(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년06월16일
(11) 등록번호 10-1529318
(24) 등록일자 2015년06월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/32 (2006.01) *A61K 38/22* (2006.01)
A61K 9/22 (2006.01) *A61P 3/10* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7017728
(22) 출원일자(국제) 2006년12월19일
심사청구일자 2011년12월15일
(85) 번역문제출일자 2008년07월18일
(65) 공개번호 10-2008-0092923
(43) 공개일자 2008년10월16일
(86) 국제출원번호 PCT/US2006/062328
(87) 국제공개번호 WO 2007/076371
국제공개일자 2007년07월05일
(30) 우선권주장
60/813,629 2005년12월19일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2003072143 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
파마인 코포레이션
미국 워싱톤주 98122 시애틀 스윗 511 브로드웨이 720
(72) 발명자
카스틸로 제라도 엠.
미국 워싱톤주 98122 시애틀 스윗 511 브로드웨이 720
볼로틴 엘리자흐 엠.
미국 워싱톤주 98011 보텔 노스 이스트 102 애브뉴 14914
(74) 대리인
김진희

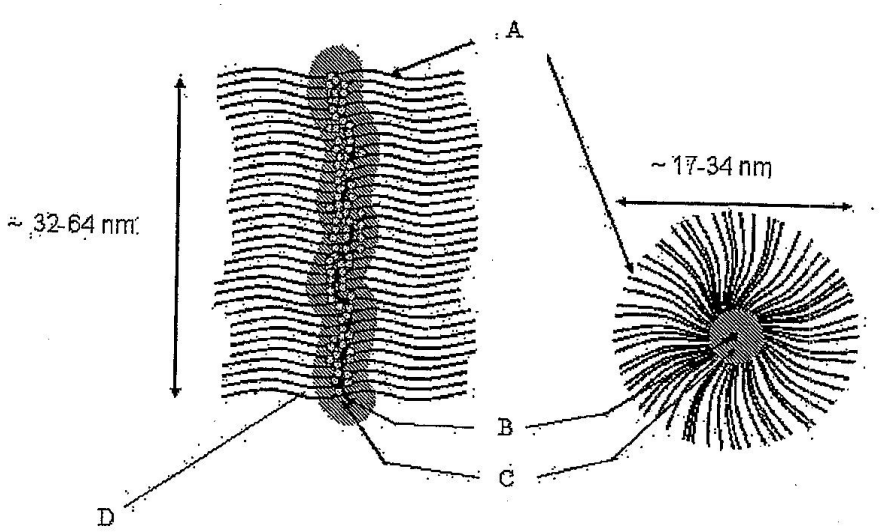
전체 청구항 수 : 총 74 항 심사관 : 김강필

(54) 발명의 명칭 **치료제를 전달하기 위한 소수성 코어 담체 조성물, 이조성물의 제조 방법 및 그 조성물의 이용 방법**

(57) 요 약

본 발명은 부분적으로, 담체, 및 중합체 담체에 공유 결합된 다수의 소수성 기를 포함하는 생체 적합성 소수성-코어 담체에 관한 것이다. 상기 소수성 기는 로딩 분자, 예를 들어 치료제와 해리 가능하도록 결합할 수 있다. 상기 소수성-코어 담체는 또한 보호 측쇄, 배향 분자 및 표적 분자도 포함할 수 있다.

대 표 도 - 도1



명 세 서

청구범위

청구항 1

(i) 폴리리신, 폴리아스파르트산, 폴리글루탐산, 폴리세린, 폴리트레오닌 및 폴리시스테인으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리아미노산인 중합체 담체;

(ii) 다수의 제1 소수성 기로서, 각각의 제1 소수성 기는 상기 중합체 담체에 공유 결합되어 현수되어 있고, 각각의 제1 소수성 기는 로딩 분자에 비공유 결합할 수 있으며, 각각의 제1 소수성 기는 탄소수 4~36의 알킬 기를 포함하고 상기 중합체 담체 분자량과는 무관하게 1,000 달톤 미만의 분자량을 갖는 것인 다수의 제1 소수성 기; 및

(iii) 다수의 제1 친수성 보호 측쇄로서, 각각의 제1 친수성 보호 측쇄는 상기 중합체 담체에 공유 결합되어 현수되어 있고, 각각의 제1 친수성 보호 측쇄는 폴리에틸렌 글리콜 또는 이의 메톡시 유도체를 포함하고 상기 중합체 담체 분자량과는 무관하게 400~20,000 달톤의 분자량을 갖는 것인 다수의 제1 친수성 보호 측쇄

를 포함하는 조성물로서, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드이고, 상기 친수성 보호 측쇄 대 상기 소수성 기의 중량비는 17:1보다 크며, 이로써 조성물이 수성 용매 중에 용해 가능한 것인 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 제1 친수성 보호 측쇄가 메톡시폴리에틸렌 글리콜인 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 6

삭제

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 글루카곤 유사 펩티드, 글루카곤 유사 펩티드 유도체, 엑세나티드, 글루카곤 유사 펩티드-1, 글루카곤 유사 펩티드-2, 렙틴 단편, 억제성 위 폴리펩티드(GIP), 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드, EGF, 전환 성장 인자 알파(TGF-알파), 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린, 콜레시스토키닌, 리소스타핀, 인터페론, 인터페론 감마, 인터페론 베타, 인터페론 알파, 인터루킨-1, 인터루킨-2, 인터루킨-4, 인터루킨-6, 인터루킨-8, 인터루킨-10, 인터루킨-12, 종양 괴사 인자, 종양 괴사 인자 알파, 종양 괴사 인자 베타, 오리스타틴, 니신, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자, 성장 호르몬, 신경 성장 인자, 뇌 유래의 향신경성 인자, 효소, 엔도스타틴, 안지오스타틴, 트롬보스폰딘, 유로키나제, 스트렙토키나제, 혈액 응고 인자 VII, 혈액 응고 인자 VIII, 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 혈소판 형성 인자, 칼시토닌, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 단편, 적혈구 형성 촉진 인자(erythropoietin), 심방 나트륨 이뇨성 인자, 모노클로날 항체, 모노클로날 항체 단편, 소마토스타틴, 아드레노코르티코트로핀, 고나도트로핀 방출 호르몬, 옥시토신, 황체 형성 호르몬 방출 호르몬, 여포 자극 호르몬, 글루코세레브로시다제, 혈소판 형성 인자, 필그라스팀, 사이클로스포린, 바소프레신, 터리프레신, 데스모프레신, 혈관활성 장 펩티드(VIP), 반코마이신, 폴리믹신 b 및 엔푸버타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 글루카곤 유사 펩티드, 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드, EGF, 전환 성장 인자 알파(TGF-알파), 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린, 콜레시스토키닌, 인터페론, 인자 VIII, 터리프레신, 억제성 위 폴리펩티드(GIP), 혈관활성 장 펩티드(VIP) 또는 니신인 조성물.

청구항 9

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 글루카곤 유사 펩티드-1인 조성물.

청구항 10

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드인 조성물.

청구항 11

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 상피 성장 인자(EGF)인 조성물.

청구항 12

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 전환 성장 인자 알파(TGF-알파)인 조성물.

청구항 13

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 베타셀룰린인 조성물.

청구항 14

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드인 조성물.

청구항 15

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 가스트린인 조성물.

청구항 16

제5항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 콜레시스토키닌인 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 결합 부분, 아미노기, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

제17항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서, 상기 친수성 보호 측쇄에 공유 결합된 표적 분자를 추가로 포함하고, 상기 표적 분자는 항체, 항체 단편, 키메라 항체, 렉틴, 수용체 리간드, 단백질, 효소, 펩티드, 사카라이드, 효소의 유사 기질, 세포 표면 결합 화합물 및 세포외 매트릭스 결합 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 21

삭제

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 23

제20항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 결합 부분, 아미노기, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 25

제1항에 있어서, 제2 친수성 보호 측쇄 및 다수의 제2 소수성 기를 추가로 포함하고,

상기 제2 소수성 기는 상기 중합체 담체에 공유 결합되는 제1 말단부 및 상기 제2 친수성 보호 측쇄에 공유 결합되는 제2 말단부를 가지고;

상기 제2 소수성 기는 상기 중합체 담체 및 친수성 보호 측쇄의 분자량과는 무관하게 1,000 달톤 미만의 분자량을 가지며;

상기 소수성 기에 공유 결합되는 제2 친수성 보호 측쇄는 상기 소수성 기 분자량과는 무관하게 400~20,000 달톤의 분자량을 갖는 것인 조성물.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 27

제25항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 결합 부분, 아미노기, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 29

제25항에 있어서, 상기 친수성 보호 측쇄에 공유 결합된 표적 분자를 추가로 포함하고, 상기 표적 분자는 항체, 항체 단편, 키메라 항체, 렉틴, 수용체 리간드, 단백질, 효소, 펩티드, 사카라이드, 효소의 유사 기질, 세포 표면 결합 화합물 및 세포외 매트릭스 결합 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 31

제29항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 결합 부분, 아미노기, 리신 및 아르기

닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 33

(i) 폴리리신, 폴리아스파르트산, 폴리글루탐산, 폴리세린, 폴리트레오닌 및 폴리시스테인으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리아미노산인 중합체 담체; 및

(ii) 공유 결합된 친수성 보호 측쇄를 갖는 다수의 제1 소수성 기로서, 상기 제1 소수성 기는 상기 중합체 담체에 공유 결합되는 제1 말단부 및 상기 친수성 보호 측쇄에 공유 결합되는 제2 말단부를 가지고;

상기 제1 소수성 기는 탄소수 4~36의 알킬 기를 포함하고 상기 중합체 담체 및 친수성 보호 측쇄의 분자량과는 무관하게 150~1,000 달톤의 분자량을 가지며;

상기 친수성 보호 측쇄는 폴리에틸렌 글리콜 또는 이의 메톡시 유도체를 포함하고 상기 중합체 담체 및 소수성 기의 분자량과는 무관하게 400~20,000 달톤의 분자량을 갖는 것인 다수의 제1 소수성 기

를 포함하는 조성물로서, 상기 친수성 보호 측쇄 대 상기 소수성 기의 중량비는 17:1보다 크며, 이로써 조성물이 수성 용매 중에 용해 가능한 것인 조성물.

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

제33항에 있어서, 상기 친수성 보호 측쇄가 메톡시폴리에틸렌 글리콜인 조성물.

청구항 37

제33항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 38

삭제

청구항 39

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 글루카곤 유사 펩티드, 글루카곤 유사 펩티드 유도체, 엑세나티드, 글루카곤 유사 펩티드-1, 글루카곤 유사 펩티드-2, 렙틴 단편, 억제성 위 폴리펩티드(GIP), 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드, EGF, 전환 성장 인자 알파(TGF-알파), 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린, 콜레시스토키닌, 리소스타핀, 인터페론, 인터페론 감마, 인터페론 베타, 인터페론 알파, 인터루킨-1, 인터루킨-2, 인터루킨-4, 인터루킨-6, 인터루킨-8, 인터루킨-10, 인터루킨-12, 종양 괴사 인자, 종양 괴사 인자 알파, 종양 괴사 인자 베타, 오리스타틴, 니신, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자, 성장 호르몬, 신경 성장 인자, 뇌 유래의 향신경성 인자, 효소, 엔도스타틴, 안지오스타틴, 트롬보스폰딘, 유로키나제, 스트렙토키나제, 혈액 응고 인자 VII, 혈액 응고 인자 VIII, 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 혈소판 형성 인자, 칼시토닌, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 단편, 적혈구 형성 촉진 인자, 심방 나트륨이뇨성 인자, 모노클로날 항체, 모노클로날 항체 단편, 소마토스타틴, 아드레노코르티코트로핀, 고나도트로핀 방출 호르몬, 옥시토신, 황체 형성 호르몬 방출 호르몬, 여포 자극 호르몬, 글루코세레브로시다제, 혈소판 형성 인자, 필그라스팀, 사이클로스포린, 바소프레신, 터리프레신, 데스모프레신, 혈관활성 장 펩티드(VIP), 반코마이신, 폴리믹신 b 및 엔푸버타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 40

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 글루카곤 유사 펩티드, 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드, EGF, 전환 성장 인자 알파(TGF-알파), 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린, 콜레시스토키닌, 인터페론, 인자 VIII, 터리프레신, 억제성 위 폴리펩티드(GIP), 혈관활성 장 펩티드(VIP) 또는 니신인 조성물.

청구항 41

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 글루카곤 유사 펩티드-1인 조성물.

청구항 42

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드인 조성물.

청구항 43

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 상피 성장 인자(EGF)인 조성물.

청구항 44

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 전환 성장 인자 알파(TGF-알파)인 조성물.

청구항 45

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 베타셀룰린인 조성물.

청구항 46

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드인 조성물.

청구항 47

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 가스트린인 조성물.

청구항 48

제37항에 있어서, 상기 폴리펩티드가 콜레시스토키닌인 조성물.

청구항 49

제33항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 킬레이트 부분, 아미노기, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 50

삭제

청구항 51

제49항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 52

제33항에 있어서, 상기 친수성 보호 측쇄에 공유 결합된 표적 분자를 추가로 포함하고, 상기 표적 분자는 항체, 항체 단편, 키메라 항체, 효소, 펩티드, 효소의 유사 기질, 렉틴, 수용체 및 렉틴의 사카라이드 리간드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 53

삭제

청구항 54

제52항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 55

제52항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 킬레이트 부분, 아미노기, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 57

제33항에 있어서, 다수의 제2 소수성 기를 추가로 포함하고, 상기 제2 소수성 기는 상기 중합체 담체에 공유 결합되며 상기 중합체 담체 분자량과는 무관하게 1,000 달톤 미만의 분자량을 갖는 것인 조성물.

청구항 58

제57항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 59

제57항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 킬레이트 부분, 아미노기, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 61

제57항에 있어서, 상기 친수성 보호 측쇄에 공유 결합된 표적 분자를 추가로 포함하고, 상기 표적 분자는 항체, 항체 단편, 키메라 항체, 렉틴, 수용체 리간드, 단백질, 효소, 펩티드, 사카라이드, 효소의 유사 기질, 세포 표면 결합 화합물 및 세포외 매트릭스 결합 화합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 63

제61항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 금속 킬레이트 부분, 아미노기, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 65

(i) 폴리리신, 폴리아스파르트산, 폴리글루탐산, 폴리세린, 폴리트레오닌 및 폴리시스테인으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리아미노산인 중합체 담체;

(ii) 로딩 분자에 결합할 수 있고 상기 중합체 담체에 공유 결합되는 다수의 소수성 기로서, 각각의 소수성 기는 탄소수 4~36의 알킬 기를 포함하고 상기 중합체 담체 분자량과는 무관하게 1,000 달톤 미만의 분자량을 가지며, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 다수의 소수성 기; 및

(iii) 다수의 친수성 보호 측쇄로서, 각각의 친수성 보호 측쇄는 폴리에틸렌 글리콜 또는 이의 메톡시 유도체를 포함하고 상기 중합체 담체 분자량과는 무관하게 400~20,000 달톤의 분자량을 가지며 상기 중합체 담체에 공유 결합되어 현수되어 있는 것인 친수성 보호 측쇄

를 포함하는 조성물로서, 상기 친수성 보호 측쇄 대 상기 소수성 기의 총 중량비는 17:1보다 크며, 이로써 조성물이 수성 용매 중에 용해 가능한 것인 조성물.

청구항 66

제65항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 67

삭제

청구항 68

제65항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 아미노기, 금속 결합 분자, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 69

삭제

청구항 70

제68항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 71

삭제

청구항 72

제65항에 있어서, 상기 중합체 담체 또는 상기 소수성 기에 공유 결합된 표적 분자를 추가로 포함하고, 상기 표적 분자는 항체, 항체 단편, 키메라 항체, 효소, 펩티드, 수용체, 효소의 유사 기질, 렉틴 및 렉틴의 사카라이드 리간드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 73

삭제

청구항 74

제72항에 있어서, 상기 소수성 기에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 75

삭제

청구항 76

제72항에 있어서, 상기 중합체 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하고, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 카복시산염, 아미노기, 금속 결합 분자, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 소수성 기 또는 상기 배향 분자에 해리 가능하도록 결합된 로딩 분자를 추가로 포함하고, 상기 로딩 분자는 폴리펩티드인 조성물.

청구항 78

삭제

청구항 79

제9항 내지 제16항 및 제41항 내지 제48항 중 어느 한 항에 따른 조성물로 이루어진 군으로부터 선택된 제1 조성물을 포함하는, 포유동물의 당뇨병을 치료하기 위한 약학 조성물.

청구항 80

제1 조성물 및 제2 조성물을 포함하는, 포유동물의 당뇨병을 치료하기 위한 약학 조성물로서, 상기 제1 조성물은 제9항의 조성물 또는 제41항의 조성물이고, 상기 제2 조성물은 제14항 내지 제16항 및 제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 따른 조성물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 약학 조성물.

청구항 81

제80항에 있어서, 제3 조성물로서 양성자 펌프 억제제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 82

제79항에 있어서, 제2 조성물로서 양성자 펌프 억제제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 83

제82항에 있어서, 상기 양성자 펌프 억제제가 오메프라졸인 약학 조성물.

청구항 84

제82항에 있어서, 제3 조성물로서 DPP4 억제제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 85

제79항에 있어서, 제2 조성물로서 DPP4 억제제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 86

제1 조성물 및 제2 조성물을 포함하는, 포유동물의 당뇨병을 치료하기 위한 약학 조성물로서, 상기 제2 조성물은 제14항 내지 제16항 및 제46항 내지 제48항 중 어느 한 항에 따른 조성물로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 제1 조성물은 제10항 내지 제13항 및 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항에 따른 조성물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 약학 조성물.

청구항 87

제86항에 있어서, 제3 조성물로서 양성자 펌프 억제제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 88

제87항에 있어서, 상기 양성자 펌프 억제제가 오메프라졸인 약학 조성물.

청구항 89

제1 조성물 및 제2 조성물을 포함하는, 포유동물의 당뇨병을 치료하기 위한 약학 조성물로서, 상기 제1 조성물은 제10항 내지 제13항 및 제42항 내지 제45항 중 어느 한 항에 따른 조성물로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 제2 조성물은 양성자 펌프 억제제인 약학 조성물.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 양성자 펌프 억제제가 오메프라졸인 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] ***관련 출원에 대한 정보***

[0002] 본 출원은, 35 U.S.C 섹션 119(e)하에서, 2005년 12월 19일 출원된 미국 특허 출원 제11/311,895호의 변형예인 미국 가 명세서 출원 제60/813,629호에 대한 우선권의 이익을 주장하는 출원이다.

[0003] ***정부 허가권***

[0004] 본원에 개시된 연구는 NIDDK(National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases)에 의해 수여된 정부 지원(5 R43 DK069727-01)에 의해서 완성된 것이다. 미국 정부는 본원에 제공된 발명에 대해 임의의 권리를 가질 수 있다.

[0005] 본 발명은 치료제를 전달하기 위한 소수성 코어 담체 조성물, 이 조성물의 제조 방법 및 그 조성물의 이용 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0006] 원하는 생리적 효과를 얻기 위한 필요에 의해서, 신규 약물, 제형 및 생리적으로 활성인 펩티드, 단백질, 유기 약물, 기타 치료제와 물질을 투여하기 위한 기타 시스템이 개발되고 있다. 펩티드 및 단백질과 관련해서는, 이것들 중 다수의 것들이 위장관 내에서 불안정한 것으로 밝혀졌는데, 이로 인해서 전신 순환시에도 안정화, 보호 또는 전달될 필요가 있을 수 있다. 뿐만 아니라, 분자 질량이 작은 펩티드와 단백질은 전신 순환시 신장에 의해 제거되기 쉬우므로, 생물학적 반감기가 짧은 특징이 있다. 예를 들어, 이와 같은 펩티드 및 단백질 중 일부는 단핵구/대식세포에 의하여 인지되어 세망 내피계에 의해 흡수되거나, 보체 성분에 의한 옵소닌화를 통하여 제거될 수도 있다. 다수의 펩티드 및 단백질들은 또한 단백 분해(펩티드 결합 분해)에 의해 생체 내에서 활성을 잃을 수도 있다.

[0007] 이와 같이 원하지 않는 현상들을 극복하기 위한 방법의 일환으로서, 약물 전달 시스템이 사용될 수 있는 것이다. 생체 내에는 펩티드 및 단백질 전달에 유용할 수 있는 몇 가지 약물 전달 기법이 존재한다. 첫 번째, 펌프를 통한 약물의 연속적 전신 주입법이 사용될 수 있다. 이 기법은 의료 분야에서는 효과적인 것으로 입증되었으나, 많이 움직여야 하는 외래 환자들에게는 비실용적일 수 있고, 또한 이와 관련하여 삶의 질도 떨어뜨릴 수 있을 뿐만 아니라, 정맥 내(I.V.) 혈관 감염을 초래할 가능성도 있다.

[0008] 두 번째, 펩티드와 단백질은 예를 들어, 원하는 방출 속도로 약물을 확산시킬 수 있는, 캡슐과 막으로 이루어진 주입 가능한 펌프 안에 포함될 수 있다. 그러나, 상기 캡슐의 용적은 제한적이므로, 펩티드와 단백질은 종종 농축된 제형으로서 사용되어야 하는데, 이로 인하여, 비활성(specific activity)이 손실될 수 있을 뿐만 아니라, 응집되어 가용성이 떨어질 수도 있다. 대부분의 경우, 약물은 일반적으로 세포 외 공간에 방출되어 림프액에 분포하게 된다. 펩티드 또는 단백질의 전체 농도는 국소 림프 소절의 작용과 주입 위치에서의 림프 소절 배액 효율에 의해 영향받을 수 있다. 또한, 캡슐 재료에 대해 숙주가 반응을 일으킬 가능성도 있지만, 일반적으로 이와 같은 부작용은 그다지 자주 일어나는 일은 아니다.

[0009] 세 번째, 약물 방출 시스템은 분해성 약물 전달 비이클 또는 담체 예를 들어, 중합체 매트릭스, 입자 또는 막성 비이클(리포좀)을 이용하여 캡슐로 만들어지거나 여기에 집어넣음으로 인해 생체 내 분해될 수 있도록 만들 수 있다. 이와 같은 전달 시스템은 일반적으로 주입 가능한 것이거나 주사 가능한 것이다. 주입 가능한 약물 전달 시스템은 종종 표피 즉, 시스템 성분이 일반적으로 주위에 있는 세포들의 생물학적 작용[즉, 이러한 주입물들을

함께 결합시키는 화학 결합을 분해하는 효소의 방출로 인한 작용]으로 인해 천천히 분해되는 위치에 주입된다.

[0010] 본원에 참고용으로 인용되어 있는 미국 특허 제5,871,710호(Bogdanov외 다수)에는, 진단용 생체 혼화성(biocompatible) 그라프트 공 중합체 부산물 예를 들어, 중합체 담체, 이 중합체 담체에 결합된 보호 사슬, 이 담체 또는 담체와 보호 사슬에 결합된 리포터 기, 그리고 가역적으로 결합된 Pt(II) 화합물에 관하여 개시되어 있다. 그러나 보그다노프(Bogdanov)외 다수의 특허에는 다양한 치료제를 전달하고 방출 속도를 조절하는 수단을 가지는, 치료제 전달 조성물에 대해서는 개시되어 있지 않다. 본원에 참고용으로 인용되어 있는 미국 특허 제7,138,105호(Bolotin)에는, 2개의 금속 결합 분자가 측접하여 존재하고 있는 금속 가교로 이루어진 생체 혼화성 그라프트 공 중합체에 관하여 개시되어 있는데, 여기서, 상기 금속 결합 분자 중 하나는 치료제의 일부이거나 치료제에 공유 결합되어 있다. 상기 가교는 금속과 결합할 수 있는 치료제 및 담체 사이를 연결시켜 준다.

[0011] 다양한 치료제를 전달할 수 있고, 방출 속도를 쉽게 조절할 수 있는, 지속 방출형(sustained released) 치료제 전달 시스템은 여전히 필요하다. 본 출원은 치료제와 가역적으로 결합할 수 있는 소수성 코어를 포함하는 생체 혼화성 조성물에 관하여 개시되어 있는데, 여기서, 상기 코어의 소수성 정도는 가역적으로 결합된 치료제의 방출 속도를 조정하도록 변경될 수 있다.

발명의 상세한 설명

[0012] ***발명의 개요***

[0013] 본 발명의 제1 목적은, 안전하고, 생체 혼화성이며, 공지의 화학 물질 및 화합물로 용이하게 제조할 수 있을 뿐만 아니라, 다양한 치료제에도 사용될 수 있는, 지속 방출형 치료제 전달 시스템을 제공하는 것으로서, 이 시스템의 약물 방출 속도는 전달 시스템의 물리적 특징을 변경시키는 간단한 기작에 의해 용이하게 조정할 수 있다.

[0014] 본 발명의 제2 목적은, 치료제의 전달을 필요로 하는 위치에 치료제를 효과적으로 전달하기 위한 표적 부분(targeting moiety)을 포함하는 지속 방출 전달 시스템을 제공하는 것이다.

[0015] 본 발명의 제3 목적은, 치료제의 전달을 필요로 하는 환자에게 안전하고 효과적이며 이를 위해서 용이하게 조정 가능한 방출 속도 및 조절된 방식으로 치료제를 전달함으로써 질환을 치료하는 방법을 제공하는 것이다.

[0016] 본 발명의 제4 목적은, 약물 전달을 위하여, 가용성이 거의 없는 분자를 용해하는 방법을 제공하는 것이다.

[0017] 본 발명은 본 발명의 담체 시스템과 치료제 사이의 소수성 상호 작용을 용이하게 조정하면, 치료제(더 넓은 의미에서 "로딩 분자(load molecule)")의 방출을 조절할 수 있다는 것으로부터 착안한 것이다. 담지 용량(loading capacity)이 크고 담체의 소수성을 조절함으로써 방출 속도를 조정할 수 있는, 안전하고 비 면역원성인 담체가 제조될 수 있다.

[0018] 부분적으로, 본 발명은 신규의 약물 전달 시스템 또는 조영제, 그리고 이것들을 제조 및 사용하는 방법에 관한 것이기도 하다.

[0019] 본 발명은 주로, 담체에 공유 결합되어 있는 소수성 기와, 소수성 상호 작용에 의해 이 소수성 기에 결합된 목적 활성 제제(로딩 분자)를 포함하는, 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이다.

[0020] 하나의 구체예에서, 본 발명은 다음과 같은 성분들을 포함하는 생체 혼화성인 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이다: (i) 주쇄를 포함하는 중합체 담체, 즉, 폴리리신, 폴리아스파르트산, 폴리글루탐산, 폴리세린, 폴리트레오닌, 폴리시스테인, 폴리글리세롤, 폴리에틸렌이민, 천연 사카라이드, 아미노화 폴리사카라이드, 아미노화 올리고사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리아크릴산, 폴리알콜, 설폰화 폴리사카라이드, 설폰화 올리고사카라이드, 카복시화 폴리사카라이드, 카복시화 올리고사카라이드, 아미노카복시화 폴리사카라이드, 아미노카복시화 올리고사카라이드, 카복시메틸화 폴리사카라이드 또는 카복시메틸화 올리고사카라이드; 및 (ii) 로딩 분자와 결합할 수 있으며, 중합체 담체와 공유 결합된 다수의 소수성 기로서, 각각의 분자량은 담체의 분자량과는 독립적으로 1,000 달톤 미만이고, 선형 알킬, 분지형 알킬, 페닐, 나프틸, 콜레스테롤, 비타민 D 및/또는 비타민 E인 것인 소수성 기.

[0021] 다른 구체예에서, 본 발명은 다음과 같은 성분들을 포함하는 생체 혼화성인 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이다: (i) 주쇄를 포함하는 담체; (ii) 로딩 분자와 결합할 수 있는 다수의 소수성 기로서, 담체에 각각 공유 결합되어 있으며, 각각의 분자량은 중합체 담체의 분자량과는 독립적으로 약 1,000 달톤 미만인 소수성 기; 그리고 (iii) 중합체인 다수의 보호 측쇄로서, 담체에 각각 공유 결합되어 있으며, 각각의 분자량은 담체 분자량과는 독립적으로 약 400~20,000 달톤인 보호 측쇄. 추가의 구체예에서, 전술한 조성물은 보호 측쇄와 공유 결

합되어 있는 소수성 기의 제2 세트를 추가로 포함하는데, 여기서, 상기 소수성 기는 제1 말단부 및 제2 말단부를 가지며, 상기 제1 말단부는 담체와 공유 결합되어 있고, 상기 제2 말단부는 보호 측쇄와 공유 결합되어 있으며; 상기 제2 세트의 소수성 기의 분자량은 담체 및 보호 측쇄 분자량과는 독립적으로, 1,000 달톤 미만이며; 상기 소수성 기에 결합되어 있는 보호 측쇄의 분자량은 소수성 기의 분자량과는 독립적으로 400~20,000 달톤이다.

[0022] 다른 구체예에서, 본 발명은 다음과 같은 성분들을 포함하는, 생체 혼화성인 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이다: (i) 주쇄를 포함하는 담체; (ii) 로딩 분자와 결합할 수 있는 다수의 소수성 기로서, 담체에 각각 공유 결합되어 있으며, 각각의 분자량은 주쇄의 분자량과는 독립적으로 약 1,000 달톤 미만인 소수성 기; 그리고 (iii) 보호 측쇄에 공유 결합되어 있는 다수의 소수성 기의 제2 세트로서, 여기서, 상기 소수성 기는 제1 말단부 및 제2 말단부를 가지며, 상기 제1 말단부는 담체와 공유 결합되어 있고, 상기 제2 말단부는 보호 측쇄와 공유 결합되어 있으며; 상기 소수성 기의 분자량은 담체 및 보호 측쇄의 분자량과는 독립적으로 1,000 달톤 미만이고; 상기 소수성 기에 결합된 보호 측쇄의 분자량은 소수성 기의 분자량과는 독립적으로, 400~20,000 달톤인 제2 소수성 기 세트.

[0023] 다른 구체예에서, 본 발명은 다음의 성분들을 포함하는, 생체 혼화성인 소수 성-코어 담체 조성물에 관한 것이다: (i) 주쇄를 포함하는 담체; (ii) 보호 측쇄에 공유 결합되어 있는 다수의 소수성 기로서, 상기 소수성 기는 제1 말단부 및 제2 말단부를 가지며; 상기 제1 말단부는 담체와 공유 결합되어 있고, 상기 제2 말단부는 보호 측쇄와 공유 결합되어 있으며; 이 소수성 기의 분자량은 담체 및 보호 측쇄의 분자량과는 독립적으로 150~1000 달톤이고; 상기 보호 측쇄의 분자량은 담체 및 소수성 기의 분자량과는 독립적으로 약 400~20,000 달톤인 기.

[0024] 추가의 구체예에서, 본 발명은 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 소수성 기가 알킬기를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 알킬기는 분지형 알킬기를 포함한다. 추가의 구체예에서, 알킬기는 이중 결합을 포함한다. 추가의 구체예에서, 알킬기는 에틸기 또는 프로필기를 포함한다. 추가의 구체예에서, 알킬기는 부틸, 펜틸 또는 헥실 기이다. 추가의 구체예에서, 알킬기는 $CH_3(CH_2)_nCH_2$-, $CH_3(CH_2)_nCH_2NH$-, $CH_3(CH_2)_nCO$-, $CH_3(CH_2)_nCH_2O$-, $CH_3(CH_2)_nCH_2S$-, $-OC(CH_2)_nCH_2$-, $-OC(CH_2)_nCH_2NH$-, $-OC(CH_2)_nCO$-, $-OC(CH_2)_nCH_2O$-, $-OC(CH_2)_nCH_2S$-, $-HNC(CH_2)_nCH_2$-, $-HNC(CH_2)_nCH_2NH$-, $-HNC(CH_2)_nCO$-, $-HNC(CH_2)_nCH_2O$-, $-HNC(CH_2)_nCH_2S$-, $-OCH_2(CH_2)_nCH_2$-, $-OCH_2(CH_2)_nCH_2NH$-, $-OCH_2(CH_2)_nCO$-, $-OCH_2(CH_2)_nCH_2O$- 또는 $-OCH_2(CH_2)_nCH_2S$- 기[식 중, "n"은 4~34임]를 포함한다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 소수성 사슬이 보호 측쇄에 공유 결합된 전술한 조성물에 관한 것으로서, 여기서, 상기 보호 측쇄가 공유 결합된 소수성 사슬은 $-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nOC-A-OR_3$, $-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$, $-CH_2OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$, $-CH_2OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$, $-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$, $-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$, $-CH_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$, $-CH_2COOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$, $-CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$, $-CH_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$, $-(CH_2)_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$, $-(CH_2)_2COOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$, $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$, $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$, $-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nCO-A-OR_3$ 및 $-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$ [식 중, n은 2~22이고; y는 2~6이며; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$ [식 중, p는 0~7임]이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ [식 중, x는 17~250임] 또는 $[OCH_2CH_2]$와 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 유닛)임]로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 다른 구체예에서, 소수성 기는 방향족 고리 화합물을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 방향족 고리는 페닐이다. 추가의 구체예에서, 상기 방향족 고리는 나프틸이다. 추가의 구체예에서, 상기 방향족 고리 화합물은 콜레스테롤이다. 추가의 구체예에서, 상기 방향족 고리 화합물은 플루오레신이며, 이 플루오레신 내의 카복실기는 배향 분자(orienting molecule)로서 작용할 것이다.

[0025] 다른 구체예에서, 본 발명은 보호 사슬을 가지는 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 상기 보호 측쇄로서는 폴리에틸렌글리콜, 폴리프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜과 폴리프로필렌글리콜의 공중합체, 메톡시폴리에틸렌글리콜, 메톡시폴리프로필렌글리콜, 또는 메톡시폴리에틸렌글리콜과 메톡시폴리프로필렌글리콜의 공중합체로 이루어진 군으로부터 선택되는 임의의 것을 포함한다. 추가의 구체예에서, 보호 측쇄는 폴리에틸렌글리콜과, 폴리아미노산, 폴리사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리에틸렌아민 또는 폴리뉴클레오티드로 이루어진 군 중 하나의 블록 공중합체를 포함한다. 추가의 구체예에서, 보호 측쇄는 디카복시산의 모노에스테르를 포함하는, 폴리에틸렌글리콜의 공중합체를 포함한다. 추가의 구체예에서, 보호 측쇄는 시알산 사슬을 포함한다. 추가의 구체예에서, 보호 측쇄의 분자량은 500~20,000 달톤이다. 추가의 구체에에서, 보호 측쇄로서는 모노에스테르화된

유도체, 바람직하게는 메톡시폴리에틸렌글리콜-에스테르, 메톡시폴리프로필렌글리콜-에스테르, 또는 메톡시폴리에틸렌글리콜과 메톡시폴리프로필렌글리콜-에스테르의 공중합체를 포함한다. 추가의 구체예에서, 보호 측쇄는 다음의 것들 중 임의의 것을 포함한다: 폴리에틸렌글리콜 모노아민, 메톡시폴리에틸렌글리콜 모노아민, 폴리프로필렌글리콜 모노아민, 메톡시폴리프로필렌글리콜 모노아민, 폴리에틸렌글리콜 히드라진, 메톡시폴리에틸렌글리콜 히드라진, 폴리프로필렌글리콜 히드라진, 메톡시폴리프로필렌글리콜 히드라진, 폴리에틸렌글리콜 이미다졸리드, 메톡시폴리에틸렌글리콜 이미다졸리드, 폴리프로필렌글리콜 이미다졸리드, 메톡시폴리프로필렌글리콜 이미다졸리드, 폴리에틸렌글리콜 이염기산, 메톡시폴리에틸렌글리콜 이염기산, 폴리프로필렌글리콜 이염기산, 메톡시폴리프로필렌글리콜 이염기산[여기서, 말단 아민, 히드라진, 이미다졸리드 또는 산은 담체, 소수성 기 또는 표적 분자와 결합하는데 사용됨]. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(에틸렌 글리콜)과, 폴리아미노산, 폴리-락티드글리콜리드 공중합체, 폴리사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리에틸렌이민 또는 폴리뉴클레오티드로 대표되는 하나 이상의 중합체의 메톡시 폴리(에틸렌글리콜) 이미다졸리드 블록 공중합체를 포함하는데("중합체 담체" 참조), 여기서, 상기 블록은 바람직한 선형 블록 공중합체를 제공하도록 번갈아 존재하는 것이 바람직하다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 바람직하게는 단일 결합에 의해 담체 또는 소수성 기에 결합된다.

[0026] 다른 구체예에서, 본 발명은 보호 사슬 및 담체를 포함하는 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 여기서, 상기 담체는 고형 지지체, 나노입자 및 미립자로 이루어진 군으로부터 선택되는 것 중 임의의 하나를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 담체는 블록 공중합체를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 담체는 중합체 담체를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 폴리아미노산, 폴리에틸렌이민, 천연 사카라이드, 아미노화 폴리사카라이드, 아미노화 올리고사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리아크릴산, 폴리알콜, 설폰화 폴리사카라이드, 설폰화 올리고사카라이드, 카복시화 폴리사카라이드, 카복시화 올리고사카라이드, 아미노카복시화 폴리사카라이드, 아미노카복시화 올리고사카라이드, 카복시메틸화 폴리사카라이드 및 카복시메틸화 올리고사카라이드으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 추가의 구체예에서, 중합체 담체는 2~560개의 아미노산 단위를 가지는 폴리아미노산이다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 분자량 1,000~100,000 달톤인 폴리아미노산이다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 하나의 종류의 아미노산으로 이루어진 폴리아미노산이다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 2개 이상의 상이한 종류의 아미노산으로 이루어진 폴리아미노산이다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 폴리아미노산으로서, 이 폴리아미노산은 블록 공중합체이다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 폴리아미노산이고, 이 폴리아미노산은 절단 가능한 결합에 의해 결합된 폴리아미노산 단편들을 포함한다. 추가의 구체예에서, 절단 가능한 결합은 S-S 결합이다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 폴리-L-리신, 폴리-D-리신, 폴리-알파, 베타-(2-아미노에틸)-D,L-아스파타미드, 폴리-L-아스파르트산, 폴리-D-아스파르트산, 폴리-L-글루탐산, 폴리-D-글루탐산, 폴리-L-세린, 폴리-D-세린, 폴리-L-트레오닌, 폴리-D-트레오닌, 폴리-L-티로신 또는 폴리-D-티로신으로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리아미노산이다. 추가의 구체예에서, 상기 중합체 담체는 폴리아미노산이고, 이 폴리아미노산은 비-단백질성이다.

[0027] 다른 구체예에서, 본 발명은 보호 사슬, 소수성 기 또는 담체에 공유 결합된 표적 분자를 추가로 포함하는, 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 표적 분자를 포함하는 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 여기서, 상기 표적 분자는 항체, 항체 단편, 키메라 항체, 효소, 효소의 유사기질(quasi substrate), 렉틴, 사카라이드 리간드, 펩티드, 단백질, 수용체 리간드, 세포 표면 결합 단백질, 세포 표면 결합 펩티드, 세포 표면 결합 화합물, 세포 외 매트릭스 결합 펩티드, 세포 외 매트릭스 결합 단백질, 세포 외 매트릭스 결합 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0028] 다른 구체예에서, 본 발명은 담체에 공유 결합된 배향 분자를 추가로 포함하는, 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 배향 분자를 포함하는 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 여기서, 상기 배향 분자는 펩티드, 황산염부, 설폰산염부, 인산염부, 포스폰산염부, 비스포스폰산염부, 카복실부, 아미노부, 리신 및 아르기닌 중 임의의 것을 포함한다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 배향 분자를 포함하는, 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 여기서, 상기 배향 분자는 중합체 주쇄와 로딩 분자 사이에 가교를 형성할 수 있는 금속 이온을 포함한다.

[0029] 다른 구체예에서, 본 발명은 로딩 분자를 추가로 포함하는, 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 전술한 조성물 중 임의의 것과 가역적으로 결합할 수 있는 임의의 분자이다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 소수성 기, 표적 분자, 배향 분자 및/또는 보호 측쇄에 이탈 가능하도록 결합된 로딩 분자를 임의로 조합하여 추가로 포함하는, 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 로딩 분자는 조영제이다. 추가의 구체예에서, 상기 로딩 분자는 치료제이다. 추가의 구체예에서, 상기 치료제는 시토킨, 림포카인, 호르몬, 호르몬 작동제, 호르몬 길항제, 항생제, 진통제, 독소, 광-독소(photo-toxin), 세포 활

동 억제제, 세포 독성 제제, 향 정신병 제제, 스테로이드 소염제, 비 스테로이드 소염제, 면역 억제제, 항 박테리아 제제, 항바이러스 약물, 항진균성 약물, 킬레이트화제, 비타민, 단백분해효소 억제제, 구충제, 아미노글리코시드, 폴리믹신, ACE 억제제, 펩티드, 단백질, 항체, 항체 단편, 재조합 펩티드, 식물로부터 분리된 펩티드, 진균으로부터 분리된 펩티드, 동물로부터 분리된 펩티드, 박테리아로부터 분리된 펩티드, 바이러스로부터 분리된 펩티드, 배양액 중 세포로부터 분리된 펩티드, 합성 펩티드, 펩티도 모의체 화합물, 유기 화합물, 합성 유기 화합물, 식물로부터 분리된 유기 화합물, 진균으로부터 분리된 유기 화합물, 동물로부터 분리된 유기 화합물, 박테리아로부터 분리된 유기 화합물, 바이러스로부터 분리된 유기 화합물, 배양액 중 세포로부터 분리된 유기 화합물, 유기 금속 화합물, 데옥시리보핵산, 리보핵산, 올리고뉴클레오티드, 핵산 유도체, 올리고사카라이드, 탄수화물; 지질; 광-감작 유기 화합물 및 프로테오글리칸이다.

[0030] 다른 구체예에서, 본 발명은 로딩 분자를 포함하는 전술한 조성물 중 임의의 것에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 글루카곤 유사 펩티드, 글루카곤 유사 펩티드 유도체, 엑세나티드, 글루카곤 유사 펩티드-1, 글루카곤 유사 펩티드-2, 렙틴 단편, 억제성 위 폴리펩티드(GIP), 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드, EGF, 전환 성장 인자 알파(TGF-알파), 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린, 콜레시스토키닌, 리소스타핀, 인터페론, 인터페론 감마, 인터페론 베타, 인터페론 알파, 인터루킨-1, 인터루킨-2, 인터루킨-4, 인터루킨-6, 인터루킨-8, 인터루킨-10, 인터루킨-12, 종양 괴사 인자, 종양 괴사 인자 알파, 종양 괴사 인자 베타, 오리스타틴, 니신, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자, 성장 호르몬, 성장 호르몬 방출 호르몬(GHRH), 신경 성장 인자, 뇌 유래의 향신경성 인자, 효소, 엔도스타틴, 안지오스타틴, 트롬보스폰딘, 유로키나제, 스트렙토키나제, 혈액 응고 인자 VII, 혈액 응고 인자 VIII, 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 혈소판 형성 인자, 칼시토닌, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 단편, 적혈구 형성 촉진 인자(erythropoietin), 심방 나트륨 이뇨성 인자, 모노클로날 항체, 모노클로날 항체 단편, 소마토스타틴, 단백분해효소 억제제, 아드레노코르티코트로핀, 고나도트로핀 방출 호르몬, 옥시토신, 황체 형성 호르몬 방출 호르몬, 여포 자극 호르몬, 글루코세레브로시다제, 혈소판 형성 인자, 필그라스팀, 프로스타글란딘, 에포프로스테놀, 프로스타사이클린, 사이클로스포린, 바소프레신, 터리프레신, 데스모프레신, 크로몰린 나트륨(나트륨 또는 이나트륨 크로모글리케이트), 혈관활성 장 펩티드(VIP), 반코마이신, 항미생물제, 폴리믹신 b, 항진균제, 항바이러스제, 엔푸버타이드, 독소루비신, 에토포시드, 펜타닐, 케타민 및 비타민으로 이루어진 군으로부터 선택되는 치료제이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 글루카곤 유사 펩티드-1이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 글루카곤 유사 펩티드-2이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 리소스타핀이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 인터페론이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 인터페론 알파이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 인터페론 베타이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 인터페론 감마이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 니신이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 EGF이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 전환 성장 인자 알파(TGF-알파)이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 베타셀룰린이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 가스트린이다. 추가의 구체예에서, 치료제는 콜레시스토키닌이다.

[0031] 다른 구체예에서, 본 발명은, (i) 전술한 로딩 분자를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계로서, 상기 로딩 분자는 GLP-1, EGF 수용체 리간드, EGF, TGF-알파, 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린 또는 콜레시스토키닌인 것인 단계와, 임의로는, (ii) 치료학적 유효량의 양성자 펌프 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양성자 펌프 억제제는 오메프라졸이다.

[0032] 다른 구체예에서, 본 발명은, (i) 전술한 로딩 분자(GLP-1)를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계, (ii) 전술한 로딩 분자를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계로서, 상기 로딩 분자는 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린 또는 콜레시스토키닌인 것인 단계와, 임의로는 (iii) 치료학적 유효량의 양성자 펌프 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양성자 펌프 억제제는 오메프라졸이다.

[0033] 다른 구체예에서, 본 발명은, (i) 전술한 로딩 분자를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계로서, 상기 로딩 분자는 EGF 수용체 리간드, EGF, TGF-알파 또는 베타셀룰린인 것인 단계, (ii) 전술한 로딩 분자를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계로서, 상기 로딩 분자는 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린 또는 콜레시스토키닌인 것인 단계와, 임의로는 (iii) 치료학적 유효량의 양성자 펌프 억제제를 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하

는 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양성자 펌프 억제제는 오메프라졸이다.

[0034] 다른 구체예에서, 본 발명은 전술한 소수성-코어 담체 조성물의 투여를 필요로 하는 환자에게 이 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 감염 환자의 치료 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 리소스타핀이다.

[0035] 본 발명의 상기와 같은 구체예와, 기타 구체예, 그리고 이것들의 장점 및 특징에 관하여는 이하 발명의 상세한 설명, 도면 및 청구의 범위를 통하여 명백해질 것이다.

[0036] ***도면의 간단한 설명***

[0037] 도 1은 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 하나의 구체예를 개략적으로 도시한 것이다: A = 보호 측쇄; B = 중합체 코어(흑색); C = 소수성 사슬(회색); 및 D = 담체에 보다 가까운 기저부에 존재하는 보호 측쇄들 사이의 공간으로서, 360도 돌아가면서 간격 9㎚ 이상으로 분포되어 있으며, 도시된 코어의 중합체 잔기 6개당 1개의 보호 측쇄가 존재한다. 작은 동그라미들은 로딩 분자를 나타내는 것이다. 예를 들어, 수화 알부민(지름 = 7.2㎚); 수화 성장 호르몬(지름 = 3㎚); 사구체 여과물 = 4㎚ 미만; 베타-2 매크로글로불린(지름 = 3.2㎚); 미오글로빈(지름 = 3.9㎚); 헤모글로빈(지름 = 6.5㎚); 감마 글로불린(지름 = 11.1㎚); 및 벤스-존스 단백질(지름 = 5.5㎚).

[0038] 도 2는 본 발명의 조성물을 제조하기에 유용한 아미드 결합을 형성하는 다양한 화학 반응을 도시한 것으로서; 여기서, R_1은 알킬-카복실 또는 방향족-카복실일 수 있고, R_2는 폴리리신 또는 폴리리신-PEG일 수 있거나; 또는 R_1은 PEG-카복실일 수 있고, R_2는 폴리리신, 알킬-폴리리신 또는 방향족-폴리리신일 수 있거나; 또는 R_1은 폴리글루타메이트 또는 폴리아스파르테이트일 수 있으며, R_2는 PEG-아민, 알킬-아민 또는 방향족-아민일 수 있거나; 또는 R_1은 폴리글루타메이트-PEG 또는 폴리아스파르테이트-PEG일 수 있으며, R_2는 알킬-아민 또는 방향족-아민일 수 있다. EDC는 DCC의 수용성 형태의 것이며; 상기 EDC 및 DCC는 둘 다 반응을 수행하는데 사용될 수 있다.

[0039] 도 3은 본 발명의 조성물을 합성하는 것에 관한 반응식을 도시한 것이다.

[0040] 도 4는 PEG 보호기, 이의 유사체 또는 유도체를 아미노기 함유 담체에 부가하는데 사용될 수 있는 화학 반응의 몇몇 예들을 도시한 것이다.

[0041] 도 5는 알데히드 PEG 유도체를 아미노기 함유 담체에 부가하는데 사용될 수 있는 화학 반응의 몇몇 예를 도시한 것이다. 이 반응은 2 단계 축합-환원 반응이다(a 및 b).

[0042] 도 6은 PEG의 보호기, 이의 유사체 또는 유도체를 히드록실 함유 담체에 부가하는데 사용될 수 있는 화학 반응의 몇몇 예를 도시한 것이다.

[0043] 도 7은 소수성 알킬기를 하이드록실 함유 담체에 부가하는데 사용될 수 있는 화학 반응의 몇몇 예를 도시한 것이다.

[0044] 도 8은 방향족 소수성 기를 하이드록실 함유 담체에 부가하는데 사용될 수 있는 화학 반응의 몇몇 예를 도시한 것이다.

[0045] 도 9는 엡실론 아미노기 일부와 다양한 농도의 MPEG를 반응시킨 후, 생성물 1㎎당 폴리리신(PL) 내에 존재하는 유리 엡실론 아미노기의 양을 그래프로 나타낸 것이다. y축은 생성물(PLPEG) 1㎎ 당 유리 엡실론기의 양을 나타내는 것이고, x축은 반응전 반응물(PEG 및 PL)의 비율을 나타내는 것이다.

[0046] 도 10은 PLPEG-III-C12 및 PLPEG-III을 항온 처리한 후 유리 GLP-1을 HPLC로 추적한 결과를 나타내는 것으로서; A는 PBS 0.5㎖ 중 총 GLP-1의 양이 180㎍인 경우를 나타내는 것이다. 이는 100kDa의 필터를 통과한 GLP-1이 50㎕ 주사되었음을 의미한다. 담체와 결합하는데 유용한 GLP-1의 총량은 144㎍이다. B는 450㎍의 PLPEG 담체와 결합하지 않았던 GLP-1을 50㎕ 주사한 경우를 나타내는 것이다. 비 결합 GLP-1은 100kDa 필터를 통과하였다. 결합하지 않았던 GLP-1의 총량은 55㎍이다. C12를 포함하지 않는 PLPEG의 총 용량은 89㎍ 또는 그 분자량의 20%에 해당한다. C는 450㎍의 C12-PLPEG 담체에 결합하지 않았던 GLP-1을 50㎕ 주사한 경우를 나타내는 것이다. 비 결합 GLP-1은 100kDa 필터를 통과할 것이다. 결합하지 않았던 GLP-1의 총량은 0㎍이다. 450㎍ C12-PLPEG의 총 용량은 144㎍ 이상이다(모두 사용 가능함). 추적 결과들을 통하여, 소수성-코어 담체 내에 소수성 부분이 존재하면 로딩 분자(이 경우에는 GLP-1)와 담체의 결합이 촉진됨을 알 수 있다.

[0047] 도 11은 담체와 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(B) 및 포함하지 않는 것(A)인, 본 발명의 소수

성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 도시한 것이다.

[0048] 도 12는 담체, 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(B) 및 포함하지 않는 것(A)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0049] 도 13은 담체, 보호 사슬 및 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(B) 및 포함하지 않는 것(A)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것으로서, 여기서, 상기 소수성 기는 보호기와는 독립적으로 담체에 결합되어 있다. 본 조성물의 코어에 존재하는 소수성 부분의 밀도는, 담체 상에 존재하는 모든 위치가 소수성 기에 의해 점유될 때만큼 높지는 않을 것이다.

[0050] 도 14는 담체, 보호 사슬, 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(B) 및 포함하지 않는 것(A)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것으로서, 여기서, 상기 소수성 기는 보호기와는 독립적으로 담체에 직접 결합되어 있다. 본 조성물의 코어에 존재하는 소수성 기의 밀도는, 담체 상에 존재하는 모든 위치가 소수성 부분에 의해 점유될 때만큼 높지는 않을 것이다.

[0051] 도 15는 담체, 보호 사슬, 표적 분자 및 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(B) 및 포함하지 않는 것(A)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것으로서, 여기서, 상기 소수성 기는 보호기와는 독립적으로 담체에 결합되어 있다. 담체 상에 존재하는 소수성 기의 밀도는, 코어에 존재하는 모든 위치가 소수성 기에 의해 점유될 때만큼 높지는 않을 것이다.

[0052] 도 16은 담체, 보호 사슬, 표적 분자, 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(B) 및 포함하지 않는 것(A)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것으로서, 여기서, 상기 소수성 기는 보호기와는 독립적으로 담체에 결합되어 있다. 담체 상에 존재하는 소수성 기의 밀도는, 담체의 모든 위치가 소수성 부분에 의해 점유될 때만큼 높지는 않을 것이다.

[0053] 도 17은 담체, 이 담체와 직접 결합되어 있는 보호 사슬, 이 보호 사슬과 공유 결합되어 있는 소수성 기 및 보호 사슬과 공유 결합되지 않은 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0054] 도 18은 담체, 이 담체와 직접 결합되어 있는 보호 사슬, 이 보호 사슬과 공유 결합되어 있는 소수성 기, 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0055] 도 19는 담체, 이 담체와 직접 결합되어 있는 보호 사슬, 이 보호 사슬과 공유 결합되어 있는 소수성 기, 표적 분자, 보호 사슬과 공유 결합되지 않은 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0056] 도 20은 담체, 이 담체와 직접 결합되어 있는 보호 사슬, 이 보호 사슬과 공유 결합되어 있는 소수성 기, 표적 분자, 보호 사슬과 공유 결합되지 않은 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0057] 도 21은 담체, 보호 사슬과 공유 결합된 소수성 기 및 이 보호 사슬과 공유 결합되지 않은 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0058] 도 22는 담체, 보호 측쇄와 공유 결합된 소수성 기, 이 보호 사슬과 공유 결합되지 않은 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0059] 도 23은 담체, 보호 사슬과 공유 결합된 소수성 기, 표적 분자 및 이 보호 사슬과 공유 결합되지 않은 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0060] 도 24는 담체, 보호 사슬과 공유 결합된 소수성 기, 표적 분자, 이 보호 사슬과 공유 결합되지 않은 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0061] 도 25는 담체 및 보호 사슬과 공유 결합된 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0062] 도 26은 담체 및 보호 사슬과 공유 결합된 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0063] 도 27은 담체, 표적 분자 및 보호 사슬과 공유 결합된 소수성 기를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0064] 도 28은 담체, 표적 분자 및 보호 사슬과 공유 결합된 소수성 기 및 배향 분자를 포함하고, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)인, 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것이다.

[0065] 도 29는 담체와 보호 사슬을 포함하는 본 발명의 소수성-코어 조성물에 관한 2가지 구체예를 나타낸 것으로서, 여기서, 상기 보호 사슬은 소수성을 제공하고, 또한 담체에 직접 결합되어 있으며, 로딩 분자를 포함하는 것(A) 및 포함하지 않는 것(B)이다.

[0066] 도 30은 원래의 혈중 반감기가 20분인, 가설에 의한 유리 로딩 분자의 농도를 나타내는 것이다. 담체를 포함하지 않을 경우 유리 로딩 분자의 농도는 상당히 변화무쌍하다. 담체를 포함할 경우, 유리 로딩 분자는 치료적 농도로 유지될 것이다. 반감기가 20시간일 경우 소수성 담체의 농도(nM)는 감소한다. A) 소수성 담체를 포함하지 않을 경우, 하루에 3회씩 5㎎/㎏으로 주사하였을 때의 로딩 분자의 수준을 나타내는 것으로서, 이때, 로딩 분자의 혈중 반감기가 20인 경우; B) 로딩 분자가 담지된 소수성 담체의 반감기가 20시간인 경우; C) 유리 로딩 분자의 치료 수준이 소수성 담체에 의해 유지되는 경우.

[0067] 도 31은 PLPEG(폴리리신-폴리에틸렌글리콜 공중합체) 1㎎당 아미노기의 양과, 폴리리신의 아미노기 포화 % 사이의 이론적 관계 및 실제 관계를 나타내는 그래프이다. 이 그래프는 PLPEG의 조성물을 2차적으로 확인하는데 매우 유용하다. 이와 같은 PEG화 과정은, 반응 중 피드백 가이드로서 TNBS 아미노기 검정법을 이용하여 원하는 PEG화 %가 얻어질 때까지 반응을 계속 진행시킴으로써, 합성 진행 시 반복 수행 및 조정될 수 있다. 수율은 출발 물질의 약 50~60%(5~6 그램)이다. 이론상의 예상치를 다음의 등식을 이용하여 계산하였다: X = [100 × (C - Y)]/5YC + C] (식 중, X는 포화 %이고, Y는 TNBS에 의해 측정된, PLPEG 1그램당 NH_2의 농도(mmol)이며; C는 TNBS에 의해 측정된, PL(폴리리신) 1그램당 NH_2의 농도(mmol)임). 등식 중 5YC라는 용어에 있어서 5는 사용된 PEG의 크기(이 경우에는 5kDa)를 나타내는 것이므로, 5YC이다. 만일 10kDa PEG가 사용되면, 10YC가 될 것이다. 이는 일단 PLPEG 생성물이 형성되기 때문에 유용한 것이며, 폴리리신의 아미노기의 포화 %는, 최종 생성물을 1회 TNBS 분석한 결과에 의해 측정되며, 이와 같이 구하여진 Y로써 X를 계산할 수 있는 것이다.

[0068] 도 32는 100kDa MWCO 막(Amersham Biosciences, Needham, MA)으로 정제하기 이전 및 이후의 반응 생성물을 겔 여과 크로마토그래피한 결과를 나타내는 것으로서, 이는 모든 미반응 PEG가 제거되었음을 보여주고 있다. 사용된 컬럼은 선형 울트라하이드로겔(Ultrahydrogel)(0.78×30㎝, Waters)이었으며, 이때, 용리 유속은 0.6㎖/분 PBS로 하였다. 굴절률 검출기를 사용하여 물질을 검출하였다. 패널 A는 미반응 5kDa PEG로부터 정제하기 이전 20PLPEG5-55(아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하였을 경우의 20kDa 폴리리신)가 존재하는 경우이다. 패널 B는 5kDa PEG만이 존재하는 경우이다. 패널 C는 정제 후 20PLPEG5-55가 존재하는 경우이다.

[0069] 도 33은 공지의 스토크 반지름을 갖는 단백질과 함께 제시된 다양한 담체의 스토크 반지름을 제시하는 것이다. 이는 선형 울트라하이드로겔 컬럼(지름 0.78㎝ 및 길이 30㎝)(이동 상으로서 PBS 및 15% 아세토니트릴 사용, 유속 0.6㎖/분) 상에서 분석하였다. 20PL-PEG5-55(아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하였을 경우의 20kDa 폴리리신), 40PL-PEG5-30(아미노기의 30%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하였을 경우의 40kDa 폴리리신), 40PL-PEG5-51(아미노기의 51%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하였을 경우의 40kDa 폴리리신) 및 40PL-PEG5-27(아미노기의 27%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하였을 경우의 40kDa 폴리리신)은 지름 4㎚(40 암스트롱)(또는 반지름 20 암스트롱) 이상인 구형 여과 컷-오프(glomerular filtration cut off)보다 더욱 컸다. 스토크 반지름이 알려진 단백질 예를 들어, 티로글로불린(669kDa; 스토크 반지름 = 85.5 암스트롱), 카탈라제(248kDa; 스토크 반지름 = 52.2 암스트롱) 및 BSA(67kDa; 스토크 반지름 = 35.5 암스트롱)을 참고 기준으로 사용하였다.

[0070] 도 34는 다양한 조건 하에서 소수성 담체의 담지 효율을 보여주는 도면이다(n=6). y축은 담체와 결합하지 않았던 양이다. 이 도면에서, 10㎎의 PGC-HC24(20PLPEG5-55 C24; 이는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 리그노세르산 또는 C24와 반응하였을 경우의 20kDa 폴리리신임)를 x축에 제시한 다양한 조건 하에서 GLP-1 0.6㎎으로 담지하였다. 담지 후, 모든 시료에 PBS(pH7.4)를 넣어 1㎖로 만들고, 이를 100kDa 분자 컷-오프 셀룰로스 필터(Millipore, Bedford, MA)로 여과한 다음, 각각의 여과물에 있던 유리 GLP-1을 역상 HPLC를 사용하여 정량하였다. 필터는 GLP-1과 결합하지 않는다(담체를 포함하지 않는 대조군

시료에 의해 확인됨; 도시하지 않음). 담지 량이 가장 많은 조건은 70% 아세톤 처리를 한 이후에 건조시킨 경우이다. 이와 같이 특정의 담지 과정(아세톤 사용)은 또한 다른 단백질에 대해서도 적용 가능할 것으로 기대되는 반면에, 다른 과정, 구체적으로는 담수 과정은 단백질 간에 차이를 보일 수 있다. 이와 같은 과정은 용매가 단백질의 소수성 부분과 담체의 소수성 부분을 노출시키는 능력을 이용한 것이다. 분자량 10~30kDa의 거대 단백질에 있어서, 변성될 위험성은 유기 용매의 양을 줄임으로써 최소화할 수 있다.

[0071] 도 35는 C18상의 PGC-HC(C18-20PLPEG5-55; 이는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고 나머지 아미노기가 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa 폴리리신임)가, Kd가 나노몰 범위에 있는(249nM) 4~5개의 위치를 가지는 펩티드(예를 들어, GLP-1)와 결합함을 보여준다. 기타 위치는 Kd 2.7uM인 2개의 위치와 Kd 33uM인 기타 2개의 위치와의 친화도가 낮다. 이 실험에서, 담체 10㎎을 담지하였으며(도 34에 도시된 바와 같음, 아세톤법), 이때 GLP-1의 양은 다양하게 하였다. 각각의 담지된 담체를 1㎖의 PBS 중에 용해시킨 다음, 2시간 동안 평형화하였다. 유리 및 결합 GLP-1을 함유하는 각각의 용액을 100kDa 분자 컷-오프 필터로 여과시키고, 유리 GLP-1을 함유하는 각각의 여과물을 역상 HPLC로 정량하였다. 각각의 용액으로부터 얻은 결합 GLP-1을 70% 아세토니트릴로써 방출시켰으며, HPLC에 의해서 유사하게 정량하였다.

[0072] 도 36은 C24상의 PGC-HC(C24-20PLPEG5-55; 이는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고 나머지 아미노기가 리그노세르산 또는 C24와 반응하였을 경우의 20kDa 폴리리신임)가, Kd가 나노몰 범위에 있는(77nM) 3~4개의 위치를 가지는 펩티드(예를 들어, GLP-1)와 결합함을 보여준다. 다른 위치는 Kd 2uM인 2개의 위치와의 친화도가 낮다. 기타 낮은 친화도를 가지는 위치들에 대해서는 분석하지 않았다. 본 실험에서, 소수성-코어 담체 10㎎을 담지하였으며(도 34에 도시된 바와 같음, 아세톤법), 이때 GLP-1의 양은 다양하게 하였다. 각각의 담지된 담체를 1㎖의 PBS 중에 용해시킨 다음, 2시간 동안 평형화하였다. 유리 및 결합 GLP-1을 함유하는 각각의 용액을 100kDa 분자 컷-오프 필터로 여과시키고, 유리 GLP-1을 함유하는 각각의 여과물을 역상 HPLC로 정량하였다. 각각의 용액으로부터 얻은 결합 GLP-1을 70% 아세토니트릴로써 방출시켰으며, HPLC에 의해서 유사하게 정량하였다.

[0073] 도 37은 C18-PL-PEG5-55에 GLP-1을 담지한 결과를 나타내는 것이다[이때의 소수성 코어 담체는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신임]. 본 그래프는 도 34에 도시된 바와 같은 아세톤법을 사용하여, GLP-1(x축)의 양을 다양하게 하여 소수성-코어 담체 10㎎을 담지하였을 때 결합 GLP-1(회색 막대) 및 유리 GLP-1(흰색 막대)의 양을 보여준다. 각각의 담지된 담체를 1㎖의 PBS 중에 용해시킨 다음, 2시간 동안 평형화하였다. 유리 및 결합 GLP-1을 함유하는 각각의 용액을 100kDa 분자 컷-오프 재생 셀룰로스 필터(Millipore, Bedford, MA)로 여과시켰다. 유리 및 결합 GLP-1을 함유하는 여과물을 70% 아세토니트릴을 사용하여 방출시킨 다음, 역상 HPLC(n=9)에 의해 여과물을 유사하게 정량하였다. 확인할 수 있는 바와 같이, 담지 용량은 4~5%(0.4~0.5㎎/10㎎ 담체)였는데, 이는 곧, 담체당 4~5개의 위치가 존재함을 말해주는 것이다. 단백질의 2/3인 0.1㎎만큼만을 담지하였음에 주의하여야 할 것이다. 담지량이 담지 용량 이상으로 증가하는 이유는, Kd가 3.7uM 및 33uM인 부가의 낮은 친화도 위치가 존재하기 때문일 것이다. 이와 같은 위치들은 PEG 또는 나노 구조물 내 기타 표면들의 조합 사이의 상호 작용으로 인한 것일 수 있다.

[0074] 도 38은 담체가 PBS 중 1000회 평형 상태를 거친 후 담체와 결합된 상태로 잔류하는 GLP-1의 양을 보여주는 것이다. 복합체가 크기별 배제 컬럼(0.78 × 30㎝)을 통과한 후의 GLP-1-결합 담체의 양을 관찰함으로써, GLP-1-소수성 담체(C18-20PLPEG555) 복합체의 용액 안정성을 테스트하였다. 도 34에 개략적으로 도시한 아세톤법을 이용하여 총 2㎎인 GLP-1을 담지하였다. 복합체를 형성한(결합형인) GLP-1과 유리 GLP-1 둘 다를 함유하는 용액을 용리시켜 크기별 배제 크로마토그래피(n=5)를 수행하였으며, 그 결과를 220㎚에서 관찰하였다. 유리 GLP-1은 총 부피(total volume)(Vt)로 배출되며, 담체는 공 부피(void volume)(Vo)로 배출된다. 담체만을 블랭크로 사용하여, BioSep 2000 컬럼(0.78 × 30㎝; Phenomenex)의 Vo로 배출된 담체와 결합한 GLP-1의 표면적을 정량하였다. 표준 편차가 큰 이유는 담지 변동성보다는 블랭크의 변동성이 더욱 크기 때문이다. 이는 본질적으로 복합체가 안정하다는 사실을 보여주는 것이며, 이와 같은 안정성 테스트를 통하여 Kd가 249nM임을 확인할 수 있다.

[0075] 도 39는 PGC-HC18 담체[이와 같은 소수성-코어 담체는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우, 20kDa인 폴리리신임] 또는 20PLPEG5-55[이는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 반응하지 않았을 경우, 20kDa인 폴리리신임]의 존재 및 부재하에서 인산염 완충 염수 중 DPP4에 의해 GLP-1을 시험관 내 분해한 결과를 나타내는 크로마토그래피 결과이다. 원형 GLP-1은 초기 용리 피크(우측 화살표가 지시하는 부분)이다. GLP-1의 분해 생성물[히스티딘 잔류물이 제거되고 하전량이 작음, pH2 크로마토그래피 조건]은 이후에 용리된다(좌측 화살표

가 지시하는 부분). PGC-HC18 담체가 존재할 경우, DPP4에 의한 분해는 상당히 지연된다. 두 가지 대조군들(GLP-1 단독 및 20PLPEG5-55 및 GLP-1)은 유사한 정도로 분해된다. 이와 같은 방식으로 여러 번 분석한 후의 결과는 매우 확실하였다. HPLC 분석법에서는 머큐리 시너지맥스-RP(Mercury SynergyMax-RP)(Phenomenex)(0.4 × 2cm)를 사용하였으며, 이때 5분에 걸쳐서 유속 1.5㎖/분으로 용리하였고, 또한 25~50% 아세토니트릴/물/0.1% TFA로 구배를 걸어주었으며, 용리물을 220nm에서 관찰하였다. GLP-1 용액(담체 포함 및 불포함)을 24시간 동안 1.25mU/㎖ DPP4와 함께 항온 처리하였으며, HPLC 분석에 들어가기에 앞서서 DPP4 억제제를 첨가하여 분해를 중지시켰다.

[0076] 도 40은 GLP-1 및 소수성-코어 담체(PGC-HC18; 본 소수성-코어 담체는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응할 경우, 20kDa인 폴리리신임) 중에 함유된 GLP-1에 의해 유도되는 칼슘 유입 결과를 나타내는 것이다. INS 세포 내 GLP-1(20nM) 및 GLP-1 제형(3.3ug/㎖ PGC-HC18; 20nM GLP-1 포함)에 의해 유도된 칼슘 유입 결과를 나타내는 것이기도 하다. 세포에 Fura-2(분자프로브)를 담지하고, PBS(인산염 완충 염수), GLP-1, C18 제형(3.3ug/㎖ PGC-HC18; 20nM GLP-1 포함) 및 C18 담체(3.3ug/㎖ PGC-HC18)를 첨가하기 이전(1~9초) 및 이후(11~60초)에, 세포 내 형광도를 경시적으로 측정하였다. 관찰되는 바와 같이, PGC-HC18 제형화 GLP-1(C18-제형)은 본 시험관 내 테스트에서 생물학적으로 활성이다(n=5).

[0077] 도 41은 제형화된 GLP-1이 글루코스 촉진 인슐린 방출을 증진시키는 것을 보여주는 것이다. GLP-1과 제형화된 GLP-1(2중량%의 GLP-1 함유 PGC-HC18)이 다양한 농도로 존재할 경우, INS 세포에 의해 방출된 글루코스 촉진 인슐린의 수준을 나타내었다. 상기 제형화에 사용된 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신이다. 인슐린종 세포 또는 INS 세포(50,000)를 96웰 평판에 도말하고, 이를 통상의 배지(11.1 mM 글루코스 포함)에서 밤새도록 결합시키고, 이 배지 중에 존재하는 글루코스 농도를 밤새도록 5.5mM로 낮추었다. 그 다음날, 11.1mM 글루코스와 다양한 농도의 제형화 및 비 제형화 GLP-1(x-축)을 함유하는 무혈청 배지를 사용하여 인슐린을 방출시켰다. 15분에 걸쳐 방출된 인슐린을 LINCO Elisa 키트를 사용하여 측정하였다(n=3).

[0078] 도 42는 GLP-1과 제형화된 GLP-1(2중량%의 GLP-1 함유 PGC-HC18)을 정맥 내 투여한 이후 혈중 총 GLP-1의 양이 시간에 따라서 감소함을 보여주는 것이다. 상기 제형화에 사용된 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신이다. GLP-1만이 투여된 경우의 소멸 반감기(elimination half-life)는 수 분에 불과하였으나, 제형화된 GLP-1의 소멸 반감기는 6시간 이상이나 걸렸다. 암컷 Balb/c 마우스에 2mg의 GLP-1(단독) 또는 2mg의 GLP-1(PGC-HC18 제형 중)을 정맥 내 주사하였다. 일정 시점에서 최종 채혈을 수행하였다. Elisa 키트(Linco; LINCO Research, St. Charles, MO)에 의해 GLP-1(PGC-HC18 결합형 및 비 결합형)의 총량을 측정하였다.

[0079] 도 43은 GLP-1과 제형화된 GLP-1(2중량%의 GLP-1 함유 PGC-HC18)을 피하(s.c.) 투여한 후 혈중 GLP-1의 총량이 시간에 따라서 감소함을 보여주는 것이다. 상기 제형화에 사용된 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신이다. GLP-1만이 투여된 경우의 소멸 반감기는 수 분에 불과하였으나, 제형화된 GLP-1의 소멸 반감기는 24시간 이상이나 걸렸다. 암컷 Balb/c 마우스에 2mg의 GLP-1(단독) 또는 2mg의 GLP-1(PGC-HC 제제 중)을 피하 주사하였다. 일정 시점에서 최종 채혈을 수행하였다. Elisa 키트(Linco; LINCO Research, St. Charles, MO)에 의해 GLP-1(담체 결합형 및 비 결합형)의 총량을 측정하였다.

[0080] 도 44는 GLP-1과, 제형화된 GLP-1(2중량%의 GLP-1 함유 PGC-HC18)을 피하(s.c.) 투여한 후 혈중 GLP-1의 총량이 시간에 따라서 감소함을 보여주는 것이다. 상기 제제화에 사용된 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신이다. GLP-1만이 투여된 경우의 소멸 반감기는 수 분에 불과하였으나, 제형화된 GLP-1의 소멸 반감기는 20시간 이상이나 걸렸다. 미리 캐뉼러를 꽂은 수컷 스프라그 돌리(Sprague Dawley) 래트에 1ug의 GLP-1(단독) 또는 1ug의 GLP-1(PGC-HC18 제형 중)을 피하 주사하였다. 경정맥 캐뉼러로부터 채혈하고, 그 혈청을 분석할 때까지 -80℃에 보관하였다. Elisa 키트(Linco; LINCO Research, St. Charles, MO)에 의해 GLP-1(PGC-HC18 결합형 및 비 결합형)의 총량을 측정하였다.

[0081] 도 45는 4주간의 처리 기간[60mg/kg의 스트렙토조토신을 사용하여 당뇨병을 유발시킨 후 13일 경과시 개시]에 걸쳐 평균적으로 총 15회 글루코스 샘플링한 결과를 보여주는 것이다. 처리하기전 2~6일마다 측정한, 처리 전 혈중 글루코스 수준은 300~600mg/dl이다. 랜덤화한 후 각 군의 평균 혈당 수준은 421~433mg/dl이다. 래트에 2

일마다 피하 처리하였다. 대조군에는 염수를 투여하였으며, 담체 대조군에는 PGC-HC18만을 투여하였고(PBS 중 1㎎), GLP-1군에는 20ug의 GLP-1을 투여하였고, PGC-HC18/GLP-1 군에는 1㎎의 PGC-HC18(20ug의 GLP-1 담지)을 투여하였다. 제형화에 사용된 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응할 경우의 20kDa인 폴리리신이다. 2주 경과시, 당뇨병이 심각해져서 체중 감소가 심하게 일어난 GLP-1 동물 중 한 마리를 안락사시켰다. 2일마다 측정한, 굶기지 않은 동물의 당 수준을 함께 더하여 각 동물에 대한 곡선 아래 표면적(AUC)을 구하여, 각 동물에 있어서 주기적 변동성을 평균 내었다. 제형화된 GLP-1으로 처리된 동물과 대조군 또는 PGC-HC만을 처리한 동물들 간 차이는 유의적이었다(*P<0.01).

[0082] 도 46은 4주간의 처리 기간[60㎎/㎏의 스트렙토조토신을 사용하여 당뇨병을 유발시킨 후 13일 경과시 개시]이 끝나갈 즈음의 스트렙토조토신 유도 당뇨병 래트의 평균 체중(+/- 표준 편차; n=4)을 나타내는 그래프이다. 처리 개시시 모든 동물의 체중을 측정한 다음, 체중 240~260 그램인 동물에 스트렙토조토신을 처리하였다. 대조군에는 염수를 투여하였으며, 담체 대조군에는 PGC-HC18만을 투여하였고(PBS 중 1㎎), GLP-1군에는 20ug의 GLP-1을 투여하였고, PGC-HC18/GLP-1 군에는 1㎎의 PGC-HC18(20ug의 GLP-1 담지)을 투여하였다. 제형화에 사용된 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신이다. PBS로 처리하였거나 담체만을 처리한, 스트렙토조토신 유도 당뇨병 래트의 경우는, 제형으로 처리한 동물에 비하여 체중 감소가 더욱 유의적이었다(P<0.01). 담체는 처리하지 않고 GLP-1만을 처리한 동물군에서는, GLP-1 제형으로 처리한 래트에 비하여 변동성이 컸다.

[0083] 도 47은 4주간의 처리 기간[60㎎/㎏의 스트렙토조토신을 사용하여 당뇨병을 유발시킨 후 13일 경과시 개시]이 끝나갈 즈음의 스트렙토조토신 유도 당뇨병 래트의 해부학적 췌장 절편으로부터 측정한 결과를 나타내는 것이다(+/- 표준 편차; n=4). 래트의 췌장은 항-BrdU-항체 및 헤마톡실린으로 염색하였으며, 이를 250배 확대하여 촬영하였다. 섬(islet)의 위치를 파악한 후, 각각의 섬에 존재하는 BrdU 양성 핵의 수를 계측하였다. 대조군에는 염수를 투여하였으며(A), 담체 대조군에는 PGC-HC18만을 투여하였고(PBS 중 1㎎)(B), GLP-1군에는 20ug의 GLP-1을 투여하였고(C), PGC-HC18/GLP-1 군에는 1㎎의 PGC-HC18(20ug의 GLP-1 담지)(D)을 투여하였다. 제형화에 사용된 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응할 경우의 20kDa인 폴리리신이다. 항-BrdU-항체 염색 결과, PBS 또는 무 담체 처리 래트(A 및 B)에 비하여, GLP-1 및 GLP-1/PGC-HC18 제형으로 처리한 래트(C 및 D)의 섬에서 세포 분열이 유의적으로 더욱 많이 진행됨을 알 수 있다. 뿐만 아니라, GLP-1/PGC-HC18 제형으로 처리한 래트의 외분비선 조직 내 BrdU 양성 세포의 수가 더욱 많았는데(도시하지 않음), 이는 도관 선조 기관으로부터 유래하는 섬 세포들이 신생됨을 말해주는 것이다.

[0084] 도 48은 PGC-HC18이 Kd 315uM인 6~7개의 위치를 가지는 유기 화합물(예를 들어, 독소루비신)과 결합함을 보여주는 것이다. PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신이다. 독소루비신은 항암 약물이다. 이 실험에서, 8㎎의 소수성-코어 담체를 다양한 양의 독소루비신으로 담지하였다[도 34에 도시한 바와 같음, 아세톤법]. 담지된 각각의 담체를 1㎖의 PBS중에 용해하고, 이를 2시간 동안 평형화시켰다. 유리 및 결합 독소루비신을 함유하는 각각의 용액을 100kDa 분자 컷-오프 필터를 통과시켜 여과한 다음, 유리 독소루비신을 함유하는 각각의 여과물을 역상 HPLC로 정량하였다. 담지시 사용된 독소루비신의 총량에서 HPLC에 의해 측정된 유리 독소루비신의 양을 공제하여, 결합된 독소루비신의 양을 구하였다.

[0085] 도 49는 PGC-HC18에 독소루비신이 담지된 결과를 나타내는 것이다. 이 PGC-HC18은, 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응하였을 경우의 20kDa인 폴리리신이다. 독소루비신은 항암 약물이다. 이 그래프는, 도 34에 도시한 바와 같은 아세톤법을 이용하여 8㎎의 PGC-HC18에 다양한 양의 독소루비신(x-축)을 담지하였을 때, 결합 및 유리된 PGC-HC18의 양을 나타내는 것이다. 담지 후, 담지된 각각의 담체를 1㎖의 PBS 중에 용해시키고, 이를 2시간 동안 평형화하였다. 결합된 PGC-HC18과 유리 독소루비신의 혼합물을 재생 셀룰로스 필터로써 여과하여 분리하였다. 유리 독소루비신인 여과물을 역상 HPLC로 정량하였다(n=3). 담지시 사용된 독소루비신의 총량에서 HPLC에 의해 측정된 유리 독소루비신의 양을 공제하여, 결합된 독소루비신의 양을 구하였다.

[0086] ***발명의 상세한 설명***

[0087] 정의

[0088] 편의상, 본 발명을 더욱 상세히 설명하기에 앞서서, 발명의 상세한 설명, 실시예 및 첨부된 청구의 범위에 사용

된 몇몇 용어들을 이하에 모아보았다. 이 정의는 본원에 개시된 나머지 사항과 당업자가 알고 있는 바에 비추어 알아두어야 할 것이다. 달리 정의하지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어들은 당업자가 일반적으로 알고 있는 바와 동일한 의미를 갖는다.

[0089] 관사 "하나" 및 "하나의"는 하나 또는 그 이상(즉, 하나 이상)의 문법적 대상을 의미하는 것으로 사용되는 것이다. 예를 들어, "하나의 요소"란, 하나의 요소 또는 하나 이상의 요소를 의미하는 것이다.

[0090] 본원에 사용된 "및/또는"이란 용어는 하나, 둘 또는 이의 임의의 조합을 의미하는 것으로서 이해하여야 할 것이다. 예를 들어, "A 및/또는 B"란, "A 또는 B" 또는 "A 및 B"를 포함하는 의미이다.

[0091] 본원에 기술된 바와 같이, 임의의 농도 범위, % 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는 언급된 범위 내에 속하는 임의의 정수 값을 포함하는 것으로서 이해해야 할 것이며, 적당한 경우, 달리 언급이 없는 한, 이의 분수 값(예를 들어, 정수의 10분의 1 및 100분의 1)도 포함하는 것이다.

[0092] 본원에 사용된 "약" 또는 "본질적으로 ~를 포함하는"이란, 달리 언급이 없는 한, 제시된 값이나 범위의 평균 ± 15%를 의미하는 것이다.

[0093] 대안적인 표현(예를 들어, "또는")을 사용하는 것은 대안 중 하나, 둘, 또는 이의 임의의 조합을 의미하는 것으로서 이해하여야 할 것이다.

[0094] 본원에 사용된 바와 같은 "소수성 기"란 용어는, 비극성이며, 로딩 분자에 대해 소수성 환경을 제공하여 상호작용하게 함으로써, 주변의 물이 있는 환경을 피할 수 있도록 만들어주는 분자 또는 몇몇 분자 또는 화학부를 의미하는 것이다. 소수성 인력은 거대 분자의 폴딩(folding)에 있어서 주요 구동력이 되는 힘으로서, 기질과 효소간의 결합 내지는 세포와 세포의 내부 구획의 경계를 한정하는 막을 형성하는 경우에 작용하는 힘이다. 비극성 분자는 수중에서 함께 모이는데, 그 원인은 물이 존재하지 않을 때 상호 간 친화도가 높기 때문이 아니라, 물이 존재할 때 물 분자 사이의 결합이 상기 비극성 분자 사이의 결합보다 강하여 물로부터 이 비극성 분자가 배제될 것이기 때문이다. 소수성 기는, 담체로 통합된 이후 양전하 또는 음전하를 갖지 않으며, 전하의 상호 작용이 관여하지 않는 상호 작용에 의해 분자들에 결합할 수 있는 탄화수소 사슬 및/또는 고리 화합물일 수 있다. 몇몇 분자들은 pH가 변함에 따라서 전하를 얻을 수도 또는 잃을 수도 있으며, 본 발명은 전하를 함유하지 않거나 치료제나 로딩 분자와의 결합시 소수성을 갖는 조성물을 포함한다는 사실을 알 수 있다. 뿐만 아니라, 상기 소수성 기는 중합체 담체와는 별도의 실체로서 간주될 수 있으므로, 예를 들어, 중합체 담체가 폴리아미노산일 때, 폴리아미노산에 존재하는 천연 R기는 소수성 기로서 간주되지 않음도 이해해야 한다. 그러나, R기는 소수성 기를 부가하도록 유도체화될 수 있다. 예를 들어, 소수성 기는 부틸 아민 R기의 아미드화를 통하여 폴리리신 담체에 부가될 수 있다. 경우에 따라서, 소수성 기는 분자의 한쪽 말단에 소수성 기와는 구별되는 배향 분자(예를 들어, 카복실기를 보유하는 플루오레세인 분자)로서 칭하여지는 아미노기 또는 카복실기를 포함할 수 있다.

[0095] 본원에 사용된 "배향 분자(orienting molecule)"란 용어는, 로딩 분자가 임의의 방식으로 배향하면서, 조성물의 소수성 기와 상호 작용하는 방식으로, 본 발명의 소수성 코어 조성물에 로딩 분자가 결합하는 것을 도와주는 임의의 분자형 구조물을 의미하는 것이다. 배향 분자는 보통 중합체 담체 주쇄와 결합되어 있다. 대부분의 경우, 배향 분자는 배향을 유도하는 역할 이외에도, 담체에 로딩 분자가 결합하는 것을 증강시키거나 또는 강화하는 역할을 갖는다. 배향 분자는 펩티드, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염, 비스포스폰산염, 리신 및 아르기닌으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 배향 분자는 또한 중합체 주쇄와 로딩 분자 사이에 가교를 형성할 수 있는 금속 이온을 포함할 수도 있다. 배향 분자는 또한 중합체 담체에 공유적으로 결합된 아미노부 또는 카복실부일 수도 있다.

[0096] 본원에 사용된 "유도체" 또는 "유사체"라는 용어는, 코어 구조가 모 화합물과 동일하거나 또는 매우 유사하되, 화학적 변형 또는 물리적 변형을 겪은 화합물 예를 들어, 상이하거나 부가적인 기를 가지는 화합물을 의미하는 것으로서; 이 용어에는 다른 원자나 분자에 결합할 수 있는 모 화합물의 공중합체가 포함된다. 상기 용어는 또한 모 펩티드와의 서열 동일성이 50% 이상인 펩티드를 포함한다. 상기 용어는 또한 모 펩티드에 비하여, 부가의 기 예를 들어, 지방산 및/또는 부가의 아미노산이 결합되어 있는 펩티드를 포함한다. 상기 용어는 또한 모 중합체에 비하여, 부가의 기 예를 들어, 알콕시기가 결합되어 있는 중합체를 포함한다. 상기 용어는 또한 모 사슬에 비하여 부가의 기(들)가 결합되어 있는 분지형 또는 비 분지형 알킬 사슬을 포함한다.

[0097] "표적 부분(targeting moiety)", "표적 분자" 또는 "표적 기"란 용어는, 조성물 구조가 특정 표적 부위에 국소화되거나, 표적 세포(들)에 도입되고/되거나, 표적 수용체와 결합하는 것을 도와주는 임의의 분자 구조물을 의미하는 것이다. 예를 들어, 지질(예를 들어, 양이온, 중성 및 스테로이드 지질, 바이로좀 및 리포좀), 항체, 렉

틴, 리간드, 사카라이드, 스테로이드, 호르몬, 영양소, 펩티드 및 단백질은 표적 부분으로서 사용될 수 있다. "표적"은 표적된 구조물 또는 소수성 코어 조성물이 결합하는 위치이다. 표적은 생체 내 또는 시험관 내에 존재할 수 있다. 임의의 구체예에서, 표적은 종양[예를 들어, 뇌, 폐(소형 세포 및 비 소형 세포), 난소, 전립선, 유방 및 결장의 종양과, 기타 암종 및 육종]일 수 있다. 다른 구체예에서, 표적은 감염[예를 들어, 박테리아, 바이러스(예를 들어, HIV, 헤르페스 및 간염 바이러스) 및 병원성 진균(칸디다 종)에 의한 감염]의 위치일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 표적은 표적 부분이 결합하는 분자 구조물 예를 들어, 햅텐 에피토프, 수용체, dsDNA 단편, 탄수화물 또는 효소를 의미할 수 있다. 부가적으로, 표적은 조직 예를 들어, 뉴런 조직, 소장 조직, 췌장 조직 등의 유형일 수도 있다.

[0098] 본원에 사용된 "로딩 분자(load molecule)"란 용어는, 본 발명의 소수성 코어 조성물에 로딩될 수 있는 임의의 분자 예를 들어, 진단제 및 치료제를 포함한다.

[0099] 본원에 사용된 "치료제"란 용어는, 개체 내에서 국소 작용하거나 또는 전신 작용하는 생물학적, 생리학적 또는 약리학적 활성 물질인 임의의 화학부를 의미하는 것이다. 치료제("약물"이라고도 함)의 예로서는, 글루카곤 유사 펩티드, 글루카곤 유사 펩티드 유도체, 엑세나티드, 글루카곤 유사 펩티드-1, 글루카곤 유사 펩티드-2, 렙틴 단편, 억제성 위 폴리펩티드(GIP), 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드, EGF, 전환 성장 인자 알파(TGF-알파), 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린, 콜레시스토키닌, 리소스타핀, 인터페론, 인터페론 감마, 인터페론 베타, 인터페론 알파, 인터루킨-1, 인터루킨-2, 인터루킨-4, 인터루킨-6, 인터루킨-8, 인터루킨-10, 인터루킨-12, 오리스타틴, 니신, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자 1, 성장 호르몬, 성장 호르몬 방출 호르몬(GHRH), 신경 성장 인자, 뇌 유래의 향신경성 인자, 효소, 엔도스타틴, 안지오스타틴, 트롬보스폰딘, 유로키나제, 스트렙토키나제, 혈액 응고 인자 VII, 혈액 응고 인자 VIII, 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 혈소판 형성 인자, 칼시토닌, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 단편, 적혈구 형성 촉진 인자, 심방 나트륨 이뇨성 인자, 모노클로날 항체, 모노클로날 항체 단편, 소마토스타틴, 단백분해효소 억제제, 아드레노코르티코트로핀, 고나도트로핀 방출 호르몬, 옥시토신, 황체 형성 호르몬 방출 호르몬, 여포 자극 호르몬, 글루코세레브로시다제, 혈소판 형성 인자, 필그라스팀, 프로스타글란딘, 에포프로스테놀, 프로스타사이클린, 사이클로스포린, 바소프레신, 터리프레신, 데스모프레신, 크로몰린 나트륨(나트륨 또는 이나트륨 크로모글리케이트), 혈관활성 장 펩티드(VIP), 반코마이신, 항미생물제, 폴리믹신 b, 항진균제, 항바이러스제, 엔푸버타이드, 독소루비신, 에토포시드, 펜타닐, 케타민 및 비타민이 있다. 치료제("약물"이라고도 함)의 추가 예에 관하여는 널리 공지된 참고 문헌 예를 들어, 머크 인덱스(Merck Index), 진단 및 치료에 관한 머크 매뉴얼(Merck manual of diagnosis and therapy), 전문의 약전(Physicians Desk Reference), 및 치료제의 기초 약리학(The Pharmacological Basis of Therapeutics)에 개시되어 있으며, 상기 치료제의 추가 예로서는 단백질, 펩티드, 약물; 비타민; 무기질 보충물; 질병 또는 질환의 치료, 예방, 진단, 치유 또는 완화에 사용되는 물질; 신체 구조 또는 기능에 영향을 주는 물질; 또는 생리적 환경 하에 존재할 경우 생물학적으로 활성을 가지거나 또는 활성이 더욱 강해지는 전구 약물을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 개체에 투여되었을 때 목적 조성물로부터 인접한 조직 또는 유체로 방출될 수 있는 다양한 형태의 치료제가 사용될 수 있다. 그 예로서는, 스테로이드 및 스테로이드의 에스테르(예를 들어, 에스트로겐, 프로게스테론, 테스토스테론, 안드로스테론, 콜레스테롤, 노르에틴드론, 디곡시제닌, 콜린산, 데옥시콜린산 및 케노데옥시콜린산), 보론-함유 화합물(예를 들어, 카보란), 화학 요법용 뉴클레오티드, 약물(예를 들어, 항생체, 항바이러스제, 항진균제), 에네다인(예를 들어, 칼리키아마이신, 에스페라마이신, 다이네마이신, 네오카지노스타틴 발색단 및 케다시딘 발색단), 중금속 착물(예를 들어, 시스플라틴), 호르몬 길항제(예를 들어, 타목시펜), 비 특이적(비 항체) 단백질(예를 들어, 사카라이드 올리고머), 올리고뉴클레오티드(예를 들어, 표적 핵산 서열(예를 들어, mRNA 서열)에 결합하는 안티센스 올리고뉴클레오티드), siRNA, 펩티드, 단백질, 항체, 광선 역학 제제(예를 들어, 로다민 123), 방사성 핵종(예를 들어, I-131, Re-186, Re-188, Y-90, Bi-212, At-211, Sr-89, Ho-166, Sm-153, Cu-67 및 Cu-64), 독소(예를 들어, 리신) 및 전사계 약품을 포함한다.

[0100] 본원에 사용된 "치료학적 유효량"이란 용어는, 환자에게 치료 효과를 제공할 조성물의 양을 의미하는 것이다. 임의의 구체예에서, 상기 용어는 본 발명의 소수성 담체 조성물에 담지되어 환자에게 투여될 때, 임의의 의료적 처치에 적용하기에 합리적인 혜택/위험 비율로 원하는 효과를 나타낼 수 있는 치료제의 양을 의미하는 것이다. 임의의 구체예에서, 상기 용어는, 특정 치료 방식이 적용되는 종양 또는 기타 표적을 제거, 감소 또는 유지(예를 들어, 확산 방지)시키기에 충분하거나 또는 이에 필요한 만큼의 양을 의미하는 것이다. 유효량은 치료될 질병 또는 질환, 투여될 구체적인 구조물, 개체의 크기 및/또는 질병 또는 질환의 중증도와 같은 인자에 따라서 달라질 수 있다. 당업자는 과도한 실험을 수행하지 않고서도 특정 화합물의 치료학적 유효량을 실험에 의해 결정할 수 있다. 임의의 구체예에서, 상기 용어는, 본원에 개시된 목적 조성물을 사용하는데 필요하거나 충분한

양을 의미하는 것이다. 인슐린-부족 당뇨병의 치료에 있어서, 치료학적 유효량은 글루코스 생체 항상성을 개선하거나, 환자의 혈중 글루코스 수준을 정상으로 만들고/만들거나 췌장 내 베타 섬 세포를 재생시킬, 해당 로딩 분자(들)를 포함하는 본 발명의 조성물의 양이다. 베타 섬 세포의 재생 여부는 혈중 글루코스 수준, 헤모글로빈 A1c 수준, C-펩티드 수준 또는 인슐린 수준을 관찰함으로써 간접적으로 측정될 수 있다.

[0101] "진단제" 또는 "진단 제제"라는 용어는, 환자를 진단 또는 영상화하는데 사용될 수 있는 임의의 화학부를 의미하는 것이다. 예를 들어, 진단 제제로서는 방사성 동위 원소 예를 들어, 인듐이나 테크네튬을 함유하는 조영제; 요드, 테크네튬 또는 가돌리늄 함유 콘트라스트 제제; 효소 예를 들어, 호오스 래디쉬 퍼옥시다제, GFP, 알칼리성 포스파타제 또는 베타-갈락토시다제; 형광 물질 예를 들어, 플루오레세인, 로다민 및 유로피움 유도체; 발광 물질 예를 들어, N-메틸아크리듐 유도체 등을 포함한다.

[0102] 본원에 사용된 "알킬"이란 용어는, 4~36개의 탄소 원자로 이루어진 분지쇄 또는 직쇄 탄화수소를 포함하는 의미이며, 이는 담체 주변에 비극성 환경 또는 소수성 환경을 제공한다. 본원에 사용된 바와 같이, 알킬이란, 4~36개의 탄소 원자로 이루어진 분지쇄 또는 직쇄 탄화수소인 분자의 일부로서, 이와 같은 일부는 담체 및/또는 보호기와의 결합 수단으로서 질소 또는 산소 함유 부분과 함께 양쪽 말단부에 측접할 수 있다.

[0103] 본원에 사용된 "저급 시클로알킬"이란 용어는, 4~6개의 탄소 원자로 이루어진 환형 탄화수소를 의미하는 것이다.

[0104] 본원에 사용된 "해리 가능하게 결합된", "가역적으로 결합된" 및 "결합된"이란 용어는, 비 공유 결합을 의미하는 것이다.

[0105] 본 발명의 "담체"라는 용어는, 로딩 분자와 차례로 상호 작용할 수 있는 소수성 기를 지지할 수 있는 임의의 물질일 수 있다. 이것들은 변형 가능한 작용기를 다수 가지는 물질이다. 담체의 비 제한적 예로서는 중합체와 공중합체, 미립자, 나노입자 및 고형 표면을 포함한다. 미립자는 지름 100㎚ 이상의 입자를 포함하는 반면에, 나노입자는 지름 100㎚ 미만의 입자이다. 하나의 측면에서, 담체는 생체 혼화성이다.

[0106] 본원에 사용된 "중합체 담체"라는 용어는, 동일하거나 상이할 수 있는 몇몇의 결합된 화학부를 포함하는 분자를 의미하는 것으로서, 이것은 소수성 기 및/또는 보호 사슬이 결합되는 위치로서 사용된다.

[0107] 본원에 사용된 "비-단백질성 폴리아미노산"이라는 용어는, 인간에 의해 재조합 방식으로 조작되지 않는 한, 살아있는 유기체에 의해 천연 생산되지 않는 폴리아미노산을 의미하는 것이다. 이에 관한 비 제한적인 예로서는 폴리-(L 및/또는 D)-리신, 폴리-(L 및/또는 D)-글루타메이트, 폴리-(L 및/또는 D)-글루타메이트, 폴리-(L 및/또는 D)-아스파르테이트, 폴리-(L 및/또는 D)-세린, 폴리-(L 및/또는 D)-트레오닌, 폴리-(L 및/또는 D)-티로신 및 폴리-(L 및/또는 D)-아르기닌이 있다.

[0108] 본원에 사용된 "보호 측쇄(protective side chain)"라는 용어는, 사슬에 물이 과도하게 연결되거나 결합함으로 인하여, 담체 분자, 소수성 기 및 로딩 분자가 다른 거대 분자와 접촉하는 것을 막는 분자(들)를 의미한다. 이와 같이 물 분자와 과도하게 결합하기 때문에, 상기 보호 사슬은 또한 조성물의 수용성을 증가시킨다. 이는 또한 보호 사슬이 조성물에 친수성을 제공함을 의미하는 것이기도 하다. "보호 측쇄"라는 용어는, "친수성 사슬", "보호기" 및 "보호 사슬"과 호환되어 사용된다.

[0109] 본원에 사용된 "아미노화된"이란 용어는, 아미노기가 결합된 분자를 의미하는 것이다.

[0110] 도입

[0111] 부분적으로, 본 발명은 (i) 담체, (ii) 담체와 공유 결합된 소수성 기, (iii) 담체나 소수성 기에 공유 결합된 보호 측쇄, 그리고 (iv) 소수성 기에 결합된 로딩 분자를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 추가의 구체예에 있어서, 담체는 임의로 담체 또는 보호 측쇄에 공유 결합된 표적 분자를 함유할 수도 있다. 추가의 구체예에 있어서, 담체는 임의로 이 담체에 공유 결합된 배향 분자를 함유할 수도 있다.

[0112] 본 발명의 담체 조성물은, 중합체(들)가 상기 분자 구조의 형태로 자발적으로 조직화될 수 있을 경우, 선형 또는 분지형 구조물 또는 이의 접합체의 중합체 및 공중합체와, 미셀, 유액 및 고형 표면을 포함한다. 상기 담체는 기들이 탄화수소 사슬 또는 방향족 화합물을 포함하는 경우, 소수성 기가 공유 결합되어 있는 중합체 주쇄를 포함한다. 담체 및 로딩 분자의 소수성 부분은 수성 매질 또는 거의 수성인 매질 예를 들어, 생물 유체 내에서 서로 상호 작용한다. 소수성 기는 한 가지 이상의 탄화수소 분자 및/또는 방향족 분자(담체에 공유 결합된 분자)를 포함할 수 있다. 뿐만 아니라, 보호기는 로딩 분자가 소수성 기를 함유하는 담체에 결합하는 것을 한층 더 강화할 수도 있다. 로딩 분자는 유기 용매의 존재 또는 부재 하에 소수성 기와 결합한다. 하나의 바람직한

구체예에서, 소수성 부분은 탄화수소 사슬 예를 들어, $CH_3(CH_2)_xCO-$ 및 $C_6H_5(CH_2)_xCO-$ [식 중, x는 0~34]를 포함한다. 소수성-코어 담체로부터 분자를 용리 또는 추출하는데 사용될 수 있는 유기 용매로서는 아세토니트릴, 메탄올, 에탄올 및 프로판올을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 담체로부터 로딩 분자를 용리하는데 필요한 유기 용매의 양이 증가함은 곧, 결합이 강하다는 것을 의미한다. 유기 용매가 더욱 많이 필요할수록, 결합은 더욱 강하다는 의미이다. 본 발명의 하나의 구체예는 페닐 고리를 함유하는 소수성 기를 포함하는 담체에 관한 것이다. 특정 로딩 분자에 대한 담체에 결합되어 있는 소수성 기는 로딩 분자의 소수성에 의해 선택될 것이다. 예를 들어, 구형 단백질은 물로 된 환경에서는 구형을 이루는데, 그 이유는 구형이 열역학적으로 보다 안정하기 때문이다. 이와 같은 안정성은, 물이 단백질의 소수성 부분을 물에 노출되는 구의 표면으로부터 격리시키기 때문에 유지되는 것이다. 구형 단백질이 소수성 기를 포함하는 담체에 노출될 때, 구형 단백질의 형태는 변형되어, 구형 단백질의 코어가 소수성 부분과 상호 작용할 수 있도록 만들 것이다. 구의 크기가 클수록 단백질의 소수성은 더욱 커진다. 물로 이루어진 환경에서 긴 형태의 단백질은 구형 단백질보다 소수성이 떨어진다. 소수성 담체에 로딩 분자가 결합한다는 것은, 100배 이상의 등가 중량을 가지는 수성 용매로 세척한 후에도, 담체에 잔류할 수 있음을 의미하는 것이다. 만일 담체가 로딩 분자와 강력하게 결합하는 것이 바람직하면, 크기가 더 큰 소수성 기는 담체를 변형시키는데 더욱 많이 사용될 수 있다. 소수성 기를 포함하는 담체와 로딩 분자의 고 친화도 결합은 임의의 시점에서도 유리 로딩 분자(즉, 약물 또는 치료제)의 수준을 낮게 유지할 것이며, 로딩 분자의 보호 저장체를 제공할 것이다[즉, 담체 결합 로딩 분자는 저장체로서 사용될 것이다]. 이로써, 치료제의 투여 횟수가 줄어들게 될 것이다. 이는 또한 치료 효과를 나타냄과 동시에 고농도에서 독성을 나타내기도 하는, 낮은 농도로 사용되는 치료제에 유리하다. 본 발명은 또한 특정 치료 화합물에 대한 소수성-코어 담체를 제조 및 사용하는 방법을 제공한다.

[0113] 하나의 예에서, 본 발명의 조성물은 중합도가 2~10,000인 선형 폴리아미노산 주쇄 담체를 포함하는데, 이때, 상기 담체는 질량 300~20,000 Da인 메톡시폴리에틸렌글리콜(mPEG) 보호 사슬과 소수성 기가 공유 결합되어 있으며, 상기 사슬 및 소수성 기는 주쇄에 독립적으로 결합되어 있다. 다른 구체예에서, 담체의 중합도는 20~1,000이다. 또 다른 구체예에서, 담체의 중합도는 50~300이다. 본 발명의 소수성 기는 질소 및/또는 산소를 포함할 수도 있으며, 담체와 결합하기 이전에 전하를 가질 수 있는, 방향족 화합물 및 지방족 기를 포함할 수 있다. 그러나, 이와 같은 기와 담체 주쇄 중합체가 서로 공유 결합한 후, 전하는 사라지게 되며, 그 결과, 상기 기는 소수성이 된다. 이와 같은 소수성-코어 담체-보호기 조성물은 어느 정도 소수성을 가지는 로딩 분자와 결합할 것이다. 정제된 상태로 부가된 로딩 분자는 담체의 소수성 부분에 결합하여, 약물-전달 조성물에 대한 제형을 제공할 것이다. 이와 같이 소수성-코어 담체-보호기 복합체에 로딩 분자가 부가되는 과정 또는 이 복합체와 로딩 분자가 혼합되는 과정은 수용액 중에서 진행될 수 있으며, 임의로는 이후에 동결 건조될 수도 있다. 대안적으로, 상기 혼합 과정은 유기 용매와 물의 혼합물 중에서 수행될 수 있다. 상기 유기 용매는 물과 혼화성인 것이 바람직하다. 혼합 후, 상기 혼합물은 증발 또는 동결 건조에 의하여 건조될 수 있다(도 34). 건조된 혼합물은 물, 완충액 또는 약학적으로 허용 가능한 희석제 또는 부형제에 용해함으로써 투여용 제형으로 쉽게 제조될 수 있다. 일단 혈액이나 임의의 생물 유체 중에 있을 경우, 조성물 중 상기 로딩 분자는, 이 로딩 분자 및 소수성-코어 담체의 평형 결합 상수 또는 평형 해리 상수를 바탕으로 하여 방출될 것이다. 유리 로딩 분자의 농도는 담체 내에 로딩 분자 저장체가 존재하는 한 유지될 것이다. 혈액 단백질에 의한 방출의 예상 가속도는 보호기에 의해서 꽤 유의적인 수준으로 조절될 것이다. 뿐만 아니라, 단백질은 담체 내에 존재하는 소수성 부분의 수와 크기에 따라서 소수성-코어 담체로부터 느리게 방출될 수도 있고, 아니면 빠르게 방출될 수도 있다.

[0114] 소수성 기를 포함하는 로딩 분자의 결합은 어떤 소수성 기가 사용되었느냐에 따라서 조절된다. 일반적으로, 지방족 탄소 사슬이 길수록, 결합은 강해진다. 세포 상에 존재하는 표적 수용체에 대한 로딩 분자의 친화도는 또한 소수성 기의 선택에 대한 가이드로서 사용될 수 있다. 이상적으로, 담체 내에 존재하는 소수성 기에 대한 로딩 분자의 친화도는 생물학적 표적에 대한 로딩 분자의 친화도보다 낮아야 할 것이다. 용액 중, 유리 로딩 분자와 결합 로딩 분자 사이에는 평형 상태가 유지될 것이다. 소수성 기를 가지는 담체는 원하는 치료 농도와 균등한 농도의 유리 로딩 분자를 가지도록 디자인될 것이다.

[0115] 본 발명의 소수성-코어 담체는 활성 분자의 안정성, 가용성 및 분포도를 유의적 수준으로 증가시키는 약물 전달 시스템을 제공한다.

[0116] 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물에는 또한, 담체가 시험관 내 및 생체 내에서 표적 조직 및 기관 및 세포에 국소화하는 것을 촉진하는, 표적 분자가 공유 결합되어 있을 수도 있다. 더욱이, 소수성-코어 담체 조성물에는 또한 소수성 코어 내에 로딩 분자가 더욱 효과적으로 조직화하는 것을 촉진하는, 배향 분자가 공유 결합되어 포함될 수도 있다. 배향은 특정 단백분해효소에 감수성인 말단부(예를 들어, 글루카곤 유사 펩티드의 경우에는 디

펩티딜 펩티드 분해 효소 IV(DPP-IV)에 감수성인 N-말단)를 가지는 로딩 분자에 바람직하다. 단백분해효소에 감수성인 말단은 담체를 따라서 배향 분자를 배치함으로써, 담체 코어에 보다 가깝게 배치될 수 있다. 이와 같은 배향 분자는 본원에 참고용으로 인용되어 있는 특허(Bolotin, 미국 특허 제7,138,105호)에 개시된 바와 같이, 금속 이온 가교일 수 있다. 부가적으로, 로딩 분자를 함유하는 소수성 담체 조성물은 또한, 피하 투여 또는 경구 투여용인, 로딩 분자를 함유하는 소수성 담체 조성물 전체를 감싸주는 반투과성 막을 포함할 수도 있다. 상기 반투과성 막은 로딩 분자가 반투과성 막을 통과하는데 충분한 크기의 공극을 가지는 중합체 시트로 이루어질 수 있다. 본 발명의 다른 목적은 다양한 질병을 치료하기 위하여 이와 같은 반트과성 막을 제조 및 사용하는 방법을 제공하는 것이다.

[0117] 로딩 분자를 가지는 소수성-코어 담체 조성물은 그 크기가 수조 kDa에 달하여, 경구, 피하 및 국소 투여에 특히 적당한 겔-유사 조성물의 확장된 구조를 형성할 수 있다. 소형 소수성-코어 담체 조성물은 또한 겔을 형성하도록 제조될 수도 있다. 이는 친수성 보호 사슬 대 소수성 기의 중량 비가 17 이하인 소수성-코어 조성물을 제조함으로써 이루어질 수 있다. 예를 들어, 중합체 담체를 포함하는 조성물의 MPEG(보호 사슬) 대 C18 지방산(소수성 코어 형성)의 중량비가 10일 때, 겔이 형성될 것이다. 로딩 분자를 포함하는 소수성 담체 조성물은 또한 시트와 같은 형태의 구조를 가지도록 제조될 수도 있다. 이는, 소수성 기, 보호기 및/또는 배향 분자가 결합할 수 있는, 변형 가능한 작용기 예를 들어, 아미노, 카복실 또는 하이드록실 기를 가지는 시트 형태의 담체를 사용함으로써 가능할 수 있다. 이와 같이 로딩 분자 예를 들어, 응고 인자를 보유하는 소수성-코어 담체 시트는 응급 상황 및 전장에서 상처 치료용 붕대로서 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은, 로딩 분자가 항-감염 제제인 경우, 감염 치료용으로서 사용될 수 있다.

[0118] 담체

[0119] 본 발명의 담체는 로딩 분자와 차례로 상호 작용할 수 있는 소수성 기를 지지할 수 있는 임의의 물질일 수 있다. 본 발명의 담체는 소수성 기 및/또는 보호 사슬 결합용인 유도체화 또는 변형 가능한 작용기들을 다수 보유하여야 한다. 담체에 관한 비 제한적인 예로서는 중합체 및 공중합체, 미립자, 나노입자 및 고형 표면을 포함한다. 하나의 측면에서, 상기 담체는 생체 혼화성인 것이다.

[0120] *중합체 및 공중합체 담체*

[0121] 임의의 구체예에서, 본 발명의 조성물의 중합체 또는 공중합체 담체 예를 들어, 본 발명의 화학식 중 임의의 화학식으로 나타낸 반복 요소를 포함하는 담체의 분자량은 약 500~약 1,000,000 달톤 이상일 수 있거나, 또는 약 5,000; 10,000; 20,000; 30,000; 40,000; 또는 50,000 달톤, 더욱 구체적으로는 약 100,000 달톤 이상, 더더욱 구체적으로는 약 250,000 달톤 이상, 또는 500,000 달톤 이상이다. 수 평균 분자량(Mw)은 또한 매우 다양할 수 있으나, 일반적으로는 약 500~약 200,000 달톤, 또는 약 500~약 100,000 달톤, 또는 약 500~약 50,000 달톤의 범위 내일 수 있다. 하나의 구체예에서, Mw는 약 8,000~45,000 달톤으로 다양하다. 상기 중합체의 소정의 시료 내에, 다양한 분자량이 존재할 수 있다. 예를 들어, 상기 시료 내에 존재하는 분자들은 2, 5, 10, 20, 50, 100 배 또는 그 이상 상이한 분자량을 갖거나 평균 분자량이 2, 5, 10, 20, 50, 100 배 또는 그 이상 상이한 분자량을 가질 수 있다.

[0122] 분자량을 측정하는 하나의 방법으로서는, 겔 여과 크로마토그래피("GFC")(예를 들어, 혼합층 컬럼, CH_2Cl_2 용매, 산란 광 검출기 및 오프라인 dn/dc 사용)라고도 알려져 있는 겔 투과 크로마토그래피("GPC")가 있다. 다른 방법들도 당업계에 공지되어 있다.

[0123] 임의의 구체예에서, 상기 중합체가 가지는 본래의 점도는 일반적으로 40℃의 클로로포름 중에서 약 0.01~약 2.0 dL/g으로 다양하거나, 또는 약 0.01~약 1.0 dL/g이며, 때로는, 약 0.01~약 0.5 dL/g이다.

[0124] 하나의 구체예에서, 상기 담체는 폴리아미노산, 바람직하게는 비-단백질성 폴리아미노산, 폴리에틸렌이민, 천연 사카라이드, 아미노화 및 카복시화된 폴리사카라이드, 아미노화 및 카복시화된 올리고사카라이드, 설폰화된 폴리사카라이드, 설폰화된 올리고사카라이드, 아미노카복시화된 폴리사카라이드, 아미노카복시화된 올리고사카라이드, 카복시메틸화된 폴리사카라이드, 카복시메틸화된 올리고사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리아크릴산, 폴리알콜, 폴리비닐 알콜 및 폴리티올로 이루어질 수 있다. 이와 같은 담체 중합체 모두는 중합체의 특성을 본질적으로 변성시켜, 이 중합체가 가용성임과 동시에 소수성이 되도록 만드는, 소수성 기 또는 보호기와 결합하는데 사용될 수 있는, 아미노, 카복실, 하이드록실, 설폰산염 또는 티올 기를 보유한다.

[0125] 담체는 변형 가능한 작용기 예를 들어, 다가 염기, 폴리알콜 또는 다가 산 예를 들어, 폴리리신, 폴리세린, 폴리트레오닌, 폴리글리세롤, 폴리티로신, 폴리아스파르트산 또는 폴리글루탐산, 또는 카복시화된 폴리리신을 포

함하는 중합체로 이루어질 수 있다. 이와 같이 주쇄를 따라서 존재하는 반응성 작용기 또는 하전된 작용기들은 보호기 또는 소수성 기 또는 이의 유도체 또는 유사체와 화학 결합을 형성할 수 있으므로 유용하다. 이와 같은 작용기들은 또한 소형의 소수성 기로 캡핑(capping)되어, 담체의 주쇄로부터 전하를 제거하여, 이 담체 주쇄에 소수성을 제공할 수도 있다.

[0126] 폴리아미노산은 한 종류의 아미노산으로 이루어진 중합체이거나, 또는 2 이상의 종류의 상이한 아미노산으로 이루어진 중합체일 수 있으며, 또는 블록 공중합체일 수도 있다. 폴리아미노산은 절단 가능한 결합 예를 들어, S-S 결합에 의해 결합되어 있는 폴리아미노산을 포함할 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 폴리아미노산은 폴리-(L 및/또는 D)-리신, 폴리-(L 및/또는 D)-글루타메이트, 폴리-(L 및/또는 D)-글루타메이트, 폴리-(L 및/또는 D)-아스파르테이트, 폴리-(L 및/또는 D)-세린, 폴리-(L 및/또는 D)-트레오닌, 폴리-(L 및/또는 D)-티로신, 폴리-(L 및/또는 D)-아르기닌 또는 폴리-알파, 베타-(2-아미노에틸)-(L 및/또는 D)-아스파타미드일 수 있다. 이와 같은 중합체는 모두 소수성 기, 보호기 또는 배향 분자와 결합하는데 사용될 수 있는 아미노, 카복실, 하이드록실 또는 티올 기를 가지므로, 이 중합체가 가용성임과 동시에 소수성이 되도록 만들 수 있다. 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물의 폴리아미노산 담체는, 바람직하게는 5~560개의 아미노산 단위로 이루어질 수 있으며, 그 분자량은 500~100,000 달톤이고, 비-단백질성인 것이 바람직하다.

[0127] 아미노화된 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드 담체의 예로서는 폴리글루코사민(키토산) 및 폴리갈락토사민을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0128] 카복시화된 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드 담체의 예로서는 폴리글루론산 및 폴리갈락투론산을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0129] 중합체 담체의 추가 예로서는 카복시화 또는 카복시메틸화된 선형 폴리-L-리신(PL) 또는 폴리-D-리신; 카복시화 또는 카복시메틸화된 폴리-알파, 베타-(2-아미노에틸)-D,L-아스파타미드; 폴리-L-아스파르트산; 폴리-L-글루탐산, 히스티딘과 양 또는 음으로 하전된 아미노산의 공중합체, 카복시화된 폴리에틸렌이민, 즉, 탄산의 유도체와 반응하는 폴리에틸렌 이민; 카복실기를 보유하는 천연 사카라이드 또는 화학적으로 유도된 이의 생성물 예를 들어, 갈락투론산, 글루쿠론산, 만누론산, 히알루론산, 펙트산, 뉴라미닌산, 알긴산, 캐러기난; 산화된 덱스트란; 아미노화된(예를 들어, 아미노기를 함유하는) 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드(선형 또는 분지형); 카복실기, 아미노 카복실기, 카복시메틸기, 황산기, 아미노기 또는 인산염기의 결합으로 생성된, 폴리카복시화, 카복시메틸화, 황산화 또는 인산화된 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드, 예를 들어, 탄산, 중탄산, 황산, 아미노 황산, 인산의 유도체와 반응한 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드을 포함한다. 이러한 올리고사카라이드은 예를 들어, 덱스트란, 만난, 자일란, 풀루란, 셀룰로스, 키토산, 아가로스, 푸코이단, 갈락탄, 아라비난, 프럭탄, 탄, 푸칸, 키틴, 푸스툴란, 레반 또는 펙틴을 화학적으로 변형시켜 만들 수 있다. 뿐만 아니라, 이와 같은 폴리사카라이드 또는 올리고사카라이드은 단당 예를 들어, 글루코스, 갈락토스, 만노스, 갈락토스, 데옥시글루코스, 리보스, 데옥시리보스, 아라비노스, 푸코스, 자일로스, 자일룰로스, 리불로스, 폴리아미도아민의 이종 중합체 또는 단일 중합체(선형 또는 분지형); 폴리아크릴산; 카복실기 또는 아미노기가 화학적으로 결합된 폴리알콜 예를 들어, 폴리비닐 알콜 및 폴리자일리톨로 대표될 수 있다. 폴리아미노산의 분자량은 500 이상 및 100,000 이하인 것이 바람직하다. 분자량(MW) 분포가 넓은 폴리아미노산보다는 MW 분포가 좁은 폴리아미노산이 바람직하다. 폴리아미노산은 화학 합성법 또는 재조합 기술 예를 들어, 유전자 조작 기술에 의해 제조된다.

[0130] 다른 구체예에서, 담체로서 작용하는 중합체는 원격 말단부에 소수성 기가 존재하여, 로딩 분자 또는 활성 제제가 결합하는 위치를 형성하는 폴리(에틸렌 글리콜)(PEG)일 수 있다. 개략적으로, 본 발명의 구체예는 PEG-소수성 기-로딩 분자로서 표시될 수 있다. 대안적으로, PEG가 그것의 주쇄를 따라서 작용기화되면, 소수성 부분이 상기 주쇄에 현수될 수 있으며, 그 결과, 현수하고 있는 소수성 부분과 로딩 분자가 결합할 수 있게 된다. 이와 같은 작용기화는 또한 보호 사슬이 현수되도록 만들 수도 있다.

[0131] 다른 구체예에서, 담체로서 작용을 하는 중합체는 화학식 HO-PEG-[-$CH_2CH(OH)CH_2O$-]$_n$-PEG-OH (식 중, PEG는 폴리(에틸렌 글리콜)을 의미하며, n은 3~1000 사이의 정수임)인, 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함하는 폴리글리세롤일 수 있다.

[0132] 본 발명에 사용하기 적당한 중합체에 관한 부가 예에 관하여는 본원에 참고용으로 인용되어 있는 미국 특허 제6,509,323호; 동 제6,492,560호; 동 제6,468,532호; 동 제6,521,736호; 동 제6,348,069호; 동 제5,871,710호; 및 동 제 6,051,549호를 참조하시오.

[0133] 담체에 관한 다른 예는 약물-용리 스텐트(Drug-Eluting Stent)를 형성하는 스텐트의 표면일 수 있다.

[0134] *나노입자 및 미립자*

[0135] 본 발명에서 담체로서 사용될 수 있는 나노입자 및 미립자의 예로서는 질량 밀도(mass density) 1.0 g/㎤ 미만이거나 약 0.4 g/㎤ 미만인 다공성 입자를 포함한다. 상기 다공성 구조는 예를 들어, 비교적 지름이 큰, 예를 들어, 평균 지름이 5마이크론 이상인 치료제 에어로졸을 폐의 심부까지 전달할 수 있는 구조이다. 이와 같은 다공성 입자는 로딩 분자와 결합할 수 있는 소수성 기를 함유하도록 변형될 수 있다.

[0136] 다공성 입자는 약물을 전달하기 위하여, 생체 분해성 및 생체 혼화성인 것이 바람직하며, 임의로는 조절된 속도로 생체 분해될 수 있는 것일 수도 있다. 다공성 입자는 질량 밀도가 약 0.4g/㎤ 미만인 다공성 입자를 형성할 수 있는 임의의 물질로 이루어질 수 있다. 무기 물질 및 유기 물질 둘 다 사용될 수 있다. 예를 들어, 세라믹이 사용될 수 있다.

[0137] 입자는 임의의 생체 혼화성, 바람직하게는 생체 분해성 중합체, 공중합체 또는 배합체로부터 형성될 수 있는데, 이들 중합체, 공중합체 또는 배합체는 밀도 약 0.4g/㎤ 미만인 다공성 입자를 형성할 수 있다.

[0138] 표면 침식성 중합체 예를 들어, 다가 무수물이 다공성 입자를 형성하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 다가 무수물 예를 들어, 폴리[(p-카복시페녹시)-헥산 무수물]("PCPH")이 사용될 수 있다. 생체 분해성 다가 무수물에 관하여는 예를 들어, 미국 특허 제4,857,311호에 개시되어 있다.

[0139] 다른 구체예에서, 벌크(bulk) 침식성 중합체는 예를 들어, 폴리에스테르를 주성분으로 하는 중합체 예를 들어, 폴리(하이드록시산)일 수 있다. 예를 들어, 폴리글리콜산("PGA") 또는 폴리락트산("PLA") 또는 이것들의 공중합체가 다공성 입자를 형성하는데 사용될 수 있는데, 여기서, 상기 폴리에스테르는 하전되었거나 작용기화될 수 있거나 또는 변형 가능한 기 예를 들어, 이하에 기술된 바와 같은 아미노산이 내부에 통합되어 있다. 이와 같은 작용기화 가능한 기는 로딩 분자들과 결합할 수 있는 소수성 기를 함유하도록 변형될 수 있다.

[0140] 기타 중합체로서는 폴리아미드, 폴리카보네이트, 폴리알킬렌 예를 들어, 폴리에틸렌, 폴리프로필렌, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(산화에틸렌), 폴리(테레프탈산에틸렌), 폴리 비닐 화합물 예를 들어, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 에테르, 아크릴산과 메타크릴산의 중합체, 셀룰로스, 폴리사카라이드 및 펩티드 또는 단백질, 또는 질량 밀도 약 0.4g/㎤ 미만인 다공성 입자를 형성할 수 있는, 이것들의 공중합체나 배합체를 포함한다. 중합체는 생체 내 안정성과 분해 속도가 약물 전달 방식을 상이하게 조절하는데 적당한 것으로서 선택될 수 있거나, 또는 적당하게 변형될 수 있다.

[0141] 다른 예로서, 다공성 입자는 문헌[Hrkach외 다수, Macromolecules, 28:4736-4739 (1995); 및 Hrkach외 다수, "Poly(L-Lactic acid-co-amino acid) Graft Copolymers: A Class of Functional Biodegradable Biomaterials", Hydrogel and Biodegradable Polymers for Bioapplications, ACS Symposium Series No. 627, Raphael M. Ottenbrite외 다수, Eds., American Chemical Society, Chapter 8, pp. 93-101, 1996; 그 내용은 본원에 참고용으로 인용됨]에 개시된 바와 같이, 작용기화된 폴리에스테르 그라프트 공중합체로부터 제조될 수 있다. 작용기화된 그라프트 공중합체는 폴리에스테르의 공중합체 예를 들어, 폴리(글리콜산) 또는 폴리(락트산), 작용기화된 기 또는 이온화된 기를 포함하는 다른 중합체 예를 들어, 폴리(아미노산)이다. 다른 구체예에서, 내부에 아미노산이 통합된 선형 폴리에스테르 주쇄와, 폴리에스테르 주쇄 내 아미노기로부터 뻗은 폴리(아미노산) 측쇄를 포함하는 빗 모양의 그라프트 공중합체가 사용된다. 폴리에스테르는 α-하이드록시산의 중합체 예를 들어, 락트산, 글리콜산, 하이드록시부티르산 및 발레르산이나, 이의 유도체 또는 조합체일 수 있다. 당업계에 공지된 미립자 제조 기술 예를 들어, 용매 증발 기술을 이용하여, 중합체에 이온화 가능한 측쇄 예를 들어, 폴리리신을 포함시키면, 매우 다공성인 입자를 형성할 수 있는 것으로 파악되었다. 기타 이온화 가능한 기 예를 들어, 아미노기 또는 카복실기는 중합체에 공유적으로 또는 비 공유적으로 통합되어, 다공성을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 폴리아닐린은 중합체에 통합될 수 있었다. 이와 같은 기들은 로딩 분자와 결합할 수 있는 소수성 기를 함유하도록 추가로 변형될 수 있다.

[0142] 다공성 중합체 입자를 형성하는데 사용될 수 있는 대표적인 폴리에스테르 그라프트 공중합체로서는, 폴리(락트산-코-Z-L-리신)(PLAL)로 이루어진 폴리에스테르 주쇄에 리신 사슬이 그라프트되어 존재하는 그라프트 공중합체, 폴리(락트산-코-리신-그라프트-리신)("PLALLys")이 있다. PLAL-Lys은 주쇄의 조성이 예를 들어, 98mol% 락트산 및 2mol% 리신이고, 폴리(리신) 측쇄가 주쇄의 리신 위치로부터 뻗어 나온, 빗 모양의 그라프트 공중합체이다.

[0143] 폴리(락트산) 공중합체는 체 내에서 락트산과 리신으로 생체 분해될 수 있으므로, 상기 폴리(락트산) 공중합체를 사용하는 것이 유리하다. 현존하는 주쇄 리신기는 폴리(아미노산) 측쇄의 성장을 개시하는 위치로서 사용된다.

[0144] 합성중, 그라프트 공중합체는 다음과 같은 다공성 입자의 상이한 특징들을 최적화하도록 조작될 수 있다: i) 전달시 제제를 안정화시키고 활성을 유지시키기 위한, 전달될 제제와 공중합체 사이의 소수성 상호 작용; ii) 중합체 분해 속도 즉, 약물 방출 속도 프로필; iii) 화학 변형을 통한 표면 특징 및 표적 용량; 그리고 iv) 입자의 다공성. 본 발명에 적당한 나노입자와 미립자의 부가 예에 관하여는, 미국 특허 제6,447,753호 및 동 제6,274,175호를 참조하시오.

[0145] *고형 지지체*

[0146] 임의의 구체예에서, 본 발명에 사용되는 담체는 고형 지지체 예를 들어, 중합체 비드 또는 수지 예를 들어, 왕(Wang) 수지일 수 있다. 지지체는 강도를 갖는 고체 예를 들어, 실리콘 및 플라스틱등일 수 있다. 지지체는 또한 가요성 물질 예를 들어, 플라스틱 또는 합성 물질(예를 들어, 나일론), 천연 중합체(예를 들어, 셀룰로스 또는 실크) 또는 이의 유도체(예를 들어, 니트로셀룰로스) 등으로 이루어진 물질일 수도 있다. 임의의 구체예에서, 상기 지지체는 단단하거나 가요성일 수 있는 다공성 물질 및 상호 맞물린 섬유 예를 들어, 직물이다. 몇몇 구체예에서, 상기 고형 지지체는 다공성일 수 있는 비드 또는 펠릿이다.

[0147] 담체는 가요성 반고체 중합체로 이루어질 수 있다. 가요성이란, 구부러졌다가 원래 모양으로 회복되는 과정을 반복할 수 있는 특성이다. 가요성 중합체로 제조된 담체는, 이 담체가 전달될 부위의 인접 기관이나 체벽이 움직이게 될 해부학적 부위에 배치되기에 적당하다. 그러므로, 가요성 담체는 조직에서 손상되지 않으면서도, 움직이는 조직에 의해 충분히 변형될 수 있다. 가요성은, 담체가 원래 존재하던 위치로부터 이동할 수 있을 경우 손상되는 것을 방지하는데 특히 유리하다. 이와 같은 가요성 담체는 박동성 혈관 예를 들어, 목 부위의 경동맥으로 이동하거나, 또는 국부적인 움직임에도 영향받을 수 있는 목 부위의 보다 섬세한 구조 예를 들어, 경정맥으로 이동하는데 적당할 수 있다. 이와 유사하게, 가요성 담체는 목 부위를 절개할 때 노출되는 신경, 예를 들어, 척추 부신경을 보호하는데 사용될 수 있는데, 이 경우, 담체의 가요성은, 신경에 침식되어 들어가거나 또는 이 신경을 손상시키기보다는 움직일 때 담체가 구부러지거나 변형될 수 있도록 만들 수 있다. 전술한 방식으로 본 발명에 의한 담체를 사용하면, 기능에 중요한 구조를 외과적으로 보존하면서, 그다지 깊숙이 절개할 필요도 없게 된다. 담체는 특정의 해부학적 부위에 이식하는데 적당한 3차원 구조로서의 형태를 가질 수 있다. 담체는 필름, 메쉬, 시트, 튜브 또는 특정 해부학적 부위에 대한 치수 요건과 기능 요건에 적당한 기타 임의의 형태로서 형성될 수 있다. 중합체의 물리적 특성은, 당업자에게 익숙한 방법을 이용하여 화학 성분 및 이의 가교를 변형시킴으로써, 원하는 정도의 가요성을 가지도록 바꿀 수 있다.

[0148] 반응 위치를 가지는 고형 지지체 담체를 제조하는 한 가지 방법으로서는 고형 지지체를 직접 유도체화하는 방법이 있는데, 이를 통하여 화합물이 커플링될 수 있다. 이에 사용된 화학적 방법은 조절형 다공질 유리(controlled pore glass)(cpg) 비드 및 중합체 비드를 유도체화하는데 사용되는 것과 동일하거나 유사한 것일 수 있다. 통상적으로, 이러한 과정의 첫 번째 단계는, 하이드록실기(이 하이드록실기가 원래부터 지지체 상에 존재하지 않는 경우) 또는 아미노기를 지지체 상에 형성시키는 것이다. 만일 하이드록실기가 존재하거나 형성되었다면, 예를 들어, 하이드록실기와 감마-아미노프로필 트리에톡시 실란의 반응을 통하여, 이 하이드록실기는 통상적으로 아미노기로 전환된다. 소수성 기는 무수물, 시클릭 산 무수물, 활성화 에스테르와 함께 아미노기에 부가되거나, 중합체화된 산화알킬렌과 반응하거나, 아니면 기타 당업계에 공지된 방법에 의해서 생성될 수 있다.

[0149] 고형 지지체 담체의 반응성 표면 영역을 증가시키는 방법으로서는, 예를 들어, SiO를 열 증착시킴으로써 일산화규소의 구조를 컬럼형으로 만드는 것이 있다. 기타 방법으로서는, 반응 직물 예를 들어, 부직 유리 또는 플라스틱(바람직하게는 유리 섬유 또는 폴리프로필렌 섬유) 직물에 삽입하여, 이 직물을 플라스마 처리함으로써 반응 위치를 형성시키는 것이 있다. 또 다른 방법에서는 스핀-온 유리(spin-on glass)를 사용하는데, 이로써, 열 산화에 의해 실-세스퀴옥산 래더 중합체 구조(sil-sesquioxane ladder polymer structure)로부터 거의 화학 양론적인 SiO로 이루어진 박막이 생성된다. 졸-겔 방법을 통해서는, 우선, 혼합 알콜 중에서 중합체 유기 금속 구조를 형성한 다음, 조심스럽게 건조 및 베이킹(baking)함으로써, 유기 금속 개시 물질로부터 유리-유사 조성물로 된 박막이 생성된다. 졸-겔 시스템이 용액의 임계 온도 및 임계 압력 이상의 온도 및 압력에서 건조될 때, 에어로겔이 생성된다. 에어로겔은 유리(예를 들어, SiO)와 유사한 화학 조성을 가지지만, 매우 다공성인 미세 구조를 갖는 것이다. 이 에어로겔의 밀도는 비교적 낮은데, 몇몇 경우에 있어서는, 공기와 비슷하게 고체 조성의 약

1～3%에 불과하다.

[0150] 소수성 기와 담체에의 결합

[0151] 소수성 기와 보호기를 결합시키는데 사용되는 화학 결합의 유형은 복합체 및 이 복합체와 결합된 치료제의 원하는 생물학적 반감기에 따라서 달라질 것이다. 만일 반감기가 긴 것을 원한다면, 에테르나 아미드 결합이 바람직할 것이며, 에스테르 결합은 생물 유체나 조직 내에서의 반감기가 짧은 담체용으로서 사용될 것이다. 특정 로딩 분자에 원하는 안정성을 부여하기 위해서는 상기 양 화학 결합을 혼합하여 이용할 수 있다. S-S 결합은 또한 구체적인 목적에 따라서 원하는 반감기를 얻는데 사용될 수도 있다.

[0152] 화학 결합은 담체나 주쇄를 따라서 노출되어 존재하는 변형 아미노기를 포함할 수 있다. 변형된 아미노기는 지방산으로부터 유래하는 알킬아실, 또는 방향족 알킬산으로부터 유래하는 방향족 알킬아실(일반식 [CxHyOz] (식 중, x는 2～36이고; y는 3～71이며; z는 1～4임))을 포함하는 소수성 작용기의 아미드 결합으로서, 이다. z가 1인 경우가 바람직한데, 이는 아미노기와 아미드 결합을 형성하는데 필요한 최소 값이다. 그러나, 아미드 결합을 형성하기 전, 출발 분자의 z는 1보다 클 수 있다.

[0153] 소수성 작용기는 2개의 말단에 일반식 [-OC(CH_2)$_x$CO-] 또는 [-OC(CH_2)$_x$CN-] (식 중, x는 2～36임)인 소수성 알킬기를 포함할 수 있으며, 또한 소수성 기의 다른 쪽 말단에 공유 결합되어 있는 보호기, 이의 유사체 또는 유도체를 포함할 수도 있다. 이 경우, 유리 아미노기가 존재하지 않거나 변형이 부분적일 때, 즉, 변형의 정도가 50～100%, 더욱 바람직하게는 90～100%일 때, 아미노기의 변형은 완료될 수 있다. 뿐만 아니라, 잔류하는 아미노기는 추가로 변형되어, 보호기는 포함하지 않고 소수성 부분만 함유할 수 있다. 결과로 생성된 조성물은 또한 본 발명의 구체예 중 하나에 해당한다.

[0154] 본 발명의 다른 목적은, 소수성 기를 아미노기를 가지는 담체에 일렬로 결합시키는 방법을 제공하는 것이다. 이와 같은 변형법은 아미드 결합을 형성시킴으로써 이루어질 수 있다. 본 발명의 범위를 제한하지 않는 예로서, 카복실 함유 소수성 분자는, 카보디이미드 함유 시약 예를 들어, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 또는 디시클로헥실카보디이미드를 사용하여 담체의 아미노기에 결합될 수 있다. 카보디이미드 시약은 화학식 N=C=N인 작용기를 함유한다. 커플링 반응이 진행되는 동안, 활성화된 카복실기 (O-아실이소우레아-중간체)는 N-하이드록시숙신이미드를 사용하여 N-하이드록시숙신이미드 에스테르를 형성함으로써 안정화될 수도 있다. 이와 같이 비교적 안정한 중간체는 담체 예를 들어, 폴리리신 또는 키토산의 아미노기dhk 반응하여, 아미노-아실 결합 또는 아미드 결합을 형성할 수 있다.

[0155] 소수성 기를 결합시키는 다른 방법으로서는 지방산 무수물과 담체의 아미노기를 반응시키는 것이 있다. 예를 들어, 담체 아미노기와 팔미트산 무수물의 반응을 통하여, 16개의 탄소를 포함하는 장쇄 소수성 기를 형성할 수 있다. 이러한 방식으로, 임의의 지방산 무수물이 사용될 수 있다.

[0156] 본 발명의 다른 목적은, 소수성 기를 카복실기를 가지는 담체에 일렬로 결합시키는 방법을 제공하는 것이다. 이와 같은 변형법은 아미드 결합을 형성시킴으로써 수행될 수 있다. 본 발명의 범위를 제한하지 않는 예로서, 담체의 카복실기는 소수성 기의 아미노 작용기와 반응하도록 활성화될 수 있다. 활성화는 카보디이미드 함유 시약 예를 들어, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 또는 디시클로헥실카보디이미드를 사용함으로써 이루어질 수 있다. 카보디이미드 시약은 화학식 N=C=N인 작용기를 함유한다. 활성화 과정이 진행되는 동안, 카복실기는 N-하이드록시숙신이미드에 의해 임의로 안정화되어, N-하이드록시숙신이미드 에스테르를 형성할 수 있는 O-아실이소우레아-중간체를 형성한다. 이와 같이 비교적 안정한 중간체는 소수성 기의 아미노기와 반응할 수 있다. 만일 소수성 기 또는 분자가 아미노기를 가지지 않는다면, 아미노기는 이 분자에 매우 용이하게 도입될 수 있으며, 이때의 화학 반응은 당업자에게 널리 알려져 있다.

[0157] 본 발명의 다른 목적은 소수성 기를 하이드록실기를 가지는 담체에 일렬로 결합시키는 방법을 제공하는 것이다. 이와 같은 하이드록실기의 변형법은 지방산, 카복실 방향족 탄화수소 또는 디카복실 알킬의 아실 할로겐화물을 합성함으로써 촉진될 수 있다. 아실 할로겐화물의 합성은 카복시산 부분과 디클로로설폭시드($SOCl_2$) 또는 당업자에게 공지된 기타 시약을 반응시킴으로써 이루어질 수 있다. 결과로 생성된 아실 할로겐화물은 폴리아미노산 예를 들어, 폴리세린, 폴리트레오닌 및 폴리티로신에 존재하는 잔기의 알콜 작용기와 반응성을 갖는다. 이러한 반응은 소수성 기 또는 분자를 담체에 결합시키는 에스테르 결합을 형성시킬 것이다.

[0158] 담체의 길이 방향을 따라서 에스테르 결합을 형성함으로써 소수성 기를 결합시키는 또 다른 방법으로서는, 지방산 무수물과 담체의 하이드록시기를 반응시키는 것이 있다. 예를 들어, 담체 하이드록시기와 팔미트산 무수물을

반응시키면, 16개의 탄소를 포함하는 장쇄인 소수성 기를 형성한다. 이러한 방식으로 임의의 지방산 무수물이 사용될 수 있다.

[0159] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 노출된 변형 카복실기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 중합체 담체 내에 존재하는 카복실기의 변형법으로서는, 일반식 [NwCxHyOz] (식 중, w는 1~6이고; x는 2~36이며; y는 3~74이고; z는 0~10임)인, 질소 함유 탄화수소 사슬 또는 지방산 에스테르(또는 아미드) 또는 질소 함유 방향족 탄화수소(에스테르 또는 아미드 결합을 보유할 수 있음)를 포함하는 소수성 작용기를 아미드 공유 결합시키는 방법이 있는데, 여기서, 담체나 주쇄에 결합시킨 후, 결과로 생성되는 부분은 전하를 갖지 않을 것이며, 또한 비극성이므로 소수성일 것이다.

[0160] 본 발명은 또한 담체나 주쇄를 따라서 노출된 변형 카복실기를 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 한데, 여기서, 상기 중합체 담체 내에 존재하는 카복실기의 변형법으로서는, 일반식 $[-NC(CH_2)_xCN-]$ 또는 $[-NC(CH_2)_xCO-]$ (식 중, x는 2~36임)인, 소수성 알킬기가 2개의 말단에 존재하며, 소수성 기의 다른 말단부에 보호기, 이의 유사체 또는 유도체가 추가로 공유 결합되어 있는, 소수성 작용기를 아미드 공유 결합시키는 방법이 있다. 이 경우, 담체를 따라서 존재하는 아미드기를 변형시키는 방법은, 유리 아미노기가 존재하지 않거나 변형이 부분적일 때, 즉, 변형의 정도가 50~100%, 더욱 바람직하게는 90~100%일 때, 종결될 수 있다. 뿐만 아니라, 잔류하는 아미노기는 추가로 변형되어, 보호기는 포함하지 않고 소수성 부분만 함유할 수 있다. 결과로 생성된 조성물은 또한 본 발명의 구체예 중 하나에 해당한다.

[0161] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 변형 하이드록실기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 하이드록실기의 변형법으로서는, 일반식 [CxHyOz] (식 중, x는 2~36이고; y는 3~74이며; z는 0~10임)인, 지방산 유래 알킬아실 또는 방향족 알킨산 유래 방향족 알킬아실 탄화수소를 포함하는 소수성 작용기를 에테르 또는 에스테르 공유 결합시키는 방법이 있는데, 여기서, 담체나 주쇄에 결합시킨 후, 결과로 생성되는 부분은 전하를 갖지 않을 것이며, 또한 비극성이므로 소수성일 것이다.

[0162] 본 발명은 또한 담체나 주쇄를 따라서 변형된 하이드록실기가 존재하는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 한데, 여기서, 상기 중합체 담체 내에 존재하는 하이드록시기의 변형법으로서는, 일반식 $[-OC(CH_2)_xCO-]$ 또는 $[-OC(CH_2)_xCN-]$ (식 중, x는 2~36임)인, 소수성 알킬기가 2개의 말단에 존재하며, 소수성 기의 다른 말단부에 보호기, 이의 유사체 또는 유도체가 추가로 공유 결합되어 있는, 소수성 작용기를 에스테르 공유 결합시키는 방법이 있다. 이 경우, 담체를 따라서 존재하는 아미드기를 변형시키는 방법은, 유리 하이드록시기가 존재하지 않거나 변형이 부분적일 때, 즉, 변형의 정도가 50~100%, 더욱 바람직하게는 90~100%일 때, 종결될 수 있다. 뿐만 아니라, 잔류하는 하이드록시기는 추가로 변형되어, 보호기는 포함하지 않고 소수성 부분만 함유할 수 있다. 결과로 생성된 조성물은 또한 본 발명의 구체예 중 하나에 해당한다.

[0163] 본 발명은 또한 담체나 주쇄를 따라서 노출된 변형 아미노기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 조성물에 관한 것이기도 하다. 중합체 담체 내에 존재하는 아미노기의 변형법으로서는, 일반식 [NwCxHyOz] (식 중, w는 0~6이고; x는 2~36이며; y는 3~74이고; z는 1~10임)인, 아실 지방산을 포함하는 소수성 작용기, 또는 아실 방향족 탄화수소를 아미드 공유 결합시키는 방법이 있다.

[0164] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 노출된 변형 카복실기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 조성물에 관한 것이기도 하다. 중합체 담체 내에 존재하는 카복실기의 변형법으로서는, 일반식 [NwCxHyOz] (식 중, w는 1~6이고; x는 2~36이며; y는 3~74이고; z는 0~10임)인, 질소 함유 탄화수소 사슬 또는 지방산 에스테르(또는 아미드) 또는 질소 함유 방향족 탄화수소(에스테르 또는 아미드 결합을 보유할 수 있음)를 포함하는 소수성 작용기를 아미드 공유 결합시키는 방법이 있는데, 여기서, 담체나 주쇄에 결합시킨 후, 결과로 생성되는 부분은 전하를 갖지 않을 것이다. 상기 소수성 기의 예로서는 비타민 E, 비타민 A, 비타민 D, 비타민 K 및 이의 유사체 또는 유도체가 있다.

[0165] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 변형 하이드록실기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 조성물에 관한 것이기도 하다. 하이드록실기의 변형법으로서는, 일반식 [CxHyOz] (식 중, x는 2~36이며; y는 3~74이고; z는 0~10임)인, 아실 지방산, 또는 아실 방향족 탄화수소를 포함하는 소수성 작용기를 에스테르 공유 결합시키는 방법이 있는데, 여기서, 담체나 주쇄에 결합시킨 후, 결과로 생성되는 부분은 전하를 갖지 않을 것이다.

[0166] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 노출된 비 변형 아미노기를 추가로 포함하며 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 조성물에 관한 것이기도 하며, 여기서, 소수성은 주로 상기 보호 사슬에 의해 제공된다.

[0167] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 노출된 비 변형 카복실기를 추가로 포함하며 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 조성물에 관한 것이기도 하며, 여기서, 소수성은 주로 상기 보호 사슬에 의해 제공된다.

[0168] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 비 변형 하이드록실기를 추가로 포함하며 보호 사슬을 가지는 중합체 담체를 포함하는 조성물에 관한 것이기도 하며, 여기서, 소수성은 주로 상기 보호 사슬에 의해 제공된다.

[0169] 소수성 기와 보호기를 결합시키는데 사용되는 화학 결합의 유형은 복합체 및 이 복합체와 결합된 치료제의 생물학적 반감기에 따라서 달라질 것이다. 만일 반감기가 긴 것을 원한다면, 아미드 결합이 바람직할 것이며, 에스테르 결합은 생물 유체 또는 조직 내에서의 반감기가 짧아야 하거나 안정하여야 하는 담체용으로서 사용될 것이다. 전달될 특정 치료제의 안정성을 원하는 수준으로 만드는데 있어서, 상기 양 화학 결합은 혼합 이용될 수 있다. S-S 결합은 의도로 하였던 치료용 및 진단용으로서 유용할 담체의 원하는 특성을 얻는데 사용될 수 있다.

[0170] 로딩 분자

[0171] 본 발명은 또한 로딩 분자를 포함하는 소수성-코어 조성물을 포함하는데, 여기서, 상기 로딩 분자는 치료제 또는 진단제 중 어느 하나이다. 치료제 로딩 분자로서는 시토킨, 림포카인, 호르몬, 호르몬 작동제, 호르몬 길항제, 항생제, 진통제, 독소, 광-독소, 세포 활성 억제제, 세포 독성 제제, 향 정신병 제제, 스테로이드 소염제, 비 스테로이드 소염제, 면역 억제제, 항 박테리아 제제, 항바이러스 약물, 항진균성 약물, 킬레이트화제, 비타민, 단백분해효소 억제제, 구충제, 아미노글리코시드, 폴리믹신, ACE 억제제를 포함한다. 이와 같은 로딩 분자는 단백질, 항체, 항체 단편, 펩티드, 재조합 펩티드, 식물로부터 분리된 펩티드, 진균으로부터 분리된 펩티드, 동물로부터 분리된 펩티드, 박테리아로부터 분리된 펩티드, 바이러스로부터 분리된 펩티드, 배양액 중 세포로부터 분리된 펩티드, 합성 펩티드, 펩티도 모의체, 유기 화합물, 합성 유기 화합물, 식물로부터 분리된 유기 화합물, 진균으로부터 분리된 유기 화합물, 동물로부터 분리된 유기 화합물, 박테리아로부터 분리된 유기 화합물, 바이러스로부터 분리된 유기 화합물, 배양액 중 세포로부터 분리된 유기 화합물, 유기 금속 화합물, 데옥시리보핵산, 리보핵산, 올리고뉴클레오티드, 기타 핵산, 올리고사카라이드, 탄수화물; 지질; 광-감작 유기 화합물 및 프로테오글리칸일 수 있다.

[0172] 상기 치료제 로딩 분자의 비제한적인 예로서는 글루카곤 유사 펩티드, 글루카곤 유사 펩티드 유도체, 엑세나티드, 글루카곤 유사 펩티드-1, 글루카곤 유사 펩티드-2, 렙틴 단편, 억제성 위 폴리펩티드(GIP), 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드, EGF, 전환 성장 인자 알파(TGF-알파), 베타셀룰린, 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드, 가스트린, 콜레시스토키닌, 리소스타핀, 인터페론, 인터페론 감마, 인터페론 베타(예를 들어, 인터페론-베타 1, 인터페론-베타 2), 인터페론 알파(예를 들어, 인터페론 알파-2a 또는 인터페론 알파-2b), 인터루킨-1, 인터루킨-2, 인터루킨-4, 인터루킨-6, 인터루킨-8, 인터루킨-10, 인터루킨-12, 종양 괴사 인자, 종양 괴사 인자 알파, 종양 괴사 인자 베타, 오리스타틴, 니신, 인슐린, 인슐린 유사 성장 인자, 인슐린 유사 성장 인자 1, 성장 호르몬, 인간 성장 호르몬, 성장 호르몬 방출 호르몬(GHRH), 신경 성장 인자, 뇌 유래의 향신경성 인자, 효소, 엔도스타틴, 안지오스타틴, 트롬보스폰딘, 유로키나제, 스트렙토키나제, 혈액 응고 인자 VII, 혈액 응고 인자 VIII, 과립구-대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 과립구 콜로니 자극 인자(G-CSF), 혈소판 형성 인자, 칼시토닌, 부갑상선 호르몬(PTH) 및 이의 단편, 적혈구 형성 촉진 인자, 심방 나트륨 이뇨성 인자, 모노클로날 항체, 모노클로날 항체 단편, 소마토스타틴, 단백분해효소 억제제, 아드레노코르티코트로핀, 고나도트로핀 방출 호르몬, 옥시토신, 황체 형성 호르몬 방출 호르몬, 여포 자극 호르몬, 글루코세레브로시다제, 혈소판 형성 인자, 필그라스팀, 프로스타글란딘, 에포프로스테놀, 프로스타사이클린, 사이클로스포린, 바소프레신, 터리프레신, 데스모프레신, 크로몰린 나트륨(나트륨 또는 이나트륨 크로모글리케이트), 혈관활성 장 펩티드(VIP), 반코마이신, 항미생물제, 폴리믹신 b, 항진균제, 항바이러스제, 푸제온(Fuzeon)(엔푸버타이드), 독소루비신, 에토포시드, 펩타닐, 케타민, 비타민, 댑토마이신, 지코노티드, 테리파라티드, 헤마티드, 조직 인자 경로 억제제(TFPI), 데스페록사민(DFO), 옥시토신, 사이클로스포린, 헤마티드, 조직 인자 경로 억제제(TFPI), 인테그릴린(엡티피바티드) 등이 있다.

[0173] 상기 로딩 분자는 또한 설폰아미드 예를 들어, 설폰아미드, 설파메톡사졸 및 설파세타미드; 특히, 설파메톡사졸과 함께 사용되는 트리메토프림; 퀴놀린 예를 들어, 노르플록사신 및 시프로플록사신; 베타-락탐 화합물 예를 들어, 페니실린 예를 들어, 페니실린 G, 페니실린 V, 암피실린, 아목시실린, 이미페넴, 아즈트레오남 및 피페라실린; 세팔로스포린 예를 들어, 세팔로스포린 C, 세팔로틴, 세폭시틴 및 세프타지디임; 베타 락타마제 억제제 예를 들어, 클로불란산; 아미노글리코시드 예를 들어, 겐타마이신, 아미카신, 토브라마이신, 네오마이신, 카나

마이신 및 네틸미신; 테트라사이클린 예를 들어, 클로르테트라사이클린 및 독시사이클린; 클로람페니콜; 마크롤리드 예를 들어, 에리트로마이신; 또는 각종 항생제 예를 들어, 클린다마이신, 폴리믹신 및 바시트라신; 폴리엔계 항생제 예를 들어, 암포테리신 B, 니스타틴 및 하마이신; 플루사이토신; 이미다졸 또는 트리아졸 예를 들어, 케토코나졸, 미코나졸, 이트라코나졸 및 플루코나졸; 그리세오풀빈(진균으로 인한 질병 예를 들어, 아스퍼질러스증, 칸디다증 또는 히스토플라스마증); 항-바이러스 약물 예를 들어, 지도부딘, 어시클로버, 겐싸이클로버, 비다라빈, 이독수리딘, 트리플루리딘 및 리바비린(바이러스성 질병); 아스피린, 페닐부타존, 페나세틴, 아세타미노펜, 이부프로펜, 인도메타신, 술린닥, 피록시캠, 디클로페낙; 금 및 스테로이드 소염제(염증성 질병 예를 들어, 관절염); ACE 억제제 예를 들어, 캡토프릴, 에날라프릴, 리시노프릴, 퀴니딘, 프로카인아미드, 리도카인, 엔카이니드, 프로프라놀롤, 에스몰롤, 브레틸리움, 베라파밀 및 딜티아젬(심부정맥 치료용); 로보스타틴, 리피터, 클로피브레이트, 콜레스트리아민, 프로부콜 및 니코틴산(고지단백혈증 치료용); 유기 질산 예를 들어, 아질산아밀, 니트로글리세린 및 이질산 이소소비드; 칼슘 통로 차단제 예를 들어, 딜티아젬, 니페디파인 및 베라파밀; 베타 아드레날린 작용성 길항제 예를 들어, 프로프라놀롤(심혈관 질환용); 이뇨제 예를 들어, 티아지드; 예를 들어, 벤조티아디아진 또는 루프형 이뇨제 예를 들어, 푸로세미드; 교감 신경 차단제 예를 들어, 메틸도파, 클로니딘, 구나벤즈, 구아나에티딘 및 레서핀; 혈관 확장제 예를 들어, 하이달라진 및 미녹시딜; 안트라사이클린 예를 들어, 독소루비신, 도노루비신 및 이다루비신; 공유 DNA 결합 화합물, 공유 DNA 결합 화합물 및 백금 화합물 예를 들어, 시스플라틴 및 카보플라틴; 엽산 길항제 예를 들어, 메토트렉세이트 및 트리메트렉세이트; 대사 길항 물질 및 피리미딘 길항제 예를 들어, 플루오로우라실, 5-플루오로우라실 및 플루오로데옥시우리딘; 대사 길항 물질 및 퓨린 길항제 예를 들어, 머캡토퓨린, 6-머캡토퓨린 및 티오구아닌; 대사 길항 물질 및 당 변형 유사체 예를 들어, 시타라빈 및 플루다라빈; 대사 길항 물질 및 리보뉴클레오티드 환원 효소 억제제 예를 들어, 하이드록시우레아; 공유 DNA 결합 화합물 및 질소 머스타드 화합물 예를 들어, 사이클로포스파미드 및 이포스파미드; 공유 DNA 결합 화합물 및 설폰산알칸 예를 들어, 부설판; 니트로소우레아 예를 들어, 카머스틴; 공유 DNA 결합 화합물 및 메틸화제 예를 들어, 프로카바진; 공유 DNA 결합 화합물 및 아지리딘 예를 들어, 미토마이신; 비 공유 DNA 결합 화합물; 비 공유 DNA 결합 화합물 예를 들어, 미토잔트론 및 블레오마이신; 크로마틴 기능 억제제 및 토포이소머라제 억제제 예를 들어, 에토포시드, 테니포시드, 캠프토테신 및 토포테칸; 크로마틴 기능 억제제 및 미세소관 억제제 예를 들어, 빈카 알칼로이드 예를 들어, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈디신 및 파클리탁셀, 탁소텔 또는 기타 탁산; 내분비선 기능에 영향을 미치는 화합물 예를 들어, 프레드니손, 프레드니솔론, 타목시펜, 루프롤리드, 에티닐 에스트라디올, 항체 예를 들어, 허셉틴; 유전자 예를 들어, p-53 유전자, p 16 유전자, MIT 유전자 및 유전자 E-카데린, 콜로니-자극 인자 예를 들어, 과립구 콜로니-자극 인자(G-CSF), 대식세포 콜로니-자극 인자(M-CSF) 및 과립구 대식세포 콜로니-자극 인자(GM-CSF); 올-트랜스 레티논산(all-trans retinoic acid) 또는 기타 레티노이드(암 치료용); 면역 억제제 예를 들어, 사이클로스포린, 면역 글로불린 및 설파사진, 메톡살렌 및 탈리도이미드; 인슐린 및 글루카곤(인슐린-부족 당뇨병); 칼시토닌 및 알렌드론산 나트륨(골다공증, 고 칼슘혈증 및 파젯병 치료용); 모르핀 및 관련 아편 유사제; 메페리딘 또는 이성체; 메타돈 또는 이성체; 아편 유사제 길항제 예를 들어, 날로핀; 중심 활성 진해제(centrally active antitussive agent) 예를 들어, 덱스트로메트로판; 테트라하이드로칸나비놀 또는 마리놀, 리도카인 및 부피비카인(통증 조절); 클로로프로마진, 프로클로르페라진; 칸나비노이드 예를 들어, 테트라하이드로칸나비놀, 부티로페논 예를 들어, 드로페리돌; 벤자미드 예를 들어, 메토클로프라미드(오심 및 구토증 치료용); 헤파린, 쿠마린, 스트렙토키나제, 조직 플라스미노겐 활성화 인자(t-PA)(혈액 응고 억제제, 항 혈전 용해 약물 또는 항 혈소판 약물); 헤파린, 설파살라진, 니코틴 및 부신피질성 스테로이드 및 종양 괴사 인자-알파(염증성 장 질환 치료용); 니코틴(흡연 중독증 치료용); 성장 호르몬, 성장 호르몬 방출 호르몬(GHRH), 황체 형성 호르몬, 부신 피질 자극 호르몬 및 소마토트로핀(호르몬 요법); 및 아드레날린(일반적인 아나필랙시스)일 수도 있다.

[0174] 로딩 분자로서는 또한 메틸잔틴 예를 들어, 테로필린; 크로몰린; 베타-아드렌기닌성 작동제(adrenginic agonist) 예를 들어, 알부테롤 및 테트라부탈린; 항 콜린 작용성 알칼로이드 예를 들어, 아트로핀 및 브롬화 이파트로피움; 부신피질성 스테로이드 예를 들어, 프레드니손, 베클로메타손 및 덱사메타손(천식 또는 염증성 질환); 전술한 바와 같은 항 박테리아 제제 및 항진균제(폐질환 환자에 있어서 박테리아 및 진균에 의한 감염 방지용)[여기서, 질병으로서는 전술한 질병 이외에도 폐질환이 포함된다는 의미에서 특별하며 상기 폐질환으로서는, 구체적으로, 아미노글리코시드(예를 들어, 아미카신, 토브라마이신 및 젠타마이신), 폴리믹신(예를 들어, 폴리믹신 E, 콜리스틴), 카복시실린(티카실린) 및 모노박탐(그램-음성 항 박테리아 감염 환자 예를 들어, 낭포성 섬유증 환자 치료용, 결핵 환자에 있어서 그램 음성 박테리아 감염 치료용, 만성 기관지염 및 기관지 확장증 환자에 있어서 그램 음성 박테리아 감염 치료용, 그리고 일반적으로 면역 반응이 올바로 작용하지 않는 환자에 있어서 그램 음성 박테리아 감염 치료용)을 사용하여 치료하는 질환; 뉴모사이티스 카리니(Pneumocytis

carinii) 감염 환자(예를 들어, HIV/AIDS 환자) 치료용 펜타미딘을 사용하여 치료하는 질환; 폴리엔 항생제 예를 들어, 암포테리신 B, 니스타틴 및 하마이신; 플루사이토신; 이미다졸 또는 트리아졸 예를 들어, 케토코나졸, 마이코나졸, 이트라코나졸 및 플루코나졸; 그리세오풀빈(아스퍼질러스증, 칸디다증 및 히스토플라스마증, 특히, 폐로부터 기원하거나 폐로 확산되는 진균 감염 치료용)을 사용하여 치료하는 질환; 전술한 바와 같은 코르티코스테로이드 및 기타 스테로이드, 그리고 비 스테로이드 소염 약물(폐질환 환자에 있어서 염증성 병상 치료용)을 사용하여 치료하는 질환[여기서, 상기 질병으로서는 전술한 질병 이외에도 폐질환이 포함된다는 의미에서 특별함]; DNase, 아밀로리드, CFTRcDNA(낭포성 섬유증 치료용); 알파-1-항트립신 및 알파-1-항트립신 cDNA(폐기종 치료용); 아미노글리코시드 예를 들어, 아미카신, 토브라마이신 또는 겐타마이신, 이소니아지드, 에탐부톨, 리팜핀 및 이의 유사체(결핵 또는 마이코박테리아 감염 치료용); 리바비린(호흡기 세포 융합 바이러스 감염 치료용)을 사용하여 치료하는 질환; 전술한 폐암용 항암제 구체적으로 시스플라틴, 카보플라틴 및 탁산 예를 들어, 파틀리탁셀 및 탁산, 캠프토테신, 토포테신 및 기타 캠프토테신, 허셉틴, p-53 유전자를 사용하여 치료하는 질환을 포함함]를 추가로 포함할 수도 있다.

[0175] 본 발명에 있어서 로딩 분자로서 사용하기에 적당한 생물학적 활성 치료제로서는 그 자체는 위장관 점막을 통과하지 못하고(또는 투여량의 일부만 통과하고)/못하거나 화학 물질 및/또는 효소에 의한 절단(위장관에 있어서 산 및 효소에 의한 절단)에 영향을 받는 화합물들; 또는 이의 임의의 조합을 포함한다. 그 예로서는, 단백질, 폴리펩티드; 펩티드; 호르몬; 폴리사카라이드 및 구체적으로, 무코-폴리사카라이드 및 이의 혼합물을 포함한다.

[0176] 추가의 구체예에서, 본 발명은 전술한 조성물에 관한 것으로서, 여기서, 로딩 분자 중 하나 이상은 중합체 담체의 소수성 기에 결합된다.

[0177] 추가의 구체예에서, 본 발명은 전술한 조성물에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 진단제이다. 그 예로서는, 형광 분자, 상자성 분자 및 방사능 분자를 포함한다.

[0178] 본 발명의 또 다른 목적은, 충분한 양의 로딩 분자와 소수성-코어 담체를 적당한 용매 중에서 혼합하고, 임의로는 상기 로딩 분자와 소수성-코어 담체를 함께 동결 건조시킴으로써, 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물에 로딩 분자를 담지하는 방법을 제공한다. 로딩 분자의 충분한 양은 로딩 분자에 따라서 달라질 수 있으나, 바람직하게는 소수성-코어 담체의 1~400 중량%일 수 있다.

[0179] 본 발명에 개시된 조성물을 문헌[PDR 또는 Physician Desk Reference (2001년 출판, Medical Economics Company, Inc. Montvale, NJ)에 개시된 것으로부터 선택된 적당한 로딩 분자와 함께 사용하여, 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy"(1992년 출판, Merck & Co., Inc의 자회사인 Merck Laboratories, Rahway, NJ)]에 개시된 바와 같이 다양한 질병을 치료하는 방법을 제공하는 것도 본 발명의 목적이다. 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 PDR]은 본원에 참고용으로 인용되어 있다. 특정 질병에 대한 로딩 분자의 적합성은 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 PDR]을 검토함으로써 확인할 수 있다.

[0180] 보호 사슬 또는 보호기

[0181] 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물 및 이를 제조 및 사용하는 방법을 통하여, 보호 사슬에 의해 제공되는 다수의 원하는 결과 및 특징들을 얻을 수 있는데, 이와 같은 결과 및 특징들 중 하나 이상(존재할 경우)은 본 발명의 임의의 특정 구체예에 존재할 수 있다. 본 발명의 조성물의 보호 사슬은 산화에틸렌 (폴리(에틸렌 글리콜)의 중합체 즉, PEG 또는 폴리(에틸렌 글리콜)의 모노-메톡시 에테르 즉, MPEG의 중합체인 것이 바람직하다. 보호 사슬은 다음과 같은 이유에서 유용하다: 1) 상기 보호 사슬은 조성물의 가용성을 보장함과 동시에, 예를 들어, GLP-1과 같은 약물의 담지량을 높게 유지시키므로, 상기 조성물의 가용성이 감소하기 이전에 담체에 상기 약물을 30 중량% 이상 담지할 수 있으며; 2) 상기 보호 사슬은 로딩 분자(펩티드, 단백질 및 기타 치료제)가 체내 다른 거대 분자, 효소 및 세포와 결합하거나 상호 작용하는 것을 막아줄 수 있는 입체 장벽(steric barrier)을 형성하는 것을 도우며; 3) 상기 보호 사슬은 (예를 들어, 신장에서의 사구체에 의해 여과되는 양, 신장 및 간에 의해 흡수되는 양, 그리고 대식세포에 의해 흡수되는 양 등을 줄이기 위하여) 생체 내 순환 시간과 생물학적 반감기가 긴 로딩 분자(펩티드 및 단백질 및 약물)를 제공할 수 있으며, 그 결과, 순환형 데포(circulating depot)를 생성할 수 있으며; 4) 상기 보호 사슬은 담체 및 이의 로딩 분자 예를 들어, 펩티드 또는 단백질 약물의 바람직하지 않은 면역원성을 감소시키고; 5) 종양 혈관의 이상 투과성으로 인하여, 종양 치료에 특히 유용한 로딩 분자 또는 항종양 화합물이 종양으로 전달됨으로써, 종양 또는 염증 위치 내에 담체가 담지 분지와 함께 축적되는 것을 도와주며; 6) 상기 보호 사슬은 또한 결합 세기를 한층 더 증강시킬 수 있고; 또한 7) 상기 보호 사슬은 점막과의 상호 작용으로 인하여, 표면 예를 들어, 점막 표면과 결합할 수 있도록 만들어 준다.

[0182] 소수성-코어 담체 조성물의 보호 사슬은 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜, 메톡시폴리에틸렌 글리콜, 메톡시폴리프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 메톡시폴리에틸렌 글리콜 또는 메톡시폴리프로필렌글리콜의 공중합체, 또는 이의 유도체일 수 있다. 뿐만 아니라, 상기 보호 사슬은 폴리에틸렌 글리콜과, 폴리아미노산, 폴리사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리에틸렌아민 또는 폴리뉴클레오티드로 이루어진 군 중 어느 하나와의 블록 공중합체일 수 있다. 상기 보호 사슬은 또한 디카복시산의 모노에스테르를 포함하는 폴리에틸렌 글리콜의 공중합체일 수도 있다. 상기 보호 사슬은 또한 시알산 사슬일 수 있다. 상기 보호 사슬의 분자량은 500~10,000 달톤인 것이 바람직하다.

[0183] 기타 관련 측면에 있어서, 탄화수소-코어 담체 조성물은 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜과 폴리프로필렌 글리콜의 공중합체; 또는 이의 알콕시 유도체, 바람직하게는 메톡시폴리에틸렌 글리콜, 메톡시폴리프로필렌 글리콜, 또는 메톡시폴리에틸렌 글리콜과 메톡시폴리프로필렌글리콜의 공중합체인 보호 사슬을 포함하며; 상기 보호 사슬은 폴리에틸렌 글리콜 모노아민, 메톡시폴리에틸렌 글리콜 모노아민, 메톡시 폴리에틸렌 글리콜 히드라진, 메톡시 폴리에틸렌 글리콜 이미다졸리드 또는 폴리에틸렌 글리콜 이염기산일 수 있고; 상기 보호 사슬은 폴리에틸렌 글리콜과, 폴리아미노산, 폴리사카라이드, 알콕시화 폴리사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리에틸렌아민 또는 폴리뉴클레오티드로 이루어진 군 중 어느 하나와의 블록 공중합체이며; 상기 보호 사슬은 디카복시산의 모노에스테르를 포함하는 폴리에틸렌 글리콜의 공중합체일 수 있고; 상기 보호 사슬의 분자량은 500~10,000 달톤이다.

[0184] 상기 보호 사슬에 관한 추가의 예로서는 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리(에틸렌 글리콜)과, 폴리아미노산, 폴리-락티드글리콜리드 공중합체, 폴리사카라이드, 폴리아미도아민, 폴리에틸렌이민 또는 폴리뉴클레오티드(중합체 담체 참조)로 대표되는 하나 이상의 중합체의 이미다졸리드 블록 공중합체를 포함하며, 여기서, 이들 블록은 바람직한 선형 블록 공중합체를 제공하는 바람직한 대안이 된다. 보호 사슬의 전체적인 분자량은 300보다는 큰 것이 바람직하지만, 10,000을 넘지 않는 것이 바람직하다. 보호 사슬(들)은 바람직하게는 하나의 결합에 의해 중합체 담체에 결합된다.

[0185] 보호 사슬을 결합시키기 위한 담체의 아미노기 변형

[0186] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 노출된 변형 아미노기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 소수성 기 또는 분자를 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 중합체 담체를 따라서 진행되는 아미노기 변형의 비 제한적인 예로서는 아실 폴리메톡시옥시에틸렌글리콜을 포함하는 보호 사슬의 아미드 결합이 있다. 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아닌, 보호 사슬에 관한 예로서는 화학식 $-CO(CH_2)_nCOOCH_2CH_2-A-OR_3$ 또는 $-COCH_2-A-OR_3$ (식 중, n은 2~22이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250개의 유닛으로 이루어져 있으며, 상기 R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이고, p는 0~7임)으로서 표시될 수 있는, 아실 PEG, 이의 유사체 또는 유도체가 있다.

[0187] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 변형 아미노기를 포함하는, 중합체 담체 또는 소수성 기를 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 전술한 바와 같은 조성물에 관한 것인데, 여기서, 상기 담체는 보호 측쇄를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 알콕시 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜)(MPEG)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리시알산을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(아크릴아미드)를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(비닐피롤리돈)을 포함한다. 이것들은 전술한 화학 결합 중 임의의 결합을 이용하여 중합체 담체에 결합할 수 있다.

[0188] 본 발명의 다른 목적은 담체에 보호 사슬을 결합시키는 방법을 제공하는 것이다. 이러한 변형은 아미드 결합을 형성함으로써 이루어질 수 있다. 본 발명의 범위를 제한자고자 하는 것은 아닌 예로서, 카복실 함유 보호 분자는 카보디이미드 함유 시약 예를 들어, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 또는 디시클로헥실카보디이미드를 사용하여 담체의 아미노기에 결합될 수 있다. 카보디이미드 시약은 화학식 N=C=N인 작용기를 함유한다. 커플링 반응이 진행되는 동안, 활성화된 카복실기 O-아실이소우레아-중간체는 N-하이드록시숙신이미드를 이용하여 N-하이드록시숙신이미드 에스테르를 형성함으로써 안정화될 수 있다. 이와 같이 비교적 안정한 중간체는 담체 예를 들어, 폴리리신 또는 키토산의 아미노기와 반응하여, 아미노-아실 결합 또는 아미드 결합을 형성할 수 있다. 알데히드 함유 보호기와 담체를 따라서 존재하는 아미노기를 반응시키면 유사한 결과를 얻을 수도 있

다. 알데히드는 담체 예를 들어, 폴리리신 또는 키토산의 아미노기와 반응하여, 아미노-아실 결합 또는 아미드 결합을 형성할 수 있다.

[0189] 보호 사슬을 결합시키기 위한 담체의 카복실기의 변형

[0190] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 노출된 변형 카복실기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 소수성 기 또는 분자를 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 중합체 담체 내에서 진행되는 카복실기 변형으로서는, 아미노 폴리메톡시옥시에틸렌글리콜을 포함하는 보호 사슬 함유 아미노기의 아미드 공유 결합이 있다. 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아닌, 보호 사슬에 관한 예로서는 화학식 $-NH(CH_2)_nNHCOCH_2-A-OR_3$, $-NH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_nCOOCH_2CH_2-A-OR_3$ (식 중, n은 2~22이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임)임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250개의 유닛으로 이루어져 있으며, 상기 R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이고, p는 0~7임)으로서 표시될 수 있는, 아미노 PEG가 있다.

[0191] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 변형 아미노기를 포함하는, 중합체 담체 또는 소수성 기를 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 전술한 바와 같은 조성물에 관한 것인데, 여기서, 상기 담체는 보호 측쇄를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 알콕시 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜)(MPEG)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리시알산을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(아크릴아미드)를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(비닐피롤리돈)을 포함한다. 이것들은 전술한 화학 결합 중 임의의 결합을 이용하여 중합체 담체에 결합될 수 있다.

[0192] 본 발명의 다른 목적은 담체에 보호 사슬을 결합시키는 방법을 제공하는 것이다. 이러한 변형은 아미드 결합을 형성함으로써 이루어질 수 있다. 본 발명의 범위를 제한자고자 하는 것은 아닌 예로서, 담체의 카복실기는 활성화되어 보호 분자의 아미노 작용기와 반응할 수 있다. 상기 활성화는 카보디이미드 함유 시약 예를 들어, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)-카보디이미드 또는 디시클로헥실카보디이미드를 사용하여 이루어질 수 있다. 카보디이미드 시약은 화학식 N=C=N인 작용기를 함유한다. 활성화가 진행되는 동안, 상기 카복실기는 N-하이드록시숙신이미드를 이용하여 N-하이드록시숙신이미드 에스테르를 형성함으로써 안정화될 수 있는 O-아실이소우레아-중간체를 형성한다. 이와 같이 비교적 안정한 중간체는 보호 분자의 아미노기와 반응할 수 있다. 담체에 도입되어야 하는 보호기 또는 보호 분자가 아미노기를 가지지 않는다면, 상기 아미노기는 이 분자에 매우 용이하게 도입될 수 있으며, 이러한 과정은 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0193] 보호 사슬을 결합시키기 위한 담체의 하이드록실기의 변형

[0194] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 변형 하이드록실기를 추가로 포함하는, 중합체 담체 또는 소수성 기 또는 분자를 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 이와 같은 하이드록실기 변형으로서는 아실 폴리메톡시옥시에틸렌글리콜을 포함하는 보호기 또는 보호 분자를 에스테르 결합시키는 것을 포함한다. 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아닌 예로서, 상기 보호기는 아실기 또는 카보닐기(-CO로 표시됨)를 가지며, 담체의 하이드록실기의 O에 결합되어 에스테르를 형성하는 PEG일 수 있다. 아실 PEG 또는 이의 유도체는 화학식 $-CO(CH_2)_nNHCOCH_2-A-OR_3$, $-COCH_2CH_2-A-OR_3$ 또는 $-COCH_2-A-OR_3$ (식 중, n은 2~22이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임)임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$ 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250개의 유닛으로 이루어져 있으며, 상기 R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이고, p는 0~7임)으로서 표시될 수 있다.

[0195] 본 발명은 또한 중합체를 따라서 변형 하이드록실기를 포함하는, 중합체 담체 또는 소수성 기를 가지는 중합체 담체를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 것이기도 하다. 추가의 구체예에서, 본 발명은 전술한 바와 같은 조성물에 관한 것인데, 여기서, 상기 담체는 보호 측쇄를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 알콕시 폴리(에틸렌 글리콜)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 메톡시 폴리(에틸렌 글리콜)(MPEG)을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리시알산을 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(아크릴아미드)를 포함한다. 추가의 구체예에서, 상기 보호 측쇄는 폴리(비닐피롤리돈)을 포함한다. 이것들은 전술한 화학 결합 중 임의의 결합을 이용하여 중합체 담체에 결합될 수 있다.

[0196] 본 발명의 다른 목적은 담체에 보호 사슬을 결합시키는 방법을 제공하는 것이다. 이와 같은 하이드록실기의 변형은 보호 분자의 아실 할로겐화물을 합성함으로써 촉진될 수 있다. 아실 할로겐화물의 합성은, 보호 분자의 카복시산 부분과 디클로로설폭시드($SOCl_2$) 또는 기타 당업자에게 공지된 시약을 반응시켜 진행될 수 있다. 결과로 생성된 아실 할로겐화물은 폴리아미노산의 세린, 트레오닌 및 티로신 잔기를 포함하는 알콜에 반응성이다. 이 반응을 통하여, 담체에 보호기 또는 보호 분자를 본질적으로 결합시키는 에스테르 결합이 형성될 것이다. PEG-에폭시드, PEG-이소시아네이트, PEG-PNC(PEG-니트로페닐카복시에스테르)는 각각 보호기와 담체 사이에 에테르, 에스테르 및 우레탄 결합을 형성하는 하이드록실기를 변형시키는데 사용될 수 있는 PEG 유사체이다.

[0197] 배향 분자

[0198] 본 발명의 또 다른 목적은 담체 또는 담체와 보호기에 공유 결합된 소수성 기, 소수성 상호 작용에 의해 소수성 분자에 결합된 로딩 분자, 그리고 담체에 공유 결합되어 있으며, 로딩 분자와 결합하여 소수성 기의 내부에 로딩 분자를 배향 또는 배치하는 배향 분자를 포함하는 소수성-코어 담체를 제공하는 것이다. 상기 배향 분자는 로딩 분자를 인지하는 수용체 또는 펩티드일 수 있거나, 또는 본원에 참고용으로 인용되어 있는 문헌[Bolotin, 공개 번호: US 200310224974 A1]에 개시된 바와 같이 금속 이온 가교를 포함하는 복합체일 수도 있다. 금속 이온 가교는 금속 이온과 배위 결합하고 있는 제1 금속 결합 도메인을 가지는 담체를 포함한다. 상기 금속 이온은 또한 제2 금속 결합 도메인을 통하여 로딩 분자에 추가로 배위 결합되어 있다. 상기 배향 분자는 또한 중합체 담체에 공유적으로 고정된 아미노 부분 또는 카복실 부분일 수도 있다. 배향 분자는 또한 예를 들어, 황산염, 설폰산염, 인산염, 포스폰산염 또는 비스포스폰산염 함유하는 분자, 또는 질소 함유 화합물 예를 들어, 리신, 아르기닌 및 히스티딘과 같이 양으로 또는 음으로 하전될 수도 있다(몇몇 비 제한적인 예를 이룸).

[0199] 표적 분자

[0200] 본 발명의 또 다른 목적은 담체 또는 담체와 보호기에 공유 결합된 소수성 기, 소수성 상호 작용에 의하여 소수성 분자에 결합된 로딩 분자, 그리고 약학 조성물이 목적 조직에 국소화되는 것을 촉진하는 표적 분자를 포함하는 약학 조성물을 제공하는 것이다.

[0201] 상기 표적 기는 중합체 담체 또는 보호 사슬 또는 둘 다에 결합될 수 있다. 표적 기는 항체, 항체 단편, 키메라 항체(여기서, 항체는 폴리클로날 또는 모노클로날 항체일 수 있음); 펩티드; 효소; 효소의 유사 기질; 렉틴; 또는 조성물에 이탈 가능하도록 또는 이탈 불가능하도록 결합되는 렉틴의 당 리간드, 효소, 렉틴, 당 리간드 또는 펩티드 단편일 수 있다.

[0202] 상기 표적 부분은 환자의 체내에서 표적과 매우 가까운 부위로 본 발명의 조성물을 운반하는 역할을 한다. 이러한 방식으로, 본 발명은 표적 제제 또는 분자를 임의로 사용할 수도 있는 것이다.

[0203] 상기 표적 부분의 예로서는 (i) 주화성 단백질 및 펩티드 예를 들어, 단핵구 주화성 단백질 1(MCP-I), N-포르밀-메티오닐-루실-페날라닌; (ii) 콜로니-자극 인자 예를 들어, GM-CSF, CSF-1 및 이의 수용체와 이에 대한 항체; 그리고 혈소판 인자 4; (iii) 성장 인자 예를 들어, TGF-f1 및 VEGF; (iv) 부착성 세포-표면 당 단백질 예를 들어, E-셀렉틴, VCAM-1 및 VCAM1f1; (v) 탄수화물 예를 들어, 11C-데옥시-D-글루코스 및 IsF-2-플루오로데옥시-D-글루코스; (vi) 혈관 염증 반응 성분 예를 들어, C1, C1q, C1r, C1s, C2, C3, C3a, C3b, C4, C4C2, C4C2C3b, C5a, C5b 및 C5a; (vii) 인터루킨 예를 들어, IL-1, IL-1a, IL-10, IL-2, IL-3, IL-6, IL-7 및 IL-8; (viii) 인터페론 예를 들어, 인터페론 a 및 인터페론 y; (ix) 종양 괴사 인자 TNF-a; 그리고 (x) 지질 예를 들어, 리포좀, 폴리에틸렌 글리콜 코팅된 리포좀, 콜레스테롤, 콜레스테롤의 에스테르, 지단백질 예를 들어, LDL, HDL, 산화 LDL 및 지질 수용체를 포함한다.

[0204] 소수성-코어 담체 조성물

[0205] 로딩 분자를 가지는 소수성-코어 담체 조성물에 관한 하나의 구체예는 도 1에 도시되어 있다. 이는 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니며, 오히려 본 발명의 중요한 몇몇 특징들을 나타내는 것이다. 소수성-코어 담체 조성물의 성분들과 로딩 분자의 크기 규모는 본 발명의 조성물에 존재하는 화학 결합의 길이를 바탕으로 하여 계산된다. 이 구체예에 있어서, 로딩 분자는 상기 조성물의 소수성 부분에 흡착될 것이며, 또한 담체로부터 방사상으로 뻗어나온 선형 보호 사슬에 의해 보호될 것이다. 상기 보호 사슬은 담체에 독립적으로 결합될 수 있으며, 또는 소수성 분자의 말단에 결합될 수 있다. 전자의 경우, 상기 보호 사슬은 다양한 방식으로, 바람직하게는 아미드 결합 또는 에스테르 결합에 의해서 상기 담체에 결합될 수 있다. 후자의 경우, 상기 보호 사슬은 소수성 기 바람직하게는 상기 소수성 기의 말단 부분에 결합될 수 있다. 상기 소수성 기는 또한 바람직하게는 아미드 결합 또는 에스테르 결합에 의해 상기 담체에 결합된다. 상기 로딩 분자는 수성 환경에서 강하게 결속시

켜 줄 수 있는 소수성 상호 작용에 의하여 상기 소수성-코어 담체의 소수성 부분에 가역적으로 결합된다. 간단히 상기 로딩 분자와 상기 소수성-코어 담체를, 소수성-코어 담체:로딩 분자의 비율 약 1:0.1~1:10(중량:중량)으로 혼합함으로써, 상기 로딩 분자를 상기 소수성-코어 담체에 담지할 수 있다. 상기 혼합 과정은 로딩 분자의 특성에 따라서, 물이나 인산염 완충 염수 중에서 수행되는 것이 바람직하며, 임의로는 이후에 동결 건조될 수 도있다. 임의로, 기타 부형제가 상기 복합체에 부가되어 pH, 강장성 및 점성을 조절할 수 있다. 치료를 필요로 하는 환자에게 상기 복합체 내 특정 로딩 분자를 투여하기 위해서, 소수성-코어 담체-로딩 분자 복합체 중 공지의 양만큼을 부분적으로 동결 건조할 수 있다. 동결 건조된 복합체는, 질병 예를 들어, 인슐린-부족 당뇨병, 혈관 질환, 심장 질환, 졸중, 혈관 내 혈병, 암, 간암, 신장암, 결장암, 췌장암, 폐암, 내분비선 암, 갑상선 암, 연조직 종양, 설암, 골암, 백혈병, 흑색종, 림프종, 호지킨 림프종, 비 호지킨 림프종, 간염, A형 간염, B형 간염, 비 A형 간염, 비 B형 간염, C형 간염, 알츠하이머병, 파킨슨병, 정신 질환, 정신 분열증, 쌍극성 장애, 내분비 질환, 고혈압, 저혈압, 응고 인자 결핍증, 기생충에 의한 질환, 진균 감염, 박테리아 감염, 스타필로코커스 감염, 바실러스 감염, 괴사성 감염, 괴저, 중독, 박테리아 독소에 의한 중독 및 독액에 의한 중독을 치료하기 위해 환자에게 투여할 경우, 염수나 물에 재구성될 수 있다. 본 발명의 소수성-코어 담체-로딩 분자 복합체로 치료될 수 있는 질병으로서는 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" (1992년 출판, Merck & Co., Inc의 자회사인 Merck Laboratories, Rahway, NJ)]에 개시된 바와 같은 다양한 질병을 포함하는데, 이때, 적당한 로딩 분자는 문헌[PDR 또는 Physician Desk Reference (2001년 출판, Medical Economics Company, Inc. Montvale, NJ)]에 지시된 바에 따라서 선택된다. 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 "PDR"]은 본원에 참고용으로 인용되어 있다. 특정 질병에 대한 로딩 분자의 적합성은 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 PDR]을 검토함으로써 확인할 수 있다.

[0206] 소수성-코어 담체에 대한 로딩 분자의 친화도는, 소수성 사슬의 길이를 바꿔주고, 방향족 기의 크기, 소수성 사슬의 수 또는 방향족 기의 수를 조정함으로써 맞출 수 있다. 본 발명의 소수성-코어 담체는 각각의 소수성 기에 대해 보호 사슬을 가질 수 있으며, 그 결과 소수성 기의 길이는 기당 0.3㎚일 수 있다. 만일 보호기의 수가 적으면(2개 이상의 소수성 기당 하나의 보호기), 모든 소수성 기 사이의 간격은 0.15㎚일 수 있는데, 이 간격은 꽤 긴 편에 속한다. 각각의 소수성 기는 2~36개의 탄소 사슬을 가질 수 있으므로, 원한다면, 로딩 분자와 소수성-코어 담체의 결합 여부를 결정하는 탄소의 담지 양을 상당 수준 늘릴 수 있다. 담체에 결합된 소수성 기의 밀도를 증가시킴으로써 고 친화 소수성-코어 담체를 디자인할 수 있다. 길이가 긴 사슬의 소수성 기를 중합체 담체 상에 존재하는 사용 가능 위치 모두에 배치함으로써 담지 양을 최대로 만들 수 있는데, 그 이유는 보호기에 대한 위치가 남아있지 않을 것이므로, 상기 보호기가 소수성 기의 말단부에 결합될 것이기 때문일 것이다. 이는 다음과 같은 분자들 중 임의의 것의 한쪽 말단을, 아미노화된 PEG 유도체 또는 유사체 중 임의의 것의 다른 쪽 말단 및 담체에 결합시킴으로써 이루어질 수 있다: 부탄디온산 ($HOOC(CH_2)_2COOH$), 펜탄디온산 ($HOOC(CH_2)_3COOH$), 헥산디온산 ($HOOC(CH_2)_4COOH$), 헵탄디온산 ($HOOC(CH_2)_5COOH$), 옥탄디온산 ($HOOC(CH_2)_6COOH$), 노난디온산 ($HOOC(CH_2)_7COOH$), 데칸디온산 ($HOOC(CH_2)_8COOH$), 운데칸디온산 ($HOOC(CH_2)_9COOH$), 도데칸디온산 ($HOOC(CH_2)_{10}COOH$), 운데칸디온산 ($HOOC(CH_2)_{11}COOH$), 도데칸디온산 ($HOOC(CH_2)_{12}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{13}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{14}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{15}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{16}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{17}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{18}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{19}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{20}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{21}COOH$), 또는 ($HOOC(CH_2)_{22}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{23}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{24}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{25}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{26}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{27}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{28}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{29}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{30}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{31}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{32}COOH$), ($HOOC(CH_2)_{33}COOH$), 또는 ($HOOC(CH_2)_{34}COOH$). 이는 도 2에 개략적으로 나타낸 반응을 통하여 이루어질 수 있다. 폴리아미노기가 변형될 때, 과량의 이염기산이 사용되어, 상기 이염기산의 양쪽 말단이 폴리아미노 담체와 반응하지 않도록 막아야 한다. 미반응 이염기산은 아미노화 PEG, 이의 유사체 또는 유도체를 첨가하기 이전에 제거되어야 한다. 디카복시산 소수성 분자의 양쪽 말단에 아미드 결합이 형성될 것인데, 이때 한쪽 말단은 담체와 결합되며, 다른 쪽 말단은 보호기와 결합된다. 예를 들어, $H_2N(CH_2)_xNH_2$ (식 중, x는 4~36임)과 같이, 디아미노알칸을 소수성 기로 사용할 경우에도 유사한 과정이 진행될 수 있다. 디아미노알칸은 도 2에 도시된 반응을 이용하여, 카복실기를 함유하는 담체에 결합될 수 있다. 대안적으로, 이종 2 작용성 소수성 부분 예를 들어, $HOOC(CH_2)_xNH_2$ (식 중, x는 4~36임)는, 담체에 대한 소수성 기의 양쪽 말단에서 부 반응이 일어날 가능성을 없애는데 사용될 수 있다. 만일 이 시약이 사용되면, 폴리글루탐산 담체 또는 폴리아스파르트산 담체는 예비 활성화 형태로서 사용될 수 있다. 카복실기를 가지는 담체의 예비 활성화는 도 2에 도시된 바와 같이 진행될 수 있다. 과량의 활성화 시약이

여과 또는 겔 여과 크로마토그래피에 의해 제거된 후, 이종 2 작용성 소수성 기 예를 들어, $HOOC(CH_2)_xNH_2$ (식 중, x는 4~36임)와의 반응이 일어날 수 있다. 활성화 제제를 제거하기 위한, 막 여과법 및 겔 여과 크로마토그래피가 당업자에게 공지되어 있다. 상기 이종 2 작용성 소수성 부분 중 임의의 것은 상기 예비 활성화 담체에 부가되어, 담체의 아미노기와 카복실기 예를 들어, 폴리글루탐산 또는 폴리아스파르트산 사이에 아미드 결합을 형성할 수 있다. 이후, 반응 혼합물은 다시 여과되어, 과량의 이종 2 작용성 소수성 부분을 제거할 수 있게 된다. 이후, 상기 결합된 소수성 부분의 카복실기는 (담체의 활성화와 유사한 방식으로) 활성화될 수 있으며, 일단 활성화되면, 이후 아미노기 함유 보호기 유사체 또는 유도체가 부가되어 아미드 결합이 형성될 수 있다. 결과로 생성된 생성물은 담체 주위에 소수성 기를 고밀도로 가질 것이다. 소수성 사슬의 길이가 길면 담체 주위의 소수성 기의 밀도와 부피도 상당히 증가한다. 부분들을 담체에 결합시키면(전술한 바와 동일한 과정에 의함) 상기 밀도는 더욱 증가할 수 있으며, 그 결과, 담체를 따라서 존재하는 변형 가능 작용기(예를 들어, 아미노기 또는 카복실기)의 수도 증가하게 될 것이다. 뿐만 아니라, 분지형인 소수성 분자는 상기 담체를 변형시키는데 사용될 수 있으며, 그 결과, 담체 내 변형 작용기당 결합된 소수성 사슬은 2개가 될 것이다. 만일 원하는 로딩 분자에 대한 친화도가 너무 높으면, 짧은 길이의 소수성 사슬이 사용될 수 있으며, 이에 따라서 그 밀도도 줄어들 수 있다. 짧은 길이의 소수성 기를 사용하고 밀도를 줄이면, 로딩 분자에 대한 소수성-코어 담체의 친화도도 감소할 것이다. 지방산으로부터 유래된 선형 사슬이 소수성 기로서 바람직한데, 그 이유는 선형 사슬이 무독성이고 체내에서 용이하게 대사되기 때문이다. 상기 선형 사슬은 또한 비 면역원성이기도 하다.

[0207] 담체를 따라서 길이 방향으로 아미드 결합을 형성함으로써 소수성 기를 결합시키는 다른 방법으로서는, 담체의 아미노기와 지방산 무수물을 반응시키는 방법이 있다. 예를 들어, 담체의 아미노기와 팔미트산 무수물의 반응을 통하여, 16개의 탄소를 포함하는 장쇄 소수성 기를 형성한다. 임의의 지방산 무수물은 이러한 방식으로 사용될 수 있다.

[0208] 만일 소수성-코어 담체의 친화도가 낮은 것이 바람직하면, 소수성 기와는 독립적으로 보호기를 결합시킴으로써 소수성 기의 밀도를 더욱 감소시킬 수 있다. 이와 같은 방법을 이용하면, 담체를 따라서 존재하는 소수성 기 함유 위치의 수는 10~80%를 포함하여 다양할 수 있으며, 상기 소수성 기의 길이도 2~14개의 탄소를 포함하여 다양할 수 있다.

[0209] 분해되는 것을 막아주고, 서서히 방출되도록 해주며, 임의의 시점에서 유리되는 양을 조절하는 것과 같은 특성들을 가지는 약물 또는 치료 약물 전달 시스템에 대한 요구가 오랫동안 지속되어 왔다. 유리되는 약물의 양은 로딩 분자에 대한 담체의 해리 상수에 의해 정의되는 결합 평형 상수에 의해 결정될 것이다. 해리 상수는 특정 로딩 분자와 조성이 한정된 담체 사이에서 결정될 수 있다.

[0210] 소수성-코어 담체와 로딩 분자 사이의 해리 상수의 측정

[0211] 분자량 100kDa 이상인 소수성-코어 담체에 대한 해리 상수를 측정하기 위해, 100ul만큼의 소수성-코어 담체(인산염 완충 염수, PBS 중 1mg/mℓ; 50mM 인산염, 150mM NaCl, pH7.4)를 10개의 튜브에 담았다(3개씩). 대조군으로서, 소수성-코어 담체는 포함하지 않되, 100ul의 PBS는 포함하는 10개의 튜브로 이루어진 다른 세트(3개)를 준비한다. 인산염 완충 염수 중에 용해된 로딩 분자의 1000nM, 500nM, 100nM, 50nM, 10nM, 5nM, 1nM, 0.5nM, 0.1nM 및 0nM 용액을 100ul씩 분취하여(3회), 대조군을 함유하는 모든 튜브에 넣는다. 상기 용액을 와류에 의해 혼합하고, 37℃에서 1시간 동안 항온 처리한 다음, 동결 건조시킨다. 건조된 시료를 200ul의 증류 탈이온수에 재구성하고, 100kDa 컷-오프 막(Millipore, Bedford, MA)을 통해 상기 용액 전부를 원심 분리에 의해 여과한다. 상기 필터를 통과하는 로딩 분자의 양은 용액 중 유리 로딩 분자의 농도이다. 소수성-코어 담체를 포함하지 않는 대조군 튜브에 포함된 양은 결합이 가능한 로딩 분자의 총량일 것이다. 결합된 로딩 분자의 양은, 동일한 농도의 로딩 분자를 포함하되, 소수성-코어 담체는 포함하지 않는 해당 대조군으로부터 유리된 로딩 분자의 양을 공제함으로써 계산할 수 있다. 결합/유리 로딩 분자의 농도를 y축으로 하고, 결합된 로딩 분자의 농도(nM)를 x축으로 하여 그래프를 작성한다. y축의 결합/유리 로딩 분자 농도와 x축의 결합 로딩 분자 농도(nM) 그래프의 기울기는 -1/Kd일 것이며, 이 경우, Kd는 해리 상수이다. 필터를 통과한 로딩 분자는, Elisa(효소 결합 면역 흡착 검정법), HPLC 또는 HPLC/MS와 같은 방법으로 정량할 수 있다.

[0212] 유리 로딩 분자 농도의 유지

[0213] 유리 로딩 분자와, 소수성-코어 담체에 결합된 로딩 분자 사이의 평형 상수로부터, 유리 로딩 분자의 경시적 농도를 예측할 수 있다. 이는 등장성 염수 용액 중에서 측정 가능하다. 평형 상수는 담체 내 소수성 부분의 크기와 양, 그리고 보호기의 크기와 양을 바꾸어줌으로써 조정될 수 있다. 소수성 부분의 크기와 양이 적을수록, 로딩 분자 저장체가 고갈될 때까지의 기간 중 임의의 시점에서의 유리 로딩 분자 농도는 높다. 소수성 부분의 크

기와 양이 많을수록, 로딩 분자 저장체가 고갈될 때까지의 기간 중 임의의 시점에서의 유리 로딩 분자 농도는 낮다. 후자의 시나리오에 있어서, 상기 저장체는 고갈되는데 오랜 시간이 걸릴 것이며, 로딩 분자는 장기간에 걸쳐서 방출될 것이다. 만일 생체 혼화성 조성물과 관련된 로딩 분자 또는 임의의 기타 물질의 유효량(예를 들어, 약 0.00001~약 10mg/kg/시간)(즉, 3~약 4,000시간, 또는 약 10~약 1500시간에 걸침)이 바람직하면, 이와 같은 방출 프로필은 전달 시간을 연장할 수 있다. 상기 소수성-코어 담체 및 로딩 분자가 서로에 대해 친화도(친화도 상수(Ka) 또는 해리 상수(Kd)에 의해 정의될 수 있음)를 가질 것이라는 사실에 주목해야 한다. 이와 같은 친화도는 담체 내 소수성 부분의 크기와 양을 바꾸어줌으로써 조정될 수 있다. Kd 또는 Ka는 평형 상수를 나타내므로, 이들 Kd 및 Ka는 임의의 시점에서 유리 로딩 분자의 양을 한정한다. 만일 체내에서 소비됨으로 인하여 유리 로딩 분자의 농도가 감소하면, 담체로부터 로딩 분자는 자동으로 방출되어 평형 상태에 이르게 될 것이다. 방출 속도는 유리 로딩 분자의 이용 속도에 의해 결정될 것이다. 담체의 총 용량은 또한 시간의 길이를 결정할 것이며, 상기 담체는 그것이 로딩 분자와 분리되기 전에, 유리 로딩 분자 또는 치료제의 농도를 소정의 수준으로 유지할 수 있다.

[0214] 다수의 인자들은 소수성-코어 담체에 대한 로딩 분자의 Kd에 영향을 미치므로, 방출 속도에도 영향을 미칠 수 있다. 이와 같은 인자로서는, 담체 내 소수성 부분의 밀도, 소수성 부분의 크기, 담체 내 보호 부분의 밀도, 담체 내 보호 사슬의 크기, 소수성-코어 담체의 전체 크기, 소수성-담체-로딩 분자 복합체 주위 환경, 그리고 세포 및 체내 기관에 의한 유리 로딩 분자의 이용률 또는 소멸률을 포함한다. 상기 주위 환경 조건으로서는 온도, 이온 세기에 의해 결정될 수 있는 용매의 극성, 단백질 및 유기 분자의 농도, 그리고 삼투압을 포함한다. 단백질 및 유기 분자는 또한, 치환되는 단백질 또는 분자의 소수성과 보호 사슬의 밀도에 따라서, 담체로부터 로딩 분자를 치환할 수도 있다.

[0215] 더욱 상세히 설명하기 위해서, 임의의 중합체에 사용하기에 충분한 생물 분해성을 유지시키면서, 중합체의 측쇄나 주쇄의 소수성을 조정하여, 광범위한 해리 속도를 구할 수 있다. 이와 같은 결과는, 중합체의 소수성 기와 보호기 둘 다에 다양한 변화를 주어 얻을 수 있다.

[0216] 수성 환경 내에서 임의의 로딩 분자 또는 기타 물질의 평형 상수를 측정하는 분야에서 일반적으로 인정되는 한 가지 방법은, 37℃에서 PBS 용액(50mM PO_4, 150mM NaCl, pH 7.4) 중에서 로딩 분자 또는 기타 물질을 해리시키는 것을 포함한다. 본 발명의 목적에 있어서, "PBS 프로토콜"이라는 용어는, 이와 같은 과정을 일컫는 의미로 사용된다.

[0217] 임의의 경우에 있어서, 본 발명의 상이한 소수성-코어 담체에 의해 유지된 유리 로딩 분자의 농도는 이 담체를 이와 같은 프로토콜에 도입하여 진행시킴으로써 비교될 수 있다. 임의의 경우에 있어서, 생산될 상이한 소수성-코어 담체를 직접적으로 그리고 비교적 정확하게 비교할 수 있는 방식으로, 몇몇 상이한 소수성-코어 담체를 가공할 필요가 있을 수 있다. 이러한 비교 결과를 통하여, 임의의 소수성-코어 담체는 기타 소수성-코어 담체보다 활성인 제제를 약 2nM 이하~약 100nM 이상을 포함하는 농도로 유지할 수 있음을 알 수 있다. 대안적으로, 비교 결과를 통하여, 농도 차는 약 3, 5, 7, 10, 25, 50, 100, 250, 500 또는 750nM임을 알 수 있다. 본 발명과 Kd 프로토콜에 의해 유리 로딩 분자의 농도 차를 더욱 크게 할 수 있다.

[0218] 임의의 구체예에서, 평형 상수는 단상 또는 2상 시스템(또는 2가지 Kd를 가지는 2 위치 시스템)을 표시할 수 있다. 임의의 경우, 로딩 분자의 방출은, Kd가 큰 위치가 고갈될 때까지 로딩 분자를 약 5~약 50% 이상 방출시킬 수 있거나, 또는 약 10, 15, 20, 25, 30 또는 40% 방출시킬 수 있는 방출 속도 또는 유리 로딩 분자 농도를 처음에 크게 만든 다음, 이 유리 로딩 분자 농도를 Kd가 낮은 위치가 관여하는 경우보다 훨씬 낮게 만들어서 특성 규명할 수 있다.

[0219] 활성 제제의 방출 속도는 또한 하루에 담체 1mg당 방출되는 물질의 양에 의해 특징지워질 수도 있다. 임의의 경우, 예를 들어, 상기 담체가 중합체일 때, 방출 속도는 로딩 분자 약 1ng/일/mg(중합체 시스템) 이하 ~ 약 5000ng/일/mg 이상으로 다양할 수 있다. 대안적으로, 방출 속도는 약 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 600, 700, 800 또는 900ng/일/mg일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 활성 제제의 방출 속도는 20,000ng/일/mg 또는 그 이상일 수 있다. 임의의 경우, 이와 같은 방출 속도 프로토콜을 특징으로 하는 활성 제제로서는 치료제, 항원, 진단제, 표적 부분 및 기타 물질을 포함할 수 있다.

[0220] 다른 측면에서, 로딩 분자의 방출 속도는 소수성-코어 담체 내 로딩 분자의 반감기로서 제시될 수 있다.

[0221] 방출 속도에 관한 시험관 내 측정 프로토콜을 포함하는 구체예 이외에도, 임의의 경우 담체로부터 활성 제제가 방출되는 속도가 생체 내 측정될 수 있는 생체 내 프로토콜도 본 발명에 의해 고려된다. 본 발명의 담체로부터

활성 제제가 방출되는 속도를 측정하는데 유용한 기타 검정법을 고려할 수 있다.

[0222] 조성물의 합성

[0223] 본 발명의 조성물은 다음과 같은 방법들 중 임의의 방법을 이용하여 합성될 수 있다(도 3 참조). 중합체 담체로서는 폴리-L-리신을, 보호 사슬로서는 MPEG를, 그리고 소수성 기를 사용하여 소수성-코어 담체 조성물을 합성하는 방법에 관한 예가 제공된다. 이러한 합성 조성물은 특히 유기 약물, 펩티드/단백질 치료제 또는 콘트라스트 제제용 소수성-코어 담체로서 적당하다.

[0224] 반응식 1: 본 발명의 조성물은 처음에 폴리아미노산과 활성화된 MPEG 유사체를 반응시킨 다음, 이 반응 혼합물을 활성화된 소수성 화합물과 반응시키는 것과 같이, 2 단계로 제조될 수 있다. 이 과정은 중합체 담체로서 폴리-L-리신이 사용되는 경우에 바람직하다(도 3).

[0225] 폴리-L-리신의 엡실론-아미노기는 카복시화된 MPEG의 활성화된 유도체 예를 들어, 산염화물, 무수물, 혼합 무수물, 니트렌, 이소티오시아네이트 및 이미다졸리드, 그리고 활성화된 에스테르 예를 들어, 하이드록시숙신이미드, 하이드록시설포숙신이미드, p-니트로페닐, 벤조트리아졸리드와 반응한다. PEG, 이의 유사체 또는 유도체를 중합체 담체를 따라서 존재하는 아미노기에 결합시키는 다른 방법도 있다(도 4 및 도 5 참조; 여기서, R은 담체를 나타냄).

[0226] 상기 소수성 분자는 잔류하는 아미노기(활성화된 형태 예를 들어, 무수물, 혼합 무수물 또는 이소티오시아네이트, 또는 비 활성화 형태)와 반응한다. 만일 소수성 분자가 활성화되지 않은 형태로 존재하면, 이 분자는 숙신이미드 또는 설포숙신이미드 및 카보디이미드의 존재 하에서 활성화되어 활성화된 에스테르로 생성될 수 있으며, 그 결과, 잔류하는 아미노기와 반응할 수 있게 된다. 이 반응은 폴리아미노산 주쇄 또는 MPEG 사슬의 부가 화학 변형 반응(하나 이상의 화학 결합을 형성 또는 제거하는 반응에 한정되는 것은 아님)이 일어난 다음에 진행될 수 있다. 소수성 기, 이의 유사체 또는 유도체를 중합체를 따라서 존재하는 아미노기에 결합시키는 다른 방법도 존재한다. 이 방법은 도 4 및 도 5에 도시되어 있는데, 다만, 이 경우, PEG 또는 mPEG는 소수성 기이며, R은 담체로서 잔류한다.

[0227] 중합체 담체에 보호 사슬과 소수성 기를 화학적으로 결합시키는 순서는 역전될 수도 있는데, 즉, 처음에 중합체 담체에 소수성 기를 결합시킨 다음, 보호 사슬(들)을 결합할 수 있으나, 상기 소수성 기는 1 작용성 활성화 유사체로서 사용되는 것이 바람직한데, 즉, 활성화된 소수성 기의 한 분자는 중합체 담체와 오로지 하나의 공유 결합만을 형성한다.

[0228] 반응식 2: 본 발명의 조성물은 또한 변형된 아미노산 전구체 예를 들어, MPEG-아미노산 및 소수성 아미노산을 사용하는 표준적인 펩티드 합성 프로토콜을 통해 합성될 수도 있다. 이 경우, 소수성 기와 PEG는 조절 가능한 방식으로 교체될 수 있다.

[0229] 반응식 3: PEG-폴리아미노산의 올리고머를 소수성 기-폴리아미노산의 올리고머와 접합시켜, 블록 공중합체를 생산할 수 있다.

[0230] 상기 3가지 반응식 모두는 예측이 매우 용이한 분자량 분포를 가지는 예측 가능 조성물을 생성할 것이다.

[0231] MPEG를 중합체 담체에 결합시키면, 우선 후속 반응에서 폴리아미노산이 가교될 가능성을 없애준다. MPEG 사슬은 시약을 가교시키는데 있어서 입체적인 장벽을 형성하므로 부산물이 생성되는 것을 막는다. 그러므로, 고 분자량 생성물의 형성은 조절될 수 있는데, 그 결과, 합성 단계들을 예측할 수 있게 된다. 결과적으로, 분자량 분포가 좁은 균질한 제제가 생성된다.

[0232] 카복시화된 담체 예를 들어, 카복시화된 사카라이드, 또는 측쇄에 카복시기가 포함된 폴리아미노산 예를 들어, 폴리아스파르트산 또는 폴리글루탐산이 사용될 때, 중합체 담체는 카보디이미드와 설포숙신이미드가 존재할 때 활성화된 후, 아미노화된 보호 사슬과 아미노화된 소수성 기, 예를 들어, MPEG 모노아민과 pH7~9에서 동시에 또는 연속적으로 반응하는 것이 바람직하다(도 2).

[0233] 하이드록실화된 담체 예를 들어, 폴리세린 또는 폴리트레오닌, 또는 측쇄에 하이드록실기를 포함하는 임의의 중합체가 사용될 때, 상기 보호기 예를 들어, PEG는 도 6에 도시된 바와 같이 활성화되는 것이 바람직하다. 이와 유사하게, 상기 소수성 기 예를 들어, 알킬기 및 방향족기는 또한 도 7과 도 8에 도시된 바와 같이 활성화되는 것이 바람직하다.

[0234] 중합체 담체는 펩티드 결합을 함유하는 것이 바람직하다. 소수성 분자와 아미노산 측쇄의 반응기를 접합하는데

동일한 결합이 관여한다. 그러므로, 조성물은 다양한 동물성 비특이적 펩티드 분해 효소에 의해 생체 분해될 수 있다. 중합체 담체, 보호 사슬 및 소수성 기를 생체 내 제거하는 것을 돕기 위하여, 중합체 담체, 보호 사슬 또는 소수성 기의 요소들을 준-안정 결합 예를 들어, S-S 결합에 의해 함께 결합시킬 수 있다. 소량의 포집된 조성물은 작은 단편으로 분해됨으로써 체내에서 제거될 수 있다. 그러나, 다수의 활성화 PEG 유도체들은 상기 조성물 을 제조하는데 사용될 수 있으며, 그 결과, 이 조성물을 실질적으로 분해되지 않는 상태로부터 불안정한 상태에 이르기까지의 상태로 만들 수 있다. 그러나, MPEG를 이탈시키면 세망 내피계 내 로딩 분자 조성물이 과도하게 축적될 것이므로, 불안정한 조성물은 바람직하지 않다.

[0235] 본 발명의 보호 사슬은 보체의 C3 성분을 활성화하지 않는다. 상기 C3은 활성화됨에 따라서 세포막에 구멍을 내어 세포를 파괴하는 막 공격 복합체(MAC)를 형성하게 되는, 혈액 내 보체 경로에 관여하는 성분이다. 이 경로에 관하여는 본원에 참고용으로 인용되어 있는 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy"]에 상세히 기술되어 있다. 이와 같은 특징은 폴리에틸렌글리콜 보호 사슬 및 이의 유도체가, 이미 공지된 제제 예를 들어, 덱스트란(보체의 C3 성분을 활성화하는 것으로 알려짐)보다 훨씬 유리한 점이다. 이와 유사하게, 지방산은 생물 시스템 내에 지방산 자체 및/또는 트리글리세리드의 형태로서 도처에 존재하며, 당업자에게 공지된 시트르산 회로 또는 크렙스 회로를 통한 보통의 에너지원 중 하나에 해당하므로, 본 발명의 조성물의 소수성 지방산 성분은 면역 활성을 갖지 않는다. 보호 사슬은, 농도가 충분히 높을 경우 로딩 분자를 인지할 수 있는 수용체 세포 예를 들어, 사구체 식세포에 다량의 로딩 분자가 노출되는 것을 막아준다. 그러나, 농도가 낮을 경우에는 특정 로딩 분자에 대하여 친화도가 높은 수용체에 의해 인지될 것이다. 보호 사슬은 또한 크기가 큰 혈청 단백질이, 방출량을 증가시킬 로딩 분자와 치환되는 것을 막아주는 입체 장벽을 형성한다. 본 발명의 조성물은 또한 로딩 분자가 간과 비장에 빠르게 축적되는 것을 막아줌으로써, 유리 로딩 분자의 농도가 증가함에 따라서 나타날 수 있는 독성을 없애기도 한다. PEG는 무독성이고, 일반적으로 지방산은 모두 생물학적 조직과 유체에 존재하므로, 로딩 분자가 없으면 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물의 심각한 독성도 나타나지 않을 것이다.

[0236] 소수성-코어 조성물의 환자에의 투여

[0237] 로딩 분자를 함유하는 소수성-코어 담체 조성물은 약학 부형제 또는 희석제와 함께 환자에게 투여될 수 있다. 적당한 약학 부형제 또는 희석제에 관한 비 제한적인 예로서는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 형석(fluor) 호분, 실리카 겔, 탄산마그네슘, 스테아르산마그네슘, 스테아르산나트륨, 모노스테아르산글리세롤, 활석, 염화나트륨, 탈지 분유, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 물, 에탄올, 완충수 및 인산염 완충 염수 등을 포함한다. 이러한 조성물은 용액, 현탁액, 정제, 알약, 캡슐, 분말 및 지속 방출형 제형 등의 형태로서 존재할 수 있다. 기타 바람직한 구체예에서, 임의의 형태를 가지는 소수성-코어 조성물은 적당한 부형제 및 희석제 예를 들어, 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아검, 인산칼슘, 알긴산염, 트래거칸트, 젤라틴, 규산칼슘, 미세 결정질 셀룰로스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로스, 물 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸 및 프로필 하이드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 광유를 사용하여 추가로 조정될 수도 있다. 상기 제형은 또한 윤활제, 습윤제, 유화제 및 현탁제, 보존제, 감미제 또는 향미제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 제형화되어, 환자에게 투여된 후 담체로부터 로딩 분자 또는 활성 성분을 더욱 느리게 또는 서서히 방출시킬 수 있다. 본 발명의 조성물은 단위 투여형으로 제형화되는 것이 바람직한데, 각각의 투여형은 약 1~약 1000㎎의 소수성 코어 조성물(1ug~500㎎의 로딩 분자 또는 활성 성분 포함)을 함유한다. 그러나, 투여된 치료제의 투여량은 관련 상황 예를 들어, 치료될 임상 조건과 선택된 투여 경로에 비추어, 전문의에 의해 결정될 것임을 알 것이다. 그러므로, 상기 투여량 범위는 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하고자 하는 것은 아니다. "단위 투여형"이란 용어는, 단위 투여형으로서 적당하고, 인간 개체 및 기타 포유동물용인, 물리적으로 별도의 단위를 의미하는 것으로서, 각각의 단위는 적당한 약학적 희석제 또는 부형제와 함께, 원하는 치료 효과를 나타내도록 계산된 소정의 양만큼 활성 물질을 함유하고 있다. 이와 같은 단위 투여형은 약학적으로 허용 가능한 희석제 또는 부형제와 함께, 단위 투여형으로서, 인간, 애완 동물, 가축 또는 기타 동물에 투여될 수 있다. 투여 경로는 국소, 비 경구, 정맥 내, 동맥 내, 피하, 근육 내, 두개골 내, 안와 내, 안 내, 심실 내, 피막 내, 척추 내, 대조 내(intracisternal), 복막 내, 비강 내, 에어로졸, 좌제 또는 경구 투여일 수 있다. 경구 투여용 제형으로서는 활성 성분(들)과 무독성의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 함께 함유하는 정제를 포함한다. 이와 같은 부형제로서는 예를 들어, 비활성 희석제 또는 충전제(예를 들어, 수크로스 및 솔비톨), 윤활제, 활제 및 접착 방지제(예를 들어, 스테아르산마그네슘, 스테아르산아연, 스테아르산, 실리카, 수소화된 식물성 오일 또는 활석)이 있다.

[0238] 본 발명의 활성 치료 제형은 예를 들어, 등장성 완충액, 수성 완충액 또는 염수 완충액 중에, 경구 투여, 피하 투여, 피 내 투여, 근육 내 투여 또는 정맥 내 투여용으로서 재구성하도록, 동결 건조된 형태로서 제공될 수 있

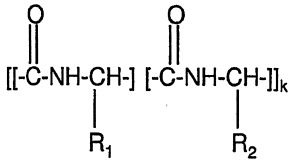
다. 본 발명의 조성물은 또한 치료제를 필요로 하는 환자에게, 오리피스용 액상 제제(예를 들어, 경구 투여, 비강 투여, 설하 투여용) 예를 들어, 현탁액, 시럽 또는 엘릭시르로서 투여될 수도 있다. 본 발명의 조성물은 또한 경구 투여용으로서 제조될 수도 있는데, 예를 들어, 캡슐, 정제 및 알약 등의 형태, 그리고 저작 가능한 고체 제형으로서 제조될 수 있다. 본 발명의 조성물은 또한 진피 내 투여용 크림 예를 들어서, 액체, 점성 액체, 페이스트 또는 분말로서 제조될 수도 있다.

[0239] 본원에 개시된 조성물은 활성 제제를 특히, 경구, 비강 내, 설하, 십이지장 내, 피하, 협측, 결장 내, 직장, 질 내, 점막 내, 폐 내, 경피, 진피 내, 비 경구, 정맥 내, 근육 내 및 안구 내 시스템으로서 전달하고, 혈뇌 장벽을 통과할 수 있도록 디자인된다. 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물에 결합된 활성 제제를 투여하면, 활성 제제의 생체 이용률이, 활성 제제만을 투여하였을 경우보다 증가한다(도 30의 가설적 시나리오 참조). 본 발명의 구체예 중 하나는, 반감기가 20시간이고, 다량으로 혈관을 투과하여 특정 위치에 축적될 것으로 예상되는 소수성 담체이다. 이는 폴리(에틸렌 글리콜)에 의해 보호되는, 유사한 크기의 나노 담체에 관한 이전 연구 결과를 바탕으로 한다. 이와 같은 구체예는 생물학적 반감기가 매우 짧은 로딩 분자에 신체가 노출되는 시간을 연장시키는데 이상적일 것이다(도 30 참조). 그러므로, 이로써 생체 이용률이 증가하게 된다.

[0240] 본 발명의 목적은, 적당한 로딩 분자와 함께 본 발명에 개시된 조성물을 사용하여, 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" (1992년 출판, Merck & Co., Inc의 자회사인 Merck Laboratories, Rahway, NJ)]에 개시된 바와 같은 다양한 질병을 치료하는 방법을 제공하는 것인데, 이때, 적당한 로딩 분자는 문헌[PDR 또는 Physician Desk Reference (2001년 출판, Medical Economics Company, Inc. Montvale, NJ)]에 개시된 것으로부터 선택된다. 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 "PDR"]은 본원에 참고용으로 인용되어 있다. 특정 질병에 대한 로딩 분자의 적합성은 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 PDR]을 검토함으로써 확인할 수 있다.

[0241] 본 발명의 바람직한 조성물

[0242] 본 발명은 또한 다음과 같은 화학식을 가지는 폴리아미노산 담체를 포함하는 조성물을 특징으로 한다:



[0243]

[0244] 여기서, 상기 기는 임의의 순서로 결합할 수 있는데, 예를 들어, 소수성 기인 R_1 단위는 보호 사슬인 R_2 단위 앞 사슬 내에 여러 개 반복적으로 존재할 수 있으며(또는 그 반대일 수도 있음), 이때, 상기 k는 50~560이고;

[0245] 상기 소수성 기인 R_1은 다음과 같은 기를 포함하는 군으로부터 선택된다:

[0246] a) 아미드 결합에 의하여 소수성 분자가 결합된 변형 리신 R기, 예를 들어,

[0247] $-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nCH_3$,

[0248] $-(CH_2)_4NHCO(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$,

[0249] $-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_n(C_6H_5)$, 또는

[0250] $-(CH_2)_4NHCO[CxHyOz]$

[0251] (식 중, n은 0~24이고; x는 6~36이며; y는 5~73이고; z는 0~10임);

[0252] b) 아미드 결합에 의하여 소수성 분자가 결합된 변형 아스파르테이트 R기, 예를 들어,

[0253] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_nCH_3$,

[0254] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$,

[0255] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_n(C_6H_5)$,

[0256] $-CH_2CONH(CH_2)_nOPO_2OCH_2CH[OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3]CH$

[0257] $OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3$,

[0258] $-CH_2CONHCH[CH_2OH]CHOHCHCH(CH_2)_nCH_3$, 또는

[0259] $-CH_2CONH[CxHyOz]$

[0260] (식 중, n은 0~24이고; x는 6~36이며; y는 5~73이고; z는 0~10임);

[0261] c) 아미드 결합에 의하여 소수성 분자가 결합된 변형 글루타메이트 R기, 예를 들어,

[0262] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_nCH_3$,

[0263] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$,

[0264] $-(CH_2)_2ONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_n(C_6H_5)$,

[0265] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nOPO_2OCH_2CH[OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3]CH$

[0266] $OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3$,

[0267] $-(CH_2)_2CONHCH[CH_2OH]CHOHCHCH(CH_2)_nCH_3$, 또는

[0268] $-(CH_2)_2CONH[CxHyOz]$

[0269] (식 중, n은 0~24이고; x는 6~36이며; y는 5~73이고; z는 0~10임);

[0270] d) 에스테르 결합에 의하여 소수성 분자가 결합된 변형 세린 R기, 예를 들어,

[0271] $-CH_2OOC(CH_2)_nCH_3$,

[0272] $-CH_2OOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$,

[0273] $-CH_2OOC(CH_2)_n(C_6H_5)$,

[0274] $-CH_2OOC[CxHyOz]$

[0275] (식 중, n은 0~24이고; x는 6~36이며; y는 5~73이고; z는 0~10임);

[0276] e) 에스테르 결합에 의하여 소수성 분자가 결합된 변형 트레오닌 R기, 예를 들어,

[0277] $-CH_2[CH_3]OOC(CH_2)_nCH_3$,

[0278] $-CH_2[CH_3]OOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$,

[0279] $-CH_2[CH_3]OOC(CH_2)_n(C_6H_5)$,

[0280] $-CH_2[CH_3]OOC[CxHyOz]$

[0281] (식 중, n은 0~24이고; x는 6~36이며; y는 5~73이고; z는 0~10임); 또는

[0282] f) 에스테르 결합에 의하여 소수성 분자가 결합된 변형 티로신 R기, 예를 들어,

[0283] $-(C_6H_4)OOC(CH_2)_nCH_3$,

[0284] $-(C_6H_4)OOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$,

[0285] $-(C_6H_4)OOC(CH_2)_n(C_6H_5)$, 또는

[0286] $-(C_6H_4)OOC[CxHyOz]$

[0287] (식 중, n은 0~24이고; x는 6~36이며; y는 5~73이고; z는 0~10임).

[0288] 보호기 R_2는 예를 들어, 다음과 같은 것들을 포함하는 군으로부터 선택된다:

[0289] a) 아미드 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 리신 R기, 예를 들어,

[0290] $-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nOC-A-OR_3$, 또는

[0291] $-(CH_2)_4NHCOCH_2-A-OR_3$

[0292] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H,$(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임);

[0293] b) 에스테르 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 세린 R기, 예를 들어,

[0294] $-CH_2OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$,

[0295] $-CH_2OOCCH_2-A-OR_3$, 또는

[0296] $-CH_2OOCCH_2CH_2-A-OR_3$

[0297] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임);

[0298] c) 에스테르 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 트레오닌 R기, 예를 들어,

[0299] $-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$,

[0300] $-CH(CH_3)OOCCH_2-A-OR_3$, 또는

[0301] $-CH(CH_3)OOCCH_2CH_2-A-OR_3$

[0302] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임);

[0303] d) 에스테르 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 아스파르테이트 R기, 예를 들어,

[0304] $-CH_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$

[0305] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임);

[0306] e) 아미드 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 아스파르테이트 R기, 예를 들어,

[0307] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$,

[0308] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2-A-OR_3$, 또는

[0309] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$

[0310] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; y는 2~6이며; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임);

[0311] f) 에스테르 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 글루타메이트 R기, 예를 들어,

[0312] $-(CH_2)_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$

[0313] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임);

[0314] g) 아미드 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 글루타메이트 R기, 예를 들어,

[0315] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$,

[0316] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2-A-OR_3$, 또는

[0317] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$

[0318] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; y는 2~6이며; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임); 또는

[0319] h) 에스테르 결합에 의하여 보호기가 결합된 변형 티로신 R기, 예를 들어,

[0320] $-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nCO-A-OR_3$,

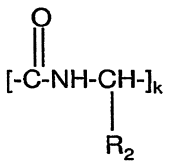
[0321] $-(C_6H_4)OOCCH_2CH_2-A-OR_3$,

[0322] $-(C_6H_4)OOCCH_2-A-OR_3$, 또는

[0323] $-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$

[0324] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; y는 2~6이며; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임).

[0325] R_2가 담체 및 보호기에 측접하는 소수성 기를 상당량 함유할 때, R_1을 보유하지 않거나 극소수 포함하고, 주로 R_2만을 보유하는 조성물을 제공하는 것도 본 발명의 목적이다. 본 발명의 조성물은 또한 다음과 같은 화학식을 가지는 폴리아미노산 담체를 가지는 조성물인 것을 특징으로 한다:



[0326]

[0327] 식 중, R_2는 다음과 같은 것들을 포함하는 군으로부터 선택되는 보호기 및 소수성 기를 조합한 것을 나타낸다:

[0328] $-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nOC-A-OR_3$,

[0329] $-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$,

[0330] $-CH_2OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$,

[0331] $-CH_2OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$,

[0332] $-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$,

[0333] $-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$,

[0334] $-CH_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$,

[0335] $-CH_2COOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$,

[0336] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$,

[0337] $-CH_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$,

[0338] $-(CH_2)_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$,

[0339] $-(CH_2)_2COOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$,

[0340] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$,

[0341] $-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$,

[0342] $-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nCO-A-OR_3$, 또는

[0343] $-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$

[0344] (식 중, n은 2~22이고; R_3은 H, $(CH_2)_pCH_3$ 또는 $(CH_2)_pCOOH$이며, p는 0~7이고; y는 2~6이며; A는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCH_2CH_2]_x$ 또는 $[OCHCH_3CH_2]_x$ (식 중, x는 17~250임), 또는 $[OCH_2CH_2]$, $[OCH_2CH_2]$, 및/또는 $[OCHCH_3CH_2]$의 다양한 조합(총 17~250 단위)임).

[0345] 비 면역원성

[0346] 소수성 코어에 대한 결합 친화도가 높은 로딩 분자를 사용하여, 임의의 시점에 유리 로딩 분자 농도를 나노 몰에서 피코 몰 수준으로 만들면, 세포 표면이 고농도의 로딩 분자에 노출되는 것을 막을 수 있다. 뿐만 아니라, PEG 보호기는 농축 결합된 로딩 분자가 세포 표면과 접촉하는 것을 막을 것이다. 이로써, 유리 항원이 고농도로 존재할 때(㎍~㎎/㎖) 발생하는 면역 반응이 촉발되지 않을 것이다. PEG 보호 작용으로 인하여, 옵소닌을 인지할 수 있는 세포 예를 들어, 항원 제공 식세포, 또는 면역 적격 항원 제공 식세포, 또는 면역 적격 혈액 세포 예를 들어, 휴지 B 세포와, 소수성-코어 담체는 결합하지 않게 된다. 결과적으로, 로딩 분자 자체에 대한 면역 반응은 거의 일어나지 않게 되며, 또한 로딩 분자에 대한 숙주 항체도 생성되지 않을 수 있다. 이로써 필요에 따라서 본 발명의 조성물을 반복적으로 사용할 수 있는 것이다.

[0347] 혈액 중 반감기가 길면서 면역원성이 없다는 것이 본 발명의 중요한 특징이다.

[0348] 본 발명의 조성물은 GLP-1에 대한 수용 능력이 매우 크다(예를 들어, 30중량% 이상)는 사실이 입증되었다. 리소스타핀을 사용하는 기타 실험에 있어서, 본 발명의 조성물의 수용 능력은 놀랍게도 600중량%임이 입증되었다.

[0349] 투여량

[0350] 본 발명의 임의의 화합물의 투여량은 환자의 증상, 연령 및 체중, 치료 또는 예방될 질환의 특징과 중증도, 투여 경로 및 보충물의 형태에 따라서 달라질 것이다. 본 발명의 제형 중 임의의 것은 1회 투여될 수 있거나 분할 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물의 투여량은 당업자에게 공지되었거나 본원에 교시된 기술에 의해서 용이하게 결정될 수 있다. 또한, 본 발명은 하나 이상의 표제 화합물과 기타 치료제의 혼합물에 관하여도 고려한다.

[0351] 임의의 구체예에서, 표제 화합물의 투여량은 일반적으로 체중 1㎏당 약 0.01㎎~약 10g, 구체적으로 체중 1㎏당 약 1㎎~약 0.1g, 그리고 더욱 구체적으로 체중 1㎏당 약 100㎎~약 10㎎일 것이다.

[0352] 제형의 유효 투여량 또는 유효량, 그리고 제형을 투여하는 시점에 영향을 줄 수 있는 임의의 인자들은 본 발명의 특정 화합물에 대해 동정될 수 있다. 이는 본원에 기술된 바와 같이 통상의 실험에 의해 이루어질 수 있다[하나 이상의 동물군(바람직하게는 군당 5마리 이상의 동물로 이루어진), 또는 적당한 경우 인간을 대상으로 실험함]. 임의의 화합물의 효능과 치료법 또는 예방법은, 보충물을 투여한 후, 목적으로 하는 체내 신생물과 관련된 지수를 하나 이상 측정함으로써 투여 효과를 평가하여, 상기 지수의 치료 후 변화된 값을 이 지수의 치료 전의 값과 비교하여 평가될 수 있다.

[0353] 대상 환자에 있어서 가장 효과적인 치료 효과를 나타낼 임의의 특정 화합물의 양과 정확한 투여 시점은, 특정 화합물의 활성, 약물 동태학적 특성과 생체 이용률, 환자의 생리적 상태(예를 들어, 연령, 성별, 질병 유형 및 단계, 전체적인 건강 상태, 투여된 약물의 투여량과 종류에 대한 반응성) 및 투여 경로 등에 따라서 달라질 것이다. 예를 들어, 투여 최적 시간 및/또는 최적량을 결정함으로써, 개체를 관찰하고 투여량 및/또는 투여 시점을 조정하는 단계로 이루어진 통상적인 실험에 지나지 않을 치료법을 최적화하는데에는 본원에 제시된 가이드라인이 사용될 수 있다.

[0354] 개체가 치료될 동안에, 24시간 중 소정의 시점에 관련 지수들 중 하나 이상을 측정함으로써 환자의 건강 상태를 관찰할 수 있다. 보충물, 투여량, 투여 시점과 제형을 포함하는 치료법은 이와 같은 관찰 결과에 따라서 최적화될 수 있다. 환자는, 동일한 매개 변수들을 측정하여 치유 정도를 측정하기 위해서 정기적으로 재평가될 수 있는데, 우선, 이와 같은 재평가 과정은 통상적으로 치료 개시시로부터 4주째에 접어들어 끝나갈 때에 실시되고, 이후의 재평가 과정은 치료 기간중 4~8주마다 행하여지고, 그 이후부터는 3개월마다 행해진다. 치료는 수개월 또는 수년간 계속될 수 있으며, 인간의 경우 치료에 소요되는 최소 기간은 통상적으로 1개월이다. 투여될 제제의 양과 투여 시점은 이와 같은 재평가 결과에 따라서 조정될 수 있다.

[0355] 치료는 화합물의 최적 투여량보다 적은 양의 화합물을 투여함으로써 개시될 수 있다. 그 다음, 최적 치료 효과가 얻어질 때까지 양을 조금씩 늘려가면서 투여량을 증가시킬 수 있다.

[0356] 본 발명의 몇몇 화합물, 또는 기타 화학 요법 제제를 함께 사용하면, 각각의 임의의 성분에 대한 필요 투여량을 줄일 수 있는데, 그 이유는 상이한 성분들의 효과가 나타나기 시작하여 지속되는 기간이 증가할 수 있기 때문이다. 이와 같은 병용 요법에 있어서, 상이한 활성 제제들은 함께 전달될 수 있거나 또는 개별적으로 전달될 수 있으며, 동시에 전달될 수 있거나 하루 중 상이한 시점에 전달될 수 있다.

[0357] 표제 화합물의 독성과 치료 효능은 예를 들어, LD_{50} 및 ED_{50}을 측정하기 위하여, 세포 배양액 또는 실험 동물 내에서 표준적인 제약 과정에 의해 결정될 수 있다. 치료 지수가 큰 조성물이 바람직하다. 독성 부작용을 나타내는 화합물이 사용될 수도 있지만, 이 경우에는 부작용을 줄이도록, 원하는 위치에 화합물을 표적하는 전달 시스템을 디자인함에 있어서 신중을 기하여야 할 것이다.

[0358] 세포 배양액 검정법 및 동물 연구로부터 얻어진 데이터는 (인간에 적용되는)일정 범위의 투여량을 규정하는데 사용될 수 있다. 임의의 보충물 또는 이에 함유된 임의의 성분의 투여량은, 독성을 거의 나타내지 않거나 아예 나타내지 않는, ED_{50}을 포함하는 순환 농도 범위 내인 것이 바람직하다. 사용된 투여형과 이용된 투여 경로에 따라서, 투여량은 상기 범위 내에서 다양할 수 있다. 본 발명의 제제에 있어서, 치료학적 유효 투여량은, 우선 세포 배양 검정법으로부터 측정될 수 있다. 투여량은, 세포 배양시 측정된 바와 같이, 동물 모델 내에서 그 농도가 IC_{50}(즉, 증상을 최대로 억제하는데 필요한 농도의 절반에 해당하는, 테스트 화합물의 농도)을 포함하는 순환 혈장 농도 범위에 포함되도록 제형화될 수 있다. 이와 같은 정보를 사용하여 인간 내 유효 투여량을 더욱 정확하게 측정할 수 있다. 혈장 내 수준은 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)에 의해 측정될 수 있다.

[0359] 제형

[0360] 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물은, 당업계에 널리 공지된 바와 같이, 이 조성물의 용도에 따라서 다양한 방법으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 조성물이 경구 투여된다면, 이 조성물은 정제, 캡슐, 과립, 분말 또는 시럽의 형태로 제형화될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 제형은 주사제(정맥 내, 근육 내 또는 피하 주사제), 점적 주입 제제 또는 좌제의 형태로 비 경구 투여될 수 있다. 눈 점막 경로를 통해 투여되는 경우, 본 발명의 조성물은 점안액 또는 안 연고의 형태로 제형화될 수 있다. 이와 같은 제형들은 통상의 수단으로 제조될 수 있으며, 원한다면, 본 발명의 조성물은 임의의 통상적인 부가제 예를 들어, 부형제, 결합제, 붕해제, 윤활제, 교정약, 가용화제, 현탁 보조제, 유화제 또는 코팅제와 함께 혼합될 수 있다.

[0361] 본 발명의 제형에 있어서, 습윤제, 유화제 및 윤활제 예를 들어, 황산 소듐 라우릴 및 스테아르산 마그네슘, 그리고 착색제, 방출제, 코팅제, 감미제, 풍미제 및 향료, 보존제 및 항산화제가 상기 제형화된 제제 중에 존재할 수 있다.

[0362] 본 발명의 소수성 담체 조성물은 경구, 비강, 국소(예를 들어, 협측 및 설하), 직장, 질 내, 에어로졸 및/또는 비 경구 투여에 적당할 수 있다. 소수성 담체 조성물의 제형은 편리하게는 단위 투여형으로서 제공될 수 있으며, 또한 제약 업계에 널리 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 단일 투여형을 생산하기 위해 기타 부형제와 배합될 수 있는 조성물의 양은 치료될 개체와 특정 투여 방식에 따라서 달라진다.

[0363] 소수성 담체-로딩 분자 제형을 제조하는 방법은 본 발명의 소수성 담체와 로딩 분자, 그리고 임의로는 하나 이상의 부가 성분들을 결합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 상기 제형은 로딩 분자와 소수성 담체, 또는 세분된 고형 소수성 담체, 또는 이것들 둘 다를 균일하고 세밀하게 결합시킨 다음, 필요에 따라서, 생성물을 성형하여 제조된다.

[0364] 경구 투여에 적당한 제형은 캡슐, 사세트, 알약, 정제, 로진즈(풍미가 가미됨, 일반적으로 수크로스 및 아카시아 또는 트래거칸트), 분말, 과립의 형태, 또는 수성 또는 비 수성 액체 중의 용액 또는 현탁액, 또는 수중유 또는 유중수 액체 유액, 또는 엘릭시르 또는 시럽, 또는 향정(비활성 베이스 예를 들어, 젤라틴 및 글리세린, 또는 수크로스 및 아카시아 사용)의 형태를 가질 수 있으며, 이것들은 각각 활성 성분으로서 소정량의 표제 조성물을 함유한다. 본 발명의 조성물은 또한 볼루스, 연약 또는 페이스트로서 투여될 수도 있다.

[0365] 경구 투여용 고체 투여형(캡슐, 정제, 알약, 당의정, 분말 및 과립 등)에 있어서, 본 발명의 소수성 담체-로딩 분자 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체 예를 들어, 시트르산 나트륨 또는 제2 인산 칼슘 및/또는 다음과 같은 것들 중 임의의 것과 혼합된다: (1) 충전제 또는 증량제 예를 들어, 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨 및/또는 규산; (2) 결합제 예를 들어, 카복시메틸셀룰로스, 알긴산염, 젤라틴, 폴리비닐 피롤리돈, 수크로스 및/또는 아카시아; (3) 흡습제 예를 들어, 글리세롤; (4) 붕해제 예를 들어, 아가-아가, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 임의의 규산염 및 탄산나트륨; (5) 용액 완염제(solution retarding agent) 예를 들어, 파라핀; (6) 흡수 촉진제 예를 들어, 4차 암모늄 화합물; (7) 습윤제 예를 들어, 아세틸 알콜 및 글리세롤 모노스테아레이트; (8) 흡수제 예를 들어, 카올린 및 벤토나이트 진흙; (9) 윤활제 예를 들어, 활석, 스테아르산 칼슘, 스테아르산 마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 황산 소듐 라우릴 및 이의 혼합물; 그리고 (10) 착색제. 캡슐, 정제 및 알약의 경우, 본 발명의 소수성 담체-로딩 분자 조성물은 또한 완충제도 포함할 수 있다. 유사한 유형의 고체 조성물은 또한 이와 같은 부형제 예를 들어, 락토스 또는 유당, 그리고 고분자량 폴리에틸렌 글리콜 등을 사용하여, 연질 및 경질-충전 젤라틴 캡슐 내 충전제로서 사용될 수도 있다.

[0366] 정제는 임의로 하나 이상의 부가 성분들과 함께 압착 또는 몰딩(molding)되어 제조될 수 있다. 압착된 정제는 결합제(예를 들어, 젤라틴 또는 하이드록시프로필메틸 셀룰로스), 윤활제, 비활성 희석제, 보존제, 붕해제(예를 들어, 소듐 전분 글리콜레이트 또는 가교 소듐 카복시메틸 셀룰로스), 표면-활성제 또는 분산제를 사용하여 제조될 수 있다. 몰딩된 정제는 적당한 기계에서 비활성 희석액으로 습윤된 본 발명의 조성물의 혼합물을 몰딩함으로써 제조될 수 있다. 정제, 및 기타 고체 투여형 예를 들어, 당의정, 캡슐, 알약 및 과립은, 임의로 약학-제약학 업계에 널리 공지된 코팅 및 외피 예를 들어, 장용 코팅 및 기타 코팅에 새김 눈을 내어 제조될 수도 있다.

[0367] 경구 투여용 액체 투여형은 약학적으로 허용 가능한 유액, 미세 유액, 용액, 현탁액, 시럽 및 엘릭시르를 포함한다. 소수성 담체-로딩 분자의 액체 투여형은 당업계에서 일반적으로 사용되는 비활성 희석제 예를 들어, 물 또는 기타 용매, 가용화제 및 유화제 예를 들어, 에틸 알콜, 이소프로필 알콜, 탄산 에틸, 아세트산 에틸, 벤질 알콜, 벤조산 벤질, 프로필렌 글리콜, 1,3-부틸렌 글리콜, 오일(구체적으로, 면실유, 낙화생유, 옥수수유, 밀배아유, 올리브유, 피마자유 및 참기름), 글리세롤, 테트라하이드로푸릴 알콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 솔비탄의 지방산 에스테르 및 이의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0368] 소수성 담체-로딩 분자의 현탁액 투여형은 현탁제 예를 들어, 에톡실화된 이소스테아릴 알콜, 폴리옥시에틸렌 솔비톨 및 솔비탄 에스테르, 미세 결정질 셀룰로스, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 아가-아가 및 트래거칸트 및 이의 혼합물을 함유할 수 있다.

[0369] 직장 내 또는 질내 투여용인 소수성 담체-로딩 분자 제형은 좌제로서 제공될 수 있는데, 이 좌제는 로딩 분자와 하나 이상의 적당한 소수성 담체, 및 예를 들어, 코코아 버터, 폴리에틸렌 글리콜, 좌제 왁스 또는 살리실레이트를 포함하는 기타 부형제를 혼합하여 제조될 수 있을 뿐만 아니라, 실온에서는 고체이되 체온에서는 액체이므로, 체강 내에서 용융되어, 로딩 분자와 소수성 담체를 함께 방출시킨다. 또한, 질 내 투여에 적당한 제형으로서는 당업계에 적당한 것으로 공지된 부형제를 함유하는, 페서리, 탐폰, 크림, 겔, 페이스트, 소포 또는 스프레이 제형을 포함한다.

[0370] 본 발명의 조성물을 경피 투여하기 위한 소수성 담체-로딩 분자 투여형으로서는 분말, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 겔, 용액, 패치 및 흡입제를 포함한다. 활성 화합물은 멸균 조건 하에서 약학적으로 허용 가능한 담체와, 필요할 수도 있는 임의의 보존제, 완충제 또는 추진제와 혼합될 수 있다.

[0371] 상기 연고, 페이스트, 크림 및 겔은, 본 발명의 조성물 이외에도, 부형제 예를 들어, 동물성 및 식물성 지방,

오일, 왁스, 파라핀, 전분, 트래거칸트, 셀룰로스 유도체, 폴리에틸렌 글리콜, 실리콘, 벤토나이트, 규산, 활석 및 산화아연, 또는 이의 혼합물을 함유할 수 있다. 본 발명의 소수성 담체-로딩 분자 조성물은 또한 베이비 와이프(baby wipe)의 형태로서도 존재할 수 있다.

[0372] 분말 및 스프레이는, 본 발명의 조성물 이외에도, 부형제 예를 들어, 락토스, 활석, 규산, 수산화알루미늄, 규산칼슘 및 폴리아미드 분말, 또는 이 물질의 혼합물을 함유할 수 있다. 스프레이는 또한 통상의 추진제 예를 들어, 클로로플루오로하이드로카본과 휘발성 비 치환 탄화수소 예를 들어, 부탄 및 프로판도 함유할 수 있다.

[0373] 본 발명의 소수성 담체-로딩 분자 조성물은 에어로졸에 의해 투여될 수도 있다. 이는 화합물을 함유하는 수성 에어로졸, 리포좀 제제 또는 고체 입자를 제조함으로써 이루어질 수 있다. 비 수성(예를 들어, 플루오로카본 추진제) 현탁액이 사용될 수 있었다. 음속 분무기는 제제가 전단력에 노출되어, 본 발명의 조성물 중에 함유된 화합물이 파괴되는 것을 최소한으로 만들기 때문에, 이 음속 분무기를 사용할 수 있다.

[0374] 통상적으로, 수성 에어로졸은, 본 발명의 조성물의 수용액 또는 현탁액을 약학적으로 허용 가능한 통상의 담체 및 안정화제와 함께 제형화함으로써 제조된다. 상기 담체와 안정화제는 특정 표제 조성물의 조건에 따라서 달라지지만, 통상적으로는 비 이온 계면 활성제(트윈스(Tweens), 플루로닉스(Pluromics) 또는 폴리에틸렌 글리콜), 무독성 단백질 예를 들어, 혈청 단백질, 솔비탄 에스테르, 올레산, 레시틴, 아미노산 예를 들어, 글리신, 완충제, 염, 당 또는 당 알콜을 포함한다. 에어로졸은 일반적으로 등장 용액으로 제조된다.

[0375] 비 경구 투여에 적당한 본 발명의 약학 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 멸균 등장 수용액 또는 비 수성 용액, 분산액, 현탁액 또는 유액, 또는 멸균 분말과 함께 본 발명의 조성물을 포함하며, 여기서, 상기 멸균 분말은 사용하기 직전에 멸균 주사 용액 또는 분산액으로 재구성될 수 있으며, 본 발명의 약학 조성물은 항산화제, 완충제, 정균제와 제형을 대상 수용 개체의 혈액과 등장성이 되도록 만들어주는 용질, 현탁제 또는 증점제를 함유할 수 있다.

[0376] 본 발명의 약학 조성물에 사용될 수 있는, 적당한 수성 및 비수성 담체의 예로서는, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등)과 이의 적당한 혼합물, 식물성 오일 예를 들어, 올리브 오일, 그리고 주사용 유기 에스테르 예를 들어, 올레산에틸을 포함한다. 유동성은 예를 들어, 코팅 물질 예를 들어, 레시틴을 사용함으로써, 분산액의 경우에는 필요로 하는 입도를 유지시킴으로써, 그리고 계면 활성제를 사용함으로써 적당히 유지될 수 있다.

[0377] 소수성-코어 담체 조성물을 사용하여 질병을 치료하는 방법

[0378] 인슐린-부족 당뇨병은 신체가, 혈당을 조절하는 호르몬인 인슐린을 생산하지 못하거나 올바르게 사용하지 못하는 질병이다. 인슐린-부족 당뇨병은 북 아메리카에서 세 번째로 가장 흔함 질병이며 또한 네 번째 주요 사망 원인으로서, 미국 인구 중 약 1천 8백 2십만 명(인구의 6.3%)에서 발병하는 질병이다. 인슐린-부족 당뇨병에 들어가는 미국 내 한 해 경제 비용은 약 100억 달러가량 되는데, 이와 같은 사실로 인하여 이 질병은 임상학적으로나 공중 위생상 중요한 문제로 지적되고 있다[Ettaro, L.외 다수, Cost-of-illness studies in diabetes mellitus. Pharmacoeconomics, 2004. 22(3): p. 149-64 참조].

[0379] 당뇨병에는 2가지 종류가 있다: 췌장의 인슐린-생산 베타 세포를 면역계가 공격하는 제1형 당뇨병(T1D)(당뇨병의 5~10%에 해당)과, 개체가 인슐린에 대해 내성을 가지는 제2형 당뇨병(T2D). 치료받지 않은 당뇨병 환자들은 다수의 합병증 예를 들어, 눈, 신장, 신경 및 심혈관 질환을 동반한다. 인슐린-부족 당뇨병 치료의 목적은 혈당 수준을 조절하고, 고 혈당증의 발병을 예방하는 것이다. 제2형 당뇨병에 있어서 높은 혈당 수준은 생활 습관을 바꾸고 항-고 혈당증 제제를 경구 섭취함으로써 조절될 수 있으나, T1D의 경우는 오로지 인슐린 주사를 통해서 혈중 글루코스 수준을 엄격하게 조절하는 표준적 치료법으로 치료할 수 있는데, 다만, 이 경우에는 중증 고혈당증 유발 위험이 따른다. 가장 최근 들어, 인슐린-생산 췌장 섬 세포를 이식하는 방법이, 제1형 당뇨병 환자에 있어서 인슐린-부족 당뇨병을 퇴행시키는데 매우 효율적이라는 사실이 밝혀졌다. 그러나, 이 치료법의 성공 여부는 환자의 동종 면역 반응 및 자가 면역 반응에 의해, 이식된 섬이 거부되는 것을 효과적으로 막아내는 면역 억제 현상에 달려있다[Shapiro, A.M., S. A. Nanji, and J.R. Lakey, Clinical islet transplant: current and future directions towards tolerance. Immunol Rev, 2003. 196: p. 219-36][이식편에 대한 지속적인 내성에 관한 보고서에 따름]. 만일 대안이 없다면, 만성 면역 억제제 요법에 의한 독성이 생길 수 있음에도 불구하고, 이와 같은 이식법도 치료법의 임상적 근간이 될 수 있음을 기대해 볼 수 있다.

[0380] 펩티드 호르몬인 글루카곤-유사 펩티드 1(GLP-1)에 의해 당뇨병 발병 동물에서 섬 세포가 재생될 수 있다는 최근의 보고[Drucker, DJ., Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. Diabetes Care,

2003. 26(10): p. 2929-40, Perry, T. and N.H. Greig, The glucagon-like peptides: a double-edged therapeutic sword? Trends Pharmacol Sci, 2003. 24(7): p. 377-83]가, 섬 세포를 이식할 필요가 없고 이식에 따른 합병증이 발생할 염려도 없는 새로운 치료법에 대한 새로운 가능성을 열어주었다. GLP-1은 생체 내 반감기가 매우 짧으므로, 효능 평가를 위해 반감기가 연장된 잠재적 면역원 유사체를 사용할 필요가 있다. 실제로, GLP-1 유사체(엑세나티드)는 현재, T1D를 퇴행시키는 면역 억제제와 함께, NIH-지원 제I 단계 임상 실험에서 평가중에 있다. 그러나, 엑세나티드를 투여받은 제2형 당뇨병 환자의 38%는 상기 GLP-1 유사체에 대한 항체를 생성하는 것으로 파악되었는데, 이점이 호르몬 효능에 대한 앞으로의 잠재적 한계로 지적되고 있다. 본 발명은 천연(native) GLP-1의 혈류 내 반감기를 약 5분에서 놀랍게도 24시간 이상까지 연장시켰는데(도 44), 이로써 중립 항체를 생성하지 않고 섬 세포 재생 연구를 수행할 수 있는 가능성이 열렸다. 본 발명은 장기 작용성 천연 GLP-1 생성을 촉진하여, 베타 세포를 재생시키고/재생시키거나 인슐린-부족 당뇨병을 치료해 준다.

[0381] ***천연-GLP-1의 약물로서의 한계점과 당업계의 문제점:***

[0382] GLP-1(7~36 아미드)은 인슐린 분비량을 증가시키는 유효 장내 호르몬이다. GLP-1은 식사를 함에 따라서 방출되어, 췌장의 베타 세포로부터 인슐린이 분비되는 것을 촉진하고, 이로써 호르몬 즉, 글루카곤(인슐린 길항제로서의 역할을 함)이 방출되는 것을 막아주며, 또한 공복감을 더디 느끼게 하는 역할을 한다. 췌장 섬 세포 상에 존재하는 GLP-1 수용체와 상호 작용함으로써, 상기 GLP-1은 신호 전달 반응의 케스케이드를 진행시키고, 그 결과, 엄격한 글루코스-의존적 방식(글루코스 농도 = 4.5mM 초과)으로 인슐린-함유 과립의 외포 작용을 촉진한다. 뿐만 아니라, GLP-1은 인슐린 유전자의 전사를 비롯한 인슐린 생합성 단계 전부를 강력하게 증진한다[Ahren, B.외 다수, Improved glucose tolerance and insulin secretion by inhibition of dipeptidyl peptidase IV in mice. Eur J Pharmacol, 2000. 404(1-2): p. 239-45]. 베타 세포 기능에 필수적인 기타 유전자(글루코키나제 및 Glut-2)의 전사는 GLP-1을 처리함에 따라서도 촉진된다[Ahren, B.외 다수, Improved glucose tolerance and insulin secretion by inhibition of dipeptidyl peptidase IV in mice. Eur J Pharmacol, 2000. 404(1-2): p. 239-45]. 만일 이 GLP-1이 효과가 있으면, 기능성 베타 세포와 함께 제2형 당뇨병에서 인슐린 방출을 촉진할 수 있는 유효 치료제로서 이 펩티드를 이용하는 방법은 상당히 흥미를 끌게 될 것이다. 그러나, GLP-1 활성은 혈류 중에 존재하는 디펩티딜 펩티다제 4(DPP4)에 의해 Ala2 위치에서 N-말단부가 절단됨으로써 급속하게 억제된다. 이와 같은 절단은 GLP-1의 반감기를 2~6분으로 제한하는데, 이는 상기 GLP-1의 치료제로서의 사용 가능성에 대한 심각한 한계로서 간주되고 있다. DPP4의 효과를 억제하는 다수의 GLP-1 유사체(표 1)가 개발중에 있지만, 그것들 중 어느 것도 본 발명에 있어서 천연 GLP-1 및 담체 시스템으로서 사용되고 있지 않다. 이들 중 몇몇은 당뇨병 동물 모델에 있어서 단식시와 식후의 혈중 글루코스 수준을 정상화하는 것으로 규명되었다[당뇨병 동물 모델; Xu, G.외 다수, Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. Diabetes, 1999. 48(12): p. 2270-6, 및 인간; Drucker, DJ., Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. Diabetes Care, 2003. 26(10): p. 2929-40]. 이와 같은 GLP-1 유사체 중 가장 진보된 것인 엑스텐딘 4 또는 엑세나티드(인간 GLP-1의 파충류 생산 유사체)는 현재 제2형 당뇨병 치료용으로서 승인되어 있다. 그러나, 이와 같은 비 천연 펩티드의 장기 전신 투여 효과에 대해서는 알려져 있지 않다. 지속 투여에 따른 부작용으로서 위장관 및 심혈관에서의 부작용이 있는 것으로 파악되며[Nielsen, L.L. and A.D. Baron, Pharmacology of exenatide (synthetic exendin-4) for the treatment of type 2 diabetes. Curr Opin Investig Drugs, 2003. 4(4): p. 401-5], 그 투여량은 고 혈당증이 발생하는 것을 예방하도록 세밀하게 조절하여야 한다. 뿐만 아니라, 비 천연 GLP-1 유사체 예를 들어, 엑세나티드를 투여하였을 경우에는 치료된 제2형 당뇨병 환자 중 38%에서 항체를 생성시키는 것으로 현재 기록되어 있다. 비록 생성된 항체는 비-중립성인 것으로 규명되었지만(아미도 N-말단보다는 C-말단에 대한 선택성으로 인한 것으로 추정됨), 시간이 경과 함에 따라서 N-말단 중립 항체도 생성될 것이다.

[0383] 시타글립틴 (7-[(3R)-3-아미노-1-옥소-4-(2,4,5-트리플루오로페닐)부틸]-5,6,7,8-테트라하이드로-3-(트리플루오로메틸)-1,2,4-트리아졸로[4,3-a]피라진 포스페이트(1:1) 1수화물)은 DPP-4 억제제로서, 이는 제2형 당뇨병 환자 내에서 GLP-1을 포함하는 인크레틴 호르몬의 불활성화를 지연시키는 작용을 하는 것으로 생각된다. 활성 원형 호르몬의 농도는 시타글립틴에 의해 증가되므로, 이로써 이와 같은 호르몬의 작용이 증진되고 작용 기간도 연장된다. 인크레틴 호르몬 예를 들어, 글루카곤-유사 펩티드-1(GLP-1) 및 글루코스-의존성 인슐린 분비 폴리펩티드(GIP)는 하루 종일 소장에 의해 방출되는 것으로서, 그 수준은 식사를 함에 따라서 증가한다. 이와 같은 호르몬은 효소인 DPP-4에 의해 신속하게 불활성화된다. 인크레틴은 글루코스의 항상성을 생리적으로 조절하는 것과 관련된 내재 시스템의 일부이다. 혈중 글루코스 농도가 정상이거나 상승할 때, GLP-1 및 GIP는 인슐린 합성을 증진시키고, 환형 AMP가 관여하는 세포 내 신호 전달 경로에 의해 췌장 베타 세포로부터 상기 GLP-1 및 GIP

가 방출되는 것을 촉진한다. GLP-1은 또한 췌장 알파 세포로부터의 글루카곤 분비량을 낮추어, 간 내 글루코스 생산량도 감소시킨다. 활성 인크레틴 수준을 증가시키고, 작용 기간도 연장시킴으로써, 시타글립틴은 글루코스-의존적 방식으로 혈류 내 인슐린 방출량을 늘리고, 글루카곤 수준은 감소시킨다. 시타글립틴은 DPP-4에 대한 선택성을 입증해 주는 것으로서, 대략 치료적 투여량으로 투여되었을 때의 농도에서 시험관 내 DPP-8 또는 DPP-9 활성을 억제하지 않는다.

표 1

[0384]

천연 GLP-1의 한계로 인하여 개발된 GLP-1 유사체		
제품	천연 GLP-1에 비하여 개선된 점	개발 단계
엑세나티드 (Amylin Pharma)	DPP4-저항성 유사체, 인간 GLP-1과 53% 상동성임.	제2형 당뇨병에 사용하도록 승인됨.
CJC 1131 (Conjuchem)	반감기가 긴 BSA-결합 유사체.	제II기 임상 실험중.
리라글루티드 (Novo Nordisk)	반감기가 연장된, BSA-결합 지방-아실화 GLP-1.	제III기 임상 실험중.
엑세나티드 LAR (Amylin)	주 1회~월 1회 투여시 지속 방출되는 제형.	제II기 임상 실험중.
BIM 51077 (Ipsen)	1일 1회~2주에 1회 투여시 지속 방출되는 제형.	지속 방출형 제형인 본 화합물의 효능 및 안전성 확인을 위한 제II기 연구가 2007년 초에 개시될 예정임.

[0385] 반감기가 연장된 GLP-1 유사체에 대한 대안적 연구 방법으로서, 경구 투여 가능하다는 이점을 가지는 DPP4의 소형 분자 억제제가 개발 중에 있다. 그러나, 이러한 억제제는 면역 기능에 중요한 기타 분자를 절단함에 있어서 중요한 DPP4를 투여하였을 경우, 기타 부작용이 발생할 가능성이 있다[Wiedeman, P.E. and J.M. Trevillyan, Dipeptidyl peptidase IV inhibitors for the treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. Curr Opin Investig Drugs, 2003. 4(4): p. 412-20].

[0386] GLP-1이, 베타 세포의 증식을 촉진하고[Buteau, J.외 다수, Glucagon-like peptide-1 promotes DNA synthesis, activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factor pancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-I) DNA binding activity in beta (INS-1)-cells. Diabetologia, 1999. 42(7): p. 856-64], 상기 베타 세포의 세포 자살도 예방할 뿐만 아니라[Urusova, I.A.외 다수, GLP-1 inhibition of pancreatic islet cell apoptosis. Trends Endocrinol Metab, 2004. 15(1): p. 27-33], 도관 선조 세포로부터 새로운 베타 세포의 분화를 유도하는 조직 재생을 촉진한다[Bulotta, A.외 다수, Cultured pancreatic ductal cells undergo cell cycle re-distribution and beta-cell-like differentiation in response to glucagon-like peptide-1. J Mol Endocrinol, 2002. 29(3): p. 347-60]는 관찰 결과를 통하여, 이 펩티드가 T1D를 치료할 수 있다는 사실을 알 수 있다. 실제로, 섬 세포 발생에 있어서 GLP-1의 중요성은 GLP-1 수용체 결여 마우스 즉, 베타 세포의 수가 적고 비정상적인 글루코스 내성을 나타내는 섬 세포를 가지는 마우스에서 확인할 수 있다[Scrocchi, L. A.외 다수, Identification of glucagon-like peptide 1 (GLP-1) actions essential for glucose homeostasis in mice with disruption of GLP-1 receptor signaling. Diabetes, 1998. 47(4): p. 632-9]. 섬 세포의 재생과 췌장 베타 세포 질량이 증가함은, GLP-1 및 GLP-1 수용체의 기타 작동제에 의해 동물 모델에서 입증된바 있으며[Xu, G.외 다수, Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. Diabetes, 1999. 48(12): p. 2270-6], 또한, 췌장을 부분적으로 절단한 후 이 GLP-1이 인슐린-부족 당뇨병이 진행되는 것을 억제한다는 사실을 알 수 있었다[Xu, G.외 다수, Exendin-4 stimulates both beta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell mass and improved glucose tolerance in diabetic rats. Diabetes, 1999. 48(12): p. 2270-6]. 그러므로, GLP-1을 처리하면 T1D에서 파괴된 섬 세포를 재생시킬 수 있다. 불행하게도, 천연 GLP-1은 본 발명에 사용되는 이외에는, 약물로서 시판되고 있지 않다. 본 발명은 다수에 의해 오랫동안 염원하였던 다수의 이점을 제공할 수 있다.

[0387] 본 발명은 해리 상수 77 및 249nM인 담체를 2개 이상 포함하는 GLP-1 제형을 포함한다(도 35 및 36 참조). 이와 같은 Kd는 GLP-1에 대한 DPP4의 Km보다 훨씬 낮으므로, GLP-1이 분해되는 것을 막아준다. 이와 같은 보호 작용

은 유효 크기도 증가시키며, 신장에 의한 제거도 막을 수 있고, 천연 GLP-1 제형의 혈류 내 반감기도 놀라운 정도로 연장할 수 있으며(도 42~도 44), 또한 스트렙토조토신-유도 당뇨병 래트에 있어서 글루코스 수준을 낮추어 주기도 한다(도 45). GLP-1 유사체에 비하여, FDA 승인을 얻었거나 거의 승인 단계에 이른 본 발명의 장기 작용성 GLP-1 제형의 반감기는, 단백분해효소 저항성 GLP-1 유사체(FDA 승인된 엑세나티드; t1/2 = 4시간, 하루에 2회 투여) 또는 비-단백분해효소 저항성 리라글루티드(GLP-1 결합 지방산으로서 알부민에 결합된 형태의 것; t1/2 = 10시간, 하루에 1회 투여)의 반감기보다 훨씬 크다. 본 발명에 사용된 천연 GLP-1은 엑세나티드(Byetta) 처리된 환자에서 살펴볼 수 있는 항체의 형성을 유도할 수 없다는 사실에 주목해야 할 것이다. 뿐만 아니라, 제형화된 천연 GLP-1의 혈류 내 반감기는 길기 때문에, 투여 횟수를 줄여서 투여할 수 있을 것으로 기대된다. 장기 작용성 엑세나티드(Byetta-LAR)가 개발중에 있지만, 본 발명은 바이에타-LAR(Byetta-LAR)과는 상이한 것이다. 상기 바이에타-LAR은 피부 아래에서 용해되어, 유리 GLP-1을 서서히 방출하는 중합체(시간이 경과 함에 따라서 분해되는 폴리락트산)를 이용한다. 본 발명의 제형은 피부 아래에 주사되며, 담체는 GLP-1과 함께 혈액 중에서 순환하는데, 이는, 총 GLP-1 중 87.5%가 혈액 중 순환하는 담체에 결합하고 나머지 12.5%는 유리된 상태로 존재하는 경우에, 혈액 중 결합 및 유리 GLP-1의 양을 측정함으로써 확인할 수 있는 사실이다. 이는 본 발명의 유용성을 입증하는 것에 지나지 않으며, 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다.

[0388] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게, 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계(여기서, 로딩 분자는 GLP-1임)를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0389] 다른 구체예에서, 본 발명은, 치료를 필요로 하는 환자에게, 폴리아미노산 담체, 상기 폴리아미노산 담체에 공유 결합된 메톡시 폴리에틸렌 글리콜 보호 사슬, 상기 폴리아미노산 담체에 공유 결합된 소수성 지방산 사슬, 상기 소수성 지방산 사슬에 가역적으로 결합된 로딩 분자(여기서, 상기 로딩 분자는 GLP-1임)를 포함하는 소수성-코어 담체 조성물을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0390] ***천연 가스트린 및 천연 EGF는 천연 GLP-1과 유사한 한계점을 가짐:***

[0391] 이식 유전자에 의해 가스트린과 EGF 수용체 리간드가 과다 발현되면, 성체 마우스의 섬 세포 신생을 촉진하여, 섬 세포 양을 상당 수준 증가시킨다[Wang, T.C.외 다수, Pancreatic gastrin stimulates islet differentiation of transforming growth factor alpha-induced ductular precursor cells. J CMn Invest, 1993. 92(3): p. 1349-56]. EGF 수용체 리간드 예를 들어, EGF, TGF-알파 및 베타셀룰린은 췌장의 인슐린-생산 베타 섬 세포의 신생과 증식을 촉진한다[Suarez-Pinzon, W.L.외 다수, Combination therapy with epidermal growth factor and gastrin increases beta-cell mass and reverses hyperglycemia in diabetic NOD mice. Diabetes, 2005. 54(9): p. 2596-601, Song, S.Y.외 다수, Expansion of Pdxl -expressing pancreatic epithelium and islet neogenesis in transgenic mice overexpressing transforming growth factor alpha. Gastroenterology, 1999. 117(6): p. 1416-26, Krakowski, M.L.외 다수, Transgenic expression of epidermal growth factor and keratinocyte growth factor in beta-cells results in substantial morphological changes. J Endocrinol, 1999. 162(2): p. 167-75, Cras-Meneur, C외 다수, Epidermal growth factor increases undifferentiated pancreatic embryonic cells in vitro: a balance between proliferation and differentiation. Diabetes, 2001. 50(7): p. 1571-9, Huotari, M.A., J. Palgi, and T. Otorikoski, Growth factor-mediated proliferation and differentiation of insulin-producing INS-I and RINm5F cells: identification of betacellulin as a novel beta-cell mitogen. Endocrinology, 1998. 139(4): p. 1494-9, Yamamoto, K.외 다수, Recombinant human betacellulin promotes the neogenesis of beta-cells and ameliorates glucose intolerance in mice with diabetes induced by selective alloxan perfusion. Diabetes, 2000. 49(12): p. 2021-7]. 뿐만 아니라, 만성 스트렙토조토신-유도 당뇨병 래트에 EGF 및 가스트린을 전신 투여하여 약리학적으로 처리하면, 글루코스 수준이 정상화되고 글루코스 내성도 개선된다[Brand, S. J.외 다수, Pharmacological treatment of chronic diabetes by stimulating pancreatic beta-cell regeneration with systemic co-administration of EGF and gastrin. Pharmacol Toxicol, 2002. 91(6): p. 414-20]. 해부학적 분석 결과, BrdU 표지화 수준이 증가하면 베타-세포의 질량도 증가하게 되는데, 이는 곧, 베타-세포가 신생됨을 말해주는 것이다. 중요한 점은, 성장 인자 예를 들어, EGF도 새로 재생된 베타-세포에 대해 면역 내성을 유도할 수도 있다는 점이다[Suarez-Pinzon, W.L.외 다수, Combination therapy with epidermal growth factor and gastrin increases beta-cell mass and reverses hyperglycemia in diabetic NOD mice. Diabetes, 2005. 54(9): p. 2596-601]. 생물학적 반감기가 짧은 천연 가스트린과 천연 EGF(두 개의 반감기는

수분에 지나지 않음)의 한계점을 극복하기 위하여[Hansen, CP. 외 다수, Pharmacokinetics and organ metabolism of carboxyamidated and glycine-extended gastrins in pigs. Am J Physiol, 1996. 271(1 Pt 1): p. G156-63, Lev-Ran, A.외 다수, Origin of u?nary epidermal growth factor in humans: excretion of endogenous EGF and infused [131I]-human EGF and kidney histochemistry. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1992. 19(10): p. 667-73, Senekowitsch-Schmidtke, R.외 다수, In vivo evaluation of epidermal growth factor (EGF) receptor density on human tumor xenografts using radiolabeled EGF and anti-(EGF receptor) mAb 425. Cancer Immunol Immunother, 1996. 42(2): p. 108-14, Feng, J.외 다수, Tissue distribution and plasma clearance of heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) in adult and newborn rats. Peptides, 2005], EGF 및 가스트린의 유사체를 IP 주사에 의해 매일 2회씩 투여하여 사용하였다[미국 특허 제 6,992,060호, Suarez-Pinzon, W.L.외 다수, Combination therapy with epidermal growth factor and gastrin increases beta-cell mass and reverses hyperglycemia in diabetic NOD mice. Diabetes, 2005. 54(9): p. 2596-601]. 뿐만 아니라, 이는 천연 가스트린 및 천연 EGF를 사용하는 것과는 별도로, 당업계의 관례이다.

[0392] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게, 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 과정을 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 EGF이고; 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 투여하는 경우, 상기 로딩 분자는 가스트린인 것인 방법에 관한 것이다.

[0393] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게, 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 과정을 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 GLP-1이고; 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 투여하는 경우, 상기 로딩 분자는 가스트린인 것인 방법에 관한 것이다.

[0394] 오메프라졸은 새로운 양자 펌프가 형성될 때까지, 위 내에서 양자 펌프의 작동을 억제한다[W.B., D.P. Blakeman, and J.P. Davis, Irreversible inactivation of rat gastric (H+-K+)-ATPase in vivo by omeprazole. Biochem Biophys Res Commun, 1985. 126(1): p. 78- 82, Keeling, DJ.외 다수, Studies on the mechanism of action of omeprazole. Biochem Pharmacol, 1985. 34(16): p. 2967-73]. 양자 펌프를 억제하면, 고 가스트린 혈증 즉, 혈청 내 가스트린 수준이 15~200pg/㎖ 이상으로 증가할 수 있는 질병이 유발되며[Lamberts, R.외 다수, Long-term omeprazole treatment in man: effects on gastric endocrine cell populations. Digestion, 1988. 39(2): p. 126-35], 가스트린 수준이 이미 높을 경우(졸링거-엘리슨 증후군; Zollinger-Ellison Syndrome), 오메프라졸은 혈청 내 가스트린 수준을 700pg/㎖로 증가시킬 수 있다는 사실은 오래전부터 알려져 온 것이다[Cadranel, J.F.외 다수, [Long-term efficacy and tolerability of omeprazole in 20 patients with severe Zollinger- Ellison syndrome]. Gastroenterol CMn Biol, 1989. 13(8-9): p. 654-62]. 오메프라졸은 20년 넘게 사용되고 있으며, 이의 안전성은 오랜 기간에 걸쳐 위 식도 역류병(GERD)과 기타 소화성 질병의 치료를 위해 테스트된 바 있다. 기타 양성자 펌프 억제제 예를 들어, H_2 수용체 차단제도 동일한 증상에 사용된다[Schentag, JJ. and T.F. Goss, Pharmacokinetics and pharmacodynamics of acid-suppressive agents inpatients with gastroesophageal reflux disease. Am J Hosp Pharm, 1993. 50(4 Suppl 1): p. S7-10]. 오메프라졸을 처리하면, 가스트린 수준을 3배 이상 증가시킬 것이고, 대부분의 경우, 정상 수준보다 10배 이상 증가시킬 것이며[Halter, F.외 다수, Effect of acid inhibition on the growth of parietal cells. Scand J Gastroenterol Suppl, 1986. 125: p. 9-13, Hakanson, R.외 다수, Evidence that gastrin enhances 45Ca uptake into bone through release of a gastric hormone. Regul Pept, 1990. 28(1): p. 107-18, Van Nieuwenhove, Y.외 다수, Gastrin stimulates epithelial cell proliferation in the oesophagus of rats. Virchows Arch, 1998. 432(4): p. 371-5, Koop, H., M. Klein, and R. Arnold, Serum gastrin levels during long-term omeprazole treatment. Aliment Pharmacol Ther, 1990. 4(2): p. 131-8, Larson, G.M., H. W. Sullivan, and P. Rayford, Omeprazole-induced hypergastrinemia: role of gastric acidity. J Surg Res, 1986. 40(5): p. 504-9, Larson, G.M., H.W. Sullivan, and P.L. Rayford, Relationship of omeprazole-induced hypergastrinemia to gastric pH. Surgery, 1986. 100(2): p. 175-80, Creutzfeldt, W. and R. Lamberts, Is hypergastrinaemia dangerous to man? Scand J Gastroenterol Suppl, 1991. 180: p. 179-91], 이와 같이 가스트린 수준은 증가된 상태로 유지된다[Klinkenberg-Knol, E.C., The role of omeprazole in healing and prevention of reflux disease. Hepatogastroenterology, 1992. 39 Suppl 1: p. 27-30]. 비록 기타 오메프라졸 유도체도 존재하지만, 오메프라졸을 사용하는 것에 대해서 오랜 기간 동안 테스트되어 왔고, 또한 상기 오메프라졸을 사용한 결과 혈청 내 가스트린 수준도 확실히 증가한다. 오메프라졸과 이의 유도체는 양

성자 펌프 억제제의 새로운 세대들을 비교하는데 있어서 황금같은 기준이 되며, 이 양성자 펌프 억제제의 효능을 입증하는 증거로서는, 혈청 내 가스트린 수준의 증가를 들 수 있다[Yu, K.S., et al, Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of a novel proton pump inhibitor, YH1885, in healthy volunteers. J Gun Pharmacol, 2004. 44(1): p. 73-82]. 본 발명의 다른 구체예는 양성자-펌프 억제제와 함께 본 발명의 소수성-코어 담체 조성물로 제형화함에 있어서 천연 GLP-1 또는 천연 EGF를 사용하여, 혈중 가스트린 수준을 증가시키고, 그 결과, 베타-섬 세포를 재생시켜 인슐린-부족 당뇨병을 치료하는 것에 관한 것이다.

[0395] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하고, 또한 양자-펌프 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 GLP-1이다. 추가의 구체예에서, 상기 양자 펌프 억제제는 오메프라졸일 수 있다. 추가의 구체예에서, 오메프라졸은 환자 체중 1kg당 4g 미만의 투여량으로 투여되며, 바람직하게는 환자 체중 1kg당 500mg 미만의 투여량으로 투여되고, 더욱 바람직하게는 환자 체중 1kg당 100mg 미만의 투여량으로 투여된다.

[0396] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드인 것인 방법에 관한 것이다.

[0397] 본 발명의 다른 구체예는 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하고, 또한 양자-펌프 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 상피 성장 인자(EGF) 수용체 리간드인 것인 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양자 펌프 억제제는 오메프라졸일 수 있다. 추가의 구체예에서, 오메프라졸은 환자 체중 1kg당 4g 미만의 투여량으로 투여되며, 바람직하게는 환자 체중 1kg당 500mg 미만의 투여량으로 투여되고, 더욱 바람직하게는 환자 체중 1kg당 100mg 미만의 투여량으로 투여된다.

[0398] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 EGF인 것인 방법에 관한 것이다.

[0399] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 GLP-1이고; 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 투여하는 경우, 상기 로딩 분자는 가스트린이다.

[0400] 본 발명의 다른 구체예는 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하고, 또한 양자-펌프 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 EGF인 것인 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양자 펌프 억제제는 오메프라졸일 수 있다. 추가의 구체예에서, 오메프라졸은 환자 체중 1kg당 4g 미만의 투여량으로 투여되며, 바람직하게는 환자 체중 1kg당 500mg 미만의 투여량으로 투여되고, 더욱 바람직하게는 환자 체중 1kg당 100mg 미만의 투여량으로 투여된다.

[0401] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 TGF-알파인 것인 방법에 관한 것이다.

[0402] 본 발명의 다른 구체예는 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하고, 또한 양자-펌프 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 TGF-알파인 것인 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양자 펌프 억제제는 오메프라졸일 수 있다. 추가의 구체예에서, 오메프라졸은 환자 체중 1kg당 4g 미만의 투여량으로 투여되며, 바람직하게는 환자 체중 1kg당 500mg 미만의 투여량으로 투여되고, 더욱 바람직하게는 환자 체중 1kg당 100mg 미만의 투여량으로 투여된다.

[0403] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 베타셀룰린인 것인 방법에 관한 것이다.

[0404] 본 발명의 다른 구체예는 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하고, 또한 양자-펌프 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 베타셀룰린인 것인 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양자 펌프 억제제는 오메프라졸일 수 있다. 추가의 구체예에서, 오메프라졸은 환자 체중 1kg당 4g 미만의 투여량으로 투여되며, 바람직하게는 환자 체중 1kg당 500mg 미만의 투여량으로 투여되고, 더욱 바람직하게는 환자 체중 1kg당 100mg 미만의 투여량으로 투여된다.

[0405] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 가스트린/콜레시스토키닌 수용체 리간드인 것인 방법에 관한 것이다.

[0406] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 가스트린인 것인 방법에 관한 것이다.

[0407] 본 발명의 다른 구체예는 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하고, 또한 양자-펌프 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 가스트린인 것인 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양자 펌프 억제제는 오메프라졸일 수 있다. 추가의 구체예에서, 오메프라졸은 환자 체중 1kg당 4g 미만의 투여량으로 투여되며, 바람직하게는 환자 체중 1kg당 500mg 미만의 투여량으로 투여되고, 더욱 바람직하게는 환자 체중 1kg당 100mg 미만의 투여량으로 투여된다. 가스트린을 함유하는 소수성-코어 담체 조성물과 오메프라졸을 함께 투여하면, 가스트린을 함유하는 소수성-코어 담체 조성물의 필요 투여량을 줄일 것이다.

[0408] 본 발명의 다른 구체예는, 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 콜레시스토키닌인 것인 방법에 관한 것이다.

[0409] 본 발명의 다른 구체예는 치료를 필요로 하는 환자에게 전술한 소수성-코어 담체 조성물 중 임의의 것을 치료학적 유효량만큼 투여하는 단계를 포함하고, 또한 양자-펌프 억제제를 환자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 인슐린-부족 당뇨병 환자를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 여기서, 상기 로딩 분자는 콜레시스토키닌인 것인 방법에 관한 것이다. 추가의 구체예에서, 상기 양자 펌프 억제제는 오메프라졸일 수 있다. 추가의 구체예에서, 오메프라졸은 환자 체중 1kg당 4g 미만의 투여량으로 투여되며, 바람직하게는 환자 체중 1kg당 500mg 미만의 투여량으로 투여되고, 더욱 바람직하게는 환자 체중 1kg당 100mg 미만의 투여량으로 투여된다. 콜레시스토키닌을 함유하는 소수성-코어 담체 조성물과 오메프라졸을 함께 투여하면, 콜레시스토키닌을 함유하는 소수성-코어 담체 조성물의 필요 투여량을 줄일 것이다.

[0410] 본 발명의 목적은, 문헌[PDR 또는 Physician Desk Reference (2001년 출판, Medical Economics Company, Inc. Montvale, NJ)]에 지시된 것으로부터 선택된 적당한 로딩 분자와 함께 본 발명에 개시된 조성물을 사용하여, 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" (1992년 출판, Merck & Co., Inc의 자회사인 Merck Laboratories, Rahway, NJ)]에 개시된 바와 같은 다양한 질병을 치료하는 방법을 제공하는 것이다. 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 "PDR"]은 본원에 참고용으로 인용되어 있다. 특정 질병에 대한 로딩 분자의 적합성은 상기 문헌["The Merk Manual of Diagnosis and Therapy" 및 PDR]을 검토함으로써 확인할 수 있다.

실 시 예

[0411] 합성 방법 개요

[0412] 본 발명의 소수성-코어 담체는 코어 담체 사슬, 소수성 기, 보호기, 그리고 임의로는 표적 기를 포함한다. 각각의 기는 함께 결합하며, 상기 소수성 기는 로딩 분자 예를 들어, 약물, 치료제 또는 진단제와 가역적으로 결합할 수 있다. 소수성-코어 담체와 로딩 분자 사이의 가역적 결합으로서는 소수성 상호 작용을 포함한다.

[0413] 아미노기, 카복실기, 또는 하이드록실기를 함유하는 중합체 담체로부터 소수성-코어 담체 로딩 분자 복합체를 합성하는 방법은 일반적으로 3개의 단계를 포함한다: 1) 보호 사슬로써 주쇄 담체를 공유적으로 변형시키는 단계; 2) 상기 단계 1)에서 생성된 생성물을 소수성 기 예를 들어, 팔미트산으로 변형시키는 단계; 그리고 3) 상

기 단계 2)에서 생성된 생성물을 로딩 분자 예를 들어, GLP-1과 항온 처리하여, 소수성-코어 담체-GLP-1 복합체를 형성하는 단계.

[0414] **실시예 1**

[0415] 지방산 및 방향족-알킬 카복시산의 N-하이드록시숙신아미드 에스테르의 제조

[0416] 지방산 및 방향족-알킬 카복시산의 N-하이드록시숙신아미드 에스테르는 담체를 따라서 존재하는 아미노기와 용이하게 반응하므로, 상기 에스테르는 본 발명의 소수성-코어 담체의 합성을 촉진할 것이다. 다음과 같은 방법은 문헌[Lapidot외 다수, Lapidot, Y., Rappoport, S. and Wolman, Y. (1967) J. Lipid Res., 8, 142]을 참고로 한 것이다: (i) 마개가 있는 250㎖들이 유리 원추형 플라스크에서 분자체 펠릿으로 건조시킨 아세트산 에틸 30㎖중에 3.45g(30nmol)을 용해시켜, N-하이드록시숙신이미드 용액 230mM을 제조하는 단계; (ii) 상기 용액에 30mmol의 원하는 지방산을 첨가하는 단계; (iii) 10㎖ 아세트산에틸 중 30mmol(6.18g)의 디사이클로헥실 카보디이미드를 함유하는 용액을 제조하여, 이를 지방산 용액에 첨가하는 단계; (iv) 실온에서 밤새도록 상기 반응을 진행시키는 단계; (v) 흡입관이 있는 마개를 사용하는 여과법을 통해, 침전된 디사이클로헥실 우레아를 제거하는 단계; (vi) 회전식 증발기 상에서 상기 여과물을 증발시켜 건조하고, 이를 에탄올로부터 재결정화하여 정제하는 단계; 및 (vii) 용매 시스템 즉, (a) 클로로포름 : (b) 석유(끓는 점 = 40~60℃)-디에틸 에테르(8:2)를 사용하여 TLC에 의해 순도를 체크하는 단계. 0.1M NaOH 중 10% 하이드록실아민을 도포하여 N-하이드록시숙신이미드 및 에스테르를 염색(적색)한 후, 2분 경과시 1.2M HCl 중 5% $FeCl_3$을 첨가하였다. 수율은 80~90%였다.

[0417] 기타 활성화된 지방산과 방향족 알킬 카복시산은, 지방산 무수물, 지방산 아실-할로겐화물, 방향족-알킬-카복실-무수물, 또는 방향족-알킬-아실-할로겐화물(예를 들어, -아실-Cl 및 -아실-Br)의 형태로서 시판되고 있다[예를 들어, Sigma-Aldrich Chem. Co., St louis, MO]. 예를 들어, 스테아르산 무수물은 담체의 아미노기와 자발적으로 반응하여, 이 스테아르산 무수물의 $CH_3(CH_2)_{16}CO$-을 결합시키고, 스테아르산 무수물의 기타 부분을 스테아르산으로서 방출하는 아미드 결합을 형성할 것이다. 스테아르산 생성물을 염기성 완충액으로 중화하면, 반응이 종결되는 것을 촉진할 것이다. 소수성 페닐기를 담체에 결합하는데 벤조산 무수물을 사용하는 유사한 반응도 진행될 수 있다. 이와 유사하게, 알킬-아실-할로겐화물 또는 벤질-알킬-아실-할로겐화물은 아미노기와 반응할 것이며, 가열시에는 하이드록실기와 반응할 것이다. 이로써, 담체에 소수성 기를 부가할 수 있을 것이다.

[0418] **실시예 2**

[0419] MPEG-폴리-L-리신(5000;40,000; 73%)(PLPEG-I)의 합성

[0420] 시약 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 및 폴리리신은 시판중에 있으며, 이의 합성 방법도 당업계에 널리 공지되어 있다. 폴리-L-리신(200mg; 브롬화수소산 폴리리신; Sigma chemical Co.; DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190; MWmalls:39,800; 0.7 몰 아미노기, TNBS 검정법, Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979)을 pH8.35인 탄산염 완충액(0.1M) 10㎖ 중에 용해하고, 여기에 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 1150mg을 첨가한 다음, 와류시키고, 이를 실온에서 밤새도록 항온 처리하였다. 그 다음날, 일정량을 분취하여, 트리니트로벤젠설폰산을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979). 그 결과, 아미노기의 73%가 MPEG에 접합하였음을 알 수 있었다. 다음 반응(소수성 기를 부가하는 반응)을 방해할 우려가 있는 폴리리신의 카복실 말단을 캡핑(capping)하기 위하여, 600ul의 에틸렌디아민과 100mg의 EDC를 부가하여 혼합한 다음, 이를 실온에서 1시간 동안 항온 처리하였다. 용액(200㎖)을 100kDa 컷-오프 필터 막(Amersham Biosciences Corp, Westborough, MA)으로 여과하여 세척하였는데, 이때, 물은 5회 교체하였다. 결과로 생성된 PLPEG 복합체를 동결 건조하고, 측량한 결과, 수득량은 860mg이었다. 결과로 생성된 생성물의 Mw를, MPEG에 의해 유도체화된 아미노기의 수를 바탕으로 하여 측정한 결과 730kDa이었다. 최종 생성물 1mg당 유리 아미노기의 수는 0.43umole/mg(도 9)였다. 만일 사용된 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트가 유리 숙시네이트로 오염되었다면(흔히 일어날 수 있음), PEG의 양은 아미노기 분석 결과로부터 예상되는 양보다 적을 것이며, 이는 최종 생성물 1mg당 아미노기의 양과도 불일치할 것이다.

[0421] **실시예 3**

[0422] MPEG-폴리-L-리신(5000;40,000;55%)(PLPEG-H)의 합성

[0423] 시약 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 및 폴리리신은 시판중에 있으며, 이의 합성 방법도 당업계에 널리 공지되어 있다. 폴리-L-리신(200mg; 브롬화수소산 폴리리신; Sigma chemical Co.; DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190; MWmalls:39,800; 0.7 몰 아미노기, TNBS 검정법, Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979)을

pH8.35인 탄산염 완충액(0.1M) 10㎖ 중에 용해하고, 여기에 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 900㎎을 첨가한 다음, 와류시키고, 이를 실온에서 밤새도록 항온 처리하였다. 그 다음날, 일정량을 분취하여, 트리니트로벤젠설폰산을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979). 그 결과, 아미노기의 55%가 MPEG에 접합하였음을 알 수 있었다. 다음 반응(소수성 기를 부가하는 반응)을 방해할 우려가 있는 폴리리신의 카복실 말단을 캡핑(capping)하기 위하여, 600ul의 에틸렌디아민과 100㎎의 EDC를 부가하여 혼합한 다음, 이를 실온에서 1시간 동안 항온 처리하였다. 용액(200㎖)을 100kDa 컷-오프 필터 막(Amersham Biosciences Corp, Westborough, MA)으로 여과하여 세척하였는데, 이때, 물은 5회 교체하였다. 결과로 생성된 PLPEG 복합체를 동결 건조하고, 측량한 결과, 수득량은 860㎎이었다. 결과로 생성된 생성물의 Mw를, MPEG에 의해 유도체화된 아미노기의 수를 바탕으로 하여 측정한 결과 560kDa이었다. 최종 생성물 1㎎당 유리 아미노기의 수는 0.75umole/mg(도 9)였다. 만일 사용된 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트가 유리 숙신이미딜-숙시네이트로 오염되었다면, PEG의 양은 아미노기 분석 결과로부터 예상되는 양보다 적을 것이며, 이는 최종 생성물 1㎎당 아미노기의 양과도 불일치할 것이다.

[0424] **실시예 4**

[0425] MPEG-폴리-1-리신(5000:40,000:22%)(PLPEG-III)의 합성

[0426] 시약 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 및 폴리리신은 시판중에 있으며, 이의 합성 방법도 당업계에 널리 공지되어 있다. 폴리-L-리신(200㎎; 브롬화수소산 폴리리신; Sigma chemical Co.; DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190; MWmalls:39,800; 0.7 몰 아미노기, TNBS 검정법, Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979)을 pH8.35인 탄산염 완충액(0.1M) 10㎖ 중에 용해하고, 여기에 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 600㎎을 첨가한 다음, 와류시키고, 이를 실온에서 밤새도록 항온 처리하였다. 그 다음날, 일정량을 분취하여, 트리니트로벤젠설폰산을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979). 그 결과, 아미노기의 22%가 MPEG에 접합하였음을 알 수 있었다. 다음 반응(소수성 기를 부가하는 반응)을 방해할 우려가 있는 폴리리신의 카복실 말단을 캡핑(capping)하기 위하여, 600ul의 에틸렌디아민과 100㎎의 EDC를 부가하여 혼합한 다음, 이를 실온에서 1시간 동안 항온 처리하였다. 용액(200㎖)을 100kDa 컷-오프 필터 막(Amersham Biosciences Corp, Westborough, MA)으로 여과하여 세척하였는데, 이때, 물은 5회 교체하였다. 결과로 생성된 PLPEG 복합체를 동결 건조하고, 측량한 결과, 수득량은 320㎎이었다. 결과로 생성된 생성물의 Mw를, MPEG에 의해 유도체화된 아미노기의 수를 바탕으로 하여 측정한 결과 250kDa이었다. 최종 생성물 1㎎당 유리 아미노기의 수는 1.14umole/mg(도 9)였다. 만일 사용된 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트가 유리 숙신이미딜-숙시네이트로 오염되었다면, PEG의 양은 아미노기 분석 결과로부터 예상되는 양보다 적을 것이며, 이는 최종 생성물 1㎎당 아미노기의 양과도 불일치할 것이다.

[0427] **실시예 5**

[0428] MPEG-폴리-1-리신(5000:40,000: 9%)(PLPEG-IV)의 합성

[0429] 시약 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 및 폴리리신은 시판중에 있으며, 이의 합성 방법도 당업계에 널리 공지되어 있다. 폴리-L-리신(200㎎; 브롬화수소산 폴리리신; Sigma chemical Co.; DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190; MWmalls:39,800; 0.7 몰 아미노기, TNBS 검정법, Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979)을 pH8.35인 탄산염 완충액(0.1M) 10㎖ 중에 용해하고, 여기에 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트 300㎎을 첨가한 다음, 와류시키고, 이를 실온에서 밤새도록 항온 처리하였다. 그 다음날, 일정량을 분취하여, 트리니트로벤젠설폰산(TNBS)을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979). 그 결과, 아미노기의 9%가 MPEG에 접합하였음을 알 수 있었다. 다음 반응(소수성 기를 부가하는 반응)을 방해할 우려가 있는 폴리리신의 카복실 말단을 캡핑(capping)하기 위하여, 600ul의 에틸렌디아민과 100㎎의 EDC를 부가하여 혼합한 다음, 이를 실온에서 1시간 동안 항온 처리하였다. 용액(200㎖)을 100kDa 컷-오프 필터 막(Amersham Biosciences Corp, Westborough, MA)으로 여과하여 세척하였는데, 이때, 물은 5회 교체하였다. 결과로 생성된 PLPEG 복합체를 동결 건조하고, 측량한 결과, 수득량은 300㎎이었다. 결과로 생성된 생성물의 Mw를, MPEG에 의해 유도체화된 아미노기의 수를 바탕으로 하여 측정한 결과 125kDa이었다. 최종 생성물 1㎎당 유리 아미노기의 수는 1.5umole/mg(도 9)였다. 만일 사용된 MPEG-숙신이미딜-숙시네이트가 유리 숙신이미딜-숙시네이트로 오염되었다면, PEG의 양은 아미노기 분석 결과로부터 예상되는 양보다 적을 것이며, 이는 최종 생성물 1㎎당 아미노기의 양과도 불일치할 것이다.

[0430] **실시예 6**

[0431] MPEG-폴리-1-리신-C12(PLPEG-III-C12)의 합성

[0432] PLPEG-III-C12는 잔류하는 리신 잔기의 엡실론 아미노기에 결합된 $CH_3(CH_2)_{10}CO$-소수성 기를 함유하는 소수성-코어 담체이다. 실시예 4에서 제조한 PLPEG-III 20㎎을 0.1M 탄산염 완충액(pH8.35)과 함께 용해하여 2㎖가 되도록 만들었다. 라우르산, 나트륨 염(Acros Organics, NJ.) 50㎎을 2㎖의 30% 아세토니트릴:물로 용해시키고, 이 용액에 25㎎의 NHSS(황산 N-하이드록시숙신이미드; Pierce, Rockfor, IL) 25㎎을 첨가한 후, 100㎎의 EDC(1-에틸-3-[3-디메틸아미노프로필]카보디이미드 하이드로클로라이드; Pierce, Rockfor, IL)를 첨가하였다. 이 용액을 PLPEG-III 용액 2㎖에 적가하고, 실온에서 항온 처리하였다. 그 다음날, 상기 용액을 분취한 후, 트리니트로벤젠설폰산(NBS)을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979). 결과를 통하여, 유리 아미노기가 잔류하지 않음을 알 수 있었다. 잔류하는 가용성 지방산 및 NHSS는, 상기 용액을 2㎖의 음이온 교환 수지(Mono-Q, Bio-Rad, Hercules, CA)(50%의 아세토니트릴:물로 평형화됨)에 통과시키면 제거된다. 이후, 용리액을 20㎖ 수퍼덱스(Superdex) 200(Amersham Bio sciences Corp, Westborough, MA)(50%의 아세토니트릴/물로 평형화됨)으로 탈염시켰으며, 공극에 잔류하던 PLPEG-III-C1을 동결 건조시킨 다음, 이를 측량한 결과 수득량은 12㎎이었다.

[0433] **실시예 7**

[0434] MPEG-폴리-1-리신-C18(PLPEG-III-C18)의 합성

[0435] PLPEG-III-C18은 잔류하는 리신 잔기의 엡실론 아미노기에 결합된 $CH_3(CH_2)_{16}CO$-소수성 기를 함유하는 소수성-코어 담체이다. 실시예 4에서 제조한 PLPEG-III 20㎎에 0.1M 탄산염 완충액(pH8.35)을 첨가하여 부피 2㎖가 되도록 만들었다. 스테아르산, 나트륨 염(Fisher, Houston, TX) 50㎎을 2㎖의 아세토니트릴로 용해시키고, 이 용액에 25㎎의 NHSS(황산 N-하이드록시숙신이미드; Pierce, Rockfor, IL) 25㎎을 첨가한 후, 100㎎의 EDC(1-에틸-3-[3-디메틸아미노프로필]카보디이미드 하이드로클로라이드; Pierce, Rockfor, IL)를 첨가하였다. 이 용액을 PLPEG-III 용액 2㎖에 적가하고, 실온에서 항온 처리하였다. 그 다음날, 상기 용액을 분취한 후, 트리니트로벤젠설폰산(TNBS)을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979). 결과를 통하여, 유리 아미노기가 잔류하지 않음을 알 수 있었다. 잔류하는 가용성 지방산 및 NHSS는, 상기 용액을 2㎖의 음이온 교환 수지(Mono-Q, Bio-Rad, Hercules, CA)(50%의 아세토니트릴:물로 평형화됨)에 통과시키면 제거된다. 이후, 용리액을 20㎖ 수퍼덱스 200(Amersham Bio sciences Corp, Westborough, MA)(50%의 아세토니트릴/물로 평형화됨)으로 탈염시켰으며, 공극에 잔류하던 함유 PLPEG-III-C18을 동결 건조시킨 다음, 이를 측량한 결과 수득량은 18㎎이었다.

[0436] **실시예 8**

[0437] MPEG-폴리-1-리신-C8(PLPEG-III-C8)의 합성

[0438] PLPEG-III-C8은 잔류하는 리신 잔기의 엡실론 아미노기에 결합된 $CH_3(CH_2)_6CO$-소수성 기를 함유하는 소수성-코어 담체이다. 실시예 4에서 제조한 PLPEG-III 20㎎에 0.1M 탄산염 완충액(pH8.35)을 첨가하여 부피 2㎖가 되도록 만들었다. 카프릴산, 나트륨 염(Sigma chemical Co. St Louis, MO.) 50㎎을 2㎖의 30% 아세토니트릴:물로 용해시키고, 이 용액에 25㎎의 NHSS(황산 N-하이드록시숙신이미드; Pierce, Rockfor, IL) 25㎎을 첨가한 후, 100㎎의 EDC(1-에틸-3-[3-디메틸아미노프로필]카보디이미드 하이드로클로라이드; Pierce, Rockfor, IL)를 첨가하였다. 이 용액을 PLPEG-III 용액 2㎖에 적가하고, 실온에서 항온 처리하였다. 그 다음날, 상기 용액을 분취한 후, 트리니트로벤젠설폰산(NBS)(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979)을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다. 결과를 통하여, 유리 아미노기가 잔류하지 않음을 알 수 있었다. 잔류하는 가용성 지방산 및 NHSS는, 상기 용액을 2㎖의 음이온 교환 수지(Mono-Q, Bio-Rad, Hercules, CA)(50%의 아세토니트릴:물로 평형화됨)에 통과시키면 제거된다. 이후, 용리액을 20㎖ 수퍼덱스 200(Amersham Bio sciences Corp, Westborough, MA)(50%의 아세토니트릴/물로 평형화됨)으로 탈염시켰으며, 공극에 잔류하던 함유 PLPEG-III-C18을 동결 건조시킨 다음, 이를 측량한 결과 수득량은 8㎎이었다.

[0439] **실시예 9**

[0440] MPEG-폴리-1-리신-C12(PLPEG-II-C12)의 합성

[0441] PLPEG-II-C12는 잔류하는 리신 잔기의 엡실론 아미노기에 결합된 $CH_3(CH_2)_{10}CO$-소수성 기를 함유하는 소수성-코어 담체이다. 실시예 3에서 제조한 PLPEG-II 40㎎에 0.1M 탄산염 완충액(pH8.35)을 첨가하여 부피 4㎖가 되도록

만들었다. 라우르산, 나트륨 염(Acros Organics, NJ.) 50㎎을 2㎖의 30% 아세토니트릴:물로 용해시키고, 이 용액에 25㎎의 NHSS(황산 N-하이드록시숙신이미드; Pierce, Rockfor, IL)를 첨가한 후, 100㎎의 EDC(1-에틸-3-[3-디메틸아미노프로필]카보디이미드 하이드로클로라이드; Pierce, Rockfor, IL)를 첨가하였다. 이 용액을 PLPEG-III 용액 4㎖에 적가하고, 실온에서 항온 처리하였다. 그 다음날, 상기 용액을 분취한 후, 트리니트로벤젠설폰산(NBS)을 사용하여 잔류하는 아미노기의 양을 정량하였다(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979). 결과를 통하여, 유리 아미노기가 잔류하지 않음을 알 수 있었다. 잔류하는 가용성 지방산 및 NHSS는, 상기 용액을 2㎖의 음이온 교환 수지(Mono-Q, Bio-Rad, Hercules, CA)(50%의 아세토니트릴:물로 평형화됨)에 통과시키면 제거된다. 이후, 용리액을 20㎖ 수퍼덱스 200(Amersham Bio sciences Corp, Westborough, MA)(50%의 아세토니트릴/물로 평형화됨)으로 탈염시켰으며, 공극에 잔류하던 PLPEG-II-C12를 동결 건조시킨 다음, 이를 측량한 결과 수득량은 25㎎이었다.

[0442] **실시예 10**

[0443] GLP-1의 PLPEG-II-C12에의 결합

[0444] 6개의 폴리프로필렌 미세 원심 분리용 튜브를 3개씩 준비하였다. 실시예 9에서 얻어진 PLPEG-II-C12 스톡(5㎎/㎖)의 분취액(90ul)을 폴리프로필렌 미세 원심 분리 튜브 1번과 2번에 넣었다. PLPEG-II 스톡(5㎎/㎖)의 분취액(90ul)은 폴리프로필렌 미세 원심 분리 튜브 3번과 4번에 넣었다. 튜브 3번과 4번은 C12 지방산 유도체화가 일어나지 않은 PLPEG-II를 함유한다. 그러나, 상기 튜브에는 C4와 등가인 숙시네이트 유도체(보호기의 기저부임)가 들어있음에 주의해야 할 것이다. 60ul의 GLP-1(3㎎/㎖; 7~36개의 아미드화된 인간 GLP-1; Polypeptide Lab. GmbH, Germany)을 분취하여, 이를 2번, 4번 및 6번 튜브에 첨가하였다. 1.5M NaCl/0.5M PO_4 완충액(pH 7.35)을 50ul 분취하여 모든 튜브에 넣었다. 여기에 물을 첨가하여 모든 튜브에 들어있는 내용물의 부피를 0.5㎖로 증가시켜, 최종 완충액 및 NaCl 농도가 50mM 인산염/150mM NaCl/pH 7.35가 되도록 만들었다. 이 용액들을 혼합한 후, 동결 건조시켰다. 그 다음날, 모든 용액에 물을 첨가하여 그 부피가 0.5㎖가 되도록 만들고, 원심 분리하여 이를 100kDa 컷-오프 막(Millipore, Bedford, MA)에 통과시켰다. 이 필터를 통과한 GLP-1의 양은 용액 중 유리 GLP-1의 농도였다. PLPEG-II-C12 또는 PLPEG-II를 함유하지 않는 대조군 튜브(6번 튜브)는 결합에 사용될 수 있는 GLP-1의 총량을 함유할 것이다. 6번 튜브에 대한 대조군은 완충액만을 함유하는 5번 튜브이다. 결합된 로딩 분자의 양은, 동일한 농도의 로딩 분자를 포함하되 소수성-코어 담체는 포함하지 않는, 해당 대조군의 로딩 분자의 양으로부터 유리 로딩 분자의 양을 공제함으로써 계산될 수 있다. 상기 필터를 통과한 로딩 분자는 HPLC에 의해 정량되었다(도 10 참조). 그 결과를 통하여, C12 지방산이 변형되지 않은 PLPEG-II는 20중량%의 GLP-1과 결합할 수 있음을 알 수 있었다. 그러나, C12 지방산이 변형된 PLPEG-II는 사용 가능한 GLP-1 전부와 결합하였음을 알 수 있었다. 이는 곧, PLPEG-II-C12가 32중량% 이상의 GLP-1과 결합할 수 있음을 의미한다. 유리 GLP-1의 양은 통상의 HPLC-UV 검출법을 이용하여 측정될 수는 없는데, 이는 곧, 유리 GLP-1의 양이 10nM 이하임을 말해주는 것이다. 이와 같은 조건 하에 있는 유리 GLP-1의 정확한 양은 GLP-1용 ELISA 키트(Linco, St. Charles, MO)를 사용하여 확인할 수 있다.

[0445] **실시예 11**

[0446] 20PLPEG5-55의 합성 및 품질 확인

[0447] PLPEG(폴리리신-폴리에틸렌글리콜 공중합체) 1㎎당 아미노시의 양과, 폴리리신의 아미노기 포화% 사이의 이론상 및 실질적 상관 관계를 알아보기 위해서, 등식을 적용하여 최종 PLPEG 생성물 1㎎당 발현되는 아미노기의 양(TNBS 반응을 통해 측정됨)을 바탕으로 폴리리신의 포화도를 예측하였다. 이는 임의의 카복실기 함유 화합물로부터 얻어진, 반응에 사용된 PEG의 순도가 95~100%일 경우에만 유용하다. 이와 같은 등식은 PLPEG 조성물의 2차적 확인 수단으로서 매우 유용하다. 다음과 같은 등식을 이용하여, 이론상의 예상 수치를 계산하였다: X = [100 × (C - Y)]/5YC + C] (식 중, X는 포화%이고; Y는 TNBS에 의해 측정된, PLPEG 1그램당 NH_2의 mmol이며; C는 PL(폴리리신) 1그램당 NH_2의 mmol임(TNBS를 통하여 측정됨)). 상기 등식 중, 5YC에서 5는 사용된 PEG의 크기를 의미하는 것이다(이 경우에는 5kDa이므로 5YC로 나타낸 것임). 만일 10kDa의 PEG가 사용되면, 10YC가 될 것이다. 일단 PLPEG 생성물이 형성되면, 폴리리신의 아미노기의 포화%는, 최종 생성물을 1회 TNBS 검정함으로써 측정되어, X값을 구할 수 있는 Y가 결정될 수 있으므로, 이 방법은 유용하다. 이 등식을 다음과 같이 고순도 MPEG-숙시네이트를 이용하여 PLPEG를 합성함으로써 실험 데이터에 대해 테스트하였다. 1㎎의 20PL(이 경우에는 1g당 1.7mmol의 NH_2를 가짐)을 200mM HEPES 100㎖ 중에 용해시켰다. 별도의 용기에 250㎎의 NHSS를 첨가한 후, 500㎎의 EDC(수중 용해)를 첨가하여, 10mM MES(pH 4.7) 25㎖중 MPEG-숙시네이트 5g를 활성화하였다. 18~20분

동안 활성화를 진행하였다. 활성화된 MPEG-숙시네이트를 20PL 용액에 첨가한 후, 이를 4시간 동안 반응시켰다. 4시간 경과 후, 5g의 MPEG-숙시네이트를 더욱 활성화시키고, 이를 전술한 바와 같이 첨가한 다음, 밤새도록 교반하면서 항온 처리하였다. 그 다음날, 아미노기를 측정한 결과 0.77mmol이 존재함을 알 수 있었는데, 이는 곧, 아미노기의 포화도가 55%임을 말해주는 것이다. 100kDa의 분자 컷-오프 필터를 통과시켜 한외 여과하여 세척하기 전(도 32의 패널 A)과 후(도 32의 패널 C)에, 소량의 시료를 크기별 배제 크로마토그래피로 분석한 다음, 공중합체의 지름을 측정하였다(도 33). 세척된 시료를 동결 건조하고(8g; 20PLPEG5-55), 건조된 최종 생성물 1mg 당 아미노기의 양을 TNBS 검정법(Sparado외 다수 Anal Biochem 96:317, 1979)으로 측정하였다. 상기 등식을 이용하여, PEG의 포화%를 계산한 결과, 55%임을 알 수 있었다(도 31). 몇몇 합성법을 더 실행하였으며, 이론상의 수치를 실험에 의하여 얻어진 수치와 비교하였다(도 31).

[0448] **실시예 12**

[0449] C18-20PLPEG5-55(PGC-HC18)의 합성

[0450] 8g의 20PLPEG5-55(1.6mmol NH_2)를 143㎖의 DCM에 TEA(200ul; Mw=101; 2mmol)와 함께 용해시켰다. 스테아르산 또는 C18(570mg; Mw = 285; 2mmol)을 활성화한 다음, 5.7㎖ DMF 중 230mg NHS(Mw=115; 2mmol)로 안정화시켰는데, 즉, DCC(Mw = 206; 0.47㎖ = 0.618g = 3.0mmol)를 첨가하고, 이를 2시간 동안 항온 처리하였다(이때, 용액은 불용성 NHS 활성화 FA 및 우레아 형태와 같이 불용성으로 됨). 활성화된 C18을 20PLPEG5-55 용액에 첨가하여 이를 반응시켰다. 2시간 경과 후, 이 과정을 반복 실행하여, 교반하면서 1주간 항온 처리하였다. 총 부피는 160㎖(PLPEG는 50mg/㎖)였으며, 반응 혼합물 40ul를 물로써 1㎖로 희석하고, 150ul를 분취하여 아미노기에 대해 분석하였다(2mg/㎖; 0.002umol-NH_2/mg). 성능이 좋은 필터인 와트만 필터지(Whatman filter paper)를 사용하여 불용성 우레아를 여과해냈다. 여과물을 회전 증발법에 의해 농축하고, 100kDa의 분자 컷-오프 필터(70%의 에탄올 4(밤새도록) → 물 1ℓ)를 통한 한외 여과에 의해 세척하였다. 시료를 0.2um 필터로 멸균 여과한 다음 동결 건조시켰다(6.7g).

[0451] **실시예 13**

[0452] C24-20PLPEG5-55의 합성

[0453] 3g의 20PLPEG5-55(0.6mmol NH_2)를 60㎖의 DCM에 용해시키고, 여기에 TEA 100ul를 첨가하였다. 리그노세린산 또는 C24(Mw = 368.6; 276mg; 0.75mmol)를 활성화한 다음, 2.7㎖ DMF 중 NHS(86mg; Mw = 115; 0.75mmol)로 안정화시켰는데, 즉, DCC(Mw = 206; 0.17㎖ = 0.226g = 1.1mmol)를 첨가하고, 이를 2시간 동안 항온 처리하였다(이때, NHS 활성화된 FA 및 우레아 형태로서 불용성 우레아가 침전됨). 활성화된 C24를 20PLPEG5-55 용액에 첨가하여 이를 반응시켰다. 2시간 경과 후, 이 과정을 반복 실행하여, 교반하면서 밤새도록 항온 처리하였다. 마지막 단계에서의 총 부피는 70㎖였다. 반응 혼합물 23ul를 물로써 1㎖로 희석하고, 150ul를 분취하여 아미노기에 대해 분석(1mg/㎖)한 결과, 6uM보다 약간 높은 8uM의 물 블랭크(water blank)를 함유한다는 것을 알 수 있었다. 성능이 좋은 와트만 여과지를 사용하여 불용성 우레아를 걸러내었다. 여과물을 회전 증발법에 의해 농축하고, 100kDa의 분자 컷-오프 필터(70%의 에탄올 4ℓ(밤새도록) → 물(1ℓ))를 통한 한외 여과에 의해 세척하였다. 시료를 0.2um 필터로 멸균 여과한 다음 동결 건조시켰다(1.9g).

[0454] **실시예 14**

[0455] C18-PLPEG5-55(PGC-HC18)와 GLP-1의 담지

[0456] GLP-1(200ug)을 70% 아세톤/물(v/v) 500ul 중에 용해하고, 이를 담체 10mg가 들어있는 건조 바이알에 옮겼다. 200ug의 GLP-1을 함유하는 담체를 약 진공 상태 하에서 증발시켰는데, 이때, 걸어준 진공의 세기를 조절하여 상기 시료가 얼거나 지나치게 가열되지 않도록 주의한다. 상기 용액을 건조할 때, 상기 바이알은 밀봉하여 나중에 사용하도록 둔다. 상기 바이알 내에 있는 펩티드 시료는 4℃에서 수 개월 동안에도 매우 안정한 상태로 유지된다. 상기 조건 하에서 GLP-1이 분해되는 것을 관찰하지 못했다. 이와 같은 담지 과정은 도 34에 도시된 바와 같은 결과에 따라서, PGC-HC24를 사용하여 진행되었다. 일단 건조되면, 상기 시료가 들어있는 바이알 마개를 닫고, 이를 사용할 때까지 냉장고 또는 4℃에 두었다. 담지된 담체는 보통 주사용으로서 PBS 중에서 재구성될 것이다. 이와 같은 과정들은 모두 멸균 조건 하에서 진행된다. 대안적으로, 최종 생성물은 재구성된 후 0.5um의 필터를 통하여 여과될 수 있다. 이후 여과된 생성물을 동결 건조시킬 수 있다. 아세톤 이외의 용매 예를 들어, 아세토니트릴, 메탄올 또는 에탄올을 사용할 수 있다. 이와 같은 용매의 용도는, 지방산을 부분적으로 용해하여 펩티드가 보다 가깝게 인접하도록 만드는 것이다. 건조시, 휘발성 용매가 사라짐에 따라서, 상기 펩티드는 지방

산과 더욱 인접하여 그것과 결합하게 될 것이다. 이들 용매 모두의 비등점은 물의 비등점보다 낮음에 주의하여야 할 것이다[아세톤 b.p. = 57℃; 아세토니트릴 b.p. = 80℃; 메탄올 b.p. = 65℃; 에탄올 b.p. = 78℃]. 담지 비율은 펩티드와 원하는 혈액 농도에 따라서 달라지겠지만, 보통은 담체 중량에 대하여 약 2~20%이다. GLP-1 펩티드 중 4~5%만이 고 친화도(nM) 위치에 결합하며, 나머지 6%는 저 친화도(uM) 위치에 결합한다. 본 발명자들은 혈액 중 GLP-1의 농도를 낮게 유지시키는 것을 목적으로 하므로, 고 친화도 위치만을 사용하였으며, 이 경우, 담체 중량의 2%가 담지되었다.

[0457] **실시예 15**

[0458] PGC-HC18 및 GLP-1 사이의 해리 상수(Kd)의 측정

[0459] PGC-HC18은 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응할 경우의 20kDa인 폴리리신으로 이루어진 소수성-코어 담체이다. 0.50, 0.40, 0.30, 0.25, 0.20, 0.15, 0.1mg의 GLP-1과, 튜브당 5mg의 담체를 함유하는 다수의 튜브 내 내용물을 혼합하였다(3개씩). 각각의 바이알 내에 담겨 있는, 담체와 혼합된 GLP-1의 양은 담체 중량의 2, 3, 4, 5, 6, 8 및 10%였다. 담체를 함유하지 않는 블랭크 튜브도 준비하였으며, 이를 후속 과정에서 유사하게 처리하였다. 이러한 시료를 동결 건조하고, 70% 아세톤을 100ul 분취하여 각각의 바이알에 가한 다음, 상기 시료들을 증발 건조시켰다. PBS(pH 7.3)를 사용하여 시료를 500ul로 재구성하고, 10,000×g에서 12분 동안 원심 분리시켜 100 MWCO 재생 셀룰로스 필터(Millipore, Bedford, MA)로, 결합된 GLP-1을 여과해냈다. 유리 GLP-1을 함유하는 여과물을 역상 HPLC로 정량하였다. 상기 필터에 잔류하는 물질을, 전술한 바와 같이 70% 아세토니트릴 100ul로 3회 세척하였으며(원심 분리에 의함), 이때, 각 시료로부터 방출된 GLP-1(결합형)을 역상 HPLC로 정량하였다. 결합형/유리 GLP-1의 양을 측정하고, 결합형 GLP-1의 양에 대해 그래프를 그렸다(도 35). 유리 GLP-1에 비한 결합형 GLP-1의 상대적 양을 도 37에 나타내었다. 선형인 영역의 회귀선 기울기는 -1/Kd로 나타낼 수 있는데, 이로써 Kd를 계산할 수 있다(도 35). 각각의 담체에서는 Kd가 3개씩 명확하게 나타났음을 알 수 있었다. 249nM의 Kd는 고 친화도 위치에 해당하는 수치이며, 이와 같은 친화도를 갖는 위치의 수는 담체 당 대략 4~5개이다. 제2 Kd 값(3.7uM)은 담체당 2개의 위치들을 나타내는, 중간 정도의 친화도에 해당한다. 제3 Kd 값(33uM)은 담체당 또 다른 2개의 위치들을 나타내는, 가장 낮은 친화도에 해당한다. 후자인 2개의 친화도 값은 GLP-1 전달 목적과는 무관한데, 그 이유는 GLP-1에 대한 DPP4 효소(GLP-1 분해 효소)의 Km(300 uM)과 보다 가까운 친화도를 갖기 때문이다.

[0460] **실시예 16**

[0461] PGC-HC24 및 GLP-1 사이의 해리 상수(Kd)의 측정

[0462] PGC-HC24는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 리그노세린산 또는 C24와 반응할 경우의 20kDa으로 이루어진 소수성-코어 담체이다. 0.50, 0.40, 0.30, 0.25, 0.20, 0.15, 0.1mg의 GLP-1과, 튜브당 5mg의 담체를 함유하는 다수의 튜브 내 내용물을 혼합하였다(3개씩). 담체와 혼합된 GLP-1의 양은 담체 중량의 2, 3, 4, 5, 6, 8 및 10%였다. 담체를 함유하지 않는 블랭크 튜브도 준비하였으며, 이를 후속 과정에서 유사하게 처리하였다. 이러한 시료를 동결 건조하고, 70% 아세톤을 100ul 분취하여 각각의 튜브에 가한 다음, 상기 시료들을 증발 건조시켰다. PBS(pH 7.3)를 사용하여 시료를 500ul로 재구성하고, 10,000×g에서 12분 동안 원심 분리시켜, 100 MWCO 재생 셀룰로스 필터(Millipore, Bedford, MA)로 여과해냈다. 유리 GLP-1을 함유하는 여과물을 역상 HPLC로 정량하였다. 상기 필터에 잔류하는 물질을, 전술한 바와 같이 70% 아세토니트릴 100ul로 3회 세척하였으며(원심 분리에 의함), 이때, 각 시료로부터 방출된 GLP-1(결합형)을 역상 HPLC로 정량하였다. 결합형/유리 GLP-1의 양을 측정하고, 결합형 GLP-1의 양에 대해 그래프를 그렸다(도 36). 선형인 영역의 회귀선 기울기는 -1/Kd로 나타낼 수 있는데, 이로써 Kd를 계산할 수 있다. 각각의 담체에서는 Kd가 3개씩 명확하게 나타났음을 알 수 있었다. 77nM의 Kd는 고 친화도 위치에 해당하는 수치이며, 이와 같은 친화도를 갖는 위치의 수는 담체 당 대략 3~4개이다. 제2 Kd 값(2uM)은 담체당 2개의 위치들을 나타내는, 중간 정도의 친화도에 대항한다. 후자의 친화도 값은 상기 위치와는 그다지 관련성이 크지 않은데, 그 이유는 GLP-1에 대한 DPP4 효소(GLP-1 분해 효소)의 Km(300 uM)과 더욱 가깝기 때문이다.

[0463] **실시예 17**

[0464] GLP-1-소수성-코어 담체(PGC-HC18) 복합체의 용액 안정성 테스트

[0465] PGC-HC18은 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응할 경우의 20kDa인 폴리리신으로 이루어진 소수성-코어 담체이다. 겔 투과 크로마토그래피는 분자들을 크기에 따라서 용리시킨다. PGC-HC18의 크기는 약 300kDa인 반면에, GLP-1의 크기는 3kDa이다. PGC-HC18이

겔 투과 컬럼(BioSep 2000 컬럼; 0.78 × 30㎝; Phenomenex)을 단독으로 통과할 때, 이는 공극 부피(Vo)에 가깝게 배출되는 반면, 이보다 훨씬 뒤에 GLP-1이 단독으로 통과할 때, 이는 컬럼의 총 부피 즉 Vt에 가깝게 배출된다. PGC-HC18 및 GLP-1 사이의 비 공유 복합체가 겔 투과 컬럼을 통과하여 배출될 때, 이 복합체는 상기 컬럼의 각 이론적 판(theoretical plate)에서 평형화될 것이며, 상호 작용의 세기는, PBS(pH 7.4) 중에서 다수 회 평형화된 이후 얼마나 많은 GLP-1이 PGC-HC18과 결합된 상태로 남게 되는가에 의해서 반영될 것이다. 이는 Kd 이외에도, 복합체의 안정성을 2차적으로 확인하는 척도로서 사용되었다. GLP-1-소수성-코어-담체(C18-20PLPEG555) 복합체가 크기별 배제 컬럼(0.78 × 30㎝)을 통과한 후, 담체에 결합되는 GLP-1의 양을 관찰함으로써, 이 복합체의 용액 안정성을 테스트하였다. 도 34에 개략적으로 나타낸 바와 같이, 아세톤법을 이용하여 총 2㎎의 GLP-1을 각각 다양한 양의 C18-담체에 담지하였다. 복합체를 형성한(결합형) GLP-1과 유리 GLP-1 둘 다를 함유하는 용액을 크기별 배제 크로마토그래피(n = 5)시켜, 220㎚에서 관찰하였다. 유리 GLP-1은 총 부피(Vt)로 배출되었으며, 담체는 공극 부피(Vo)로 배출되었다. 상기 담체는 단독으로, BioSep 2000 컬럼(0.78 × 30㎝; Phenomenex)의 Vo에서 배출된 담체와 결합된 GLP-1의 표면적을 정량하는데 블랭크로서 사용되었다. 상기 복합체는 안정하며, Kd값은 249nM인데, 이는 안정성 테스트 결과와 일치하는 값이다(도 38).

[0466] **실시예 18**

[0467] DPP4에 의한 급속 분해로부터 생성된 PGC-HC18에 의한 GLP-1의 보호

[0468] PGC-HC18은 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 MPEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 스테아르산 또는 C18과 반응할 경우의 20kDa인 폴리리신이다. PGC-HC18이 GLP-1을 DPP-4에 의한 급속 분해로부터 보호할지 여부를 측정하기 위하여, 인산염 완충 염수(PBS; pH 7.4) 중 GLP-1(1㎎/㎖)을 분취하고, 이를 PGC-HC18(10㎎/㎖) 또는 대조군 담체(C18 지방산 또는 PGC 불포함)의 존재 또는 부재 하에서 DPP4(1.25mU/㎖; Sigma Chem. Co. St Luois Mo)로 분해하였다. PGC는 아미노기의 55%가 분자량 5kDa인 PEG 숙시네이트와 반응하고, 나머지 아미노기는 반응하지 않을 경우의 20kDa 폴리리신이다. 24시간 동안 항온 처리한 다음, 여기에 DPP4 억제제를 첨가하여 분해 과정을 종결시킨 후, 각 용액을 10ul씩 분취하여 HPLC 분석을 수행하였다(도 39). HPLC(Waters Co. Milford, MA) 분석법에서는 머큐리 시너지맥스-RP(Phenomenex; 0.4 × 2㎝)를 사용한다[이 경우, 5분에 걸쳐서 25% 아세토니트릴/물/0.1% TFA → 50% 아세토니트릴/물/0.1% TFA의 구배로써, 1.5㎖/분의 유속으로 배출되며, 용리액은 220㎚에서 관찰됨]. PBS 중 GLP-1의 시험관 내 분해(DPP4 사용) 결과에 관한 크로마토그램을 통하여, 원형 GLP-1은 초기 용리 피크에 해당함을 알 수 있다[우측 지시 화살표, 도 39]. GLP-1의 분해 생성물(pH 2 크로마토그래피 조건에서, 히스티딘 잔기가 제거되고, 전하량도 적은 생성물)은 이보다 후에 배출된다[좌측 지시 화살표]. 다른 피크들은 DPP4 피크이다(또한 단백분해효소 억제제이다(3~4분 경과시 나타나는 피크)). PGC-HC18 담체가 존재할 때, DPP4에 의한 GLP-1의 분해는 상당히 지연되며, 이때, GLP-1 단독 및 GLP-1과 PGC(지방산을 포함하지 않는 담체)는 유사한 정도로 분해된다. 이러한 분석은 다수 회 실시되었으며, 그 결과는 매우 확실하다.

[0469] **실시예 19**

[0470] GLP-1-PGC-HC18 복합체는 세포 수용체에 결합하여 Ca-유입을 촉진하는 데 충분한만큼의 유리 GLP-1을 갖는다

[0471] 췌장의 섬 세포 상에 존재하는 GLP-1 수용체와 상호 작용시킴으로써, GLP-1은 신호 전달 반응의 케스케이드[세포 내 Ca^{2+}-농도를 증가시켜, 엄격한 글루코스-의존적 방식으로 인슐린-함유 과립의 외포 작용을 촉진하는 것을 포함함(이때의 글루코스 농도는 4.5mM보다 높음)]를 유도한다. 담체에 대한 GLP-1의 친화도(Kd 249 nM)는 GLP-1의 수용체에 대한 이 GLP-1의 친화도보다 작으므로(Kd 1nM), 본 발명자들은 수용체가 존재할 때 유리 GLP-1이 방출됨에 따라서 평형 상태도 변한다는 사실을 예측할 수 있었다. 본 발명자들은, 칼슘 유입을 촉진하는 능력을 평가함으로써, 제형화된 GLP-1이 배양된 섬 세포상에 존재하는 GLP-1 수용체들을 활성화시키는 능력을 테스트하였다. 래트의 인슐린종 세포(INS-1 세포)를 96웰 평판에 도말하여(200,000개의 세포/웰), 이를 RPMI, 10% 소 태아 혈청(FBS), 11.1mM 글루코스, 10mM HEPES(pH 7.4), 1mM 피루브산나트륨, 그리고 50uM 2-머캡토에탄올을 함유하는 200ul 배지 중에서, 밤새도록 37℃/5% CO_2/100% 상대 습도하에 결합시켰다. 그 다음날, 배지를 2% FBS, 11.1mM 글루코스 및 0.5ug/㎖ Fura 2(Molecular Probes, Eugine, OR)를 함유하는 인산염 완충 염수(PBS) 20ul으로 교환하였다. 30분 경과 후, 여기에 2% FBS 및 11.1mM 글루코스를 함유하는 180ul PBS를 첨가하고, 웰을 백그라운드 형광도(여기 파장 = 340㎚; 방출 파장 = 510㎚)에 대해 관찰하였다[케멜레온(Chemeleon; BioScan, Washington D.C) 사용]. 10초 후, 300nM GLP-1을 포함 및 포함하지 않는 PBS 20ul, 300nM GLP-1과 150nM PGC-HC18, 또는 150nM PGC-HC18을 각각 웰에 주입하였으며(n = 5), 각각의 웰의 형광도를 60초 동안 관찰하였다(여기 파장 = 340㎚; 방출 파장 = 510㎚). 도 40에 도시한 바와 같이, GLP-1과 함께 제형화된 PGC-HC18은 INS-1

섬 세포에 있어서 칼슘 유입을 촉진하였는데, 이를 통하여, 상기 GLP-1과 함께 제형화된 PGC-HC18이 GLP-1 수용체와 결합하고 이를 활성화하기 충분한 양만큼의 GLP-1을 방출하는 능력을 갖는다는 것을 확인할 수 있었다.

[0472] **실시예 20**

[0473] GLP-1-PGC-HC18 복합체는 세포 내 수용체와 결합하여, 글루코스 자극 인슐린 분비를 촉진하는데 충분한 양만큼의 유리 GLP-1을 갖는다

[0474] 제형화된 GLP-1의 활성을 더 자세히 확인해보기 위하여, GLP 수용체가 활성화됨으로 인하여 글루코스에 의해 인슐린 방출이 촉진될 때, GLP-1과 제형화된 GLP-1이 이에 미치는 영향력을 테스트하였다. 래트의 인슐린종 세포(INS-1 세포)를 96웰 평판에 도말하여(50,000개의 세포/웰), 이를 RPMI, 10% 소 태아 혈청(FBS), 11.1mM 글루코스, 10mM HEPES(pH 7.4), 1mM 피루브산나트륨, 그리고 50uM 2-머캡토에탄올을 함유하는 100ul 배지 중에서, 밤새도록 37℃/5% CO_2/100% 상대 습도하에 결합시켰다. 그 다음날, 글루코스를 포함하지 않는 배지 100ul를 추가로 첨가한 결과, 총 글루코스 농도가 5.5mM이 되었다. 이 세포를 밤새도록 더 항온 처리하였다. 글루코스에 의해 촉진된 인슐린 방출은 이 배지를, 글루코스(11.1mM) 및 PGC-HC18 (0, 0.17, 0.33 및 1 nM) 중 상이한 양의 GLP-1(0, 0.33, 1 및 3nM), PGC-HC18(0, 0.17, 0.33 및 1nM), GLP-1(0, 0.33, 1 및 3nM)를 함유하는 무혈청 배지 200ul와 교환함으로써 유도되었다. 사용된 PGC-HC18은 사용된 GLP-1의 0.5몰 당량만큼에 해당한다. 30분 경과 후, 상청액을 수집하고, 이 세포에 의해 방출된 인슐린 양을 ELISA 검정 키트(Linco Research, St Charles, MO.)에 의해 측정하였다. 그 결과, GLP-1 제형은 유리 GLP-1와 유사하게, INS 세포에서 인슐린 분비를 촉진함을 알 수 있었으며, 이를 통해서, 제형의 활성을 확인할 수 있었다(도 41). GLP-1 제형은 또한 GLP-1 및 GLP-1 제형으로 자극된 INS-1 세포의 추출물 중에서 검출되는 바와 같이, 유리 GLP-1의 경우와 유사하게 인슐린 합성을 강화한다.

[0475] **실시예 21**

[0476] PGC-HC는 GLP-1의 생물학적 반감기를 연장시킨다

[0477] 생체 내 프로토콜에 있어서, 암컷 Balb/c 마우스(퇴임한 육종가, Charles River)(체중 약25g)를 사용하였다. 상기 동물을 사용하기 전에 이 동물을 16시간 동안 굶겨서 고지혈증(GLP-1 분석에 지장을 줌)이 되는 것을 막았다. 채혈시 이소플루란으로 마취시킨 다음, 목을 베어 군당 7마리의 마우스를 죽였다. 약물이 투여되지 않은 시점인 t = -1일 때, 7마리의 마우스를 죽여서 군에 대한 기준선으로 정하였다. t = 0일 때, 마우스에 제형화되지 않은 GLP-1 50pmol 또는 PGC-HC18 제형(100ul 염수중) 25pmol 중 GLP-1 50pmol을 주사하였다. 주사는 꼬리의 측면에 있는 정맥을 통해 볼루스의 형태로 이루어졌다. 꼬리 기저부와 가까운 등 피부 밑에 약물을 투여하여, 동일한 실험을 수행하였다. 이 과정은 2개의 상이한 투여 경로를 이용하여 GLP-1 제형의 약물 동태학적 변화를 측정하는 데 필수적이다. 이로써, 피부 조직을 통한 투여는 혈중 제형화된 GLP-1의 반감기를 더 연장시킨다는 사실을 알 수 있었다. 투여 후 여러 시점에서, 목을 베어 군당 7마리의 마우스를 죽인 다음, 혈액 시료를, 제조자의 지침(Linco Research, St Charles, MO)에 따라서 사용된 DPP4 억제제를 함유하는 미세 원심 분리 튜브에 수집하였다. GLP-1 ELISA 검정 키트(Linco Research, St Charles, MO.)를 사용하여 혈청 중 총 GLP-1의 양을 측정하였다. 혈액 중 담체-결합 GLP-1에 비한 유리 GLP-1의 양을 측정하기 위하여, 희석된 혈청을 100kDa 분자량 컷-오프 재생 셀룰로스 필터(Millipore, Bedford, MA)를 통과시켜 여과하였으며, 이 여과물 중 유리 GLP-1의 양은 상기 링코(Linco) 검정법을 이용하여 측정하였다. 도 42 및 도 43을 통하여, PGC-HC18이 생체 내 GLP-1의 반감기를 연장시키고, 이를 피하 투여하면 GLP-1의 반감기를 더 연장할 수 있음을 알 수 있다. 뿐만 아니라, 도 43에 나타낸 바와 같이, 이를 피하 투여하면, 혈청 중 유리 GLP-1이 총 GLP-1보다 훨씬 적을 경우, 피부로부터 PGC-HC 담체가 방출될 수 있다[y-축은 로그값으로 나타낸 것임에 주의]. 래트에서도 유사한 실험을 수행하였다. 간단히 말해서, 이러한 생체 내 프로토콜에 있어서, 경정맥에 캐뉼러를 꽂은 수컷 스프라그 돌리(HSD) 래트(350~370g)를 사용하였다. 상기 동물을 사용하기 전에 이 동물을 16시간 동안 굶겨서 고지혈증(GLP-1 분석법에 지장을 줌)이 되는 것을 막았다. GLP-1(50nmol) 또는 PGC:GLP-1 제형을 투여하기 전 t = -1분일 때, 혈액 시료(250ul)를 채취하였다. t = 0분일 때, GLP-1(50nmol) 또는 PGC-HC18 (25nmol) 중 GLP-1(50nmol)을 함유하는 인산염 완충 염수 1㎖를 볼루스로서 투여하였다(측면 꼬리 정맥 주사에 의함). 여러 시점에서 경정맥에 꽂혀있는 캐뉼러로부터 혈액 시료를 채취하였다. 96시간 중 마지막 시점에, 동물에 펜토바비탈을 과량(200 mg/kg) IP 주사하여 이 동물들을 죽일 것이다. 이 실험의 결과를 통하여, PGC-HC18로 제형화된 GLP-1은 제형화되지 않은 GLP-1보다 생물학적 반감기가 더 길다는 사실을 확인할 수 있었다(도 44).

[0478] **실시예 22**

[0479] 당뇨병 치료용인, PGC-HC18 중 제형화된 GLP-1의 용도

[0480] 본 생체 내 프로토콜을 간단히 말하면, 12주령된 수컷 스트라그-돌리(HSD) 래트(Harlan, Indianapolis, IN)를, 명기:암기 주기가 12시간:12시간이고 온도는 23+1℃인 조건 하에 수용하고, 먹이와 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다(먹이 LM-485, Teklad, Madison, WI). 모든 래트의 체중을 측량한 후 실험을 개시하였으며, 체중 측정 결과, 모두 240~260g 범위 내에 있는 것을 알았다. 200ul의 50 mM Na-시트르산염 완충액(pH 4.5) 중 스트렙토조토신(STZ; 100mg/kg)을 측면 꼬리 정맥에 주사하여, 상기 20마리의 래트에서 당뇨병을 유발시켰다. 실험 개시 후 2일 경과시부터, 꼬리 말단부를 잘라내어 채혈한 다음(5ul) 혈당 측정계(Ascensia Elite, Bayer Co. Mishawaka, IN) 및 테스트 스트립(Bayer Co. Mishawaka, IN)을 사용하여 혈당 수준을 측정함으로써, 굶기지 않았을 때의 혈당 수준을 매일 관찰하였다. 10일 경과 후, 베타 세포 덩어리의 95%가 파괴된 동물들(19)(굶기지 않았을 때의 평균 혈중 글루코스 수준이 340~380mg/dℓ인 동물)을 연구용으로 골라냈다. 이 동물을 4개의 군으로 나누었다: STZ 처리군(n=4), STZ-처리 후 GLP-1은 처리하지 않고 PGC-HC18만 처리한 군(n=5), STZ 처리 후 GLP-1을 처리한 군(n=5), 그리고 STZ 처리 후 PGC-HC18 제형 중 GLP-1을 처리한 군(n=5). 당뇨병을 유발시킨 후, 2일마다 피하 투여하여 후속 처리를 하였다(4주 동안, 월요일, 수요일 및 금요일). 치료 투여형은 인산염 완충 염수, GLP-1(20ug), PGC-HC18(1mg) 중 GLP-1(20ug) 및 PGC-HC18(1mg)을 포함하였다. 상기 GLP-1, PGC-HC18 및 PGC-HC18 제형중 GLP-1을 1mℓ의 인산염 염수 중에서 재구성하고, 이를 등 쪽 어깨 부분의 피부에 피하 주사한 다음(2일마다, 4주 동안, 월요일, 수요일 및 금요일), 꼬리 부분에서 혈액을 채취하여 글루코스 수준을 측정하였다. 마지막 주사 또는 처리와 채혈이 끝나갈때, 래트의 체중을 측정하여, 당뇨병의 중증도를 판단하였다(실험 개시시 체중에서 빠진 총 체중)(상기 실험 동물들 모두가 거의 비슷한 체중일 때에 실험을 개시하였으므로 의미 있는 방법임). 이후 상기 래트를 16시간 동안 굶기고, 그 다음날 복막 내 글루코스 내성 테스트를 수행하였다. 굶기는 과정은 글루코스 내성 테스트에 있어서 필수적인 과정이다. 래트를 마취시키고 나서, 글루코스를 2mℓ 복막 내 주사하였는데(1.0mg/g 체중), 이때, 5'-브로모-2'-데옥시우리딘(BrdU)(50mg/kg 체중)은 섬 세포 신생 마커로 사용하였다. 글루코스/BrdU 주사 후 -2, 0, 2, 5, 10, 20, 30 및 60분 경과시 꼬리 정맥으로부터 혈액(250ul)을 채취하여 인슐린 및 글루코스 수준을 측정할 것이다. 60분이 거의 경과 하였을 때, 동물들을 이소플루란으로 마취시킨 후, 대정맥을 절단하여 면역 조직 화학 분석용으로 췌장을 잘라내어, 방혈시킴으로써 상기 동물을 죽였다. 췌장은 BrdU 통합 여부, 세포 자살, 인슐린 및 베타 세포 질량 측정시 면역 조직 화학 분석을 위해서 수집하였다. PGC-HC18 제형화 GLP-1으로 처리된 래트의 평균 누적 글루코스 수준은 대조군의 평균 누적 글루코스 수준보다 낮은데, 이는 곧, PGCHC18 중에 제형화된 GLP-1이 상기 래트에 있어서 당뇨병의 중증도를 낮추는데 긍정적인 영향을 준다는 사실을 말해주는 것이다(도 45). 뿐만 아니라, 당뇨병과 관련하여 나타나는 다량의 체중 감소는 대조군 군의 경우보다는 PGC-HC18 제형화 GLP-1으로 처리한 군의 경우에 억제되었다(도 46). 이 동물로부터 유래하는 췌장을 BrDU로 염색하여, 섬 내 분열중인 세포의 수를 측정하였다(도 47).

[0481] **실시예 23**

[0482] 비 펩티드 유기 화합물은 PGC-HC18과 결합한다

[0483] 독소루비신은 다양한 인간 암을 치료하는데 사용되는 비 펩티드 유기 화합물이다. PGC-HC의 효능이 광범위함을 입증하기 위해, PGC-HC18을 독소루비신으로 담지하여, 해리 상수(Kd)를 측정하였다. 초기에 HPLC로 독소루비신을 분석한 결과, 이는 GLP-1보다 훨씬 낮은 유기 용매 농도로 배출되므로, PGC-HC18 결합에 대한 Kd가 GLP-1의 Kd보다 더 높다는 사실을 예측할 수 있다. 본 실험을 위하여, 독소루비신(Mw = 580) 0.006, 0.012, 0.018, 0.024, 0.030, 0.036mg을 2mg의 C-18 담체와 결합시켰다. 15mg의 담체를 1.5mℓ의 물에 용해하고, 이 중 200ul를 분취하여 각 튜브에 넣고 건조시켰다. 1.5mg의 독소루비신을 0.75mℓ의 물에 용해시켰다(2mg/mℓ). 0, 3(0.006mg 또는 0.3%), 6(0.012mg 또는 0.6%), 9(0.018mg 또는 0.9%), 12(0.024mg 또는 1.2%), 15ul(0.030mg 또는 1.5%), 그리고 18ul(0.036mg 또는 1.8%)의 독소루비신을 분취하여 이를 건조 담체를 함유하는 튜브와 담체를 함유하지 않는 블랭크 튜브에 넣었다. 상기 튜브들에 50%의 tert-부탄올을 넣어 내용물의 부피를 72ul로 만든 후, 증발 건조시켰다. 건조된 시료를 250ul의 PBS(pH 7.3)에 용해한 후, 평형 상태로 2 시간 경과시, 100 MWCO 재생 셀룰로스 필터(Millipore, Bedford, MA)를 사용하여 각각의 시료를 여과하였다(10,000 ×g에서 12분 동안 원심분리에 의함). 여과물 중 독소루비신(유리 또는 미결합 독소루비신)을 HPLC(Waters2975(다이오드 어레이 검출기 장착), Milford, MA)로 정량하였다. HPLC 분석법에서는 머큐리 시너지맥스-RP(Phenomenex; 0.4 × 2cm)를 사용한다[이 경우, 5분에 걸쳐서 25~50% 수중 아세토니트릴과 0.1% TFA의 구배로써 1.5mℓ/분의 유속으로 배출되며, 용리액은 220nm에서 관찰함]. 유리 독소루비신의 양은 총 독소루비신 양으로부터 공제된 양이며, 그 결과 결합된 독소루비신의 양을 구할 수 있다(도 48). 여과에 사용된 재생 셀룰로스 필터는 분석을 방해하는 독소루비신과 거의 결합하지 않는다. 결합형/유리 독소루비신의 양을 측정하고, 결합형 독소루비신의 양에 대해 그래프를

그렸다(도 49). 선형인 영역의 회귀선 기울기는 -1/Kd로 나타낼 수 있는데, 이로써 Kd를 계산할 수 있다. 독소루비신은 Kd 315uM인 PGC-HC18과 상호 작용함을 알 수 있었다.

[0484] 전술한 본 발명은 이해를 돕기 위해 제공된 예와 실시예들을 통하여 어느 정도 상세히 기술되었지만, 당업자는 첨부된 청구항의 범위와 사슬으로부터 벗어나지 않고서 임의의 변화 및 변형을 가할 수 있음을 용이하게 알 것이다.

[0485] ***참고 문헌의 인용***

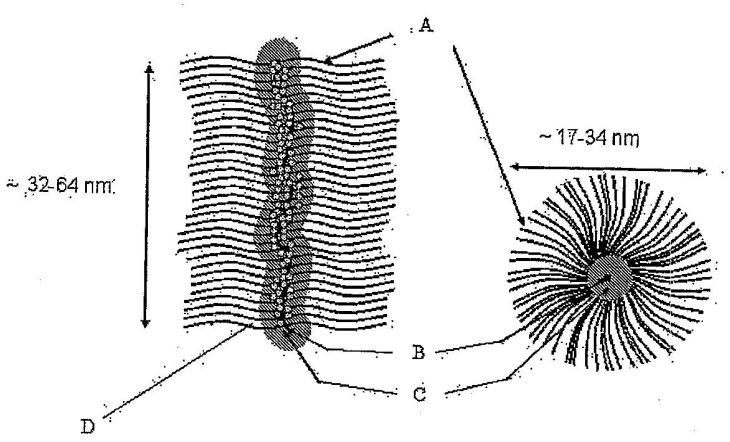
[0486] 본원에 인용된 특허 및 공보 전부는 참고용으로 인용되어 있는 것이다.

[0487] ***균등물***

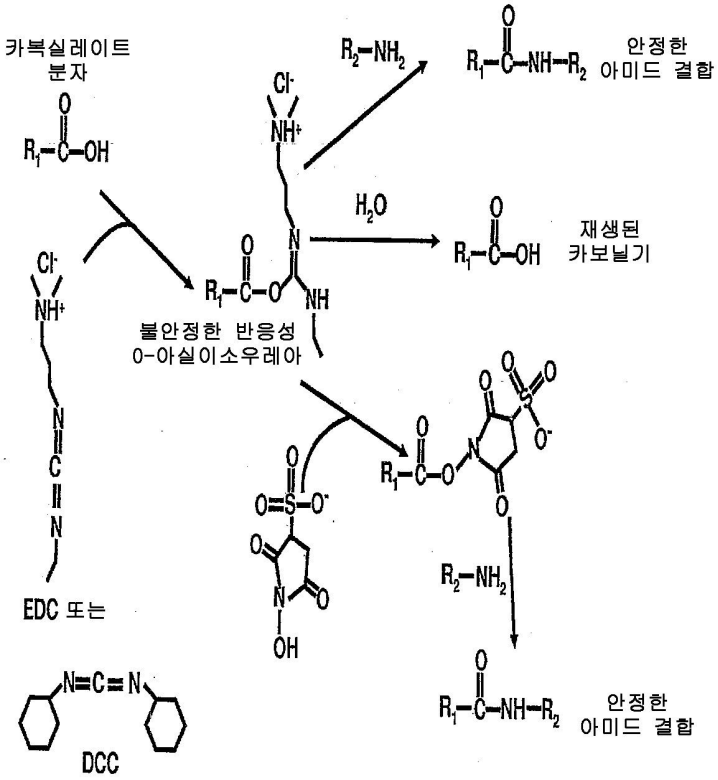
[0488] 당업자는, 본원에 개시된 본 발명의 특정 구체예에 대한 다수의 균등물이 존재함을 통상의 실험만을 통해서 인지하거나 확신할 수 있을 것이다. 그러한 균등물은 이하 첨부된 청구범위에 의해 포함된다.

도면

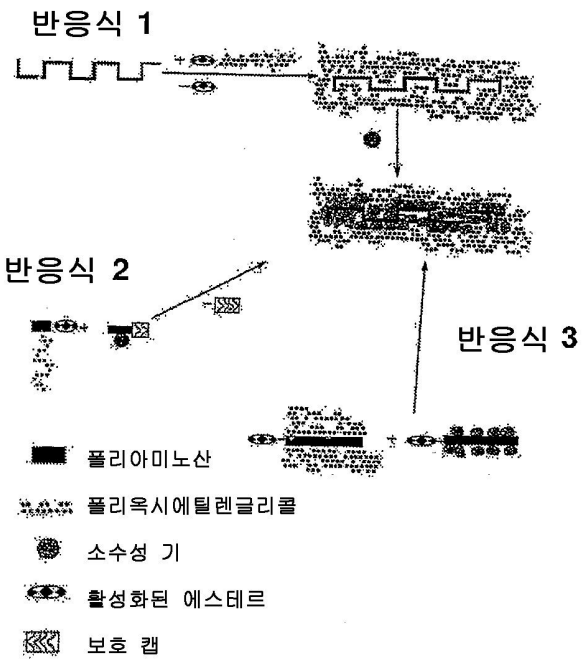
도면1



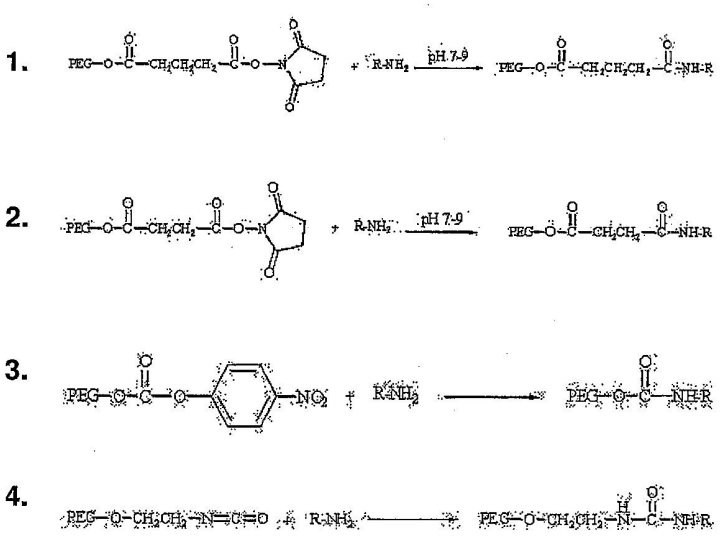
도면2


카복실레이트
분자
안정한
아미드 결합
재생된
카보닐기
불안정한 반응성
O-아실이소우레아
EDC 또는
DCC

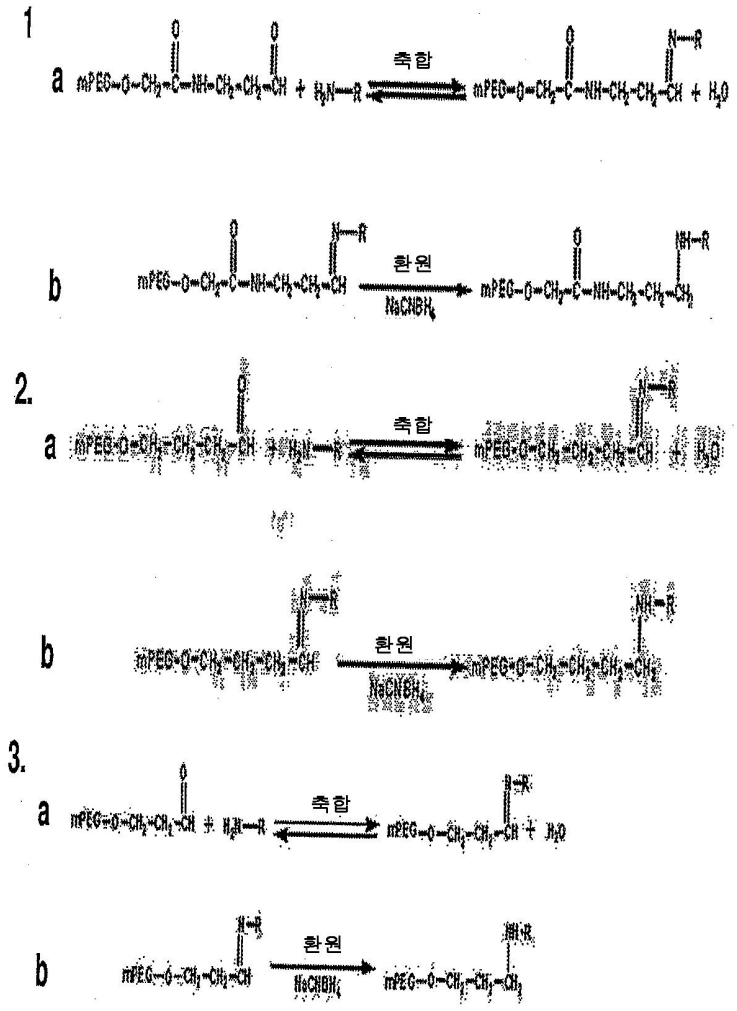
도면3


반응식 1
반응식 2
반응식 3
폴리아미노산
폴리옥시에틸렌글리콜
소수성 기
활성화된 에스테르
보호 캡

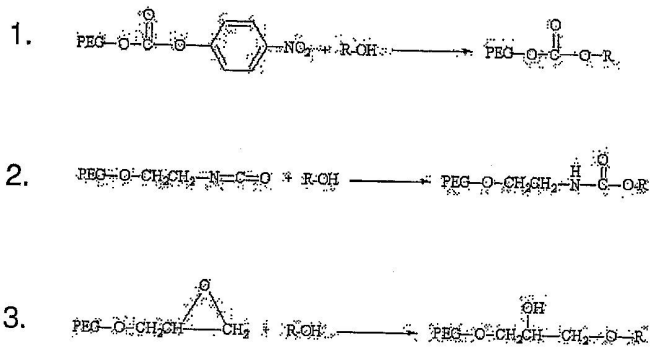
도면4


1.
PEG
CH2CH2CH2
R-NH2
pH 7-9
NH-R
2.
PEG
CH2CH2
R-NH2
pH 7-9
NH-R
3.
PEG
NO2
R-NH2
NH-R
4.
PEG
CH2CH2
N=C=O
R-NH2
NH-R

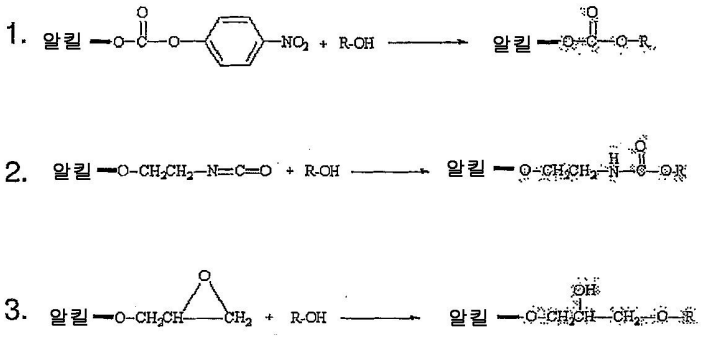
도면5



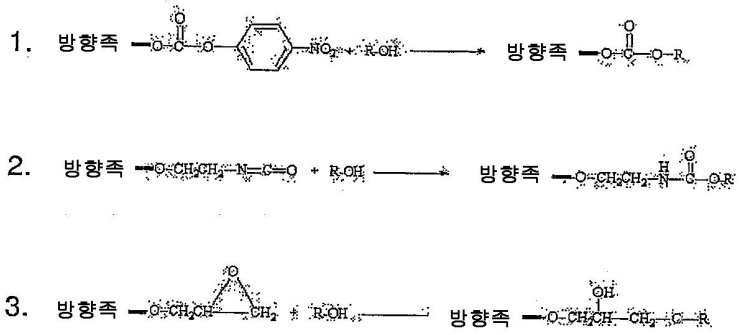
도면6



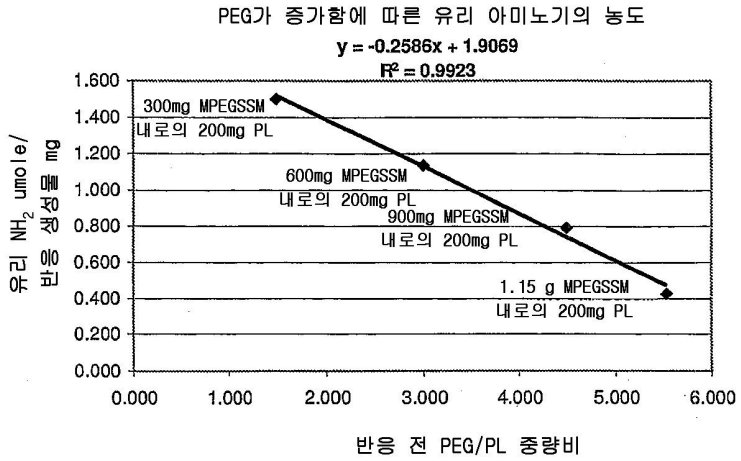
도면7


1. 알킬 —O—C(=O)—O— —NO2 + R-OH ⟶ 알킬 —O—C(=O)—O—R
2. 알킬 —O—CH2CH2—N=C=O + R-OH ⟶ 알킬 —O—CH2CH2—NH—C(=O)—O—R
3. 알킬 —O—CH2CH(O)CH2 + R-OH ⟶ 알킬 —O—CH2CH(OH)—CH2—O—R

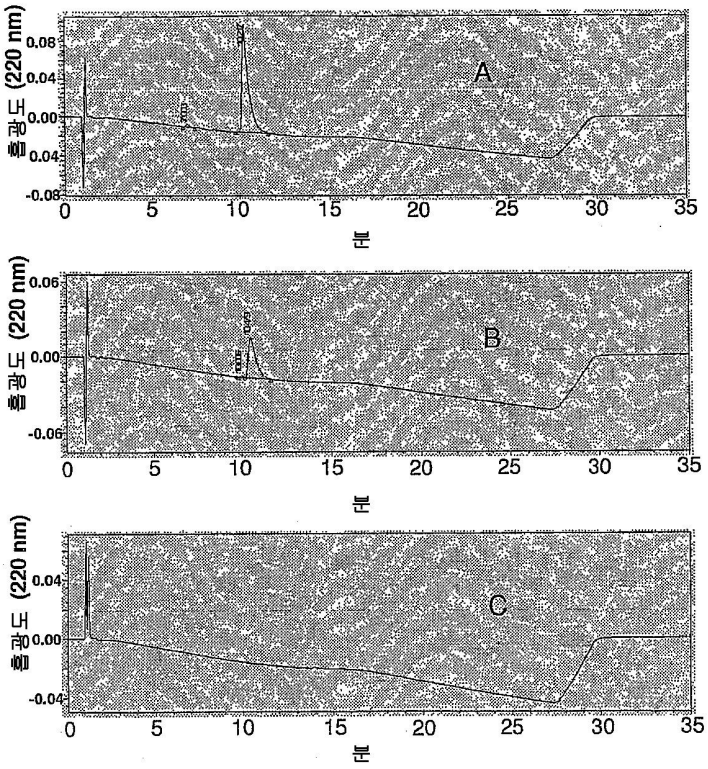
도면8


1. 방향족 —O—C(=O)—O— —NO2 + R-OH ⟶ 방향족 —O—C(=O)—O—R
2. 방향족 —O—CH2CH2—N=C=O + R-OH ⟶ 방향족 —O—CH2CH2—NH—C(=O)—O—R
3. 방향족 —O—CH2CH(O)CH2 + R-OH ⟶ 방향족 —O—CH2CH(OH)—CH2—O—R

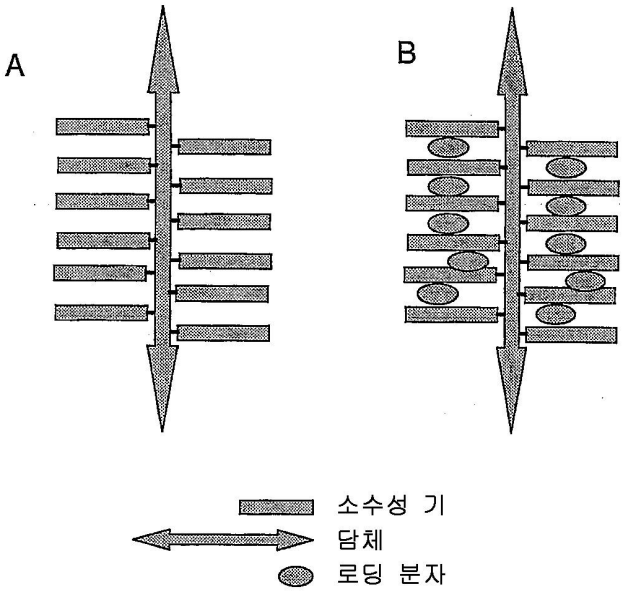
도면9


PEG가 증가함에 따른 유리 아미노기의 농도
y = -0.2586x + 1.9069
R² = 0.9923
300mg MPEGSSM
내로의 200mg PL
600mg MPEGSSM
내로의 200mg PL
900mg MPEGSSM
내로의 200mg PL
1.15 g MPEGSSM
내로의 200mg PL
유리 NH2 umole/ 반응 생성물 mg
1.600
1.400
1.200
1.000
0.800
0.600
0.400
0.200
0.000
0.000
1.000
2.000
3.000
4.000
5.000
6.000
반응 전 PEG/PL 중량비

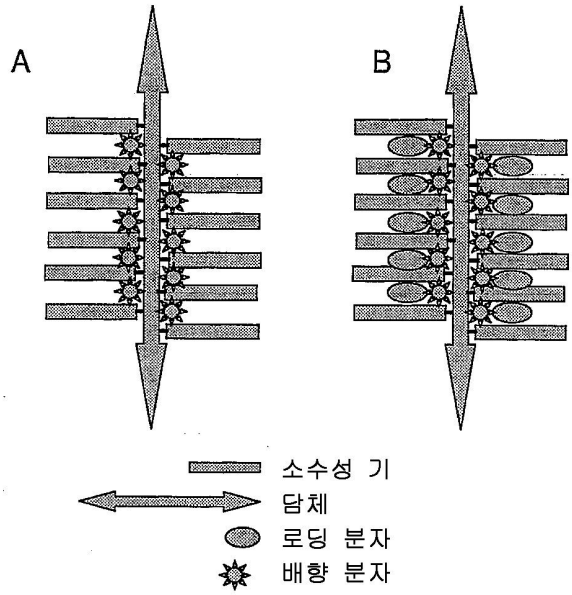
도면10


흡광도 (220 nm)
0.08
0.04
0.00
0.04
-0.08
A
0
5
10
15
20
25
30
35
분
흡광도 (220 nm)
0.06
0.00
-0.06
B
0
5
10
15
20
25
30
35
분
흡광도 (220 nm)
0.04
0.00
-0.04
C
0
5
10
15
20
25
30
35
분

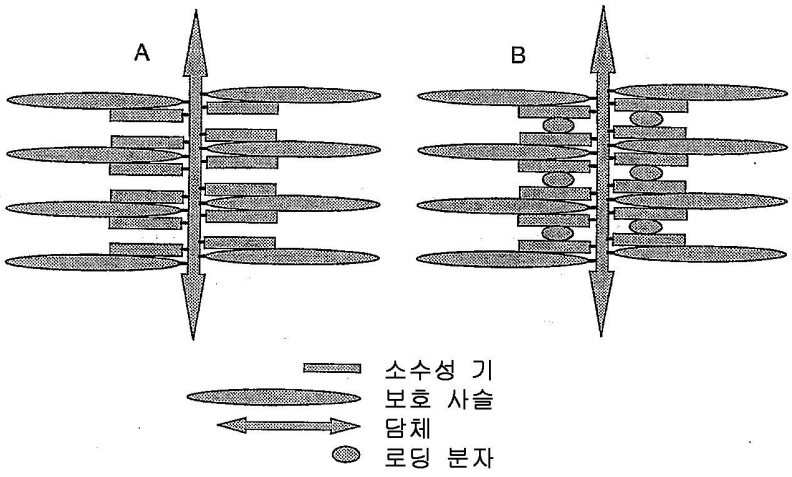
도면11


A
B
소수성 기
담체
로딩 분자

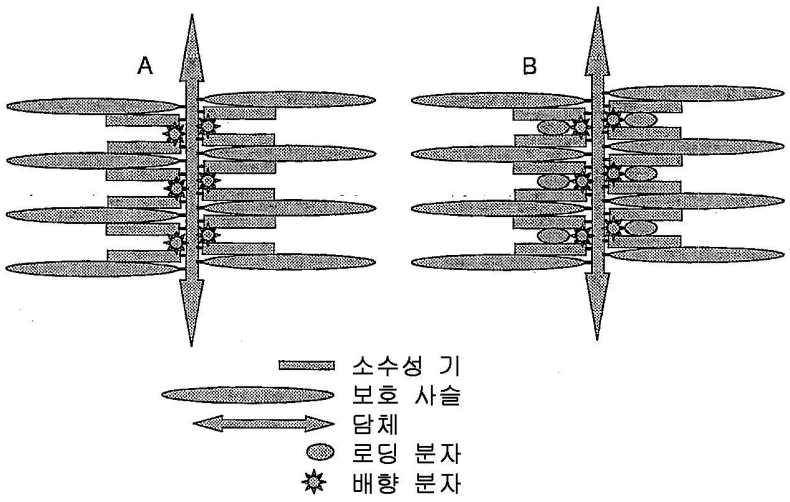
도면12



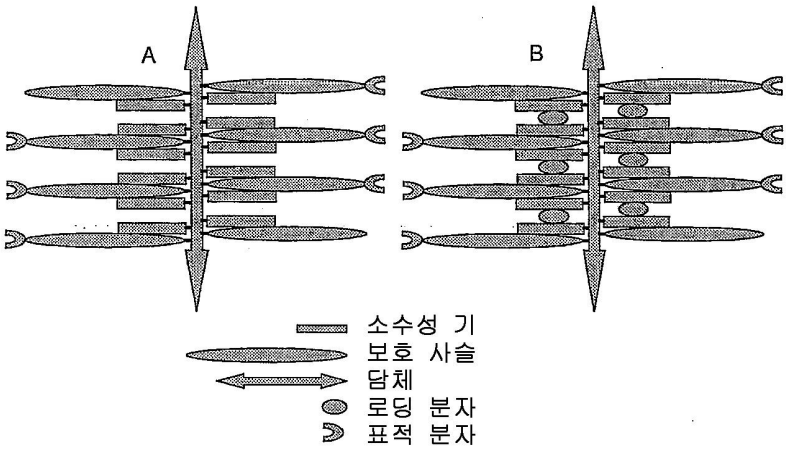
도면13



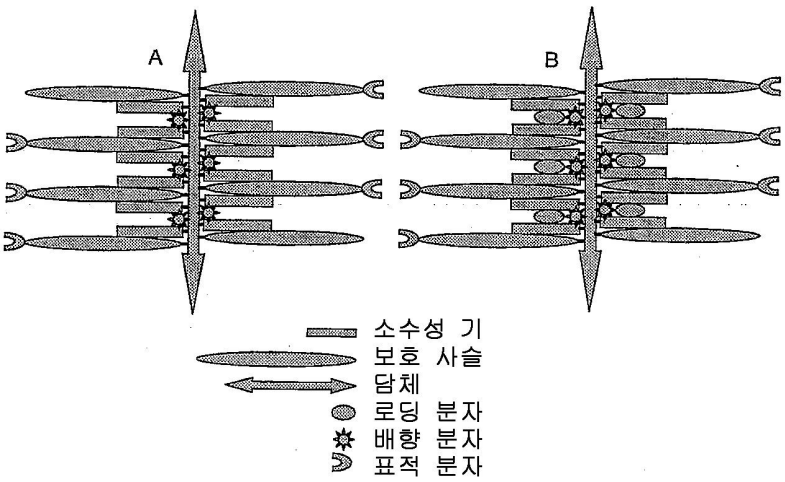
도면14



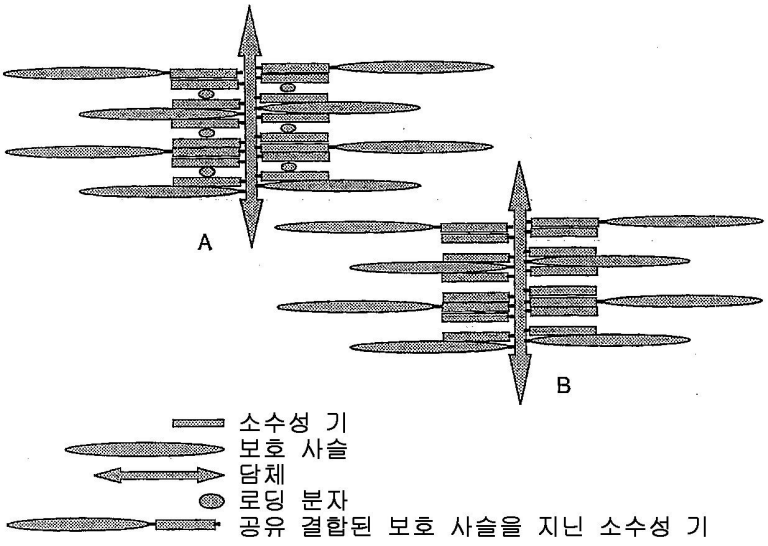
도면15



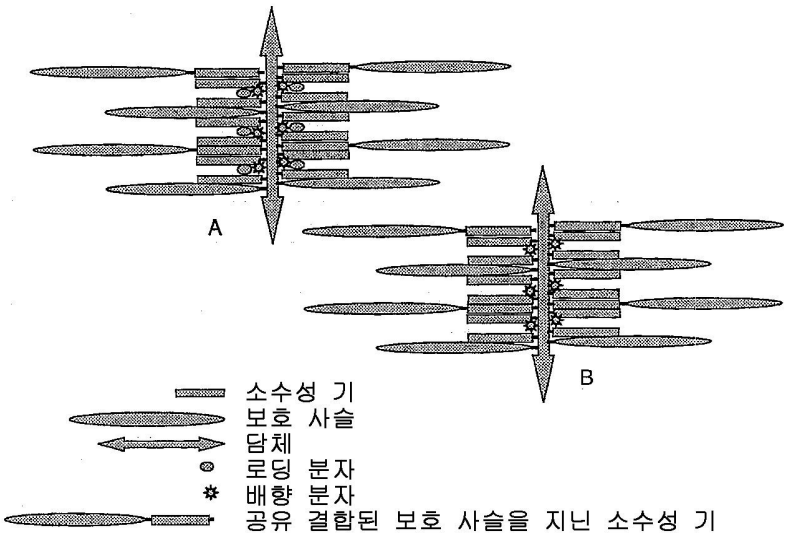
도면16


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
배향 분자
표적 분자

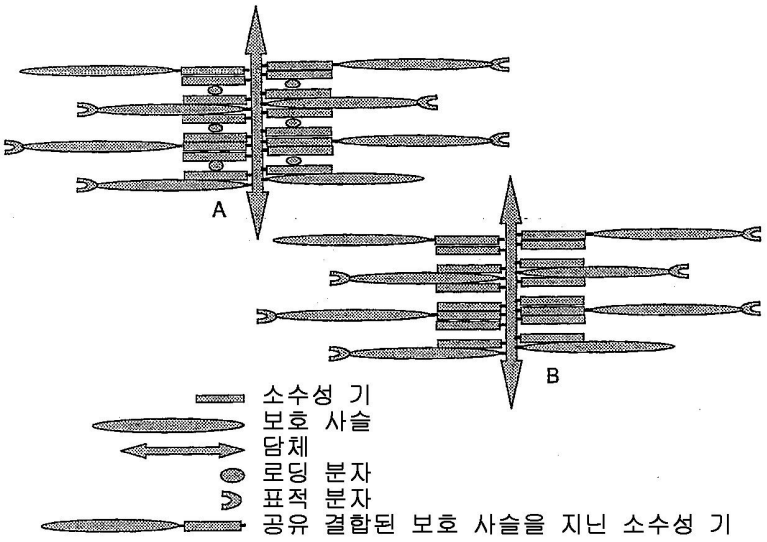
도면17


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

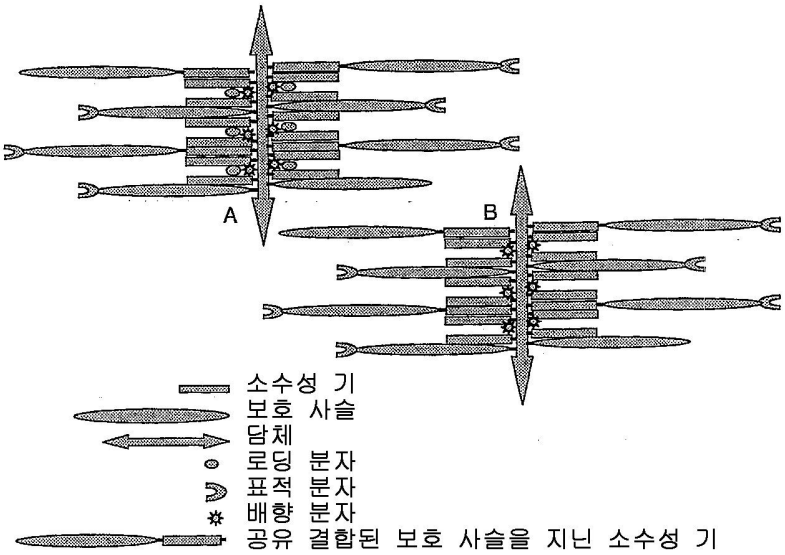
도면18


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
배향 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

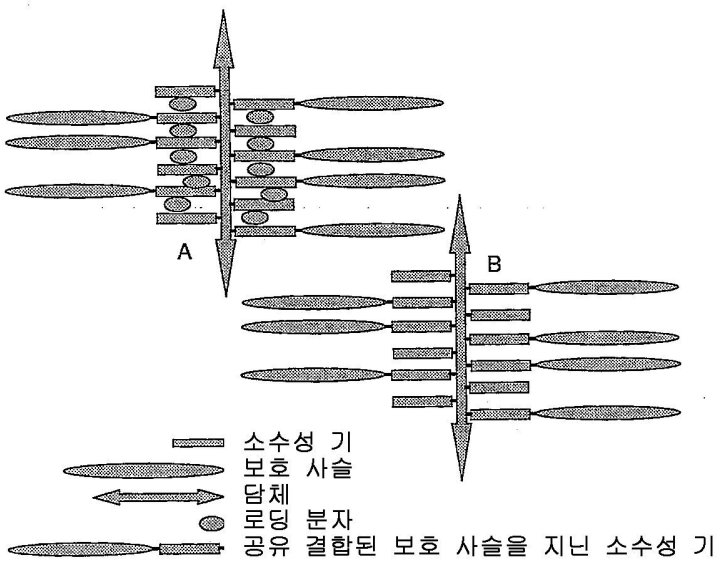
도면19


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
표적 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

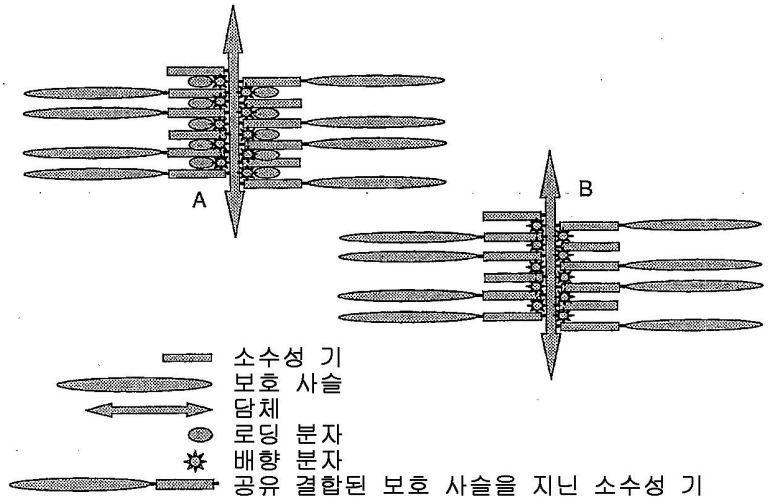
도면20


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
표적 분자
배향 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

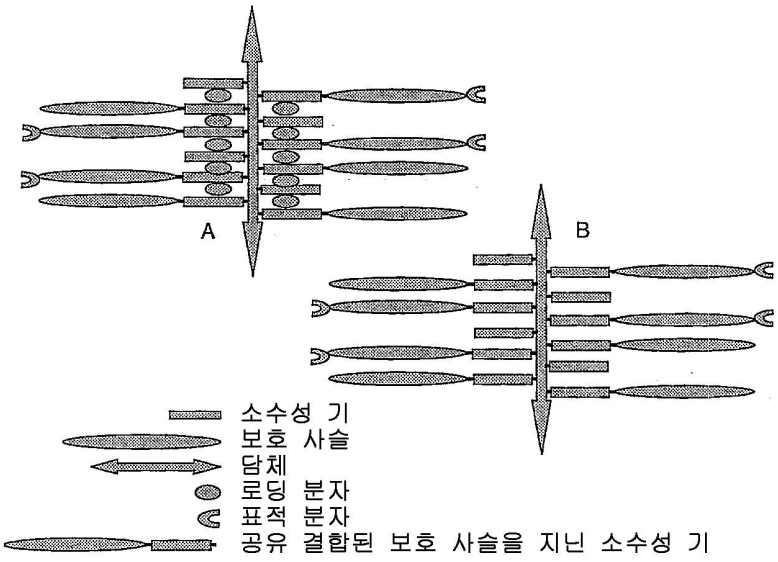
도면21


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

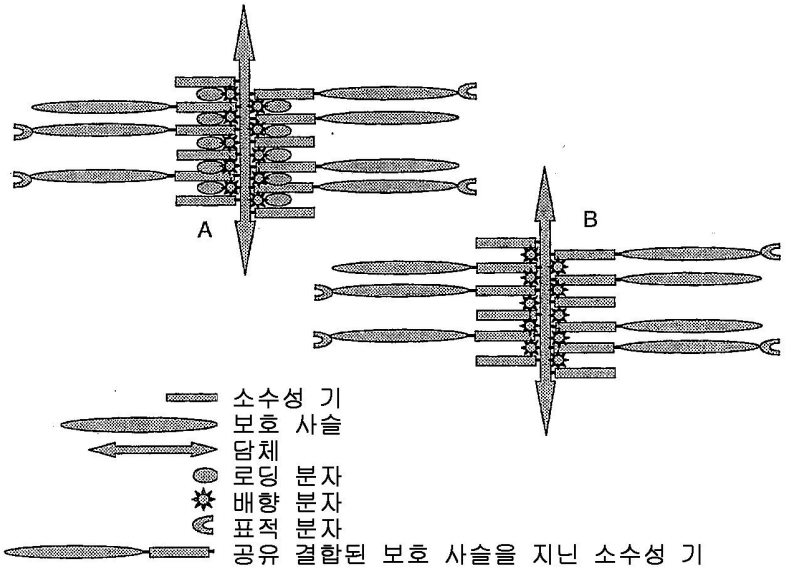
도면22


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
배향 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

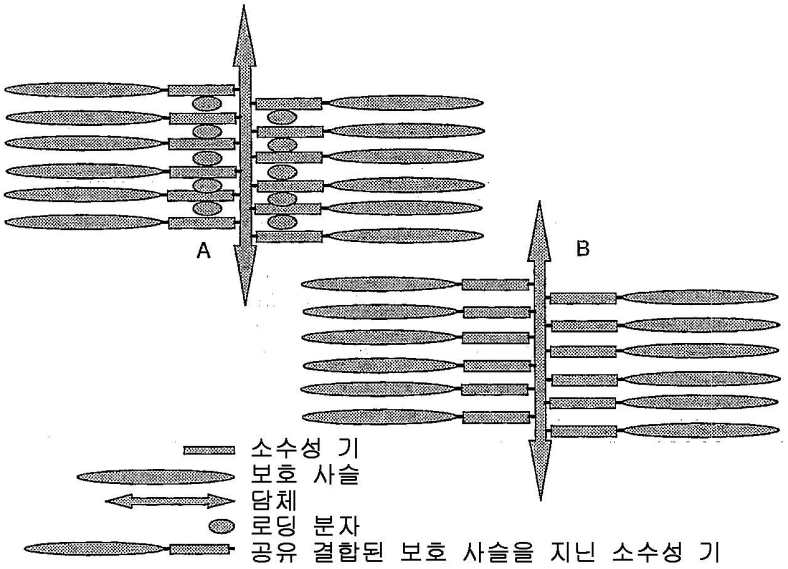
도면23


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
표적 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

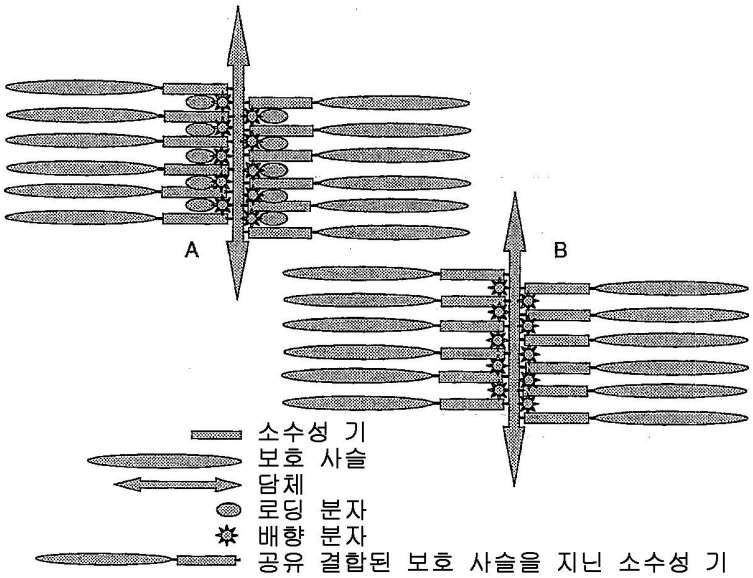
도면24


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
배향 분자
표적 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

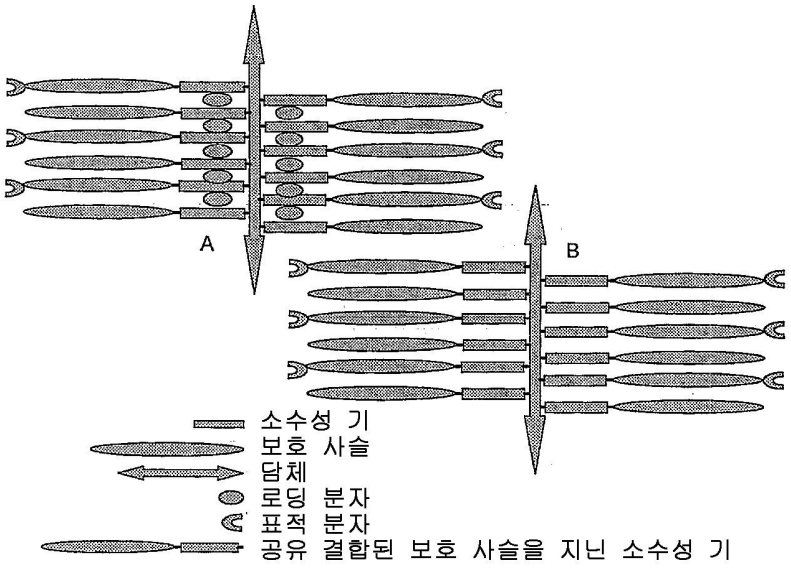
도면25


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

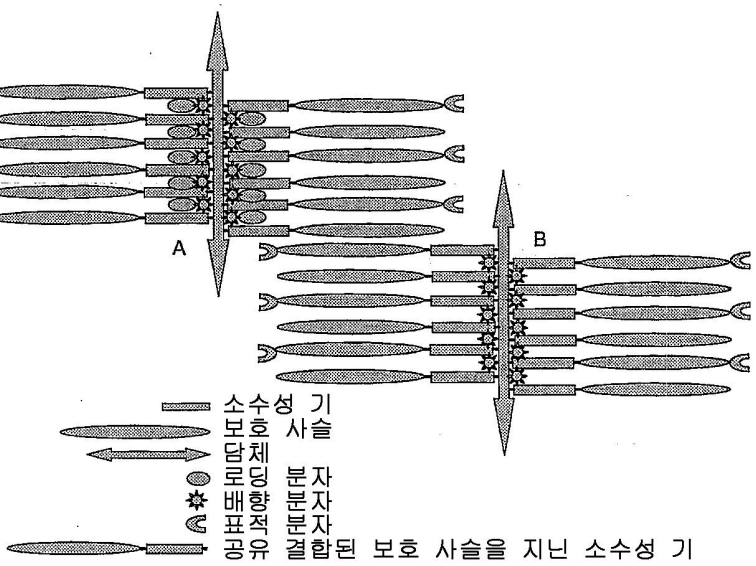
도면26


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
배향 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

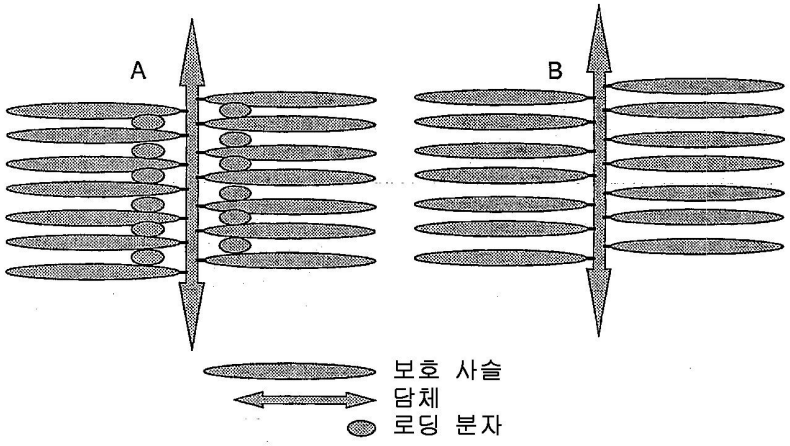
도면27


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
표적 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

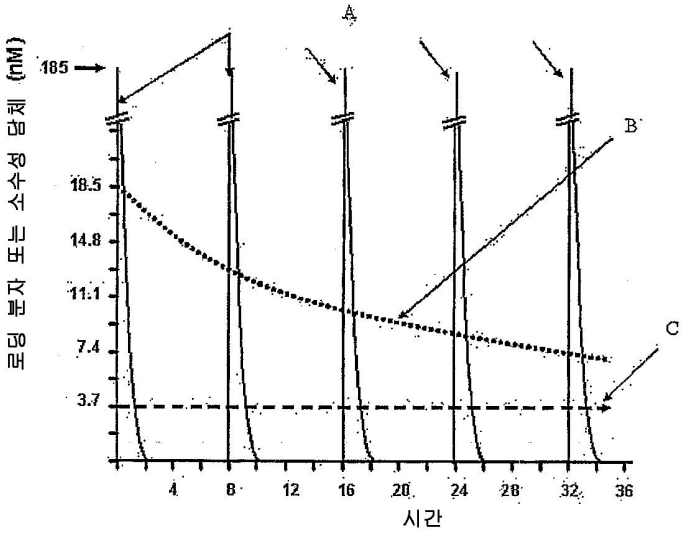
도면28


A
B
소수성 기
보호 사슬
담체
로딩 분자
배향 분자
표적 분자
공유 결합된 보호 사슬을 지닌 소수성 기

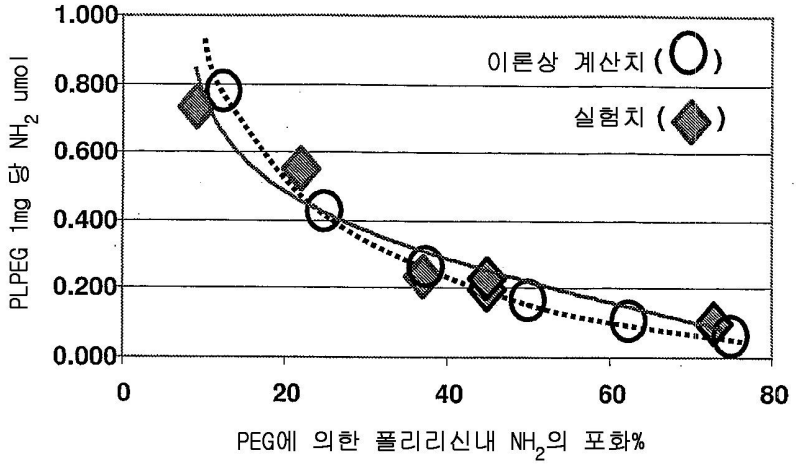
도면29


A
B
보호 사슬
담체
로딩 분자

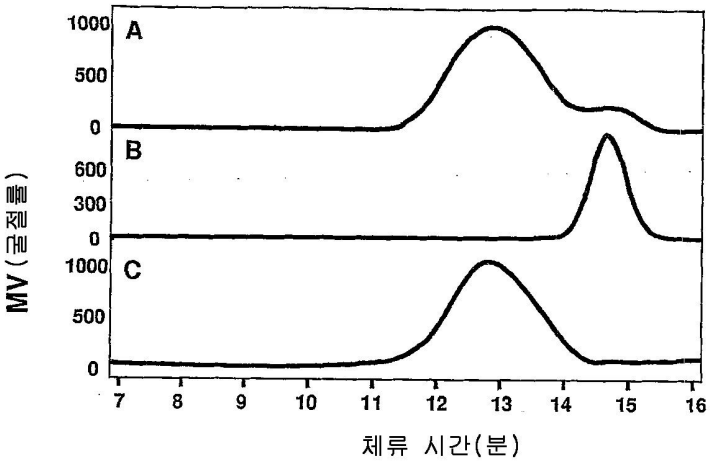
도면30


로딩 분자 또는 소수성 담체 (nM)
185
18.5
14.8
11.1
7.4
3.7
A
B
C
4
8
12
16
20
24
28
32
36
시간

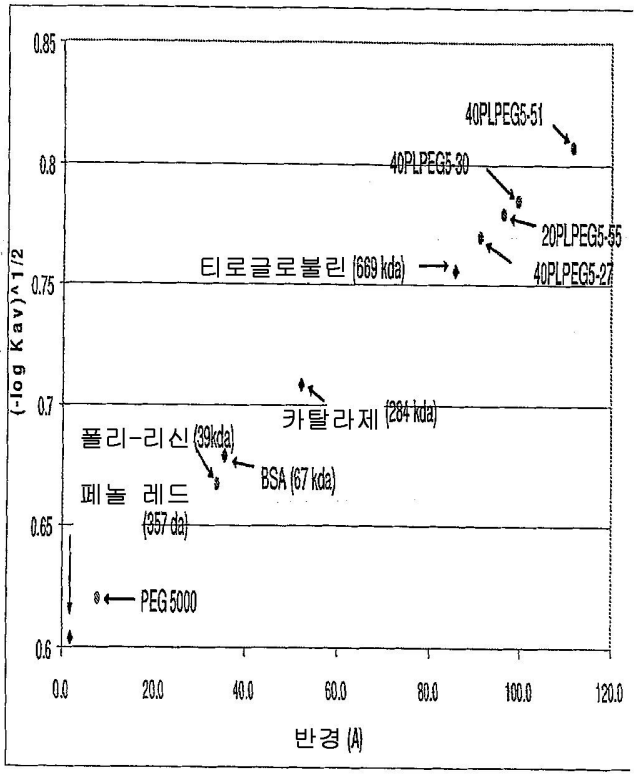
도면31


PLPEG 1mg 당 NH2 umol
1.000
0.800
0.600
0.400
0.200
0.000
이론상 계산치 ( )
실험치 ( )
0
20
40
60
80
PEG에 의한 폴리리신내 NH2의 포화%

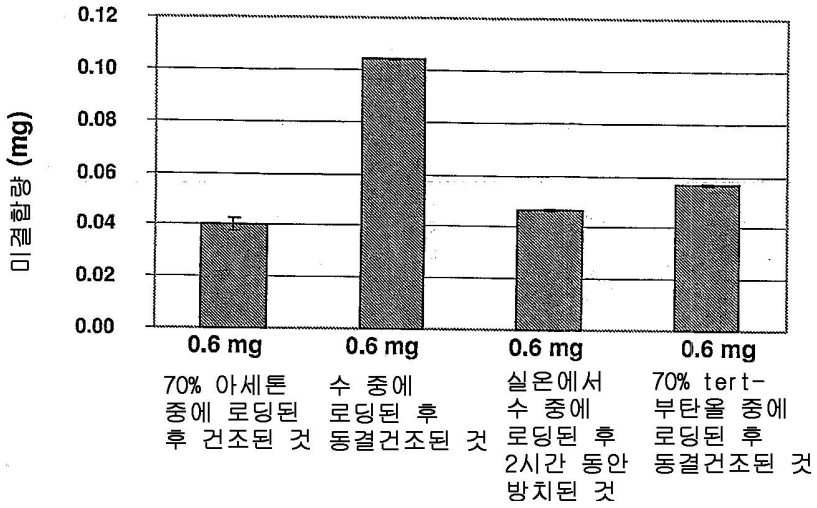
도면32


A
B
C
1000
500
0
600
300
0
1000
500
0
MV(굴절률)
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
체류 시간(분)

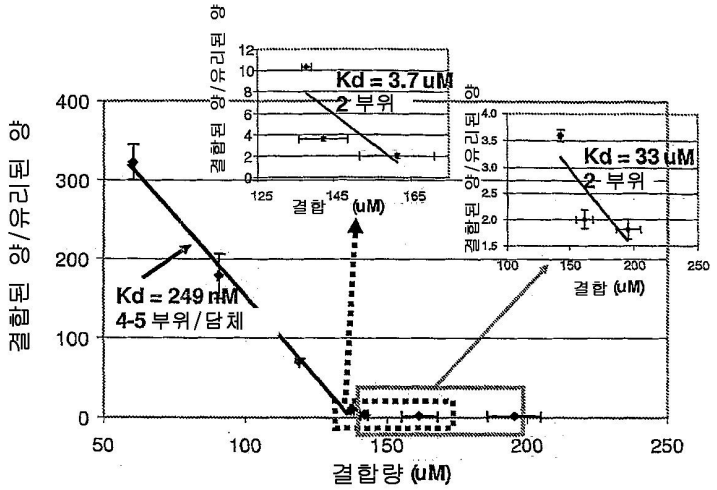
도면33


0.85
0.8
0.75
0.7
0.65
0.6
(-log Kav)^1/2
40PLPEG5-51
40PLPEG5-30
20PLPEG5-55
40PLPEG5-27
티로글로불린 (669 kda)
카탈라제 (284 kda)
폴리-리신 (39kda)
BSA (67 kda)
페놀 레드
(357 da)
PEG 5000
0.0
20.0
40.0
60.0
80.0
100.0
120.0
반경 (A)

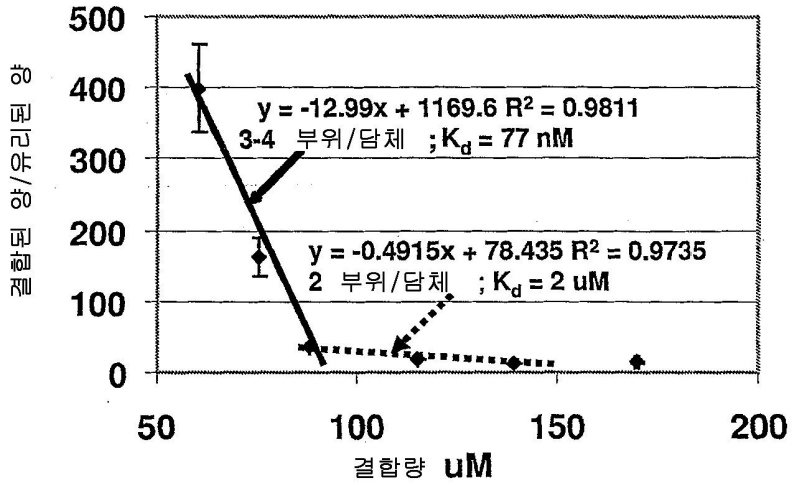
도면34


미결합량 (mg)
0.12
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
0.6 mg
70% 아세톤 중에 로딩된 후 건조된 것
0.6 mg
수 중에 로딩된 후 동결건조된 것
0.6 mg
실온에서 수 중에 로딩된 후 2시간 동안 방치된 것
0.6 mg
70% tert-부탄올 중에 로딩된 후 동결건조된 것

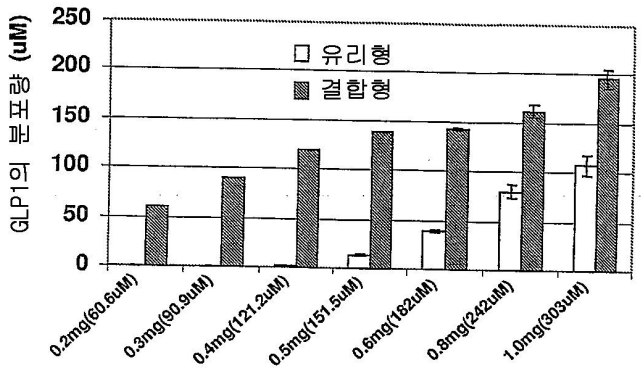
도면35


결합 대 유리 양
400
300
200
100
0
50
100
150
200
250
결합량 (uM)
Kd = 249 nM
4-5 부위/담체
Kd = 3.7 uM
2 부위
결합 대 유리 양
12
10
8
6
4
2
0
125
145
165
결합 (uM)
Kd = 33 uM
2 부위
결합 대 유리 양
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
100
150
200
250
결합 (uM)

도면36

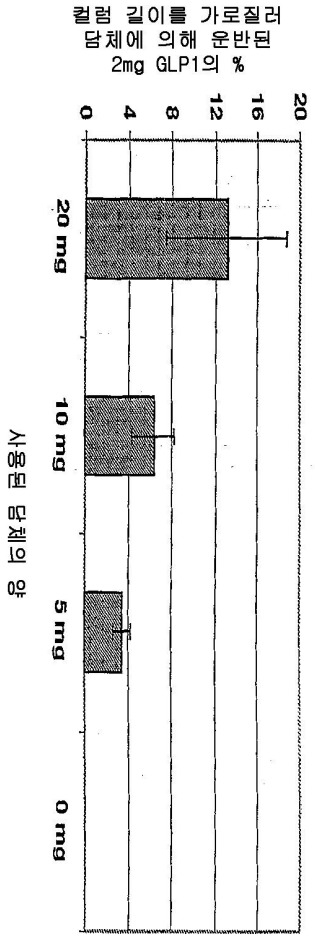


도면37

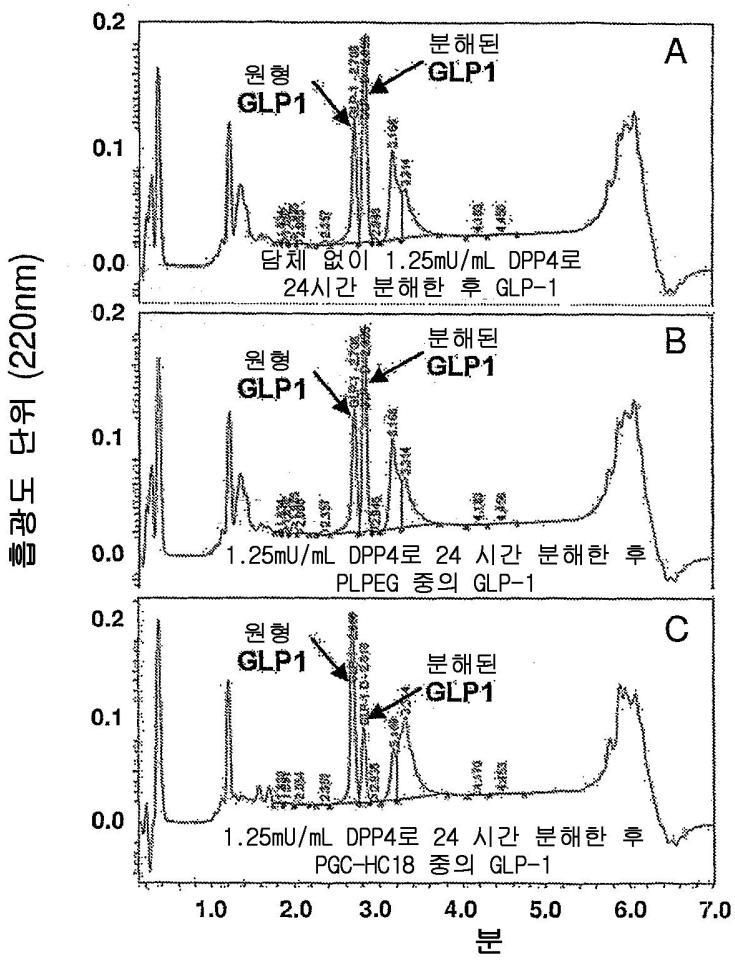


로딩에 사용된 GLP1의 총량

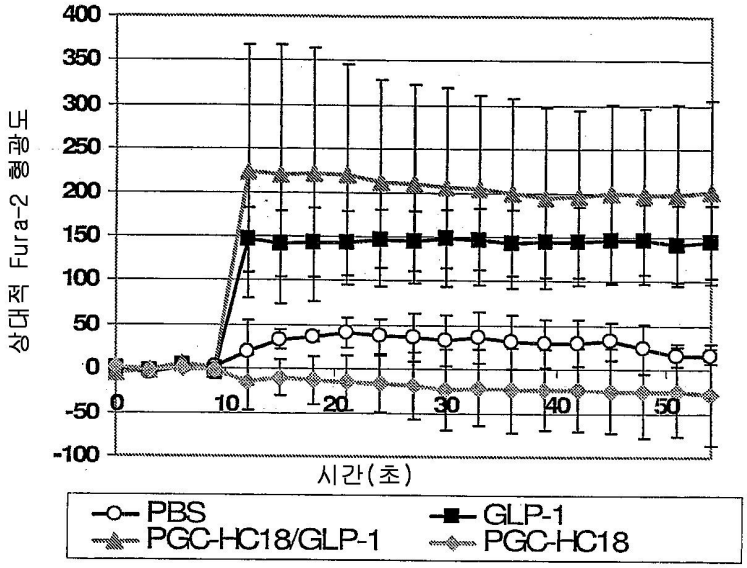
도면38


컬럼 길이를 가로질러
담체에 의해 운반된
2mg GLP1의 %
0
4
8
12
16
20
20 mg
10 mg
5 mg
0 mg
사용된 담체의 양

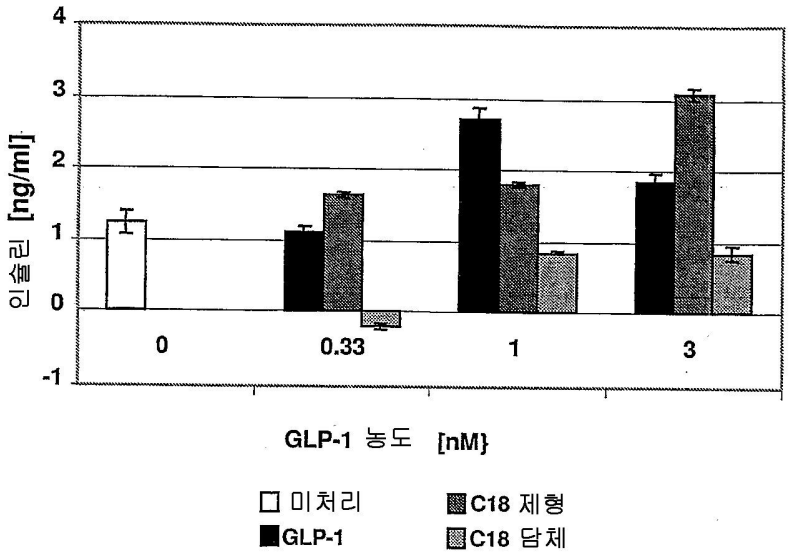
도면39


흡광도 단위 (220nm)
0.2
0.1
0.0
원형
GLP1
분해된
GLP1
A
담체 없이 1.25mU/mL DPP4로
24시간 분해한 후 GLP-1
B
1.25mU/mL DPP4로 24 시간 분해한 후
PLPEG 중의 GLP-1
C
1.25mU/mL DPP4로 24 시간 분해한 후
PGC-HC18 중의 GLP-1
1.0
2.0
3.0
4.0
5.0
6.0
7.0
분

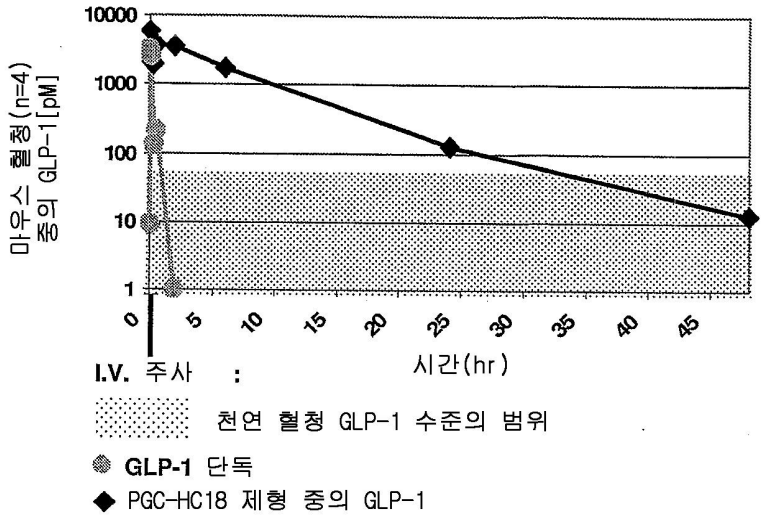
도면40


400
350
300
250
200
150
100
50
0
-50
-100
상대적 Fura-2 형광도
0
10
20
30
40
50
시간(초)
PBS
GLP-1
PGC-HC18/GLP-1
PGC-HC18

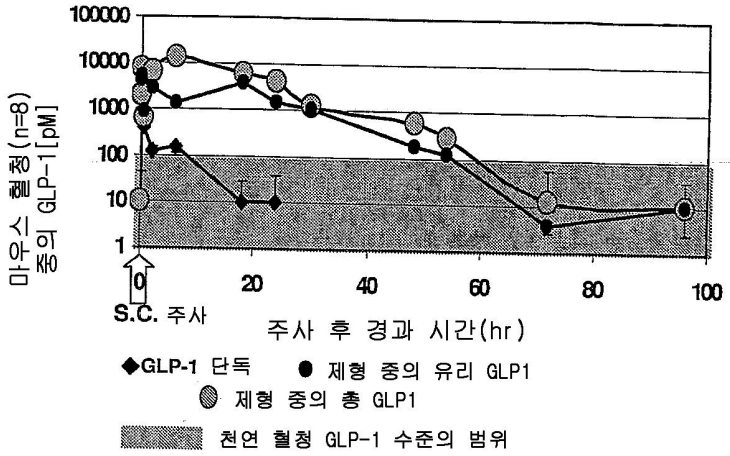
도면41


4
3
2
1
0
-1
인슐린 [ng/ml]
0
0.33
1
3
GLP-1 농도 [nM]
미처리
GLP-1
C18 제형
C18 담체

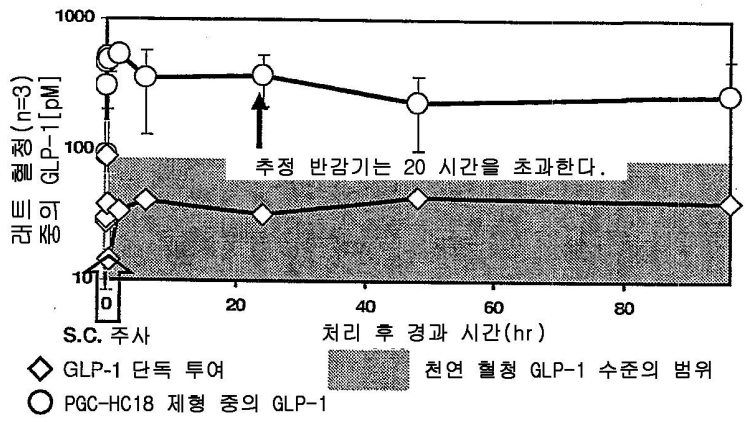
도면42


10000
1000
100
10
1
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
마우스 혈청(n=4) 중의 GLP-1[pM]
시간(hr)
I.V. 주사 :
천연 혈청 GLP-1 수준의 범위
GLP-1 단독
PGC-HC18 제형 중의 GLP-1

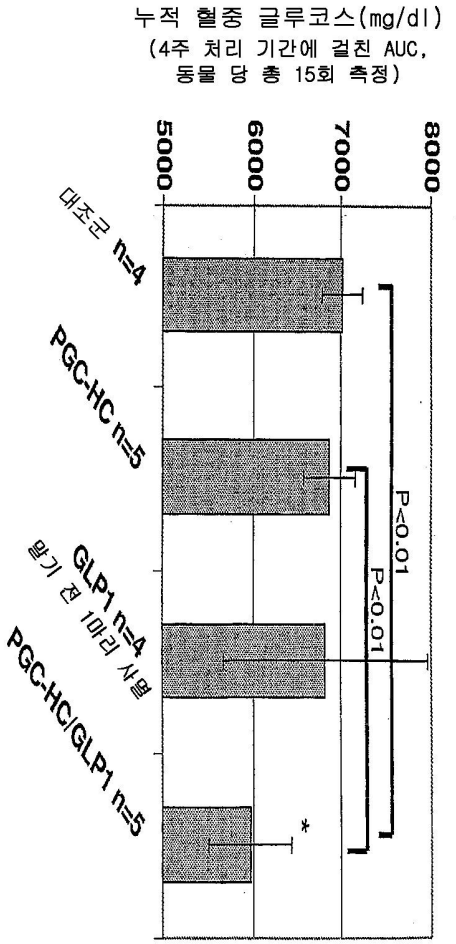
도면43


100000
10000
1000
100
10
1
0
20
40
60
80
100
마우스 혈청(n=8) 중의 GLP-1[pM]
S.C. 주사
주사 후 경과 시간(hr)
GLP-1 단독
제형 중의 유리 GLP1
제형 중의 총 GLP1
천연 혈청 GLP-1 수준의 범위

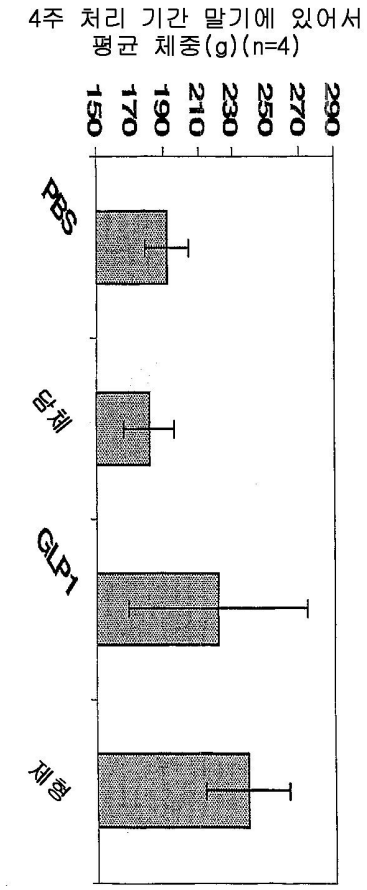
도면44


1000
100
10
혈청 GLP-1[pM]
평균 ± 표준편차 (n=3)
추정 반감기는 20 시간을 초과한다.
0
20
40
60
80
S.C. 주사
처리 후 경과 시간(hr)
GLP-1 단독 투여
PGC-HC18 제형 중의 GLP-1
천연 혈청 GLP-1 수준의 범위

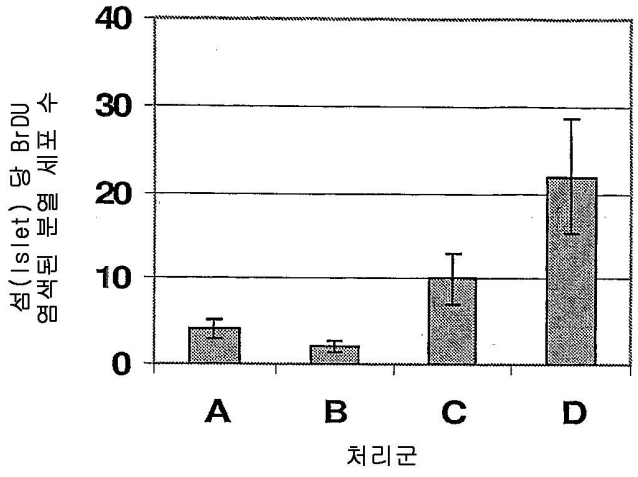
도면45


누적 혈중 글루코스(mg/dl)
(4주 처리 기간에 걸친 AUC,
동물 당 총 15회 측정)
5000
6000
7000
8000
대조군 n=4
PGC-HC n=5
GLP1 n=4
맞기 전 1마리 사망
PGC-HC/GLP1 n=5
P<0.01
P<0.01
*

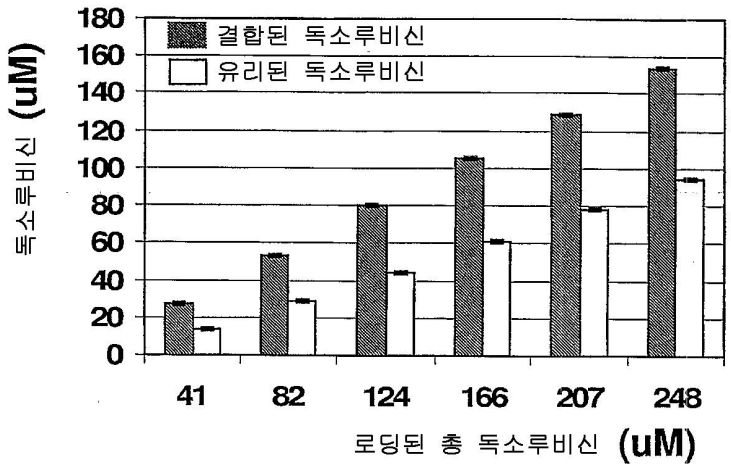
도면46


4주 처리 기간 말기에 있어서
평균 체중(g)(n=4)
150
170
190
210
230
250
270
290
PBS
덱센
GLP1
제형

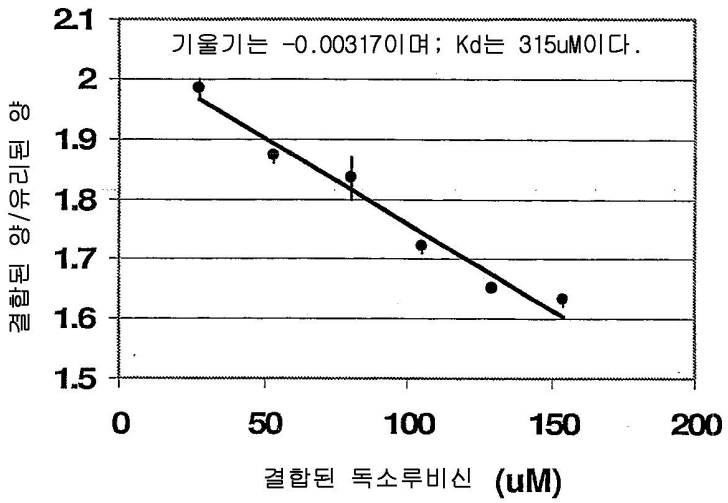
도면47


40
30
20
10
0
섬(Islet) 당 BrDU 염색된 분열 세포 수
A
B
C
D
처리군

도면48


결합된 독소루비신
유리된 독소루비신
독소루비신 (uM)
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
41
82
124
166
207
248
로딩된 총 독소루비신 (uM)

도면49


기울기는 -0.003170이며; Kd는 315uM이다.
결합된 양/유리된 양
2.1
2
1.9
1.8
1.7
1.6
1.5
0
50
100
150
200
결합된 독소루비신 (uM)