



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0069269  
(43) 공개일자 2014년06월09일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**A61K 47/48** (2006.01) **A61K 9/127** (2006.01)  
**A61K 48/00** (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7011173
- (22) 출원일자(국제) 2012년09월27일  
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2014년04월25일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/057642
- (87) 국제공개번호 WO 2013/049405  
 국제공개일자 2013년04월04일
- (30) 우선권주장  
 61/541,797 2011년09월30일 미국(US)

- (71) 출원인  
**말린크로트 엘엘씨**  
 미국 63042 미주리주 헤이즐우드 맥도넬 블러바드  
 675
- (72) 발명자  
**로저스 토마스 에드워드**  
 미국 63021 미주리주 볼원 트라고 크릭 드라이브  
 755
- (74) 대리인  
**백만기, 양영준**

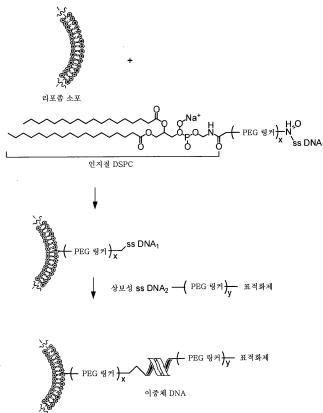
전체 청구항 수 : 총 54 항

(54) 발명의 명칭 **상보성 올리고뉴클레오티드 링커를 사용한 표적화된 나노입자들의 원격 조립**

### (57) 요 약

본 발명은 표적화 전달 조성물, 및 대상체에서 질환 상태를 치료 및 진단함에 있어서의 그의 사용 방법을 제공한다. 표적화 전달 조성물의 성분들은 올리고뉴클레오티드들 사이의 이중체 형성을 통하여 서로 합쳐진다.

**대 표 도** - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

(a) 치료제 또는 진단제 또는 이들의 조합을 포함하는 나노입자;

(b)  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분; 및

(c)  $C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분

을 포함하며, 여기서

A는 부착 성분이고;

$L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;

$C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍(preferential binding pair)의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며;

T는 표적화제이고;

아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것이며;

상기 유도체화 부착 성분의 A 부분은 상기 나노입자에 부착되는, 표적화 치료용 또는 진단용 전달 조성물.

### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 나노입자가 리포좀, 미포, 지질단백질, 지질-코팅 기포, 블록 공중합체 미포, 폴리머좀, 니오좀, 산화 철 입자, 실리카 입자, 텐드리머 및 양자 점으로 구성되는 군에서 선택되는 전달 조성물.

### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 나노입자가 SUV, LUV 및 MLV로 구성되는 군에서 선택되는 리포좀인 전달 조성물.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 치료제 또는 상기 진단제가 상기 나노입자에 매립되거나, 캡슐화되거나, 또는 테더링되는 전달 조성물.

### 청구항 5

제1항에 있어서, 상기 부착 성분이 상기 나노입자에 대한 공유결합 부착을 위한 관능기를 포함하는 전달 조성물.

### 청구항 6

제1항에 있어서, 상기 부착 성분이 지질인 전달 조성물.

### 청구항 7

제6항에 있어서, 상기 지질이 인지질, 당지질, 스팽고지질 또는 콜레스테롤인 전달 조성물.

### 청구항 8

제6항에 있어서, 상기 유도체화 부착 성분의 A 부분이 상기 나노입자의 지질 이중층 부분에 존재하며, 임의로 상기 나노입자가 리포좀인 전달 조성물.

### 청구항 9

제1항에 있어서,  $L^1$  및  $L^2$  각각이 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리비닐 알콜,

폴리카르복실레이트, 다당류 및 텍스트란으로 구성되는 군에서 독립적으로 선택되는 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기인 전달 조성물.

#### 청구항 10

제1항에 있어서,  $C^1$  및  $C^2$ 가 8-50개 핵산 길이의 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며,  $C^1$ 이 8 내지 30개 핵산의 서열에 걸쳐  $C^2$ 에 대하여 70 % 이상 상보성이고, 임의로  $C^1$  또는  $C^2$  중 하나가  $C^1$ 과  $C^2$  사이의 공유결합 부착을 제공하는 연결 잔기를 포함하도록 변형되는 전달 조성물.

#### 청구항 11

제1항에 있어서,  $C^1$ 과  $C^2$ 가 약 40 °C 내지 약 60 °C 사이의 용해 온도에서 변성되는 전달 조성물.

#### 청구항 12

제1항에 있어서,  $C^1$  및  $C^2$ 가 8 내지 50개 핵산 길이이며,  $C^1$ 이  $C^2$ 에 대하여 70 % 이상 상보성인 전달 조성물.

#### 청구항 13

제1항에 있어서, T가 암타미인 전달 조성물.

#### 청구항 14

제1항에 있어서, T가 MUC-1, EGFR, FOL1R, 클라우딘 4, MUC-4, CXCR4, CCR7, 소마토스타틴 수용체 4, Erb-B2 (적혈모구성 백혈병 종양유전자 동종체 2) 수용체, CD44 수용체, VEGF 수용체-2 키나제 및 뉴클레올린으로 구성되는 군에서 선택되는 수용체상에 존재하는 부위를 표적으로 하는 암타미인 전달 조성물.

#### 청구항 15

제1항에 있어서, 아래첨자 x 및 y 각각이 1인 전달 조성물.

#### 청구항 16

제1항에 있어서, x가 0이고, y가 1인 전달 조성물.

#### 청구항 17

제1항에 있어서, x가 1이고, y가 0인 전달 조성물.

#### 청구항 18

제1항에 있어서, 상기 치료제가 독소루비신, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실, 켐티빈 및 탁산으로 구성되는 군에서 선택되는 항암제인 전달 조성물.

#### 청구항 19

제1항에 있어서, 상기 진단제가 방사성 작용제, 형광제 또는 조영제인 전달 조성물.

#### 청구항 20

제1항에 있어서, 상기 진단제가  $^{111}\text{In}$ -DTPA,  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -DTPA 및  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -ENPy2로 구성되는 군에서 선택되는 방사성 작용제인 전달 조성물.

#### 청구항 21

제1항에 있어서, 상기 진단제가 형광제인 전달 조성물.

#### 청구항 22

제1항에 있어서, 상기 진단제가 MR 작용제 또는 X-선 조영제인 전달 조성물.

**청구항 23**

(a)  $DT-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분;

(b)  $C^2-(L^2)_y-DT$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분

을 포함하며, 여기서

DT는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합이고;

$L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;

$C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며;

T는 표적화제이고;

아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것인, 표적화 전달 조성물.

**청구항 24**

제23항에 있어서, 아래첨자 x 및 y 각각이 1인 전달 조성물.

**청구항 25**

제23항에 있어서, x가 0이고, y가 1인 전달 조성물.

**청구항 26**

제23항에 있어서, x가 1이고, y가 0인 전달 조성물.

**청구항 27**

(a) 나노입자;

(b)  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분; 및

(c)  $C^2-(L^2)_y-DT$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분

을 포함하며, 여기서

A는 부착 성분이고;

$L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;

$C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며;

DT는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합이고;

아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것이며;

상기 유도체화 부착 성분의 A 부분은 상기 나노입자에 부착되는, 표적화 치료용 또는 진단용 전달 조성물.

**청구항 28**

$A-(L^1)-C^1$ 의 화학식을 가지며, 여기서

A는 부착 성분이고;

$L^1$ 은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;

$C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체인, 유도체화 부착 성분.

### 청구항 29

제28항에 있어서, 상기 부착 성분이 나노입자에 대한 공유결합 부착을 위한 관능기를 포함하는 유도체화 부착 성분.

### 청구항 30

제28항에 있어서, 상기 부착 성분이 지질인 유도체화 부착 성분.

### 청구항 31

제30항에 있어서, 상기 부착 성분이 인지질, 당지질, 스팽고지질 또는 콜레스테롤인 유도체화 부착 성분.

### 청구항 32

제28항에 있어서, 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기가 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리비닐 알콜, 폴리카르복실레이트, 다당류 및 텍스트란으로 구성되는 군에서 선택되는 유도체화 부착 성분.

### 청구항 33

제28항에 있어서,  $C^1$  및  $C^2$ 가 70 % 이상 상보성인 유도체화 부착 성분.

### 청구항 34

제28항에 있어서,  $C^1$  및  $C^2$ 가 8-50개 핵산 길이이며,  $C^1$ 이 8 내지 30개 핵산의 서열에 걸쳐  $C^2$ 에 대하여 70 % 이상 상보성이고, 임의로  $C^1$  또는  $C^2$  중 하나가  $C^1$ 과  $C^2$  사이의 공유결합 부착을 제공하는 연결 잔기를 포함하도록 변형되는 유도체화 부착 성분.

### 청구항 35

제28항에 있어서,  $C^1$  및  $C^2$ 가 70 % 이상 상보성이도록 선택되는 비-자연 서열을 가지는 유도체화 부착 성분.

### 청구항 36

제28항에 있어서,  $C^1$  및  $C^2$  중 하나 이상이 시험판 내에서 합성되는 유도체화 부착 성분.

### 청구항 37

$(DT)-(L^1)-C^1$ 의 화학식을 가지며, 여기서

DT는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합이고;

$L^1$ 은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;

$C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체인, 진단 또는 치료 성분.

### 청구항 38

제37항에 있어서, 상기 진단제가 방사성 작용제, 형광제 또는 조영제인 진단 또는 치료 성분.

### 청구항 39

제37항에 있어서, 상기 진단제가  $^{111}\text{In}$ -DTPA,  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -DTPA 및  $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -ENPy2로 구성되는 군에서 선택되는 방사성 작용제인 진단 또는 치료 성분.

#### 청구항 40

제37항에 있어서, 상기 진단제가 형광제인 진단 또는 치료 성분.

#### 청구항 41

제37항에 있어서, 상기 진단제가 MR 작용제 또는 X-선 조영제인 진단 또는 치료 성분.

#### 청구항 42

제37항에 있어서, 상기 치료제가 독소루비신, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실, 켐시티빈 및 탁산으로 구성되는 군에서 선택되는 진단 또는 치료 성분.

#### 청구항 43

$\text{C}^2-(\text{L}^2)-\text{T}$ 의 화학식을 가지며, 여기서

$\text{L}^2$ 는 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이고;

$\text{C}^2$ 는 제2 구성원  $\text{C}^1$ 과의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이며, 여기서  $\text{C}^1$  및  $\text{C}^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이고;

T는 표적화제인, 표적화 성분.

#### 청구항 44

제43항에 있어서,  $\text{C}^1$  및  $\text{C}^2$ 가 70 % 이상 상보성인 표적화 성분.

#### 청구항 45

제43항에 있어서, T가 암타미인 표적화 성분.

#### 청구항 46

$\text{C}^1$ 과  $\text{C}^2$  사이에 이중체가 형성되기에 충분한 조건하에서,  $\text{A}-(\text{L}^1)_x-\text{C}^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분을  $\text{C}^2-(\text{L}^2)_y-\text{T}$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분과 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서

A는 부착 성분이고;

$\text{L}^1$  및  $\text{L}^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;

$\text{C}^1$ 은 제2 구성원  $\text{C}^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $\text{C}^1$  및  $\text{C}^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며;

T는 표적화제이고;

아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것이며;

상기 유도체화 부착 성분의 A 부분은 나노입자에 부착되는, 표적화 치료용 또는 진단용 전달 조성물의 제조 방법.

#### 청구항 47

$\text{C}^1$ 과  $\text{C}^2$  사이에 이중체가 형성되기에 충분한 조건하에서,  $\text{DT}-(\text{L}^1)_x-\text{C}^1$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분을

$C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분과 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서

DT는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합이고;

$L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;

$C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며;

T는 표적화제이고;

아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것인, 표적화 전달 조성물의 제조 방법.

#### 청구항 48

제1항에 따른 표적화 전달 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 해당 치료제 또는 진단제는 암성 병태를 치료 또는 진단하는 데에 충분한, 대상체에서의 암성 병태의 치료 또는 진단 방법.

#### 청구항 49

제48항에 있어서, 상기 표적화제가 MUC-1, EGFR, FOL1R, 클라우딘 4, MUC-4, CXCR4, CCR7, 소마토스타틴 수용체 4, Erb-B2 (적혈모구성 백혈병 종양유전자 동종체 2) 수용체, CD44 수용체, VEGF 수용체-2 키나제 및 뉴클레올린으로 구성되는 군에서 선택되는 수용체상에 존재하는 부위를 표적으로 하는 암타미인 방법.

#### 청구항 50

제48항에 있어서, 상기 나노입자가 독소루비신, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실, 켐시티빈 및 탁산으로 구성되는 군에서 선택되는 항암제를 캡슐화하고 있는 리포좀인 방법.

#### 청구항 51

제48항에 있어서,  $C^1$  및  $C^2$  각각이 12-25개의 핵산을 가지는 올리고뉴클레오티드이며, 90 % 초과 상보성인 방법.

#### 청구항 52

나노입자가 진단제를 포함하는 제1항에 따른 표적화 전달 조성물을 대상체에게 투여하는 것, 및 상기 대상체를 영상화하여 상기 진단제를 검출하는 것을 포함하는, 표적화된 치료용 치료에 대한 대상체의 적합성 결정 방법.

#### 청구항 53

제37항에 따른 표적화 전달 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 해당 치료제 또는 진단제는 암성 병태를 치료 또는 진단하는 데에 충분한, 대상체에서의 암성 병태의 치료 또는 진단 방법.

#### 청구항 54

진단제가 연결기에 직접 부착되어 있는 제37항에 따른 표적화 전달 조성물을 대상체에게 투여하는 것, 및 상기 대상체를 영상화하여 상기 진단제를 검출하는 것을 포함하는, 표적화된 치료용 치료에 대한 대상체의 적합성 결정 방법.

### 명세서

#### 기술 분야

[0001]

[관련 출원의 상호-참조]

[0002]

본 출원은 그의 전체 내용이 본원에 참조로써 개재되는 2011년 9월 30일자 U.S. 가출원 제61/541,797호의 우선권을 주장하는 바이다.

[0003]

[연방 후원 연구 개발하에 이루어진 발명에 대한 권리 선언]

- [0004] 해당 없음
- [0005] [콤팩트 디스크상으로 제출된 "서열 목록", 표 또는 컴퓨터 프로그램 목록 부록에 대한 관련사항]
- [0006] 해당 없음

## 배경기술

- [0007] 암은 모든 연령의 사람들에게 영향을 줄 수 있는 종류의 질환이다. 따라서, 환자에게서 암을 치료하거나 진단할 수 있는 요법을 제공하기 위한 상당한 노력이 존재한다. 최근에는, 약물 전달 및 진단 영상화 기술에 있어서의 가능성 있는 새로운 수단으로서, 신체에서의 나노입자의 표적화된 전달이 논의되고 있다. 불행히도, 암을 효과적으로 치료하거나 진단할 수 있는 나노입자 기재-생성물을 제조하는 데에는 여전히 장애가 존재한다. 따라서, 암을 치료하거나 진단하며 개별화된 환자 관리를 용이하게 하는 방법을 제공할 수 있는 새로운 표적화 전달 접근법에 대한 필요성이 있다.

## 발명의 내용

### 과제의 해결 수단

- [0008] [발명의 개요]
- [0009] 본 발명은 표적화 전달 조성물, 및 대상체에서 암성 형태와 같은 질환 상태를 치료 및 진단함에 있어서의 그의 사용 방법을 제공한다.
- [0010] 본 발명의 일 측면에서, 상기 표적화 전달 조성물은 치료제, 진단제 또는 이들의 조합을 포함하는 나노입자,  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분, 및  $C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분을 포함할 수 있는데, 이를 각각에 대해서는 하기에 더욱 상세하게 기술되어 있다. 또 다른 측면에서, 상기 표적화 전달 조성물은  $DT-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분, 및  $C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분을 포함할 수 있으며, 이를 각각에 대해서는 하기에 더욱 상세하게 기술되어 있다.
- [0011] 상기 표적화 전달 조성물, 및 그와 같은 조성물의 제조 및 사용 방법은 약물 전달 및 진단 영상화 분야에 수많은 독특한 측면들을 제공한다. 예를 들면, 상기 표적화 전달 조성물의 소정의 성분들 (예컨대 나노입자 및 부착 성분)은 표적화 성분이 첨가되어 최종 조립체를 형성하기 전에, 다양한 공정에 의해 서로 합쳐질 수 있다. 본원에서 기술되는 바와 같은 이종체 형성 기술이 이러한 장점을 제공할 수 있다. 소정의 경우, 이러한 장점은 대상체의 형태를 치료 및/또는 진단하기 위한 더욱 개별화된 접근법을 제공하는 데에도 사용될 수 있는데, 예를 들면 상기 표적화 전달 조성물은 개별화된 의약 접근법의 진전을 제공할 수 있다.
- [0012] 본 발명의 특성 및 장점에 대한 추가적인 이해는 본 명세서 및 도면의 나머지 부분을 참조하여 실현될 수 있다.

## 도면의 간단한 설명

- [0013] 도 1은 본 발명의 전형적인 실시양태에 따른 표적화 전달 조성물의 구조를 도시한다.
- 도 2는 본 발명의 전형적인 실시양태에 따른 가교 반응을 도시한다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

### I. 정의

- [0014] 본원에서 사용될 때, "표적화 전달 조성물(targeted delivery composition)"이라는 용어는 일반적으로 대상체에서 질환 상태를 치료 및/또는 진단하는 데에 사용될 수 있는 조성물을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물에는 본원에서 기술되는 바와 같은 나노입자, 유도체화 부착 성분, 및 표적화 조성물을 포함할 수 있는 "표적화 치료용 또는 표적화 진단용의 전달 조성물"이 포함될 수 있다. 다른 실시양태에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물은 진단 또는 치료 성분, 및 표적화 성분을 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 치료 조성물로, 진단 조성물로, 또는 치료 및 진단 조성을 모두로 사용될 수 있다. 소정 실시양태에서, 조성물은 본원에서 추가적으로 기술되는 바와 같이 대상체 또는 시험 샘플 내의 특정 표적에 대하여 표적화될 수 있다.
- [0015] 본원에서 사용될 때, "나노입자"라는 용어는 본원에서 추가적으로 기술되는 가변적인 크기, 형상, 유형 및 용도

의 입자를 지칭한다. 업계 일반의 숙련자라면 알고 있을 바와 같이, 나노입자의 특성, 예컨대 크기는 나노입자의 유형 및/또는 용도는 물론, 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 기타 인자들에 따라 달라질 수 있다. 일반적으로, 나노입자는 크기가 약 1 nm 내지 약 1000 nm의 범위일 수 있다. 다른 실시양태에서, 나노입자는 크기가 약 10 nm 내지 약 200 nm 범위일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 나노입자는 크기가 약 50 nm 내지 약 150 nm 범위일 수 있다. 소정 실시양태에서, 나노입자는 크기가 신장 배설 한계보다 더 큰데, 예를 들면 직경이 약 6 nm를 초과한다. 다른 실시양태에서, 나노입자는 간에 의한 혈류로부터의 청소를 회피하기에 충분하게 작은데, 예를 들면 직경이 1000 nm 미만이다. 나노입자에는 구체, 원추체, 구상체, 및 업계에 일반적으로 알려져 있는 기타 형상체들이 포함될 수 있다. 나노입자는 중공형 (예컨대 중공형 내부 코어를 가지는 밀속형 외부 코어) 또는 밀속형일 수 있거나, 또는 중공 및 밀속형 층들, 또는 다양한 밀속형 층들을 사용하여 다층화될 수 있다. 예를 들면, 나노입자는 밀속형 코어 영역 및 밀속형 외부 캡슐화 영역을 포함할 수 있으며, 이들 양자는 가교될 수 있다. 나노입자는 1종의 물질, 또는 지질, 중합체, 자성 물질 또는 금속성 물질, 예컨대 실리카, 산화 철 등을 포함한 다양한 물질들의 임의 조합으로 구성될 수 있다. 지질에는 지방, 왁스, 스테롤, 콜레스테롤, 콜레스테롤 유도체, 지용성 비타민, 모노글리세리드, 디글리세리드, 인지질, 스피고지질, 당지질, 양이온성 또는 음이온성 지질, 유도체화 지질, 카르디오리핀 등이 포함될 수 있다. 중합체에는 블록 공중합체, 일반적으로는 폴리(락트산), 폴리(락터-*co*-글리콜산), 폴리에틸렌 글리콜, 아크릴 중합체, 양이온성 중합체는 물론, 나노입자 제조에서의 용도로 업계에 알려져 있는 기타 중합체들이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 생분해성 및/또는 생체적 합성일 수 있다. 나노입자에는 리포좀, 미포, 지질단백질, 지질-코팅 기포, 블록 공중합체 미포, 폴리머좀, 니오좀, 양자점, 산화 철 입자, 텐드리머, 또는 실리카 입자가 포함될 수 있다. 소정 실시양태에서는, 지질에 의해 코팅될 수 있는 물질로 구성되는 나노입자, 예컨대 중합체 나노입자에 지질 단층 또는 이중층이 완전히 또는 부분적으로 코팅될 수 있다. 일부 실시양태에서, 리포좀에는 다층라멜라 소포 (MLV), 대형 단층라멜라 소포 (LUV) 및 소형 단층라멜라 소포 (SUV)가 포함될 수 있다.

[0017]

본원에서 사용될 때, "치료제"라는 용어는 유효량으로 존재할 경우 그를 필요로 하는 대상체에서 원하는 치료 효과를 산출하는 화합물 또는 분자를 지칭한다. 본원에서 추가적으로 기술되는 바와 같이, 본 발명은 상기 표적화 전달 조성물과 함께 광범위한 치료제들 및 그들의 사용에 대해 고려하고 있다.

[0018]

본원에서 사용될 때, "진단제"라는 용어는 대상체 또는 시험 샘플에서 검출될 수 있는 성분을 지칭하는 것으로 써, 본원에서 추가적으로 기술된다.

[0019]

본원에서 사용될 때, "부착 성분"이라는 용어는 본원에서 추가적으로 기술되는 바와 같은  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분의 A 부분을 지칭한다. 본 발명의 부착 성분은 나노입자에 (공유결합 또는 비-공유 결합으로) 부착될 수 있다. 소정 실시양태에서, 상기 부착 성분은 표면 또는 내부 영역을 포함한 나노입자의 소정 부분에 공유결합으로 결합될 수 있다. 공유결합 부착은 비제한적으로 본원에서 추가적으로 기술되는 것을 포함하여, 업계에 일반적으로 알려져 있는 연결 화학을 사용하여 달성될 수 있다. 다른 실시양태에서, 비-공유 결합 상호작용에는 친화성 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 소수성 상호작용, 반 테르 발스 상호작용, 수소 결합 상호작용, 자성 상호작용, 정전기적 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 항체-결합 상호작용 등이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노입자의 지질 이중층 부분에 존재할 수 있는데, 이 경우 소정 실시양태에서 나노입자는 리포좀이다. 예를 들면, 부착 성분은 지질 이중층의 소수성 및/또는 친수성 영역과 부분적으로 또는 전체적으로 상호작용하는 지질일 수 있다.

[0020]

본원에서 사용될 때, "유도체화(derivatized)"라는 용어는 특정 목적으로 변형되거나 적합화된 분자의 유도체 형태를 지칭한다. 예를 들면, 본 발명의 유도체화 부착 성분은 부착 성분이 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기(linking group)에 의해 유도체화되고 그것은 다시 올리고뉴클레오티드, 예컨대  $C^1$ 에 공유결합으로 부착될 수 있도록,  $A-(L^1)-C^1$ 의 화학식을 가질 수 있다.

[0021]

본원에서 사용될 때, "표적화 성분(targeting component)"이라는 용어는 본원에서 추가적으로 기술되는 바와 같은  $C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 전달 조성물의 성분을 지칭한다. 소정 실시양태에서, 본 발명의 표적화 성분은 특정 표적, 예를 들면 암 세포, 항원결정인자, 조직 부위 또는 수용체 부위상의 표적에 결합할 수 있다.

[0022]

본원에서 사용될 때, "표적화제"라는 용어는 표적에 대하여 특이적인 분자를 지칭한다. 소정 실시양태에서, 표적화제에는 표적 리간드의 소형 분자 모방체 (예컨대 펩티드 모방체 리간드), 표적 리간드 (예컨대 펩티드 또는

폴레이트 아미드를 함유하는 RGD 웨티드), 또는 특정 표적에 특이적인 항체 또는 항체 단편이 포함될 수 있다. 표적화제는 특정 질환 발생 단계와 연관될 수 있는 기관, 조직, 세포, 세포외 매트릭스 성분 및/또는 세포내 구획의 표적을 포함한 매우 다양한 표적에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적에는 암 세포, 특히 암 줄기 세포가 포함될 수 있다. 표적에는 또한 세포 표면상의 항원, 또는 정상 조직에 비해 암 세포에 존재하거나 거기에서 더 흔한 항원인 종양 마커가 포함될 수 있다. 소정 실시양태에서, 표적화제에는 또한 엽산 유도체, B-12 유도체, 인테그린 RGD 웨티드, RGD 모방체, NGR 유도체, 소마토스타틴 유도체, 또는 소마토스타틴 수용체에 결합하는 웨티드, 예컨대 옥트레오티드 및 옥트레오테이트 등이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화제는 암타머(aptamer) - 핵산 (예컨대 DNA 또는 RNA) 또는 웨티드로 구성되며, 특정 표적에 결합함 -일 수 있다. 표적화제는 수용체 표적, 특히 종양과 연관되어 발현되는 수용체 표적에 특이적 또는 비-특이적으로 결합하도록 설계될 수 있다. 수용체 표적의 예에는 MUC-1, EGFR, 클라우딘 4, MUC-4, CXCR4, CCR7, FOL1R, 소마토스타틴 수용체 4, Erb-B2 (적혈모구성 백혈병 종양유전자 동종체 2) 수용체, CD44 수용체 및 VEGF 수용체-2 키나제가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0023] 본원에서 사용될 때, "친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기"라는 용어는 성분의 일 부분을 동일 성분의 또 다른 부분에 연결하는 문자를 지칭한다. 연결 기에 대해서는 본원에서 추가적으로 기술되는 바,  $L^1$  및  $L^2$ 가 포함된다.

[0024] 본원에서 사용될 때, "올리고뉴클레오티드"라는 용어는 일반적으로 1개를 초과하는 뉴클레오티드의 소정 뉴클레오티드 사슬을 포함할 수 있는 뉴클레오티드의 사슬을 지칭한다. 올리고뉴클레오티드에는 예를 들면 8 내지 20 개 핵산의 짧은 뉴클레오티드 서열이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 길이가 약 2 내지 약 100개 핵산, 길이가 약 2 내지 약 50개 핵산, 길이가 약 8 내지 약 50개 핵산, 길이가 약 8 내지 약 40 개 핵산, 길이가 약 10 내지 약 30개 핵산, 또는 길이가 약 20 내지 약 30개 핵산 범위일 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 예를 들면 자연 염기 (예컨대 아데닌, 구아닌, 티민, 우라실 및 시토신)를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 서열은 자연 또는 비-자연의 것일 수 있다. 소정 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 이중체를 형성할 수 있으며, DNA 또는 RNA 중 어느 하나일 수 있다.

[0025] 본원에서 사용될 때, "올리고뉴클레오티드 모방체"라는 용어는 DNA 또는 RNA를 모방할 수 있는 문자를 지칭한다. 올리고뉴클레오티드 모방체에는 인공 또는 비-자연 모방체, 예컨대 웨티드 핵산 (PNA) 및 기타 포스포로티오에이트 유사체들이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 모방체는 서로 (예컨대 PNA/PNA) 또는 올리고뉴클레오티드와 (예컨대 PNA/DNA 또는 PNA/RNA) 이중체를 형성할 수 있다. 소정 실시양태에서는, 범용 및/또는 변형 염기들이 사용될 수 있다.

[0026] 본원에서 사용될 때, "연결 잔기"라는 용어는 통상적으로 공유결합 부착에 의해 2개 이상의 올리고뉴클레오티드들을 서로 연결할 수 있는 화학 기를 지칭한다. 예를 들면, 본 발명의 소정 실시양태에서는, 광가교, 또는 염기 또는 산 촉매촉진 가교와 같은 소정 조건하에 뉴클레오티드 쌍이 서로 가교될 수 있다. 올리고뉴클레오티드들 사이 또는 그들 간의 가교 방법에 대해서는 잘 알려져 있는데, 예를 들면 문헌 [Webb, Thomas R., Matteucci, Mark D., *Nucleic Acids Research* (1986) 14(19), 7661-7674]에 기술되어 있다.

[0027] 본원에서 사용될 때, "스텔스제(stealth agent)"라는 용어는 나노입자의 표면 특성을 변형시킬 수 있는 문자를 지칭하는 것으로써, 본원에서 추가적으로 기술된다.

[0028] 본원에서 사용될 때, "~에 매립되는(embedded in)"이라는 용어는 나노입자 표면 상에 또는 나노입자 표면 부근의 작용제의 위치를 지칭한다. 나노입자에 매립되는 작용제는 예를 들면 리포좀의 이중층 막 내에 위치되거나, 또는 해당 셀(shell) 내에 함유되도록 나노입자의 외부 중합체 셀 내에 위치될 수 있다.

[0029] 본원에서 사용될 때, "~에 캡슐화되는"이라는 용어는 나노입자의 내부 안에 봉입되거나 완전히 함유되는 작용제의 위치를 지칭한다. 예를 들어, 리포좀의 경우, 치료제 및/또는 진단제는 리포좀의 수성 내부에 존재하도록 캡슐화될 수 있다. 그와 같이 캡슐화된 작용제의 방출은 이후 리포좀을 불안정화하도록 되어 있는 소정의 조건에 의해 촉발되거나, 또는 다르게 캡슐화된 작용제의 방출이 수행될 수 있다.

[0030] 본원에서 사용될 때, "~에 테더링된(tethered to)"이라는 용어는 하나 이상의 성분이 자유롭게 공간 주변으로 움직이도록 되어 있는 또 다른 성분에 대한 일 성분의 부착을 지칭한다. 소정의 전형적인 실시양태에서, 부착 성분은 나노입자를 둘러싸고 있는 용액 주변으로 자유롭게 움직이도록 나노입자에 테더링될 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노입자의 표면에 테더링되어 표면으로부터 외향 연장될 수 있다.

[0031] 본원에서 사용될 때, "공유결합 부착을 위한 관능기"라는 용어는 제1 문자를 제2 문자상의 또 다른 관능기 (또

는 제1 문자상의 또 다른 부위)에 공유결합 부착시키는 데에 사용될 수 있는 제1 문자의 부분을 지칭한다. 관능기에 대해서는 업계에 잘 알려져 있는데, 비제한적으로 아미노, 히드록실, 카르복실산, 아미드, 아지드,  $\alpha$ -할로케톤,  $\alpha$ ,  $\beta$ -불포화 케톤, 알킨, 디엔, 엔아민, 말레이미도 기, 티올 등이 포함될 수 있다.

[0032] 본원에서 사용될 때, "지질"이라는 용어는 지방, 왁스, 스테롤, 콜레스테롤, 콜레스테롤 유도체, 지용성 비타민, 모노글리세리드, 디글리세리드, 인지질, 스팽고지질, 당지질, 양이온성 또는 음이온성 지질, 유도체화 지질 등이 포함될 수 있는 지질 문자를 지칭한다. 지질은 미포, 단층 및 이중층 막을 형성할 수 있다. 소정 실시양태에서, 지질은 리포좀으로 자가-조립될 수 있다. 다른 실시양태에서, 지질은 단층 또는 이중층으로서 나노입자의 표면에 코팅될 수 있다.

[0033] 본원에서 사용될 때, "aptamer"라는 용어는 특정 표적에 결합하는 핵산 또는 펩티드 분자를 지칭한다. DNA 또는 RNA 압타머에는 자연 또는 비-자연의 것일 수 있으며 SELEX (지수적 강화에 의한 리간드의 체계적 형성 (systematic evolution of ligands by exponential enrichment))와 같은 시험관내 선택 공정을 사용하여 선택될 수 있는 짧은 올리고뉴클레오티드 서열이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. SELEX에 대해서는 예를 들면 본원에 참조로써 개재되는 U.S. 특허 제5,270,163호 및 5,475,096호에 기술되어 있다. 다른 선택 공정에는 또한 모노렉스(MonoLex)<sup>TM</sup> 기술 (압타레스(AptaRes) AG 사의 단일 과정 압타머 단리 절차; 예컨대 US 공개 제20090269752호에 기술되어 있음), 생체내 선택 공정, 또는 이들의 조합이 포함될 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 압타머는 비제한적으로 MUC-1, EGFR, 클라우딘 4, MUC-4, CXCR4, CCR7, FOL1R, 소마토스타틴 수용체 4, Erb-B2 (적혈모구성 백혈병 종양유전자 동종체 2) 수용체, CD44 수용체, VEGF 수용체-2 키나제 및 뉴클레올린을 포함한 다양한 표적에 결합하도록 설계될 수 있다.

[0034] 본원에서 사용될 때, "선택적 결합 쌍(preference binding pair)"이라는 용어는 통상적으로 특이적인 방식으로 서로 결합하는 한 쌍의 문자, 예컨대 올리고뉴클레오티드들 또는 올리고뉴클레오티드 모방체들을 지칭한다. 소정 실시양태에서, 선택적 결합 쌍은 단일 또는 복수의 DNA 서열에 대한 결합에 있어서 다른 것 예컨대 제2의 올리고뉴클레오티드 구성원에 비해 우선권을 가지는 1종의 올리고뉴클레오티드 구성원을 포함할 수 있다. 주어진 올리고뉴클레오티드에는, 서열 선택성에 대해 비-서열-특이적 (검출가능한 우선권 없음)인 것에서부터 절대적인 서열 특이성 (즉 모든 가능한 서열들 중 단일 서열만을 인식)까지 범위의 상이한 DNA 서열들에 대한 상이한 친화성 스펙트럼이 존재한다. 결합 쌍의 선택적 특성은 용해 온도 또는 결합 쌍 구성원 2종 사이의 상보성에 의한 것과 같은 다양한 방식으로 기술될 수 있다. 소정 실시양태에서, 선택적 결합 쌍에는 본원에서 추가적으로 기술되는 바와 같은 C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>가 포함된다.

[0035] 본원에서 사용될 때, "상보성인"이라는 용어는 올리고뉴클레오티드 가닥들 사이에 쌍을 이룬 염기의 양을 지칭한다. 소정 실시양태에서, 2종 올리고뉴클레오티드 사이 상보성의 양은 백분율로 표현될 수 있다. 예를 들어, 제1 및 제2 올리고뉴클레오티드 가닥에 따른 매 연속 뉴클레오티드 사이에 염기 쌍이 형성되는 경우, 제1 올리고뉴클레오티드 가닥은 제2 올리고뉴클레오티드 가닥에 대하여 완전히 상보성이다 (즉 100 % 상보성임). 일부 실시양태에서는, 올리고뉴클레오티드 가닥의 전체 길이 또는 일부 길이가 또 다른 올리고뉴클레오티드 가닥에 대하여 상보성 (예컨대 완전히 상보성)일 것이다. 상보성 올리고뉴클레오티드 가닥들은 상이한 길이 또는 동일한 길이일 수 있다. 소정 실시양태에서, 본 발명의 올리고뉴클레오티드들은 70 % 이상 상보성일 수 있다. 예를 들면, 70 % 상보성인 2종의 올리고뉴클레오티드는 예를 들면 올리고뉴클레오티드 중 7개가 염기 쌍을 형성하고 3개는 그렇지 않은 10개 뉴클레오티드의 길이를 가질 수 있다. 다른 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드들은 80 % 초과 상보성, 또는 90 % 초과 상보성, 또는 95 % 초과 상보성일 수 있다. 비교하여 최대 일치도로 정렬하였을 때, 동일하거나, 또는 특정 백분율의 동일한 뉴클레오티드 또는 아미노산 잔기를 가지는 2종 이상 핵산 또는 폴리펩티드 서열과 관련하여, "% 동일성"이라는 용어가 사용될 수도 있다. % 동일성을 측정하기 위해서는, 최적 비교 목적으로 서열이 정렬된다 (예를 들면 제2 아미노산 또는 핵산 서열과의 최적의 정렬을 위하여 제1 아미노산 또는 핵산 서열의 서열에 캡(gap)이 도입될 수 있음). 이후, 상응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오티드 위치에 있는 아미노산 잔기들 또는 뉴클레오티드들이 비교된다. 제1 서열의 위치가 제2 서열의 상응하는 위치와 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드에 의해 점유되어 있는 경우라면, 문자들은 그 위치에서 동일하다. 2종 서열 사이의 % 동일성은 서열들에 의해 공유되는 동일 위치 수의 합수이다 (즉, % 동일성 = 동일한 위치의 # / 총 위치 # (예컨대 중첩 위치) × 100).

[0036] 본원에서 사용될 때, "이중체가 형성되기에 충분한 조건"이라는 용어는 올리고뉴클레오티드 혼성화를 가능케 하는 조건을 지칭한다. 올리고뉴클레오티드와 또 다른 올리고뉴클레오티드의 혼성화는 적절한 혼성화 조건을 선택하는 것에 의해 수행될 수 있다. 소정 실시양태에서, 혼성화 조건에는 올리고뉴클레오티드들 또는 올리고뉴

클레오티드 모방체들 사이에 이중체를 형성하기에 충분한 조건이 포함될 수 있다. 예를 들면, 올리고뉴클레오티드:올리고뉴클레오티드 혼성체의 안정성은 통상적으로 검정법 및 세척 조건에 부합함으로써 특정 올리고뉴클레오티드들 사이에만 안정하고 검출가능한 혼성체가 형성되도록 선택된다. 하나 이상의 상이한 검정 파라미터들의 조작은 특정 혼성화 검정법의 정확한 감도 및 특이성을 결정한다. 더 구체적으로, DNA, RNA, PNA, 또는 DNA, RNA 및 PNA의 조합의 상보성 염기들 사이의 혼성화는 온도, 염 농도, 정전기 강도, 완충제 조성물 등에 있어서 가변적인 매우 다양한 조건하에 이루어진다. 이러한 조건의 예 및 그 적용 방법에 대해서는 예를 들면 문헌 [Tijssen, Hybridization with Nucleic Acid Probes, Vol. 24, Elsevier Science (1993)]에 기술되어 있다. 혼성화는 일반적으로 혼성화될 서열의 특성 및 그의 길이에 따라 약 0 °C 내지 약 70 °C 사이에서 약 1 분 내지 약 1시간의 기간 동안 이루어진다. 그러나, 반응 조건에 따라서는, 수초 또는 수시간에 혼성화가 이루어질 수 있는 것으로 알려져 있다.

[0037]

본원에서 사용될 때, "비-자연"이라는 용어는 자연에서는 자연적으로 발생하지 않는 서열 또는 분자를 지칭한다. 비-자연 서열은 2종의 선택적인 결합 쌍들 사이에만 특이적인 결합을 제공함으로써 시험 샘플 또는 치료를 받는 대상체에 존재하는 다른 자연-발생 올리고뉴클레오티드 서열과의 결합은 허용하지 않도록 하는 데에 사용될 수 있다.

[0038]

본원에서 사용될 때, "대상체"라는 용어는 임의 생애 단계의 소정 동물, 특히 인간을 지칭한다.

[0039]

본원에서 사용될 때, "투여하다", "투여되는" 또는 "투여하는 것"이라는 용어들은 본 발명 표적화 전달 조성물의 투여 방법을 지칭한다. 본 발명의 표적화 전달 조성물은 국소, 비경구, 정맥내, 피내, 근육내, 결장, 직장 또는 복강내를 포함한 다양한 방식으로 투여될 수 있다. 비경구 투여, 경구 투여 및 정맥내 투여가 바람직한 투여 방법이다. 표적화 전달 조성물은 조성을 또는 제제의 일부로서 투여될 수도 있다.

[0040]

본원에서 사용될 때, 병태, 질환, 장애 또는 증후군을 "치료하는 것" 또는 그의 "치료"라는 용어에는 (i) 질환, 장애 또는 증후군을 억제하는 것, 즉 그의 발생을 중지시키는 것; 및 (ii) 질환, 장애 또는 증후군을 완화하는 것, 즉 질환, 장애 또는 증후군의 퇴행을 야기하는 것이 포함된다. 업계에 알려져 있는 바와 같이, 전신 대 국소 전달, 연령, 체중, 일반적 건강, 성, 식이, 투여 시간, 약물 상호작용 및 병태의 중증도에 대한 조정이 필요할 수 있는데, 업계 일반의 숙련자에 의한 일상적인 실험으로 확인가능할 것이다.

[0041]

본원에서 사용될 때, "제제"라는 용어는 대상체에의 투여를 위한 성분들의 혼합물을 지칭한다. 예를 들면 관절내 (관절 내의), 정맥내, 근육내, 종양내, 피내, 복강내 및 피하 경로에 의한 것과 같은 비경구 투여에 적합한 제제에는 항산화제, 완충제, 정균제, 및 제제를 예정된 수용자의 혈액과 등장성이 되게 하는 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비-수성의 등장성인 멀균 주사 용액, 그리고 혼탁제, 가용화제, 증점제, 안정화제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성의 멀균 혼탁액이 포함된다. 주사 용액 및 혼탁액은 멀균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수도 있다. 표적화 전달 조성물의 제제는 단위-투여분 또는 다수-투여분이 밀봉된 용기, 예컨대 앰플 및 바이알에 제공될 수 있다. 단독, 또는 다른 적합한 성분과의 조합으로써의 표적화 전달 조성물은 입 또는 코를 통한 흡입을 통하여 투여되는 에어로졸 제제로 제조될 수 있다 (즉 "분무"될 수 있음). 에어로졸 제제는 디클로로디플루오로메탄, 프로판, 질소 등과 같은 가압 허용가능 추진제 중에 위치될 수 있다. 적합한 직장 투여용 제제에는 예를 들면 좌약 기제와 함께 유효량의 표적화 전달 조성물을 포함하는 좌약이 포함된다. 적합한 좌약 기제에는 천연 또는 합성 트리글리세리드 또는 파라핀 탄화수소가 포함된다. 또한, 예를 들면 액체 트리글리세리드, 폴리에틸렌 글리콜 및 파라핀 탄화수소를 포함한 기제와의 표적화 전달 조성물의 조합을 함유하는 젤라틴 직장 캡슐을 사용하는 것 역시 가능하다. 소정 실시양태에서, 제제는 국소적으로, 또는 점안약의 형태로 투여될 수 있다.

[0042]

[본 발명의 실시양태]

[0043]

II. 일반사항

[0044]

본 발명은 표적화 전달 조성물, 및 대상체에서 질환 상태를 치료 및 진단함에 있어서의 그의 사용 방법을 제공한다. 개시되는 조성물 및 방법은 혼존 접근법들 대비 수많은 유익한 특징들을 제공한다. 예를 들면, 본 발명의 표적화 전달 조성물 및 방법은 대상체에서 질환 상태를 치료 및/또는 진단할 수 있는 개별화된 의약 접근법에 사용될 수 있다. 예를 들면, 표적화 전달 조성물 성분들 사이의 이중체 연결은 표적화 전달 조성물을 조립하는 방법을 한정함에 있어서의 추가적인 자유를 가능케 하는 독특한 장점들을 제공한다.

[0045]

III. 표적화 전달 조성물

[0046]

A. 나노입자를 포함하는 표적화 전달 조성물

[0047]

일 측면에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물에는 (a) 치료제 또는 진단제 또는 이들의 조합을 포함하는 나노입자; (b)  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분; 및 (c)  $C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분을 포함하며, 여기서 A는 부착 성분이고;  $L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며; T는 표적화제이고; 아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것이며; 상기 유도체화 부착 성분의 A 부분은 나노입자에 부착되는, 표적화 치료용 또는 진단용 전달 조성물이 포함될 수 있다.

[0048]

도 1은 본 발명의 전형적인 실시양태에 따른 표적화 전달 조성물의 일반적인 구조를 도시한다. 리포좀 부분은 지질 이중층 막을 나타내기 위하여 제공된 것이다. 유도체화 부착 성분은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (DSPE)인 지질 부착 성분 A로 구성될 수 있다. 상기 지질 부착 성분은 단일 가닥 DNA ( $C^1$ )에 공유결합 부착될 수 있는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 링커에 공유결합 부착될 수 있다. 표적화 성분은  $C^1$ 에 대하여 상보성이며 PEG 링커에 공유결합 부착되는 단일 가닥 DNA ( $C^2$ )로 구성될 수 있고, PEG 링커는 추가로 표적화제에 공유결합 부착된다. 표적화 전달 조성물은 지질 말단이 리포좀의 지질 이중층과 결합되며, 표적화제의 단일 가닥 DNA인  $C^2$ 가 유도체화 부착 성분의 단일 가닥 DNA인  $C^1$ 과 혼성화되는 유도체화 부착 성분으로 구성될 수 있다.

[0049]

### 나노입자

[0050]

표적화 전달 조성물을 구성하는 데에는 매우 다양한 나노입자들이 사용될 수 있다. 업계 일반의 숙련자라면 알 수 있을 바와 같이, 나노입자의 특성, 예컨대 크기는 나노입자의 유형 및/또는 용도는 물론, 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 다른 인자들에 따라 달라질 수 있다. 적합한 입자는 구체, 구상체, 편평체, 판-형상체, 튜브, 정육면체, 입방체, 난형체, 타원체, 원통체, 원추체 또는 피라미드체일 수 있다. 적합한 나노입자는 최대 치수의 크기 (예컨대 직경)가 약 1 nm 내지 약 1000 nm, 약 50 nm 내지 약 200 nm, 및 약 50 nm 내지 약 150 nm의 범위일 수 있다.

[0051]

적합한 나노입자는 업계에 일반적으로 알려져 있는 다양한 물질로 구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노입자에는 지질, 중합체 또는 금속성 물질, 예컨대 실리카, 산화 철 등을 포함한 1종의 물질 또는 다양한 물질들의 소정 조합이 포함될 수 있다. 나노입자의 예에는 리포좀, 미포, 지질단백질, 지질-코팅 기포, 블록 공중합체 미포, 폴리머좀, 나오좀, 산화 철 입자, 실리카 입자, 텐드리미 또는 양자 점이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0052]

일부 실시양태에서, 나노입자는 부분적으로 또는 전체적으로 포화 또는 불포화 지질로 구성되는 리포좀이다. 적합한 지질에는 지방, 왁스, 스테롤, 콜레스테롤, 콜레스테롤 유도체, 지용성 비타민, 모노글리세리드, 디글리세리드, 인지질, 스팽고지질, 당지질, 유도체화 지질 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 일부 실시양태에서, 적합한 지질에는 양친매성, 중성, 비-양이온성, 음이온성, 양이온성 또는 소수성 지질이 포함될 수 있다. 소정 실시양태에서, 지질에는 세포 막에 통상적으로 존재하는 것들, 예컨대 인지질 및/또는 스팽고지질이 포함될 수 있다. 적합한 인지질에는 포스파티딜콜린 (PC), 포스파티드산 (PA), 포스파티딜에탄올아민 (PE), 포스파티딜글리세롤 (PG), 포스파티딜세린 (PS) 및 포스파티딜이노시톨 (PI)이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 적합한 스팽고지질에는 스팽고신, 세라미드, 스팽고마이엘린, 세레브로시드, 술파티드, 강글리오시드 및 피토스팡고신이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 다른 적합한 지질에는 지질 추출물, 예컨대 난 PC, 심장 추출물, 뇌 추출물, 간 추출물 및 콩 PC가 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 콩 PC에는 히드로 콩 PC (HSPC)가 포함될 수 있다. 양이온성 지질에는 N,N-디올레오일-N,N-디메틸암모늄 클로라이드 (DODAC), N,N-디스테아릴-N,N-디메틸암모늄 브로마이드 (DDAB), N-(1-(2,3-디올레오일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTAP), N-(1-(2,3-디올레오일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTMA) 및 N,N-디메틸-2,3-디올레오일옥시)프로필아민 (DODMA)이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 비-양이온성 지질에는 디미리스토일 포스파티딜 콜린 (DMPC), 디스테아로일 포스파티딜 콜린 (DSPC), 디올레오일 포스파티딜 콜린 (DOPC), 디팔미토일 포스파티딜 콜린 (DPPC), 디미리스토일 포스파티딜 글리세롤 (DMPG), 디스테아로일 포스파티딜 글리세롤 (DSPG), 디올레오일 포스파티딜 글리세롤 (DOPG), 디팔미토일 포스파티딜 글리세롤 (DPPG), 디미리스토일

포스파티딜 세린 (DMPS), 디스테아로일 포스파티딜 세린 (DSPS), 디올레오일 포스파티딜 세린 (DOPS), 디팔미토일 포스파티딜 세린 (DPPS), 디올레오일 포스파티딜 에탄올아민 (DOPE), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린 (POPC), 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민 (POPE) 및 디올레오일-포스파티딜에탄올아민 4-(N-말레이미도메틸)-시클로헥산-1-카르복실레이트 (DOPE-mal), 디팔미토일 포스파티딜 에탄올아민 (DPPE), 디미리스토일포스포에탄올아민 (DMPE), 디스테아로일-포스파티딜-에탄올아민 (DSPE), 16-0-모노메틸 PE, 16-0-디메틸 PE, 18-1-트랜스 PE, 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티딜에탄올아민 (SOPE), 1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (트랜스DOPE) 및 카르디오리핀이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 소정 실시양태에서, 지질에는 유도체화 지질, 예컨대 PEG화(PEGylated) 지질이 포함될 수 있다. 유도체화 지질에는 예를 들면 DSPE-PEG2000, 콜레스테롤-PEG2000, DSPE-폴리글리세롤, 또는 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 기타 유도체들이 포함될 수 있다.

[0053]

리포좀과 같은 어떠한 지질 조합도 나노입자를 구성하는 데에 사용될 수 있다. 소정 실시양태에서, 리포좀과 같은 표적화 전달 조성물의 지질 조성은 누출 속도, 안정성, 입자 크기, 제타 전위, 단백질 결합, 생체내 순환, 및/또는 조직 예컨대 종양, 간, 비장 등에서의 축적과 같은 리포좀의 특성들에 영향을 주도록 설계될 수 있다. 예를 들면, DSPC 및/또는 콜레스테롤은 리포좀으로부터의 누출을 감소시키는 데에 사용될 수 있다. 음 또는 양의 지질, 예컨대 DSPG 및/또는 DOTAP는 리포좀의 표면 전하에 영향을 주기 위하여 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 리포좀은 약 10종 이하 유형의 지질들, 또는 약 5종 이하 유형의 지질들, 또는 약 3종 이하 유형의 지질들을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 존재하는 특정 유형 지질의 몰 백분율 (mol%)은 통상적으로 리포좀과 같은 나노입자에 존재하는 총 지질의 약 0 % 내지 약 10 %, 약 10 % 내지 약 30 %, 약 30 % 내지 약 50 %, 약 50 % 내지 약 70 %, 약 70 % 내지 약 90 %, 약 90 % 내지 100 %를 구성한다. 본원에서 기술되는 지질은 리포좀에 포함될 수 있거나, 또는 중합체 나노입자와 같은 본 발명의 나노입자를 코팅하는 데에 지질이 사용될 수 있다. 코팅은 나노입자를 부분적으로 또는 전체적으로 둘러쌀 수 있는데, 단층 및/또는 이중층이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 리포좀은 약 50.6 mol%의 HSPC, 약 44.3 mol%의 콜레스테롤, 및 약 5.1 mol%의 DSPE-PEG2000으로 구성될 수 있다.

[0054]

다른 실시양태에서는, 나노입자의 일부 또는 전부가 블록 공중합체, 또는 나노입자 제조용으로 업계에 알려져 있는 기타 중합체와 같은 중합체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 중합체는 생분해성 및/또는 생체적합성일 수 있다. 적합한 중합체에는 폴리에틸렌, 폴리카르보네이트, 폴리무수물, 폴리히드록시산, 폴리프로필푸메레이트, 폴리카프로락톤, 폴리아미드, 폴리아세탈, 폴리에테르, 폴리에스테르, 폴리(오르소에스테르), 폴리시아노아크릴레이트, 폴리비닐 알콜, 폴리우레탄, 폴리포스파젠, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리우레아, 폴리스티렌, 폴리아민, 및 이들의 조합이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 일부 실시양태에서, 전형적인 입자에는 하기 참고문헌들에 추가적으로 기술되어 있는 셀 가교 크네델(knedel)이 포함될 수 있다; 베커(Becker) 등의 U.S. 출원 제11/250830호; 문헌 [Thurmond, K.B. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (28) 6656-6665 (1997)]; [Wooley, K.L., *Chem. Eur. J.*, 3 (9): 1397-1399 (1997)]; [Wooley, K.L., *J. Poly. Sci.: Part A: Polymer Chem.*, 38: 1397-1407 (2000)]. 다른 실시양태에서, 적합한 입자에는 폴리(락틱 co-글리콜산) (PLGA) (문헌 [Fu, K. et al., *Pharm Res.*, 27: 100-106 (2000)])이 포함될 수 있다.

[0055]

또 다른 실시양태에서, 나노입자는 부분적으로 또는 전체적으로 특성이 금속성인 물질, 예컨대 실리카, 산화철 등으로 구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 실리카 입자는 중공성, 다공성 및/또는 중간다공성일 수 있다 (문헌 [Slowing, I.I., et al., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 60 (11): 1278-1288 (2008)]). 산화 철 입자 또는 양자 점 역시 사용될 수 있으며, 업계에 잘 알려져 있다 (문헌 [van Vlerken, L.E. & Amiji, M. M., *Expert Opin. Drug Deliv.*, 3(2): 205-216 (2006)]). 나노입자에는 또한 바이러스 입자 및 세라믹 입자가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0056]

#### 유도체화 부착 성분

[0057]

소정 실시양태에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물은 또한  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분을 포함할 수 있다. 상기 부착 성분 A는 유도체화 부착 성분을 나노입자에 부착시키는 데에 사용될 수 있다. 부착 성분은 나노입자 표면상의 것과 같은 나노입자상의 어떠한 위치에도 부착할 수 있다. 부착 성분은 공유결합 및/또는 비-공유결합 부착을 포함한 다양한 방식을 통하여 나노입자에 부착할 수 있다. 하기에서 추가적으로 기술되는 바와 같이, 유도체화 부착 성분은 또한 연결 기  $L^1$ , 및 선택적 결합 쌍의 구성원  $C^1$ 을 포함한다.

[0058]

소정 실시양태에서, 부착 성분 A는 부착 성분을 나노입자상에 존재하는 반응성 기에 공유결합 부착시키는 데에 사용될 수 있는 관능기를 포함할 수 있다. 상기 관능기는 부착 성분의 말단 위치와 같은 부착 성분의 어떠한 위치에도 위치될 수 있다. 매우 다양한 관능기들이 일반적으로 업계에 알려져 있으며, 비제한적으로 친핵성 치환 (예컨대 아민 및 알콜의 아실 할로겐화물 또는 활성 에스테르와의 반응), 친전자성 치환 (예컨대 엔아민 반응), 그리고 탄소-탄소 및 탄소-헤테로원자 다중 결합에 대한 첨가 (예컨대 마이클(Michael) 반응 또는 디엘스-알더(Diels-Alder) 첨가)와 같은 몇 가지 종류의 반응하에 반응될 수 있다. 이들 및 기타 유용한 반응들에 대해서는 예를 들면 문헌 [March, *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1985]; 및 [Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego, 1996]에 논의되어 있다. 적합한 관능기에는 예를 들면 하기가 포함될 수 있다: (a) 비제한적으로 N-히드록시숙신이미드 에스테르, N-히드록시벤즈트리아졸 에스테르, 산 할로겐화물, 아실 이미다졸, 티오에스테르, p-니트로페닐 에스테르, 알킬, 알케닐, 알키닐 및 방향족 에스테르를 포함한 카르복실 기 및 그의 다양한 유도체; (b) 에스테르, 에테르, 알데히드 등으로 전환될 수 있는 히드록실 기; (c) 차후에 예를 들면 아민, 카르복실레이트 음이온, 티올 음이온, 카르반이온 또는 알콕시드 이온과 같은 친핵성 기에 의해 할로겐화물이 치환됨으로써 할로겐 원자 부위에서 새로운 기의 공유결합 부착을 초래할 수 있는 할로알킬 기; (d) 예를 들면 말레이미도 기와 같이 디엘스-알더 반응에 참여할 수 있는 친디엔체 기; (e) 예를 들면 이민, 히드라존, 세미카르바존 또는 옥심과 같이 카르보닐 유도체의 형성을 통하여, 또는 그리그나드(Grignard) 첨가 또는 알킬리튬 첨가와 같은 기작을 통하여 차후의 유도체화가 가능한 알데히드 또는 케톤 기; (f) 예를 들면 술폰아미드를 형성하기 위한 차후의 아민과의 반응을 위한 술포닐 할로겐화물 기; (g) 디술피드로 전환되거나 아실 할로겐화물과 반응될 수 있는 티올 기; (h) 예를 들면 아실화, 알킬화 또는 산화될 수 있는 아민 또는 술피드릴 기; (i) 예를 들면 고리화첨가, 아실화, 마이클 첨가 등이 이루어질 수 있는 알켄; 및 (j) 예를 들면 아민 및 히드록실 화합물과 반응할 수 있는 에폭시드. 일부 실시양태에서는, 클릭 화학-기반의 플랫폼이 부착 성분을 나노입자에 부착시키는 데에 사용될 수 있다 (문헌 [Kolb, H.C. et al. M.G. Finn and K.B. Sharpless, *Angew. Chem. Int'l. Ed.* 40 (11): 2004-2021 (2001)]). 일부 실시양태에서, 부착 성분은 하나의 관능기, 또는 나노입자와의 다수의 공유 결합을 초래하는 다수의 관능기를 포함할 수 있다.

[0059]

하기 표 1은 본 발명에 사용될 수 있는 관능기의 추가적이며 비-제한적인 대표적 목록을 제공한다.

### 표 1

표 1. 전형적인 접합 화학용 관능기 쌍

관능기:	반응 대상:
케톤 및 알데히드 기	아미노, 히드라지도 및 아미노옥시
이미드	아미노, 히드라지도 및 아미노옥시
시아노	히드록시
알킬화제 (예컨대 할로알킬 기 및 말레이미도 유도체)	티올, 아미노, 히드라지도, 아미노옥시
카르복실 기 (활성화된 카르복실 기 포함)	아미노, 히드록실, 히드라지도, 아미노옥시
활성화된 술포닐 기 (예컨대 술포닐 클로라이드)	아미노, 히드록실, 히드라지도, 아미노옥시
술피드릴	술피드릴
His-태그 (예컨대 6-His 태그부착 웨티드 또는 단백질)	니켈 니트릴로아세트산

[0060]

다른 실시양태에서, 부착 성분은 비제한적으로 친화성 상호작용, 금속 배위, 물리적 흡착, 소수성 상호작용, 반데르 발스 상호작용, 수소 결합 상호작용, 자성 상호작용, 정전기적 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 항체-결합 상호작용, 상보성 DNA 사이의 혼성화 상호작용 등이 포함될 수 있는 비-공유결합 상호작용에 의해 나노입자에 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노입자의 지질 이중층 부분에 존재할 수 있는데, 이 경우 소정 실시양태에서 나노입자는 리포좀이다. 예를 들면, 부착 성분은 지질 이중층의 소수성 및/또는 친수성 영역과 부분적으로 또는 전체적으로 상호작용하는 지질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노입자와의 비-공유결합 상호작용을 가능케 하는 1개의 기를 포함할 수 있으나, 다수의 기 역시 고려된다. 예를 들

면, 다수의 이온 전하가 부착 성분과 나노입자 사이에 충분한 비-공유결합 상호작용을 생성시키는 데에 사용될 수 있다. 대안적인 실시양태에서, 부착 성분은 다수의 지질들이 리포좀의 이중층 막, 또는 나노입자상에 코팅된 이중층 또는 단층과 상호작용하도록, 다수의 지질을 포함할 수 있다. 소정 실시양태에서는, 비-공유결합 상호작용을 봉괴시킴으로써 나노입자로부터 부착 성분을 분리하도록 주변 용액 조건이 변형될 수 있다.

#### [0062] 연결 기

[0063] 연결 기는 본 발명 표적화 전달 조성물의 또 다른 특징이다. 업계 일반의 숙련자라면, 다양한 연결 기들이 업계에 알려져 있으며, 예를 들면 하기 참고문헌에서 찾아볼 수 있다는 것을 알고 있을 수 있다: 문헌 [Hermanson, G.T., *Bioconjugate Techniques*, 2<sup>nd</sup> Ed., Academic Press, Inc. (2008)]. 본 발명의 연결 기는 성분의 서로 다른 부분들 사이에 간격을 제공하는 것과 같이, 조성물에 추가적인 특성들을 제공하는 데에 사용될 수 있다. 예를 들면, 부착 성분은 선택적 결합 쌍의 구성원 (예컨대 C<sup>1</sup>)으로부터 일정 거리 이격될 수 있다. 이와 같은 간격은 예를 들면 선택적 결합 쌍의 구성원들 간 결합을 촉진하는 데에 사용될 수 있다. 대안적으로, 예를 들면 표적화제가 표적에 결합할 때 나노입자에 의해 야기되는 입체적 장애 문제를 극복하기 위하여, 추가적인 간격이 이용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 연결 기는 성분의 친수성 또는 소수성 특성을 변형시키는 것과 같이, 표적화 전달 조성물의 물리적 특성을 변화시키는 데에 사용될 수 있다.

[0064] 일 군의 실시양태에서, 유도체화 부착 성분 및 표적화 성분은 각각 L<sup>1</sup> 및 L<sup>2</sup>와 같은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기를 포함할 수 있다. 유도체화 부착 성분의 경우, 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기는 부착 성분 A를 선택적 결합 쌍의 구성원, 예컨대 C<sup>1</sup>에 연결한다. 표적화 성분의 경우, 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기는 표적화제를 선택적 결합 쌍의 구성원, 예컨대 C<sup>2</sup>에 연결한다. 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기에는 폴리알킬렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리비닐 알콜, 폴리카르복실레이트, 다당류 및 텍스트란이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 잠재적인 연결 기의 목록에 대해서는 US 출원 제20090149643호에 추가적으로 기술되어 있다. 소정 실시양태에서, 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 연결 기에는 에틸렌 옥시드의 올리고머 또는 중합체가 포함될 수 있다. 본 발명은 업계에 일반적으로 알려져 있는 PEG 및 그의 유도체의 사용을 고려한다. 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜 연결 기는 선형 또는 분지형일 수 있으며, 여기서 분지형 PEG 문자는 중심 코어(core)로부터 방산되는 추가적인 PEG 문자를 가질 수 있거나, 및/또는 다수의 PEG 문자가 중합체 백본에 그레프팅될 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜 연결 기는 유도체화될 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜 연결 기는 저분자량 또는 고분자량의 것일 수 있는데, 예를 들면 PEG<sub>500</sub>, PEG<sub>2000</sub>, PEG<sub>3400</sub>, PEG<sub>5000</sub>, PEG<sub>10000</sub> 또는 PEG<sub>20000</sub> (여기서 숫자 예컨대 500은 평균 분자량을 나타냄)이 포함될 수 있다. 소정 실시양태에서, PEG 연결 기에는 다분산 및/또는 단분산 PEG가 포함될 수 있다.

[0065] 유도체화 부착 성분 또는 표적화 성분에 존재하는 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기, 예컨대 L<sup>1</sup> 및 L<sup>2</sup>의 수는 각각 아래첨자 x 및 y로 표시될 수 있다. 본 발명에서는, 다양한 조합이 연결 기에 유용하다. 일부 실시양태에서, 아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1일 수 있다. 다른 실시양태에서는, x 및 y 중 적어도 하나가 0이 아닌 다른 것이다. 또 다른 실시양태에서는, x가 0일 수 있으며, y는 1일 수 있다.

#### [0066] 스텔스제

[0067] 일부 실시양태에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물은 1종 이상의 스텔스제를 포함할 수 있다. 스텔스제는 나노입자가 서로, 그리고 혈액 세포 또는 혈관 벽에 접착되는 것을 방지할 수 있다. 소정 실시양태에서, 스텔스 나노입자, 예컨대 스텔스 리포좀은 대상체에 나노입자가 투여되었을 때 면역원성 및/또는 반응원성을 감소시킬 수 있다. 스텔스제는 또한 대상체 내에서의 나노입자의 혈액 순환 시간을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노입자는 예를 들면 나노입자가 부분적으로 또는 전체적으로 스텔스제로 구성되거나 또는 스텔스제에 의해 나노입자가 코팅되도록, 스텔스제를 포함할 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 스텔스제에는 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 것들이 포함될 수 있다. 적합한 스텔스제에는 텐드리미, 폴리알킬렌 옥시드, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐 알콜, 폴리카르복실레이트, 다당류 및/또는 헤드록시알킬 전분이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 스텔스제는 부착 성분과 관련하여 상기한 바와 같은 공유결합 및/또는 비-공유결합 부착을 통하여 본원에서 기술되는 포스포네이트 화합물에 부착될 수 있다. 예를 들면, 일부 실시양태에서, 본원에서 기술되는 포스포네이트 화합물에 대한 스텔스제의 부착은 스텔스제상 말단 관능기 (예컨대 아미노 기)와 관능기 (예컨대 카르복실 기)로 종결되는 연결 기 사이의 반응을 포함할 수 있다.

[0068]

소정 실시양태에서, 스텔스제는 업계에 잘 알려져 있으며 일반적으로 에틸렌 옥시드의 올리고머 또는 중합체를 지칭하는 "폴리에틸렌 글리콜"과 같은 폴리알킬렌 옥시드를 포함할 수 있다. 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)은 선형 또는 분지형일 수 있으며, 여기서 분지형 PEG 분자는 중심 코어로부터 방산되는 추가적인 PEG 분자를 가질 수 있거나, 및/또는 다수의 PEG 분자가 중합체 백본에 그래프팅될 수 있다. 업계에 알려져 있는 바와 같이, 폴리에틸렌 글리콜은 PEG의 유형을 식별하는 데에 사용될 수 있는 분자량 분포로서 생성될 수 있다. 예를 들면, PEG<sub>500</sub>은 업계에 일반적으로 알려져 있는 방법에 의해 측정되었을 때 ~500 g/mol의 평균 분자량을 가지는 PEG 분자 분포에 의해 식별된다. 다르게는, PEG는 하기의 화학식으로 나타낼 수 있다: H-[O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-OH (식 중, n은 중합체에 존재하는 단량체의 수임 (예컨대 n은 1 내지 200 범위일 수 있음)). 예를 들면, PEG<sub>100</sub>의 분포의 경우, n이 2와 같은 PEG 중합체를 포함할 수 있다. 또 다른 경우에서, PEG<sub>1000</sub>은 n이 24와 같은 PEG 분자를 포함할 수 있다. 다르게는, PEG<sub>5000</sub>은 n이 114와 같은 PEG 분자를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, PEG는 상기한 바와 같은 -OH 기 대신 메틸 기로 종결될 수 있다.

[0069]

소정 실시양태에서, PEG에는 저분자량 또는 고분자량 PEG, 예컨대 PEG<sub>100</sub>, PEG<sub>500</sub>, PEG<sub>1000</sub>, PEG<sub>2000</sub>, PEG<sub>3400</sub>, PEG<sub>5000</sub>, PEG<sub>10000</sub> 또는 PEG<sub>20000</sub>이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, PEG는 PEG<sub>100</sub> 내지 PEG<sub>10000</sub>, 또는 PEG<sub>1000</sub> 내지 PEG<sub>10000</sub>, 또는 PEG<sub>1000</sub> 내지 PEG<sub>5000</sub> 사이의 범위일 수 있다. 소정 실시양태에서, 스텔스제는 PEG<sub>500</sub>, PEG<sub>1000</sub>, PEG<sub>2000</sub> 또는 PEG<sub>5000</sub>일 수 있다. 소정 실시양태에서, PEG는 아민, 메틸 에테르, 알콜 또는 카르복실산으로 종결될 수 있다. 소정 실시양태에서, 스텔스제는 각각 연결 기와 함께 연결되는 2개 이상의 PEG 분자를 포함할 수 있다. 연결 기는 상기한 것들, 예컨대 아미드 연결을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서는, 나노입자 예컨대 리포좀의 이중층에 나노입자를 "스텔스"가 되게 하기 위해 충분한 양의 PEG화-지질이 존재하는데, 이 경우 스텔스나노입자는 감소된 면역원성을 나타낸다.

[0070]

#### 치료제

[0071]

본 발명의 표적화 치료 또는 진단용 전달 조성물에 사용되는 나노입자는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합을 포함한다. 상기 치료제 및/또는 진단제는 나노입자 내, 나노입자상, 또는 그 주변 어디에나 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료제 및/또는 진단제는 나노입자에 매립되거나 그 안에 캡슐화되거나 또는 거기에 테더링될 수 있다. 소정 실시양태에서, 나노입자는 리포좀이며, 진단제 및/또는 치료제는 리포좀 내에 캡슐화된다.

[0072]

본 발명에 사용되는 치료제에는 대상체에서 병태를 치료하는 것에 관한 어떠한 작용제도 포함될 수 있다. 일반적으로는, 비제한적으로 모두 본원에 참조로써 개재되는 문헌 [United States Pharmacopeia (U.S.P.)], [Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed., McGraw Hill, 2005]; [Katzung, Ed., Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill/Appleton & Lange, 11th ed., September 21, 2009]; [Physician's Desk Reference, PDR Network, 64th ed. 2010]; [The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Merck, 18th ed., 2006]; 또는 동물의 경우 문헌 [The Merck Veterinary Manual, 10th ed., Kahn Ed., Merck, 2010]에 열거되어 있는 작용제들을 포함하여, 업계에 알려져 있는 임의의 치료제가 사용될 수 있다.

[0073]

치료제는 치료되기를 원하는 질환의 유형에 따라 선택될 수 있다. 예를 들면, 소정 유형의 암 또는 종양, 예컨대 암종, 육종, 백혈병, 림프종, 골수종, 및 중추 신경계 암은 물론, 고형 종양 및 혼합 종양이 동일하거나 상이할 수 있는 치료제들의 투여를 포함할 수 있다. 소정 실시양태에서, 치료제는 대상체에서 암성 병태를 치료하거나 거기에 영향을 주기 위하여 전달될 수 있으며, 화학치료제, 예컨대 알킬화제, 항대사물질, 안트라사이클린, 알칼로이드, 토포이소머라제 억제제, 및 기타 항암제가 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 작용제에는 안티센스 작용제, microRNA, 및/또는 siRNA 작용제가 포함될 수 있다.

[0074]

일부 실시양태에서, 치료제에는 비제한적으로 아바스틴, 독소루비신, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실, 켙시티빈 또는 탁산, 예컨대 파클리탁셀 및 도세탁셀을 포함한 항암제 또는 세포독성제가 포함될 수 있다. 추가적인 항암제에는 20-epi-1,25 디히드록시비타민 D3, 4-이포메안올, 5-에티닐우라실, 9-디히드로탁솔, 아비라테론, 아시비신, 아클라루비신, 아코다졸 히드로클로라이드, 아크로닌, 아실풀렌, 아데시페놀, 아도젤레신, 알데스류킨, all-tk 길항제, 알트레타민, 암바무스틴, 암보마이신, 아메탄트론 아세테이트, 아미독스, 아미포스틴, 아미노글루테티미드, 아미놀레불린산, 암루비신, 암사크린, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 안드로그래폴리드, 혈관형성 억제제, 길항제 D, 길항체 G, 안타렐릭스, 안트라마이신, 항-도르살화 형태생성 단백질-1, 항에스트로겐제, 항신생물제, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 아피디콜린 글리시네이트, 세포자멸사 유전자

조절제, 세포자멸사 조절제, 아퓨린산, ARA-CDP-DL-PTBA, 아르기닌 데아미나제, 아스파라기나제, 아스페를린, 아슬라크린, 아타메스탄, 아트리무스틴, 악시나스타틴 1, 악시나스타틴 2, 악시나스타틴 3, 아자시티딘, 아자세트론, 아자톡신, 아자티로신, 아제테파, 아조토마이신, 박카틴 III 유도체, 발란올, 바티마스타트, 벤조클로린, 벤조테파, 벤조일스타우로스포린, 베타 락탐 유도체, 베타-알레틴, 베타클라마이신 B, 베툴린산, BFGF 억제제, 비칼루타미드, 비산트伦, 비산트伦 히드로클로라이드, 비사지리디닐스퍼민, 비스나피드, 비스나피드 디메실레이트, 비스트라텐 A, 비젤레신, 블레오마이신, 블레오마이신 술페이트, BRC/ABL 길항제, 브레플레이트, 브레퀴나르 나트륨, 브로피리민, 부도티탄, 부술판, 부티오닌 술포시민, 캐티노마이신, 칼시포트리올, 칼포스틴 C, 칼루스테론, 캄프토테신 유도체, 카나리폭스 IL-2, 카페시타빈, 카라세미드, 카르베티메르, 카르보플라틴, 카르복스아미드-아미노-트리아졸, 카르복시아미도트리아졸, 카레스트 M3, 카르무스틴, 캄 700, 연골 유래 억제제, 카루비신 히드로클로라이드, 카르젤레신, 카세인 키나제 억제제, 카스타노스퍼민, 세크로핀 B, 세데핑골, 세트로렐릭스, 클로람부실, 클로린, 클로로퀴녹살린 술폰아미드, 시카프로스트, 시클레마이신, 시스플라틴, 시스-포르피린, 클라드리빈, 클로미펜 유사체, 클로트리마졸, 콜리스마이신 A, 콜리스마이신 B, 콤브레타스타틴 A4, 콤브레타스타틴 유사체, 코나게닌, 크람베씨딘 816, 크리스나톨, 크리스나톨 메실레이트, 크립토피신 8, 크립토피신 A 유도체, 쿠라신 A, 시클로펜탄트라퀴논, 시클로포스파미드, 시클로플라탐, 시페마이신, 시타라빈, 시타라빈 옥포스페이트, 세포용해 인자, 시토스타틴, 다카르바진, 다클럭시맙, 닥티노마이신, 다우노루비신 히드로클로라이드, 데시타빈, 테히드로디템닌 B, 테슬로렐린, 텍시포스파미드, 텍소르마플라틴, 텍스라족산, 텍스베라파밀, 데자구아닌, 데자구아닌 메실레이트, 디아지쿠온, 디템닌 B, 디독스, 디에틸노르스퍼민, 디히드로-5-아자시티딘, 디옥사마이신, 디페닐 스피로무스틴, 도세탁셀, 도코사놀, 돌라세트론, 독시플루리딘, 독소루비신, 독소루비신 히드로클로라이드, 드롤록시펜, 드롤록시펜 시트레이트, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 드로나비놀, 다우조마이신, 듀오카르마이신 SA, 엠셀렌, 에코무스틴, 에다트렉세이트, 에델포신, 에드레콜로맙, 에플로미틴, 에플로미틴 히드로클로라이드, 엘레멘, 엘사미트루신, 에미테푸르, 엔로플라틴, 엔프로메이트, 에피프로피딘, 에피루비신, 에피루비신 히드로클로라이드, 에프리스테리드, 에르불로졸, 적혈구 유전자 요법 백터 시스템, 에소루비신 히드로클로라이드, 에스트라무스틴, 에스트라무스틴 유사체, 에스트라무스틴 포스페이트 나트륨, 에스트로겐 작용제, 에스트로겐 길항제, 에타니다졸, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 에토프린, 엑세메스탄, 파드로졸, 파드로졸 히드로클로라이드, 파자라빈, 펜레티니드, 필그라스팀, 피나스테리드, 플라보피리돌, 플레겔라스틴, 플록수리딘, 플루아스테론, 플루다라빈, 플루다라빈 포스페이트, 플루오로다우노루니신 히드로클로리드, 플루오로우라실, 플루오로시타빈, 포르페니멕스, 포르메스탄, 포스퀴돈, 포스트리에신, 포스트리에신 나트륨, 포테무스틴, 가돌리늄 텍사피린, 갈륨 니트레이트, 갈로시타빈, 가니렐릭스, 젤라티나제 억제제, 켐시타빈, 켐시타빈 히드로클로리드, 글루타치온 억제제, 헵술팜, 헤레굴린, 헥사메틸렌 비스아세트아미드, 히드록시우레아, 히페리신, 이반드론산, 이다루비신, 이다루비신 히드로클로리드, 이독시펜, 이드라만톤, 이포스파미드, 일모포신, 일로마스타트, 이미다조아크리돈, 이미퀴모드, 면역자극제 웨პ티드, 인슐린-유사 성장 인자-1 수용체 억제제, 인터페론 작용제, 인터페론 알파-2A, 인터페론 알파-2B, 인터페론 알파-N1, 인터페론 알파-N3, 인터페론 베타-IA, 인터페론 감마-IB, 인터페론, 인터류킨, 요벤구안, 요오도독소루비신, 이프로플라틴, 이리노테칸, 이리노테칸 히드로클로라이드, 이로플락트, 이르소글라린, 이소벤가졸, 이소호모할리콘드린 B, 이타세트론, 자스플라키놀리드, 카할랄리드 F, 라멜라린-N, 트리아세테이트, 란데오티드, 란데오티드 아세테이트, 레이나마이신, 레노그라스팀, 렌티난 술페이트, 렘톨스타틴, 레트로졸, 백혈병 억제 인자, 백혈구 알파 인터페론, 류프롤리드 아세테이트, 류프롤리드/에스트로겐/프로게스테론, 류프로렐린, 레바미솔, 리아로졸, 리아로졸 히드로클로라이드, 선형 폴리아민 유사체, 친지질성 이당 웨პ티드, 친지질성 백금 화합물, 리쏘클린아미드 7, 로바플라틴, 룸브리신, 로메트렉솔, 로메트렉솔 나트륨, 로무스틴, 로니다민, 로속산트론, 로속산트론 히드로클로라이드, 로바스타틴, 록소리빈, 루르토테칸, 루테튬 텍사피린, 리소필린, 용해성 웨პ티드, 마이탄신, 만노스타틴 A, 마리마스타트, 마소프로콜, 마스핀, 마트릴리신 억제제, 매트릭스 메탈로프로테이나제 억제제, 마이탄신, 메클로레타민 히드로클로라이드, 메게스트롤 아세테이트, 멜렌게스트롤 아세테이트, 멜팔란, 메노가릴, 메르바론, 메르캅토퓨린, 메테렐린, 메티오니나제, 메토트렉세이트, 메토트렉세이트 나트륨, 메토클로프라미드, 메토프린, 메투레테파, 미세조류 단백질 키나제 C 억제제, MIF 억제제, 미페프리스톤, 밀테포신, 미리모스팀, 부정합 이중가닥 RNA, 미틴도미드, 미토카르신, 미토크로민, 미토길린, 미토구아존, 미토락톨, 미토말신, 미토마이신, 미토마이신 유사체, 미토나피드, 미토스페르, 미토탄, 미토독소 섬유모세포 성장 인자-아포린, 미톡산트론, 미톡산트론 히드로클로라이드, 모파로텐, 몰그라모스팀, 모노클로날 항체, 인간 용모성 성선자극호르몬, 모노포스포릴지질 a/미오박테리움 세포 벽 SK, 모피다몰, 다중 약물 저항성 유전자 억제제, 다중 종양 억제제 1-기반 요법, 머스타드 항암제, 미카퍼옥시드 B, 미코박테리아 세포 벽 추출물, 미코페놀산, 미리아포론, n-아세틸디닐린, 나파렐린, 나그레스틴, 날록손/펜타조신, 나파빈, 나프테르핀, 나르토그라스팀, 네다플라틴, 네모루비신, 네리드론산, 중성 엔도펩티다제, 널루타미드, 니사마이신, 산화 질소 조절제, 니트록시드 항산화제, 니트룰린, 노코다

졸, 노갈라마이신, n-치환 벤즈아미드, 06-벤질구아닌, 옥트레오티드, 오키세논, 올리고뉴클레오티드, 오나프리스톤, 온단세트론, 오라신, 경구 시토카인 유도제, 오르마플라틴, 오사테론, 옥살리플라틴, 옥사우노마이신, 옥시수란, 파클리탁셀, 파클리탁셀 유사체, 파클리탁셀 유도체, 팔라우아민, 팔미토일리족신, 파미드론산, 파낙시트리올, 파노미펜, 파라박틴, 파젤립틴, 페가스파르가제, 펠데신, 펠리오마이신, 펜타무스틴, 펜토산 폴리술페이트 나트륨, 펜토스타틴, 펜트로졸, 페플로마이신 술페이트, 페플루브론, 퍼포스파미드, 페릴릴 알콜, 페나지노마이신, 페닐아세테이트, 포스파타제 억제제, 페시바닐, 필로카르핀 히드로클로라이드, 퍼포브로만, 퍼포술판, 피라루비신, 피리트렉심, 피록산트론 히드로클로라이드, 플라세틴 A, 플라세틴 B, 플라스미노겐 활성화제 억제제, 백금 복합체, 백금 화합물, 백금-트리아민 복합체, 플리카마이신, 플로메스탄, 포프피메르나트륨, 포르피로마이신, 프레드니무스틴, 프로카르바진 히드로클로라이드, 프로필 비스-아크리돈, 프로스타글란딘 J2, 전립선 암종 항안드로겐, 프로테아좀 억제제, 단백질 A-기반 면역 조절제, 단백질 키나제 C 억제제, 단백질 티로신 포스파타제 억제제, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제 억제제, 퓨로마이신, 퓨로마이신 히드로클로라이드, 푸르푸린, 피라조퓨린, 피라졸로아크리딘, 피리독실화 헤모글로빈 폴리옥시에틸렌 접합체, RAF 길항제, 랄티트렉세드, 라모세트론, RAS 파르네실 단백질 트랜스페라제 억제제, RAS 억제제, RAS-GAP 억제제, 탈메틸화 레텔립틴, 레늄 RE 186 에티드로네이트, 리족신, 리보프린, 리보자임, RII 레티나미드, RNAi, 로글레티미드, 로히튜킨, 로무르티드, 로퀴니멕스, 루비기논 B1, 루복실, 사핑골, 사핑골 히드로클로라이드, 사인토핀, 사르크누, 사르코피톨 A, 사르그라모스팀, SDI 1 모방체, 세무스틴, 노화 유래 억제제 1, 센스 올리고뉴클레오티드, 신호 전달 억제제, 신호 전달 조절제, 심트라젠, 단일 사슬 항원 결합 단백질, 시조퓨란, 소부족산, 나트륨 보로캅테이트, 나트륨 페닐아세테이트, 솔베롤, 소마토메딘 결합 단백질, 소네르민, 스파르포세이트 나트륨, 스파르포스산, 스파르소마이신, 스피카마이신 D, 스피로게르마늄 히드로클로라이드, 스피로무스틴, 스피로플라틴, 스플레노펜틴, 스풍기스타틴 1, 스쿠알라민, 줄기 세포 억제제, 줄기-세포 분화 억제제, 스티파아미드, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 스트로멜리신 억제제, 술피노신, 술로페누르, 초활성의 혈관활성 장 펩티드 길항제, 수라디스타, 수라민, 스와인소닌, 합성 글리코사미노글리칸, 탈리소마이신, 탈리무스틴, 타목시펜 메티오디드, 타우로무스틴, 타자로텐, 테코갈란 나트륨, 테가푸르, 텔루라피릴륨, 텔로머라제 억제제, 텔록산트론 히드로클로라이드, 테모포르핀, 테모졸로미드, 테니포시드, 테록시론, 테스토락톤, 테트라클로로데카옥시드, 테트라조민, 탈리블라스틴, 탈리도미드, 티아미프린, 티오코랄린, 티오구아닌, 티오데파, 트롬보포이에틴, 트롬보포이에틴 모방체, 티말파신, 티모포이에틴 수용체 작용제, 티모트리닌, 갑상선 자극 호르몬, 티아조퓨린, 주석 에틸 에티오푸르푸린, 티라파자민, 티타노센 디클로라이드, 토포테칸 히드로클로라이드, 톱센틴, 토레미펜, 토레미펜 시트레이트, 전능 줄기 세포 인자, 번역 억제제, 트레스톨론 아세테이트, 트레티노인, 트리아세틸우리딘, 트리시리빈, 트리시리빈 포스페이트, 트리메트렉세이트, 트리메트렉세이트 글루쿠로네이트, 트립토렐린, 트로피세트론, 튜뷸로졸 히드로클로라이드, 튜로스테리드, 티로신 키나제 억제제, 티르포스틴, UBC 억제제, 우베니멕스, 우라실 머스타드, 우레데파, 비뇨생식동-유래 성장 억제 인자, 우로키나제 수용체 길항제, 바프레오티드, 바리올린 B, 벨라레솔, 베라민, 베르딘스, 베르테포르핀, 빈블라스틴 술페이트, 빈크리스틴 술페이트, 빈데신, 빈데신 술페이트, 비네피딘 술페이트, 빈글리시네이트 술페이트, 빈레우로신 술페이트, 비노렐빈, 비노렐빈 타르트레이트, 빈로시딘 술페이트, 빈크살틴, 빈졸리딘 술페이트, 비탁신, 보로졸, 자노테론, 제니플라틴, 질라스코르브, 지노스타틴, 지노스타틴 스티말라며, 또는 조루비신 히드로클로라이드가 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0075] 일부 실시양태에서, 치료제는 2종 이상의 치료제를 투여하는 것을 포함하는 작용제 칵테일의 일부일 수 있다. 예를 들면, 시스플라틴 및 옥살리플라틴 양자를 포함하는 리포좀이 투여될 수 있다. 또한, 치료제는 알루미늄 젤 또는 염 아주반트 (예컨대 알루미늄 포스페이트 또는 알루미늄 히드록시드), 칼슘 포스페이트, 내독소, 톨-양 수용체 아주반트 등과 같은 면역 자극 아주반트 전에, 후에, 또는 그와 함께 전달될 수 있다.

[0076] 본 발명의 치료제는 치료 적용분야에 사용하기 위한 방사성핵종을 포함할 수도 있다. 예를 들면, <sup>111</sup>In과 같은 오제 전자(Auger electron) 방출자가 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA) 또는 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산 (DOTA)과 같은 칼레이트와 조합되어 치료에 사용될 리포좀과 같은 표적화 전달 조성물에 포함될 수 있다. 다른 적합한 방사성핵종 및/또는 방사성핵종-칼레이트 조합에는 DOTA를 동반한 베타 방사성핵종 (<sup>177</sup>Lu, <sup>153</sup>Sm, <sup>88/90</sup>Y), <sup>64</sup>Cu-TETA, <sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-IDA; <sup>188/186</sup>Re(CO)트리아민 (고리형 또는 선형), <sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-Enpy2 및 <sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-DTPA가 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0077] 상기한 바와 같이, 본 발명에 사용되는 치료제는 나노입자에 매립되는 것, 캡슐화되는 것 또는 테더링되는 것과 같은 다양한 방식으로 나노입자와 결합될 수 있다. 치료제의 로딩은 예를 들면 하기 참고문헌에 개시되어 있는

바와 같이 업계에 알려져 있는 다양한 방식을 통하여 수행될 수 있다: 문헌 [de Villiers, M. M. et al., Eds., *Nanotechnology in Drug Delivery*, Springer (2009)]; [Gregoriadis, G., Ed., *Liposome Technology: Entrapment of drugs and other materials into liposomes*, CRC Press (2006)]. 일군의 실시양태에서, 1종 이상의 치료제는 리포좀에 로딩될 수 있다. 리포좀의 로딩은 예를 들면 능동 또는 수동 방식으로 수행될 수 있다. 예를 들면, 치료제는 리포좀 내에 치료제가 캡슐화되도록, 용액 중에서의 리포좀의 자가-조립 공정 동안 포함될 수 있다. 소정 실시양태에서, 치료제는 리포좀 이중층에, 또는 다층라멜라 리포좀의 다중 층들 내에 매립될 수도 있다. 대안적인 실시양태에서, 치료제는 리포좀에 능동 로딩될 수 있다. 예를 들면, 이중층 막이 치료제를 함유하는 용액에 대하여 투과성이됨으로써 치료제가 리포좀의 내부 공간으로 진입하는 것을 가능케 하는 전기천공과 같은 조건에 리포좀이 노출될 수 있다.

#### [0078] 진단제

본 발명에 사용되는 진단제에는 예를 들면 하기의 참고문헌에 제공되어 있는 바와 같이 업계에 알려져 있는 어떠한 진단제도 포함될 수 있다: 문헌 [Armstrong et al., *Diagnostic Imaging*, 5<sup>th</sup> Ed., Blackwell Publishing (2004)]; [Torchilin, V. P., Ed., *Targeted Delivery of Imaging Agents*, CRC Press (1995)]; [Vallabhajosula, S., *Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*, Springer (2009)]. 진단제는 작용제가 비제한적으로 감마-방출, 방사능, 에코발생, 광학, 형광, 흡수, 자성 또는 단층촬영 신호를 포함한 검출가능한 신호를 제공하거나 및/또는 강화하는 것을 포함하여, 다양한 방식으로 검출될 수 있다. 진단제를 영상화하기 위한 기술에는 단일 광자 방출 전산화 단층촬영 (SPECT), 자기 공명 영상화 (MRI), 광학 영상화, 양전자 방출 단층촬영 (PET), 전산화 단층촬영 (CT), x-선 영상화, 감마선 영상화 등이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0080] 일부 실시양태에서, 진단제는 예를 들면 다양한 진단 영상화 기술에 사용될 금속 이온에 결합하는 킬레이팅제를 포함할 수 있다. 전형적인 킬레이팅제에는 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), [4-(1,4,8,11-테트라아자시클로데카스-1-일)메틸]벤조산 (CPTA), 시클로헥산디아민테트라아세트산 (CDTA), 에틸렌비스(옥시에틸렌니트릴로)테트라아세트산 (EGTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 시트르산, 히드록시에틸 에틸렌디아민트리아세트산 (HEDTA), 이미노디아세트산 (IDA), 트리에틸렌 테트라아민 혼사아세트산 (TTHA), 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라(메틸렌 포스폰산) (DOTP), 1,4,8,11-테트라아자시클로도데칸-1,4,8,11-테트라아세트산 (TETA), 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산 (DOTA), 및 이들의 유도체가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0081] 방사성동위원소가 본원에서 기술되는 진단제들 중 일부에 도입될 수 있는데, 감마선, 양전자, 베타 및 알파 입자, 및 X-선을 방출하는 방사성핵종들이 포함될 수 있다. 적합한 방사성핵종에는 <sup>225</sup>Ac, <sup>72</sup>As, <sup>211</sup>At, <sup>11</sup>B, <sup>128</sup>Ba, <sup>212</sup>Bi, <sup>75</sup>Br, <sup>77</sup>Br, <sup>14</sup>C, <sup>109</sup>Cd, <sup>62</sup>Cu, <sup>64</sup>Cu, <sup>67</sup>Cu, <sup>18</sup>F, <sup>67</sup>Ga, <sup>68</sup>Ga, <sup>3</sup>H, <sup>123</sup>I, <sup>125</sup>I, <sup>130</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>111</sup>In, <sup>177</sup>Lu, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P, <sup>212</sup>Pb, <sup>103</sup>Pd, <sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re, <sup>47</sup>Sc, <sup>153</sup>Sm, <sup>89</sup>Sr, <sup>99m</sup>Tc, <sup>88</sup>Y 및 <sup>90</sup>Y가 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

소정 실시양태에서, 방사성 작용제에는 <sup>111</sup>In-DTPA, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-DTPA, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-ENPy2, <sup>62/64/67</sup>Cu-TETA, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-IDA, 및 <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>트리아민 (고리형 또는 선형)이 포함될 수 있다. 다른 실시양태에서, 작용제는 <sup>111</sup>In, <sup>177</sup>Lu, <sup>153</sup>Sm, <sup>88/90</sup>Y, <sup>62/64/67</sup>Cu, 또는 <sup>67/68</sup>Ga와 함께 DOTA 및 그의 다양한 유사체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 리포좀은 하기의 참고문헌에 제공되어 있는 바와 같이, 예를 들면 킬레이트에 부착된 지질, 예컨대 DTPA-지질의 도입에 의해 방사성표지될 수 있다: 문헌 [Phillips et al., *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 1(1): 69-83 (2008)]; [Torchilin, V.P. & Weissig, V., Eds. *Liposomes 2nd Ed.*: Oxford Univ. Press (2003)]; [Elbayoumi, T.A. & Torchilin, V.P., *Eur. J. Nuc1. Med. Mol. Imaging* 33: 1196-1205 (2006)]; [Mougin-Degraef, M. et al., *Int'l J. Pharmaceutics* 344: 110-117 (2007)].

[0082] 다른 실시양태에서, 진단제는 형광제, 인광제, 화학발광제 등과 같은 광학 작용제들을 포함할 수 있다. 수많은 작용제들 (예컨대 염료, 프로브, 표지 또는 표식)이 업계에 알려져 있으며, 본 발명에 사용될 수 있다 (예컨대 문헌 [Invitrogen, *The Handbook-A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies*, Tenth Edition (2005)] 참조). 형광제에는 다양한 유기 및/또는 무기 소형 분자, 또는 다양한 형광 단백질 및 그의 유도체들이 포함될 수 있다. 예를 들면, 형광제에는 시아닌, 프탈로시아닌, 포르피린, 인도시아닌, 로다민, 페녹사진, 페닐크산텐, 페노티아진, 페노셀레나진, 플루오레세인, 벤조포르피린, 스쿠아레인, 디피롤로 피리미돈, 테트라

센, 퀴놀린, 피라진, 코린, 크로코늄, 아크리돈, 페난트리딘, 로다민, 아크리딘, 안트라퀴논, 칼코게노피릴륨 유사체, 염소, 나프탈로시아닌, 메틴 염료, 인돌레늄 염료, 아조 화합물, 아줄렌, 아자아줄렌, 트리페닐 메탄 염료, 인돌, 벤조인돌, 인도카르보시아닌, 벤조인도카르보시아닌, 그리고 4,4-디플루오로-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센의 일반 구조를 가지는 바디파이(BODIPY)<sup>TM</sup> 유도체, 및/또는 이를 중 어느 것의 접합체 및/또는 유도체가 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 사용될 수 있는 다른 작용제에는 예를 들면 플루오레세인, 플루오레세인-폴리아스파르트산 접합체, 플루오레세인-폴리글루탐산 접합체, 플루오레세인-폴리아르기닌 접합체, 인도시아닌 그린, 인도시아닌-도데카아스파르트산 접합체, 인도시아닌 (NIRD)-폴리아스파르트산 접합체, 이소술판 블루, 인돌 디술포네이트, 벤조인돌 디술포네이트, 비스(에틸카르복시메틸)인도시아닌, 비스(펜틸카르복시메틸)인도시아닌, 폴리히드록시인돌 술포네이트, 폴리히드록시벤조인돌 술포네이트, 견질 헤테로원자 인돌 술포네이트, 인도시아닌비스프로판산, 인도시아닌비스헥산산, 3,6-디시아노-2,5-[N,N,N',N'-테트라키스(카르복시메틸)아미노]피라진, 3,6-[N,N,N',N'-테트라카이스(2-히드록시에틸)아미노]피라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-아자테디노)피라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-모르폴리노)피라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-피페라지노)피라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-티오모르폴리노)피라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-티오모르폴리노)피라진-2,5-디카르복실산 S-옥시드, 2,5-디시아노-3,6-비스(N-티오모르폴리노)피라진 S,S-디옥시드, 인도카르보시아닌테트라술포네이트, 클로로인도카르보시아닌, 및 3,6-디아미노피라진-2,5-디카르복실산이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0083]

업계 일반의 숙련자라면, 사용되는 특정 광학 작용제가 여기에 사용되는 괘장, 피부 조직 아래의 깊이, 및 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 기타 인자들에 따라 달라질 수 있다는 것을 알고 있을 것이다. 예를 들어, 광학 작용제의 최적 흡수 또는 여기 최대치는 사용되는 작용제에 따라 달라질 수 있으나, 일반적으로 본 발명의 작용제는 자외선 (UV), 가시선 또는 적외선 (IR) 범위의 전자기 스펙트럼에서 광에 의해 흡수 또는 여기될 것이다. 영상화의 경우, 근-IR (~700-900 nm, 예컨대 인도시아닌)에서 흡수 및 방출하는 염료가 바람직하다. 내시경법을 사용한 국소적 가시화의 경우, 가시선 범위에서 흡수하는 어떠한 염료도 적합하다.

[0084]

일부 실시양태에서, 본 발명의 방법에 사용되는 비-이온화 방사선은 괘장이 약 350 nm 내지 약 1200 nm의 범위일 수 있다. 전형적인 일 실시양태에서, 형광체는 전자기 스펙트럼 가시 부분의 청색 범위 괘장 (약 430 nm 내지 약 500 nm)을 가지는 광에 의해 여기되어, 전자기 스펙트럼 가시 부분의 녹색 범위 괘장 (약 520 nm 내지 약 565 nm)으로 방출할 수 있다. 예를 들면, 플루오레세인 염료는 약 488 nm의 괘장을 가지는 광에 의해 여기되며, 약 520 nm의 방출 괘장을 가질 수 있다. 또 다른 예로서, 3,6-디아미노피라진-2,5-디카르복실산은 약 470 nm의 괘장을 가지는 광에 의해 여기되고, 약 532 nm의 괘장에서 형광될 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 광학 작용제의 여기 및 방출 괘장은 전자기 스펙트럼의 근-적외선 범위에 속할 수 있다. 예를 들면, 인도시아닌 염료, 예컨대 인도시아닌 그린은 약 780 nm의 괘장을 가지는 광에 의해 여기되며, 약 830 nm의 방출 괘장을 가질 수 있다.

[0085]

또 다른 실시양태에서, 진단제는 비제한적으로 예컨대 초상자성 산화 철 (SPIO), 가돌리늄 또는 망간의 복합체 등을 포함하여 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 조영제를 포함할 수 있다 (예컨대 문헌 [Armstrong *et al.*, *Diagnostic Imaging*, 5<sup>th</sup> Ed., Blackwell Publishing (2004)] 참조). 일부 실시양태에서, 진단제는 자기 공명 (MR) 영상화제를 포함할 수 있다. 전형적인 자기 공명제에는 상자성제, 초상자성제 등이 포함되나, 이에 제한되는 것은 아니다. 전형적인 상자성제에는 가도펜테트산, 가도테르산, 가도디아미드, 가돌리늄, 가도테리돌, 망가포디피르, 가도베르세타미드, 철 암모늄 시트레이트, 가도벤산, 가도부트롤 또는 가독세트산이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 초상자성제에는 초상자성 산화 철 및 페리스텐이 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 소정 실시양태에서, 진단제는 예를 들면 하기의 참고문헌에 제공되어 있는 바와 같은 x-선 조영제들을 포함할 수 있다: 문헌 [H.S Thomsen, R.N. Muller and R.F. Mattrey, Eds., *Trends in Contrast Media*, (Berlin: Springer-Verlag, 1999)]; [P. Dawson, D. Cosgrove and R. Grainger, Eds., *Textbook of Contrast Media* (ISIS Medical Media 1999)]; [Torchilin, V.P., *Curr. Pharm. Biotech.* 1: 183-215 (2000)]; [Bogdanov, A.A. *et al.*, *Adv. Drug Del. Rev.* 37: 279-293 (1999)]; [Sachse, A. *et al.*, *Investigative Radiology* 32(1): 44-50 (1997)]. x-선 조영제의 예에는 비제한적으로 요파미돌, 요메프롤, 요헥솔, 요펜톨, 요프로미드, 요시미드, 요베르솔, 요트롤란, 요타술, 요덕사놀, 요데시몰, 요글루카미드, 요글루니드, 요굴라미드, 요사르콜, 요크실란, 요파미론, 메트리자미드, 요비트리돌 및 요시메놀이 포함된다. 소정 실시양태에서, x-선 조영제에는 요파미돌, 요메프롤, 요프로미드, 요헥솔, 요펜톨, 요베르솔, 요비트리돌, 요덕사놀, 요트롤란 및 요시메놀이 포함될 수 있다.

[0086]

상기한 치료제와 마찬가지로, 진단제는 예를 들면 나노입자에 매립되거나, 캡슐화되거나, 또는 테더링되는 것을

포함한 다양한 방식으로 나노입자와 결합될 수 있다. 마찬가지로, 진단제의 로딩은 예를 들면 하기의 참고문헌에 개시되어 있는 바와 같이 업계에 알려져 있는 다양한 방식을 통하여 수행될 수 있다: 문헌 [de Villiers, M. M. et al., Eds., *Nanotechnology in Drug Delivery*, Springer (2009)]; [Gregoriadis, G., Ed., *Liposome Technology: Entrapment of drugs and other materials into liposomes*, CRC Press (2006)].

[0087]

#### 선택적 결합 쌍

[0088]

본원에서 제공되는 바와 같이, 본 발명의 선택적 결합 쌍은 통상적으로 특이적인 방식으로 서로 결합하는 한 쌍의 분자들, 예컨대 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체들을 포함한다. 소정 실시양태에서, 선택적 결합 쌍은 단일 또는 복수의 DNA 서열에 대한 결합에 있어서 다른 것 예컨대 제2의 올리고뉴클레오티드 구성원에 비해 우선권을 가지는 1종의 올리고뉴클레오티드 구성원을 포함할 수 있다. 주어진 올리고뉴클레오티드에는, 서열 선택성에 대해 비-서열-특이적 (검출가능한 우선권 없음)인 것에서부터 절대적인 서열 특이성 (즉 모든 가능한 서열들 중 단일 서열만을 인식)까지 범위의 상이한 DNA 서열들에 대한 상이한 친화성 스펙트럼이 존재한다. 본 발명에서는, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>가 선택적 결합 쌍의 구성원들이다. 소정의 전형적인 실시양태에서, C<sup>1</sup>은 제2 구성원 C<sup>2</sup>와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원일 수 있는데, 예컨대 C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체일 수 있다. 소정 실시양태에서, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 서로는 혼성화되지만 대상체에 존재하는 어떠한 뉴클레오티드 서열에도 혼성화되지 않는 뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 C<sup>1</sup> 및/또는 C<sup>2</sup>와 대상체에 존재하는 또 다른 분자 사이의 경쟁적 결합이 존재하지 않도록, 본 발명 표적화 전달 조성물의 일부로서 대상체에 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 서열은 자연에서는 발생하지 않는 서열, 즉 비-자연 서열일 수 있다.

[0089]

C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>와 같은 선택적 결합 구성원에는 광범위한 길이에 걸쳐 있는 올리고뉴클레오티드 및/또는 올리고뉴클레오티드 모방체가 포함될 수 있다. 예를 들면, 올리고뉴클레오티드 및/또는 올리고뉴클레오티드 모방체는 길이가 2 내지 100 단위 범위일 수 있다. 일부 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드는 길이가 약 2 내지 약 100개 핵산, 길이가 약 2 내지 약 50개 핵산, 길이가 약 8 내지 약 50개 핵산, 길이가 약 8 내지 약 40개 핵산, 길이가 약 10 내지 약 30개 핵산, 또는 길이가 약 20 내지 약 30개 핵산 범위일 수 있다.

[0090]

일반적으로, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 각각 치료 또는 진단을 받고 있는 대상체에서의 표적화 전달 조성물의 전달 및 수송에 적합한 조건하에서 안정한 이중체를 형성하는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 결합 쌍의 선택적인 특성은 용해 온도, 또는 2종 결합 쌍 구성원들 간의 상보성에 의한 것과 같은 다양한 방식으로 기술될 수 있다. 단일 가닥 올리고뉴클레오티드가 상보성 서열을 가지는 단일 가닥 올리고뉴클레오티드와 접촉시 용이하게 이중체 DNA를 형성한다는 것은 잘 알려져 있다. 일부 실시양태에서, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 각각 약 95 % 초과 상보성, 약 90 % 초과 상보성, 약 85 % 초과 상보성, 약 80 % 초과 상보성, 약 75 % 초과 상보성, 약 70 % 초과 상보성, 약 60 % 초과 상보성, 또는 약 50 % 초과 상보성일 수 있는 상보성 올리고뉴클레오티드 서열을 포함할 수 있다. 소정 실시양태에서, C<sup>1</sup> 또는 C<sup>2</sup>는 다른 것에 비해 더 길 수 있거나, 또는 동일한 길이일 수 있다. C<sup>1</sup>이 C<sup>2</sup>의 일부를 따라 상보성일 수 있거나, 또는 그 반대일 수도 있다. 예를 들면, C<sup>1</sup>이 C<sup>2</sup>의 일부에 대하여 60 % 이상 상보성, 70 % 이상 상보성, 80 % 이상 상보성, 또는 90 % 이상 상보성일 수 있거나, 또는 그 반대일 수 있다. 일부 실시양태에서, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 길이가 40개 핵산일 수 있으며, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 길이가 약 8 내지 약 30개 핵산인 부분에 걸쳐 70 % 이상 상보성이다. 또 다른 실시양태에서, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>는 12-25개 핵산을 가지는 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 90 %를 초과하여 상보성일 수 있다.

[0091]

이중체 DNA의 안정성 및 2종 서열들 사이의 용해 온도를 예상하는 방법에 대해서는 잘 알려져 있다 (예컨대 문헌 [Breslauer, K.J., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 3746-3750 (1986)], [Owczarzy R. et al., *Biopolymers* 44, 217-239 (1997)]; [Sugimoto N. et al., *Biochemistry* 34, 11211-11216 (1995)]; [Owczarzy R. et al., *Biochemistry* 43, 3537-3554 (2004)]에 기술되어 있음). 따라서, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>의 서열은 일부 경우 예정될 수 있는 소정 조건하에서 2종 구성원이 서로 선택적으로 결합하도록 하는 방식으로 구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명에 사용되는 선택적 결합 쌍은 치료되는 대상체의 체온을 상회하는 용해 온도를 가지는 서열들을 포함한다. 소정 실시양태에서, 용해 온도는 적어도 약 37 °C 초과, 적어도 약 38 °C 초과, 적어도 약 39 °C 초과, 적어도 약 40 °C 초과, 또는 적어도 약 41 °C 초과일 수 있다. 다른 실시양태에서, 선택적 결합

쌍의 용해 온도는 약 37 °C 내지 약 41 °C 사이, 약 40 °C 내지 50 °C 사이, 또는 약 40 °C 내지 약 60 °C 사이의 범위일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 선택적 결합 쌍은 대상체의 체온을 1 °C 이상, 2 °C 이상, 3 °C 이상, 4 °C 이상, 5 °C 이상, 10 °C 이상, 또는 20 °C 이상 상회하는 용해 온도를 가지도록 사전-설계될 수 있다. 업계 일반의 숙련자라면, 특정 서열이 본 발명의 특정 용도에 특이적인 소정의 용해 온도를 가질 것으로 예상될 수 있다는 것을 알고 있을 것이다.

[0092]

선택적 결합 쌍의 구성원들은 서로 선택적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 모방체를 포함할 수도 있다. 일부 실시양태에서, 상기 올리고뉴클레오티드 모방체는 서로 (예컨대 PNA/PNA) 또는 올리고뉴클레오티드와 (예컨대 PNA/DNA 또는 PNA/RNA) 이중체를 형성할 수 있다. 소정 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 모방체 및/또는 올리고뉴클레오티드들은 왓슨-크리크 수소 결합 규칙이 아닌 다른 상호작용을 통하여 혼성화될 수 있으며, 용액 중에서 안정한 이중체를 형성할 수 있다 (예컨대 문헌 [Egholm *et al.*, *Nature* 365: 566-568 (1993)] 참조).

[0093]

또 다른 실시양태에서, 표적화 전달 조성물은 더 강력하도록 변형될 수 있다. 예를 들면, C<sup>1</sup> 및 C<sup>2</sup>과 같은 선택적 결합 쌍의 구성원들이 혼성화된 후, DNA, RNA 및/또는 PNA의 2개의 상보성 가닥은 업계에 알려져 있는 다양한 방법에 의해 추가적으로 가교될 수 있다 (예컨대 문헌 [Webb, Thomas R., Matteucci, Mark D., *Nucleic Acids Research* (1986) 14(19), 7661-7674] 참조). 업계 일반의 숙련자라면, 다양한 가교제들이 사용될 수 있으며 다양한 화학, 예컨대 광가교 또는 화학적 가교가 사용될 수 있다는 것을 알고 있을 것이다. 또한, 올리고뉴클레오티드에 대한 공유결합 부착과 같은 몇 가지 방식으로, 및/또는 올리고뉴클레오티드 합성시, 다양한 연결 잔기들이 올리고뉴클레오티드에 결합될 수 있다. 소정 실시양태에서, 이중체의 안정성은 올리고뉴클레오티드 가닥들 사이에 공유결합 가교를 형성시킬 수 있는 1개 이상의 연결 잔기를 도입하는 것에 의해 증가될 수 있다. 예를 들면 도 2에 나타낸 바와 같이, 올리고뉴클레오티드 가닥들 중 1개 (예컨대 C<sup>1</sup>과 같은 선택적 결합 쌍의 구성원)의 2,3-데옥시우리딘은 상보성 올리고뉴클레오티드 서열 (C<sup>2</sup>와 같은 선택적 결합 쌍의 다른 구성원)에 존재하는 구아닌 (G) 맞은편에서 그것이 혼성화될 수 있도록 서열 중에 위치될 수 있다. 그에 의한 가교는 공유결합 가교된 이중체 쌍의 형성을 초래한다.

[0094]

#### 표적화 성분

[0095]

본 발명의 표적화 전달 조성물은 C<sup>2</sup>-(L<sup>2</sup>)<sub>y</sub>-T의 화학식을 가지는 표적화 성분도 포함한다. 연결 기 L<sup>2</sup> 및 선택적 결합 쌍의 구성원 C<sup>2</sup>에 대해서는 상기에 더 상세하게 기술되어 있다. 아래첨자 y는 일반적으로 0 또는 1이다.

[0096]

본 발명의 표적화 전달 조성물은 또한 표적화체 T를 포함한다. 일반적으로, 본 발명의 표적화체는 기관, 조직, 세포, 세포외 매트릭스 또는 세포내 영역과 연관되어 있는 표적과 같은 어떠한 해당 표적과도 결합할 수 있다. 소정 실시양태에서, 표적은 암성 병태와 같은 특정 질환 상태와 연관되어 있을 수 있다. 다르게는, 표적화 성분은 예를 들면 세포, 조직 및/또는 대상체의 특정 질환 및/또는 특정 상태를 표시하는 표적을 가질 수 있는 1종 이상의 특정 세포 유형을 표적으로 할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 성분은 수용체와 같은 1종의 표적에만 특이적일 수 있다. 적합한 표적에는 핵산, 예컨대 DNA, RNA 또는 이들의 변형된 유도체가 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 적합한 표적에는 또한 단백질, 예컨대 세포외 단백질, 수용체, 세포 표면 수용체, 종양-마커, 막황단 단백질, 효소 또는 항체가 포함될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 적합한 표적에는 예컨대 세포 표면상에 존재할 수 있는 단당류, 이당류 또는 다당류와 같은 탄수화물이 포함될 수 있다. 소정 실시양태에서, 적합한 표적에는 뮤신 예컨대 MUC-1 및 MUC-4, 성장 인자 수용체 예컨대 EGFR, 클라우딘 4, 핵소체 인단백질 예컨대 뉴클레올린, 케모카인 수용체 예컨대 CCR7, 수용체 예컨대 소마토스타틴 수용체 4, Erb-B2 (적혈모구성 백혈병 종양유전자 동종체 2) 수용체, CD44 수용체 및 VEGF 수용체-2 키나제가 포함될 수 있다.

[0097]

소정 실시양태에서, 표적화체에는 표적 리간드의 소형 문자 모방체 (예컨대 웨პ티드 모방 리간드), 표적 리간드 (예컨대 웨პ티드 또는 폴레이트 아미드를 함유하는 RGD 웨პ티드), 또는 특정 표적에 특이적인 항체 또는 항체 단편이 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화체에는 또한 엽산 유도체, B-12 유도체, 인테그린 RGD 웨პ티드, NGR 유도체, 소마토스타틴 유도체, 또는 소마토스타틴 수용체에 결합하는 웨პ티드, 예컨대 옥트레오티드 및 옥트레오테이트 등이 포함될 수 있다.

[0098]

본 발명의 표적화체에는 또한 압타머가 포함될 수 있다. 압타머는 해당 표적과 조합되거나 거기에 결합하도록 설계될 수 있다. 압타머는 예를 들면 DNA, RNA 및/또는 웨პ티드로 구성될 수 있는데, 압타머의 소정 양태에 대

해서는 업계에 잘 알려져 있다 (예컨대 문헌 [Klussman, S., Ed., The Aptamer Handbook, Wiley-VCH (2006)]; [Nissenbaum, E.T., *Trends in Biotech.* 26(8): 442-449 (2008)] 참조). 본 발명에서, 적합한 압타머는 선형 이거나 고리화된 것일 수 있으며, 약 150개 미만의 염기를 가지는 (즉 약 150 mer 미만) 올리고뉴클레오티드가 포함될 수 있다. 압타머는 길이가 약 100 내지 약 150개 염기 또는 약 80 내지 약 120개 염기 범위일 수 있다. 소정 실시양태에서, 압타머는 약 12 내지 약 40개 염기, 약 12 내지 약 25개 염기, 약 18 내지 약 30개 염기, 또는 약 15 내지 약 50개 염기 범위일 수 있다. 압타머는 질환 상태에서 존재하거나 발현되며 비제한적으로 본원에서 언급되는 표적 부위를 포함하는 적합한 표적과 함께 사용되도록 개발될 수 있다.

[0099] B. 연결 기에 직접 부착된 진단제 및/또는 치료제를 포함하는 표적화 전달 조성물

또 다른 측면에서, 본 발명은 진단제 및/또는 치료제가 연결 기에 직접 부착되는 표적화 전달 조성물을 제공한다. 일 실시양태에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물에는 (a)  $DT-(L_x^1)-C^1$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분; (b)  $C^2-(L_y^2)-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분을 포함하며, 여기서 DT는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합이고;  $L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며; T는 표적화제이고; 아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것인, 표적화 전달 조성물이 포함된다.

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (a) 나노입자; (b)  $A-(L_x^1)-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분; 및 (c)  $C^2-(L_y^2)-DT$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분을 포함하며, 여기서 A는 부착 성분이고;  $L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며; DT는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합이고; 아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것이며; 상기 유도체화 부착 성분의 A 부분은 나노입자에 부착되는, 표적화 치료용 또는 진단용 전달 조성물을 제공한다.

[0102] 일반적으로, 업계 일반의 숙련자라면, 상기한 바와 같은 나노입자를 포함하는 표적화 전달 조성물의 선택된 실시양태들이 진단제 및/또는 치료제가 연결 기에 직접 부착되는 표적화 전달 조성물에 대하여 본원에서 개시되는 실시양태들에도 마찬가지로 적용될 수 있다는 것을 알고 있을 것이다. 진단제 및/또는 치료제를 연결 기에 부착시키는 방법에 대해서는 업계에 잘 알려져 있는데, 통상적으로는 상기에 더 상세하게 기술되어 있는 공유결합 부착이다. 업계 일반의 숙련자라면, 관능기 및/또는 2관능성 링커 (각각 상기에 상세하게 기술되어 있음)가 예를 들면 DT를 연결 기 ( $L^1$  또는  $L^2$ )에 부착시키는 데에 사용될 수 있다는 것을 알고 있을 것이다. 또한, DT에는 상기되어 있으며 나노입자에 대한 필요성 없이 직접 치료제 및/또는 진단제를 대상체에게 제공하는 어떠한 치료제 및/또는 진단제도 포함될 수 있다. 마찬가지로, 표적화 성분은 상기한 바와 같은 나노입자-기반 표적화 전달 조성물에 사용되는 표적화 성분과 동일할 수 있다.  $C^1$  및  $C^2$ 와 같은 선택적 결합 쌍의 구성원 역시 나노입자를 포함하는 표적화 전달 조성물과 관련하여 상기한 것들과 동일하다.

[0103] C. 표적화 전달 조성물의 개별 성분들

또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에서 개시되는 표적화 전달 조성물의 개별 성분들을 제공한다. 구체적으로, 본 발명에는  $A-(L^1)-C^1$ 의 화학식을 가지며, 여기서 A는 부착 성분이고;  $L^1$ 은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체인, 유도체화 부착 성분이 포함된다.

또 다른 측면에서, 본 발명에는  $C^2-(L^2)-T$ 의 화학식을 가지며, 여기서  $L^2$ 는 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이고;  $C^2$ 는 제2 구성원  $C^1$ 과의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이며, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이고; T는 표적화제인, 표적화 성분이 포함된다.

[0106] 또 다른 측면에서, 본 발명에는  $(DT)-(L^1)-C^1$ 의 화학식을 가지며, 여기서 DT는 치료제, 진단제 또는 이들의 조합이고;  $L^1$ 은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이

고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체인, 진단 또는 치료 성분이 포함된다.

[0107] 업계 일반의 숙련자라면, 표적화 전달 조성물의 각 성분들 역시 상기한 구체적인 실시양태들 각각을 포함한다는 것을 알고 있을 것이다.

#### IV. 표적화 전달 조성물 및 성분들의 제조 방법

##### A. 나노입자를 포함하는 표적화 전달 조성물

본 발명의 표적화 전달 조성물은 다양한 방식으로 제조될 수 있다. 일 측면에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물은  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분을  $C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분과 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 A는 유도체화 부착 성분을 나노입자에 부착시키기 위한 부착 성분이고;  $L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며; T는 표적화제이고; 아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것이며; 상기 유도체화 부착 성분의 A 부분이 A를 나노입자에 부착시키기에 충분한 조건하에서 나노입자에 부착된 후; 이어서 나노입자-A-( $L^1$ )<sub>x</sub>- $C^1$  접합체가  $C^1$ 과  $C^2$  사이에 이중체가 형성되기에 충분한 조건하에서 표적화 성분과 접촉되는, 표적화 치료용 또는 진단용 전달 조성물의 제조 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

일반적으로, 본 발명의 표적화 전달 조성물은 하나의 단계로, 또는 임의 순서로 수행될 수 있는 단계별 양식으로 조립될 수 있다. 예를 들면, 유도체화 부착 성분이 치료제 및/또는 진단제를 포함하는 나노입자에 부착될 수 있다. 다음에, 표적화 성분이 선택적 결합 쌍 구성원들 사이의 혼성화에 의해 표적화 전달 조성물에 첨가될 수 있다. 대안적인 실시양태에서는, 용액 중에서 서로 자가-조립되도록, 모든 성분들 (예컨대 나노입자, 유도체화 부착 성분 및 표적화 성분)이 함께 조합될 수 있다. 소정 실시양태에서, 나노입자는 리포좀을 포함할 수 있으며, 리포좀의 형성 동안에 유도체화 부착 성분이 포함될 수 있다. 표적화 성분은 유도체화 부착 성분을 동반한 리포좀 형성 후에 첨가될 수 있다. 다르게는, 리포좀의 자가-조립 공정 동안 표적화 성분이 포함됨으로써, 자가-조립 후 완전한 표적화 전달 조성물이 형성될 수 있다.

##### 나노입자

나노입자는 업계에 일반적으로 알려져 있는 다양한 방식으로 제조될 수 있는데, 그와 같은 나노입자의 제조 방법은 원하는 구체적인 나노입자에 따라 달라질 수 있다. 업계에 가용한 어떠한 측정 기술도 표적화 전달 조성물 및 나노입자의 특성을 측정하는 데에 사용될 수 있다. 예를 들면, 동적 광 산란, x-선 광전자 현미경법, 분말 x-선 회절, 주사 전자 현미경법 (SEM), 투과 전자 현미경법 (TEM) 및 원자력 현미경법 (AFM)과 같은 기술들이 나노입자 및/또는 표적화 전달 조성물의 평균 크기 및 분산도를 측정하는 데에 사용될 수 있다.

본 발명의 표적화 전달 조성물에 사용되는 리포좀은 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 다양한 기술들을 사용하여 제조될 수 있다 (예컨대 문헌 [Williams, A.P., Liposomes: A Practical Approach, 2<sup>nd</sup> Edition, Oxford Univ. Press (2003)]; [Lasic, D.D., Liposomes in Gene Delivery, CRC Press LLC (1997)] 참조). 예를 들면, 리포좀은 비제한적으로 압출, 진탕, 초음파처리, 역상 증발, 수용액 중 자가-조립, 전극-기반 형성 기술, 미세유체 유도 형성 기술 등과 같은 기술들에 의해 제조될 수 있다. 소정 실시양태에서는, 다층라멜라 및/또는 단층라멜라인 리포좀(대형 단층라멜라 소포 (LUV) 및/또는 소형 단층라멜라 소포 (SUV)가 포함될 수 있음)을 제조하는 방법이 사용될 수 있다. 용액 중 리포좀의 자가-조립과 유사하게, 미포를 형성하기에 충분한 용액 조건에서 용해될 경우 양친매성 분자가 미포를 형성하게 되는 것과 같이 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 기술을 사용하여 미포가 제조될 수 있다. 지질-코팅된 기포 및 지질단백질 역시 업계에 알려져 있는 방법을 사용하여 구성될 수 있다 (예컨대 문헌 [Farook, U., J. R. Soc. Interface, 6(32): 271-277 (2009)]; [Lacko *et al.*, Lipoprotein Nanoparticles as Delivery Vehicles for Anti-Cancer Agents in Nanotechnology for Cancer Therapy, CRC Press (2007)] 참조).

본 발명에 사용될 수 있는 중합체성 나노입자의 제조 방법에 대해서는 업계에 일반적으로 잘 알려져 있다 (예컨대 문헌 [Sigmund, W. *et al.*, Eds., Particulate Systems in Nano- and Biotechnologies, CRC Press LLC (2009)]; [Karnik *et al.*, Nano Lett., 8(9): 2906-2912 (2008)] 참조). 예를 들면, 블록 공중합체가 용액 중

에서 자가-조립되어 폴리머좀 및/또는 블록 공중합체 미포가 형성될 수 있는 것과 같이 업계에 알려져 있는 합성법을 사용하여 블록 공중합체가 제조될 수 있다. 니오좀이 업계에 알려져 있는데, 다양한 기술 및 조성물을 사용하여 제조될 수 있다 (문헌 [Baillie A.J. et al., *J. Pharm. Pharmacol.*, 38: 502-505 (1988)])]. 자성 및/또는 금속성 입자는 공동-침전, 열 분해 및 미세에멀젼과 같이 업계에 알려져 있는 임의의 방법을 사용하여 구성될 수 있다 (역시 문헌 [Nagarajan, R. & Hatton, T.A., Eds., *Nanoparticles Synthesis, Stabilization, Passivation, and Functionalization*, Oxford Univ. Press (2008)] 참조). 양자 점 또는 반도체 나노결정은 콜로이드 합성 기술과 같이 업계에 알려져 있는 임의의 방법을 사용하여 합성될 수 있다. 일반적으로, 양자 점은 카드뮴 셀레니드, 카드뮴 술피드, 인듐 아르세니드, 인듐 포스피드 등을 포함한 반도체 물질들과 같은 다양한 물질들로 구성될 수 있다.

**[0116] 유도체화 부착 성분**

본 발명의 유도체화 부착 성분은 화학 합성 업계에 일반적으로 알려져 있는 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들면, 유도체화 부착 성분의 올리고뉴클레오티드 및/또는 올리고뉴클레오티드 모방체 부분 (예컨대 C<sup>1</sup>)은 유도체화 부착 성분의 다른 부분과 별도인 반응 합성으로 제조될 수 있다. 올리고뉴클레오티드 합성은 업계에 알려져 있는 다양한 방법을 사용하여 수행될 수 있는데, 올리고뉴클레오티드의 길이에 따라 달라질 수 있다. 예컨대 20 내지 30개 뉴클레오티드인 더 짧은 올리고뉴클레오티드의 경우, 포스포르아미다이트 합성이 사용될 수 있다. 예컨대 5000개 뉴클레오티드인 더 긴 올리고뉴클레오티드의 경우에는, 예컨대 문헌 [Smith et al., *PNAS*, 100(26): 15440-15445 (2003)]에 기술되어 있는 바와 같이 통상적인 클로닝 기술이 올리고뉴클레오티드를 제조하는 데에 사용될 수 있다. 뉴클레오티드 생성물을 단리하는 데에는 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 방법이 사용될 수 있다. 이후, 합성된 올리고뉴클레오티드 및/또는 올리고뉴클레오티드 모방체 (예컨대 C<sup>1</sup>)은 본원에서 기술되는 바와 같이 업계에 알려져 있는 다양한 연결 화학을 사용하여 3' 또는 5' 말단에서 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기에 공유결합 부착될 수 있다. 소정 실시양태에서, 올리고뉴클레오티드 예컨대 C<sup>1</sup>은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기의 말단에 부착된다. 대안적인 측면에서는, A 부분 또는 부착 성분이 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기 (예컨대 L<sup>1</sup>)에 부착된 다음, 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체가 부착 성분 반대편의 연결기 말단에 합성될 수 있다.

일 측면에서, 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기는 업계에 알려져 있는 통상적인 화학을 사용하여 디스테아로일포스포에탄올아민과 같은 인지질에 부착될 수 있다. 다음에, 선택적 결합 쌍 구성원의 말단 (예컨대 C<sup>1</sup>으로 표시되는 올리고뉴클레오티드의 3' 또는 5' 말단)이 상기한 기술을 사용하여 폴리에틸렌 글리콜 기의 타 말단에 부착될 수 있다. 다른 실시양태에서는, 선택적 결합 쌍 구성원 C<sup>1</sup>이 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기 없이 직접 부착 성분에 부착될 수 있다.

**[0119] 표적화 성분**

본 발명의 표적화 성분은 유도체화 부착 성분에 대하여 상기에 개시된 것과 유사한 방법을 사용하여 구성될 수 있다. 선택적 결합 쌍의 구성원 (예컨대 C<sup>2</sup>)은 상기한 올리고뉴클레오티드 합성 기술을 사용하여 별도로 합성될 수 있다. 다음에, 선택적 결합 쌍의 구성원은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기 (예컨대 L<sup>2</sup>)의 일 말단에 부착될 수 있다. 선택적 결합 쌍 구성원의 부착에 이어서 또는 그 전에, 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기의 반대편 말단에 표적화제가 부착될 수 있다. 소정 실시양태에서는, 선택적 결합 쌍의 구성원 또는 표적화제에의 부착 전에 업계에 일반적으로 알려져 있는 방법을 사용하여 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기가 합성될 수 있다.

업계 일반의 숙련자라면 알고 있을 바와 같이, 본 발명의 표적화제는 표적화제의 특성에 따라 달라질 수 있는 다양한 방식으로 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기에 부착될 수 있다. 예를 들면, 표적화제가 펩티드, 뉴클레오티드, 탄수화물 등으로 구성되는지에 따라 반응 합성이 상이할 수 있다.

소정 실시양태에서, 표적화제에는 암타мер가 포함될 수 있다. 특정 표적용 암타мер는 비제한적으로 시험관내 선택 공정, 예컨대 SELEX (지수적 강화에 의한 리간드의 체계적 형성), 또는 모노렉스™ 기술 (암타레스 AG 사의 단일 과정 암타мер 단리 절차), 생체내 선택 공정, 또는 이들의 조합과 같이 업계에 알려져 있는 기술을 사용하여 확인될 수 있다 (예컨대 문헌 [Ellington, A.D. & Szostak, J.W., *Nature* 346(6287): 818-22]; [Bock et al., *Nature* 355(6360): 564-6 (1992)] 참조). 일부 실시양태에서는, 상기 언급된 방법들을 사용하여 본원에

서 개시되는 바와 같은 해당 특정 표적 부위에 결합하는 데에 사용될 수 있는 특정 DNA 또는 RNA 서열이 확인될 수 있다. 일단 특정 암타머의 서열이 확인되고 나면, 포스포르아미다이트 합성과 같이 업계에 알려져 있는 다양한 방식으로 암타머가 구성될 수 있다. 펩티드 암타머의 경우, 다양한 확인 및 제조 기술들이 사용될 수 있다 (예컨대 문헌 [Colas, P., *J. Biol.* 7:2 (2008)]; [Woodman, R. et al., *J. Mol. Biol.* 352(5): 1118-33 (2005)] 참조). 선택적 결합 쌍 구성원의 부착과 관련하여 상기한 반응 순서와 마찬가지로, 표적화 성분의 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기가 암타머의 3' 또는 5' 말단과 반응될 수 있다. 일부 실시양태에서는, 선택적 결합 쌍의 구성원 (예컨대  $C^2$ )이 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기의 타 말단과 반응되고난 후에 암타머가 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기에 부착될 수 있다. 다른 실시양태에서는, 암타머가 먼저 부착된 다음, 표적화 성분을 형성하기 위한 선택적 결합 쌍 구성원의 부착이 이어질 수 있다. 대안적인 실시양태에서, 암타머는 표적화 성분의 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기 말단에 한번에 1개의 핵산을 첨가하는 것에 의해 순차적으로 합성될 수 있다. 또 다른 실시양태에서는, 한번의 단계로 표적화 성분을 형성하도록, 선택적 결합 쌍 구성원과 표적화제 예컨대 암타머가 동일한 반응 용기에 위치될 수 있다.

[0123] B. 연결기에 직접 부착된 진단체 및/또는 치료제를 포함하는 표적화 전달 조성물

[0124] 연결기에 직접 부착된 진단체 및/또는 치료제를 포함하는 표적화 전달 조성물은 몇 가지 방식으로 제조될 수 있다. 일 측면에서, 표적화 전달 조성물은  $C^1$ 과  $C^2$  사이에 이중체가 형성되기에 충분한 조건하에서,  $DT-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분을  $C^2-(L^2)_y-T$ 의 화학식을 가지는 표적화 성분과 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 DT는 치료제, 진단체 또는 이들의 조합이고;  $L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며; T는 표적화제이고; 아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것인, 표적화 전달 조성물의 제조 방법을 사용하여 제조될 수 있다.

[0125] 또 다른 측면에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물은  $A-(L^1)_x-C^1$ 의 화학식을 가지는 유도체화 부착 성분을  $C^2-(L^2)_y-DT$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분과 접촉시키는 것을 포함하며, 여기서 A는 부착 성분이고;  $L^1$  및  $L^2$  각각은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기이며;  $C^1$ 은 제2 구성원  $C^2$ 와의 선택적 결합 쌍의 일 구성원이고, 여기서  $C^1$  및  $C^2$ 는 올리고뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 모방체이며; DT는 치료제, 진단체 또는 이들의 조합이고; 아래첨자 x 및 y 각각은 독립적으로 0 또는 1이나, x 및 y 중 적어도 하나는 0이 아닌 다른 것이며; 상기 유도체화 부착 성분의 A 부분이 A를 나노입자에 부착시키기에 충분한 조건하에서 해당 나노입자에 부착된 후; 이어서 나노입자-A-( $L^1$ )<sub>x</sub>- $C^1$  접합체가  $C^1$ 과  $C^2$  사이에 이중체가 형성되기에 충분한 조건하에서 진단 또는 치료 성분과 접촉되는, 표적화 치료용 또는 진단용 전달 조성물의 제조 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 다른 단계 순서들이 연결기에 직접 부착된 진단체 및/또는 치료제를 포함하는 표적화 전달 조성물을 제조하는 데에 사용될 수 있다는 것은 알고 있을 것이다.

[0126] 진단 또는 치료 성분

[0127]  $DT-(L^1)_x-(C^1)$ 의 화학식을 가지는 진단 또는 치료 성분은 업계에 일반적으로 잘 알려져 있는 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 소정 실시양태에서는, 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기에 퀄레이팅제가 부착된 다음, 표적화제가 연결 기의 타 말단에 부착될 수 있다. 다음에는, 방사성동위원소가 퀄레이팅제와 복합체화될 수 있다. 그러나, 본 발명은 접합체를 제조함에 있어서 몇 가지 단계 순서를 고려한다. 일부 실시양태에서는, 소정의 단계들이 역전될 수 있다. 예를 들면, 퀄레이팅제가 방사성동위원소와 조합되어 진단 성분을 형성할 수 있으며, 그것은 다음에 통상적인 화학을 사용하여 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기와 추가 반응될 수 있다. 다음에, 선택적 결합 쌍의 구성원 ( $C^1$ )이 본원에서 기술되는 바와 같이 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기에 부착될 수 있다. 또 다른 측면에서는, 치료제가 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기에 부착된 후, 선택적 결합 쌍의 구성원 ( $C^1$ )이 본원에서 기술되는 바와 같이 연결기의 반대편 말단에 부착될 수 있다. 업계 일반의 숙련자라면, 진단 및/또는 치료 성분이 상기에서 제공된 예가 아닌 다른 몇 가지 상이한 방식으로 구성될 수 있다는 것을 알고 있을 것이다. 또한, 진단 또는 치료 성분을 제조하는 것은 사용되는 특정 진단체 및/

또는 치료제에 따라 달라질 수 있다.

#### IV. 표적화 전달 조성물의 투여 방법

본원에서 기술되는 바와 같이, 본 발명의 표적화 전달 조성물 및 방법은 대상체와 연관되어 있는 소정의 질환, 장애 및/또는 병태를 치료 및/또는 진단하는 데에 사용될 수 있다. 일 실시양태에서, 본 발명의 방법에는 나노입자를 포함하는 본 발명의 표적화 전달 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 치료제 또는 진단제가 암성 병태를 치료 또는 진단하는 데에 충분한, 대상체에서의 암성 병태의 치료 또는 진단 방법이 포함된다. 소정 실시양태에서, 상기 암성 병태에는 본 발명 표적화 전달 조성물의 표적화제에 의해 표적화되는 수용체를 충분히 발현하는 (예컨대 세포 표면 상에서 또는 혈관구조 내에서) 암이 포함될 수 있다.

또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법에는 나노입자를 포함하는 표적화 전달 조성물을 해당 대상체에게 투여하는 것 (상기 나노입자는 진단제를 포함함), 및 대상체를 영상화하여 상기 진단제를 검출하는 것을 포함하는, 표적화된 치료용 치료에 대한 대상체의 적합성 결정 방법이 포함된다.

또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법에는 연결 기에 직접 부착된 진단제 및/또는 치료제를 포함하는 본 발명의 표적화 전달 조성물을 대상체에게 투여하는 것을 포함하며, 치료제 또는 진단제는 암성 병태를 치료 또는 진단하는 데에 충분한, 대상체에서의 암성 병태의 치료 또는 진단 방법이 포함된다.

또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법에는 연결 기에 직접 부착된 진단제를 포함하는 본 발명의 표적화 전달 조성물을 대상체에게 투여하는 것, 및 상기 대상체를 영상화하여 상기 진단제를 검출하는 것을 포함하는, 표적화된 치료용 치료에 대한 대상체의 적합성 결정 방법이 포함된다.

#### 투여

일부 실시양태에서, 본 발명은 표적화 전달 조성물 및 생리학적으로 (즉 제약상) 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 본원에서 사용될 때, "담체"라는 용어는 치료제와 같은 약물에 대해 희석제 또는 비히클로 사용되는 통상적으로 불활성인 물질을 지칭한다. 상기 용어에는 조성물에 접착 특성을 부여하는 통상적으로 불활성인 물질도 포함된다. 통상적으로, 생리학적으로 허용되는 담체는 액체의 형태로 존재한다. 액체 담체의 예에는 생리학적 식염수, 포스페이트 완충제, 표준 완충 식염수 (135-150 mM NaCl), 물, 완충수, 0.4 % 식염수, 0.3 % 글리신, 향상된 안정성을 제공하기 위한 당단백질 (예컨대 알부민, 지질단백질, 글로불린 등) 등이 포함된다. 생리학적으로 허용되는 담체가 부분적으로, 투여되는 구체적인 조성물은 물론, 조성물을 투여하는 데에 사용되는 구체적인 방법에 의해서도 결정되기 때문에, 매우 다양한 본 발명 제약 조성물의 적합한 제제가 존재한다 (예컨대 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>th</sup> ed., 1989] 참조).

본 발명의 조성물은 통상적이며 잘 알려져 있는 멸균 기술에 의해 멸균될 수 있거나, 또는 멸균 조건하에서 제조될 수 있다. 수용액은 사용용으로 포장되거나, 또는 무균 조건하에서 여과된 후 동결건조될 수 있는데, 상기 동결건조 제제는 투여 전에 멸균 수용액과 조합된다. 조성물은 생리학적 조건을 모방하는 데에 필요한 만큼의 제약상 허용되는 보조 물질, 예컨대 pH 조정제 및 완충제, 장성 조정제, 침윤제 등, 예를 들면 나트륨 아세테이트, 나트륨 락테이트, 나트륨 클로라이드, 칼륨 클로라이드, 칼슘 클로라이드, 소르비탄 모노라우레이트 및 트리에탄올아민 올레아이트를 함유할 수 있다. 동결건조된 표적화 전달 조성물용의 안정화제와 같이, 조성물을 안정화하기 위하여 당이 포함될 수도 있다.

단독, 또는 다른 적합한 성분과의 조합으로써의 선택된 표적화 전달 조성물은 흡입을 통하여 투여되는 에어로졸 제제로 제조될 수 있다 (즉 "분무"될 수 있음). 에어로졸 제제는 디클로로디플루오로메탄, 프로판, 질소 등과 같은 가압 허용가능 추진제 중에 위치될 수 있다.

적합한 직장 투여용 제제에는 예를 들면 좌약 기제와 함께 유효량의 포장된 표적화 전달 조성물을 포함하는 좌약이 포함된다. 적합한 좌약 기제에는 천연 또는 합성 트리글리세리드 또는 파라핀 탄화수소가 포함된다. 또한, 예를 들면 액체 트리글리세리드, 폴리에틸렌 글리콜 및 파라핀 탄화수소를 포함한 기제와의 선택된 표적화 전달 조성물의 조합을 함유하는 젤라틴 직장 캡슐을 사용하는 것 역시 가능하다.

예를 들면 관절내 (관절 내의), 정맥내, 근육내, 종양내, 피내, 복강내 및 피하 경로에 의한 것과 같은 비경구 투여에 적합한 제제에는 항산화제, 완충제, 정균제, 및 제제를 예정된 수용자의 혈액과 등장성이 되게 하는 용질을 함유할 수 있는 수성 및 비-수성의 등장성인 멸균 주사 용액, 그리고 혼탁제, 가용화제, 증점제, 안정화제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성의 멸균 혼탁액이 포함된다. 주사 용액 및 혼탁액은 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수도 있다. 본 발명의 실시시, 조성물은 예를 들면 정맥내 주입에 의해, 국소적으

로, 복강내로, 방광내로 또는 수막강내로 투여될 수 있다. 비경구 투여 및 정맥내 투여가 바람직한 투여 방법이다. 표적화 전달 조성물의 제제는 단위-투여분 또는 다수-투여분이 밀봉된 용기, 예컨대 앰플 및 바이알에 제공될 수 있다.

[0139] 약제학적 제제는 바람직하게는 단위 투약 형태이다. 그와 같은 형태에서, 제제는 적절한 양의 활성 성분, 예컨대 표적화 전달 조성물을 함유하는 단위 투여분으로 분할된다. 단위 투약 형태는 포장이 별도량의 제제를 함유하는 포장된 제제일 수 있다. 원활 경우, 조성물은 다른 상용성의 치료제를 함유할 수도 있다.

[0140] 암의 치료를 위한 치료적 사용시, 본 발명의 제약 조성물에서 이용되는 치료제 및/또는 진단제를 포함하는 표적화 전달 조성물은 하루 약 0.001 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg의 개시 투약량으로 투여될 수 있다. 약 0.01 mg/kg 내지 약 500 mg/kg, 또는 약 0.1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 하루 투여량 범위가 사용될 수 있다. 그러나, 투약량은 환자의 요구, 치료되는 병태의 중증도, 및 사용되는 표적화 전달 조성물에 따라 달라질 수 있다. 예를 들면, 투약량은 특정 환자에서 진단된 암의 유형 및 단계를 고려하여 경험적으로 결정될 수 있다. 본 발명에 있어서, 환자에게 투여되는 투여량은 시간이 지나면서 환자에서의 유익한 치료 반응에 영향을 주기에 충분해야 한다. 투여량의 크기는 또한 특정 환자에서의 특정 표적화 전달 조성물의 투여에 동반하는 소정 유해 부작용의 존재, 특성 및 정도에 의해 결정될 것이다. 특정 상황에서의 적정 투약량의 결정은 진료의의 기술에 속한다. 일반적으로, 치료는 표적화 전달 조성물의 최적 투여량 미만인 더 작은 투여량으로 개시된다. 이후, 상황에 따른 최적의 효과가 달성될 때까지 조금씩 투약량이 증가된다. 원활 경우, 편의성을 위하여, 총 하루 투약량이 분할되어 하루 내내 조금씩 투여될 수 있다.

[0141] 일부 실시양태에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물은 질환, 장애 및/또는 병태를 진단하는 데에 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 전달 조성물은 폐암, 유방암, 퀘장암, 전립선암, 자궁경부암, 난소암, 결장암, 간암, 식도암 등과 같은 대상체의 암성 병태를 진단하는 데에 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 질환 상태를 진단하는 방법은 대상체의 신체 내에서 종양을 물리적으로 검출하거나 및/또는 찾아내기 위한 표적화 전달 조성물의 사용을 포함할 수 있다. 예를 들면, 종양은 본 발명 표적화 전달 조성물의 표적화제에 의해 표적화되는 수용체를 충분히 발현하는 (예컨대 세포 표면 상에서 또는 혈관구조 내에서) 암과 관련된 것일 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 전달 조성물은 암이 아닌 다른 질환, 예컨대 증식성 질환, 심혈관계 질환, 위장관로 질환, 비뇨생식기 질환, 신경학적 질환, 근골격계 질환, 혈액학적 질환, 염증성 질환, 자가면역 질환, 류마티스 관절염 등을 진단하는 데에 사용될 수도 있다.

[0142] 본원에서 기술되는 바와 같이, 본 발명의 표적화 전달 조성물은 본질적으로 검출가능한 특성을 가지는 진단제를 포함할 수 있다. 대상체에서의 진단제의 검출시, 표적화 전달 조성물, 또는 일부가 표적화 전달 조성물인 입자군집이 대상체에 투여될 수 있다. 다음에는, 단일 광자 방출 전산화 단층촬영 (SPECT), 자기 공명 영상화 (MRI), 광학 영상화, 양전자 방출 단층촬영 (PET), 전산화 단층촬영 (CT), x-선 영상화, 감마선 영상화 등과 같은 진단제 영상화 기술을 사용하여 대상체가 영상화될 수 있다. 본원에서 기술되는 어떠한 영상화 기술도 다른 영상화 기술과 조합되어 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서는, 입자에서의 영상화를 위한 방사성동위원소의 도입이 대상체에서의 표적화 전달 조성물의 생체내 추적을 가능케 한다. 예를 들면, 표적화 전달 조성물의 생체분포 및/또는 제거가 측정될 수 있으며, 임의로 환자의 치료를 변경하는 데에 사용될 수 있다. 예를 들면, 더 많거나 적은 표적화 전달 조성물이 환자의 치료 및/또는 진단을 최적화하는 데에 필요할 수 있다.

#### 표적화 전달

[0144] 소정 실시양태에서, 본 발명의 표적화 전달 조성물은 표적화된 방식으로 치료제 또는 진단제를 방출하도록 대상체에 전달될 수 있다. 예를 들면, 표적화 전달 조성물이 대상체 내의 표적에 전달된 다음, 나노입자와 같은 표적화 전달 조성물에 매립, 캡슐화 또는 테더링되어 있는 치료제가 표적 부근의 용액 조건을 기반으로 전달될 수 있다. pH, 염 농도 등과 같은 용액 조건은 짧거나 긴 시간 기간에 걸쳐 표적 부근의 영역에 대한 치료제의 방출을 촉발할 수 있다. 다르게는, 효소가 표적화 전달 조성물로부터 치료제 또는 진단제를 절단함으로써 방출을 개시할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적화 전달 조성물은 세포내 이입에 의해 세포의 내부 영역으로 전달된 후, 리소좀과 같은 세포의 내부 구획에서 차후에 분해될 수도 있다. 일반 숙련자라면, 치료제 또는 진단제의 표적화 전달이 업계에 일반적으로 알려져 있는 다양한 방법을 사용하여 수행될 수 있다는 것을 알고 있을 것이다.

#### 키트

[0146]

본 발명은 또한 질환 상태를 치료 및/또는 진단하기 위하여 대상체에 표적화 전달 조성물을 투여하기 위한 키트를 제공한다. 그와 같은 키트는 통상적으로 암성 병태와 같은 질환 상태를 치료 및/또는 진단하는 데에 필요한 2종 이상의 구성요소를 포함한다. 구성요소에는 본 발명의 표적화 전달 조성물, 시약, 용기 및/또는 장비가 포함될 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트 내의 용기는 사용 전에 방사성표지되는 방사성의약품을 포함하는 표적화 전달 조성물을 함유할 수 있다. 키트는 또한 표적화 전달 조성물을 투여하는 데에 필요한 반응 성분 또는 완충제 중 어느 것을 포함할 수 있다. 또한, 표적화 전달 조성물은 동결건조된 형태이어서, 투여 전에 재구성될 수 있다.

[0147]

소정 실시양태에서, 본 발명의 키트는 환자의 질환 상태를 치료 및/또는 진단하는 데에 사용되는 1종 이상의 구성요소를 포함할 수 있는 패키징 어셈블리를 포함할 수 있다. 예를 들면, 패키징 어셈블리에는 본원에서 기술되는 바와 같은 1종 이상의 표적화 전달 조성물을 수용하는 용기가 포함될 수 있다. 별도의 용기는 환자에의 투여 전에 표적화 전달 조성물과 혼합될 수 있는 다른 부형제 또는 작용제를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 의사는 특정 환자에 필요한 치료 또는 진단에 따라 소정의 구성요소 및/또는 패키징 어셈블리들을 혼합하고 조합할 수 있다.

[0148]

본원에서 기술된 실시양태들은 단지 예시만을 목적으로 한다는 것, 그리고 업계 숙련자라면 거기에 비추어 다양한 변형 또는 변경들을 제안하게 될 것인 바, 본 출원의 기술사상 및 범위, 및 첨부된 청구범위의 영역 내에 포함되어야 한다는 것이 양해된다. 본원에서 언급되는 모든 공개, 특히 및 특히 출원들은 모든 목적에 있어서 그 전체가 의거 참조로써 개재된다.

[0149]

### [실시예]

[0150]

하기의 실시예는 본원에서 기술되는 바와 같은 유도체화 부착 성분, 진단 성분 및 표적화 성분을 제조하는 방법에 대한 예로써의 실시양태를 기술한다. 실시예에서, 부착 성분은 친수성의 비-면역원성인 수용성 연결 기를 통하여 제1 올리고뉴클레오티드에 커플링된 지질을 포함한다. 또한, 진단 성분은 연결 기를 통하여 제1 올리고뉴클레오티드에 상보성인 제2 올리고뉴클레오티드에 커플링된 형광체의 형태로 제공된다. 표적화 성분에는 올리고뉴클레오티드에 연결된 펩티드 표적화제는 물론, 올리고뉴클레오티드에 연결된 암타미 표적화제가 포함된다. 소정 실시양태에서, 유도체화 부착 성분은 리포좀에 도입된 다음, 선택적 결합 쌍들 사이의 혼성화를 통하여 진단 성분 또는 표적화 성분에 결합될 수 있다. 업계 일반의 숙련자라면, 실시예에서 기술되는 방법이 본원에서 기술되는 바와 같은 다른 유도체화 부착 성분, 표적화 성분, 및 진단 또는 치료 성분에 대해서도 유사할 수 있다는 것을 알고 있을 것이다.

[0151]

### 실시예 1

[0152]

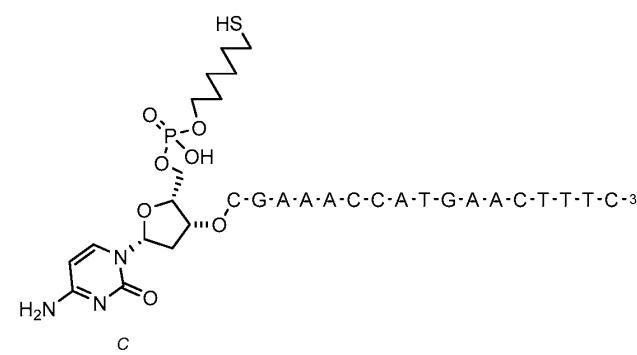
5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1의 제조

[0153]

하기의 단계들에 의해 5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1을 제조하였다:

[0154]

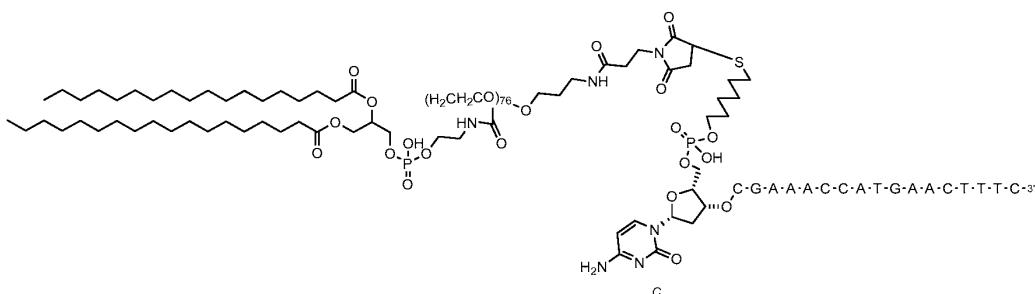
단계 1: VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1의 제조



[0155]

통상적으로 사용한 고체 지지체 올리고뉴클레오티드 합성 기술을 사용하여, 시중에서 구입가능한 보호 뉴클레오시드들 및 적절하게 보호된 6-히드록시헥산티올 유사체로부터, 바로 위에 나타낸 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1을 제조하였다. 이후의 지지체로부터의 절단 및 역상 정제로써, 실질적으로 순수한 형태의 3'-자유 티올로서 5'-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1을 산출하였다.

[0157]

단계 2: 5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1의 제조

[0158]

[0159]

5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1 (바로 위에 나타냄)을 제조하기 위하여, 적합한 용매 중에서 단계 1의 생성물을 DSPE-PEG3400-말레이미드와 반응시켰다. 적합한 물:아세토니트릴 구배를 사용한 역상 크로마토그래피 후, 실질적으로 순수한 형태로 표제 화합물인 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1 - 3-(3-(5-히드록시펜틸티오)-2,5-디옥소피롤리딘-1-일)프로판아미도-PEG3400-DSPE 접합체를 단리하였다.

[0160]

실시예 2

[0161]

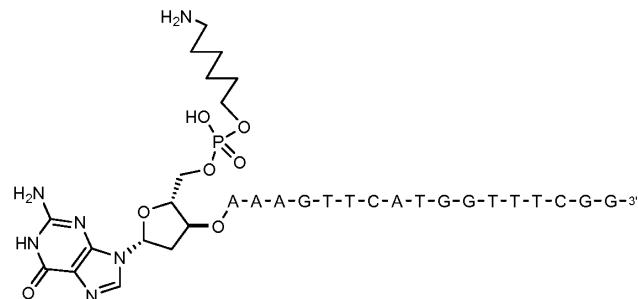
5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2의 제조

[0162]

하기의 단계들에 의해 5'-(6-FAM(플루오레세인 아미다이트))-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2를 제조하였다.

[0163]

단계 1: VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2의 제조

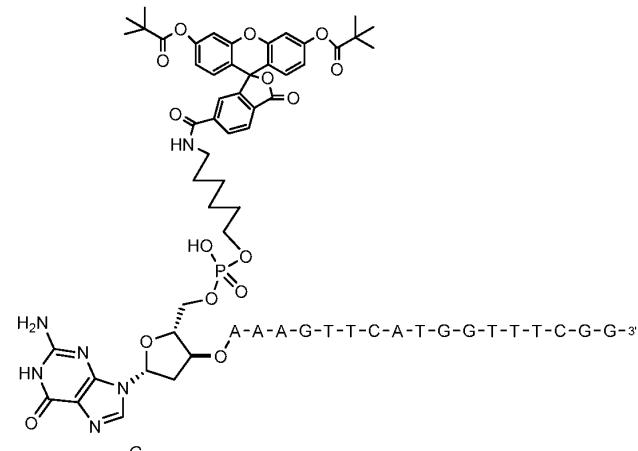


[0164]

통상적으로 사용한 고체 지지체 올리고뉴클레오티드 합성 기술을 사용하여, 시중에서 구입가능한 보호 뉴클레오티드들 및 6-아미노헥산올로부터, 바로 위에 나타낸 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2를 제조하였다. 이후의 지지체로부터의 절단 및 역상 정제로써, 실질적으로 순수한 형태로 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2를 산출하였다.

[0166]

단계 2: 5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2의 제조



[0167]

5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2를 제조하기 위하여, 적합한 용매 중에서 단계 1의 생성물을 카르복시플루오레세인 NHS 에스테르와 반응시켰다. 적합한 물:아세토니트릴 구배를 사용한 역상 크로마토그래피

후, 표제 화합물인 5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2를 단리하였다.

[0169] 실시예 3

[0170] 단층라멜라 리포좀의 제조

[0171] 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-포스포콜린 일수화물 (DSPC):콜레스테롤 (Chol) 55:45 몰비로부터 리포좀 조성물을 제조하였다. 원형저 플라스크에서, 지질 혼합물 (40 mg)을 클로로포름:메탄올 (3:1 v/v)에 용해시켰다. 회전 증발기를 사용하여 질소하에서 유기 용매를 증발시킴으로써, 플라스크의 벽을 따라 얇은 인지질 필름을 형성시켰다. 실온에서 밤새 완전 진공하의 진공 오븐에 플라스크를 위치시킴으로써, 잔류 용매를 제거하였다. 원형저 플라스크에 암모늄 술페이트 용액 (250 mM 암모늄 술페이트 용액, 1 mL)을 첨가하고, 회전증발기(rotovap)에서 60 °C에서 (진공 없이) 30분 동안, 또는 모든 물질이 용해될 때까지 플라스크를 회전시킴으로써, 생성지질 필름을 수화시켰다. 암모늄 술페이트 용액 (9 mL)의 첨가에 의해 생성 용액을 회석하였다. 리펙스 (Lipex) 스테인리스강 압출기를 사용하여 800, 400 및 100 nm 세공 크기의 폴리카르보네이트 필터를 통해 다층-라멜라 소포를 압출하였다. 광-산란 실험을 사용하여 리포좀의 평균 크기 및 크기 분포를 평가하기는 하였으나, 일반적으로 이와 같은 절차는 공정 직경 100 nM의 리포좀을 산출한다.

[0172] 실시예 4

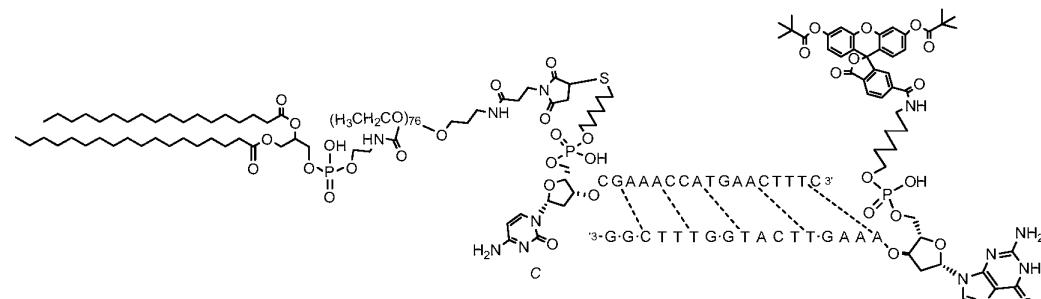
[0173] PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 1 리포좀을 생성시키기 위한 실시예 3에서 제조된 리포좀에의 5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1의 열적 삽입

[0174] 하기의 절차를 사용하여, 실시예 3에서 형성된 리포좀에 5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1을 삽입할 수 있다. 실시예 3에서 제조된 최종 압출 리포좀 용액을 약하게 교반하면서 65 °C로 가열한다. 5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 1 (MW 9972.0, 4.0 mg, 2.0 mole%)을 암모늄 술페이트 용액 (250 mM 암모늄 술페이트 용액, 1 mL)에 용해시켜, 리포좀 용액에 첨가한다. 이 시점에 용액을 55 °C로 냉각시키고, 이 온도에서 30분 이상 동안 반응을 수행한다. 반응 혼합물을 실온 (RT)으로 냉각시키고, 광-산란 기술에 의해 입자 크기를 측정한다.

[0175] 개시 물질이 없는 리포좀 결합 5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 1을 수득하기 위하여, PBS를 용리액으로 사용하여 (2 mL 분획) 세파로스(Sepharose) CL-4B 컬럼 (0.05×12 in, GE 헬스케어(Healthcare) 사, PBS를 사용하여 사전-평형화) 상으로 반응 혼합물을 통과시킨다. 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 및 합쳐진 동일 분획을 사용하여 원하는 리포좀 생성물을 측정한다.

[0176] 실시예 5

[0177] PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1 리포좀에 의한 5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2의 포획



[0178]

[0179] 실시예 3으로부터의 PBS 중 PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1 리포좀 (2 mL)에, RT에서 교반하면서 PBS 중 5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2의 용액 (1 mg,  $2 \times 10^{-7}$  mole, 1 mL 중)을 첨가한다. 15분 후, 혼성화 반응을 반드시 완료하고, 실시예 4에서와 같은 세파로스 컬럼 크로마토그래피에 의해 미-반응 단일 가닥 DNA 개시 물질로부터 이중체 DNA 접합체를 함유하는 리포좀을 분리한다. 형광 검출을 사용한 HPLC에 의한 분석으로써, ds-DNA 결합 플루오레세인의 존재가 확인될 것이다.

[0180]

실시예 6

[0181]

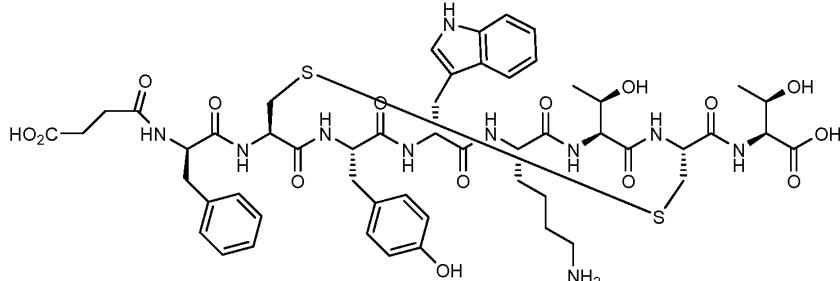
VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2, N-숙시닐-tyr-3-옥트레오테이트의 제조

[0182]

하기의 단계들을 사용하여 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2, N-숙시닐-tyr-3-옥트레오테이트를 제조하였다.

[0183]

단계 1: N-숙시닐-Tyr-3-옥트레오테이트의 제조



[0184]

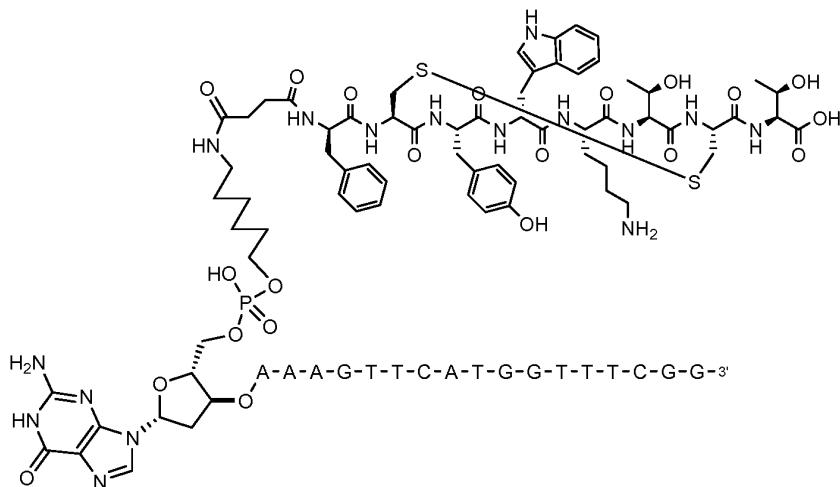
(2*S*,3*R*)-2-((4*R*,7*S*,10*S*,13*R*,16*S*,19*R*)-13-((1*H*-인돌-3-일)메틸)-10-(4-아미노부틸)-19-((*R*)-2-(3-카르복시프로판아미도)-3-페닐프로판아미도)-16-(4-히드록시벤질)-7-((*R*)-1-히드록시에틸)-6,9,12,15,18-펜타옥소-1,2-디티아-5,8,11,14,17-펜타아자시클로이코산-4-카르복스아미도)-3-히드록시부탄산

[0186]

각 단계에서 연장된 커플링 시간을 사용하는 표준 고체 지지체 웨티드 FMOC 합성 기술을 사용하여, 바로 위에 나타낸 N-숙시닐-Tyr-3-옥트레오테이트를 제조하였다. 웨티드 합성이 완료된 후, Cys Acm 보호 기를 제거하고, 적절한 용매 시스템을 사용하여 Tl(III)(TFA)<sub>3</sub> 고리화를 수행하였다. 나머지 보호 기를 제거하고, TFA에 의해 수지로부터 웨티드를 절단하였다. 역상 HPLC (C18)가 실질적으로 순수한 원하는 생성물을 나타내었으므로 (UV 및 보정 MS에서 하나의 피크), 이 생성물을 동결건조하여 추가 정제 없이 사용하였다.

[0187]

단계 2: VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2, N-숙시닐-tyr-3-옥트레오테이트의 제조



[0188]

적합한 용매 중에서 단계 2의 생성물을 웨티드 커플링제 TBTU와 반응시켜, 활성 에스테르로 전환하였다. 혼합물을 동일하거나 유사한 용매 중에 용해시킨 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2 (실시예 2 단계 1의 생성물)에 첨가하여 반응시킬 수 있다. 역상 HPLC에 의한 정제는 원하는 생성물인 실질적으로 순수한 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2, N-숙시닐-tyr-3-옥트레오테이트를 산출할 것이다.

[0190]

실시예 7

[0191]

PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1 리포좀에 의한 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2, N-숙시닐-tyr-3-옥트레오테이트의 포획

[0192]

실시예 5의 실질량 및 조건을 사용하나 5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2 대신 VEGF 올리고뉴클레

오토드 유사체 2, N-숙시닐-tyr-3-옥트레오테이트를 대체 사용하여, 실시예 4의 접합체 DSPE PEG(3400) VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1을 함유 및 디스플레이하는 리포좀을 처리할 수 있다. 표면상에 디스플레이된 포획 tyr-3-옥트레오테이트와 함께 이중체 이중-가닥 VEGF DNA를 함유하는 리포좀이 생성된다.

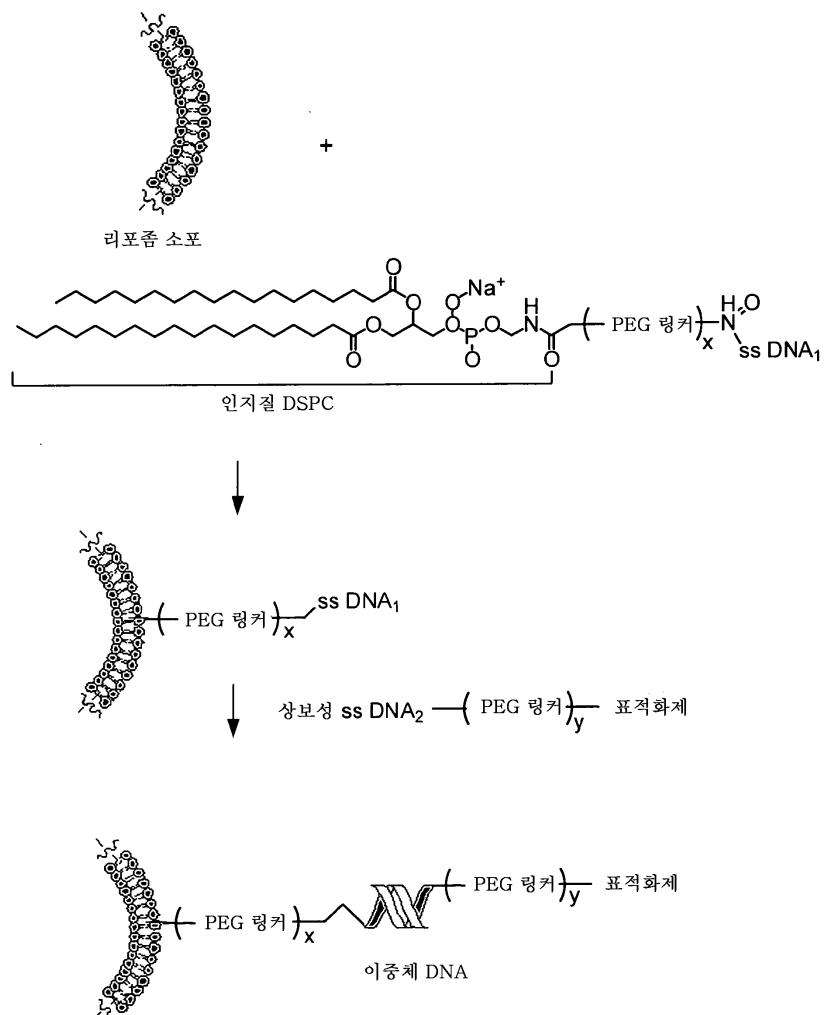
#### [0193] 실시예 8

실질적으로 실시예 6 및 7에 개발되어 있는 절차를 사용하여, VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 1 서열을 포함하는 성분을 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2 서열을 포함하는 성분에 혼성화할 수 있다. 예를 들면, 액체 크로마토그래피 정제 기술을 사용하여, 연결 기를 통해 압타머 올리고뉴클레오티드에 연결되어 있는 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2 서열을 합성 및 정제할 수 있다. 상기 압타머는 RNA-기반 압타머, DNA-기반 압타머 또는 RNA-DNA 조합-기반 압타머일 수 있다. 다음에, 정제된 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2 서열-연결 기-압타머는 실시예 4에 기술되어 있는 유사한 방식으로 리포좀에 의해 포획될 수 있다.

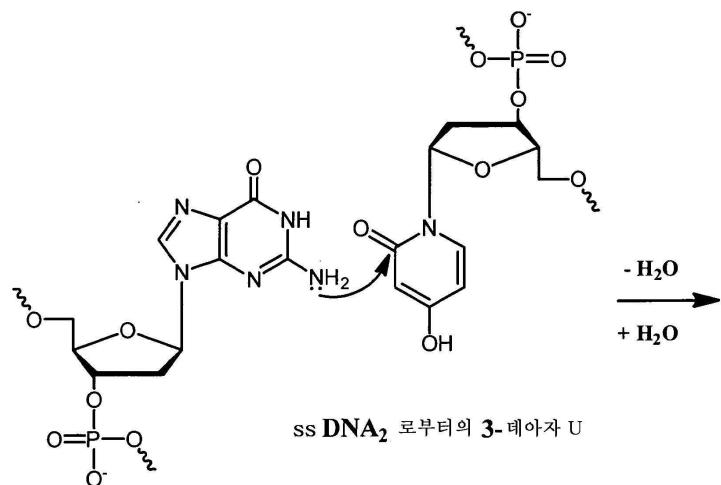
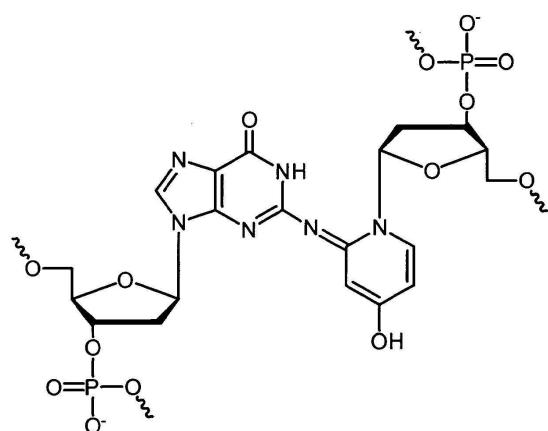
실질적으로 실시예 5에 개발되어 있는 절차를 사용하나 5'-(6-FAM)-VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2 대신 압타머 올리고뉴클레오티드에 연결된 VEGF 올리고뉴클레오티드 유사체 2 서열을 대체 사용함으로써, 정제 후, 리포좀의 표면상에 디스플레이된 포획 압타머와 함께 이중체 이중-가닥 VEGF DNA를 함유하는 리포좀이 신출된다.

#### 도면

##### 도면1



## 도면2

ss DNA<sub>1</sub><sup>o</sup>로부터의 G

이민을 통하여 가교됨 (가역적)