(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년01월09일
(11) 등록번호 10-2486055
(24) 등록일자 2023년01월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/69 (2017.01) *A61K 31/337* (2006.01)
A61K 31/58 (2021.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01) *A61K 47/68* (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 9/19* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 47/6929 (2017.08)
A61K 31/337 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7009303
(22) 출원일자(국제) 2017년09월06일
심사청구일자 2020년08월10일
(85) 번역문제출일자 2019년03월29일
(65) 공개번호 10-2019-0053204
(43) 공개일자 2019년05월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/050355
(87) 국제공개번호 WO 2018/048958
국제공개일자 2018년03월15일
(30) 우선권주장
62/384,119 2016년09월06일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2006089290 A1
WO2010118365 A1

(73) 특허권자
메이오 파운데이션 포 메디칼 에쥬케이션 앤드 리써치
미국 55905 미네소타주 록체스터 퍼스트 스트리트 에스.더블유. 200
(72) 발명자
마르코빅, 스베토미르 엔.
미국 55905 미네소타주, 록체스터, 퍼스트 스트리트 에스더블유 200, 메이오 파운데이션 포메디칼 에쥬케이션 앤드 리써치 내
네발라, 웬디 케이.
미국 55905 미네소타주, 록체스터, 퍼스트 스트리트 에스더블유 200, 메이오 파운데이션 포메디칼 에쥬케이션 앤드 리써치 내
(74) 대리인
장훈

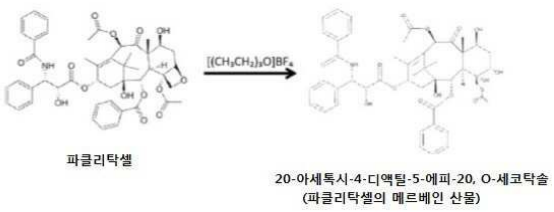
전체 청구항 수 : 총 25 항 심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 **파클리탁셀-알부민-결합제 조성물 및 그의 사용 및 제조 방법**

(57) 요 약

결합제, 담체 단백질, 및 상당한 양의 파클리탁셀 유도체, 및 선택적으로 치료제를 포함하는 나노입자 조성물이 본 명세서에 기재된다. 또한, 담체 단백질 및 상당한 양의 파클리탁셀, 및 선택적으로 결합제 및/또는 치료제를 포함하는 나노입자 조성물로서, 상기 파클리탁셀은 치료 효과를 제공하는 양보다 적은 양으로 존재하는 것인 나노입자 조성물이 본 명세서에 기재된다. 또한, (a) 담체 단백질, (b) 파클리탁셀 유도체로서, 상기 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀에 비해 감소된 독성을 갖는 것인 파클리탁셀 유도체, 및 선택적으로 (c) 결합제, 및/또는 (d) 치료제를 포함하는 나노입자가 본 명세서에 개시된다. 또한, 이를 제조하고 사용하는 방법, 구체적으로, 암 치료제로서 제조하고 사용하는 방법이 기재된다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/58 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/643 (2017.08)
A61K 47/6803 (2017.08)
A61K 47/6849 (2017.08)
A61K 9/0019 (2013.01)
A61K 9/19 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

알부민 및 파클리탁셀 유도체를 포함하는 나노입자로서, 상기 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀보다 덜 독성이며, 상기 파클리탁셀 유도체는 20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20,0-세코탁솔(20-acetoxy-4-deactyl-5-epi-20,0-secotaxol)인, 나노입자.

청구항 2

삭제

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 알부민과 상기 파클리탁셀 유도체 간의 비-공유결합에 의해 함께 유지되는, 나노입자.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 치료제를 더 포함하고, 상기 치료제는 아비라테론(abiraterone), 벤다무스틴(bendamustine), 보르테조밉(bortezomib), 카르보플라틴(carboplatin), 카바지탁셀(cabazitaxel), 시스플라틴(cisplatin), 클로람부실(chlorambucil), 다사티닙(dasatinib), 도세탁셀(docetaxel), 독소루비신(doxorubicin), 에피루비신(epirubicin), 에를로티닙(erlotinib), 에토포시드(etoposide), 에베롤리무스(everolimus), 게피티닙(gefitinib), 이다루비신(idarubicin), 이마티닙(imatinib), 히드록시우레아(hydroxyurea), 라파티닙(lapatinib), 류프로렐린(leuprorelin), 멜팔란(melphalan), 메토트렉세이트(methotrexate), 미톡산트론(mitoxantrone), 네다플라틴(nedaplatin), 닐로티닙(nilotinib), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 파클리탁셀, 파조파닙(pazopanib), 페메트렉세드(pemetrexed), 피코플라틴(picoplatin), 로미뎁신(romidepsin), 사트라플라틴(satraplatin), 소라페닙(sorafenib), 베무라페닙(vemurafenib), 수니티닙(sunitinib), 테니포시드(teniposide), 트리플라틴(triplatin), 빈블라스틴(vinblastine), 비노렐빈(vinorelbine), 빈크리스틴(vincristine), 또는 시클로포스파미드(cyclophosphamide)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 나노입자.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 알부민과 상기 파클리탁셀 유도체는 10:1 미만의 상대적 중량비를 갖는, 나노입자.

청구항 6

알부민, 파클리탁셀 유도체, 및 항원-결합 도메인을 갖는 항체를 포함하는 나노입자 복합체(nanoparticle complex)로서, 상기 파클리탁셀 유도체는 20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20,0-세코탁솔이고, 상기 알부민 및 파클리탁셀 유도체는 나노입자로서 비-공유 결합에 의해 함께 유지되고, 상기 항체는 상기 나노입자 복합체의 외부 표면 상에 배열되는, 나노입자 복합체.

청구항 7

청구항 6에 있어서, 상기 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀보다 덜 독성인 것인, 나노입자 복합체.

청구항 8

삭제

청구항 9

청구항 6에 있어서, 치료제를 더 포함하고, 상기 치료제는 아비라테론, 벤다무스틴, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카바지탁셀, 시스플라틴, 클로람부실, 다사티닙, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에를로티닙, 에토포시드, 에베롤리무스, 게피티닙, 이다루비신, 이마티닙, 히드록시우레아, 라파티닙, 류프로렐린, 멜팔란, 메토트렉세이

트, 미톡산트론, 네다플라틴, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파조파닙, 페메트렉세드, 피코플라틴, 로미뎁신, 사트라플라틴, 소라페닙, 베무라페닙, 수니티닙, 테니포시드, 트리플라틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈크리스틴, 또는 시클로포스파미드로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 나노입자 복합체.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

청구항 6에 있어서, 상기 알부민과 상기 파클리탁셀 유도체는 10:1 미만의 상대적 중량비를 갖는, 나노입자 복합체.

청구항 13

청구항 6에 있어서, 상기 항원은 CD3, CD19, CD20, CD38, CD30, CD33, CD52, PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, RANK-L, GD-2, Ly6E, HER3, EGFR, DAF, ERBB-3 수용체, CSF-1R, HER2, STEAP1, CD3, CEA, CD40, OX40, Ang2-VEGF, 또는 VEGF인, 나노입자 복합체.

청구항 14

청구항 6에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 동결건조된, 나노입자 복합체.

청구항 15

청구항 14에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 20℃ 내지 25℃에서 12개월 또는 그 이상까지 안정한, 나노입자 복합체.

청구항 16

청구항 6에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 올리고머화되지 않은, 나노입자 복합체.

청구항 17

청구항 6에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 70 nm 내지 800 nm의 크기를 갖는, 나노입자 복합체.

청구항 18

청구항 6에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 100 nm 내지 200 nm의 크기를 갖는, 나노입자 복합체.

청구항 19

청구항 6에 있어서, 상기 항체는 알렘투주맙(alemtuzumab), 아테졸리주맙(atezolizumab), 베바시주맙(bevacizumab), 세툭시맙(cetuximab), 데노수맙(denosumab), 디누툭시맙(dinutuximab), 이필리무맙(ipilimumab), 니볼루맙(nivolumab), 오비누투주맙(obinutuzumab), 오파투무맙(ofatumumab), 파니투무맙(panitumumab), 펨브롤리주맙(pembrolizumab), 페르투주맙(pertuzumab), 리툭시맙(rituximab), 아벨루맙(avelumab), 두르발루맙(durvalumab), 피딜리주맙(pidilizumab), 항-PD-L1 모노클로날 항체 클론 BMS 936559, 항-CD3 모노클로날 항체 클론 OKT3, 및 트라스투주맙(trastuzumab)으로부터 선택되는, 나노입자 복합체.

청구항 20

청구항 6에 있어서, 상기 알부민은 인간 혈청 알부민인, 나노입자 복합체.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 상기 알부민은 재조합 인간 혈청 알부민인, 나노입자 복합체.

청구항 22

청구항 6에 있어서, 상기 나노입자 복합체는 1 x 10^{-11} M 내지 1 x 10^{-9} M의 해리 상수를 갖는, 나노입자 복합체.

청구항 23

청구항 6, 7, 9 및 12 내지 22 중 어느 한 항의 나노입자 복합체를 포함하는, 암 치료용 약학적 조성물.

청구항 24

청구항 23에 있어서, 상기 조성물은 정맥내 전달에 의해 투여되는, 약학적 조성물.

청구항 25

청구항 23에 있어서, 상기 조성물은 종양으로의 직접 주사 또는 관류에 의해 투여되는, 약학적 조성물.

청구항 26

알부민-파클리탁셀 유도체 나노입자를 형성하는 방법으로서, 상기 방법은 고압 하에, 용액에서 알부민과 파클리탁셀 유도체를 균질화시켜, 알부민-파클리탁셀 유도체 나노입자를 생성시키는 단계를 포함하고, 상기 파클리탁셀 유도체는 20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20,0-세코탁솔인, 방법.

청구항 27

청구항 26에 있어서, 상기 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀보다 덜 독성인, 방법.

청구항 28

삭제

청구항 29

청구항 26 또는 27에 있어서, 상기 알부민-파클리탁셀 유도체 나노입자를 항체와 접촉시키는 단계를 더 포함하고, 상기 항체는 상기 나노입자 복합체의 외부 표면 상에 배열되는, 방법.

청구항 30

청구항 26 또는 27에 있어서, 상기 알부민은 10:1(알부민:파클리탁셀 유도체) 미만의 상대적 중량비로 상기 파클리탁셀 유도체와 접촉되는, 방법.

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 결합제 및 담체 단백질의 신규한 조성물 및 그의 제조 및 사용, 구체적으로, 암 치료제로서의 제조 및 사용 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 화학요법이 흑색종을 포함한 다양한 종류의 암을 위한 전신 치료법(systemic therapy)의 주류로 남아있다. 대부분의 화학요법제는 단지 약하게 종양 세포에 대해 선택적이고, 건강한 증식 세포에 대한 독성이 높을 수 있어서(Allen TM. (2002) *Cancer* 2:750-763), 종종 용량 감소 및 심지어 치료의 중단이 요구된다. 이론적으로, 화학요법제 독성 이슈를 극복하고 약물 효능을 개선하는 한 가지 방법은 표적화된 약물을 종양으로 유도하기 위해 암세포에 의해 선택적으로 발현되는(과발현되는) 단백질에 특이적인 항체를 이용하여 화학요법제를 종양으로 표적화하여, 화학요법제의 생체분포(biodistribution)를 변화시키고, 보다 많은 약물이 종양으로 가고, 건강한 조직에 덜 영향을 미치게 하는 것이다. 그러나, 30년의 연구에도 불구하고, 특이적 표적화는 치료제 분야에서 드물게 성공한다.

[0003] 통상적인 항체 의존성 화학요법(ADC)은 합성 프로테아제에 의해 절단가능한 링커(synthetic protease-cleavable linker)를 통해 표적화 항체에 결합된 독성제로 설계된다. 그러한 ADC 치료제의 효능은 표적 세포가 항체에 결합하는 능력, 링커의 절단, 및 독성제의 표적 세포로의 흡수(uptake)에 의존적이다. Schrama, D. *et al.* (2006) *Nature reviews. Drug discovery* 5:147-159.

[0004] 항체-표적화 화학요법(antibody-targeted chemotherapy)은 표적화 능력, 다수의 세포독성제, 및 잠재적으로 더 약한 독성을 동반한 개선된 치료 능력의 조합을 제공하기 때문에 통상적인 치료법 대비 이점을 기대하게 했다. 광범위한 연구에도 불구하고, 임상적으로 유효한 항체-표적화 화학요법은 달성하기 어려운 것으로 남아있다: 주요 장애(hurdle)는 항체와 화학요법 약물 간의 링커의 불안정성, 항체에 결합시 화학요법제의 감소된 종양 독성, 및 컨쥬게이트(conjugate)의 종양 세포 결합 및 진입(enter) 불능을 포함한다. 또한, 이러한 치료는 항체-약물 컨쥬게이트의 크기에 대한 제어를 가능하게 하지 않았다.

[0005] 표적화된 약물 전달이 이전 치료(prior therapeutics) 대비 신뢰 가능하고 개선된 항-종양 효능을 제공하도록 세포독성 효과를 유지하는 항체-기반 암 치료제에 대한 요구가 당해 분야에 여전히 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] **요약**

[0007] 본 발명의 일부 구체예에 따르면, (a) 담체 단백질, (b) 선택적으로, 결합제, 및 (c) 파클리탁셀로서, 상기 파클리탁셀은 치료 효과를 제공하는 양보다 적은 양으로 존재하는 것인 파클리탁셀, 및 선택적으로, (d) 치료제를 포함하는 나노입자가 개시된다. 본 발명의 일부 양태는 부분적으로, 파클리탁셀의 감소된 양, 예를 들면, ABRAXANE®과 같은 알부민-결합 나노입자에서의 양에 비해 감소된 양이 담체 단백질, 예를 들면, 알부민과 결합제, 예를 들면 항체의 복합체의 형성을 촉진하여 안정한 나노입자를 제공한다는 아이디어에 근거한다. 이 나노입자들은 본 명세서에서 "감소된 독성 나노입자(reduced toxicity nanoparticle)"(RTP) 또는 RTP 복합체로 지칭될 수 있다.

[0008] 또한, (a) 담체 단백질, (b) 파클리탁셀 유도체로서, 상기 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀에 비해 감소된 독성을 갖는 것인 파클리탁셀 유도체, 및 선택적으로 (c) 결합제 및/또는 (d) 치료제를 포함하는 나노입자가 본 명세서에 개시된다. 본 명세서에 기재된 구체예에서 파클리탁셀 유도체가 사용될 수 있다.

[0009] 또한, 나노입자 조성물, 및 상기 나노입자를 제조하고 사용하는 방법이 본 명세서에 기재된다.

과제의 해결 수단

[0010] 일 양태에서 알부민 및 파클리탁셀 유도체를 포함하는 나노입자로서, 상기 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀보다 덜 독성인 것인 나노입자가 제공된다. 일 구체예에서, 상기 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀의 메르바인 산물(Meerwein Product of Paclitaxel)이다. 바람직한 구체예에서, 파클리탁셀 유도체는 20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20,0-세코탁솔이다. 일 구체예에서, 파클리탁셀 유도체는 Baccatin III((2β,5α,7α,10α,13β)-4,10-디아세톡시-1,7,13-트리히드록시-9-옥소-5,20-에폭시탁스-11-엔-2-일 벤조에이트)이다. 일 구체예에서, 나노입자는 알부민과 파클리탁셀 유도체 간 비-공유결합에 의해 함께 유지된다. 일 구체예에서, 알부민과 파클리탁셀 유도체는 약 10:1 미만의 상대적 중량비를 갖는다. 일 구체예에서, 나노입자는 파클리탁셀을 포함하지 않는다.

[0011] 일 구체예에서, 알부민 및 파클리탁셀 유도체를 포함하고, 항원-결합 도메인을 갖는 결합제(예를 들면, 항체)를 더 포함하는 것인 나노입자 복합체가 제공된다. 일 구체예에서, 상당한 양(an amount)의 결합제(예를 들면, 항체)가 나노입자 복합체의 외부 표면에 배열된다. 일부 구체예에서, 결합제는 나노입자의 표면의 전체 또는 일부에 있는 결합제의 실질적 단일층이다. 일 구체예에서, 결합제는 비-공유결합에 의해 담체 단백질에 결합한다. 바람직하게는, 결합제는 항체이다.

[0012] 일 구체예에서, 나노입자 복합체는 치료제를 더 포함한다. 일 구체예에서, 치료제는 아비라테론, 벤다무스틴, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카바지탁셀, 시스플라틴, 클로람부실, 다사티닙, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에를로티닙, 에토포시드, 에베롤리무스, 게피티닙, 이다루비신, 이마티닙, 히드록시우레아, 이마티닙, 라파티닙, 류프로렐린, 멜팔란, 메토트렉세이트, 미톡산트론, 네다플라틴, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 파조파닙, 페메트렉세드, 피코플라틴, 로미뎁신, 사트라플라틴, 소라페닙, 베무라페닙, 수니티닙, 테니포시드, 트리플라틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈크리스틴, 또는 시클로포스파미드이다. 일 구체예에서, 치료제는 표 2에 열거된 작용제이다.

[0013] 일 양태에서 본 명세서에 기재된 나노입자 또는 나노입자 복합체를 포함하는 나노입자 조성물이 제공된다.

[0014] 일 양태에서, 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 및 파클리탁셀을 포함하고, 상기 파클리탁셀은 치료 효과를 제공하는 양보다 적은 양으로 존재하는 것인 나노입자가 제공된다. 일 구체예에서, 상기 나노입자는 담체 단백질과 파클리탁셀 간의 비-공유결합에 의해 함께 유지된다. 일 양태에서, 나노입자 복합체는 담체 단백질(예를 들면, 알부민)과 파클리탁셀을 담체 단백질 대 파클리탁셀의 약 10:1보다 높은 상대적 중량비로 조합하는 것에 의해 제조되었다.

[0015] 일 구체예에서, 나노입자(나노입자 복합체) 또는 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 단백질 담체(예를 들면, 알부민) 및 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 복합체에 안정성을 제공할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다. 일 구체예에서, 나노입자 또는 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 파클리탁셀과 단백질 담체(예를 들면, 알부민)의 친화도(affinity)를 제공할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다. 일 구체예에서, 나노입자 또는 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 파클리탁셀과 단백질 담체(예를 들면, 알부민)의 복합체 형성을 촉진할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다.

[0016] 나노입자 또는 나노입자 조성물 중 알부민 대 파클리탁셀의 비는 바람직하게는 ABRAXANE®에 존재하는 것보다 낮다. ABRAXANE®은 약 900 mg 알부민에 대해 100 mg 파클리탁셀을 포함한다, 일 구체예에서, 나노입자 조성물 중 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 대 파클리탁셀의 중량비는 약 9:1보다 높다. 일 구체예에서, 중량비는 약 10:1, 또는 11:1, 또는 12:1, 또는 13:1, 또는 14:1, 또는 15:1, 또는 약 16:1, 또는 약 17:1, 또는 약 18:1, 또는 약 19:1, 또는 약 20:1, 또는 약 21:1, 또는 약 22:1, 또는 약 23:1, 또는 약 24:1, 또는 약 25:1, 또는 약 26:1, 또는 약 27:1, 또는 약 28:1, 또는 약 29:1, 또는 약 30:1보다 높다. 일 구체예에서, 나노입자 복합체 중 담체 단백질 대 파클리탁셀의 중량비는 약 9:1보다 높다. 일 구체예에서, 중량비는 약 10:1, 또는 11:1, 또는 12:1, 또는 13:1, 또는 14:1, 또는 15:1, 또는 약 16:1, 또는 약 17:1, 또는 약 18:1, 또는 약 19:1, 또는 약 20:1, 또는 약 21:1, 또는 약 22:1, 또는 약 23:1, 또는 약 24:1, 또는 약 25:1, 또는 약 26:1, 또는 약 27:1, 또는 약 28:1, 또는 약 29:1, 또는 약 30:1보다 높다.

[0017] 일 구체예에서, 파클리탁셀의 양은 단백질 담체(예를 들면, 알부민) 및 파클리탁셀, 및 선택적으로 하나 이상의 치료제를 포함하는 나노입자 복합체에 안정성을 제공할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다. 일 구체예에서, 파클리탁셀의 양은 하나 이상의 치료제의 단백질 담체에 대한 친화도를 제공할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다. 일 구체예에서, 파클리탁셀의 양은 하나 이상의 치료제와 단백질 담체의 복합체 형성을 촉진할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다.

[0018] 임의의 구체예에서, 파클리탁셀의 양은 파클리탁셀에 대한 치료량보다 더 적을 수 있다. 즉, 이 양은 치료적 잇점을 제공하기 위해 제공되거나 또는 고려되는 양, 예를 들면, 암을 효과적으로 치료하기 위한 화학요법 양(chemotherapeutic amount)보다 더 적을 수 있다.

[0019] 일 구체예에서, 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 약 5 mg/mL 미만이다. 일 구체예에서, 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 약 4.54 mg/mL, 또는 약 4.16 mg/mL, 또는 약 3.57 mg/mL, 또는 약 3.33 mg/mL, 또는 약 3.12 mg/mL, 또는 약 2.94 mg/mL, 또는 약 2.78 mg/mL, 또는 약 2.63 mg/mL, 또는 약 2.5 mg/mL, 또는 약 2.38 mg/mL, 또는 약 2.27 mg/mL, 또는 약 2.17 mg/mL, 또는 약 2.08 mg/mL, 또는 약 2 mg/mL, 또는 약 1.92 mg/mL, 또는 약 1.85 mg/mL, 또는 약 1.78 mg/mL, 또는 약 1.72 mg/mL, 또는 약 1.67 mg/mL 미만이다.

[0020] 이론에 의해 한정되지 않으면서, 담체 단백질로의 결합, 예를 들면, 결합제의 담체 단백질로의 복합체 형성(complexation)은 결합제 상의 알부민-결합 모티프 및/또는 담체 단백질 상의 항체-결합 모티프를 통해 일어나는 것으로 고려된다. 일 구체예에서, 결합제는 알부민-결합 모티프를 포함한다. 일 구체예에서, 담체 단백질은 항체-결합 모티프를 포함한다. 항체-결합 모티프의 비-한정적 예는 참조에 의해 전체로 본 명세서에 포함된, 2017년 8월 4일자로 출원된 PCT 출원 PCT/US2017/045643에서 찾을 수 있다. 일부 구체예에서, 결합제는 비-치료적 및 비-내인성(non-therapeutic and non-endogenous) 인간 항체, 융합 단백질, 예를 들면, 표적 항원에 결합하는 펩티드로의 항체 Fc 도메인의 융합체, 또는 앱타머이다.

[0021] 일 구체예에서, 결합제는 항원-결합 도메인을 포함한다. 일 구체예에서, 항원은 CD3, CD19, CD20, CD38, CD30, CD33, CD52, PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, RANK-L, GD-2, Ly6E, HER3, EGFR, DAF, ERBB-3 수용체, CSF-1R, HER2, STEAP1, CD3, CEA, CD40, OX40, Ang2-VEGF, 또는 VEGF이다.

[0022] 일 구체예에서, 결합제는 아도-트라스투주맙 엠탄신, 알렘투주맙, 아테졸리주맙, 베바시주맙, 세툭시맙, 데노수맙, 디누툭시맙, 이필리무맙, 니볼루맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 파니투무맙, 퀌브롤리주맙, 페르투주맙, 리툭시맙, 라무시루맙(Ramucirumab), 아벨루맙 또는 두르발루맙, 피딜리주맙, BMS 936559, OKT3, 및 트라스투주맙으로부터 선택되는 항체이다.

[0023] 본 발명은 또한 동결건조된 나노입자 및 나노입자 조성물을 포함하고, 동결건조된 나노입자 및 조성물은 신선하게-제조된 나노입자의 특성과 실질적으로 다르지 않거나 또는 동일하다. 구체적으로, 수용액에 재현탁시, 동결건조된 조성물은 입자 크기, 입자 크기 분포, 암세포에 대한 독성, 결합제 친화도, 및 결합제 특이성의 측면에서 신선한 조성물과 유사하거나 또는 동일하다. 놀랍게도, 동결건조된 나노입자는 이 입자들 중 2종의 상이한 단백질의 존재에도 불구하고, 재현탁 후, 신선하게-제조된 나노입자의 특성을 보유한다. 일 구체예에서, 동결건조된 조성물은 적어도 약 3 개월, 4 개월, 5 개월, 6 개월, 7 개월, 8 개월, 9 개월, 10 개월, 11 개월, 12 개월, 또는 그 이상 동안 안정하다. 일 구체예에서, 동결건조된 조성물은 실온에서 3개월 이상 동안 안정하다. 일 구체예에서, 재구성된 나노입자는 치료제의 활성을 유지하고, 인 비보에서 표적에 결합할 수 있다.

[0024] 일부 구체예에서, 상기 하나 이상의 치료제는 나노입자의 내부에 위치한다. 다른 구체예에서, 상기 하나 이상의

치료제는 나노입자의 외부 표면 상에 위치한다. 다른 구체예에서, 상기 하나 이상의 치료제는 나노입자의 내부 및 나노입자의 외부 표면 상에 위치한다.

[0025] 일부 구체예에서, 나노입자는 2종 이상의 치료제, 예를 들면, 탁산 및 백금계 약물(platinum drug), 예를 들면, 파클리탁셀 및 시스플라틴을 포함한다.

[0026] 일부 구체예에서, 나노입자는 파클리탁셀이 아닌 하나 이상의 추가적인 치료제를 더 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 하나 이상의 치료제는 아비라테론, 벤다무스틴, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카바지탁셀, 시스플라틴, 클로람부실, 다사티닙, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에를로티닙, 에토포시드, 에베롤리무스, 게피티닙, 이다루비신, 이마티닙, 히드록시우레아, 이마티닙, 라파티닙, 류프로렐린, 멜팔란, 메토트렉세이트, 미톡산트론, 네다플라틴, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파조파닙, 페메트렉세드, 피코플라틴, 로미뎁신, 사트라플라틴, 소라페닙, 베무라페닙, 수니티닙, 테니포시드, 트리플라틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈크리스틴, 또는 시클로포스파미드이다.

[0027] 일부 구체예에서, 결합제, 담체 단백질 및/또는 존재하는 경우, 치료제는 비-공유 결합을 통해 결합된다.

[0028] 일부 구체예에서, 담체 단백질은 젤라틴, 엘라스틴, 글리아딘, 레구민, 제인, 대두 단백질, 유 단백질, 및 유청 단백질로 구성된 군으로부터 선택된다. 바람직한 구체예에서, 담체 단백질은 알부민, 예를 들면, 인간 혈청 알부민이다.

[0029] 일부 구체예에서, 조성물은 정맥내 전달을 위해 제제화된다. 다른 구체예에서, 조성물은 종양으로의 직접 주사 또는 관류를 위해 제제화된다.

[0030] 일부 구체예에서, 나노입자는 약 1×10^{-11} M 내지 약 1×10^{-9} M의 해리 상수를 갖는다.

[0031] 일 구체예에서, 나노입자 조성물을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 담체 단백질 및 파클리탁셀 및 상기 하나 이상의 치료제를 원하는 나노입자의 형성을 가능하게 하는 조건 및 성분들의 비로 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0032] 일부 양태에서, 알부민-파클리탁셀 유도체 또는 알부민-파클리탁셀 나노입자를 형성시키는 방법으로서, 상기 방법은 고압 하에 용액 중 파클리탁셀 유도체 또는 파클리탁셀을 알부민과 함께 균질화시켜, 알부민-파클리탁셀 유도체 또는 알부민-파클리탁셀 나노입자를 생성하는 단계를 포함하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0033] 일부 양태에서, 나노입자 조성물을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 담체 단백질, 파클리탁셀, 및/또는 치료제를 5.0 내지 7.5의 pH 및 약 5℃ 내지 약 60℃, 약 23℃ 내지 약 60℃, 또는 약 55℃ 내지 약 60℃의 온도를 갖는 용액 중 결합제와 원하는 나노입자의 형성을 가능하게 하는 조건 및 성분들의 비로 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다. 일 구체예에서, 나노입자는 55℃ 내지 60℃ 및 pH 7.0에서 제조된다. 또 다른 양태에서, 나노입자 조성물을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 (a) 담체 단백질, 파클리탁셀과 치료제를 접촉시켜 코어를 형성하는 단계, 및 (b) 선택적으로, 상기 코어를 약 5.0 내지 약 7.5의 pH 및 약 5℃ 내지 약 60℃, 약 23℃ 내지 약 60℃, 또는 약 55℃ 내지 약 60℃의 온도를 갖는 용액 중 항체와 원하는 나노입자의 형성을 가능하게 하는 조건에서 및 성분들의 비로 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0034] 일부 양태에서, 치료제(예를 들면, 파클리탁셀이 아닌 치료제)의 상당한 양이 담체 단백질에 첨가될 수 있다.

[0035] 다른 구체예에서, 나노입자는 전술된 바와 같이 제조되고, 그 후, 동결건조된다.

[0036] 또 다른 양태에서, 암세포를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 암세포를 치료하기 위해 본 명세서에 개시된 나노입자 조성물의 유효량과 상기 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법이 제공된다.

[0037] 일 구체예에서 암세포의 집단에서 암세포를 사멸시키는 방법으로서, 상기 방법은 상기 세포를 나노입자 조성물의 유효량과 접촉시키는 단계를 포함하고, 상기 조성물은 암세포를 사멸시키기 위해 충분한 기간 동안 상기 세포와 접촉된 상태로 유지되고, 상기 나노입자 조성물은 나노입자 복합체를 포함하고, 상기 나노입자 각각은 알부민과 파클리탁셀을 포함하며, 파클리탁셀은 치료적 효과를 제공하는 양보다 적은 양으로 존재하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0038] 일 구체예에서, 암의 치료를 필요로 하는 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 환자에게 나노입자 복합체를 포함하는 나노입자 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 상기 나노입자 각각은 알부민 및 파클리

탁셀을 포함하고, 파클리탁셀은 치료적 효과를 제공하는 양보다 적은 양으로 존재하는 것인 방법이 제공된다.

[0039] 또 다른 양태에서, 종양의 치료를 필요로 하는 환자에서 종양을 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 상기 세포를 종양을 치료하기 위한 유효량의 나노입자 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다. 일부 구체예에서, 종양의 크기가 감소된다. 다른 구체예에서, 나노입자 조성물은 정맥내로 투여된다. 다른 구체예에서, 나노입자 조성물은 종양으로의 직접 주사 또는 관류에 의해 투여된다.

[0040] 일부 구체예에서, 본 명세서에 제공된 방법은 a) 상기 나노입자 조성물을 3주 동안 주당 1회 투여하는 단계; b) 상기 나노입자 조성물의 투여를 1주 동안 중단하는 단계; 및 c) 종양을 치료하기 위해 필요한 만큼 단계 a) 및 b)를 반복하는 단계를 포함한다.

[0041] 일부 구체예에서, 치료적 유효량은 약 75 mg/m^2 내지 약 175 mg/m^2(즉, 환자의 m^2 당 밀리그램 담체 단백질)의 담체 단백질을 포함한다. 다른 구체예에서, 파클리탁셀은 약 75 mg/m^2 미만, 예를 들면, 5 mg/m^2 내지 75 mg/m^2의 양으로 존재한다. 다른 구체예에서, 파클리탁셀은 치료적 유효량보다 적은 양으로 존재한다. 일부 구체예에서, 치료제는 치료적 유효량으로 존재한다. 일부 구체예에서, 치료적 유효량은 약 30 mg/m^2 내지 약 70 mg/m^2의 결합제를 포함한다. 다른 구체예에서, 치료적 유효량은 약 30 mg/m^2 내지 약 70 mg/m^2의 베바시주맙을 포함한다.

[0042] 본 발명의 구체예는 담체 단백질 및 항체, 예를 들면, 종양 위에 있는 또는 종양에 의해 방출되는(shed) 항원에 특이적으로 결합하는 항체와 표면 복합체화(surface complexation)를 갖는 화학요법제를 포함하는 나노입자 중 화학요법제를 투여하는 것에 의해 화학요법제의 종양 흡수의 지속기간(duration)을 증가시키는 방법을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0043] 하기 도면은 본 발명을 나타내는 것에 불과하고, 한정으로 의도되지 않는다. 일관성을 위해, ABRAXANE® 및 베바시주맙을 이용한 본 발명의 나노입자는 두문자어 "AB"을 이용하고, AB160과 같이, AB 다음의 숫자는 이 나노입자의 평균 입자 크기(나노미터)를 부여하도록 의도된다. 마찬가지로, 결합제가 리툭시맙인 경우, 두문자어는 "AR"이고 그 뒤에 오는 숫자는 동일하다.

도 1은 파클리탁셀의 메르바인 산물(20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20, O-세코탁솔)을 형성하는, 파클리탁셀과 메르바인 시약(Meerwein's Reagent)의 반응을 보여준다.

도 2a 내지 2e는 단독이거나(도 2a), 또는 30분 동안 베바시주맙 4 mg/mL (도 2b), 6 mg/mL (도 2c), 8 mg/mL (도 2d) 또는 10 mg/mL (도 2e)와 인큐베이션된 무독성 나노입자(NTP)의 나노입자 직경을 보여준다. 직경은 Malvern Nanosight 기술을 이용하여 1:300 희석에서 측정했다.

도 3a 및 **3b**는 베바시주맙 (도 3a) 또는 리툭시맙 (도 3b)의 NTP로의 결합 친화도(Kd)를 보여준다. Bio Layer Interferometry Technology을 이용하여 Kd를 측정했다.

도 4a는 PBS 중 나노입자 복합체의 안정성을 보여준다. **도 4b**는 혈청 중 나노입자 복합체의 안정성을 보여준다.

도 5a 내지 **5g**는 이소형 대조군(isotype control)(도 5a), 항-CD20 항체(도 5b), ABRAXANE® (도 5c), AR160 (도 5d), NTP (도 5e), 리툭시맙-결합 NTP (NTRit; 도 5f), 또는 리툭시맙 단독 (도 5g)에 의한 CD20-양성 Daudi 세포의 차단(blocking)을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0044] 상세한 설명

[0045] 본 설명을 읽은 후, 다양한 대안적인 구체예 및 대안적인 적용에서 본 발명을 구현하는 방법이 본원발명이 속하는 기술 분야의 당업자에게 자명해질 것이다. 그러나, 본 발명의 모든 다양한 구체예가 본 명세서에 기재되지 않는다. 본 명세서에 제시된 구체예는 예시로만 제시되며, 한정이 아닌 것으로 이해될 것이다. 따라서, 이 다양한 대안적 구체예의 상세한 설명은 하기에 기재된 본 발명의 영역 또는 범위를 한정하는 것으로 해석되어서는 안 된다.

[0046] 본 발명을 개시하고 기술하기 전에, 하기에 기재된 양태(aspect)는 특정한 조성물, 그러한 조성물의 제조 방법, 또는 그의 용도에 한정되지 않고, 따라서, 변할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 또한, 본 명세서에서 사용된

용어는 특정 양태만을 설명하기 위한 목적이고, 한정하는 것으로 의도되지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0047] 본 발명의 상세한 설명은 단지 독자의 편의를 위해 다양한 섹션으로 분리되고 임의의 섹션에서 발견되는 개시는 또 다른 섹션의 개시와 조합될 수 있다. 제목 또는 부제(subtitle)는 본 명세서에서 독자의 편의를 위해 사용될 수 있고, 이는 본 발명의 범위에 영향을 미치는 것으로 의도되지 않는다.

[0048] ***정의***

[0049] 달리 정의되지 않으면, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서 및 뒤이은 청구항에서, 하기의 의미를 갖는 것으로 정의될 다수의 용어들에 대한 참조(reference)가 있을 것이다:

[0050] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정한 구체예를 기술하기 위한 목적만을 가지며, 본 발명의 범위를 한정하도록 의도되지 않는다. 본 명세서에서 사용된, 단수 형태 "하나(a, an)" 및 "그(the)"는, 문맥상 명확하게 달리 표시되지 않으면, 복수 형태도 포함하도록 의도된다.

[0051] "선택적(optional)" 또는 "선택적으로(optionally)"는 후속적으로 기술된 사건 또는 상황이 일어날 수 있거나 또는 일어나지 않을 수 있고, 그 기재는 사건 또는 상황이 일어난 경우 및 일어나지 않은 경우를 포함한다는 것을 의미한다.

[0052] 본 명세서에서 수치적 지정(numerical designation), 예를 들면, 범위를 포함한, 온도, 시간, 양, 농도, 등의 앞에 사용되는 경우 용어 "약(about)"은 (+) 또는 (-) 10%, 5%, 1%, 또는 그 사이의 부속 범위(subrange) 또는 부속 값(subvalue) 만큼 변할 수 있는 근사값을 나타낸다. 바람직하게는, 용량(dose amount)와 관련하여 사용될 때, 용어 "약"은 용량이 +/- 10% 변할 수 있다는 것을 의미한다. 예를 들면, "약 400 내지 800 개의 결합제(about 400 내지 약 800 binding agents)"는 나노입자의 외부 표면이 약 360개 내지 880개의 입자의 결합제의 양을 포함한다는 것을 나타낸다.

[0053] "포함하는(comprising)" 또는 "포함하다(comprises)"는 조성물 및 방법이 기재된 요소들을 포함하나, 다른 것들을 배제하지 않는다는 것을 의미하는 것으로 의도된다. 조성물 및 방법을 정의하기 위해 사용된 경우, "필수적으로 구성된(consisting essentially of)"은 명시된 목적을 위한 조합에 대한 필수적 중요성(essential significance)의 다른 요소들을 배제하는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서에 정의된 요소들로 필수적으로 구성된 조성물은 청구된 발명의 기본적 및 신규한 특징에 실질적으로 영향을 미치지 않는 기타 물질 또는 단계를 배제하지 않을 것이다. "구성된(consisting of)"은 기타 성분 및 실질적인 방법 단계의 미량 요소를 초과하는 것들을 배제하는 것을 의미할 것이다. 이러한 전환 용어 각각에 의해 정의된 구체예가 본 발명의 범위 내에 속한다.

[0054] 본 명세서에서 사용된 용어 "나노입자(nanoparticle)"는 5 마이크론 미만인 하나 이상의 크기(dimension)를 갖는 입자를 의미한다. 바람직한 구체예에서, 예를 들면, 정맥내 투여를 위한 것들의 경우, 나노입자는 1 마이크론 미만이다. 직접 투여의 경우, 나노입자는 더 크다. 훨씬 더 큰 입자가 명확하게 본 발명에 의해 고려된다.

[0055] 입자의 집단에서, 개별적인 입자의 크기는 평균의 주위에 분포된다. 따라서, 집단의 입자 크기는 평균에 의해, 및 또한, 백분위수(percentile)에 의해 나타낼 수 있다. D50은 입자의 50%가 그보다 작은 입자 크기이다. 입자의 10%는 D10 값보다 더 작고, 입자의 90%는 D90보다 더 작다. 불명확한 경우, "평균(average)" 크기는 D50과 동등하다. 따라서, 예를 들면, AB160 및 AR160은 160 나노미터의 평균 크기를 갖는 나노입자를 의미한다.

[0056] 용어 "나노입자(nanoparticle)"는 또한 보다 작은 단위 나노입자들의 별개의 다량체(discrete multimer)를 포함할 수 있다. 160 nm 나노입자의 경우, 따라서, 다량체는 대략적으로 320 nm, 480 nm, 640 nm, 800 nm, 960 nm, 1120 nm, 등일 것이다.

[0057] 본 명세서에서 사용된 용어 "담체 단백질(carrier protein)"은 결합제 및/또는 치료제를 수송하기 위해 기능하는 단백질을 의미한다. 본 개시의 결합제는 가역적으로 담체 단백질에 결합할 수 있다. 담체 단백질의 예는 하기에서 보다 상세하게 검토된다.

[0058] 본 명세서에서 사용된 용어 "코어(core)"는 담체 단백질, 담체 단백질과 치료제, 또는 기타 작용제, 또는 작용제들의 조합으로 구성될 수 있는 나노입자의 중심 부분 또는 속 부분(inner portion)을 의미한다. 일부 구체예에서, 결합제의 알부민-결합 모티프는 코어와 결합될 수 있다.

[0059] 본 명세서에서 사용된 용어 "치료제(therapeutic agent)"는 치료적으로 유용한 작용제, 예를 들면, 질병 상태,

생리적 상태(physiological condition), 증상, 병인적 요인(etiological factor)의 치료, 진정(remission), 또는 약화(attenuation)을 위한 작용제, 또는 그의 평가 또는 진단을 위한 작용제를 의미한다. 치료제는 화학요법제(chemotherapeutic agent), 예를 들면, 유사분열 저해제(moitotic inhibitor), 토포이소머라아제 저해제(topoisomerase inhibitor), 스테로이드, 항-종양 항생제(anti-tumor antibiotic), 대사길항제(antimetabolite), 알킬화제(alkylating agent), 효소, 프로테오좀 저해제(proteasome inhibitor), 또는 이들의 조합일 수 있다.

[0060] 본 명세서에서 사용된, 용어 "결합제(binding agent)", "특이적 결합제(binding agent specific for)" 또는 "특이적으로 결합하는 결합제(binding agent that specifically binds)"는 표적 항원에 결합하고, 관련없는 화합물에 유의성있게 결합하지 않는 작용제를 의미한다. 개시된 방법에서 효과적으로 사용될 수 있는 결합제의 예는 렉틴, 단백질, 및 항체, 예를 들면, 단일클론 항체, 예를 들면, 인간화 단일클론 항체, 키메라 항체(chimeric antibody), 또는 다중클론 항체, 또는 그의 항원-결합 단편, 및 앱타머(aptamer), 융합 단백질, 및 알부민-결합 모티프를 갖거나 또는 그에 융합된 앱타머를 포함하나, 그에 한정되지 않는다. 일 구체예에서, 결합제는 외생 항체(exogenous antibody)이다. 외생 항체는 특정 포유동물, 예를 들면, 인간에서 포유동물 면역계에 의해 천연적으로 생성되지 않는 항체이다.

[0061] 본 명세서에서 사용된 용어 "항체(antibody)" 또는 "항체들(antibodies)"은 면역글로불린 분자(즉, 면역-특이적으로 항원에 결합하는 항원 결합 부위를 포함하는 분자) 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분(immunologically active portion)을 의미한다. 이 용어는 또한 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄로 구성된 항체 및 전장 항체(full length antibody) 및 그의 부분을 포함하는 다양한 형태를 의미하고; 예를 들면, 면역글로불린 분자, 단일클론 항체, 키메라 항체, CDR-그라프트 항체(CDR-grafted antibody), 인간화 항체(humanized antibody), Fab, Fab', F(ab')2, Fv, 이황화결합-연결 Fv(disulfide linked Fv), scFv, 단일 도메인 항체(dAb), 디아바디(diabody), 다중특이성 항체(multispecific antibody), 이중 특이성 항체(dual specific antibody), 항-유전자형 항체(anti-idiotypic antibody), 이중 특이성 항체(bispecific antibody), 그의 기능적 활성 에피토프-결합 단편(functionally active epitope-binding fragment thereof), 이관능성 하이브리드 항체(bifunctional hybrid antibodies)(예를 들면, Lanzavecchia *et al.*, *Eur. J Immunol.* 17, 105 (1987)) 및 단쇄 (예를 들면, 참조에 의해 본 명세서에 포함된, Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. US.A.*, 85, 5879-5883 (1988) and Bird *et al.*, *Science* 242, 423-426 (1988))를 포함한다. (일반적으로, 참조에 의해 본 명세서에 포함된, Hood *et al.*, *Immunology,* Benjamin, N.Y., 2ND ed. (1984); Harlow and Lane, *Antibodies. A Laboratory Manual,* Cold Spring Harbor Laboratory (1988); Hunkapiller and Hood, *Nature,* 323, 15-16 (1986) 참조). 항체는 임의의 종류일 수 있다(예를 들면, IgG, IgA, IgM, IgE 또는 IgD). 바람직하게는, 항체는 IgG이다. 항체는 비-인간(non-human)(예를 들면, 마우스, 염소, 또는 임의의 다른 동물 유래) 항체, 완전 인간(fully human) 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체일 수 있다. 항체는 본 명세서에 개시된 항체의 바이오시밀러(biosimilar)를 포함한다. 본 명세서에서 사용된, 바이오시밀러는 혁신 기업(innovator company)에 의해 판매되는 기준 제품(reference product) 대비 특성, 안전성, 및 효능에서 비교할 만한 것으로 여겨지는 생물의약품(biopharmaceutical)을 의미한다(공중 보건 서비스 법(Public Health Service Act)(42 U.S.C. 262(i))의 섹션 351(i)).

[0062] "K_d"로도 지칭되는 용어 "해리 상수(dissociation constant)"는 특정 물질이 개별적인 성분(예를 들면, 단백질 담체, 항체, 및 치료제)으로 분리되는 정도를 표현하는 양을 의미한다.

[0063] 본 명세서에서 사용된 용어 "동결건조된(lyophilized)", "동결건조(lyophilization)", 등은 건조대상 물질(예를 들면, 나노입자)이 먼저 동결되고 그 후, 얼음 또는 동결된 용매가 진공 환경에서 승화에 의해 제거되는 것인 과정을 의미한다. 보관 시 동결건조된 제품의 안정성을 강화하기 위해 미리-동결건조된 제형에 선택적으로 부형제가 포함된다. 일부 구체예에서, 나노입자는 치료제로 사용되기 전에 동결건조된 성분들(담체 단백질, 파클리탁셀, 및 선택적으로 항체 및/또는 치료제)로부터 형성될 수 있다. 다른 구체예에서, 담체 단백질 및 파클리탁셀, 및 선택적으로 결합제, 예를 들면, 항체, 및/또는 치료제를 먼저 나노입자 내로 조합하고, 그 후, 동결건조시킨다. 동결건조된 시료는 추가적인 부형제를 더 포함할 수 있다.

[0064] 용어 "벌킹제(bulking agent)"는 동결-건조된 제품의 구조를 제공하는 작용제를 포함한다. 벌킹제를 위해 사용되는 일반적인 예는 만니톨, 글리신, 락토오스, 및 수크로오스를 포함한다. 약제학적으로 유리한(pharmaceutically elegant) 케이크를 제공하는 것 외에, 벌킹제는 또한 붕괴(collapse) 온도의 변화, 동결-해동(freeze-thaw) 보호의 제공, 및 장기간 보관시 단백질 안정성 강화의 측면에서 유용한 특성을 부여할 수

있다. 이러한 작용제는 장성 변형제(tonicity modifier)로 작용할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 동결건조된 조성물은 벌킹제를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 기재된 동결건조된 조성물은 벌킹제를 포함하지 않는다.

[0065] 용어 "완충제(buffer)"는 동결건조 전에 용액 pH를 허용가능한 범위에서 유지시키는 작용제들을 포함하고, 숙시네이트(소디움 또는 포타슘), 히스티딘, 포스페이트(소디움 또는 포타슘), 트리스(Tris)(트리스(히드록시메틸)아미노메탄), 디에탄올아민, 시트레이트(소디움), 등을 포함할 수 있다. 본 발명의 완충제는 약 5.5 내지 약 6.5 범위의 pH를 갖고, 바람직하게는 약 6.0의 pH를 갖는다. pH를 이 범위에서 조절할 완충제의 예는 숙시네이트(예를 들면, 소디움 숙시네이트), 글루코네이트, 히스티딘, 시트레이트, 및 기타 유기산 완충제(organic acid buffer)를 포함한다.

[0066] 용어 "동결 보호제(cryoprotectant)"는 추정하건대 단백질 표면으로부터 우선적으로(preferentially) 제외되는 것에 의해 동결-유도 스트레스에 대해 단백질의 안정성을 제공하는 작용제를 전반적으로 포함한다. 그들은 또한 일차 및 이차 건조 및 장기간 제품 보관 동안 보호를 제공할 수 있다. 예는 폴리머, 예를 들면, 덱스트란 및 폴리에틸렌 글리콜; 당, 예를 들면, 수크로오스, 글루코오스, 트레할로오스, 및 락토오스; 계면활성제, 예를 들면, 폴리소르베이트; 및 아미노산, 예를 들면, 글리신, 아르기닌, 및 세린이다.

[0067] 용어 "동결건조 보호제(lyoprotectant)"는 추정하건대 무정형의 유리 같은 매트릭스(amorphous glassy matrix)를 제공하고 수소 결합을 통해 단백질과 결합하여, 건조 과정 동안 제거되는 물 분자를 대체하는 것에 의해, 건조 또는 '탈수(dehydration)' 과정(일차 및 이차 건조 사이클) 동안 단백질에 안정성을 제공하는 작용제를 포함한다. 이는 동결건조 사이클 동안 단백질 구조(protein conformation)를 유지하고, 단백질 분해를 최소화하며, 장기 제품(long-term product)을 개선시키는데 기여한다. 예는 폴리올 또는 당, 예를 들면, 수크로오스 및 트레할로오스를 포함한다.

[0068] 용어 "약제학적 제형(pharmaceutical formulation)"은 활성 성분이 유효할 수 있게 하는 형태이고, 제형이 투여되는 개체에게 유독한 어떠한 추가적인 성분도 포함하지 않는 제제(preparation)를 의미한다.

[0069] "약제학적으로 허용가능한(pharmaceutically acceptable)" 부형제(비히클, 첨가제)는 사용된 활성 성분의 유효량을 제공하기 위해 대상 포유동물에 합리적으로 투여될 수 있는 것들이다.

[0070] "재구성 시간(reconstitution time)"은 동결건조된 제형을 용액으로 재수화시키기 위해 요구되는 시간이다.

[0071] "안정한(stable)" 제형은 보관시, 그 내부의 단백질이 필수적으로 그의 물리적 안정성 및/또는 화학적 안정성 및/또는 생물학적 활성을 유지하는 것인 제형이다. 예를 들면, 단백질 안정성을 측정하는 다양한 분석 기법들이 당해 기술 분야에서 이용가능하고, Peptide and Protein Drug Delivery, 247-301, Vincent Lee Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Pubs. (1991) and Jones, A. Adv. Drug Delivery Rev. 10:29-90 (1993)에서 리뷰된다. 안정성은 선택된 기간 동안 선택된 온도에서 측정될 수 있다.

[0072] 본 명세서에서 사용된 용어 "에피토프(epitope)"는 결합제, 예를 들면, 항체에 의해 인식되는 항원의 부분을 의미한다. 에피토프는 단백질(예를 들면, 항체) 또는 리간드와 특이적 상호작용을 가능하게 하는, 짧은 아미노산 서열 또는 펩티드(선택적으로 글리코실화되거나 또는 달리 변형된 펩티드 또는 아미노산 서열)를 포함하나, 그에 한정되지 않는다. 예를 들면, 에피토프는 결합제의 항원-결합 부위가 부착되는 분자의 부분일 수 있다.

[0073] 용어 "치료하는(treating)" 또는 "치료(treatment)"는 개체, 예를 들면, 인간에서 질병 또는 질환(예를 들면, 암)의 치료를 의미하고, (i) 질병, 또는 질환의 억제, 즉, 그의 발달(development)의 정지; (ii) 질병 또는 질환의 완화, 즉, 질병 또는 질환의 경감(regression) 유발; (iii) 질병 또는 질환의 진행 둔화; 및/또는 질병 또는 질환의 하나 이상의 증상의 억제, 완화, 또는 진행 둔화를 포함한다. 일부 구체예에서, "치료하는" 또는 "치료"는 암세포를 사멸시키는 것을 의미한다.

[0074] 암 치료와 관련하여, 용어 "사멸(kill)" 또는 "사멸시키는(killing)"은 암세포, 또는 암세포의 집단의 적어도 일부의 사망을 초래할 임의의 종류의 조작(manipulation)을 포함하는 것으로 지시된다.

[0075] 용어 "앱타머(aptamer)"는 표적 분자, 예를 들면, 폴리펩티드에 결합할 수 있는 핵산 분자를 의미한다. 예를 들면, 본 발명의 앱타머는 CD20, CD38, CD52, PD-1, PD-L1, PD-L2, Ly6E, HER2, HER3/EGFR DAF, ERBB-3 수용체, CSF-1R, STEAP1, CD3, CEA, CD40, OX40, Ang2-VEGF, 및 VEGF에 특이적으로 결합할 수 있다. 특정한 결합 특이성을 갖는 항체의 생성 및 앱타머의 치료적 용도는 당해 기술 분야에서 잘 확립되어 있다. 예를 들면, 각각 참조에 의해 그 전체가 본 명세서에 포함된, 미국특허 제5,475,096호, 미국특허 제5,270,163호, 제5,582,981호,

제5,840,867호, 제6,011,020호, 제6,051,698호, 제6,147,204호, 제6,180,348호, 및 제6,699,843호, 및 연령-관련 황반 변성(age-related macular degeneration)의 치료를 위한 Macugen® (Eyetech, New York)의 치료 효능을 참조한다.

[0076] 본 명세서에서 사용된 용어 "올리고머(oligomer)" 또는 "올리고머성(oligomeric)" 또는 "올리고머화된(oligomerized)"은 둘 이상의 단량체로 구성된 올리고머를 의미한다.

[0077] 융합 단백질은 원하는 구조-기능 특성 및 유의성 있는 치료 효능을 갖는 분자를 생성하기 위해 하나의 단백질 또는 그의 단편(예를 들면, 항체의 결정성(crystallizable) 단편(Fc) 도메인)을 또 다른 생물학적 활성제(biologically active agent)(예를 들면, 단백질 도메인, 펩티드, 또는 핵산 또는 펩티드 앱타머)에 연결한 생물공학적으로 생성된(bioengineered) 폴리펩티드이다. 효과기(effector) 기능의 동원(recruitment) 및 증가된 혈장 반감기와 같은 유리한 특징 때문에, IgG(gamma immunoglobulin) 이소형이 종종 Fc-융합 단백질을 생성하기 위한 기반으로 이용된다. 융합 파트너로서 이용될 수 있는, 펩티드 및 핵산 앱타머의 범위를 고려할 때, 융합 단백질은 다수의 생물학적 및 약제학적 응용을 갖는다.

[0078] 용어 "무독성 나노입자(non-toxic nanoparticle)"(NTP) 또는 "NTP 복합체(NTP complex)"는 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 및 파클리탁셀보다 덜 독성인 파클리탁셀 유도체를 포함하는 나노입자를 의미한다. 선택적으로, NTP 또는 NTP 복합체는 결합제(예를 들면, 항체) 및/또는 치료제(예를 들면, 화학요법제)를 포함한다.

[0079] 어구 "파클리탁셀보다 덜 독성인(less toxic than paclitaxel)"은 파클리탁셀에 비해, 암세포 및 정상 세포를 포함한 세포에 대한 감소된 독성(예를 들면, 감소된 사멸)을 보이는 파클리탁셀 유도체를 의미한다. 예를 들면, 파클리탁셀의 메르베인(Meerwein) 산물(20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20, O-세코탁솔)은 아마도 파클리탁셀의 C-4,C-5 옥세탄 고리의 분해로 인해 유의성 있게 감소된 독성을 갖는다.

[0080] 용어 "감소된 독성 나노입자(reduced toxicity nanoparticle)"(RTP) 또는 "RTP 복합체(RTP complex)"는 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 및 ABRAXANE® 대비 감소된 양의 파클리탁셀(예를 들면, 약 9:1의 알부민:파클리탁셀 비)을 포함하는 나노입자를 의미한다. 선택적으로, RTP 또는 RTP 복합체는 결합제(예를 들면, 항체) 및/또는 치료제(예를 들면, 화학요법제)를 포함한다.

[0081] 추가적으로, 본 명세서에서 사용된 일부 용어가 하기에서 보다 구체적으로 정의된다.

[0082] ***개요***

[0083] 주사 현탁액용 ABRAXANE®(ABRAXANE® for Injectable Suspension) (주사 현탁액용 파클리탁셀 단백질-결합 입자)은 약 130 나노미터의 평균 입자 크기를 갖는 파클리탁셀의 알부민-결합 형태이다. 파클리탁셀은 비정질, 무정형 상태의 입자로 존재할 수 있다. ABRAXANE®은 예를 들면, 정맥내 주입 전에, 20 mL의 0.9% Sodium Chloride Injection, USP에 의한 재구성을 위한 동결건조된 분말로 공급될 수 있다. 단일-사용 바이알(single-use vial)은 100 mg의 파클리탁셀 및 약 900 mg의 인간 알부민을 포함한다. 재구성된 현탁액의 각 밀리리터(mL)는 5 mg 파클리탁셀을 포함한다.

[0084] Abraxane® 나노입자는 안정화된 알부민-결합 파클리탁셀이다. 파클리탁셀과 알부민의 결합(association)은 예를 들면, 소수성 상호작용을 통해 일어날 수 있다. 일부 예에서, 나노입자는 130 nm의 평균 크기에서 안정하다. 기타 소수성 약물, 예를 들면, 도세탁셀, 라파마이신이 알부민에 결합하는 것에 의해 유사하게 안정화된 나노입자를 형성할 수 있다는 것이 또한 알려져 있다.

[0085] 통상적인(conventional) ADC가 효과적이기 위해서는, 링커가 전신 순환에서 해리되지 않으나, 종양 부위에서 충분한 약물 방출을 가능하게 하도록 충분히 안정한 것이 중요하다. Alley, S.C., *et al.* (2008) *Bioconjug Chem* 19:759-765. 이것이 효과적인 약물 컨쥬게이트의 개발에서 주요한 장애인 것으로 입증되었다(Julien, D.C., *et al.* (2011) *MAbs* 3:467-478; Alley, S.C., *et al.* (2008) *Bioconjug Chem* 19:759-765); 따라서, 본 명세서에 기재된 나노-면역 컨쥬게이트의 매력적인 특징은 생화학적 링커가 요구되지 않는다는 것이다.

[0086] 기존 ADC의 또 다른 단점은 종양으로의 더 높은 약물 침투율(penetration)이 인간 종양에서 실질적으로 입증되지 않았다는 것이다. 마우스 모델에서 ADC의 초기 테스트는 항체를 이용한 종양 표적화(targeting)가 종양에서 활성제의 더 높은 농도를 가져올 것이라는 것을 시사했다(Deguchi, T. *et al.* (1986) *Cancer Res* 46: 3751-3755); 그러나, 아마도 인간 종양은 마우스 종양보다 투과율이 훨씬 더 이질적(heterogenous)이기 때문에, 이는 인간 질환의 치료에서 상관관계가 입증되지 않았다. Jain, R.K. *et al.* (2010) *Nat Rev Clin Oncol* 7:653-664. 또한, 나노입자의 크기가 혈관계(vasculature)로부터 종양으로의 혈관외 유출(extravasation)을 위해 중요하다.

인간 결장 선암종 이종이식 모델(human colon adenocarcinoma xenotransplant model)을 이용한 마우스 연구에서, 혈관 포어(vascular pore)는 최대 400 nm의 리포좀에 대해 투과성이 있었다. Yuan, F., *et al.* (1995) *Cancer Res* 55: 3752-3756. 종양 포어 크기 및 투과성의 또 다른 연구는 두 특징이 모두 종양 위치 및 성장 상태에 의존적이고, 퇴행성(regressing) 종양 및 두개 종양(cranial tumor)은 200 nm 미만의 입자에 대해 투과성이 있다는 것을 보여주었다. Hobbs, S.K., *et al.* (1998) *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:4607-4612. 본 명세서에 기재된 나노-면역 컨쥬게이트(nano-immune conjugate)(나노입자)는 200 nm 미만의 온전한 큰 복합체가 전신 순환에서 종양 조직에 용이하게 침투할 수 있는 더 작은 기능적 단위로 부분적으로 해리된다는 사실에 의해 이 이슈를 극복한다. 또한, 컨쥬게이트가 종양 부위에 도달하면, 더 작은 독성 탑재물(payload)이 방출되고, 전체 컨쥬게이트가 아닌, 독성 부분만 종양 세포에 의해 흡수되면 된다.

[0087] 치료제(즉, ABRAXANE®)를 포함하는 항체-(즉, AVASTIN®) 코팅 알부민 나노입자의 등장은 인 비보에서 2종 이상의 치료제의 예정된(predetermined) 부위로의 방향성 전달의 새로운 패러다임을 가져왔다. 각각이 참조에 의해 그 전체가 본 명세서에 포함된, PCT 특허 공개 WO 2012/154861 및 WO 2014/055415를 참조한다.

[0088] 그러나, 일부 암은 ABRAXANE®-항체 복합체 중 파클리탁셀에 의해 치료되지 않을 것이고, 및/또는 기타 치료제(예를 들면, 항암 화학요법제)가 특정 암을 치료하는데 보다 효과적일 것으로 고려된다. 본 명세서에, 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 및 감소된 양의 파클리탁셀(예를 들면, ABRAXANE® 대비 감소된 양)을 포함하는 감소된 독성 나노입자(RTP), 또는 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 및 파클리탁셀보다 덜 독성인 파클리탁셀 유도체를 포함하는 무독성 나노입자(NTP)가 개시된다. 나노입자는 치료제 및/또는 결합제(예를 들면, 항체)를 더 포함할 수 있다.

[0089] ***나노입자 및 나노입자 조성물***

[0090] 본 개시를 읽은 후 당업자에게 자명할 바와 같이, 본 개시는 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 및 파클리탁셀 유도체 (예를 들면, 파클리탁셀보다 덜 독성인 유도체), 또는 감소된 양(예를 들면, 치료량 및/또는 ABRAXANE® 중 양 대비 감소된 양)의 파클리탁셀을 포함하는 나노입자 및 나노입자의 조성물에 관한 것이다. 일부 구체예에서, 나노입자는 또한 결합제 및/또는 치료제를 포함한다. 일부 구체예에서, 나노입자 또는 나노입자 조성물은 동결건조된다.

[0091] 본 발명은 또한, 부분적으로 담체 단백질 및 ABRAXANE®에 존재하는 것보다 더 낮은 양의 파클리탁셀 또는 파클리탁셀보다 (예를 들면, 세포에 대해) 덜 독성인 파클리탁셀 유도체와 선택적으로 결합제 및/또는 치료제를 포함하는 나노입자의 형성에 근거한다. 이론에 의해 한정되지 않으면서, 그러한 나노입자는 환자에게 독성을 최소화하면서, 종양으로의 표적화된 치료를 제공하고, 전통적으로 파클리탁셀에 민감하지 않고 및/또는 다른 치료제에 더 우수하게 반응하는 종양을 치료하기 위해 사용될 수 있는 것으로 사료된다.

[0092] 일부 구체예에서, 담체 단백질은 알부민, 젤라틴, 엘라스틴(토포엘라스틴 포함) 또는 엘라스틴-유래 폴리펩티드(예를 들면, α-엘라스틴 및 엘라스틴-유사 폴리펩티드(elastin-like polypeptides)(ELPs)), 글리아딘(gliadin), 레구민(legumin), 제인(zein), 대두 단백질(예를 들면, 대두 단백질 단리물(SPI)), 유 단백질(milk protein) (예를 들면, β-락토글로불린(BLG) 및 카세인), 또는 유청 단백질 (예를 들면, 유청 단백질 농축물(WPC) 및 유청 단백질 단리물(whey protein isolate)(WPI))일 수 있다. 바람직한 구체예에서, 담체 단백질은 알부민이다. 바람직한 구체예에서, 알부민은 난백(egg white)(오브알부민), 우혈청 알부민(BSA), 등이다. 훨씬 더 바람직한 구체예에서, 담체 단백질은 인간 혈청 알부민(HSA)이다. 일부 구체예에서, 담체 단백질은 재조합 단백질(예를 들면, 재조합 HSA)이다. 일부 구체예에서, 담체 단백질은 미국 식품의약국(FDA)에 의해 허가된 GRAS(generally regarded as safe) 부형제이다.

[0093] 일부 구체예에서, 결합제는 아도-트라스투주맙 엠탄신(ado-trastuzumab emtansine), 알렘투주맙, 아테졸리주맙, 베바시주맙, 세툭시맙, 데노수맙, 디누툭시맙, 이필리무맙, 니볼루맙, 오비누투주맙, 오파투무맙, 파니투무맙, 펨브롤리주맙, 페르투주맙, 리툭시맙, 아벨루맙 또는 두르발루맙, 피딜리주맙, BMS 936559, 및 트라스투주맙으로부터 선택된 항체이다. 일부 구체예에서, 항체는 표 1에 열거된 항체로부터 선택된다. 일부 구체예에서, 항체는 나노입자의 표면의 전체 또는 일부 상에 있는 항체의 실질적 단일층이다.

[0094] 표 1은 항체의 비-한정적 목록을 나타낸다.

[0095] **표 1: 항체**

표 1

[0096]

생물의약품(Biologic)	치료/표적
리툭시맙 (Rituxan®)	비-호지킨 림프종
알렘투주맙 (Campath®)	만성 림프구성 백혈병(CLL)
이필리무맙 (Yervoy®)	전이성 흑색종
베바시주맙 (Avastin®)	결장암, 폐암, 신장암, 난소암, 다형성 교모세포종
세툭시맙 (Erbitux®)	대장암, 비소세포폐암(NSCLC), 두경부암, 자궁경부암, 교모세포종, 난소 상피, 난관, 또는 원발성 복막 암, 신장세포 암
파니투무맙(Vectibix®)	대장암
트라스투주맙(Herceptin®)	유방암, 선암(Adenocarcinoma)
^{90}Y-이브리투모맙 티욱세탄(Zevalin®)	비-호지킨 림프종
브렌툭시맙 베도틴(Adcetris®)	호지킨 림프종, 역형성 대세포 림프종(Anaplastic large cell lymphoma)
블리나투모맙 (Blincyto)	급성 림프구성 백혈병(ALL)
펨브롤리주맙 (Keytruda®)	PD-1 (흑색종, 비소세포폐암)
니볼루맙 (Opdivo®)	PD-1 (흑색종, 비소세포폐암)
오파투무맙 (Arzerra®)	만성 림프구성 백혈병(CLL)
페르투주맙 (Perieta®)	유방암
오비누투주맙(Gazyva®)	림프종, DLBCL(diffuse large B-cell lymphoma), 무통성(indolent) NHL (1st-line)
디누툭시맙 (Unitux jn®)	신경모세포종
데노수르납 (Prolia®)	골 전이, 다발성 골수종, 골 거대세포종(giant cell tumor of bone)
RG6016 (LSD1 저해제) mAB BioCentury BCIQ에 따른 소형 분자	급성 골수성 백혈병(AML)
RG7882 (항체 약물 컨쥬게이트) 대체 명칭(Alternative Names): D-4064A; DMUC 4064A; RG7882	췌장암, 난소암
리파스투주맙 베도틴 (항체 약물 컨쥬게이트)	백금계-내성(Platinum-resistant) 난소암, NSCLC
폴라투주맙 베도틴 (항체 약물 컨쥬게이트)	DLBCL, NHL
RG7446 (항-PD-L1 mAb)	방광암, NSCLC, 흑색종, 유방암, 신장세포 암종, 림프종
아테졸리주맙 (Tecentriq®, 항-PD-L1)	방광암, 전이성 NSCLC
DLYE-5953A (항-Ly6E mAB 세포독성 약물 컨쥬게이트)	불응성 고형 종양
둘리고투주맙 (항-HER3/EGFR DAF mAb)	돌연변이 KRAS를 갖는 고형 종양
RG7117 (ERBB-3 수용체 길항제)	전이성 유방암
RG7155 (CSF-1R 길항제)	고형 종양
RG7450 (항-STEAP1 항체 약물 컨쥬게이트)	전립선암
RG7802 (CD3/CEA 이중 특이성 항체)	고형 종양
RG7813 (CEA 저해제)	고형 종양
RG7841 (항체 약물 접합체)	고형 종양
RG7876 (CD40 항원 자극제)	고형 종양
RG7888 (항-OX40 mAb)	고형 종양
RG7221 (Ang2-VEGF mAb)	전이성 대장암
RG7686 (글리피칸-3 mAb)	간세포 암종(Hepatocellular carcinoma)
Perjeta® 페루투주맙	HER3-양성 유방암, 위암
아벨루맙(항-PD-L1 mAb)	고형 종양, 위암, 메르켈 세포 암종(Merkel cell carcinoma), 비소세포폐암
두르발루맙(항-PD-L1 mAb)	NSCLC, 두경부암, 방광암, 위암, 췌장암, HCC 및 혈액암
피딜리주맙/CT-011(항-PD-1 mAb)	림프종, 골수종
BMS 936559/MDX-1105 (항-PD-L1 mAb)	흑색종, 비소세포폐암

[0097] 일부 구체예에서, 상기 하나 이상의 치료제는 아비라테론, 벤다무스틴, 보르테조밉, 카르보플라틴, 카바지탁셀,

시스플라틴, 클로람부실, 다사티닙, 도세탁셀, 독소루비신, 에피루비신, 에를로티닙, 에토포시드, 에베롤리무스, 게피티닙, 이다루비신, 이마티닙, 히드록시우레아, 이마티닙, 라파티닙, 류프로렐린, 멜팔란, 메토트렉세이트, 미톡산트론, 네다플라틴, 닐로티닙, 옥살리플라틴, 파조파닙, 페메트렉세드, 피코플라틴, 로미뎁신, 사트라플라틴, 소라페닙, 베무라페닙, 수니티닙, 테니포시드, 트리플라틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈크리스틴, 및 시클로포스파미드로부터 선택된다.

[0098] 표 2는 치료제의 비-한정적 목록을 나타낸다. 일 구체예에서, 치료제는 표 2에 기재된 작용제들로부터 선택된다.

[0099] **표 2: 암 치료제**

표 2

[0100]

암 치료제	
약물	**표적**
Abitrexate (Methotrexate)	급성 림프모구성 백혈병; 유방암; 임신성 융모성 질환, 두경부암; 폐암; 균상 식육종(mycosis fungoides); 비-호지킨 림프종; 골육종
Ado-Trastuzumab Emtansine	유방암
Adriamycin (Doxorubicin Hydrochloride)	급성 림프모구성 백혈병; 급성 골수성 백혈병; 유방암, 위암; 호지킨 림프종; 신경모세포종; 비-호지킨 림프종; 난소암; 소세포 폐암; 연조직 및 골 육종; 갑상선암; 이행세포 방광암; 윌름스 종양
Adrucil, Efudex, Fluoroplex (Fluorouracil)	기저세포 암종; 유방암; 대장암; 위 선암; 췌장암; 두경부 편평세포 암종
Afinitor (Everolimus)	유방암, 췌장암; 신장세포 암종; 뇌실막하거대세포성 상세포종(SGCA)
Alimta (Pemetrexed Disodium)	악성 흉막 중피종; 비소세포폐암
Ambochlorin, Leukeran, 또는 Linfolizin (Chlorambucil)	만성 림프구성 백혈병; 호지킨 림프종; 비-호지킨 림프종
Aredia (Pamidronate Disodium)	유방암; 다발성 골수종
Arimidex (Anastrozole)	유방암
Aromasin (Exemestane)	진행 유방암; 에스트로겐 수용체 양성 초기(early-stage) 유방암
Arranon (Nelarabine)	T-세포 급성 림프모구성 백혈병; T-세포 림프모구성 림프종
BEACOPP	호지킨 림프종
Becenum, BiCNU (Carmustine)	뇌종양; 호지킨 림프종; 다발성 골수종; 비-호지킨 림프종
Beleodaq (Belinostat)	말초 T-세포 림프종
BEP	난소 생식세포 종양; 정소 생식세포 종양
Bleomycin	호지킨 림프종; 비-호지킨 림프종; 음경암; 자궁경부 편평세포 암종; 두경부 편평세포 암종; 음문 편평세포 암종; 고환암
Bosulif (Bosutinib)	만성 골수성 백혈병
Busulfex or Myleran (Busulfan)	만성 골수성 백혈병
CAF	유방암
Camptosar (Irinotecan Hydrochloride)	대장암
CAPOX	대장암
Casodex (Bicalutamide)	전립선암
CeeNU (Lomustine)	뇌종양; 호지킨 림프종
Ceritinib	비소세포폐암
CHOP	비-호지킨 림프종
Clofarex (Clofarabine)	급성 림프모구성 백혈병
CMF	유방암
Cometriq (Cabozantinib-S-Malate)	수질성 갑상선암
COPP	호지킨 림프종; 비-호지킨 림프종
COPP-ABV	호지킨 림프종
Cosmegen (Dactinomycin)	유잉 육종(Ewing sarcoma); 임신성 융모성 질환; 횡문근육종; 고형 종양; 고환암; 윌름스 종양
CVP	비-호지킨 림프종; 만성 림프구성 백혈병

Cyfos (Ifosfamide)	고환 생식세포 종양
Cytoxan or Neosar (Cyclophosphamide)	급성 림프모구성 백혈병; 급성 골수성 백혈병; 유방암; 만성 림프구성 백혈병; 만성 골수성 백혈병; 호지킨 림프종; 다발성 골수종; 균상 식육종; 신경모세포종; 비-호지킨 림프종; 난소암; 망막모세포종
Dacarbazine	호지킨 림프종; 흑색종
Dacogen (Decitabine)	골수형성이상 증후군
Degarelix	전립선암
Denileukin Diftitox	피부 T-세포 림프종
Denosumab	골 거대세포종; 유방암, 전립선암
DepoCyt ar DepoFoam (Liposomal Cytarabine)	림프종성 수막염
DTIC-Dome (Dacarbazine)	호지킨 림프종; 흑색종
Ellence (Epirubicin Hydrochloride)	유방암
Eloxatin (Oxaliplatin)	대장암; II기 결장암(stage II colon cancer)
Emend (Aprepitant)	화학요법에 의해 유발된 오심 및 구토 및 수술후 오심 및 구토
EPOCH	비-호지킨 림프종
Erbitux (Cetuximab)	대장암; 두경부 편평세포 암종
Eribulin Mesylate	유방암
Erivedge (Vismodegib)	기저세포 암종
Erlotinib Hydrochloride	비소세포폐암; 췌장암
Erwinaze (Asparaginase Erwinia chrysanthemi)	급성 림프모구성 백혈병
Etopophos (Etoposide Phosphate)	소세포 폐암; 고환암
Evacet or LipoDox or Doxil (Doxorubicin Hydrochloride Liposome)	AIDS-관련 카포시 육종; 다발성 골수종; 난소암
Evista or Keoxifene (Raloxifene Hydrochloride)	유방암
Fareston (Toremifene)	유방암
Farydak (Panobinostat)	다발성 골수종
Faslodex (Fulvestrant)	유방암
FEC	유방암
Femara (Letrozole)	유방암
Filgrastim	호중구 감소증
Fludara (Fludarabine Phosphate)	만성 림프구성 백혈병
FOLFIRI	대장암
FOLFIRI-BEVACIZUMAB	대장암
FOLFIRI-CETUXIMAB	대장암
FOLFIRINOX	췌장암
FOLFOX	대장암
Folotyn (Pralatrexate)	말초 T-세포 림프종
FU-LV	대장암; 식도암; 위암
GEMCITABINE-CISPLATIN	담도암; 방광암; 자궁경부암; 악성 중피종; 비소세포폐암; 난소암; 췌장암
GEMCITABINE-OXALIPLATIN	췌장암
Gemzar (Gemcitabine Hydrochloride)	유방암; 비소세포폐암; 난소암; 췌장암
Gilotrif (Afatinib Dimaleate)	비소세포폐암
Gleevec (Imatinib Mesylate)	급성 림프모구성 백혈병; 만성 호산구성 백혈병 또는 과호산구 증후군; 만성 골수성 백혈병; 융기성 피부섬유육종; 위장관 기질 종양; 골수형성이상/골수증식성 신생물; 전신성 비만세포증.
Gliadel (Carmustine Implant)	다형성 교모세포종; 악성 신경교종
Halaven (Eribulin Mesylate)	유방암
Hycamtin (Topotecan Hydrochloride)	자궁경부암; 난소암; 소세포 폐암
Hyper-CVAD	급성 림프모구성 백혈병; 비-호지킨 림프종
Ibrance (Palbociclib)	유방암
ICE	호지킨 림프종; 비-호지킨 림프종
Iclusig (Ponatinib Hydrochloride)	급성 림프모구성 백혈병; 만성 골수성 백혈병
Idamycin (Idarubicin Hydrochloride)	급성 골수성 백혈병
Imbruvica (Ibrutinib)	만성 림프구성 백혈병; 맨틀 세포 림프종; 왈덴스트룀 마크로글로블린혈증
Inlyta (Axitinib)	신장세포 암종

Iressa (Gefitinib)	비소세포폐암
Istodax (Romidepsin)	피부 T-세포 림프종
Ixempra (Ixabepilone)	유방암
Jevtana (Cabazitaxel)	전립선암
Kyprolis (Carfilzomib)	다발성 골수종
Lenvima (Lenvatinib Mesylate)	갑상선암
Leuprolide Acetate	전립선암
Lupron (Leuprolide Acetate)	전립선암
Lynparza (Olaparib)	난소암
Marqibo (Vincristine Sulfate Liposome)	급성 림프모구성 백혈병
Matulane (Procarbazine Hydrochloride)	호지킨 림프종
Megace (Megestrol Acetate)	유방암; 자궁내막암
Mekinist (Trametinib)	흑색종
Mesnex (Mesna)	출혈성 방광염
Mitoxantrone Hydrochloride	급성 골수성 백혈병; 전립선암
Mitozytrex (Mitomycin C)	위 및 췌장 선암종
MOPP	호지킨 림프종
Mozobil (Plerixafor)	다발성 골수종; 비-호지킨 림프종
Mustargen (Mechlorethamine Hydrochloride)	기관지 기원성 암종; 만성 림프구성 백혈병; 만성 골수성 백혈병; 호지킨 림프종; 악성 흉막 삼출, 악성 심낭 삼출, 및 악성 복막 삼출; 균상 식육종; 비-호지킨 림프종
Mylotarg (Gemtuzumab Ozogamicin)	급성 골수성 백혈병
Navelbine (Vinorelbine Tartrate)	비소세포폐암
Nexavar (Sorafenib Tosylate)	간세포 암종; 신장세포 암종; 갑상선암
Nilotinib	만성 골수성 백혈병
Nolvadex (Tamoxifen Citrate)	유방암
Odomzo (Sonidegib)	기저세포 암종
OEPA	호지킨 림프종
OFF	췌장암
Oncaspar (Pegaspargase)	급성 림프모구성 백혈병
OPPA	호지킨 림프종
Paclitaxel	AIDS-관련 카포시 육종; 유방암; 비소세포폐암; 난소암
PAD	다발성 골수종
Paraplatin (Carboplatin)	비소세포폐암; 난소암
Platinol (Cisplatin)	방광암; 자궁경부암; 악성 중피종; 비소세포폐암; 난소암; 두경부 편평세포 암종; 고환암
Pomalyst (Pomalidomide)	다발성 골수종
Pontinib Hydrochloride	급성 림프모구성 백혈병; 만성 골수성 백혈병
Prednisone	급성 림프모구성 백혈병; 만성 림프구성 백혈병; 호지킨 림프종; 다발성 골수종; 비-호지킨 림프종; 전립선암; 흉선종 및 흉선 암종
Provenge (Sipuleucel-T)	전립선암
Purinethol (Mercaptopurine)	급성 림프모구성 백혈병
Radium 223 Dichloride	전립선암
R-CHOP	비-호지킨 림프종
R-CVP	비-호지킨 림프종
R-EPOCH	B-세포 비-호지킨 림프종
Revlimid (Lenalidomide)	맨틀 세포 림프종; 다발성 골수종; 빈혈
Rubidomycin (Daunorubicin Hydrochloride)	급성 림프모구성 백혈병; 급성 골수성 백혈병
Sipuleucel-T	전립선암
Somatuline Depot (Lanreotide Acetate)	위장췌장 신경내분비종양
Sprycel (Dasatinib)	급성 림프모구성 백혈병; 만성 골수성 백혈병
STANFORD V	호지킨 림프종
Stivarga (Regorafenib)	대장암; 위장관 기질 종양
Sutent (Sunitinib Malate)	위장관 기질 종양; 췌장암; 신장세포 암종
Synovir (Thalidomide)	다발성 골수종
Synribo (Omacetaxine Mepesuccinate)	만성 골수성 백혈병

TAC	유방암
Tafinlar (Dabrafenib)	흑색종
Tarabine PFS (Cytarabine)	급성 림프모구성 백혈병; 급성 골수성 백혈병; 만성 골수성 백혈병; 수막성 백혈병
Tarceva (Erlotinib Hydrochloride)	비소세포폐암; 췌장암
Targretin (Bexarotene)	피부 T-세포 림프종에 의해 유발된 피부 문제
Tasigna (Niltinib)	만성 골수성 백혈병
Taxol (Paclitaxel)	AIDS-관련 카포시 육종; 유방암; 비소세포폐암; 난소암
Taxotere (Docetaxel)	유방암; 선암종; 비소세포폐암; 전립선암; 두경부 편평세포 암종; 위 또는 위식도 접합부의 선암종
Temodar or Methazolastone (Temozolomide)	역행성 성상세포종; 다형성 교모세포종
Thiotepa	방광암; 유방암; 악성 흉막 삼출, 악성 심막 삼출, 및 악성 복막 삼출; 난소암
Toposar or VePesid (Etoposide)	소세포 폐암; 고환암
Torisel (Temsirolimus)	신장세포 암종
TPF	두경부 편평세포 암종; 위암
Treanda (Bendamustine Hydrochloride)	B-세포 비-호지킨 림프종; 만성 림프구성 백혈병
Trisenox (Arsenic Trioxide)	급성 전골수성 백혈병
Tykerb (Lapatinib Ditosylate)	유방암
Vandetabib	수질성 갑상선암
VAMP	호지킨 림프종
VeIP	난소 생식 세포(ovarian germ cell); 고환암
Velcade (Bortezomib)	다발성 골수종; 맨틀 세포 림프종
Velsar or Velban (Vinblastine Sulfate)	유방암; 융모막 암종; 호지킨 림프종; 카포시 육종; 균상 식육종; 비-호지킨 림프종; 고환암
Viadur (Leuprolide Acetate)	전립선암
Vidaza (Azacitidine)	골수형성이상 증후군
Vincasar PFS (Vincristine Sulfate)	급성 백혈병; 호지킨 림프종; 신경모세포종; 비-호지킨 림프종; 횡문근육종; 윌름스 종양
VIP	고환암
Visbodegib	기저세포 암종
Votrient (Pazopanib Hydrochloride)	신장세포 암종; 연부 조직 육종
Wellcovorin (Leucovorin Calcium)	대장암; 빈혈
Xalkori (Crizotinib)	비소세포폐암
Xeloda (Capecitabine)	유방암; 대장암
XELIRI	대장암; 식도암; 위암
XELOX	대장암
Xofigo (Radium 223 Dichloride)	전립선암
Xtandi (Enzalutamide)	전립선암
Zaltrap (Ziv-Aflibercept)	대장암
Zelboraf (Vemurafenib)	흑색종
Zoladex (Goserelin Acetate)	유방암; 전립선암
Zolinza (Vorinostat)	피부 T-세포 림프종
Zometa (Zoledronic Acid)	다발성 골수종
Zydelig (Idelalisib)	만성 림프구성 백혈병; 비-호지킨 림프종 (소포성 B-세포 비-호지킨 림프종 및 소림프구성 림프종(Small lymphocytic lymphoma))
Zydia (Certinib)	비소세포폐암
Zytiga (Abiraterone Acetate)	전립선암

[0101] 치료제는 나노입자의 내부에, 나노입자의 외부 표면 상에, 또는 양자 모두에 위치할 수 있는 것으로 이해된다. 나노입자는 1종을 초과하는 치료제, 예를 들면, 2종의 치료제, 3종의 치료제, 4종의 치료제, 5종의 치료제, 등을 포함할 수 있다. 또한, 나노입자는 나노입자의 내부 및 외부에 동일하거나 또는 상이한 치료제를 포함할 수 있다.

[0102] 일 양태에서, 나노입자는 나노입자의 표면에 비-공유결합에 의해 결합된 100개 이상의 결합제를 포함한다. 일 양태에서, 나노입자는 나노입자의 표면에 비-공유결합에 의해 결합된 200개, 300개, 400개, 500개, 600개, 700

개 또는 800개 이상의 결합제를 포함한다.

[0103] 일 양태에서, 나노입자는 나노입자의 표면에 비공유결합에 의해 결합된 약 100개 내지 약 1000개의 결합제를 포함한다. 일 양태에서, 나노입자는 나노입자의 표면에 비공유결합에 의해 결합된 약 200개 내지 약 1000개, 약 300개 내지 약 1000개, 약 400개 내지 약 1000개의 결합제, 약 500개 내지 약 1000개, 약 600개 내지 약 1000개의 결합제, 약 200개 내지 약 800개의 결합제, 약 300개 내지 약 800개의 결합제, 또는 약 400개 내지 약 800개의 결합제를 포함한다. 고려되는 값들은 종말점을 포함한, 기재된 범위 내의 임의의 값 또는 부속 범위를 포함한다.

[0104] 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 1 ㎛ 미만이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 50 nm 내지 1 ㎛이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 900 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 800 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 700 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 600 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 500 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 400 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 300 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 60 nm 내지 200 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 80 nm 내지 900 nm, 800 nm, 700 nm, 600 nm, 500 nm, 400 nm, 300 nm, 또는 200 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 100 nm 내지 약 900 nm, 800 nm, 700 nm, 600 nm, 500 nm, 400 nm, 300 nm, 또는 200 nm이다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 120 nm 내지 약 900 nm, 800 nm, 700 nm, 600 nm, 500 nm, 400 nm, 300 nm, 또는 200 nm이다. 고려되는 값들은 종말점을 포함한, 본 명세서에 기재된 범위 내의 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0105] 일 양태에서, 나노입자 조성물은 정맥내 주사를 위해 제제화된다. 허혈 사건(ischemic event)을 피하기 위해, 정맥내 주사를 위해 제제화된 나노입자 조성물은 약 1 ㎛ 미만의 평균 입자 크기를 갖는 나노입자를 포함해야 한다.

[0106] 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 1 ㎛보다 크다. 일 양태에서, 나노입자 조성물 중 평균 입자 크기는 약 1 ㎛ 내지 약 5 ㎛, 약 1 ㎛ 내지 약 4 ㎛, 약 1 ㎛ 내지 약 3 ㎛, 약 1 ㎛ 내지 약 2 ㎛, 또는 약 1 ㎛ 내지 약 1.5 ㎛이다. 고려되는 값은 종말점을 포함한, 기재된 범위 중 하나 내에 속하는 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0107] 일 양태에서, 나노입자 조성물은 종양으로의 직접 주사를 위해 제제화된다. 직접 주사는 종양 부위 또는 종양 근위부로의 주사, 종양으로의 관류, 등을 포함한다. 종양으로의 직접 주사를 위해 제제화되는 경우, 나노입자는 임의의 평균 입자 크기를 포함할 수 있다. 이론에 의해 한정되지 않으면서, 더 큰 입자(예를 들면, 500 nm 초과, 1 ㎛ 초과, 등)는 종양 내에 고정화(immobilized)될 가능성이 높아서, 그에 의해 유용한 효과를 제공할 것으로 사료된다. 더 큰 입자들은 종양 또는 특정한 기관에 축적될 수 있다. 예를 들면, "THERASPHERE®"(간암을 위해 임상적으로 사용되고 있음)로 불리는, 간의 종양으로 공급하는 간동맥에 주사하기 위해 사용되는, 20-60 마이크론 유리 입자를 참조한다. 따라서, 정맥내 투여를 위해, 1 ㎛ 미만의 입자가 통상적으로 사용된다. 1 ㎛보다 큰 입자들은 보다 통상적으로 종양으로 직접 투여되거나("직접 주사") 또는 종양 부위로 공급하는 동맥에 직접 투여된다.

[0108] 일 양태에서, 조성물 내 나노입자의 약 0.01% 미만이 200 nm보다 크거나, 300 nm보다 크거나, 400 nm보다 크거나, 500 nm보다 크거나, 600 nm보다 크거나, 700 nm보다 크거나, 또는 800 nm보다 큰 입자 크기를 갖는다. 일 양태에서, 조성물 내 나노입자의 약 0.001% 미만이 200 nm보다 크거나, 300 nm보다 크거나, 400 nm보다 크거나, 500 nm보다 크거나, 600 nm보다 크거나, 700 nm보다 크거나, 또는 800 nm보다 큰 입자 크기를 갖는다. 바람직한 구체예에서, 조성물 내 나노입자의 약 0.01% 미만이 800 nm보다 큰 입자 크기를 갖는다. 보다 바람직한 구체예에서, 조성물 내 나노입자의 약 0.001% 미만이 800 nm보다 큰 입자 크기를 갖는다.

[0109] 바람직한 양태에서, 본 명세서에 기재된 크기 및 크기 범위는 재구성된 동결건조 나노입자 조성물의 입자 크기에 관한 것이다. 즉, 동결건조된 나노입자가 수용액(예를 들면, 물, 기타 약제학적으로 허용가능한 부형제, 완충액, 등)에 재현탁된 후, 입자 크기 또는 평균 입자 크기는 본 명세서에 기재된 범위 내에 속한다.

[0110] 일 양태에서, 나노입자의 적어도 약 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 또는 99.9%가 재구성된 조성물 중에 단일 나노입자로서 존재한다. 즉, 나노입자의 약 50% 미만, 40% 미만, 30% 미만 등이 이

량체화되거나 다량체화(올리고머화)된다.

[0111] 일부 구체예에서, 조성물 중 나노입자는 개수 기준 20% 미만이 이량체화를 갖고(less than 20% by number dimerization), 개수 기준 10% 미만이 이량체화를 갖고, 바람직하게는 개수 기준 5% 미만이 이량체화를 갖는다.

[0112] 일부 구체예에서, 나노입자의 크기는 담체 단백질 대 파클리탁셀 또는 파클리탁셀 유도체의 양(예를 들면, 비), 및/또는 담체 단백질-파클리탁셀 (또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자 대 결합제의 비를 조정하는 것에 의해 조절될 수 있다. 나노입자의 크기, 및 크기 분포도 중요하다. 본 발명의 나노입자는 그들의 크기에 따라 다르게 거동할 수 있다. 큰 크기에서, 응집(agglomeration)은 혈관을 막을 수 있다. 따라서, 나노입자의 응집은 조성물의 성능(performance) 및 안전성에 영향을 미칠 수 있다. 반면에, 보다 큰 입자들은 특정한 조건(예를 들면, 정맥내로 투여되지 않는 경우)에서 보다 높은 치료 효과를 발휘할(therapeutic) 수 있다.

[0113] 나노입자가 치료에서 사용되기 때문에 추가적인 해결과제(challenge)가 부과된다.

[0114] 나노입자 중 소수성 성분들의 재배열(rearrangement)이 성분들 간의 공유 결합을 통해 약화될 수 있으나, 그러한 공유 결합은 암 치료에서 나노입자의 치료적 용도를 위한 해결과제를 부과한다. 결합제, 담체 단백질, 및 치료제는 통상적으로 종양에서 상이한 위치에서 상이한 메커니즘을 통해 작용한다. 비-공유 결합은 나노입자의 성분들이 종양에서 해리(dissociate)될 수 있게 한다. 따라서, 공유 결합이 동결건조를 위해 유리할 수 있으나, 치료적 용도를 위해 불리할 수 있다.

[0115] 나노입자의 크기, 및 크기의 분포도 중요하다. 나노입자는 그의 크기에 따라 상이하게 거동할 수 있다. 큰 크기에서, 나노입자 또는 입자의 응집이 혈관을 차단할 수 있고, 이는 조성물의 성능 및 안전성에 영향을 미칠 수 있다.

[0116] ***파클리탁셀 유도체***

[0117] 본 발명에서 사용되는 파클리탁셀 유도체는 바람직하게는 파클리탁셀보다 덜 독성이다. 즉, 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀에 비해, 세포에 대해 덜 독성일 수 있다(즉, 암세포 및/또는 정상 세포도 사멸시키지 않거나, 또는 세포 증식도 억제하지 않는다). 파클리탁셀 유도체는 파클리탁셀의 임의의 유도체 또는 전구체를 포함할 수 있다. 예는 20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20,0-세코탁솔(파클리탁셀의 메르바인 산물), 또는 Baccatin III((2β,5α,7α,10α,13β)-4,10-디아세톡시-1,7,13-트리히드록시-9-옥소-5,20-에폭시탁스-11-엔-2-일 벤조에이트)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0118] 예를 들면, C-13 단순화(simplified) 파클리탁셀 유도체 및 상이한 입체화학의 유도체(derivatives of different stereochemistry)의 대부분은 파클리탁셀에 비해 감소된 활성을 보였다. 2'-히드록실 및 3'-벤즈아미도 그룹은 생체 활성을 위해 필수적인지 않으나, 강력한 미세소관(microtubule) 결합 및 세포독성을 위해 중요하다. 2'-히드록실 그룹에서 에테르, 예를 들면, 알킬 에테르(예를 들면, 메틸 에테르) 및 알킬 실릴 에테르(예를 들면, ter-부틸디메틸실릴 에테르)의 형성은 세포독성을 감소시켰다. 2'- 히드록실 그룹의 아실화 (예를 들면, 2'-아세틸탁솔)은 또한 활성의 상실을 초래한다. 2'-히드록실 그룹의 할로겐(예를 들면, 불소)에 의한 치환은 또한 세포독성을 유의성있게 감소시키는 것으로 확인되었다. 6α-히드록시-7-에피-파클리탁셀의 테트라아세트산 납 산화(lead tetracetate oxidation)는 C-노르(nor)-파클리탁셀 및 C-세코(seco)-파클리탁셀 유도체를 초래한다. 6α-히드록시-7-에피-파클리탁셀의 TPAP(Tetrapropylammonium perruthenate) 산화는 6-포르밀-C-노르-파클리탁셀 유도체를 초래한다. 6α-O-트리플루오로메탄술포닐-7-epi-파클리탁셀 유도체와 DMAP의 반응은 20-O-아세틸-4-데아세틸-5,6-데히드로-6-포르밀-C-노르-파클리탁셀 유도체를 생성한다. C-노르-파클리탁셀 유사체(analog)는 파클리탁셀보다 활성이 더 낮다. 따라서, 파클리탁셀 유도체는 이 부위들 중 하나 이상에서 또는 이 방법들 중 하나 이상에 의해 생성된 변형을 포함할 수 있다. 예를 들면, 각각이 참조에 의해 그 전체로 본 명세서에 포함된, Liang et al. *Tetrahedron*, 53(10):3441-3456 (1997); US 5,756,301; US 5,981,777 참조.

[0119] ***나노입자 및 나노입자 복합체를 제조하는 방법***

[0120] 일부 양태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 나노입자 조성물을 제조하는 방법에 관한 것이다. 일부 구체예에서, 본 개시는 나노입자 조성물을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 원하는 나노입자의 형성을 가능하게 할 조건 및 성분들의 비율로, 담체 단백질과 파클리탁셀 또는 파클리탁셀 유도체를 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법에 관한 것이다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 또한, 나노입자 복합체를 형성하는 조건 하에 나노입자를 결합제 및/또는 치료제와 접촉시키는 것에 관한 것이다.

[0121] 일부 구체예에서, 나노입자는 담체 단백질과 파클리탁셀 또는 파클리탁셀 유도체를 조합하고, 안정한 나노입자

를 형성하기 위해 고압 하에 균질화시키는 것에 의해 제조된다. 알부민과 탁산(예를 들면, 파클리탁셀)을 균질화시키기 위한 비-한정적 방법들을 예를 들면, 실시예 1, 및 각각이 참조에 의해 전체로 본 명세서에 포함된 미국 특허 제5,916,596호; 제6,506,405호; 및 제6,537,579호에서 찾을 수 있다.

[0122] 일 구체예에서, 예를 들면, 미국특허 제9,757,453호 및 제9,446,148호에 기재된 바와 같이, 결합제 및/또는 치료제가 나노입자와 복합체를 형성한다.

[0123] 일부 양태에서, 나노입자 복합체를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 원하는 나노입자의 형성을 가능하게 할 조건 및 성분들의 비로, 5.0 내지 7.5의 pH 및 약 5℃ 내지 약 60℃, 약 23℃ 내지 약 60℃, 또는 약 55℃ 내지 약 60℃의 온도를 갖는 용액에서 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자를 결합제 및/또는 치료제와 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다. 일 구체예에서, 나노입자는 55-60℃ 및 pH 7.0에서 제조된다. 또 다른 양태에서, 나노입자 복합체를 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 (a) 담체 단백질 및 파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체)을 균질화시켜 나노입자 코어를 형성하는 단계, 및 (b) 원하는 나노입자의 형성을 가능하게 할 조건 및 성분들의 비로, 약 5.0 내지 약 7.5의 pH 및 약 5℃ 내지 약 60℃, 약 23℃ 내지 약 60℃, 또는 약 55℃ 내지 약 60℃의 온도를 갖는 용액에서 상기 코어를 항체와 접촉시키는 단계를 포함하는 것인 방법이 본 명세서에 제공된다.

[0124] 본 발명의 또 다른 구체예는 단백질 담체와 치료제의 복합체 형성을 촉진하는 것에 의해 나노입자 조성물을 제조하는 방법으로서, 상기 방법은 담체 단백질, 본 명세서에 기재된 상당한 양의 파클리탁셀, 및 치료제를 5.0 또는 그 이상의 pH 및 약 5℃ 내지 약 60℃의 온도를 갖는 용액에서 접촉시켜 나노입자를 생성하는 단계를 포함하는 것인 방법을 포함한다. 또 다른 구체예에서, 상기 방법은 단백질-담체 복합체를 결합제와 접촉시키는 단계를 더 포함한다.

[0125] 원하는 나노입자의 형성을 제공하기 위해 성분들(예를 들면, 담체 단백질, 항체, 파클리탁셀 또는 파클리탁셀 유도체, 치료제, 이들의 조합)의 양이 조절된다. 성분의 양이 과도하게 희석된 용액에서는 본 명세서에 기재된 나노입자가 형성되지 않는다. 과도하게 농축된 용액은 비구조화 응집체(unstructured aggregate)를 초래할 것이다.

[0126] 바람직한 구체예, 담체 단백질 대 결합제의 중량비는 10:4이다. 일부 구체예에서, 담체 단백질의 양은 약 1 mg/mL 내지 약 100 mg/mL이다. 일부 구체예에서, 결합제의 양은 약 1 mg/mL 내지 약 30 mg/mL이다. 예를 들면, 일부 구체예에서, 담체 단백질:결합제:용액의 비는 1 mL의 용액(예를 들면, 염수) 중 약 9 mg의 담체 단백질(예를 들면, 알부민) 대 4 mg의 결합제(예를 들면, BEV)이다.

[0127] 일 구체예에서, 나노입자를 형성하기 위해 사용되는 용액 또는 기타 액체 매질의 양이 특히 중요하다. 일부 구체예에서, 사용되는 용액(예를 들면, 멸균수, 염수, 인산염 완충 염수(PBS))의 양은 약 0.5 mL 용액 내지 약 20 mL 용액이다.

[0128] 일 양태에서, 나노입자 조성물의 나노입자 복합체는 담체 단백질-파클리탁셀 (또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자 및 하나 이상의 치료제를 결합제와 약 10:1 내지 약 10:30의 담체 단백질 입자 또는 담체 단백질-치료제 입자 대 결합제 비율로 접촉시키는 것에 의해 형성된다. 일 구체예에서, 상기 비는 약 10:2 내지 약 10:25이다. 일 구체예에서, 상기 비는 약 10:2 내지 약 1:1이다. 바람직한 구체예에서, 상기 비는 약 10:2 내지 약 10:6이다. 특히 바람직한 구체예에서, 상기 비는 약 10:4이다. 고려되는 비는 종말점을 포함한, 기재된 범위 내의 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0129] 일 양태에서, 나노입자 조성물의 나노입자는 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자와 하나 이상의 치료제를 접촉시키는 것에 의해 형성된다. 일 구체예에서, 비는 약 10:2 내지 약 10:25이다. 일 구체예에서, 비는 약 10:2 내지 약 1:1이다. 바람직한 구체예, 비는 약 10:2 내지 약 10:6이다. 특히 바람직한 구체예에서, 비는 약 10:4이다. 고려되는 비는 종말점을 포함한, 기재된 범위 내의 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0130] 일 구체예에서, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 4 내지 약 8의 pH를 갖는 용액에서 결합제와 접촉된다. 일 구체예에서, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 4의 pH를 갖는 용액에서 결합제와 접촉된다. 일 구체예에서, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 5의 pH를 갖는 용액에서 결합제와 접촉된다. 일 구체예에서, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 6의 pH를 갖는 용액에서 결합제와 접촉된다. 일 구체예에서, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 7의 pH를 갖는 용액에서 결합제와 접촉된다. 일 구체예에서, 담체 단

백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 8의 pH를 갖는 용액에서 결합제와 접촉된다. 바람직한 구체예, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 5 내지 약 7의 pH를 갖는 용액에서 결합제와 접촉된다.

[0131] 일 구체예에서, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 5℃ 내지 약 60℃, 또는 종말점을 포함한 범위 내의 임의의 범위, 부속 범위, 또는 값의 온도에서 결합제와 인큐베이션된다. 바람직한 구체예에서, 담체 단백질-파클리탁셀(또는 파클리탁셀 유도체) 나노입자는 약 23℃ 내지 약 60℃의 온도에서 결합제와 인큐베이션된다.

[0132] 이론에 의해 한정되지 않으면서, 나노입자 복합체의 안정성은 나노입자가 형성되는 온도 및/또는 pH, 및 용액 중 성분들(즉, 담체 단백질, 결합제, 파클리탁셀 또는 파클리탁셀 유도체, 및 선택적인 치료제)의 농도에 적어도 부분적으로 의존적이다. 일 구체예에서, 나노입자의 K_d는 약 1 x 10^{-11} M 내지 약 2 x 10^{-5} M이다. 일 구체예에서, 나노입자의 K_d는 약 1 x 10^{-11} M 내지 약 2 x 10^{-8} M이다. 일 구체예에서, 나노입자의 K_d는 약 1 x 10^{-11} M 내지 약 7 x 10^{-9} M이다. 바람직한 구체예, 나노입자의 K_d는 약 1 x 10^{-11} M 내지 약 3 x 10^{-8} M이다. 고려되는 값은 종말점을 포함한, 기재된 범위 중 하나 내에 속하는 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0133] 감소된-독성 나노입자의 제조

[0134] 담체 단백질 대 파클리탁셀의 상대적 중량비는 약 9:1보다 크다. 일 구체예에서, 담체 단백질과 파클리탁셀은 약 10:1, 또는 약 11:1, 또는 약 12:1, 또는 약 13:1, 또는 약 14:1, 또는 약 15:1, 또는 약 16:1, 또는 약 17:1, 또는 약 18:1, 또는 약 19:1, 또는 약 20:1, 또는 약 21:1, 또는 약 22:1, 또는 약 23:1, 또는 약 24:1, 또는 약 25:1, 또는 약 26:1, 또는 약 27:1, 또는 약 28:1, 또는 약 29:1, 또는 약 30:1보다 큰 상대적 중량비를 갖는다. 일 구체예에서, 중량비는 10:1 내지 100:1, 10:1 내지 50:1, 10:1 내지 40:1, 10:1 내지 30:1, 10:1 내지 20:1, 또는 10:1 내지 15:1이다. 일 구체예에서, 중량비는 15:1 내지 50:1, 15:1 내지 50:1, 15:1 내지 40:1, 15:1 내지 30:1, 또는 15:1 내지 20:1이다. 중량비는 종말점을 포함한, 기재된 범위 내의 임의의 값 또는 부속범위일 수 있다.

[0135] 일 구체예에서, 파클리탁셀의 양은 나노입자에 안정성을 제공할 수 있는 최소량과 동일하다. 일 구체예에서, 파클리탁셀의 양은 상기 하나 이상의 치료제의 단백질 담체로의 친화도를 제공할 수 있는 최소량보다 크거나 또는 그와 동일하다. 일 구체예에서, 파클리탁셀의 양은 상기 하나 이상의 치료제와 단백질 담체의 복합체 형성을 촉진할 수 있는 최소량보다 크거나 또는 그와 동일하다. 예를 들면, 약 1 mg 미만의 탁솔이 1 mL의 용액 중 9 mg의 담체 단백질(10 mg 담체 단백질-치료제) 및 4 mg의 결합제, 예를 들면, 항체, Fc 융합 분자, 또는 앱타머에 첨가될 수 있다.

[0136] 통상적인 i.v. 백, 예를 들면, 약 1 리터의 용액을 담은 i.v. 백을 사용하는 경우, 1 mL에서 사용된 양의 1000x 양의 담체 단백질/담체 단백질-치료제 및 항체를 사용해야 할 것이라는 것에 주의한다. 따라서, 표준 i.v. 백에서 본 발명의 나노입자를 형성할 수 없다. 또한, 본 발명의 치료량(therapeutic amount)으로 성분들이 표준 i.v. 백에 첨가되는 경우, 성분들은 나노입자를 형성하기 위해 자가-조립되지 않는다.

[0137] 일 구체예에서, 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 약 5 mg/mL 미만이다. 일 구체예에서, 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 약 4.54 mg/mL, 또는 약 4.16 mg/mL, 또는 약 3.57 mg/mL, 또는 약 3.33 mg/mL, 또는 약 3.12 mg/mL, 또는 약 2.94 mg/mL, 또는 약 2.78 mg/mL, 또는 약 2.63 mg/mL, 또는 약 2.5 mg/mL, 또는 약 2.38 mg/mL, 또는 약 2.27 mg/mL, 또는 약 2.17 mg/mL, 또는 약 2.08 mg/mL, 또는 약 2 mg/mL, 또는 약 1.92 mg/mL, 또는 약 1.85 mg/mL, 또는 약 1.78 mg/mL, 또는 약 1.72 mg/mL, 또는 약 1.67 mg/mL 미만이다. 일 구체예에서, 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 나노입자에 안정성을 제공할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다. 일 구체예에서, 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 상기 하나 이상의 치료제의 단백질 담체로의 친화도를 제공할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다. 일 구체예에서, 나노입자 조성물에 존재하는 파클리탁셀의 양은 상기 하나 이상의 치료제와 단백질 담체의 복합체 형성을 촉진할 수 있는 최소량보다 많거나 또는 그와 동일하다.

[0138] 일 구체예에서, 본 명세서에 기재된 나노입자 조성물은 결합제를 포함하지 않는다.

[0139] ***동결건조***

[0140] 단일 출처 단백질(single source protein)을 포함하는 단백질 조성물은 통상적으로 상당한 저장 수명을 보이는

동결건조된 형태로 보관되고, 그러한 동결건조 조성물은 소수성-소수성 상호작용에 의해 함께 통합된 2종의 상이한 단백질의 자가-조립 나노입자를 포함하지 않는다. 또한, 결합제의 결합 부분의 대부분이 나노입자의 표면에 노출된 것인 나노입자 구조(configuration)는 달리 양성(benign)인 것으로 간주될 상태에 의한 축출(dislodgement) 또는 구조변경(reconfiguration)에 민감하게 한다. 예를 들면, 동결건조 동안, 단백질 상의 이온 전하는 탈수되어 기저 전하(underlying charges)를 노출시킨다. 노출된 전하는 각 단백질의 나머지 단백질에 대한 결합 친화도를 변화시킬 수 있는, 2종의 단백질 간 전하-전하 상호작용을 가능하게 한다. 또한, 나노입자의 농도는 용매(예를 들면, 물)가 제거되면서 유의성 있게 증가한다. 그러한 나노입자의 증가된 농도는 비가역적 올리고머화를 초래할 수 있다. 올리고머화는 단량체 형태 대비 올리고머의 생물학적 특성을 감소시키고 입자의 크기를, 때로는 1 마이크론 초과하게 증가시키는 단백질의 공지된 특성이다.

[0141] 반면에, 나노입자 조성물의 안정한 형태가 임상적 및/또는 상업용 용도를 위해 요구되고, 이때, 3개월 이상의 저장 수명이 요구되고, 6개월 또는 9개월 초과의 저장 수명이 바람직하다. 그러한 안정한 조성물은 정맥내 주사를 위해 용이하게 이용가능해야 하고, 인 비보에서 예정된 부위로 나노입자를 이끌기 위해 정맥내 투여시 그의 자가-조립된 형태를 유지하고, 심지어 혈류(blood stream)로 전달된 경우에도 허혈성 사건(ischemic event)을 피하기 위해 1 마이크론 미만의 최대 크기를 가져야 하고, 최종적으로 주사를 위해 사용된 수성 조성물과 양립가능해야 한다.

[0142] 동결건조(lyophilization) 또는 냉동-건조(freeze-drying)은 조성물로부터 물을 제거한다. 그 과정에서, 건조 대상 물질이 먼저 동결되고 그 후, 얼음 또는 동결된 용매가 진공 환경에서 승화에 의해 제거된다. 동결-건조 과정 동안 안정성을 증진시키고 및/또는 보관시 동결건조된 제품의 안정성을 개선하기 위해 미리-동결건조된 제형에 부형제가 포함될 수 있다. Pikal, M. Biopharm. 3(9)26-30 (1990) and Arakawa et al., Pharm. Res. 8(3):285- 291 (1991).

[0143] 단백질이 동결건조될 수 있으나, 동결건조 및 재구성의 과정이 단백질의 특성에 영향을 미칠 수 있다. 단백질은 전통적인 유기 및 무기 약물보다 더 크고 더 복잡하기 때문에(즉, 복잡한 3차 구조 외에, 복수의 관능기를 가짐), 그러한 단백질의 제형은 특별한 문제를 부과할 수 있다. 단백질이 생물학적 활성을 유지하기 위해, 제형은 단백질의 아미노산의 적어도 핵심 서열(core sequence)의 구조적 무결성(conformational integrity)을 보존하고, 동시에 단백질의 복수의 관능기를 분해로부터 보호해야 한다. 단백질의 분해 경로는 화학적 불안정성(즉, 새로운 화합물(new chemical entity)을 초래하는, 결합 형성 또는 절단(cleavage)에 의한 단백질의 변형을 포함하는 과정) 또는 물리적 불안정성(즉, 단백질의 고차원 구조(higher order structure)의 변화)을 포함한다. 화학적 불안정성은 탈아미드화(deamidation), 라세미화(racemization), 가수분해, 산화, 베타 제거(beta elimination) 또는 디술피드 교환(disulfide exchange)으로부터 초래될 수 있다. 물리적 불안정성은 예를 들면, 변성(denaturation), 응집(aggregation), 침전(precipitation) 또는 흡착(adsorption)으로부터 초래될 수 있다. 3개의 가장 일반적인 단백질 분해 경로는 단백질 응집, 탈아미드화 및 산화이다. Cleland, et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 10(4): 307-377 (1993).

[0144] 마지막으로, 동결보호제(cryoprotectant) 및 동결건조 과정에서 보조하는 작용제는 치료 용도를 위해 안전하고 내약(tolerate)되어야 한다.

[0145] 본 발명의 동결건조된 조성물은 안정화제, 완충제, 등의 존재 또는 부재 하에 표준 동결건조 기법에 의해 제조된다. 놀랍게도, 이러한 조건은 나노입자의 상대적으로 취약한(fragile) 구조를 변형시키지 않는다. 또한, 나노입자들은 동결건조시 그들의 크기 분포를 유지하고, 보다 중요하게, 신선하게 제조된 것과 실질적으로 동일한 형태 및 비로 인 비보 투여(예를 들면, 정맥내 전달)를 위해 재구성될 수 있다.

[0146] 일부 구체예에서, 나노입자(예를 들면, RTP 또는 NTP)가 동결건조된다. 일부 구체예에서, 나노입자 복합체(예를 들면, 결합된(associated) 치료제 및/또는 결합제를 갖는 RTP 또는 NTP)가 동결건조된다. 일부 구체예에서, 수용액에 의한 재구성시, 상당한 양의 결합제가 나노입자의 표면에 배열된다. 일부 구체예에서, 나노입자 복합체는 항원에 결합할 수 있다. 일부 구체예에서, 나노입자 복합체와 결합된 항체는 항원에 결합할 수 있는 상태를 유지한다.

[0147] ***제형(formulations)***

[0148] 일 양태에서, 나노입자 조성물은 전신 전달, 예를 들면, 정맥내 투여를 위해 제제화된다.

[0149] 일 양태에서, 나노입자 조성물은 종양으로의 직접 주사를 위해 제제화된다. 직접 주사는 종양 부위 또는 종양 근위부로의 주사, 종양으로의 관류, 등을 포함한다. 나노입자 조성물은 전신으로 투여되지 않기 때문에, 나노입

자 조성물은 종양으로의 직접 주사를 위해 제제화되고, 임의의 평균 입자 크기를 포함할 수 있다. 이론에 의해 한정되지 않으면서, 더 큰 입자(예를 들면, 500 nm 초과, 1 ㎛ 초과, 등)는 종양 내에 고정화될 가능성이 더 높아서, 보다 우수한 유익한 효과인 것으로 사료되는 것을 제공할 것으로 보인다.

[0150] 또 다른 양태에서, 본 명세서에서 제공되는 화합물, 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 조성물이 본 명세서에서 제공된다.

[0151] 일반적으로, 본 명세서에 제공된 화합물은 허용된 투여 모드에 의해 환자에게 투여하기 위해 제제화될 수 있다. 다양한 제형 및 약물 전달 시스템이 당해 기술 분야에서 이용가능하다. 예를 들면, Gennaro, A.R., ed. (1995) *Remington's Pharmaceutical Sciences,* 18th ed., Mack Publishing Co.를 참조한다.

[0152] 일반적으로, 본 명세서에서 제공되는 화합물은 하기 경로 중 하나에 의해 약제학적 조성물로서 투여될 것이다: 경구, 전신(systemic)(예를 들면, 경피, 비강내(intranasal) 또는 좌약에 의한 투여), 또는 비경구(예를 들면, 근육내, 정맥내, 또는 피하) 투여.

[0153] 조성물은 일반적으로, 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 담체와 조합된 본 발명의 화합물로 구성된다. 허용가능한 부형제는 무독성이고, 투여를 보조(aid)하며, 청구된 화합물의 치료적 잇점에 부정적으로 영향을 미치지 않는다. 그러한 부형제는 당해 분야에서 당업자에게 일반적으로 이용가능한, 고체, 액체, 반-고체(semi-solid), 또는 에어로졸 조성물의 경우, 기체 부형제일 수 있다.

[0154] 고체 약제학적 부형제는 전분, 셀룰로오스, 탈크(talc), 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루(flour), 백악(chalk), 실리카 겔, 마그네슘 스테아레이트, 소디움 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 염화 나트륨, 건조 탈지유(dried skim milk), 등을 포함한다. 액체 및 반고체 부형제는 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올 및 폐트롤리움, 동물, 식물, 또는 합성 기원의 오일을 포함한 다양한 오일, 예를 들면, 땅콩유(peanut oil), 대두유, 광유(mineral oil), 참기름 등 으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 액체 담체, 특히, 주사용액용 액체 담체는 물, 염수, 덱스트로오스 수용액(aqueous dextrose), 및 글리콜을 포함한다. 기타 적합한 약제학적 부형제 및 그들의 제형이 E. W. Martin에 의해 편집된 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, 18th ed., 1990)에 기재된다.

[0155] 필요한 경우, 본 조성물은 활성 성분을 포함하는 하나 또는 그 이상의 단위 투여 제형(unit dosage form)을 포함하는 팩(pack) 또는 분배기 장치(dispenser device)로 제공될 수 있다. 그러한 팩 또는 장치는 예를 들면, 금속 또는 플라스틱 호일, 예를 들면, 블리스터 팩(blister pack), 또는 유리, 및 바이알에서와 같은 고무 마개(rubber stopper)를 포함할 수 있다. 팩 또는 분배기 장치는 투여를 위한 설명서를 포함할 수 있다. 적절한(compatible) 약제학적 담체 중에 제제화된 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물이 또한 제조되고, 적합한 용기에 배치되고, 표시된 질병의 치료를 위해 라벨링된다(labeled).

[0156] ***치료 방법***

[0157] 본 명세서에 기재된 나노입자 조성물은 포유동물에서 암세포 및/또는 종양을 치료하는데 유용하다. 바람직한 구체예에서, 포유동물은 인간(즉, 인간 환자)이다. 바람직하게는, 동결건조된 나노입자 조성물이 투여 전에 재구성(수성 부형제 중 현탁)된다.

[0158] 일 양태에서, 암세포를 치료하는 방법으로서, 상기 방법은 암세포를 치료하기 위해 본 명세서에 기재된 유효량의 나노입자 조성물을 상기 세포와 접촉시키는 것인 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 암세포의 치료는 세포의 증식의 감소, 사멸, 세포의 전이 예방, 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0159] 일 양태에서, 치료를 필요로 하는 환자에서 종양을 치료하는 방법으로서, 상기 환자에게 종양을 치료하기 위해 본 명세서에 기재된 나노입자 조성물의 치료적 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 것인 방법이 제공된다. 나노입자가 항원-결합 도메인을 포함하는 것인 일 구체예에서, 상기 방법은 항원을 발현하는 암을 가진 환자를 선택하는 단계를 포함한다. 일 구체예에서, 종양의 크기가 감소된다. 일 구체예에서, 종양 크기는 치료 동안 및/또는 치료 후 적어도 일정 기간 동안 증가(즉, 진행)하지 않는다.

[0160] 일 구체예에서, 상기 나노입자 조성물은 정맥내로 투여된다. 일 구체예에서, 상기 나노입자 조성물은 종양으로 직접 투여된다. 일 구체예에서, 상기 나노입자 조성물은 종양으로의 직접 주사 또는 관류에 의해 투여된다.

[0161] 일 구체예에서, 상기 방법은

[0162] a) 상기 나노입자 조성물을 3주 동안 주당 1회 투여하는 단계;

[0163] b) 상기 나노입자 조성물의 투여를 1주 동안 중단하는 단계; 및

[0164] c) 종양을 치료하기 위해 필요한 만큼 단계 a) 및 b)를 반복하는 단계를 포함한다.

[0165] 일 구체예에서, 본 명세서에 기재된 나노입자의 치료적 유효량은 약 1 mg/m^2 내지 약 200 mg/m^2 항체, 약 2 mg/m^2 내지 약 150 mg/m^2, 약 5 mg/m^2 내지 약 100 mg/m^2, 약 10 mg/m^2 내지 약 85 mg/m^2, 약 15 mg/m^2 내지 약 75 mg/m^2, 약 20 mg/m^2 내지 약 65 mg/m^2, 약 25 mg/m^2 내지 약 55 mg/m^2, 약 30 mg/m^2 내지 약 45 mg/m^2, 또는 약 35 mg/m^2 내지 약 40 mg/m^2 항체를 포함한다. 다른 구체예에서, 치료적 유효량 약 20 mg/m^2 내지 약 90 mg/m^2 항체를 포함한다. 일 구체예에서, 치료적 유효량은 30 mg/m^2 내지 약 70 mg/m^2 항체를 포함한다.

[0166] 일 구체예에서, 본 명세서에 기재된 나노입자의 치료적 유효량은 약 50 mg/m^2 내지 약 200 mg/m^{2}의 담체 단백질 또는 담체 단백질 및 치료제를 포함한다. 일 구체예에서, 본 명세서에 기재된 나노입자 조성물의 치료적 유효량은 결합제를 포함하지 않는다. 일 구체예에서, 본 명세서에 기재된 나노입자 조성물의 치료적 유효량은 파클리탁셀의 치료적 유효량 미만의 양을 포함한다. 일 구체예에서, 치료적 유효량은 약 75 mg/m^2 미만의 파클리탁셀을 포함한다. 일 구체예에서, 치료적 유효량은 약 75 mg/m^2 미만의 파클리탁셀 유도체를 포함한다. 일 구체예에서, 치료적 유효량은 약 75 mg/m^2 초과의 파클리탁셀 유도체를 포함한다. 고려되는 값은 종말점을 포함한, 기재된 범위 중 하나 내에 속하는 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0167] 일 구체예에서, 치료적 유효량은 약 20 mg/m^2 내지 약 90 mg/m^2 의 결합제, 예를 들면, 항체, 앱타머, 또는 융합 단백질을 포함한다. 바람직한 구체예에서, 치료적 유효량은 30 mg/m^2 내지 약 70 mg/m^{2}의 결합제, 예를 들면, 항체, 앱타머, 또는 융합 단백질을 포함한다. 고려되는 값은 종말점을 포함한, 기재된 범위 중 하나 내에 속하는 임의의 값, 부속 범위, 또는 범위를 포함한다.

[0168] 본 명세서에 기재된 조성물 및 방법에 의해 치료될 수 있는 암 또는 종양은 하기를 포함하나, 이에 한정되지 않는다: 담도암; 교모세포종 및 수모세포종(medulloblastoma)을 포함한, 뇌암; 유방암; 자궁경부암; 융모막암종(choriocarcinoma); 결장암; 자궁내막암(endometrial cancer); 식도암, 위암; 급성 림프성 백혈병 및 급성 골수성 백혈병을 포함한 혈액 신생물(hematological neoplasm); 다발성 골수종; AIDS 관련 백혈병 및 성인 T-세포 백혈병 림프종 (AIDS-associated leukemias and adult T-cell leukemia lymphoma); 보웬병(Bowen's disease) 및 파제트병(Paget's disease)을 포함한 상피내 신생물(intraepithelial neoplasm); 간암(간암종); 폐암; 호지킨병(Hodgkin's disease) 및 림프구성 림프종(lymphocytic lymphoma)을 포함한 림프종; 신경모세포종; 편평세포 암종을 포함한, 구강암; 상피 세포, 기질 세포(stromal cell), 생식 세포(germ cell) 및 중간엽 세포(mesenchymal cell)로부터 유래된 것들을 포함한 난소암; 췌장암; 전립선암; 직장암; 평활근육종(leiomyosarcoma), 횡문근육종(rhabdomyosarcoma), 지방육종(liposarcoma), 섬유육종(fibrosarcoma) 및 골육종을 포함한, 육종; 흑색종, 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 기저세포암(basocellular cancer) 및 편평세포암을 포함한 피부암; 생식 종양(germinal tumor)(정상피종(seminoma), 비-정상피종(non-seminoma)[기형종(teratoma), 융모막 암종(choriocarcinoma)]), 기질 종양(stromal tumor), 및 생식세포 종양(germ cell tumor)을 포함한 정소암; 갑상선 선암(adenocarcinoma) 및 수질 암종(medullar carcinoma)을 포함한, 갑상선암; 및 선암 및 윌름스 종양(Wilms tumor)를 포함한 신장암. 중요한 구체예에서, 암 또는 종양은 유방암, 림프종, 다발성 골수종, 및 흑색종을 포함한다.

[0169] 일반적으로, 본 발명의 화합물은 유사한 유용성을 갖는 작용제에 대한 허용된 투여 모드에 의해 치료적 유효량으로 투여될 것이다. 본 발명의 화합물, 즉, 나노입자의 실제 양은 치료대상 질병의 중증도, 대상 개체의 연령 및 상대적 건강, 사용된 화합물의 효능(potency), 투여 경로 및 형태, 및 통상의 기술자에게 잘 알려져 있는 기타 인자와 같은 다수의 인자에 의존적일 것이다.

[0170] 이러한 작용제의 유효량은 가장 효과적이고 편리한 투여 경로, 및 가장 적합한 제형이 그럴 수 있는 것처럼, 일상적인 실험에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 다양한 제형 및 약물 전달 시스템이 당해 기술 분야에서 이용가능하다. 예를 들면, Gennaro, A.R., ed. (1995) *Remington's Pharmaceutical Sciences,* 18th ed., Mack Publishing Co.를 참조한다.

[0171] 작용제, 예를 들면, 본 발명의 화합물의 유효량 또는 치료적 유효량은 개체에서 증상의 개선 또는 생존의 연장

을 가져오는 작용제 또는 화합물의 양을 의미한다. 그러한 분자들의 독성 및 치료적 효능은 예를 들면, LD50 (집단의 50%에 대한 치사 용량) 및 ED50 (집단의 50%에서 치료적으로 효과적인 용량)을 결정하는 것에 의해 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 독성 효과 대 치료 효과의 용량비가 치료 지수(therapeutic index)이고, 이는 비 LD50/ED50으로 표현될 수 있다. 높은 치료 지수를 보이는 작용제가 바람직하다.

[0172] 유효량 또는 치료적 유효량은 연구자, 수의사, 의사, 또는 기타 임상의에 의해 추구되는 조직, 계(system), 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 도출할 화합물 또는 약제학적 조성물의 양이다. 투여량(dosage)은 사용되는 투여 제형(dosage form) 및/또는 이용되는 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 변할 수 있다. 정확한 제형, 투여 경로, 투여량, 및 투여 간격은 대상 개체의 상태의 구체적인 사항들을 고려하여, 당해 기술 분야에서 공지된 방법에 따라 선택되어야 한다.

[0173] 투여량 및 간격은 원하는 효과를 달성하기 위해 충분한 활성 모이어티의 혈장 수준, 즉, 최소 유효 농도(minimal effective concentration)(MEC)를 제공하도록 개별적으로 조정되어야 한다. MEC는 각 화합물에 대해 변할 것이나, 예를 들면, 인 비트로 데이터 및 동물 실험으로부터 추정될 수 있다. MEC를 달성하기 위해 필요한 투여량은 개별적인 특징 및 투여 경로에 의존적일 것이다. 국소 투여 또는 선택적 흡수의 경우에, 약물의 효과적인 국소 농도는 혈장 농도와 관련되지 않을 수 있다.

[0174] 관련된 구체예에서, 치료는 나노입자의 투여 전에 표적화 결합제의 투여를 포함한다. 일 구체예에서, 표적화 결합제는 나노입자의 투여 전 약 6 내지 48시간, 또는 12 내지 48시간에 투여된다. 또 다른 구체예에서, 표적화 결합제는 나노입자의 투여 전 6 내지 12시간에 투여된다. 또 다른 구체예에서, 표적화 결합제는 나노입자의 투여 전 2 내지 8시간에 투여된다. 또 다른 구체예에서, 표적화 결합제는 나노입자의 투여 1 주일 전에 투여된다. 예를 들면, 베바시주맙 또는 기타 VEGF-결합 항체를 포함하는 나노입자 복합체의 투여 전 24시간에 BEV의 용량이 투여된다. 또 다른 예에서, 리툭시맙-함유 나노입자 복합체의 투여 전에 리툭시맙의 사전 투여(prior administration). 나노입자의 투여 전에 투여된 결합제는 치료량 미만(subtherapeutic), 예를 들면, 정상적으로 치료량으로 고려되는 양의 1/2, 1/10, 또는 1/20의 용량으로 투여된다. 따라서, 인간에서, BEV에 의한 전치료(pretreatment)는 통상적인 용량의 1/10인 1 mg/kg BEV의 투여를 포함하고, 나노입자 또는 나노입자 복합체의 투여로 이어진다.

[0175] 본 개시가 코어로서 알부민-결합 파클리탁셀 또는 파클리탁셀 유도체와 항체로서 베바시주맙(즉, Avastin®) 또는 리툭시맙(즉 Rituxan®)으로 이루어진 나노입자를 이용하여 예시된다.

[0176] 당업자는 실시예의 나노입자를 제조하고 사용하는 것은 단지 예시의 목적을 위한 것이고, 본 개시는 이 예시에 의해 한정되지 않는 것으로 이해할 것이다.

[0177] 본 명세서에서 사용된 약자는 정상적인 과학적 의미를 갖는다. 달리 기재되지 않으면, 온도는 ℃이다. 본 명세서에서, 하기 용어는 달리 정의되지 않으면 다음의 의미를 갖는다:

표 3

[0178]

ABX	=	ABRAXANE® (알부민-결합 파클리탁셀)
ADC	=	항체-의존성 화학요법(antibody dependent chemotherapy)
BEV	=	베바시주맙(bevacizumab)
BSA	=	우혈청 알부민(bovine serum albumin)
nM	=	나노몰 농도(nanomolar)
FITC	=	플루오레세인(Fluorescein)
Kd	=	해리 상수(dissociation constant)
kg	=	킬로그램(kilogram)
M	=	몰 농도(molar)
mg	=	밀리그램(milligram)
ml 또는 mL	=	밀리리터(milliliter)
m^2	=	평방 미터(square meters)
mm^3	=	입방 미터(cubic millimeter)
㎍	=	마이크로그램(microgram)
㎕	=	마이크로리터(microliter)
㎛	=	마이크로미터(micrometer)/마이크론(micron)

PBS	=	인산염 완충 염수(Phosphate buffered saline)
RT	=	실온(room temperate)
rpm	=	분당 회전수(rotations per minute)

[0179] **실시예 1: 나노입자 제조**

[0180] 참조에 의해 전체로 본 명세서에 포함된, "Modified Taxols. Reaction of Taxol with Electrophilic Reagents and Preperation of a Rearranged Taxol Derivative with Tubulin Assembly Activity"(*J. Org. Chem.* 1991, 56, 5114-5119)에서 Samaranayake 등에 의해 제시된 반응식(reaction scheme)에 따라 파클리탁셀을 메르바인 시약(Meerwein's Reagent)과 반응시켰다. 이 반응은 C-4,C-5 옥세탄(oxetane) 고리를 분해(break)시켜 독성을 크게 저해한다. 반응 및 정제는 Organix Inc. (Woburn, MA)에 의해 수행되었다. 반응이 도 1에 도시된다.

[0181] 파클리탁셀의 메르바인 산물(20-아세톡시-4-디액틸-5-epi-20,O-세코탁솔)을 고압 하에 알부민과 함께 균질화(homogenize)시켜서 안정한 무독성 나노입자(NTP)를 형성시켰다. 알부민과 탁산(예를 들면, 파클리탁셀)을 균질화시키는 방법은 각각이 참조에 의해 전체로 본 명세서에 포함된, 미국특허 제5,916,596호; 제6,506,405호; 및 제6,537,579호에서 찾을 수 있다.

[0182] 요약하면, 인간 혈청 알부민(HSA; Sigma Aldrich)을 멸균수에 1-1.5% w/v로 용해시켰다. 별개의 용기에서, 20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20, O-세코탁솔(HSA에 대해 10% w/w)을 클로로포름에 10mg/ml까지 용해시켰다. 클로로포름 용액을 알부민 용액에 첨가하고 휴대용 균질화기(hand-held homogenizer)로 낮은 RPM에서 5분 동안 혼합했다. 수득된 용액을 20,000 PSI에서 15회 사이클 동안 마이크로-균질화 펌프(micro-homogenizing pump)를 통과시켰다. 펌프 코일 경로(pump coiled pathway) 및 수집 튜브를 얼음 조(ice bath)에 배치하여 용액이 위험하게 높은 온도(즉, 50℃ 초과)에 도달하는 것을 방지했다. 용액을 냉각 트랩(cold trap)을 갖춘 회전 증발기로 옮기고 감압 하에 45분 동안 작동시켜 클로로포름을 증발시켰다. 수득된 용액을 200 nm 셀룰로오스 아세테이트 필터를 통해 여과시켰다.

[0183] 동결건조된 나노입자를 위해, 용액을 산물의 완전한 동결건조를 가능하게 하기 위해 적절한 부피로 동결건조 플라스크에 분주했다. 용액을 담은 플라스크를 -80℃에서 2-4시간 동안 두었다. 플라스크 중의 동결된 용액을 <20 mtorr에서 -85 ℃의 컨덴서를 갖춘 탁상형 동결건조기(bench top freeze dryer with condenser)를 이용하여 동결건조시켰다.

[0184] **실시예 2: NTP와 베바시주맙의 인 비트로 결합**

[0185] NTP와 베바시주맙(BEV)이 상호작용하는지 여부를 결정하기 위해, 실시예 1에서 형성된 NTP의 크기를 단독 및 밀리리터당 베바시주맙 4, 6, 8, 및 10 mg(mg/mL)과 30분 인큐베이션 후에 Malvern Nanosight 기술에 의해 분석했다.

[0186] BEV의 농도 증가에 따른 나노입자 직경의 증가(도 2a 내지 2e)는 BEV에 의한 NTP의 증가된 비-공유결합성 코팅을 시사한다. Malvern Nanosight 기술을 이용하여, 직경을 1:300 희석에서 측정했다.

[0187] **실시예 3: 베바시주맙 및 리툭시맙의 무독성 나노입자(NTP)로의 결합 친화도**

[0188] Bio Layer Interferometry Technology을 이용하여 베바시주맙(도 3a) 및 리툭시맙(도 3b)의 NTP로의 결합 친화도(K_d)를 측정했다. 두 항체 모두 아민 커플링을 이용하여 비오티닐화시키고 100 ㎍/mL에서 BLITZ 스트렙타비딘 프로브에 개별적으로 결합시켰다. 120초의 결합 및 해리 기간으로, 다양한 농도에서 NTP를 프로브로의 결합에 대해 분석했다. BLITZ Evaluation 소프트웨어를 이용하여 동역학(kinetic) 분석을 수행했다. 나노-피코몰 친화도(nano-picomolar affinity)는 리툭시맙과 NTP, 및 베바시주맙과 NTP 간의 강력한 결합을 나타낸다.

[0189] **실시예 4: ABRAXANE® (ABX) 대비 PBS 및 혈청 중 무독성 나노입자(NTP)의 안정성**

[0190] 항체 불포함 NTP 및 ABRAXANE®(ABX) 용액을 각각 PBS 중 파클리탁셀의 메르베인 산물 및 파클리탁셀 30 ㎍/mL로 제조했다. Malvern Nanosight 기술을 이용하여, mL 당 나노입자의 기준선 계수(baseline count)를 수득했다. 그 후, 두 용액에 대해 다양한 희석액을 제조하고, 입자 농도를 측정했다.

[0191] 도 4a는 염수 중 ABX와 NTP의 안정성을 보여준다. 아브락산(ABX) 나노입자는 ~1:2 희석에서 기준선 PBS 수준에 도달할 때까지 최초 용액(initial solution)의 약 1:1.33 희석 부근에서 분해되기 시작했다. NTP는 희석 배수(dilution factor)에 따라 선형적으로 감소하여, 입자가 분해되지 않았다는 것을 시사했다.

[0192] 도 4b는 혈청 중 ABX와 NTP의 안정성을 보여준다. NTP 및 ABX 용액을 각각 혈청 중 파클리탁셀의 메르베인 산물 및 파클리탁셀 250 ㎍/mL로 제조했다. Malvern Nanosight Technology을 이용하여 나노입자의 최초 농도를 측정하고, 후속 측정값은 최초 농도 대비 백분율로 제시된다. 각 용액의 농도를 혈청에서의 15분, 30분, 45분, 및 60분에 측정했다.

[0193]

[0194] **실시예 5: NTP-리툭시맙 복합체에 의한 Daudi 세포 CD20 차단**

[0195] ABX, AR160, 무독성 나노입자(NTP) 및 리툭시맙-결합 NTP를 전술되거나 또는 이전에 개시된 바와 같이(*예를 들면,* 참조에 의해 본 명세서에 전체로 포함된, PCT Pub. No. WO2014/055415 참조) 제조했다. 나노입자 및 미표지(unlabeled) 리툭시맙을 실온에서 30분 동안 CD20+ Daudi 림프종 세포와 함께 동시-인큐베이션시켰다. 세포들을 세척하고 뒤이어 PE 항-인간 CD20으로 염색시켰다. 이소형(도 5a) 및 항-CD20(도 5b) 염색된 세포가 각각 음성 대조군 및 양성 대조군으로 작용했다.

[0196] 결과는 AR160(도 5d), 리툭시맙 적재(rituximab loaded) NT 입자(NTRit; 도 5f), 및 리툭시맙(FIG. 5G)이 PE 항-인간 CD20의 후속 결합을 차단하나, ABX(도 5c) 및 NT 나노입자(도 5e) 단독은 그렇지 않다는 것을 나타낸다. 이는 AR160 및 리툭시맙-적재 NT 입자에서 리툭시맙이 그의 리간드 결합 특성을 유지한다는 것을 보여준다.

[0197] **실시예 6: 감소된 파클리탁셀(reduced paclitaxel)을 포함하는 알부민-파클리탁셀 나노입자**

[0198] ABRAXANE® 대비 파클리탁셀의 감소된 양을 갖는 알부민-파클리탁셀 나노입자를 형성시킨다.

[0199] 예를 들면, 30 mg 미만(예를 들면, 1 mg 내지 25 mg)의 파클리탁셀을 용매 (예를 들면, 염화메틸렌; 또는 클로로포름 및 에탄올)에 용해시킨다. 수득된 용액을 27.0 mL의 인간 혈청 알부민 용액(1% w/v)에 첨가한다. 수득된 혼합물을 낮은 RPM에서 5분 동안 균질화시켜 조 에멀젼(crude emulsion)을 형성시키고, 고압 균질화기로 옮긴다. 에멀젼을 5회 이상의 사이클 동안 재순환시키면서 에멀젼화(emulsification)를 9000-40,000 psi에서 수행한다. 결과적으로 수득된 시스템을 회전 증발기로 옮기고, 염화메틸렌을 40℃, 감압(30 mm Hg) 하에, 20-30분 동안 신속하게 제거한다. 선택적으로, 분산물(dispersion)을 0.22 마이크론 필터를 통해 여과시킨다.

[0200] 여과된 나노입자들을 동결건조하고 보관할 수 있다.

[0201] **실시예 7: 감소된 파클리탁셀을 포함하는 알부민-파클리탁셀-치료제 나노입자**

[0202] ABRAXANE® 대비 파클리탁셀의 감소된 양을 갖는 알부민-파클리탁셀-치료제 나노입자를 형성시킨다.

[0203] 예를 들면, 알부민-파클리탁셀 나노입자를 실시예 6에 기재된 바와 같이 형성시킨다. 치료제(예를 들면, 시스플라틴)를 실온에서 30분 동안 나노입자와 함께 약 10:1(나노입자:치료제)의 비로 인큐베이션시켰다. 나노입자를 제거한 후 HPLC에 의해 상층액 중 유리 치료제(free therapeutic agent)(예를 들면, 시스플라틴)를 측정한다.

[0204] **실시예 8: 감소된 파클리탁셀을 포함하는 알부민-파클리탁셀-항체 나노입자**

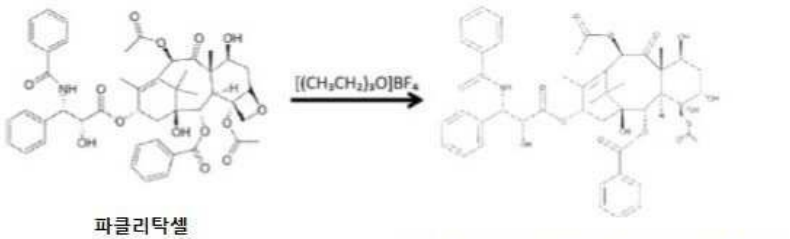
[0205] ABRAXANE® 대비 파클리탁셀의 감소된 양을 갖는 알부민-파클리탁셀-항체 나노입자를 형성시킨다.

[0206] 예를 들면, 실시예 6에 기재된 바와 같이, 알부민-파클리탁셀 나노입자를 형성시킨다. 나노입자(10 mg)를 항체(예를 들면, 베바시주맙)(4 mg)와 조합하고, 840 ㎕의 0.9% 염수를 첨가하여 각각 나노입자 및 항체의 10 mg/ml 및 2 mg/ml의 최종 농도를 얻는다. 수득된 혼합물을 실온에서 30분 동안 인큐베이션시켜서 입자가 형성되게 한다.

[0207] 항체-알부민-파클리탁셀-치료제 나노입자 복합체가 형성될 수 있다. 선택적으로, 항체를 (실시예 7로부터의)알부민-파클리탁셀-치료제 나노입자와 인큐베이션시켜 항체-알부민-파클리탁셀-치료제 나노입자 복합체를 형성시킨다. 대안적으로, 항체-알부민-파클리탁셀 나노입자를 치료제와 인큐베이션시켜서 항체-알부민-파클리탁셀-치료제 나노입자 복합체를 형성시킬 수 있다.

도면

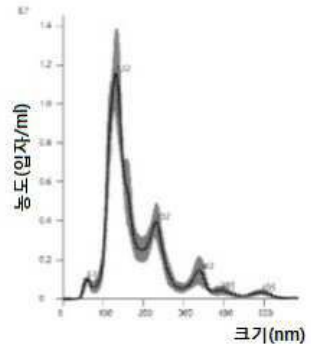
도면1



파클리탁셀

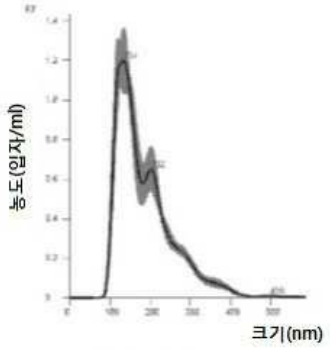
20-아세톡시-4-디액틸-5-에피-20, O-세코탁솔
(파클리탁셀의 메르베인 산물)

도면2a



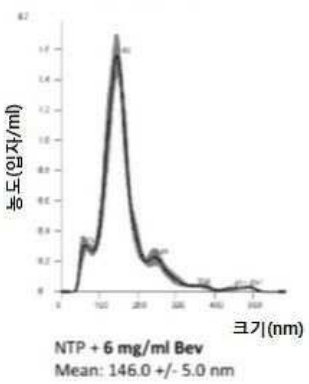
NTP Mean: 134.4 +/- 7.2 nm

도면2b

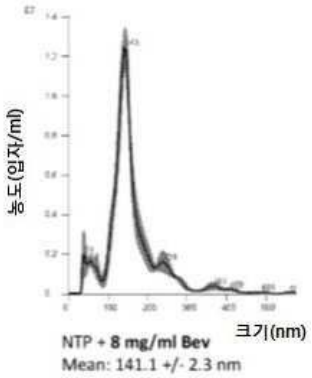


NTP + 4mg/ml Bev
Mean: 133.1 +/- 7.1

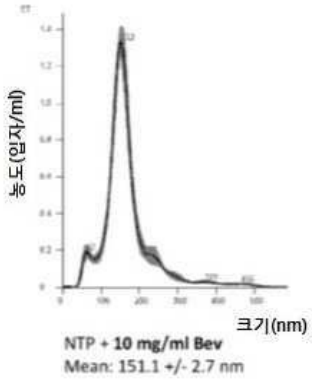
도면2c



도면2d



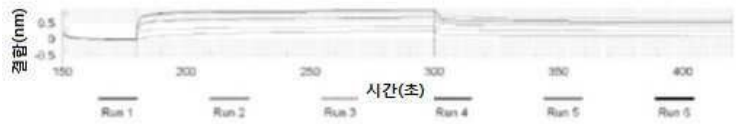
도면2e



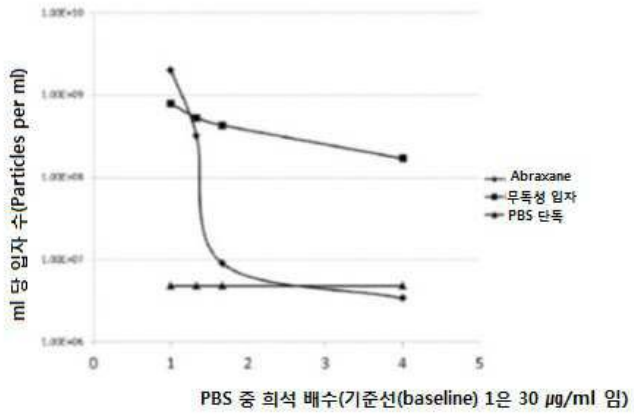
도면3a



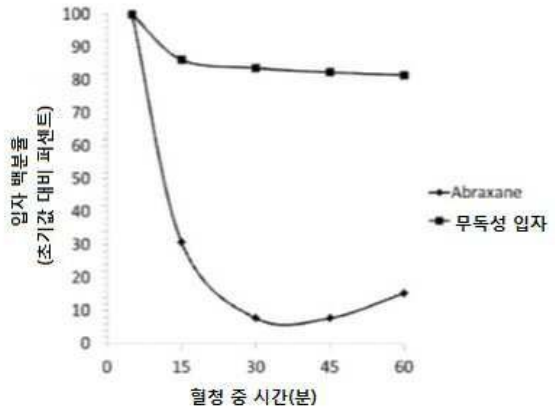
도면3b



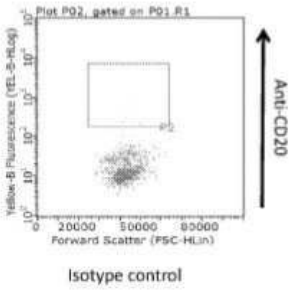
도면4a



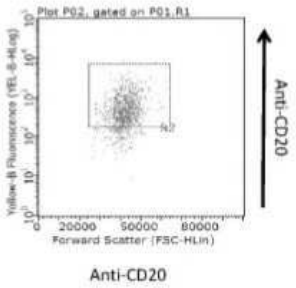
도면4b



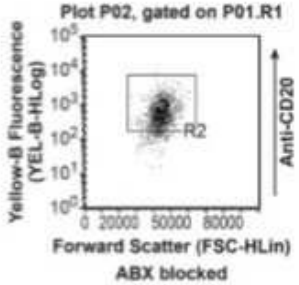
도면5a



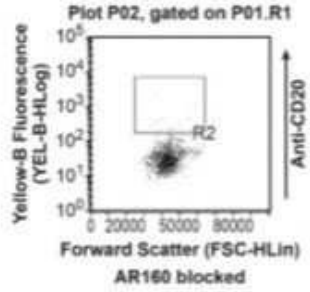
도면5b



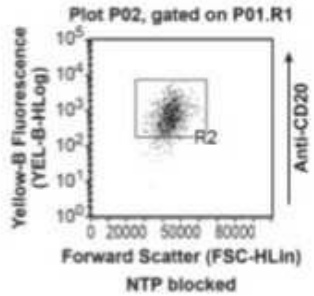
도면5c



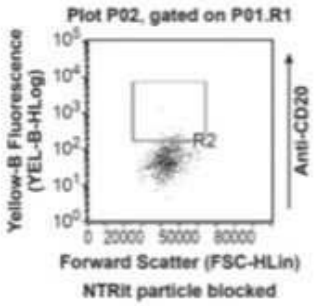
도면5d



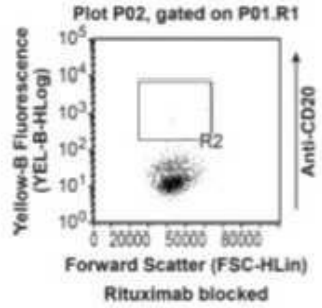
도면5e



도면5f


Plot P02, gated on P01.R1
Yellow-B Fluorescence (YEL-B-HLog)
Anti-CD20
R2
Forward Scatter (FSC-HLin)
NTRit particle blocked

도면5g


Plot P02, gated on P01.R1
Yellow-B Fluorescence (YEL-B-HLog)
Anti-CD20
R2
Forward Scatter (FSC-HLin)
Rituximab blocked