직하게는, 이러한 분말은 입자의 98 중량% 이상이 0.5 μm 초과의 직경을 가지고 입자의 95 수(number)% 이상이 7 μm 미만의 직경을 갖는 입자를 포함한다. 더 바람직하게는, 입자의 95 중량% 이상은 1 나노미터 초과의 직경을 가지며 입자의 90 수% 이상은 6 μm 미만의 직경을 갖는다. 건조 분말 조성물은 바람직하게는 당과 같은 고체 미세 분말 희석제를 포함하며 편리하게는 단위 투여 형태로 제공된다.

<266> 저 비점 추진제는 일반적으로 주변 압력에서 65 °F 미만의 비점을 갖는 액체 추진제를 포함한다. 일반적으로 추진제는 조성물의 50 내지 99.9% (w/w)를 구성할 수 있으며, 활성 성분은 조성물의 0.1 내지 20% (w/w)를 구성할 수 있다. 추진제는 액체 비이온성 또는 고체 음이온성 계면활성제 또는 고체 희석제와 같은 추가의 성분(바람직하게는 활성 성분을 포함하는 입자와 동일한 순서의 입도를 가짐)을 추가로 포함할 수 있다.

<267> 폐 전달용으로 제제화된 본 발명의 제약 조성물은 또한 용액 또는 혼탁액의 소적(droplet) 형태의 활성 성분을 제공할 수 있다. 이러한 제제는 활성 성분을 포함하는 임의로 멸균된 수성 또는 희석 알콜 용액 또는 혼탁액으로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있으며, 편리하게는 임의의 분무(nebulization) 또는 미립자화(atomization) 장치를 이용해서 투여할 수 있다. 이러한 제제는 향미제, 예를 들면 사카린 나트륨, 휘발성 오일, 완충제, 표면 활성제, 또는 보존제, 예를 들면 메틸히드록시벤조에이트를 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 투여 경로에 의해 제공된 소적은 바람직하게는 약 0.1 내지 약 200 μm 범위의 평균 직경을 갖는다.

<268> 폐 전달용으로 유용한 본원에 기재된 제제는 또한 본 발명의 제약 조성물을 비내 전달하는 데 유용하다.

<269> 비내 투여용으로 적합한 또 다른 제제는 활성 성분을 포함하며 약 0.2 내지 500 μm 의 평균 입자를 갖는 조(coarse) 분말이다. 이러한 제제는 호흡을 수행하는 방식, 즉 비공(nare) 가까이에 유지된 분말의 용기로부터 코를 통해 빠르게 흡입함으로써 투여된다.

<270> 비 투여에 적합한 제제는 예를 들어 대략 0.1% (w/w) 만큼 적고 75% (w/w) 만큼 많은 활성 성분을 포함할 수 있으며, 본원에 기재된 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다.

<271> 본 발명의 제약 조성물은 협축 투여에 적합한 제제로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 이러한 제제는 예를 들어 통상의 방법을 이용해서 제조된 정제 또는 로젠키제 형태일 수 있으며, 예를 들어 활성 성분이 0.1 내지 20% (w/w)일 수 있고, 경구적으로 용해가능하거나 또는 분해가능한 조성물 및 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 추가의 성분을 포함하여 균형을 이룬다. 또는, 협축 투여에 적합한 제제는 활성 성분을 포함하는 에어로졸화 또는 미립자화된 용액 또는 혼탁액 또는 분말을 포함할 수 있다. 이러한 분말화, 에어로졸화 또는 미립자화된 제제는 분산되는 경우 바람직하게는 약 0.1 내지 약 200 μm 범위의 평균 입자 또는 소적 크기를 가지며, 본원에 기재된 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다.

<272> 본 발명의 제약 조성물은 안과적 투여에 적합한 제제로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 이러한 제제는 예를 들어 수성 또는 유성 액체 담체 중 활성 성분의 0.1% 내지 1.0% (w/w) 용액 또는 혼탁액을 포함하는 안과용 적체 형태일 수 있다. 이러한 적체는 완충제, 염, 또는 본원에 기재된 하나 이상의 다른 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 안과적으로 투여가능한 다른 유용한 제제로는 미세결정질 형태 또는 지질 구조물 제제 중 활성 성분을 포함하는 것들을 들 수 있다.

<273> 본원에서 사용된 바와 같이, "추가의 성분"으로는 부형제, 표면 활성제, 분산제, 불활성 희석제, 과립화제 및 붕해제, 결합제, 윤활제, 감미제, 향미제, 착색제, 보존제, 생리적으로 분해가능한 조성물, 예를 들면 젤라틴, 수성 비히클 및 용매, 유성 비히클 및 용매, 혼탁제, 분산제 또는 습윤제, 유화제, 접활제, 완충제, 염, 증점제, 충전제, 유화제, 항산화제, 항생제, 항진균제, 안정화제, 및 제약상 허용가능한 중합체성 또는 소수성 물질 중 하나 이상을 들 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 제약 조성물 중에 포함될 수 있는 다른 "추가의 성분"은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 본원에 참고로 포함되는 문헌 [Genaro, ed., 1985, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA]에 기재되어 있다.

<274> 전형적으로 동물, 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있는 본 발명의 조성물의 투여량은 동물의 체중 kg 당 1 μg 내지 약 100 g의 양의 범위이다. 투여되는 정확한 투여량은 치료될 질환 상태의 유형 및 동물의 유형, 동물의

연령 및 투여 경로를 포함하지만 이에 한정되지 않는 임의의 수의 인자들에 따라 달라질 것이다. 바람직하게는, 조성물의 투여량은 동물의 체중 kg 당 약 1 mg에서 약 10 g까지 달라질 것이다. 더 바람직하게는, 투여량은 동물의 체중 kg 당 약 10 mg에서 약 1 g까지 달라질 것이다.

<275> 조성물은 동물에게 매일 수회 투여로서 자주 투여될 수 있거나 또는 조성물은 더 적은 빈도로, 예를 들면 1일 1회, 1주 1회, 2주마다 1회, 1달 1회, 또는 월씬 더 적은 빈도로, 예를 들면 수개월마다 1회 또는 심지어는 1년 1회 이하로 투여될 수 있다. 투여 빈도는 숙련의에게는 매우 자명할 것이며, 예를 들면 치료될 질환의 유형 및 중증도, 동물의 유형 및 연령 등이 있지만 이에 한정되지 않는 임의의 수의 인자에 따라 달라질 것이다.

<276> 본 발명은 또한 본 발명의 조성물 및 이 조성물을 포유동물의 조직으로 투여하는 것을 기술하는 지침서를 포함하는 키트를 포함한다. 또다른 실시양태에서, 상기 키트는 조성물을 포유동물에게 투여하기에 앞서 본 발명의 조성물을 용해시키거나 또는 혼탁시키기에 적합한 (바람직하게는 멸균) 용매를 포함한다.

<277> 본원에서 사용된 바와 같이, "지침서"는 본원에 인용된 각종 질환 또는 장애를 경감시키기 위한 키트에서 본 발명의 단백질의 유용성을 나타내는데 사용될 수 있는 간행물, 기록, 도식 또는 임의의 다른 표현 매체를 포함한다. 임의로 또는 별법으로, 지침서는 포유동물의 세포 또는 조직에서 질환 또는 장애를 경감시키는 한가지 이상의 방법을 기술할 수 있다. 본 발명의 키트의 지침서는 예를 들어 본 발명의 성분을 함유하는 용기에 첨부될 수 있거나 또는 본 발명의 성분을 함유하는 용기와 함께 보유될 수 있다. 별법으로, 지침서는 지침서와 조성물이 수령인에 의해 협동적으로 사용되도록 할 의향으로 용기와 별도로 보유될 수 있다.

<278> 본 발명을 실시하는 데 유용한 제약 조성물은 인터페론의 표준 투여량과 등가의 투여량을 전달하도록 투여될 수 있다.

<279> 본원에 제공된 제약 조성물에 대한 설명이 주로 인간으로의 윤리적인 투여에 적합한 제약 조성물에 관한 것이지만, 당업자라면 이러한 조성물이 일반적으로 모든 종류의 동물에게 투여하기에 적합하다는 것을 이해할 것이다. 인간에게 투여하기에 적합한 제약 조성물을 개질시켜 조성물이 각종 동물에게 투여하기에 적합해지도록 만드는 것은 충분히 이해되며, 수의학에 대해 통상의 기술을 가진 약리학자라면 있다 하더라도 단지 통상의 실험만으로 그러한 개질을 설계 및 수행할 수 있다. 본 발명의 제약 조성물의 투여가 고려되는 대상체로는 인간 및 다른 영장류, 반려 동물 및 다른 포유동물 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

<280> 본 발명의 방법에 유용한 제약 조성물은 경구 또는 주사가능한 투여 경로에 적합한 제제로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다.

<281> 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분, 제약상 허용가능한 담체, 및 임의의 추가의 성분의 상대적인 양은 치료받는 대상체의 고유성, 사이즈 및 상태 및 추가로 조성물이 투여되는 경로에 따라 달라질 것이다.

실험예

<283> 하기에서 본 발명은 이하의 실시예를 참고로 기술된다. 이들 실시예는 단지 예시를 목적으로 제공되며, 본 발명은 어떠한 식으로든 이들 실시예로 한정되는 것으로 생각해서는 안되며, 오히려 본원에 제공된 교시내용의 결과로서 자명해지는 임의의 모든 변형을 포함하는 것으로 이해된다.

<284> 이 실험예에 제시된 실험에 이용된 물질 및 방법은 이하에 기재되어 있다.

실험예 1. 제약 조성물 1

<286> 지질 구조물은 양친매성 지질 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨 염), 연장된 양친매성 지질 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐) 및 인터페론의 혼합물을 포함한다.

실험예 2. 제약 조성물 2

<288> 지질 구조물은 양친매성 지질 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세로)](나트륨 염), 인터페론-알파, 연장된 양친매성 지질 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 및/또는 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노] 디아세

트산]의 혼합물을 포함한다. 연장된 양친매성 지질 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐) 및 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노 디아세트산]을 지질 구조물에 각각 1.68 중량% ± 0.5 중량% 및 1.2 중량% ± 0.5 중량%의 수준으로 첨가하였다.

<289> 실험예 3. 제약 조성물 3

지질 구조물은 양친매성 지질 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (12.09 g), 콜레스테롤 (1.60 g), 디세틸 포스페이트 (3.10 g), 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노 디아세트산] (0.20 g) 및 인터페론-알파의 혼합물을 포함한다. 혼합물을 수성 매질에 첨가하였으며, 총 질량은 1200 g이었다.

<291> 실험예 4. 인터페론-알파를 함유하는 지질 구조물의 제제

지질 구조물은, 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물을 제조하고, 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물로부터 지질 구조물을 제조하고, 인터페론-알파를 지질 구조물에 복합체화함으로써 형성되었다.

양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물은 이하의 절차를 이용해서 제조하였다. 지질 구조물의 지질 성분들 [총 질량은 8.5316 g임]의 혼합물은, 지질 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (5.6881 g), 콜레스테롤 결정질 (0.7980 g), 디세틸 포스페이트 (1.5444 g), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐) (0.1436 g), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (0.1144 g), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐) (0.1245 g) 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨 염) (0.1186 g)의 분취물을 조합해서 제조하였다.

클로로포름:메탄올 (2:1 v:v)의 100 ml 용액을 5.0 g의 분자체 상에서 탈수시켰다. 지질 구조물의 지질 성분들의 혼합물을 3 리터 플라스크에 넣고, 클로로포름:메탄올 용액 45 ml를 지질 혼합물에 첨가하였다. 용액을 60 °C ± 2°C의 수조를 갖는 회전증발기 상의 플라스크에 넣고, 천천히 회전시켰다. 클로로포름:메탄올 용액을 대략 45 분 동안 흡입기를 사용해서 회전 증발기 상에서 진공하에 제거하고, 이어서 대략 2 시간 동안 진공 펌프를 사용해서 잔류 용매를 제거하였으며, 고체 지질 화합물이 형성되었다. 지질의 건조된 혼합물은 냉동기에서 정해지지 않은 시간 동안 대략 -20°C 내지 0°C에서 보관될 수 있다.

지질 구조물은 이하의 절차를 이용해서 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물로부터 제조하였다. 지질 혼합물을 pH 7.0에서 대략 600 ml의 28.4 mM 나트륨 포스페이트 (일염기-이염기) 완충제와 함께 혼합하였다. 지질 혼합물에 소용돌이를 형성시키고, 이어서 상기 혼합물을 0°C ± 4°C에서 30분 동안 가열된 수조에 넣어 지질을 천천히 수화시켰다.

pH 6.5 내지 7.5를 갖는 SWI를 사용해서 M-110 EHI 미세유동화기를 70°C ± 10°C로 예열시켰다. 수화된 표적 복합체의 혼탁액을 미세유동화기로 전달하고, 수화된 표적 분자 복합체의 혼탁액을 미세유동화기에 1회 통과시켜 대략 9000 psig에서 미세유동화하였다. 미세유동화기에 통과시킨 다음, 유동화된 혼탁액의 여과되지 않은 샘플 (2.0 - 5.0 ml)을 쿰터(Coulter) N-4 플러스 입도 분석기로부터의 단봉형(unimodal) 분포 데이터를 이용하는 입도 분석을 위해 수집하였다. 모든 입도 결정에 앞서, pH 6.5 내지 7.5로 조정된 0.2 μm 여과된 SWI를 사용해서 샘플을 희석시켰다. 입도는 0.020 내지 0.40 μm 범위가 요구되었다. 입도가 이 범위 내를 벗어나면, 혼탁액을 대략 9000 psig에서 미세유동화기에 다시 통과시켰으며, 입도 요건에 도달할 때까지 입도를 다시 분석하였다. 미세유동화된 표적 분자 복합체를 멀균 용기내에 수집하였다.

미세유동화된 표적 분자 복합체를 60°C ± 2°C에서 유지하되 5.0 ml 주사기에 부착된 멀균 0.8 μm + 0.2 μm 맥락(gang) 여과기에 통과시켜 2회 여과하였다. 여과된 혼탁액의 분취액을 분석하여 혼탁액 중 입자의 입도 범위를 결정하였다. 최종 0.2 μm 여과된 샘플의 입도 범위는 입도 분석기로부터의 단봉형 분포 출력물로부터 결정된 바로는 0.0200 내지 0.2000 μm 범위내이다.

본원에 참고로 포함되는 미국 특허 제5,104,661호에 기재된 방법을 이용하는 구조물의 역 담지에 의해 인터페론을 구조물에 로딩한다.

<299> 실험예 5. 사용 방법

인터페론의 간 효과에 대한 유전자 마커 반응을 갖는 마우스 모델에서 HDV-인터페론 알파의 효능을 평가하였다. C57B16 마우스를 잭슨 래버리토리(Jackson Laboratory)로부터 입수하였으며, 번식 콜로니는 미국 오하이오주 클리블랜드에 소재하는 클리블랜드 메트로헬쓰 센터(Cleveland MetroHealth Center)에서 확립되었다. 이러한 번

식 콜로니로부터 마우스를 얻었다. 2 개의 마우스 군, 즉 시험군 및 대조군을 처리하였다. 시험군은 인터페론 + HDV를 받았지만 대조군은 인터페론만을 받았다. HDV-인터페론은 10 mcg 인터페론 알파에 대해 100 mcg HDV로 이루어졌다. HDV는 헤파좀 파마슈티컬스(Heposome Pharmaceuticals)에 의해 공급되었으며, 뢰페론(Roferon)은 인터페론 알파의 공급원이었다. The HDV 및 인터페론 알파는 마우스에게 주사하기에 앞서 12 시간 동안 평형을 유지하도록 하였다. 상기 두 군으로부터의 마우스에게 체중 kg 당 100,000 U를 투여하였다. IFN에 대한 반응의 시기선택(timing)을 시험하기 위해, 로페론을 마우스의 피하에 주사하였다. 투여 후 6 시간의 시점에서 마우스를 희생시켰다. 희생된 래트의 비장 및 간을 분석을 위해 얻었다.

<301> 이중 가닥 RNA 의존성 단백질 키나제 (PKR) 유전자를 유도하는 인터페론-자극된 반응을 인터페론 간 조직 전달의 마커로서 사용하였다. 검정은 실시간 정량적 PCR (폴리머라제 연쇄 반응)을 이용해서 PKR 메신저 리보핵산 (mRNA)의 수준을 검정하였다. 마우스 PKR mRNA의 엑손 서열에 뻗어있는 인트론에 상응하는 올리고뉴클레오티드 프라이머는 올리고(Oligo) V6 소프트웨어를 이용해서 설계하였으며, 서열을 계놈 및 mRNA 마우스 서열에 대해 NCBI에서의 블라스트 검색으로 처리함으로써 서열이 특이적임을 확인하였다. 30 개 초과의 프라이머 쌍을 설계 하였을 뿐만 아니라 실험을 위해 2 개의 쌍을 선택하였다. 선택된 쌍의 상태를 연속 온도 및 마그네슘 농도구 배를 이용해서 최적화하였다. RNA를 동물의 간 및 비장으로부터 추출한 다음, 랜덤 헥사머 및 올리고-dT 및 M-MLV RT에 대한 본 발명자들의 독점적인 혼합 비율을 이용해서 역전사시켰다. 생성된 cDNA를 반-정량적 PCR로 처리하였으며, HDV 실험을 위해 6 시간 시점을 선택하였다. 2 개 세트의 마우스 (각각 3 마리임)에게 염수 중 IFN 단독 또는 HDV-IFN을 주사하였다. 6 시간 후에 마우스를 희생시켰으며, 간 및 비장으로부터 RNA를 추출해서 RT 반응으로 처리하였다. cybr 그린 기술을 이용해서 생성된 cDNA에 대해 실시간 정량적 PCR을 수행하였다. HDV-IFN 및 IFN 처리된 마우스에서 간 내지 비장 사이의 PKR 발현 수준의 수준 비교를 수행하였다.

<302> PKR 결과는 도 12에 나타나 있다. 도 12a는 인터페론 알파가 투여된 마우스로부터의 간 및 비장에서의 상대적인 발현 수준을 나타낸다. 전신성 전달을 평가하기 위한 대용물로서 비장을 선택하였다. 비장에서의 상대적 발현 수준을 간에서의 상대적 발현 수준과 비교하였다. 비장에서의 상대적 발현 수준은 간에서의 상대적 발현 수준의 대략 2배이었다. 도 12b는 인터페론 알파에 더하여 HDV가 투여된 마우스로부터 간 및 비장에서의 상대적 발현 수준을 나타낸다. 간에서의 상대적 발현 수준은 비장에서의 상대적 발현 수준의 대략 2 배이었다. HDV-인터페론으로 처리된 마우스의 간에서의 상대적 발현 수준은 인터페론 단독을 처치받은 마우스의 간에서의 상대적 발현 수준의 대략 2배이었다.

<303> 마우스 모델에서 인터페론 알파에 의한 간 PKR 활성화에 대한 HDV 표적화의 효과는 도 13에 나타나 있다. 인터페론 단독은 기저선에 대해 상대적인 PKR 활성화에서 대략 5 배 증가를 제공하였다. HDV-인터페론은 기저선에 대해 상대적인 PKR 활성화에서 대략 15 배 증가를 제공하였으며 인터페론 단독에 대해 상대적인 대략 3 배 증가를 제공하였다. 간 조직 내의 인터페론 활성은 인터페론을 HDV와 함께 전달함으로써 유의하게 증가되었다.

<304> 본 발명은 특이적 실시양태와 관련하여 개시되었지만, 당업자라면 본 발명의 실제 사상 및 범위로부터 벗어남이 없이 본 발명의 다른 실시양태 및 변화를 계획할 수 있음이 분명하다. 첨부된 특허청구범위에서는 이러한 모든 실시양태 및 등가의 변화가 포함되도록 구성하고자 의도하였다.

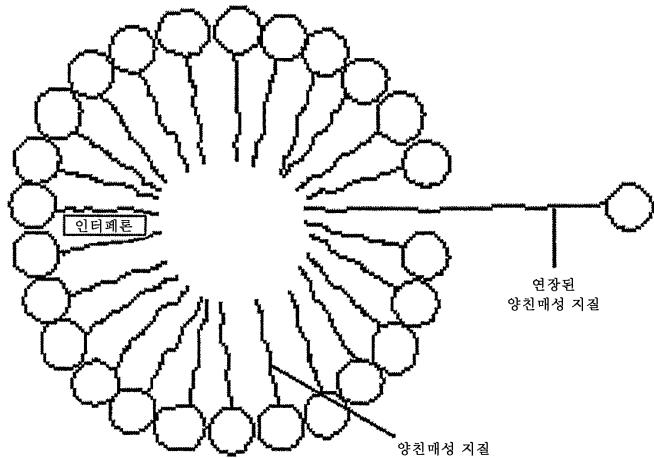
도면의 간단한 설명

- <63> 본 발명을 예시하기 위해서, 본 발명의 특정 실시양태에 관한 도면을 도시한다. 그러나, 본 발명은 도면에 도시된 실시양태의 정확한 배열 및 수단으로 제한되는 것이 아니다.
- <64> 도 1은 인터페론, 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 인터페론 결합 지질 구조물을 도시한다.
- <65> 도 2는 바이오시틴을 제조하는 경로를 도시한다.
- <66> 도 3은 이미노바이오시틴을 제조하는 경로를 도시한다.
- <67> 도 4는 벤조일 티오아세틸 트리글리신 이미노바이오시틴 (BTA-3-gly-이미노바이오시틴)을 제조하는 경로를 도시한다.
- <68> 도 5는 벤조일 티오아세틸 트리글리신을 제조하는 경로를 도시한다.
- <69> 도 6은 벤조일 티오아세틸 트리글리신 술포-N-히드록시숙신이미드 (BTA-3-gly-술포-NHS)을 제조하는 경로를 도시한다.

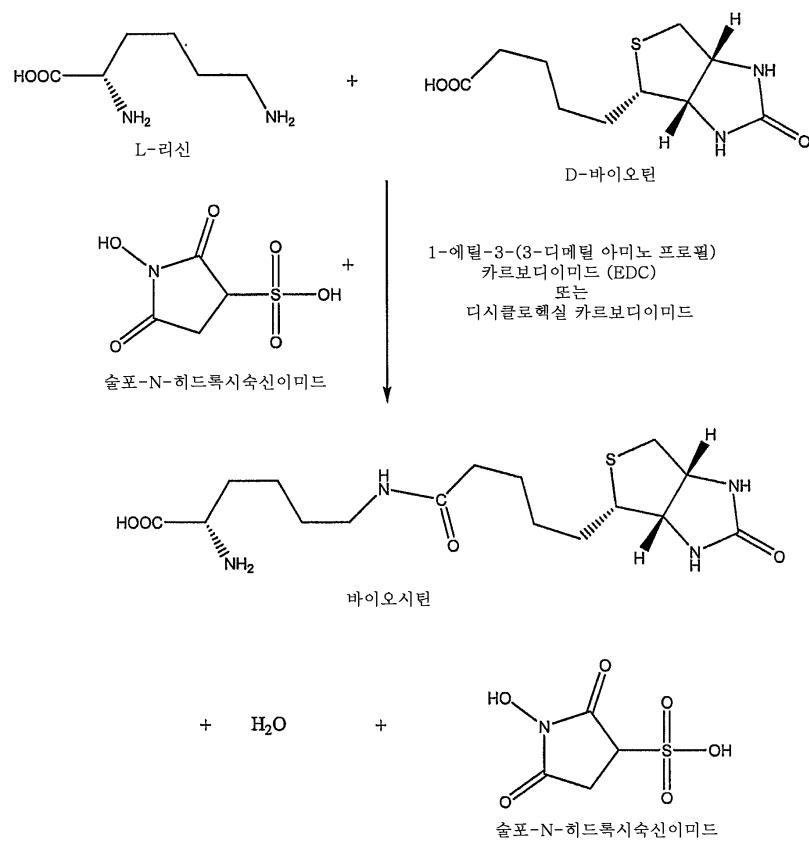
- <70> 도 7은 벤조일 티오아세틸 트리글리신 이미노바이오시틴 (BTA-3-gly-이미노바이오시틴)을 제조하는 경로를 도시한다.
- <71> 도 8은 지질 고정부 및 간세포 수용체 결합 분자 (LA-HRBM)를 제조하는 경로를 도시한다.
- <72> 도 9는 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트와 인터페론 사이의 잠재적 결합 부위를 도시한다.
- <73> 도 10은 산성 조건 vs. 염기성 조건하에서 이미노바이오틴의 구조 변화를 도시한다.
- <74> 도 11은 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 인터페론 결합 지질 구조물의 제조 방법을 개략적으로 보여준다.
- <75> 도 12는 2개 부분으로 구성된다. 도 12a는 인터페론 알파를 투여한 마우스의 간 및 비장에서의 상대적 발현 수준을 나타낸다. 도 12b는 인터페론 알파 및 HDV를 투여한 마우스의 간 및 비장에서의 상대적 발현 수준을 나타낸다.
- <76> 도 13은 마우스 모델에서 인터페론 알파에 의한 간 PKR 활성화에 HDV 표적화가 미치는 효과를 나타낸다.

도면

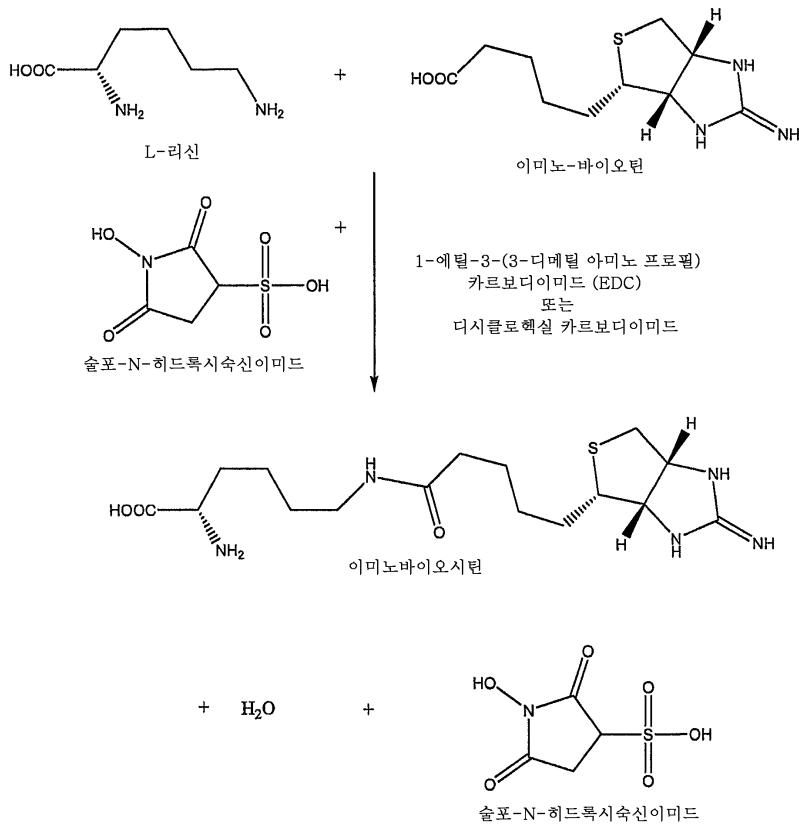
도면1



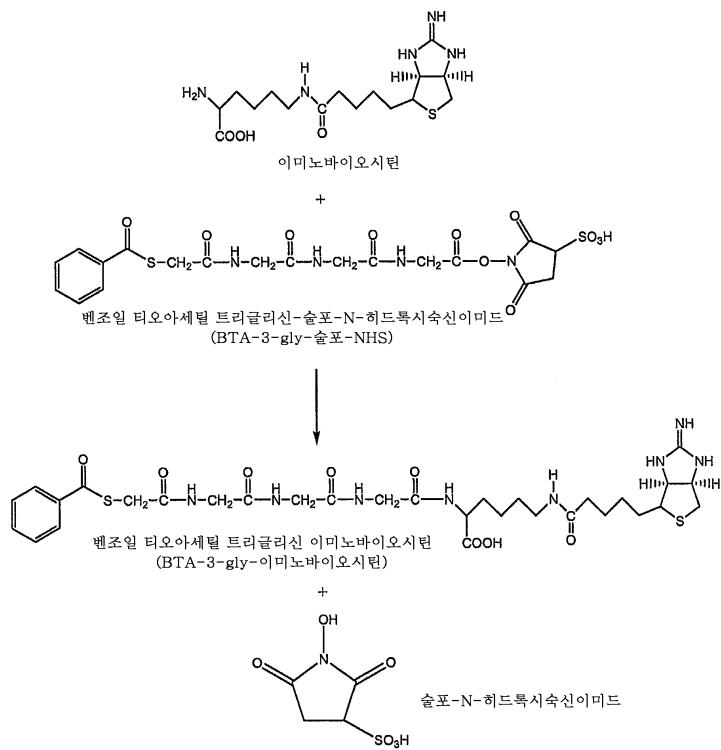
도면2



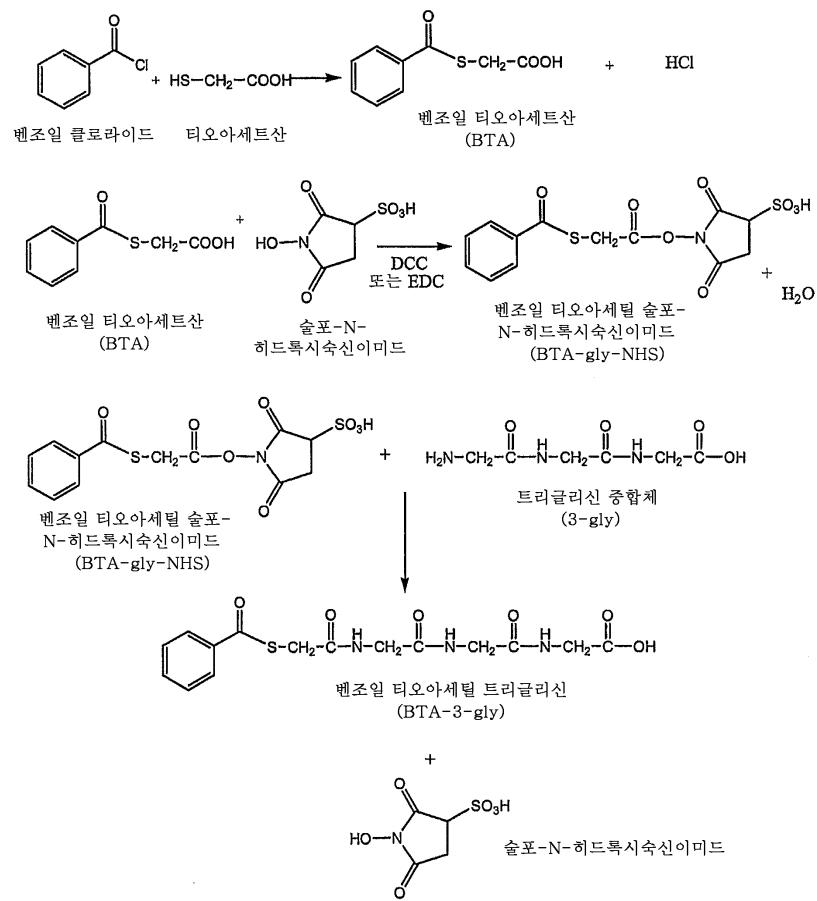
도면3

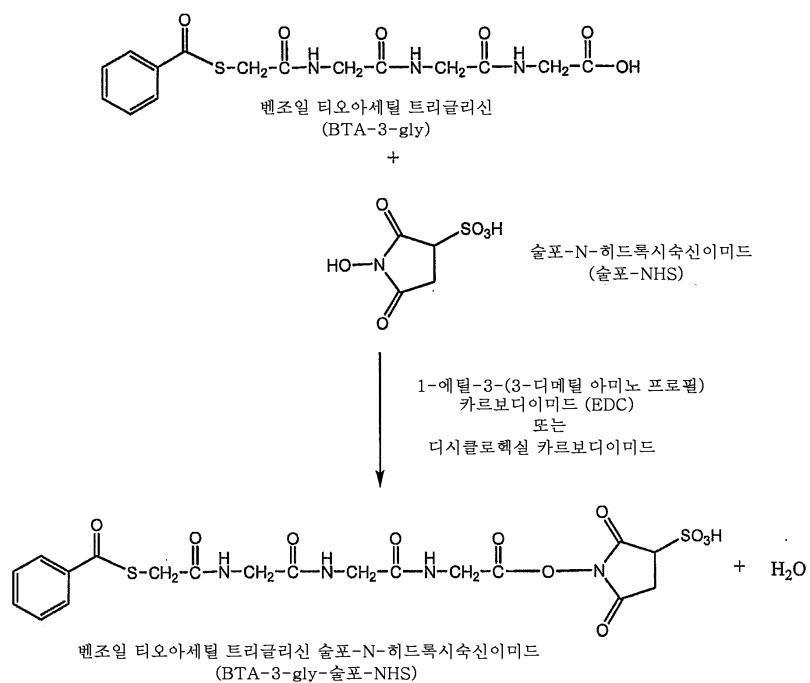
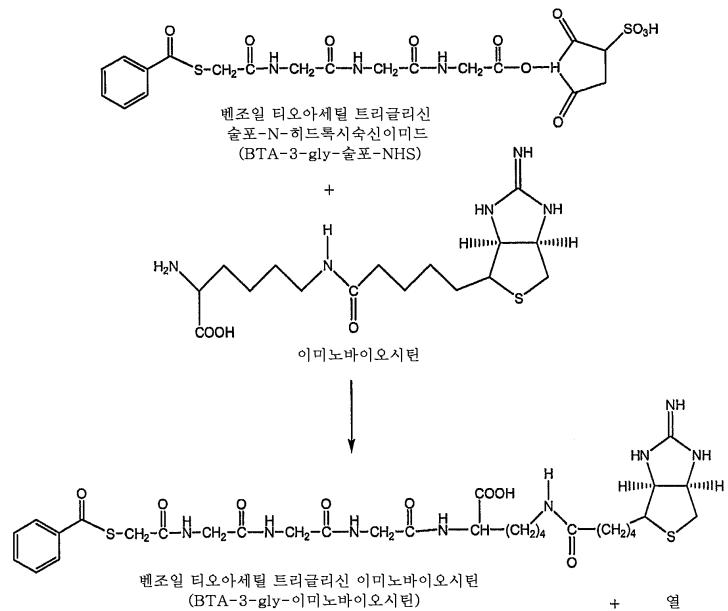


도면4

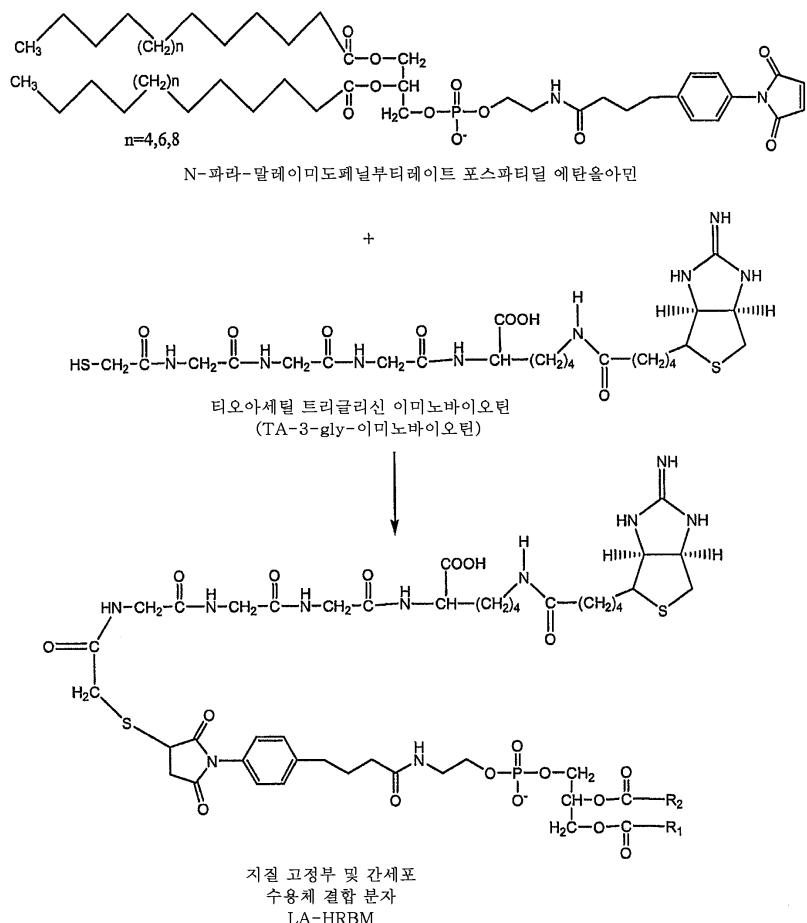


도면5

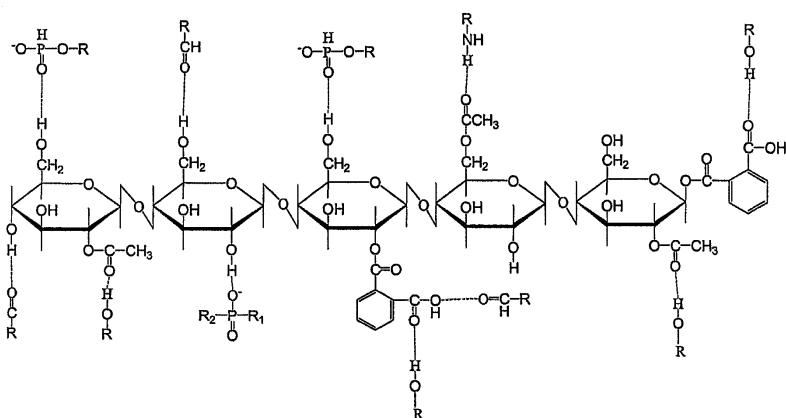


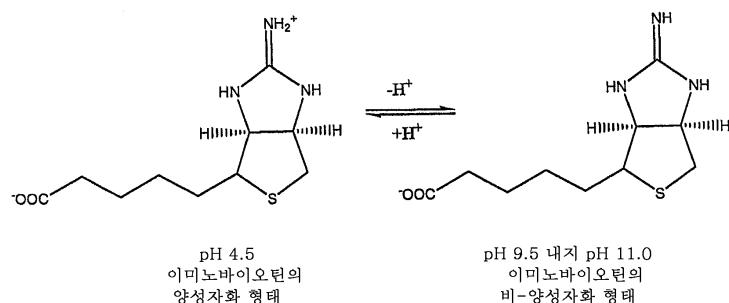
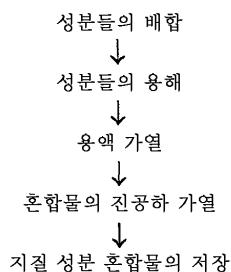
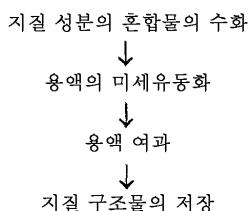
도면6**도면7**

도면8



도면9



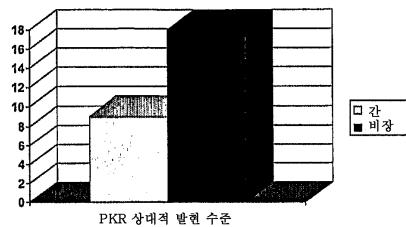
도면10**도면11**지질 성분의 혼합물 제조지질 성분 혼합물로부터 지질 구조물의 형성인터페론을 함유하는 지질 구조물의 제조

지질 구조물로의 인터페론 첨가

도면12

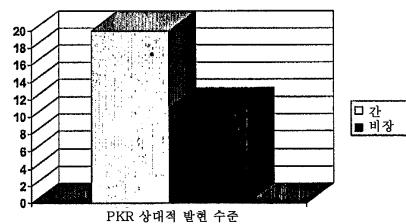
a)

천연 IFN



b)

HDV-IFN



도면13

