



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2007-0094663  
(43) 공개일자 2007년09월20일

- |   |   |
|---|---|
| <p>(51) Int. Cl.<br/>A61K 9/127(2006.01) A61K 38/28(2006.01)<br/>A61K 39/39(2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2007-7018741(분할)</p> <p>(22) 출원일자 2007년08월16일<br/>심사청구일자 2007년09월13일</p> <p>(62) 원출원 특허 10-2001-7009480<br/>원출원일자 2001년07월27일<br/>심사청구일자 2005년01월25일<br/>번역문제출일자 2007년08월16일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/EP2000/000598<br/>국제출원일자 2000년01월26일</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2000/44350<br/>국제공개일자 2000년08월03일</p> <p>(30) 우선권주장<br/>99101480.4 1999년01월27일<br/>유럽특허청(EPO)(EP)</p> | <p>(71) 출원인<br/>이데아 약티엔게젤샤프트<br/>독일연방공화국 뮌헨 테-80807 프랑크푸터 링크 193아</p> <p>(72) 발명자<br/>세백 그레고르<br/>독일 키르크하임 에리히-괴스트너-베그 16<br/>쇼프라 암라<br/>인도 텔리 오하세 1 아쇼크 비하르 에이/21에이<br/>스티이버 울리안<br/>독일 뮌헨 클레멘스스트라세 74</p> <p>(74) 대리인<br/>김명신</p> |
|---|---|

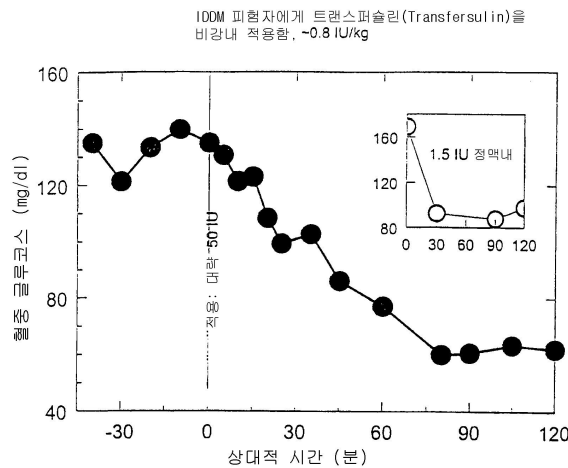
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 적합성이 높은 담체에 의한 경비 수송 / 면역화

(57) 요약

본 발명은 거대분자에 의해 부하된 특수제조된 적합성이 높은 담체에 의해 비점막을 가로질러 거대분자를 수송하는 것에 관한 것으로서, 상기 배합물을 제조하는 목적중 하나는 치료용 폴리펩티드, 단백질 및 기타 거대분자의 비침습성 조직전달을 얻는 것이며; 다른 목적은 체내에 들어와 뇌와 접촉하는 비강을 이용하여 혈뇌장벽을 환경적으로 극복하기 위함이며, 세번째 목적은 코 항원 또는 알레르겐 투여를 통해 성공적인 방어 또는 관용원 면역을 얻는 것을 특징으로 한다.

대표도 - 도1



## 특허청구의 범위

### 청구항 1

경비 투여를 위한 약학 조성물의 제조용 담체로서 사용되는 것을 특징으로 하는 침투제로서,

응집 경향이 있는 2개의 다른 물질 또는 2종의 다른 형상의 물질(2개의 다른 물질 또는 2종의 다른 형상의 물질에서, 저용해성 물질은 극성 지질이고, 고용해성 물질은 계면활성제 또는 계면활성제성 분자임)의 막형 코팅에 의해 둘러싸인 미소 액상 소적(fluid droplet) 형태로 용매 중에 현탁 또는 분산된 침투제. (상기 물질 또는 형상의 물질은 수성 액체 매질에서 용해도 차이가 10배 이상이어서, 고용해성 물질 또는 형상의 물질의 단일-응집체의 평균 직경 또는 양 물질 형태의 이형-응집체의 평균 직경은 저용해성 물질 또는 형상의 물질의 단일-응집체의 평균 직경보다 작다)

### 청구항 2

제 1 항에 있어서,

고용해성 물질은 침투성 소적을 가용화하는 경향이 있고, 이 경우 고용해성 물질의 함유량은 소적을 가용화하는데 필요한 농도의 99 몰%에 이르거나 가용화되지 않은 소적의 포화 농도의 99 몰%에 이르는 것을 특징으로 하는 침투제.

### 청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 막형 코팅으로 둘러싸인 소적의 탄성 변형 에너지는 적혈구 세포의 변형 에너지, 또는 액상 지방족쇄를 갖는 인지질 이중층의 변형 에너지보다 5 배 이하로 낮은 것을 특징으로 하는 침투제.

### 청구항 4

제 3 항에 있어서,

상기 소적의 탄성 변형 에너지는 적혈구 세포의 변형 에너지, 또는 액상 지방족쇄를 갖는 인지질 이중층의 변형 에너지보다 10배 이하로 낮은 것을 특징으로 하는 경피 백신.

### 청구항 5

제 1 항에 있어서,

약학 조성물은 백신 조성물인 것을 특징으로 하는 침투제.

### 청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 따른 담체로서 사용되는 침투제를 포함하는 경피 투여용 약학 조성물로서,

상기 침투제는 감염증, 내분비 장애, 하수체기능저하증, 당뇨병, 갑상선기능항진증, 갑상선염, 하시모토병, 아 급성 갑상선염; 부신부전, 애디슨병, 이차성 부신부전, 쿠싱증후군; 위장관 장애, 크론병, 대장염; 출혈성 질환, 혈우병, 백혈구감소증, 과호산구증가 증후군; 근골격 및 결합조직 장애, 류마티스 관절염, 쇼그렌 증후군, 베체(Bechet) 증후군, 루푸스, 피부경화증, 다발성근염/피부근염, 류마티스성 다발성 근육통 및 일시적 관절염, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 혼합 결합조직질환, 강직성 척추염, 건선 관절염, 변형성 관절염, 파제트병, 좌골신경통, 점액낭염, 건염 및 건활막염, 상과염, 결합조직염, 호산구성 근막염; 신경성 질환, 동통, 딸꾹질, 현기증, 발작성 장애, 수면장애, 일과성 허혈발작, 척수손상, 탈수초성 질환, 신경근 장애, 중증 근무력증; 종양학적 질병; 정신장애, 약물중독증, 노이로제, 기분장애, 정신분열성 장애, 망상장애의 치료용 경비 투여 약학 조성물의 제조를 위한 약학적 활성 성분, 알레르겐 또는 항원과 병용하여 사용되거나, 부인과 질병, 월경곤란증, 폐경, 만성 무배란, 미성숙 난소기능부전, 자궁내막증, 불임증을 치료 또는 면역학 분야, 이식거부, 저감작, 알레르겐 면역 요법 또는 백신접종 분야에서 사용되는 것을 특징으로 하는 경피 투여용 약학 조성물.

**청구항 7**

제 6 항에 있어서,

상기 약학적 활성 성분은 부신피질억제약(adrenocorticostaticum), 아드레날린억제물질(adrenolyticum), 안드로겐 또는 항안드로겐, 구충제(antiparasiticum), 동화제(anabolicum), 마취제(anaestheticum) 또는 진통제(analgesicum), 각성제(analepticum), 항알레르기약(antiallergicum), 항부정맥제(antiarrhythmicum), 항동맥경화제(antiarterioscleroticum), 항천식약(antiasthmaticum), 항기관지경련약(bronchospasmodic), 항생제(antibioticum), 항-감염제(anti-infective agent), 항우울제(antidepressivum), 항정신약(antipsychoticum), 항당뇨병치료제(antidiabeticum), 해독제(antidot), 진토제(antiemeticum), 항간질치료제(antiepilepticum), 항섬유소용해제(antifibrinolyticum), 항경련제(anticonvulsivum), 항콜린제(anticholinergicum), 효소, 조효소 또는 대응하는 효소억제제, 항히스타민제(antihistaminicum)(및 그의 배합물) 또는 항-고혈압약(antihypertonicum), 항-저혈압약(antihypotonicum), 항응고제(anticoagulant), 항진균제(antimycoticum), 항근무력증약(antimyasthenicum), 알츠하이머병 또는 파킨슨병, ACS 요법제, 항염증제(antiphlogisticum), 해열제(antipyreticum), 항류마티스약(antirheumaticum), 방부제(antisepticum), 호흡 각성제(respiratory analepticum), 호흡 자극제, 기관지약(broncholyticum), 강심제(cardiotonicum), 화학요법제(chemotherapeuticum), 관상동맥 확장약(coronary dilatator), 세포증식억제제(cytostaticum), 이뇨제(diureticum), 신경절-차단제(ganglium-blocker), 당질부신피질호르몬(glucocorticoid), 항-류제(anti-flew agent), 지혈제(haemostaticum), 수면제(hypnoticum), 면역글로블린 또는 그의 단편 또는 기타 면역학적 활성 성분(면역조절제를 포함함), 생활성 탄수화물(유도체), 피임약, 항-편두통제, 코르티코스테로이드(corticosteroid), 근이완제, 마취제, 신경치료제, (폴리)뉴클레오티드, 신경이완제(neurolepticum), 신경전달물질, (폴리)펩티드 (유도체), 아편제, 안과약(ophthalmicum), (부)교감신경작용약 또는 (부)교감신경차단약, 단백질(유도체), 건선/신경성피부염약, 산동제(mydraticum), 신경자극제, 비과약(rhinologicum), 수면유도제, 진정제, 진경제, 항결핵약(tuberculostaticum), 비뇨기약(urologicum), 혈관수축제, 혈관확장제, 항바이러스약, 창상치유물질, 알콜중독 제제, 항경련제, 항신생물제, 류마티스치료제, 식욕억제제, 생체 응답 조정 물질, 혈액조정제, 골대사 조절제, 심장보호약, 심혈관약, 중추신경계 자극제, 발기부전 치료를 위한 효소·약제, 배란유도제, 위장약, 통풍약, 호르몬, 고칼슘혈증 조절제, 저칼슘혈증 조절제, 면역억제제, 편두통약, 이동병 제제, 다발성 경화증 조절제, 근육 이완제, 영양제, 안과 제제, 골다공증 제제, 이과 제제, 부교감신경차단제, 부교감신경작용약, 프로스타글란딘, 신경치료제, 호흡기 제제, 진정제 및 정신기능감퇴 약, 피부 및 점막제, 금연 보조제, 교감신경차단제, 진진제, 요로 제제, 질 제제, 현기증 약, 기타 면역학적 활성 물질[세균 추출물 또는 세포벽 성분(예컨대, 콜레라 독소, 이열성 독소 및 단일 인지질 A) 또는 시토킨 유도제 또는 호르몬(예컨대, 티모신(thymosin), 티몰린(thymulin), 티모포에틴(thymopoietin)), 또는 식물면역자극물질(phytoimmunostimulant)(예컨대, 에키나세아(Echinacea) 뿌리 추출물, 야생형 인디고 뿌리 추출물, 백색 세다일 톱 추출물), 또는 합성 면역조절제(예컨대, 퀴놀린 유도제, 합성 펩티드, 피리미딘, 리포펩티드), 또는 시토킨 또는 면역억제제, 및 신호 전달 억제인자(예컨대 시클로스포린(cyclosporin) A, FK506, FTY720, 라파마이신(rapamycin))를 비롯한 면역조절제를 포함함], 또는 이들 제제의 활성 억제제(길항제) 또는 촉진제(작용물질), 또는 이들 활성 물질의 배합물인 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 8**

제 6 항에 있어서,

상기 항원은 병원성 물질(pathogen)로부터 유도되는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 9**

제 6 항에 있어서,

상기 병원성 물질은 세포외 박테리아로 고름-형성 구균(cocci)으로, 가령 스태필로코커스(*Staphylococcus*) 및 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 그람음성균으로 가령 메닝고코커스(*Meningococcus*) 및 고노코커스종(*Gonococcus species*), 네이스세리아종(species of *Neisseria*), 장내균을 포함하는 그람음성균으로 이. 콜리(*E. coli*), 살모넬라(*Salmonella*), 시겔라(*Shigella*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 디프테리아(*Diphtheria*), 보르데텔라 페르투스시스(*Bordetella Pertussis*) 및 그람양성균(예를들면 바실러스 페스티스(*Bacillus pestis*, BCG), 특히 혐기성 균으로 가령 클로스트리듐(*Clostridium*)중(예를들면, 클로스트리듐 테타니(*Clostridium*

*tetani*), 클로스트리듐 페르프린젠스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듐 노비(*Clostridium novyi*), 클로스트리듐 셉티쿰(*Clostridium septicum*)); 숙주내에서 생존 및 복제할 수 있는 많은 박테리아 및 모든 바이러스; 전자의 그룹은 마이코박테리아(*mycobacteria*)(예를들면 엠. 투베르쿨로시스(*M. tuberculosis*) 및 리스테리아 모노시토젠스(*Listeria monocytogenes*))를 포함하고, 레트로바이러스 및 아데노바이러스로 이에 한정되는 것은 아니지만, 헤파티티스(*hepatitis*) 바이러스, (인체) 면역결핍 바이러스, 헤르페스(*herpes*) 바이러스, 두창(수두), 인플루엔자, 홍역, 유행성 이하선염, 소아마비 바이러스, 시토메갈로바이러스, 리노바이러스 등, 숙주내 번식하는 다양한 균류; 기생충으로 동물기생충 가령, 원생생물 및 연충 및 외부기생충, 가령 진드기, 좀진드기), 또는 브루셀라종(*Brucella species*)(예를들면 비. 멜리텐시스(*B. melitensis*), 비. 아보르투스(*B. abortus*), 비.수이스(*B. suis*), 비.카니스(*B. canis*), 비. 네오토마에(*B. neotomae*), 비. 오비스(*B. ovis*), 콜레라 병원균(예를들면 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*), 헤모필루스종(*Haemophilus*) 등으로(헤모필루스 악티노마이세탐코미탄스(*Haemophilus actinomycetemcomitans*), 헤모필루스 플레우롭네우모니아(*Haemophilus pleuropneumoniae*)) 뿐만 아니라 병을 유발하는 파라장티푸스, 페스트, 광견병, 파상풍 및 풍진을 포함하며, 또는 중앙, 자기-면역 질병, 및 미생물의 감염에 의한 것이 아닌 동물 또는 인간 신체의 병리적 상태를 유발하는 진핵세포 또는 그의 일부에 속하는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 10**

제 6 항에 있어서,

상기 항원은 정제된 형태 또는 순수한 형태로 사용되는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 11**

제 6 항에 있어서,

상기 항원은 간염 바이러스, (인체) 면역결핍 바이러스, 헤르페스 바이러스, 두창(수두), 인플루엔자, 홍역, 볼거리 및 폴리오 바이러스, 시토메갈로 바이러스, 리노바이러스 등, 및 숙주세포내에서 번식하는 균류, 기생동물을 포함하는 기생충, 가령 원충류 및 운충류, 외부기생충, 가령 진드기 및 좀진드기, 또는 브루셀라(*Brucella*) 종, 또는 콜레라 병원균, 헤모필루스종 뿐만 아니라 병을 유발하는 파라장티푸스, 페스트, 광견병, 파상풍 및 풍진 질병을 유발하는 병원성 물질, 또는 미생물 감염으로부터 반드시 야기되지 않는 동물 또는 인간 신체의 여러 중앙, 자기-면역 질병 및 기타 병리학적 상태를 야기하는 진핵세포 또는 그의 일부의 항원 결정물인 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 12**

제 6 항에 있어서,

상기 알레르겐은 미생물, 동물 또는 식물로부터 유도된 이종성 또는 내인성 기원이며, 신체 면역계에 노출되거나, 부정확하게 처리되는 인체의 일부 또는 성분 또는, 인공(人工) 및/또는 자극성 무기 물질에 속하는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 13**

제 6 항에 있어서,

상기 알레르겐은 이에 제한되지는 않지만 다양한 화분, 포자, 동물 모발조각, 피부, 깃털, 천연식물 및 합성식물, 밀, 진드기 포함 (집)먼지를 포함하는 흡입성 알레르겐; 그리고 음식 및 약물 알레르겐; 접촉 알레르겐; 주사, 침습 또는 저장 알레르겐, 가령 여러 (위장-정체성) 기생충, 에키노코쿠스, 선모충 등의 종류 또는 이식 물질 중 일부에 속하는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 14**

제 6 항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,

시토킨 또는 항-시토킨 활성을 방출 또는 유도하거나 또는 상기 활성 자체를 발휘하는 화합물을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 15**

제 14 항에 있어서,

시토킨 활성을 발휘하는 화합물은 IL-4, IL-3, IL-2, TGF, IL-6, TNF, IL-1 $\alpha$  및/또는 IL-1 $\beta$ , I형 인터페론, 바람직하게는, IFN- $\alpha$  또는 IFN- $\beta$ , IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , IL-5 또는 IL-10인 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 16**

제 14 항에 있어서,

항-시토킨 활성을 갖는 화합물은 항-시토킨 항체, 또는 이의 상응하는 활성 단편, 유도체 또는 유사체인 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 17**

제 6 항에 있어서,

시토킨 또는 항-시토킨 활성을 나타내거나 또는 유도하는 화합물 및 약학적 활성 성분 또는 항원 또는 알레르겐 이 침투제와 회합하는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 18**

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

고용해성 성분은 코 점막을 통과해 수송되는 제제이며, 상기 제제는 물리적 또는 화학적 복합체의 형태로 침투제의 저용해성 성분과 함께 큰 구조를 형성하는 경향을 가지는 것을 특징으로 하는 침투제.

**청구항 19**

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

고용해성 성분은 침투성 소적을 가용화하는 경향이 있으며, 소적을 분해하는데 필요한 농도의 99mol%를 초과하지 않는 농도 또는 가용화되지 않은 소적의 포화농도의 99mol%를 초과하지 않는 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물.

**청구항 20**

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

평균 침투제 직경은 25nm 내지 500nm인 것을 특징으로 하는 침투제.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

<1> 본 발명은 거대분자를 담지하도록 특별히 계획된 적합성이 높은 담체에 의해 비점막을 가로질러 거대분자를 수송하는 것에 관한 것이다. 상기 제제를 제조하는 목적 중 하나는 치료용 폴리펩티드, 단백질 및 기타 거대분자의 비침습성 전신 송달을 달성하는 것이며; 다른 목적은 체내에 들어와 뇌에 접근하도록 비강을 이용하여 정황에 의해 혈액뇌관문을 극복하는 것이다. 세번째 목적은 경비(via nasal) 항원 또는 알레르겐 투여에 의해 양호한 방어 면역 또는 관용성(tolerogenic) 면역을 달성하는 것이다.

**배경기술**

<2> 본 명세서에는 여러 문헌들이 인용되어 있다. 각 문헌(제조업자의 명세서, 사용 설명서 등을 포함함)은 이후에 참고문으로 통합되지만; 인용된 문헌이 본 발명의 종래 기술로 인정되지는 않는다. 이후에 통합된 참고문헌은 "비침습성 경피 백신접종"이라는 발명의 명칭으로 IDEA AG의 출원인이 동시 계속 출원의 완전한 개시 내용도 출전 명시에 의해 본 명세서의 일부로 한다.

<3> 경비 송달(nasal delivery)은 최근 10년동안 광범위하게 개발되었으며, 통상 주사되어야 하는 약물, 특히 펩티

드 및 단백질의 전신 송달에 대한 대안으로서 반복논의되었다. 또한, 경비 송달은 간장의 초회-통과 효과를 회피하고, 가성 초회 통과 효과를 내어 비강내에서 분해되는 문제를 회피한다는 사실때문에 매력적이다(Sarkar, 1992). 후자의 어려움은 코 안의 거대분자의 효소적 제거를 최소화하고, 안정성을 향상시키기 위한 화학적 또는 재조합 구조 펩티드 또는 단백질 변형을 촉진시켰다(Wearley, 1991).

<4> 일부 초기 평론가(Illum, 1991; Wearley, 1991)는 흡수 촉진제에 의해 담지되는 경비(transnasal) 펩티드 송달로 인해, 단백질 및 펩티드 치료제를 투여하기 위한 편리하고, 유효한 수단이 제공될 것이라는 것을 예상했었다. 그러나, 최근의 검사관들은 덜 낙관적인 자세를 취했다(Harris, 1993). 코로 송달되는 펩티드의 신속한 대사 및 비전형 약동학(Wearley, 1991)은 이의 원인의 일부이다. 다른 이유는 비점막에 의해 재현된 구조적 및 일시적 관문(Sarkar, 1992), 및 전체는 아니더라도 경비 송달을 위해 통상적으로 사용되는 대부분의 방법의 참을 수 없는 부작용에 있다. 이는 경비로 방어면역 응답을 생성시키기 위한 목적으로 화합물을 송달하기 위한 노력의 일환이며, 종래의 주사법에 의해 직면하는 것보다 자연적인 항원 제시 방법을 제공한다. 경비 면역화 실험에 의해 관찰된 부작용은 주로 면역보조제(가령, 콜레라 독소(CT), 또는 이의 단편 B, E.coli의 이열성(heat labile) 단백질, 키흐림펫 헤모시아닌(keyhole limpet hemocyanin) 또는 ADP-리보실화 활성을 갖는 기타 물질) 및/또는 침투 촉진 활성을 갖는 분자 뿐만 아니라 경비 송달을 위한 제제 중의 항원의 존재로 인해 나타난다. 전자가 독성이 있는 반면, 후자는 면역화 개체에 대해 자극성이 있다. 그리고, 면역 응답의 선택성은 비특이적 자극제에 의해 달성될 수 없다. 그리고, 경비 항원 투여 후에 수득되는 면역 응답에서는 최저 트랜스관문(transbarrier) 수송 저항성으로 비강내 부위에 면역원을 침착하는데 어려움으로 인해, 실질적으로 변동이 있다.

<5> 15ml의 전체 부피 및 150cm<sup>2</sup>의 전체 표면적(표면 주름이 허용된다면 1m<sup>2</sup> 이상임)을 갖는 인간 비강은 2mm 내지 4mm 두께의 점막 및 점액에 의해 덮여 있다. 비강 표면의 대부분은 원주세포, 배상세포 및 섬모 입방세포로 구성된 호흡상피에 의해 정렬되어 있다. 결과로서의 침투 배리어(barrier)는 구강의 배리어에 관한 것이며, 이는 서로 연결되어 있고, 각질화된 배리어 조직에 의해 덮혀 있다. 다른 경우, 배리어내 세포는 밀집 패킹(packing)되고, 종종 특수 세포간 지질 배열에 의해 밀봉(seal)된다. 그리고, 다른 경우에 침투 배리어는 상기 지질 밀봉의 품질 및 패킹을 저하시키고/저하시키거나 배리어로 분자를 분배하는 확률을 증가시키는 물질들을 국소 적용함으로써 저해된다. 구강내에서 직면하는 상황에서 벗어나, 코로부터 외부 물질이 섬모에 의해 5mm/분의 평균속도로 비강인두로 제거된다. 섬모를 포함하지 않고 가-중층 후신경성 신경상피에 의해 덮여있는 비강의 상부 영역은 예외이다. 코의 상피하조직은 조밀한 맥관망을 함유하며, 코로부터의 정맥혈은 직접 전신 순환으로 들어간다.

<6> 경비 송달 경로는 고분자량 물질에 사용되는 경우 비교적 실패한다. 침투 촉진제를 사용하면, 상기 물질들은 보통 허용성이 충분하지 않고, 유용성이 제한되어 있다는 사실로 인해 정확을 충분히 개선시키지 못한다. 경비 약물 송달로 인한 약동학은 또한 매우 변동이 쉽다. 상기에 대한 주요 이유는 침착 부위, 또는 송달 상세에 있어서 일관되지 않을 뿐만 아니라 점액 분비 및 점막 섬모의 클리어런스(clearance)의 변화가 있으며; 후자는 처리된 피험체 중의 알레르기, 고초열 및 일반적인 감기 여부에 의해 특히 증가된다(Harris, 1993). 점막내 단백질 분해도 중요하다(Sarkar, 1992). 상기에도 불구하고, 부세렐린, 바소프레신, 콜레시스토키닌, 칼시토닌, 성장 호르몬 및 관련 물질(예컨대, GHRH), 에리트로포이에틴, G-CSF, 인터페론, 인슐린, 성선자극 호르몬 분비 호르몬(GnRH) 및 바소프레신 유사체에 의해 수많은 연구들이 진행되었으며, 그 결과를 하기에 간략하게 요약하였다.

<7> **코를 통한 거대약물의 전신 송달**

<8> 헥사렐린(Hexarelin)(GH 유사체; MW=800). 비강내 헥사렐린 투여(약 18μg/kg)에 대한 GH 응답은 GHRH 1μg/kg의 주사에 의해 유도된 것보다 크게 높지 않았다(Ghigo와 다수, 1996). 한편, 종래 치료법은 IGF-I를 크게 변형시키지는 않았지만, IGFBP-3 수준을 높였다. IGF-I 및 IGFBP-3 수준 모두 약물의 경구 치료에 의해 다소 증가하였다(Ghigo 외 다수, 1996).

<9> 옥트레오티드 비용 분말인 소마토스타틴 유사체(주간 8시간동안 5μg/L 이하의 평균 GH 값에 대응하여 TID 2mg 이하)에 의한 경비 치료법은 충분히 허용되었으며, 약간의 미미한 부작용이 있었을 뿐, 비점막에는 큰 변화가 없었다. 옥트레오티드 비용 분말 투여후 몇일후 모든 환자에게서 임상 그림의 향상이 나타났다. 장기(3-6개월) 치료동안 GH와 IGF-I, GH와 IGFBP-3, IGF-I와 IGFBP-3, 인슐린과 IGFBP-3, 및 인슐린과 IGF-I사이의 확실한 상관관계를 발견하였다(Invitti 외 다수, 1996).

<10> 콜레시스토키닌(MW=1050). 콜레시스토키닌(CCK-8)의 카르복시 말단 옥타펩티드는 네이티브 콜레시스토키닌

(CCK)과 유사한 기능을 가지지만, 수용체 선택성 및 대사 안정성이 결여되어 있다. A-수용체 서브타입에 의한 포만 상태의 조절으로 비만을 관리하기 위해 사용될 수 있다. 이는 또한, Hpa(SO3H)-Nle-Gly-Trp-Nle-MeAsp-Phe-NH<sub>2</sub>의 비강내 투여후 나타났으며, Phe로부터 Asp로 N-메틸기가 이동한 결과이며, 이는 비글전에 있어서 섭취를 저해하였다(Pierson et al., 1997).

- <11> 콜레시스토키닌의 옥타펩티드 유도체를 경비(10 $\mu$ g) 및 정맥내(0.25 $\mu$ g 및 2.5 $\mu$ g) 투여한 후, 물질 CCK-8은 20명의 건강한 피험체들에게 청각 관련 전위(auditory event related potential: AERP)에 영향을 주는 것으로 나타났다. 상기 효과는 남성보다 여성에게서 더 강했다(Pietrowsky 외 다수, 1996). CCK-8 10 $\mu$ g을 경비 투여한 후, CCK-8의 혈장 농도는 0.25 $\mu$ g의 CCK-8의 정맥내 투여에 필적하지만, 2.5 $\mu$ g의 CCK-8에 의해 유발되는 것보다 실질적으로 낮았다(Pietrowsky 외 다수, 1996).
- <12> 바소프레신(MW=1054). 바소프레신 DGAVP(2mg)은 1주간 건강한 피험체들에게 경비 및 경구 투여되었다. 최대 수준은 항상 15분에 관찰하였다. 평균 흡수 및 제거 반감기(각각 8분 및 35-38분)는 두개의 시험된 투여 경로와 유사했지만, 후자만 0.7% 상대 생체이용률(bioavailability)을 가졌다(Westenberg 외 다수, 1994).
- <13> 이중-맹검 교차 연구(double-blind crossover study)에서, 피험체에 3개의 다른 조건 즉 20IU의 (아르기닌)바소프레신(AVP) 경비 투여(IN), 또는 1.5IU의 AVP와 생리식염수 정맥내 투여를 실시했다. 피험체의 청각 주의력 시험의 실시중 유발 전위(ERP)를 기록하였다. 시험 실시 중의 바소프레신의 혈장 농도는 AVP 후에 증강되어, AVP의 정맥 투여후의 증가는 AVP 정맥내 투여후의 2000배 초과하는 것이다. 주사와 대조적으로, AVP의 경비 투여는 ERP의 P3 성분을 실질적으로 증가시켰다(Pietrowsky 외 다수, 1996).
- <14> 경비 DGAVP에 의한 급성 처치(2mg) 및 2주간의 장기 처치(1mg/일)는 여성에서는 그렇지 않지만 남성에서는 추상적인 단어의 단기 기억이 향상되었지만, 구체적인 단어를 배우는 것은 긍정적이지 않다는 것이 밝혀졌다. DGAVP에 의한 장기 처치(급성 처치는 아님)는 양성에서 있어서 기억 비교 시험(Sternberg paradigm)에 있어서 디지털(digit)을 스캐닝하기위한 반응시간을 단축시켰다(Bruins 외 다수, 1995). 다른 인간 연구에서, 아르기닌-바소프레신(AVP: 3 $\times$ 10IU)은 경비 투여후 기억력을 향상시켰다. 오드볼(oddball) 자극에 의해 유도된 레이트 포지티브 콤플렉스(late positive complex: LPC)는 영향을 받지 않는 반면, 구조적 부호화는 약물의 효과를 나타냈다. 두 연구에서, AVP 섭취로 인해 LPC의 주요 부분인 P3 성분의 두피 분포의 뚜렷한 변화를 나타냈다. 따라서, 바소프레신은 자극의 감정 내용이 중추신경 처리에 영향을 미치는 것으로 결론지었다(Naumann 외 다수, 1991).
- <15> 바소프레신(40IU/일)에 의한 중기 처리는 2명의 중년 피험체에 있어서 야간 서파수면을 향상시키는 것으로 나타났다(Perras 외 다수, 1996). 그러나, 바소프레신의 경비 투여(DDAVP: 30 또는 60 $\mu$ g)는 인간에게 통증 지각에 일반적인 효과를 미치지 않았지만, 일부 기타 효과가 관찰되었다(Pohl 외 다수, 1996).
- <16> 부세렐린(MW=1239). GnRH 작용약 부세렐린(200 $\mu$ g, 3 $\times$ 1일, 6개월, 경비 투여)을 사용하여 자궁 평활근종을 앓는 10명의 여성과 자궁내막증을 앓는 40명의 여성들에게 처치하면, AFS 평균 골반 스코어가 24개에서 7개로 감소하였으며, 자궁근종의 크기가 69% 감소하였다(Biberoglu 외 다수, 1991).
- <17> 칼시토닌(MW=3432). 이치카와 외 다수(1994)는 난소적출술후 1주간후부터 시작하여 3주간 격일로 Salmon 칼시토닌을 경비 투여(5, 10, 20 및 40U/쥐) 및 피하투여(5, 10 및 20U/kg)하여 오스테오펠(osteopenic) 변화를 방지시키며, 침습성 방법은 대략 2배 더 효과적이라는 결론을 내렸다.
- <18> 이중-맹검 시험에서, 추간판 탈출증으로 인해 거동하지 못하는 32명의 환자에 있어서 뼈의 턴오버(turnover)의 생화학적 파라미터에 있어서, Salmon 칼시토닌의 경비 투여가 미치는 효과를 조사하였다(van der Wiel 외 다수, 1993). 2배량의 칼시토닌을 절식 2시간의 요의 200IU/일 히드록시프롤린/크레아티닌 비율(OHPr/Cr)의 증가를 40%까지 억제하고, 칼슘/크레아티닌 비율(Ca/Cr) 증가를 80%까지 낮췄다. 고정 10일후 혈청 중의 1,25-디히드록시비타민 D의 저하는 칼시토닌 처리군의 쪽이 위약군 보다는 덜 감소하였다(각각 14% 대 29%; P<0.05). 그러나, 충분히 허용되는 경비 칼시토닌은 육안 분석 척도로서 측정하여 통증 스코어에 영향을 미치지 않았다(van der Wiel 외 다수, 1993).
- <19> 성장 호르몬(GH) 방출 인자(들)(MW=5040). 성장 호르몬 대체 요법의 현 방법은 밤에 제공되며 매일의 피하 주사(s.c.)하였다. 상기 계획은 성장 및 다른 GH 작용의 유도에 중요한 GH 분비의 내인성 맥동 형태를 모방할 수 없다(Laursen 외 다수, 1996).
- <20> 성장 호르몬의 내인성 생성을 자극하기 위해, 촉진제로서 디데카노일-L- $\alpha$ -포스파티딜콜린을 사용하여 0.05IU/kg, 0.10IU/kg 및 0.20IU/kg의 투여량으로 상기 단백질을 3회 경비 투여하였다(Laursen 외 다수, 1996). 그외

의 2가지 조건은 환자는 각각 GH의 피하주사(0.10IU/kg) 및 정맥내 주사(0.015IU/kg)를 실시하였다. 경비 투여 및 피하 주사는 교차 디자인에서 무작위 순서로 제공하였다. 정맥내 투여는 128 $\mu$ g/L의 단명(short-lived) 혈청 GH 피크값을 형성하였다. 최대 수준은 피하 주사(50% 생체이용율)후 약 14 $\mu$ g/L 이었으며, 3회의 경비 투여(생체이용율 4% 내지 9%)후 각각 3 $\mu$ g/L 내지 8 $\mu$ g/L이었다. 혈청 인슐린-형 성장요소 I(IGF-I) 수준은 피하 투여후에만 상당히 증가하였다. 그러나, 상기 데이터는 경비 투여에 의해 생리적 GH 펄스의 밀접한 모양이 이뤄졌다는 것을 보여주었다. 상기에도 불구하고, 연구원들은 GH 투여가 GH에 대한 대사 응답을 유도하기 위해 중요하다고 결론지었다(Laursen 외 다수, 1996).

- <21> GHRP-2는 GHRP군의 가장 잠재적인 요소중 하나이며, 경구, 경비 및 정맥내 투여후 그의 생물학적 활성을 나타낸다. 예를 들어, 주사된 GH-방출 인자에 대해 강한 응답을 갖는 아동은 경비 GHRP-2를 수용하고, 5-20 $\mu$ g/투여량(kg)의 투여량 범위에서 상당하지만 정량화되지 않은 응답을 보였다(Pihoker 외 다수, 1995).
- <22> 인슐린(MW=5808). 비점막을 통해 제공된 인슐린 용액의 낮은 생체이용율의 문제점은 흡수 촉진제 또는 생체부착성 마이크로스피어를 사용하여 개선되었다(Gizurarson & Bechgaard, 1991; Illum & Davis, 1992). 10% 이상의 생체이용율이 측정되었지만, 현재 이에 상당하는 체제에 임상 후기 시험에 이르는 것은 발견되지 않았다. 상기의 주요 이유는 통상적으로 사용된 침투 촉진제에 의해 야기된 비점막의 심각한 손상이 사료된다.
- <23> 예를 들어, 인슐린과 침투 촉진제인 나트륨 타우로-24,25-디히드로푸시데이트(STDHF)를 포함하는 분말 제제를 투여한 후, 양(sheep)에서 하이포글리케믹(hypoglycaemic) 응답 및 혈청 인슐린 수준이 0 내지 16.8 범위의 STDHF/인슐린 몰비율로 증가하였다(Lee 외 다수, 1991). 상기의 이유는 증가된 점막 침투성 뿐만 아니라 감소된 인슐린 응집물 크기 때문이다. 생체이용율은 분말에 대해 2.9% 내지 37.8%이며, STDHF/인슐린=8.4/1 혼합물을 함유하는 적체(drops) 또는 스프레이제에서는 각각 15.7% 및 37.4%이고, 촉진제 농도에 거의 비례하였다(Lee 외 다수, 1991). 그러나, 높은 생체이용율을 달성하기 위해, 비점막내 주요 변화가 허용되어야 한다.
- <24> 인간의 체내에서, 촉진제(디테카노일-포스파티딜콜린(2w-%), 글리세(1.6w-%), 0.4w-% 분별 코코넛 오일)와 0.2w-% 콜레스테롤의 혼합물을 함유하는 200U 인슐린/ml 제제로 인해 약 8%의 생체이용율을 얻었으며, 최고값은 높은 투여량(각 50 $\mu$ l의 2 $\times$ 3스프레이)에 대해 측정하였으며, 이는 또한 가장 자극성이 있었다(Drejer 외 다수, 1991).
- <25> 시클로텍스트린은 구조 및 농도에 따라, 인슐린 헥사머를 보다 작은 응집물로 해리시킨다. 그러므로, 헥사머 해리는 폴리펩티드의 높은 경비 흡수의 이유로 추측되었다(Shao 외 다수, 1992). 상기 목적을 위한 여러 시클로텍스트린의 상대 효과는 디메틸- $\beta$ -시클로텍스트린(DM- $\beta$ -CD) >  $\alpha$ -시클로텍스트린( $\alpha$ -CD) >  $\beta$ -시클로텍스트린( $\beta$ -CD), 히드록시프로필- $\beta$ -시클로텍스트린(HP- $\beta$ -CD) >  $\gamma$ -시클로텍스트린( $\gamma$ -CD)로 감소하는 것으로 보고되었다. 흡수 촉진과 비강 점막 단백질 및 지질 방출사이의 직접적인 관계는 상기 순서를 설명하기 위해 인용되었다(Shao 외 다수, 1992).
- <26> 양이온성 키토산은 쥐와 양의 비점막을 통과하는 인슐린의 흡수를 농도에 의존하여 촉진하는 가는 그다지 명확하지 않지만, 쥐와 양에서는 최적 농도가 각각 0.2% 및 0.5% 이상이지만, 상기 방법의 전체 효율은 대략 10%이다(Illum 외 다수, 1994). 촉진제로서 디테카노일-L- $\alpha$ -포스파티딜콜린을 사용하면, 4% 내지 9%의 경비 인슐린 생체이용율이 얻어진다(Laursen 외 다수, 1996).
- <27> G-CSF(MW=19600). 쥐에게 경비 투여된 rhG-CSF의 상대 생체이용율은 t=8h에서 곡선하면적(AUC)과 쥐 혈장내 면역학적으로 활성인 rhG-CSF 농도로부터 평가되는 바와 같이, 피하 주사에 비해 약 2%였다. 백혈구 자극 계수는 t=48h에서 5-10%의 생체이용율을 보였다. 상대적 생체이용율 및 약동학적 이용율은 폴리옥시에틸렌 9-라우릴 에테르(Laureth-9)에 의해 각각 23배 및 3배 증가하였지만, 글리코콜산 나트륨에 의해서는 이용율이 증가하지 않았다(Machida 외 다수, 1993).
- <28> 토끼의 코를 통해 용해된 재조합 인간 과립세포군 자극 인자(pH 4에서 rhG-CSF)의 흡수는 첨가된 디메틸- $\beta$ -시클로텍스트린에 의해 또는 상기 부형제 없이 조사되었으며, 이는 배리어 침투 촉진제로서 작용한다. 단백질이 흡수되어 말초혈액내 전체 백혈구수가 증가하였지만, 부형제는 rhG-CSF의 흡수율을 상당히 향상시켰다(Watanabe 외 다수, 1993). 연이은 약동학 및 약역학 연구(Watanabe 외 다수, 1995)로 인해 막내에서 담체로서 작용할 수 있는  $\alpha$ -시클로텍스트린( $\alpha$ -CyD)의 존재하에 용액으로부터 비강을 통해 단백질이 흡수된다는 것을 발견하였다. 혈청 G-CSF 농도-시간 곡선하면적(AUC)과 증가된 전체 혈액 백혈구 계수-시간 곡선하면적의 로그사이에는 양호한 상관관계가 발견되었다(Watanabe 외 다수, 1995).
- <29> 인터페론(MW=23000). 재조합 인터페론  $\beta$  세린(MW=18500)의 경비 투여에 의한 38명의 성인에 있어서 실험적 리노

바이러스 감기를 치료하는 것은 이환율(illness rate) 또는 중독도(severity)에 아무런 영향도 미치지 않았지만, 바이러스 발산빈도를 (4일째에) 2배에서 (6일째에) 3배까지 감소시켰다. 실험적 감기와 연관된 중이 기능장애 과정은 약물에 의해 긍정적인 영향을 받았다(Sperber 외 다수, 1992).

- <30> 에리트르포에틴(MW=30400). 촉진제없이 경비 투여후 rh-EPO의 약동학적 이용율을 정맥내 주사와 비교하였다. 낮은 pH와 저장성 만니톨 용액의 약동학적 활성이 촉진되었으며, 상기 모두 배리어의 품질을 손상시켰다. 다른 망상적혈구 계수법에 의해 측정할때, 7% 내지 4%의 경비 투여된 약물의 상대적 생체이용율이 얻어졌다(Shimoda 외 다수, 1995).
- <31> 표식 텍스트란(MW=4100, 9000, 17500) 6.5mg 용량으로 코에 적용된 경우 글리코콜레이트(3mg)의 존재하에 점막을 통과하는 것으로 나타났으며, 세계의 분자크기에 대해 각각 약 0.05%, 0.02% 및 0.01%에 대응하는 6ng/ml 내지 21ng/ml의 농도범위로 혈액중에서 발견되었다(Maitani 외 다수, 1989).
- <32> 요컨대, 종래 문헌들을 조합해보면, 거대분자가 비점막을 통과하는 것은 분자량이 증가하는 것을 크게 감소시킨다는 것이 입증된다. 지금까지, 코를 통해 성공적으로 투여된 분자의 크기는 전형적으로 1300Da 미만이며, 항상 3500Da 이하이다. 담지하는 침투 촉진제에 의해서만 상당한 수송이 달성되며, 촉진제 농도에 적어도 비례하는 특정 농도범위로 존재한다. 촉진제 농도는 백분율 범위에서는 30% 이하의 약물(또는 표지) 생체이용율일 수 있지만, 종종 10% 이하 및 몇 %의 값이 얻어진다. 높은 수송 효율은 강한 국부 조직 손상을 수반한다. 이는 불쾌한 급성 부작용을 야기하며, 먼저 코 침투 배리어를 파괴할 수 있으며, 사용을 반복시에 결국엔 상피의 광범위한 각질화를 유발하여 이는 경비 수송 효율을 저하시킨다.
- <33> 경비 수송의 성공은 섬모-배상, 배상-배상 또는 섬모-섬모 세포 접착의 느슨함에 따라 다른 것으로 생각되며, 이는 물의 이동을 위해 통로를 연다(McMartin 외 다수, 1987). 그러므로, 삼투적으로(다당류 첨가의 경우에서와 같이), 물리/화학적으로(계면활성제 첨가의 경우에서와 같이) 또는 생물학적으로(많은 약물을 포함하는, 세포의 생화학에 세포 접착 또는 세포 침투 수송 및 상피 세포 수송에 작용하는 분자의 경우에서와 같이) 공정을 지지하는 방법 또는 물질은 비점막에 의한 약물 수송을 향상시킬 수 있다. 세포를 통과하는 수송이 가능하지만, 드물게는 일부 바이러스 감염 또는 도포의 경우도 가능하다. 수송된 분자와 세포막사이의 가까움을 증가시키고, 보유 시간을 연장시키는 폴리 전해질의 중합체와 같은 물질은 상기 목적에 유용하다. 상기 후자의 효과에 대한 한계는 섬모운동에 의해 설정되며, 섬모 운동은 대략 매 30분마다 점막표면을 청소하는 경향이 있으며, 목구멍으로 표면 물질을 수송하고, 위장관쪽으로 간다. 특정 입자에 의해 매개된 수송은 상기 작용에 따라 경합되었다.
- <34> **입자의 경비 송달**
- <35> 흡입된 미세 입자(Kanto 롬 먼지, 비산재, 카본 블랙, 디젤 배기 입자(DEP) 및 수산화 알루미늄(alum))는 보조제로서 작용하며, 암컷 BDF1 마우스내에서 화분에 대한 IgE 항체를 생성하는 것을 촉진시키지만; 입자의 성질, 그들의 항원 흡수 능력 및/또는 그들의 크기는 공정에 약간의 역할만 하는 것으로 보인다(Maejima 외 다수, 1997).
- <36> Ting 외 다수(1992)에 따르면, 중공 구체는 그들의 신속한 클리어런스 및 다양한 침착 패턴때문에 경비 송달에 부적합하다. 따라서, 코내 침착에 바람직한 크기(10-200 $\mu$ m)를 갖는 붕괴된 고체 구체 형태의 폴리비닐 알콜 미립자가 분무-건조 및 분무-용해화에 의해 생성되었다(Ting 외 다수, 1992).
- <37> 상기 발견에도 불구하고, 여러 종류의 미립자 현탁액은 코에 사용되어 입자-관련 항원에 대한 항체를 유도하였다.
- <38> 상기는 gp160(Lowell 외 다수, 1997) 또는 인플루엔자 바이러스 단백질을 포함하는 소위 프로테오솜(proteosome)을 포함한다. 다른 예로는 지질(이중)층에 의해 코팅된 중합화 탄수화물로 제조된 입자가 있다.
- <39> 그러나, 비강 흡입 연구에서 이차 재분포를 생각하고, 허용해야 한다는 것을 인식하는 것이 중요하다. 예를 들어, 건강한 인간 지원자에게 설하, 경구 및 경비 투여한 후에 정제된 주요 *Parietaria judaica* 알레르겐으로부터 방사능의 생물분포는 유사하다. 이는 시험 물질이 삼켜지고 위장관내에 흡수되었는지를 나타낸다(Bagnasco 외 다수, 1997). 경비 투여의 경우에, 섬모 제거에 의한 인두로의 수송은 중요한 역할을 하지만, 트레이서의 관련 프랙션은 투여후 48시간 이하동안 비점막상에 보유된다(Bagnasco 외 다수, 1997).
- <40> **입으로부터의 일출(spill-over) 및 위양성(false positive) 결과의 위험성**
- <41> 단백질은 소량이어도 위장관내에 흡수된다. 예를 들어, 난백알부민(OVA)은 위내에 뿐만 아니라 GI관으로부터

가해진 투여량의 0.007-0.008% 및 0.0007-0.002%의 수준에서 림프 순환 및 혈액으로 흡수되며; 후자의 경우 높은 투여량은 상대적으로 높은 흡수율을 이끈다(Tsume 외 다수, 1996). 위에서의 흡수는 위와 소장사이의 흡수 경로 및/또는 다른 기작을 제시하면서 거의 혈액에 공급된다. 리포솜과 관련된 OVA는 가능하게는 OVA의 느린 효소 분해때문에 약 2배 내지 3배의 섭취를 향상시킬 수 있다.

<42> 종종, 경비 및 경구 면역화의 결과는 매우 유사하며, 이는 전자의 작용의 일부가 위장관으로 항원이 일출 (spill-over)됨으로 인한 것이라는 것을 제시한다. 이종 DNA 서열에 대한 벡터로서 사용된 인간 아데노바이러스 타입 5에 의해 얻은 데이터는 여기에 상술한다(Flanagan 외 다수, 1997).

<43> **중추신경조직으로의 경비 송달(CNS)**

<44> 뇌에 물질의 접근은 정신병 및 신경증을 치료하는데 가장 중요하다. 따라서 CNS로 송달하는 경비 경로는 몇가지 선택된 생체 활성 분자에 대해 시험하였다.

<45> 경비 투여에 의해 CNS 조직으로 약물을 송달하는 데는 거의 주의하지 않았다(Pesechnik & Price, 1996). 당근 과산화효소에 결합되는 밀-배아 응집소는 후각신경 세포에 의해 흡수되는 것으로 입증되었으며, 후구내 농도는 적용 농도의 약 0.1%이며; 기본 원칙은 WGA의 수용체-매개 세포내이입 및 뇌쪽으로의 지속적인 트랜스-시냅스, 역행성 전송이다. 코 안에서 바이러스 감염의 경우에도 유사한 기작이 가능하다.

<46> 예를 들어, 수포성 구내염 바이러스(VSV)인 네가티브-센스 RNA 바이러스의 비강내 흡입으로 인해 마우스와 쥐의 뇌를 치명적으로 감염시킬 수 있다(Huneycutt 외 다수, 1994). VSV를 경비 접종후 12시간 이내에, 상기 항원은 동측 후구의 후각신경층내에서 발견될 수 있다. 접종후(p.i.) 3-4일 이내에, VSV는 후구의 사구체 뿐만 아니라 VSV 흡입에 동측인 전방 후구핵으로 분산되었다. 사구체내에서, VSV 항원은 승모신경세포내에서보다 과립세포내에서 보다 우선적이다. 따라서, 승모세포의 축삭이 흐르는 외측 후각로는 접종후 7일간은 VSV 음성이었다. 접종 후 7일 까지는 바이러스 단백질은 뇌간으로 확장하는 여러 추가 영역내에서 검출된다. VSV 면역반응성의 패턴은 후구 사구체의 초기 감염도를 지지하며, 계속해서 두 심실표면을 통해 확장하며, 후구를 약화시키는 신경조절 전달물질 시스템의 축삭내로 역전송한다(Huneycutt 외 다수, 1994).

<47> Draghia 외 다수(1995)는 복제-방어적인 아데노바이러스 벡터 AdRSV βgal의 코 흡입후 쥐의 중추신경계 구조로 생체내 에스케리치아 콜리(*Escherichia coli*) lacZ 유전자를 전송할 수 있다는 것을 증명하였다. 후구로부터의 승모신경세포, 전방 후구핵으로의 뉴런, 청색반점 및 맨아래구역은 12일 이상동안 β-갈락토시다아제를 발현하였다(Draghia 외 다수, 1995). 제1형 파라인플루엔자 백신 바이러스는 또한 후구 신경을 감염시킴으로써 중추신경계에 직접 접근한다(Mori 외 다수, 1996).

<48> 그러나, 여러 부작용을 동시에 발생시키지 않으면서 방어 면역 응답을 발생시킬 수 있고, 그렇게 되도록 고안된 화합물에 대한 종래의, 그리고 확실한 경비 송달 시스템을 가지는 것이 매우 바람직하다. 경구 면역화를 포함하는, 비-침습성 용도의 종류는 소망하는 면역 반응을 유도하지 않는다. 많은 주사가능한 백신은 또한, 체내 항원 진입의 부자연스러운 경로로 인해 최적 항체 이소타입 패턴을 제공하지 않는다. 경비 면역화는 비접막을 통해 약학적으로 유효한 화합물을 전송하는 것과 유사하게 제한되는 통상적인 면역원의 큰 크기 때문에 문제가 된다.

<49> 결과적으로, 종래에 경비 송달을 위한 여러 접근법을 시험하였지만, 특히 화합물의 크기가 큰 경우에 코 배리어를 통해 화합물, 가령 약학적으로 활성인 물질, 면역원/항원 또는 알레르겐의 편리하고, 잘 허용되는 전송 방법을 제공하는데 지금까지는 실패했다. 상기 기술적인 문제에 대한, 즉 적당한 시스템을 제공하기 위한 해결책은 본 청구의 범위에서 특정화된 실시양태에 의해 제공된다.

**발명의 내용**

<50> 따라서, 본 발명은 응집 경향이 있는 2종 이상의 다른 물질 또는 2종 이상의 다른 물질의 형태의 1개 또는 수개 층의 막-형 코팅에 의해 둘러싸여진 미소 액상 소적(fluid droplet)의 형태로 용매 중에 현탁 또는 분산된 침투체(상기 물질 또는 물질의 형태는 보다 용해도가 높은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균 직경 또는 상기 양 물질들 또는 상기 양 물질들의 형태로 이루어진 헤테로-응집물의 평균 직경은 보다 용해도가 낮은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균직경보다 작아지도록, 바람직하게는 수성 액체 매질 중의 용해도에 있어서 10 계수(factor) 이상 다르고/다르거나, 보다 용해도가 높은 성분은 침투 소적을 가용화하는 경향이 있으며, 상기 성분의 함량은 액적을 가용화하는데 요구되는 농도의 99mol-% 이하에 상당하거나 또는 가용화되어 있지 않은 소적의 포화 농도의 99mol-% 이하에 상당하고/상당하거나, 막-형 코팅을 둘러싸는 소적의 탄성 변형 에너지

가 적혈구 세포 또는 유동성 지방족 사슬을 갖는 인지질 이중층보다 적어도 5배 낮고, 보다 바람직하게는 적어도 10배 낮고, 이상적으로는 10배 이상 낮음)의 용도로서, 약학적으로 활성인 화합물, 항원, 알레르겐, 항원 혼합물 및/또는 알레르겐 혼합물의 경비 투여용 담체로서 기능하는 침투제의 사용에 관한 것이다.

- <51> 상기 화합물, 항원 또는 알레르겐은 허용가능하지 않은 부작용을 야기하지 않고는, 그 자체에서 사실상 유의한 양으로 비점막을 통과하지 못한다.
- <52> 상기 99% 이하의 인용값으로 언급한 바와 같이, 종래의 상대농도의 50% 이하의 값이 특히 유용하며, 유리하게는 40상대% 이하 및 보다 유리하게는 30상대% 이하의 값이 특히 유용한 반면, 용해도가 높은 성분에 의해서 가용화될 수 없는 소적의 경우에는 2 이하의 상대 농도를 초과하는 상대 농도가 가장 바람직하다.
- <53> 상기 침투제를 포함하는 제제는 DE 41 07 152, PCT/EP91/01596, PCT/EP96/04526 및 DE 44 47 287에 기술되어 있으며, 이는 이후에 참고문헌으로 통합된다. 배리어를 통해 침투하기에 너무 큰 여러 거대분자 유효물질에 의한 침투제를 제조하고 부하하는데 유용한 관련 정보는 특허출원 PCT/EP98/06750에 제공되어 있으며, 이는 이후에 참고문헌으로 통합된다.
- <54> 지질 현탁액에 대한 보다 일반적인 정보는 'Liposomes'(Gregoriadis, G., ed., CRC Press, Boca Raton, FL., Vols 1-3, 1987)을 다루는 논문, 'Liposomes as drug carriers'(Gregoriadis, G., ed., John Wiley & Sons, New York, 1988) 또는 실험 매뉴얼 'Liposomes. A Practical Approach'(New, R., Oxford-Press, 1989)에서 찾아볼 수 있다. 생체적합성 면역침투제를 제조하기 위해 편리하게 사용될 수 있는 인지질의 성질은 'Phospholipids Handbook'(Cevc, G., ed., Dekker, New York, 1995)에 논의되어 있다.
- <55> 상기 침투제에 대한 제조 온도는 보통 0°C 내지 95°C에서 선택된다. 중요한 제제 성분의 조성 또는 물리적 상태가 비가역적으로 변화하는 온도 이하의 모든 환경하에, 바람직하게는 10~70 °C, 가장 바람직하게는 15°C 내지 45°C의 온도에서 작업한다. 상기 온도는 일반적인 지식 및 본 명세서에 인용된 여러 문헌들의 지식을 사용하여 당업자들에 의해 결정될 수 있다. (참고: 피부 온도는 약 32°C임). 동결가능한 또는 비휘발성 성분, 초냉동-안정화 또는 열-안정화 제제 등을 함유하는 시스템에 대해서는 다른 온도범위도 가능하다.
- <56> 각 시스템 성분의 강도 및 소망하는 성질을 유지하기 위해 필요하다면, 담체 제제는 유효제와 함께 또는 없이 냉장 보관될 수 있다(예를 들어, 4°C). 또한, 질소와 같이 비활성 대기하에서 제제를 제조 및 저장할 수 있다. 그리고, 담체 제제의 저장 수명은 소수의 이중 결합, 즉 낮은 불포화도를 갖는 물질을 사용함으로써, 과산화물-암(peroxide-arm) 성분을 선택함으로써, 산화방지제, 킬레이터 및 기타 안정화제를 포함시킴으로써, 또는 동결 건조 또는 건조 혼합물로부터 특별히 또는 인 시츄(in-situ)에서 침투물이 부하된 물질을 제조함으로써 연장될 수 있다.
- <57> 본 발명과 연관된 "물질의 두 형태(two forms of a substance)"라는 용어는 동일한 물질의 2개의 이온화 상태 또는 염 형태, 상기 물질의 2개의 다른 복합체를 의미한다.
- <58> 본 발명의 명세서에서, "비-침습성 투여(non-invasive administration)" 또는 "비-침습성 송달(non-invasive delivery)"이라는 용어는 비점막을 통한 적용 또는 전송을 의미한다.
- <59> 본 명세서에서, "경비 투여(nasal administration)"라는 용어는 정확한 손상위치 또는 부착 위치와 무관하게, 직접 비강내 삽관법에 의해, 시험 소적을 자발적으로 냄새맡음에 의해, 또는 코에 분무된 시험 소적의 흡입에 의해 시험 물질을 적용하는 것을 의미한다.
- <60> 본 명세서에서, "침투(penetration)"라는 용어는 배리어를 가로질러 다량이 비-확산적으로 이동하는 것을 의미한다. 상기 방법은 그와 같이 된다면 제한성이 있는 배리어 중의 공극에 아마도 배리어 저항성의 일시적, 선택적 및 가역적 저하와 함께 침투제를 제공하는 것을 포함하는 것으로 믿어진다.
- <61> "투과(permeation)"라는 용어는 반투과성 배리어를 통과하여 확산하는 것을 의미하며, 배리어를 통과하는 투과제의 농도구배에 의해 구동된다.
- <62> 결과적으로, 침투제는 배리어를 통과하기에는 너무 크지만, 그렇지 않다면 제한이 있는 배리어의 통로(공극)의 형태 및/또는 직경에 대한 침투제 적합성 때문에 배리어를 통과할 수 있는 단일 분자 또는 분자 배열을 포함하는 물질이다. 상기 적합성은 예를들면 공극 직경보다 2배 이상 큰 침투제를 공극 크기 이하로 분할되지 않으면서 이중층을 통과할 것이라는 사실로부터 알 수 있다. 한편, 투과제는 피부와 같이 반-투과성 배리어를 투과할 수 있는 물질이다. 외부에서 침투제는 명목상의 침투제 크기 및 적용영역에 비례하는 구동력을 경험하며, 이의 구동력은 자연적으로 일어난다. 접촉시에 차단되지 않은 피부가 각질층을 통한 물 농도구배로부터 유래하는 것

으로 믿어지는 상기 힘은 크기 배제 문제를 피하기에 충분하도록 배리어내 통로를 넓히거나, 또는 침투체를 변형시키거나, 또는 둘다를 위해 충분히 강한 경우에, 피부를 포함하는 배리어를 통해 침투 운동을 일으킬 수 있다.

- <63> 한편, 침투체는 반-침투성 배리어를 가로질러 확산하거나, 또는 확산할 수 있는 분자이다.
- <64> 상기 침투체는 전형적으로 여러 성분들을 포함하는 초-적합성 물질이다. 광범위한 의미의 상기 침투체는 침투체 직경보다 매우 작은 공극을 갖는 침투성 배리어를 통해 자발적으로 통과할 수 있어서 적용후에 배리어 측면의 목적 위치로 물질을 전송할 수 있는 초-거대분자체(supramacromolecular body)이다. 상기 목적을 만족시키기 위해, 침투체는 그의 성질, 바람직하게는 그의 변형성, 배리어내 공극의 형태 및 크기를 조정하여야 한다. 이는 침투체내 모든 분자상에 작용하는 강한 구동력 또는 압력의 영향하에 일어난다. 배리어를 통과하는 수화 또는 외부 전위차와 같은, 침투체 농도와 무관한 구배들은 상기 목적을 제공하기 위해 개시되어 있다.
- <65> 본 발명과 관련하여 상기 기술된 성질의 지질 응집물 및 (유사)준안정 상태의 지질 응집물은 특히 1개 또는 수개의 막(이중층)에 의해 둘러싸인 작은 액상 소적 형태를 갖는 경우 적합성이 높은 침투체로서 거동한다(Cevc 외 다수, 1997; Cevc 외 다수, 1998). 막 준안정성때문에, 비정상적으로 높은 국소 이중층 굴곡은 전체 응집물 강도를 감소시키지 않으면서 일시적인 국소막 불안정화 자리에서 발생할 수 있다. 조성물의 관점에서, 상기 초-적합성 및 자가-조절 소포는 적당하게 선택된 지질 혼합물로 구성되어 있다. 종래의 지질 소포, 리포솜을 최적화된 소포(트랜스퍼솜(Transfersomes))으로 변화시키기 위해, 적당한 가장자리-활성제를 응집막으로 첨가할 수 있다(Cevc 외 다수, 1998). 선택적으로, 기본적인 응집 성분에 결합하거나, 또는 이와 복합화후 시스템 변형을 변형시키는 분자가 사용될 수 있다. 종종, 반드시는 아니지만 활성제는 포화 또는 가용화 농도 이하의 계면활성제 부류에 속하며, 후자의 경우에 혼합 미셀 형성을 일으킨다. 이는 가용화 지질로서 중요하며, 혼합 지질 미셀의 형태로 미셀 직경보다 충분히 큰 공극을 통과할 수 있지만, 혼합 지질 소포에 의해 넓어지고, 침입될 수 있는 생물조직내 채널을 열 수는 없다. 이의 추정 이유는 (출원인은 이에 제한되는 것을 원치 않음) 물 활성 구배와 같은, 외부의 수송-구동 구배에 대한 감수성이 보다 높고, 그리고 배리어 중의 공극 또는 채널 개구에 에너지를 지불할 수 있는, 응집물 종류의 응집수가 보다 많다.
- <66> 초변형성 지질 세포가 비폐쇄 조건, 즉 수화성이 높은 비점막내에 존재하지 않는 것으로 믿어지는 강한 배리어를 통과하는 물농도 구배의 존재하에서만 피부와 같은 배리어를 통과하는 것으로 보고되어 있는 것(Cevc 외 다수, 1995; Paul and Cevc, 1995)을 고려하여 경비 송달의 목적에 상응하는 것은 아니라고 생각되므로, 본 발명은 종래에 비해 특히 놀라운 것이다.
- <67> 전형적으로 혼합 지질 소포의 형태로 적합성이 높은 침투체와 회합된 고분자는 이의 점막 및 수분에 의해 포화된 증발 공기 중의 높은 수분 함량에도 불구하고 비점막을 통해 수송된다는 사실은 예기치 못한 것이었다. 상기 담체의 양호한 시험 체제들이 코 안에 자극을 야기하지 않는 사실로부터 볼때, 상기 수송은 배리어에 손상을 미치지 않는다는 사실을 추론할 수 있으며, 상기 손상은 용액으로부터 고분자의 비점막 수송의 원인이다. 이보다는 (출원인은 이론에 구애받기를 원하지 않으며) 상기 수송은 매우 습윤한 환경에서는 일어나지 않지만 배리어의 담체의 침투에 의한 것으로 추측된다.
- <68> 그리고, 침투 촉진제로서 작용할 수 있는 계면 활성 분자의 농도를 증가시킴으로써, 담체의 가용화 시점에 적어도 도달했을때 비점막을 가로질러 수송하는 대응 단백질의 효능을 감소시킨다는 것을 본 발명에 따라 알 수 있다. 상기 발견은 경비 투여된 거대분자의 생체이용율이 전형적으로 침투 촉진 농도를 증가시킴으로써 높아진다는 사실에서 예기치 못한 것이다.
- <69> 세번째 예기치 못한 발견은 비점막을 통과하는 거대분자의 담체-매개된 수송은 중추신경계(CNS)로 큰 분자들을 비교적 효율적으로 수송하는 것을 매개할 수 있다는 것이다. 큰 분자들이 담체와 회합될때 비강으로 약물이 투여한후에 비교적 바로 유입이 이루어진다. 이는 비점막을 통과하는 담체 회합 약물의 수송 및 이후에 약물-담체 지닌 담체의 후각신경으로 흡수됨으로써 기인하며, 이를 통해 약물이 역수송에 의해 CNS쪽으로 수송되며; 상기 수송은 각 분자들에 의해 이미 가정 및 시험되었으며(Pasechnik-V; Price-J. Exp. Opin. Invest. Drugs; 5:1255-1276); 출원인의 지식중 하나인 미립자 방법은 사용하지 않았다. 선택적인 설명에는 중추신경계와 이어지는 것으로 보고된 코부근 림프계로 담체-매개된 거대분자를 수송하는 것이다(Kida-S; Pantazis; Weller-RO. Neuropathol. Appl. Neurobiol. 1993; 19:480-448).
- <70> 본 발명에 따라 얻어진 네번째 놀라운 결과는 참고 침투체가 큰 면역원에 의해 성공적으로 및 바람직하게 방어적인 경비 면역화를 이룬다는 것이다. 면역요법을 위해 적합성이 높은 항원-담체 또는 면역원-담체를 사용하는

것은 투여의 안전 및 고층에 더해, 종래의 경비 백신접종의 모든 잇점을 제공하는 것으로 기대되거나 또는 나타났다. 향상된 안전성은 비-독성 및 비-자극성 담체 성분을 선택하는 것에 달려있다. 코 배리어를 극복하기 위해 단독으로 사용된 항원 또는 면역 보조제의 능력에 비해 특별히 고안된 담체의 뛰어난 능력으로부터 보다 나은 재생력이 얻어질 수 있다. 각 항원이 회합된 다른 담체군이 최종 다가 백신 제제로 조합되면, 면역요법 경향을 만족시키는 본 발명의 방법의 능력이 제공된다.

- <71> 대응 항원 주사보다 더 빠르게 및/또는 더 양호하게 몸을 방어하기 위해 생체적합성 또는 자연적인 신체적 성분을 주로 포함하는 비-독성의 "부드러운(gentle)" 제제가 실질적으로 상업적으로 가치를 가지는 이유이다.
- <72> 본 발명에 따라, 침투제-매개된 수송의 속도 또는 효율을 조절하기 위해, 혼합 지질 응집물의 변형력, 농도 또는 조성과 같은 침투제 특징을 선택하는 것이 권고된다.
- <73> 상기 제제 및/또는 투여의 최적화 방법에서, 배리어를 통해 작용하는 적당한 구동력 또는 압력의 기능으로서 배리어내 공극을 통해 약물 또는 제제가 회합된 침투제의 흐름을 측정하고, 제제 또는 적용을 추가로 최적화하기 위해 사용되는 편리한 특징적인 곡선에 의해 데이터를 기술하기에 편리하다.
- <74> 약학적으로 허용가능한 형태의 제제는 다양한 이차 제제와 조합하여 투여의 목적에 따라 여러 최종 제제내에 제공될 수 있다. 상기 제제는 본문에 상세히 상술될 것이며, 예로는 세균 화합물 또는 면역조절제가 있다.
- <75> 그리고, 본 발명은 응집 경향이 있는 2종 이상의 다른 물질 또는 2종 이상의 다른 물질의 형태의 1개 또는 수개 층의 막-형 코팅에 의해 둘러싸여진 미소 액상 소적 형태로 용매중에 현탁 또는 분산된 침투제(상기 물질 또는 물질 형태는 보다 용해도가 높은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균직경 또는 상기 양 물질 또는 상기 양 물질의 형태로 이루어진 헤테로-응집물의 평균직경이 보다 용해도가 낮은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균직경보다 작아지도록 바람직하게는 수성 액체 매질 중의 용해도에 있어서 10 배수 이상 다르고/다르거나, 보다 용해도가 높은 성분은 침투 소적을 가용화하는 경향이 있으며, 상기 성분의 함량은 소적을 가용화하는데 요구되는 농도의 99mol-% 이하에 상당하거나, 또는 가용화되지 않은 소적내 포화 농도의 99mol-% 이하에 상당하고/상당하거나, 막-형 코팅을 둘러싸는 소적의 탄성 변형 에너지는 적혈구 세포 또는 유동성 지방족 사슬을 갖는 인지질 이중층보다 적어도 5배 낮고, 보다 바람직하게는 적어도 10배 낮으며, 이상적으로는 10배 이상 낮음)로서, 경비 투여를 위한 약물, 바람직하게는 백신 조성을 제조하기 위한 담체인 것을 특징으로 한다. 사용되는 상기 분자들은 바람직하지 않은 부작용을 야기하지 않으면서 실제로 유용한 양으로 비점막을 통과하지 않는 것이 바람직하다.
- <76> 담체는 투여하기전, 가령 상기 약학 조성을 제제화할 때, 약학적 활성 성분과 배합된다. 상기의 잇점 등에 대한 추가 설명 및 하기 실시양태는 상기 언급된 제1 실시양태와 관련하여 참고한다. 본 발명에 따라, 항원, 알레르겐 또는 약학적 활성 성분 또는 이들의 배합물 중 한 종류 이상이 상기 약학 조성물로 제제화될 수 있다고 이해된다.
- <77> 또한, 본 발명은 응집 경향이 있는 2종 이상의 다른 물질 또는 2종 이상의 다른 물질의 형태의 1개 또는 수개 층의 막-형 코팅에 의해 둘러싸여진 미소 액상 소적 형태로 용매 중에 현탁 또는 분산된 침투제(상기 물질 또는 물질의 형태는 보다 용해도가 높은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균직경 또는 상기 양 물질 또는 상기 양 물질의 형태로 이루어진 헤테로-응집물의 평균직경은 보다 가용성이 낮은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균직경보다 작아지도록 바람직하게는 수성 액체 매질 중의 용해도에 있어서 적어도 10배 다르고/디르거나, 보다 용해도가 높은 성분이 침투 소적을 가용화하는 경향이 있으며, 상기 성분의 함량은 소적을 가용화하는데 요구되는 농도의 99mol-% 이하에 상당하거나, 또는 가용화되지 않은 소적내 포화 농도의 99mol-% 이하에 상당하고/상당하거나, 막-형 코팅을 둘러싸는 소적의 탄성 변형 에너지가 적혈구 세포 또는 유동성 지방족 사슬을 갖는 인지질 이중층의 것보다 적어도 5배 낮고, 보다 바람직하게는 적어도 10배 낮으며, 이상적으로는 10배 이상 낮음)의 용도로서, 감염증, 내분비 장애, 바람직하게는 하수체기능저하증, 당뇨병, 갑상선기능항진증, 갑상선염, 가장 바람직하게는 하시모토병, 아급성 갑상선염; 부신부전, 바람직하게는 애디슨 병, 이차성 부신부전, 쿠싱증후군; 위장관 장애, 바람직하게는 크론병, 대장염; 출혈성 질환, 바람직하게는 혈우병, 백혈구감소증, 과호산구증가 증후군; 근골격 및 결합조직 장애, 바람직하게는 류마티스 관절염, 쇼그렌 증후군, 베체(Bechet) 증후군, 루푸스, 피부경화증, 다발성근염/피부근염, 류마티스성 다발성 근육통 및 일시적 관절염, 결절성 다발동맥염, 베게너 육아종증, 혼합 결합조직병, 강직성 척추염, 건선성 관절염, 변형성 골관절염, 파제트병, 좌골신경통, 점액낭염, 건염 또는 건활막염, 상과염, 섬유근통, 호산구성 근막염; 신경학적 장애, 바람직하게는 동통, 딸꾹질, 현기증, 발작성 장애, 수면장애, 일과성 허혈발작, 척수손상, 탈수초성 질환, 신경근 장애, 중증 근무력증; 정신과 질환, 바람직하게는 약물중독증, 신경증, 기분장애, 정신분열성 장

에, 망상장애의 치료용 경비 투여 약학 조성물의 제조에 약학적 활성 성분, 알레르겐, 또는 항원과 병용하여 사용되고/사용되거나; 부인과 및/또는 중양과 치료의 목적, 바람직하게는 월경곤란증, 폐경, 만성 무배란, 미성숙 난소기능부전, 자궁내막증, 불임증을 치료하기 위한; 및/또는 면역학 분야, 바람직하게는 이식거부, 저감작, 알레르겐 면역요법 또는 백신접종 분야에서 사용되는 것을 특징으로 하는 용도에 관한 것이다.

- <78> 본 발명에서 사용된 "알레르겐(allergen)"이라는 용어는 내적 또는 외적, 예를 들어 동물 또는 식물 기원의 물질을 의미하며, 알레르겐에 노출된 신체의 원치않는 면역반응을 일으키며, 종종 급성 과민반응을 일으킨다. 알레르기 유발 미생물(예, 곰진드기) 또는 그의 일부, 식물의 일부(예, 화분) 또는 동물(예, 털 및 피부 조각) 뿐만 아니라 인간도 생성하며, 무기질이 이 군에 속한다. 한편, 신체의 면역계에 의해 부정확하게 처리되거나, 또는 노출된다면, 인간 신체의 일부는 자가 면역 응답을 일으킬 수 있으며, 상기 물질에 대한 알레르기 반응을 야기할 수 있다. 보다 좁게 해석하면, 상기 사용된 알레르겐이란 용어는 비점막을 통해 비침습적으로 실시되던 안되던, 면역요법에 의해 감소 또는 제거될 수 있는 체내 즉각적인 과민반응을 야기하는 물질, 물질군 또는 물질배열을 의미한다.
- <79> "항원(antigen)"이란 용어는 자연적 형태의 또는 분해 또는 유도후 알레르겐 또는 병원성 물질의 일부를 의미한다. 특히, 항원이란 용어는 요컨대, 체내 투여될때 항체 유도할 수 있고, 체내 항체 목록에 의해 인지되는 분자, 거대분자 또는 그의 단편, 합텐성분(예를들어, 단순 탄수화물, 복합 탄수화물, 다당류, 테옥시리보핵산)을 의미한다. 거대분자 항원은 원하는 실제목적에 위해 아주 소량으로만 코 배리어를 자발적으로 통과하는 것으로 알려지거나 믿어지는 항원으로 정의된다. 따라서, 거대분자는 원치않는 부작용을 야기하지 않으면서 실제로 유용한 양으로 비점막을 통과하지 않는 분자이다.
- <80> "항원 혼합물" 또는 "알레르겐 혼합물"이라는 용어는 본 발명에 따라, 적어도 2개의 항원 및/또는 알레르겐의 배합물을 의미한다. 또한, 본 발명에 따라 사용될 수 있는 항원 및 알레르겐의 혼합물도 포함될 수 있다.
- <81> 그리고, 본 발명은 (i) 응집 경향이 있는 2종 이상의 다른 물질 또는 2종 이상의 다른 물질의 형태의 1개 또는 수개 층의 막-형 코팅에 의해 둘러싸여진 미소 액상 소적 형태로 용매 중에 현탁 또는 분산된 침투제인 담체 및 (ii) 약학적 활성 성분, 알레르겐, 항원, 항원의 혼합물 및/또는 알레르겐 혼합물을 포함하는 경비 투여용 약학 조성물로서, 상기 물질 또는 물질의 형태가 보다 용해도가 높은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균직경 또는 상기 양 물질 또는 상기 양 물질의 형태로 이루어진 헤테로-응집물의 평균직경은 보다 용해도가 낮은 물질 또는 물질의 형태의 호모-응집물의 평균직경보다 작아지도록 바람직하게는 수성 액체 매질 중의 용해도에 있어서 적어도 10 배수 다르고/다르거나, 보다 용해도가 높은 성분은 침투성 소적을 가용화하는 경향이 있으며, 상기 성분의 함량은 소적을 가용화하는데 요구되는 농도의 99mol-% 이하에 상당하거나, 또는 가용화되지 않은 소적내 포화 농도의 99mol-% 이하에 상당하고/상당하거나 막-형 코팅을 둘러싸는 소적의 탄성 변형 에너지가 적혈구 세포 또는 유동성 지방족 사슬을 갖는 인지질의 이중층의 것보다 적어도 5배 낮고, 보다 바람직하게는 적어도 10배 낮으며, 이상적으로는 10배 이상 낮은 것을 특징으로 하는 경비 투여용 약학 조성물에 관한 것이다.
- <82> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 바람직한 실시양태에서, 약학적 활성 성분은 부신피질억제약(adrenocorticostaticum), 아드레날린억제물질(adrenolyticum), 안드로겐 또는 항안드로겐, 구충제(antiparasiticum), 동화제(anabolicum), 마취제(anaestheticum) 또는 진통제(analgesicum), 각성제(analepticum), 항알레르기약(antiallergicum), 항부정맥제(antiarrhythmicum), 항동맥경화제(antiarterioscleroticum), 항천식약(antiasthmaticum) 및/또는 기관지경련약(bronchospasmodic), 항생제(antibioticum), 항-감염제(anti-infective agent), 항우울제(antidepressivum), 항정신병약(antipsychoticum), 항당뇨병치료제(antidiabeticum), 해독제(antidot), 제토제(antiemeticum), 항간질치료제(antiepilepticum), 항섬유소용해제(antifibrinolyticum), 항경련제(anticonvulsivum), 항콜린제(anticholinergicum), 효소, 조효소 또는 대응 효소억제제, 항히스타민제(antihistaminicum)(및 그의 배합물) 또는 항-고혈압약(antihypertonicum), 항-저혈압약(antihypotonicum), 항응고제(anticoagulant), 항진균제(antimycoticum), 항근무력증약(antimyasthenicum), 알츠하이머병 또는 파킨슨병, ACS 요법제, 항염증제(antiphlogisticum), 해열제(antipyreticum), 항류마티스약(antirheumaticum), 방부제(antisepticum), 호흡 각성제(respiratory analepticum), 호흡 자극제, 기관지차단약(broncholyticum), 강심제(cardiotonicum), 화학요법제(chemotherapeuticum), 관상동맥 확장약(coronary dilatator), 세포증식억제약(cytostaticum), 이뇨제(diureticum), 신경절-차단제(ganglium-blocker), 당질부신피질호르몬(glucocorticoid), 항-류제(anti-flew agent), 지혈제(haemostaticum), 수면제(hypnoticum), 면역글로불린 또는 그의 단편 또는 기타 면역학적 활성 성분(면역조절제를 포함함), 생활성 탄수화물(유도체), 피임약, 항-편두통제, 코르티코스테로이드(corticosteroid), 근이완제, 마취제, 신경치료제, (폴리)뉴클레오티드, 신경이완제(neurolepticum), 신경전달

물질, (폴리)펩티드 (유도체), 아편제, 안과약(ophthalmic), (부)교감신경용작용약 또는 (부)교감신경차단약, 단백질(유도체), 건선/신경성피부염 약, 산동제(mydraticum), 신경자극제, 비과약(rhinologicum), 수면유도체, 진정제, 진경제, 항결핵약(tuberculostaticum), 비뇨기약(urologicum), 혈관수축제, 혈관확장제, 항바이러스약, 창상치유물질, 알콜중독 제제, 항경련제, 항신생물제, 류마티스치료제, 식욕억제제, 생물학적 응답 조절물질, 혈액 조절물질, 골대사 조절제, 심장보호약, 심혈관약, 중추신경계 자극제, 발기부전 치료법을 위한 효소·약제, 배란유도체, 위장약, 통풍약, 호르몬, 고칼슘혈증 조절제, 저칼슘혈증 조절제, 면역억제제, 편두통약, 이동병 제제, 다발성 경화증 조절제, 근육 이완제, 영양제, 안과 약, 골다공증 제제, 귀 제제, 부교감신경억제제, 부교감신경유사작용약, 프로스타글란딘, 정신치료제, 호흡기 제제, 진정제 및 정신기능감퇴 약, 피부 및 근막제, 금연 보조제, 교감신경억제제, 진전제, 요로 제제, 질 제제, 현기증 약, 억제제(길항제) 또는 기타 면역학적 활성 물질[세균 추출물 또는 세포벽 성분(예컨대, 콜레라 독소, 이열성 독소 및 모노 인지질 A) 또는 시토킨 유도체 또는 호르몬(예컨대 티모신(thymosin), 티물린(thymulin), 티모포에틴(thymopoietin)), 또는 식물면역자극물질(phytoimmunostimulant)(예컨대, 에키나세아(Echinacea) 뿌리 추출물, 야생형 인디고 뿌리 추출물, 백색 세다이 팁 추출물), 또는 합성 면역조절제(예컨대, 퀴놀린 유도체, 합성 펩티드, 피리미딘, 리포펩티드), 또는 시토킨 또는 면역억제제, 및 신호 전달 억제인자(예컨대, 시클로스포린(cyclosporin) A, FK506, FTY720, 라파마이신(rapamycin))를 비롯한 면역 조절제를 포함함], 또는 이들 제제 또는 상기 활성 물질의 배합의 활성 촉진제(작용물질)이다. 상기 활성 성분은 그 자체, 허용할 수 없는 부작용 없이 실시상의 유의양으로 비점막을 통과하지 않는 것이 바람직하다.

- <83> 본 발명의 약학 조성물 또는 용도의 다른 바람직한 실시양태에서, 항원은 병원성 물질으로부터 유도된다.
- <84> 본 발명의 상세한 설명에서, "병원성 물질(pathogen)"이라는 용어는 체내 또는 신체상에 존재함으로써 원칙적으로 예방, 치료 또는 보조적 면역 요법에 따르거나 또는 그로부터 수용할 수 있는 병리학적 상태를 촉진하거나, 유도할 수 있는 물질을 의미한다.
- <85> 본 발명의 약학 조성물 또는 용도의 가장 바람직한 실시양태에서, 병원성 물질은 세포외 박테리아로 고름-형성 구균(cocci)으로 가령 스태필로코커스(*Staphylococcus*) 및 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 그람음성균으로 가령 메닝고코커스(*Meningococcus*) 및 고노코커스종(*Gonococcus species*), 네이스세리아종(species of *Neisseria*), 장내균을 포함하는 그람음성균으로 이. 콜리(*E.coli*), 살모넬라(*Salmonella*), 시겔라(*Shigella*), 슈도모나스(*Pseudomonas*), 디프테리아(*Diphtheria*), 보르데텔라 페르투스시스(*Bordetella Pertussis*) 및 그람양성균(예를들면 바실러스 페스티스(*Bacillus pestis*, BCG), 특히 혐기성 균으로 가령 클로스트리듐(*Clostridium* m)종(예를들면, 클로스트리듐 테타니(*Clostridium tetani*), 클로스트리듐 페르프린젠스(*Clostridium perfringens*), 클로스트리듐 노비(*Clostridium novyi*), 클로스트리듐 셉티쿰(*Clostridium septicum*)); 숙주내에서 생존 및 복제할 수 있는 많은 박테리아 및 모든 바이러스; 전자의 그룹은 마이코박테리아(*mycobacteria*) (예를들면 엠. 투베르쿨로시스(*M. tuberculosis*) 및 리스테리아 모노시토킨스(*Listeria monocytogenes*))를 포함하고, 레트로바이러스 및 아데노바이러스로 이에 한정되는 것은 아니지만, 헤파티티스(*hepatitis*) 바이러스, (사람의) 면역결핍 바이러스, 헤르페스(*herpes*) 바이러스, 두창(수두), 인플루엔자(*influenza*), 홍역, 유행성 이하선염, 소아마비 바이러스, 시토메갈로바이러스(*cytomegalovirus*), 리노바이러스(*rhinovirus*) 등, 숙주내 번식하는 다양한 균류; 기생충으로 동물기생충(원생생물 및 연충) 및 외부기생충(진드기, 좀진드기)을 포함한다. 또한 병원성 물질은 브루셀라종(*Brucella species*)(예를들면 비. 멜리텐시스(*B. melitensis*), 비. 아보르투스(*B. abortus*), 비.수이스(*B. suis*), 비.카니스(*B. canis*), 비. 네오토마에(*B. neotomae*), 비. 오비스(*B. ovis*), 콜레라 병원균(예를들면 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*), 헤모필루스종(*Haemophilus*) 등으로(헤모필루스 약티노마이세템코미탄스(*Haemophilus actinomycetemcomitans*), 헤모필루스 플레우롭네우모니아(*Haemophilus pleuropneumoniae*)) 뿐만 아니라 병을 유발하는 파라장티푸스, 페스트, 광견병, 과상풍 및 풍진을 포함한다. 또한 본 발명에서의 병원성 물질은 이에 한정되는 것은 아니지만, 종양, 자기-면역 질병 및 미생물의 감염에 의한 것이 아닌 동물 또는 인간 신체의 병적인 상태를 유발하는 진핵세포 또는 그의 일부를 포함한다.
- <86> 항원, 바람직하게는 병원성 물질은 정제된, 또는 순수한 형태로 사용되는 것이 가장 바람직하다.
- <87> 다양한 동물 또는 인간 신체의 종양, 자기-면역 질병 및 기타 병리상태를 야기하고, 미생물 감염에 의해 반드시 야기되지 않는 진핵세포 또는 그의 일부로서, 주요 전염병을 야기하는 병원성 물질, 가령 간염 바이러스, (인체) 면역결핍 바이러스, 헤르페스 바이러스, 두창(수두), 인플루엔자, 홍역, 볼거리 및 폴리오 바이러스, 시토메갈로 바이러스, 리노바이러스 등, 및 숙주세포내에서 번식하는 균류, 기생동물을 포함하는 기생충, 가령 원충류 및 윤충류, 외부기생충, 가령 진드기 및 좀진드기, 또는 브루셀라(*Brucella*)종, 또는 콜레라 병원균, 헤모

필루스종 뿐만 아니라 파라장티푸스, 페스트, 광견병, 과상풍 및 풍진 질병을 유발하는 병원성 물질이 특히 바람직하다.

- <88> 본 발명의 약학 조성물 또는 용도의 다른 바람직한 실시양태에서, 알레르겐은 미생물, 동물 또는 식물로부터 유도된 이종의 또는 내인성 기원이거나, 또는 사람에게 의해 제조된 물질 및/또는 자극성 무기물질의 군에 속하거나, 또는 신체 면역계에 의해 부정확하게 처리되거나 노출되는 인간 신체의 성분 또는 일부에 속한다.
- <89> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 또 다른 바람직한 실시양태에서, 알레르겐은 이에 제한되지는 않지만 여러 화분, 포자, 동물 모발조각, 피부, 깃털, 천연직물 및 합성직물, 밀, 진드기 포함 (집)먼지를 포함하는 흡입 알레르겐; 그리고 음식 및 약물 알레르겐; 접촉 알레르겐; 주사, 침습 또는 저장 알레르겐, 가령 여러 (위장-정체성) 기생충, 에키노코쿠스(echinococci), 선모충(trichines) 등의 종류에 속하며, 또는 이식 물질중 일부이다.
- <90> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 추가의 바람직한 실시양태에서, 상기 약학 조성물은 시토킨 또는 항-시토킨 활성을 방출 또는 유도하거나 또는 상기 활성 자체를 발휘하는 화합물을 포함한다.
- <91> 본 발명에서 사용된 "시토킨(cytokine)"이라는 용어는 모든 아형, 가령 IL-1 $\alpha$  및 IL-1 $\beta$ , 종양괴사인자(TNF), 전환성장인자(TGF- $\beta$  및 TGF- $\alpha$ ), I형 및 II형 인터페론(IFN- $\alpha$ 1, IFN- $\alpha$ 2, IFN- $\omega$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ ), 대식세포 이동저해인자(MIF), c-키트 리간드, 단구 대식세포 집락 자극 인자(GM-CSF), 단핵구 대식세포 집락 자극 인자(M-CSF), 과립구 집락 자극 인자(G-CSF), 케모킨(chemokines) 등과 함께 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18과 같은 시토킨 뿐만 아니라 상기 분자들의 모든 관능성 유도체를 의미한다.
- <92> 자연 면역을 특히 잘 매개하는 시토킨은 I형 인터페론(IFN- $\alpha$  및 IFN- $\beta$ ), 종양괴사인자(TNF), 인터류킨-1(IL-1 $\alpha$  및 IL-1 $\beta$ ), 인터류킨-6(IL-6) 및 백혈구 유인 및 활성화 케모킨을 포함한다. 다른 것 중에서도 (IFN-s에 의한) 항증식, (TNF, IL-1에 의한) 전-염증성 또는 (IL-6에 의한) 동시-자극작용은 본 발명에 따라 기술된 약학 조성물을 경비 투여함으로써 일어날 수 있다. 림프구 활성화, 성장 및 분화를 매개하는 시토킨으로는 인터류킨 2(IL-2), 인터류킨-4(IL-4) 및 전환성장인자(TGF)가 있다. 상기 시토킨은 표적 성장을 이룰 수 있을 뿐만 아니라, 치료 또는 예방 작용을 하는 세포에 의해 기타 시토킨을 활성화하고 제조하는데 영향을 미친다.
- <93> 세포-매개 응답에 의존하는 면역-매개 염증을 매개하는 시토킨은 인터페론- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), 림프독소(TNF- $\beta$ ), 인터류킨-10(IL-10), 인터류킨-5(IL-5), 인터류킨-12(IL-12) 및 이동 억제 인자이다. 백혈구 성장 및 분화는 인터류킨-3(IL-3), c-키트 리간드, 과립구-대식구 집락 자극 인자(GM-CSF), 대식구 또는 과립구 집락 자극 인자(M-CSF 또는 G-CSF) 및 인터류킨-7(IL-7)에 의해 가장 영향을 받는다.
- <94> IL-4, IL-2, TGF, IL-6, TNF, IL-1 $\alpha$  및 IL-1 $\beta$ , I형 인터페론, IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , IL-5 또는 IL-10중에서 시토킨 활성을 나타내는 화합물을 선택하는 것이 바람직하며, 그중에서도 IFN- $\alpha$  또는 IFN- $\beta$ 중에서 선택하는 것이 가장 바람직하다.
- <95> 다른 바람직한 실시양태에서, 항-시토킨 활성을 갖는 상기 화합물은 항-시토킨 항체 또는 대응 활성 단편, 유도체 또는 그의 유사체이다.
- <96> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 시토킨 또는 항-시토킨 활성을 나타내거나 또는 유도하는 화합물 및 약학적 활성 성분 또는 항원 또는 알레르겐은 봉입(encapsulation) 등에 의해 복합체, 헤테로-응집물의 형태로 침투제와 회합된다.
- <97> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 보다 용해도가 낮은 자기-응집성 분자는 지질, 바람직하게는 극성 지질이며, 보다 용해도가 높은 성분은 계면활성제 또는 보다 용해도가 높은 형태의 극성/염기성 지질이다. 전형적으로 전자의 성분은 생물학적 공급원 또는 상응하는 합성 지질 또는 그의 특정 변형체로부터의 지질 또는 지질형 물질이고, 상기 지질은 종종 하기 화학식 1의 구조를 갖는 인지질의 부류에 속한다:

화학식 1

Nair, A., Gasbarr, A. A. Contact dermatitis: Clinical perspectives and basic mechanisms. *Clin. Rev. Allergy and Immunol.* (1996) 14: 161-184.

Pastore, S., Fanello-Beloso, E., Abbaneo, C., Chinni, L.M., Giannetti, A., Girolomoni, G. Granulocyte macrophage colony stimulating factor is overproduced by keratinocytes in atopic dermatitis: Implications for sustained dendritic cell activation in the skin. *J. Clin. Invest.* (1997) 99: 3009-3017.

Faul, A., Cevc, G. Non-invasive administration of protein antigens. Epicutaneous immunisation with the bovine serum albumin. *Vaccine Res.* (1995) 4: 145-164.

Faul, A., Cevc, G., Bachhawat, B. K. Transdermal immunisation with large proteins by means of ultraformable drug carriers. *Eur. J. Immunol.* (1995) 25: 3521-3524.

Faul, A., Cevc, G., Bachhawat, B. K. Transdermal immunisation with an integral membrane component gap junction protein, by means of ultraformable drug carriers. *Transfersomes. Vaccine* (1997) 15: 189-195.

Schatzlein, A., Cevc, G. Non-uniform cellular packing of the stratum corneum and permeability barrier function of intact skin: a high-resolution confocal laser scanning microscopy study using highly deformable vesicles (Transfersomes). *Br. J. Dermatol.* (1998) 138: 583-592.

Strange, P., Skov, L., Libby, S., Nielsen, P. L., Baadsgaard, O. Staphylococcal enterotoxin B applied on intact normal and intact atopic skin induces dermatoma. *Arch. Dermatol.* (1995) 132: 27-33.

Wang, L.-F., Lin, J.-Y., Hsieh, K.-H., Lin, R.-H. Epicutaneous exposure of protein antigen induces a predominant Th2-like response with IgE production in mice. *J. Immunol.* (1999) 162: 4272-4282.

<98>

<99>

(상기 화학식 1에서, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 지방족 사슬로, 전형적으로 C<sub>10-20</sub>-아실, 또는 -알킬, 또는 부분적으로 불포화된 지방산 잔기, 특히 올레오일-, 팔미토엘로일-, 에라이도일-, 리놀레일-, 리놀레닐-, 리놀레노일-, 아라키도일-, 바시닐-, 라우로일-, 미리스토일-, 팔미토일- 및 스테아로일 사슬이 있고, R<sub>3</sub>은 수소, 2-트리메틸아미노-1-에틸, 2-아미노-1-에틸, C<sub>1-4</sub>-알킬, 카르복시로 치환된 C<sub>1-5</sub>-알킬, 히드록시로 치환된 C<sub>2-5</sub>-알킬, 카르복시 및 히드록시로 치환된 C<sub>2-5</sub>-알킬, 또는 카르복시 및 아미노기로 치환된 C<sub>2-5</sub>-알킬, 이노시톨, 스피린 고신, 또는 상기 물질의 염이 있고, 상기 지질은 황- 또는 탄수화물을 포함하는 지방의 글리세리드, 이소프레노이드 지방, 스테로이드, 스테린 또는 스테롤, 또는 지방을 형성하는 기타 이중층, 포스파티딜콜린, 포스파티딜 에탄올아민, 포스파티딜글리세롤, 포스파티딜이노시톨, 포스파티드산, 포스파티딜세린, 스피노미엘린 또는 기타 스피노포스포리피드, 글리코스핀고리피드(세레브로사이드, 세라마이드폴리핵소사이드, 설파티드, 스피노글라스마로겐), 간글리오사이드, 또는 기타 당지질 또는 합성 지질, 특히 상응하는 시핀고신 유도체 또는 기타 당지질의 그룹으로부터 선택되고, 두개의 유사하거나 또는 다른 사슬은 주사슬에 대해 에스테르화할 수 있거나(디아실 및 디알케노일 화합물에서) 또는 디알킬 지질과 같이 에테르 결합으로 주사슬에 연결되고, 또는 스피린 고리 피드에서와 같이 주쇄에 속한다.

<100>

보통 사용되는 계면활성제는 비이온성, 양쪽이온성, 양이온성 또는 음이온성, 특히 지방산 또는 -알콜, 알킬-트리/디/메틸-암모늄염, 알킬설페이트염, 콜레이트의 일가염, 데옥시콜레이트, 글리코콜레이트, 글리코데옥시콜레이트, 타우로데옥시콜레이트, 타우로콜레이트 등, 아실- 또는 알카노일-디메틸-아미늄사이드, 특히 도데실-디메틸-아미늄사이드, 알킬- 또는 알카노일-N-메틸글루카미드, N-알킬-N,N-디메틸글리신, 3-(아실디메틸암모니오)-알칸설포네이트, N-아실-설포베타인, 폴리에틸렌-글리콜-옥틸페닐 에테르, 특히 노나에틸렌-글리콜-옥틸페닐 에테르, 폴리에틸렌-아실 에테르, 특히 노나에틸렌-도데실 에테르, 폴리에틸렌-글리콜-이소아실에테르, 특히 옥타에틸렌-글리콜-이소트리데실 에테르, 폴리에틸렌-아실 에테르, 특히 옥타에틸렌도데실 에테르, 폴리에틸렌-글리콜-소르비탄-아실 에스테르, 가령 폴리에틸렌글리콜-20-모노라우레이트(Tween20) 또는 폴리에틸렌글리콜-20-소르비탄-모노올레이트(Tween 80), 폴리히드록시에틸렌-아실 에테르, 특히 폴리히드록시에틸렌-라우릴-, -미리스토일-, -세틸스테아릴, 또는 -올레오일 에테르, 가령 폴리히드록시에틸렌-4 또는 6 또는 8 또는 10 또는 12 등, -라우릴 에테르(Brij계) 또는 상응하는 에스테르로, 예를들면 폴리히드록시에틸렌 8-스테아레이트(Myrij 45), 미리스테이트-, -라우레이트, 리놀레이트-, 리놀레네이트-, 팔미톨레이트-, 또는 -올레이트형, 또는 폴리에톡실화 캐스터 오일 40, 소르비탄-모노알킬레이트(예를들면 Arlacel 또는 Span), 특히 소르비탄-모노라우레이트-, -미리스테이트-, -리놀레이트-, -리놀레네이트-, 팔미톨레이트-, 또는 -올레이트, 아실- 또는 알카노일-N-메틸글루카미드, 특히 데카노일- 또는 도데카노일-N-메틸글루카미드, 알킬-설페이트(염), 예를들면 라우릴-, 미리스토일-, 팔미토일-, 올레오일-, 팔미톨레오일-, 리놀레닐-, 리놀레오일-, 박시닐-, 또는 에라이도일-설페이트, 소듐 데옥시콜레이트, 소듐 글리코데옥시콜레이트, 소듐 올레이트, 소듐 타우레이트, 지방산염, 바람직하게는 상기에 기술된 바와 같은 지방산 사슬로, 리소포스포리피드(lysophospholipid), 가령 n-옥타데실렌(=올레오일)-글리세로포스파티드산, -포스포릴글리세롤, 또는 -포스포릴세린, n-아실, 예를들면 라우릴, 미리스토일, 팔미토일, 올레오일-, 팔미톨레오일-, 엘라이딜-, 박시닐-, 리놀레일-, 리놀레닐-글리세로-포스파티드산, -포스포릴글리세롤 또는 -포스포릴세린 또는 상응하는 짧은 이중결합 사슬 인지질로 가령 도데실-포스파티딜 콜린 또는 계면활성 폴리펩티드가 있다. 그러나 기타 양쪽성 원자를 갖는 극성 지질의 복합물은 담체의 코팅제에서 계면활성제의 역할을 하고, 다른 이온화 또는 염 형태의 극성 지방은 그들의 성질에 있어서 크게 구별된다. 그러므로 막에서 함께 혼합된 같은(극성) 지질의 두개의 다른 생리화학적 상태들은 본 발명의 조건을 만족시키는 변형성이 높은 담체를 제조할 것으로 사료된다.

- <101> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 추가의 바람직한 실시양태에서, 보다 용해도가 높은 성분은 배리어를 가로질러 수송되는 약물이며, 상기 약물은 침투제의 용해도가 낮은 성분과 전형적으로 물리적 또는 화학적 복합체의 형태로, 일반적으로 큰 구조를 형성하는 경향이 있다.
- <102> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물에서, 보다 용해도가 높은 성분은 침투성 소적을 가용화하는 경향이 있으며, 소적을 분해하는데 필요한 농도의 99mol%를 초과하지 않는 농도 또는 비가용화 소적내 포화 농도의 99mol%를 초과하지 않는 농도로 존재하며, 전자의 상대적 농도의 50% 이하의 값은 특히 유용하며, 40 상대% 또는 30 상대% 이하의 값은 보다 유리한 반면, 보다 용해도가 높은 성분에 의해 가용화될 수 없는 소적의 경우에는 2 이하의 상기 상대 농도를 초과하는 상대 농도가 가장 바람직하다.
- <103> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 용해도가 낮은 침투제 성분은 지질, 바람직하게는 극성 지질이며, 보다 용해도가 높은 성분은 본 발명의 목적을 위해 충분히 가용성인 계면활성제 또는 계면활성제-형 분자 또는 상기 형태의 극성 지질이다.
- <104> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 평균 침투제 직경은 25nm 내지 500nm, 바람직하게는 30nm 내지 250nm, 보다 더 바람직하게는 35nm 내지 200nm 및 특히 바람직하게는 40nm 내지 150nm이다.
- <105> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 인간 또는 동물 코에 사용하는 제제 중의 침투제 농도는 제제의 전체 건조 질량을 기준으로 하여 0.001중량-(w-%) 내지 20w-%, 특히 0.01w-% 내지 15w-%, 보다 더 바람직하게는 0.1w-% 내지 12.5w-% 및 가장 바람직하게는 0.5w-% 내지 10w-%이다.
- <106> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 담지 매질, 가령 완충액은 1mM 내지 500mM, 보다 바람직하게는 10mM 내지 400mM, 보다 더 바람직하게는 50mM 내지 300mM 및 가장 바람직하게는 100mM 내지 200mM의 농도범위를 갖는 1가 전해질의 삼투활성과 유사한 삼투활성을 갖는 생체적합한 용액으로 선택되거나, 또는 상기 용액은 배리어를 가로질러 실제로 충분한 수송 속도로 조합된 충분한 침투 안정성을 가진다. "실제로 충분한 침투 안정성"이라는 용어는 침투 안정성이 적당한 생성물 품질 기준을 만족시킨다는 것을 의미한다. "실제로 충분한 수송 속도"라는 용어는 부적합하게 큰 용도 부피 또는 시간을 사용하지 않고도 배리어를 통해 수송된다는 것을 의미한다. 배리어를 통과하는 충분한 수송 속도와 조합된 상기 충분한 침투 안정성은 과도한 실험없이 당업자에 의해 측정될 수 있다.
- <107> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 상대 약물 또는 제제 농도는 전체 침투제 질량을 기준으로 하여 0.001w-% 내지 40w-%, 특히 0.01w-% 내지 30w-%, 보다 바람직하게는 0.1w-% 내지 25w-% 및 가장 바람직하게는 0.5w-% 내지 15w-%이다.
- <108> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 또 다른 바람직한 실시양태에서, 약물 및 담체를 담지하는 매질은 4 내지 10, 보다 바람직하게는 5 내지 9, 가장 바람직하게는 6 내지 8의 pH값을 갖는 생체적합성 완충액이다.
- <109> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 화학적, 생물학적 또는 환경 스트레스에 대한 계의 감수성을 경감시키기 위한 조성물에 첨가제로, 가령 산화방지제, 원치않는 효소 작용의 길항제, 냉동보존제, 살균제 등 또는 제제 점도와 같은 물리적으로 중요한 계의 특성의 조절제 등을 포함한다.
- <110> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 적합성이 높은 담체에 의해 코를 통해 비-침습적으로 투여되는 상대적 약물 또는 제제 투여량은 원하는 생물학적 효과를 달성하기 위해 주입되는 대응 약물 또는 제제 투여량과 0.1배 내지 500배, 보다 바람직하게는 0.5배 내지 250배, 보다 더 바람직하게는 1배 내지 100배 다르게 선택된다. 다시, 후자의 투여량은 통상적인 지식에 기초하여 과도한 실험없이도 당업자에 의해 측정될 수 있다.
- <111> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 적용된 침투제 비강당 비강당 0.01mg 내지 15mg, 보다 바람직하게는 0.1mg 내지 10mg, 보다 더 바람직하게는 0.5mg 내지 5mg이다.
- <112> 선택된 제제 또는 약물의 투여 효능 및 생물학적 효과는 다른 적용 부피를 사용하여 조절될 수 있다. 여러 계량 송달 장치가 목적을 위해 사용될 수 있다.
- <113> 따라서, 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 상기 제제는 계량 송달 장치를 사용하여 투여된다.
- <114> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 추가의 바람직한 실시양태에서, 다른 적용 부피는 선택된 제제 또는 약물의 투여 효능 및 생물학적 효과를 조절하기 위해 선택된다.

- <115> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 현탁액내 침투제는 결과 제제가 코로 투여되기 전에 24시간, 바람직하게 360분, 보다 바람직하게는 60분 및 보다 더 바람직하게는 30분이내에 약물 또는 제제에 의해 담지된다. 상기 실시양태는 제제 안정성, 담지 효능, 방출 동력학, 사용하기에 용이함, 편리함 (compliance) 등을 향상시키는 것으로 기대된다.
- <116> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 송달 장치가 처리 위치에 담지된다.
- <117> 본 발명의 용도 또는 약학 조성물의 다른 바람직한 실시양태에서, 송달 장치는 회합되는, 침투제 및 분자, 특히 생물학 제제와 별개로 담지된다.
- <118> 본 발명의 용도의 한 바람직한 실시양태에서, 약학적 활성 성분은 신경계에 투여하기 위한 것이다.
- <119> 상기 실시양태에서 "투여"라는 용어는 약학 조성물이 경비로 가해지지만, 활성 성분의 표적 위치는 신경계, 바람직하게는 CNS 및 가장 바람직하게는 뇌인 것을 의미한다. 배리어를 가로질러 약물을 실제로 유용하게 수송하는 것을 매개하기 위해 코 안에 적합성이 높은 약물-담지된 침투제의 코에 적용하는 것을 사용할 수 있는 가능성은 중추신경계 또는 일부 다른 인접조직, 가령 눈에 상당한 양의 약물을 수송하고, 상당한 농도의 상기 약물을 형성하기 위해 이용될 수 있다.
- <120> 본 발명의 다른 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 약학 조성물은 백신이다.
- <121> 상기 백신은 치료 또는 예방용 백신접종을 위해 사용될 수 있다.
- <122> 본 발명의 상세한 설명에서 "(치료용) 백신접종"이라는 용어는 질병이 이미 발병한 이후에 실시해도 임상 상황을 향상시키는 치료용 면역화, 또는 질병 예방 목적을 의미한다. 상기 백신접종은 본 발명의 백신을 단일 또는 반복 투여하는 것을 포함한다. 치료용 백신접종은 병리상황을 막고/막거나 임상 상황을 개선시킬 것이다. 억제제로서 가해질 경우, 보통 방어 면역 반응을 일으킬 것이다.
- <123> 면역화는 상기 반응이 치료적 또는 비-치료적인 것과 무관한 면역 응답을 일으키는 것을 의미한다.
- <124> "항체" 또는 "면역글로불린"이라는 용어는 모든 아형, 가령 IgA1 및 IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4를 포함하는 IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM을 의미한다. 그의 "유도체"로는 유전공학적 항체 유도체와 같은 화학적, 생화학적 및 다르게 얻을 수 있는 유도체가 있다. 단편으로는 예를 들어 단일사슬단편, Fc- Fab-, F(ab')<sub>2</sub>- 및 Ig-s의 다른 부분이 있으며, 이들은 내인성, 이종성, (반)합성 또는 재조합 기원과 무관하다. 본 발명에는 둘 또는 그 이상의 상기 항체, 유도체 또는 단편의 복합체가 포함된다.
- <125> "면역원"이라는 용어는 면역 응답을 유도할 수 있는, 면역학적 담체와 결합된 합텐 또는 담체와 조합되거나 유리되어 있는 항원을 의미한다.
- <126> "면역-관용성 (immuno-tolerance)"이라는 용어는 항원에 대한 원치않는 면역 응답을 없애거나 감소시키는 것을 의미한다.
- <127> Th1(T-헬퍼(helper) 세포 I 형) 관련 항체는 IgG2a, IgG2b 및 IgG3을 포함한다.
- <128> Th2(T-헬퍼 세포 II 형) 관련 항체는 IgG1, IgG4 및 IgE의 종류를 포함한다.
- <129> 상기에서와 같이, 본 발명의 경비 백신에 의한 성공적인 면역화는 (a)크기 및 성질이 다양한 광범위한 면역원에 대해 매우 유효하고; (b)특정 시토킨과 함께 시토킨 활성을 매개하는 화합물 또는 시토킨 활성과 길항하여 대응하는 면역 응답을 특이적으로 명령하는가, 또는 목적하는 것과 동일한 것을 증강시키는 것을 억제하고 화합물을 배합시킬 수 있고; (c)바늘에 의한 경관 주사에 의존하지 않고; 및 (d)자극성의 부작용을 야기하지 않고 편리하게 투여가능한 백신을 제조하는 단계이다. 그리고, 본 발명의 백신에 의해, 성공적인 관용화가 달성된다.
- <130> 본 발명에 따르면 특히 이하의 것이 판명되었다:
- <131> -Tween-SPC 미셀은 본 발명의 백신보다 훨씬 낮은 방어를 제공하며, 이는 담체의 작은 크기 또는 계면활성제 단독의 존재는 성공적인 면역화에 충분하지 않다는 것을 제시하며;
- <132> -흡광도 측정에 기초하여 측정된 바와 같이, 경구 투여된 면역-담체는 본 발명의 경비 투여된 백신보다 낮은 특이적 항체 역가를 형성하며;
- <133> -본 발명의 경비 백신은 혼합 미셀에 비해 높은 혈액내 특이 IgG1 및 IgG2 역가 및 비교가능한 IgG2a 및 IgM 역가를 일으키며; 모든 역가는 SPC:콜레스테롤(1:1)리포솜에 의한 면역화에 의해 발생된 것보다 높았다.

- <134> 본 발명의 경미 백신이 시토킨 또는 면역보조제와 함께 제제화된 경우에, 세균 추출물(의 혼합물)을 사용하는 것이 유리하다. 본 출원에서 특정 예로는 모노포스포릴 지질 A (MPL) 및 IL-12 또는 GM-CSF 및 IL-4가 있다. 그러나, 본래 본 발명의 백신은 시토킨 활성을 매개, 유도 또는 표시하는 화합물중 어느 하나, 또는 상기 인용된 길항제와 함께 제제화 또는 적용된다.
- <135> 본 발명의 백신은 병원성 물질, 또는 단편 또는 그의 유도체로부터의 화합물 또는 병원성 물질 추출물을 추가로 포함하는 것이 바람직하다.
- <136> 가장 바람직하게는, 상기 병원성 물질 추출물 또는 화합물은 간염 바이러스, (인체) 면역결핍 바이러스, 헤르페스 바이러스, 두창(수두), 인플루엔자, 홍역, 볼거리 및 폴리오 바이러스, 시토메갈로바이러스, 리노바이러스 등, 또는 숙주세포내에서 번식하는 균류, 기생동물을 포함하는 기생충, 가령 원충류 및 윤충류, 외부기생충, 가령 진드기 및 쯤진드기, 또는 브루셀라종, 또는 콜레라(예, 비브리오 콜레라), 헤모필루스종 뿐만 아니라 파라장티푸스, 페스트, 광견병, 과상풍 및 풍진 질병을 유발하는 병원성 물질로부터 선택된다.
- <137> 또한 상기 백신은 보조제를 추가로 포함하는 것이 바람직하다.
- <138> "보조제(adjuvant)"라는 용어는 본 명세서에서 세포형 또는 체액형의 목적하는 면역 응답, 특히 특정 종류의 항원 특이적 면역 응답을 높임으로써 예방 처치되는 경우에 있어서, 또 세포 매개성 면역을 지지함에 의한 치료 처치의 경우에 있어서 면역 응답을 지지, 증강, 자극, 활성화, 강화 또는 조절하는 물질을 나타내는데 이용된다. 이는 적당한 시토킨, 그들의 혼합물 또는 적당한 효능액 및 길항제를 첨가함으로써 달성될 수 있다. 유용한 시토킨 풀(pool)에 간접적으로 기여하는 면역 보조제의 부류가 알레르기 유발원을 갖는 화학적 역가로서 가령 특정의 알레르기 유발원 (금속) 이온, 이에 한정되는 것은 아니지만, LiCl, HgCl<sub>2</sub>, 몰리브덴, 산, 염기 및 기타 자극 화합물로 디시클로헥실메탄-4,4'-디이소시아네이트, 디트로카르브(디에틸디티오카르바메이트), 2,4-디니트로클로로벤젠, 이소프리로신, 이소포론-디이소시아네이트, 레바미솔, (페닐)옥사졸론 등, 스완손닌 (swansonie), 시조프란, 프탈산 무수물, 티모펜틴, (지방) 알콜, (지방) 아민, (지방) 에테르, 리신 또는 기타 적당한 양쪽 친매성, 많은 계면활성제 및 화학적 침투 촉진제 뿐만아니라 그의 유도체 또는 배합물; 또한 미생물로부터 유도된 (저분자량) 절편 또는 유도체로 리포폴리사카라이드(가령 LPS), 코드-인자(트레할로스-디마이콜레이트) 및 막에 부착된 기타 (폴리)사카라이드 또는 (폴리)펩티드, 충분한 양이 사용되는 경우 아세틸무라밀-알라닌-이소글루타민, 및 미생물의 거대한 절편으로 박테리아 엑소- 및 엔도 독성, 또는 장독소, 가령 콜레라 독소 및 이. 콜리의 이열성 독소 및 그들의 거대분자 절편으로, 가령 A-사슬 유도체, ADP-리보실레이트 활성을 포함하는 것, 고효력 면역보조제 LT 홀로독소 등, 세포벽 골격, 독성약화 박테리아로 가령 BCG 등을 포함한다. 예를들면 클로스트리디알 독소, 엠. 투베르쿨로시스의 정제된 단백질 유도체, LT-R192G, 스트렙토코커스 피로게네스의 피브로넥틴-결합 단백질 I, 그룹 B 네이세리아 메닌기티디스(GBOMP)의 외부막 단백질, 다양한 기타 펩티도글리칸 등을 포함한다. 즉 면역보조제는 항원의 제공을 변형할 수 있는 분자, 항원 특이성 림프구의 증식을 활성화 또는 증가시키거나 또는 피부에서 면역 반응에서 뿐만아니라 기타 면역성분 조직에서 우세한 조절 기작을 방해하는 물질을 포함한다. (ADP-리보실레이트 박테리아 장독소의 점막 보조 활성은 본 실시예에 잘 개시되어 있다). 한편, 시토킨 또는 기타 면역보조제의 (상대) 농도를 변화시키는 분자로 가령 항-면역보조제 항체 또는 면역 보조제의 기타 작용제 또는 길항제는 본 발명에서 면역보조제이다. 이는 림프구에 영향을 주는 분자이고, 가령 다양한 셀렉틴(LECAMS, 예를들면 다양한 CD62-s), GlyCAM-1, MadCAM-1, VCAM-1, ICAM-1, 히알루로네이트 등 및 기타 화학역동제로 가령 RANTES 또는 MCP-1을 포함한다. 내인성의 면역보조제는 히스타민, 전이인자, 투프신 등을 포함한다. 상기에 언급된 바와 같이, 면역보조제는 너무 낮게 비침습성 면역후회에 목적하는 효과를 유지하기 위해서는 충분하지 않으며, 때때로 너무 높으면 본 연구에서 사용되는 보조제의 기능적인 정의는 포티오리(fortior)가 충분하고, 몸에서 시토킨의 농도 및 분포 패턴의 조절은 목적하는 치료적 또는 예방적 면역 응답을 일으킨다. 명확하게 하기위해서, 섬세한 실험으로 측정될 수 있고, 당업자에게 알려진 방법을 사용하여 특이적 시토킨 수준이 측정된다.
- <139> 본 발명에 따른 백신의 다른 바람직한 실시양태에서, 상기 보조제는 지질 A와 같은 리포폴리사카라이드, 또는 그의 유도체 또는 변형체로, 가령 모노포스포릴 리피드 A, 또는 그의 유사체, 가령 사카로스의 지방 유도체, 코드-인자(트레할로스-디마이콜레이트), 무라밀 디펩티드 또는 다른 (폴리)사카라이드 또는 (폴리)펩티드(이와 동일하거나 유사한 미생물 막의 면역학적으로 활성인 부분); 세균성 엑소- 또는 엔도독소를 포함하는 미생물 추출물, 바람직하게는 콜레라 독소 또는 이. 콜리의 이열성 독소(HLT), A-사슬 유도체, ADP-리보실레이트 활성을 갖는 성분, 펩티도글리칸, 클로스트리디알 독소, 또는 엠. 투베르쿨로시스의 정제된 단백질 유도체, LT-R192G, 스트렙토코커스 피로게네스의 피브로넥틴-결합 단백질 I 또는 그룹 B 네이세리아 메닌기티디스(GBOMP)의 외막 단

백질; 또는 메틸화되지 않은 CpG 디뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드와 같은 박테리아 또는 바이러스 핵산이 있다.

- <140> 순수한 시토킨과 그의 유도물질이 사용되는 경우에 본 발명의 백신이 MPL과 IL-12의 혼합물 또는 GM-CSF와 IL-4의 혼합물을 포함하는 것이 가장 바람직하다.
- <141> 본 발명의 백신의 다른 바람직한 실시양태에서, 적합성이 높은 담체에 의해 코를 통해 비-침습적으로 투여되는 관련 면역원/항원 투여량은 원하는 생물학적 효과를 달성하기 위해 주입되어야 하는 대응 면역원/항원과 0.01배 내지 100배, 보다 바람직하게는 0.05배 내지 75배, 보다 더 바람직하게는 0.1배 내지 50배 다르다. 다시, 후자의 투여량은 통상적인 지식에 기초하여 과도한 실험없이도 당업자에 의해 측정될 수 있다.
- <142> 본 발명에 따라, 상기 백신내 경비 투여된 보조제의 농도는 유사항원을 사용하여 피하주입된 제제에 의해 사용된 것보다 10배 이하에서 1000배 이하 사이인 것이 바람직하며, 경비 투여된 면역보조제 농도는 0.5 내지 100, 1 내지 50, 및 2 내지 25의 요소에 의해 주입된 면역보조제 농도와 다르다.
- <143> 본 발명은 상기 인용된 약학 조성물을 포함하는 용기(container)에 관한 것이다. 단위 투여량은 원하는 용도에 따라 측정될 수 있다.
- <144> 그리고, 본 발명은 추가로 상기 약학 조성물을 포함하는 적어도 하나의 용기를 포함하는 포장재(package)에 관한 것이다. 본 발명의 포장재는 본 발명의 약학 조성물의 단위당 한개, 두개, 세개, 네개 또는 그 이상의 바이알을 포함할 수 있다.
- <145> 본 발명은 상기 약학 조성물을 경비 투여하는 것을 포함하는 환자 치료 방법에 관한 것이다.
- <146> 본 발명은 또한, 상기 백신에 의해 상기 포유동물을 백신접종함으로써 포유동물에서 방어 또는 관용원 면역반응을 일으키는 방법에 관한 것이다.
- <147> 본 발명에 따른 방법의 바람직한 실시양태에서, 다른 투여 부피는 가해진 면역원 투여량 및 백신접종 결과를 조절하기 위해 선택된다. 여러 계량 장치가 상기 목적을 위해 사용될 수 있다.
- <148> 본 발명에 따른 방법의 보다 바람직한 실시양태에서, 항원-유리 침투체의 현탁액은 결과 제제를 코에 투여하기 전에 하루, 바람직하게는 360분, 보다 바람직하게는 60분 및 가장 바람직하게는 30분간전에 이들과 배합된 항원을 담지하였다.
- <149> 본 발명에 따른 방법의 다른 바람직한 실시양태에서, 적어도 하나의 백신투여량이 투여된다.
- <150> 본 발명의 방법의 상기 실시양태는 본 발명의 백신을 반복투여하는 것을 포함한다. 관련 투여법은 코안에 반복 투여하는 것 또는 종래의 예를 들어 비경구 투여와 조합하여 코안에 1회 이상 투여하는 것을 포함한다. 상기와 관련하여, 본 발명의 백신을 포함하는 하나 이상의 용기, 앰플 또는 다른 종류의 유닛을 포함하도록 본 발명의 키트가 제조된다.
- <151> 본 발명에 따른 방법의 특히 바람직한 실시양태에서, 이후의 백신접종들사이의 시간간격은 2주 내지 5년, 종종 1개월 내지 3년 이하 및 보다 바람직하게는 2개월 내지 1.5년에서 선택된다.
- <152> 본 발명에 따른 방법의 바람직한 실시양태에서, 치료용 백신 접종의 최종효과를 최대화하기 위해 반복된 면역원 투여가 옹호된다. 상기 백신이 2 내지 10, 바람직하게는 2 내지 7, 더 바람직하게는 5미만, 더욱 바람직하게는 3배미만으로 가하고, 알레르기 유발원이 아닌 항원이 사용되거나 또는 알레르기 유발원이 있는 경우에 적당한 평가방법에 따라 측정하여 목적하는 면역-관용을 이루는데 요구되거나 또는 감염을 막는데 요구되는 양이 사용된다. 본 발명에 따른 방법의 특히 바람직한 실시양태에서, 연속적인 백신접종사이의 시간 간격은 2주 내지 5년 사이, 종종 1개월 내지 3년 사이, 더 자주는 2개월 내지 1.5년사이로 선택된다. 쥐 및 토끼와 같은 설치류가 2주 간격으로 면역화되고, 원숭이 및 종종 사람과 같은 영장류는 3-6달 간격으로 추가(booster) 접종이 요구된다.
- <153> 본 발명에 따른 방법의 바람직한 실시양태에서, 잘 정의된 배리어에서 다양한 공극을 통해서 면역원을 수송하는 침투체의 흐름이 배리어를 통과하는 적당한 구동력 또는 압력의 함수로 측정되고, 상기 데이터는 제제들을 최적화하고 또는 추가적인 사용을 최적화하는 특징적인 곡선에 의해서 편리하게 개시되었다.
- <154> 본 발명의 상세한 설명에 인용된 문헌의 개시내용은 이후에 참고문헌으로 통합된다. 출원인 IDEA AG의 "비침습성 경피 백신접종"의 발명의 명칭으로 공동-계류중인 출원의 내용도 이후에 참고문헌으로 전문인용한다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

- <155> 본 실시예는 본 발명을 상술한다.
- <156> [실시예]
- <157> 일반적인 실험 준비 및 샘플 제조에
- <158> **종래의 소포, 리포솜**은 콩의 포스파티딜콜린을 포함한다(SPC; Nattermann Phospholipids, Rhone-Poulenc Rorer, Cologne, 독일).
- <159> 최종 소포 크기 분포를 좁히기 위해 완충액내에 지질을 현탁하고, (각각 800nm, 400nm, 200nm 및 100nm 공극을 갖는) 수개의 폴리카르보네이트 막을 통해 현탁액을 압출시킴으로써 다층(multilamella) 소포 형태의 지질 10w-%를 함유하는 현탁액을 제조하였다. 필요하다면, 후자 단계 이후에 실시되는 동적 광산란 또는 광검사에 기초하여 판단되는대로, 압출을 5회(이하) 반복하였다. 일부 경우에, 소포를 먼저 약 50nm의 직경으로 압출하고, 3회 동결 및 해동시켜 내부-소포 융합(inter-vesicle fusion)으로 인해 소포를 다시 확대시켰다. 계속해서, 상기 제제를 가압하여 미세다공성 필터(100nm; Poretics, CA)를 통해 통과시켜서, 올리고- 또는 단층 소포의 최종 현탁액을 제조하였다.
- <160> **적합성이 높은 침투제** 기재의 실시예에서 사용. 1개 또는 수개의 이중층을 갖는 초변형성(ultradeformable) 소포(트랜스퍼솜™) 형태를 가짐. 이들은 포스파티딜콜린과 (생물)계면활성제(콜레이트 또는 폴리소르베이트(Tween 80)), 및 여러 생물학적으로 유효한 성분들, 가령 인슐린, 인터페론, 인터류킨 또는 GC-SF의 혼합물을 포함한다.
- <161> 상기 침투제는 수성 완충액 또는 에탄올내에 있는 경우에서, 인지질을 콜레이트 또는 폴리소르베이트와 같은 적당한 막-연화제와 혼합함으로써 제조되었으며; 때때로 클로로포름이 사용되었다. 유사한 결과를 낸 후자의 두 경우에, 용매는 진공하에 증발되었다(10Pa, 밤새). 그후, 결과 지질 필름은 완충액(pH 약 7)에 의해 수화되어 전반적으로 10wt-% 지질 현탁액을 얻었다. 보다 작은 공극 크기를 갖는 필터를 주로 사용하여 리포솜에 대해 기술된 바와 같이 순차적 압출에 의해 목적하는 크기의 최종 소포를 얻었다. 트랜스퍼솜의 최종 크기는 리포솜의 크기와 유사했다.
- <162> 계면활성제-대-지질 비율을 변화시키는 것은 혼합 지질 이중층 변형성에 영향을 미치는 것으로 생각되며; 계면활성제 농도가 높을수록, 높은 계면활성제 농도때문에 혼합 지질막이 불안정해지는 농도 이하에서 생성된 응집물의 적합성이 더 높아진다. 상기 시점에서, 혼합 응집물은 미셀(micelle) 내부의 낮은 압축을 때문에 더이상 형태가 변형되지 않는 미셀로 전환된다. 리포솜으로 통상적으로 알려져 있고, 보다 변형가능한 혼합 지질 소포보다 10배 이상 유연성이 낮은 막을 갖는, 계면활성제 또는 일부 다른 가장자리 활성 성분을 포함하지 않는 소포는 종래의 음성 대조군이다. 다른 명확한 대조군은 이하의 것이 있다.
- <163> **지질 혼합 미셀** 대응하는 적합성이 높은 침투제와 유사한 성분, 가장자리 활성 성분(필수 성분은 아니지만, 전형적으로 계면활성제) 농도는 가용화 농도값을 상회하도록 다른 비율로 함유한다. 상기 미셀을 제조하기 위해, 각 성분들을 수상에서 혼합하고, 혼합물이 광학적으로 맑아질때까지, 즉 400nm 내지 600nm에서 광학 검사 또는 흡광도 측정에 의해 판단하여 가용화될 때까지 상호작용시켰다.
- <164> **인간 지원자들에게 실시한 실험**
- <165> 인간내 인슐린 담체의 생물학적 활성을 시험하기 위해, 새로 제조된 시험 제제를 2명의 피험자의 코에 사용하였다. 첫 번째 사람은 정상혈당값(남성, 74kg, 173cm, 45세)이었으며; 두 번째 사람은 C-펩티드 음성 IDDM 환자(여성, 62kg, 167cm, 26세)였다. 피험자들은 인슐린 투여하기 이전에 6시간 내지 12시간 절식했다.
- <166> 혈당 농도를 일시적으로 변화시키기 위해, 매 10분 내지 15분마다 두 팔의 손가락으로부터 샘플 5 $\mu$ l 내지 30 $\mu$ l를 채취했다. '정상' 혈중 글루코스 농도 및/또는 그의 변화를 측정하는 최초의 시험 기간 후, 인슐린[트랜스퍼수린(Transfersulin)] 담지된 담체의 현탁액을 종래형의 비계량 분무기를 사용하여 150 $\mu$ l를 연속하여 각 사람의 비강에 분무하였다. 목구멍으로 시험 제제의 일출(spill-over)과 코로부터 상기 제제가 떨어지는 것을 최소화하기위해 주의를 기울였다.
- <167> 혈당 농도를 측정하기 위해서 시판용 혈당계(Accutrend™, Boehringer-Mannheim)를 사용하였다. 각 시간 지점에서, 표준 편차가 반복측정을 요구할만큼 높은 경우만 제외하고는 각각의 독립적으로 기록을 3회 실시했다.

<168> 특허 출원 PCT/EP98/06750에 기술된 바와 같이 시험 제제를 제조하였다. 간략하면, 평균 직경 100nm 내지 150 nm이며, 상기 조성을 갖는 적합성이 높은 침투제 현탁액을 계면 흡수에 기초하여 약물을 담지시키고, 이를 제제 화후 24시간 이내에 사용한다. 상기 제제내 약물-담체 회합은 60% 내지 70%로 측정되었다.

<169> 약물을 담지시킨 현탁액을 코에 투여하기 위해, 제제를 (수동펌프, 수직배향 분사 노즐 및 분무량 평균 150 $\mu$ l) 시판용 네블라이저(nebuliser)에 채웠다. 피험자들은 조심스럽게 냄새를 맡으면서 1회 분무에서 1번에 각 비강 내로 제공했다.

<170> 총 분무 횟수는 적용량과 상관관계가 있다(상기 경우: 2). 목구멍으로 바로 일출하는 것이나 코로부터 유액을 일부 누출시키는 것은 사례 중 10-20% 였다. 국소 염증, 재채기 등과 같은 부작용은 관찰되지 않았다.

<171> **실시예 1:**

<172>            콩에서 포스파티딜콜린 28.4mg/ml

<173>            콩에서 포스파티딜글리세롤 9.5mg/ml

<174>            Tween 80 62.1mg/ml

<175>            인산염 완충액, pH 7.4

<176>            인간 재조합(hr) 인슐린 50IU/ml(Actrapid 100HN<sup>TM</sup>, Novo-Nordisk)

<177>            투여량: 비강당 ~5IU

<178> **결과** 건강한 피험자에 의해 측정된 결과는 도 1에 도시되어 있다. 이들은 담체(밀폐된 표시물)내에 약물을 2 회 투여한 후 전신 혈중 글루코스 농도가 일시적으로 감소했으며, 20-30분후에 최대가 되었으며, 약 1시간후 전-처리값으로 회복하였다. 약 8.5%의 감소에 상응하는 글루코스 수준에 있어서 관찰된 변화는 약물의 정맥내 주 사후 독립적인 실험예에서 측정하였다. 그러나, 투여 기술의 부족에 의해 초회 적용은 두 번째 투여보다 덜 성공적이므로 재현성은 개선의 여지가 있다.

<179> 적합성이 높은 침투제 중의 인슐린을 코로 투여한 후 피험자에게서는 염증 또는 다른 불쾌한 느낌도 보고되지 않았다.

<180> **실시예 2:**

<181> *IDDM 환자에서 인슐린을 담지시킨 적합성이 높은 담체*

<182>            적합성이 높은 침투제: 실시예 1에서 제공됨.

<183>            투여량: 비강당 25IU

<184> 시험 준비 및 실험은 이전 실시예에 기술된 바에 따라 수행하였다. 종래의 인슐린(Monotard<sup>TM</sup>, Novo-Nordisk)의 최종 투여는 그전날 오후 10시에 22IU의 투여량으로 실시하였다. 그리고, 적합성이 높은 약물 담체 와 조합한 인슐린을 경비 투여 이전에 시험 당일날 장기-유효 인슐린을 사용하여 피험자를 안정시켰다.

<185> **결과** 상기 IDDM 환자에게 실시한 실험 결과는 도 2에 도시되어 있다. 상기 피험자내에서 내인성 인슐린 생성 이 부족하기 때문에, 전처리 혈중 글루코스 농도가 정상보다 약간 높았지만, 비교적 일정했다. 초-적합성 담체 와 경비 약물 투여에 의한 변화는 피크-형 형태보다는 보다 계단-형 형태를 나타내며(검게 표시), 75분 이내에 완결되었다. 이는 IDDM 환자에서 기대되는 것과 완전히 동일하다. 같은 피험자에게 다른 기회에 직효성이 있 는 인슐린(Actrapid<sup>TM</sup>, Novo-Nordisk)을 정맥내 주입한 결과는 상기 결과를 보장한다. 상기 데이터에 근거한 경비 인슐린의 명백한 생체이용율은 약 4%이며, 결과적으로 실시예 1에 보고된 것보다 다소 낮다. 이는 하기 실시예에 상술되는 다른 제제 사이의 약물 방출에 있어서 추정된 변동(variability)과 관계가 있다.

<186> 피험자에 따라 담체-회합된 인슐린의 경비 투여는 국소적으로 또는 전신으로 유해한 부작용을 야기하지 않는다.

<187> **실시예 3-5:**

<188>            지적 이하의 담체와 회합한 인슐린

<189>            담체

- <190> 상기 실시예에서와 같이, 담체에 대한 선택된 인슐린 배치의 높은 친화도로 인해 약물을 쉽게 방출하지 않는 것으로 믿어지며, 약물을 비가역적으로 흡수하게 함.
- <191> 투여량: 50IU, 50IU
- <192> **결과** 여러 다른 소포 현탁액에 의해 실시한 시험 측정 결과는 도 3에 도시되어 있으며, 상기 담체를 이용하여 경비 투여된 인슐린에 대한 작용의 신호 결손을 도시한다. 조사된 정상 혈당 피험자내 혈중 글루코스 농도는 적어도 수 시간동안 약물투여하기 이전, 투여 동안 및 투여 이후에 같다. 이는 담체 또는 그의 성분들이 단순히 존재하는 것은 인슐린과 같이 경비 투여되는 거대분자의 생체이용율을 향상시키기에 불충분하다는 것을 보여 준다. 목적은 생물학적 효과를 달성하기 위해, 담체로부터의 약물 방출 속도는 적당해야 하며, 상기 속도는 종래의 단백질 결합 해리 방법을 사용하여 생체의 실험에서 제공되어 측정된다.
- <193> **동물실험**
- <194> **실시예 6-9:**
- <195> 시험 마우스의 비점막을 가로지르는 표지된 인슐린 송달
- <196> 적합성이 높은 침투제:
- <197>        퉁에서 포스파티딜콜린 87.4mg/ml (SPC)
- <198>        50% 이온화 콜산 12.6mg/ml
- <199>        인산염 완충액, 50mM, pH 6.5
- <200>        hr-인슐린(Actrapid™, Novo-Nordisk)
- <201>        Amersham제 표지 인슐린(인슐린 1.08μg 및 BSA 1.725mg 함유하는 345μl)
- <202> <sup>125</sup>I-표지된 인슐린(210μl)을 ht-인슐린(Actrapid™ Novo-Nordisk, 100HM) 210μl와 혼합하고, 원심분리에 의해 2회 정제하여, 전체 약물 분자보다 빠르고 양호하게 장벽을 통해 확산하는, 결합되지 않은 표지를 제거하였다. 결과 용액 100μl를 인산염 완충액 150μl와 혼합하고, 약 7의 pH를 얻었다. 단백질 용액 및 지질을 함께 처리하여, 100nm 내지 약 150nm의 공극 필터를 통해 반포압출함으로써 최종 소포 크기를 얻었다.
- <203> 지방 공급사제 NMRI종 마우스(36g 내지 51g)를 4 내지 6개의 그룹으로 우리에 보관했다. 상기 동물을 표준 식사 및 물에 자유 접근하도록 했다. 각 마우스는 비강당 인슐린을 함유하는 표지된 침투제 현탁액 2.5μl를 수용했다. 그후, 전신 카메라에 의해 전체 방사능이 2배 이상 감소함을 평가했다. 다른 시간에, 상기 마우스를 죽이고, 모든 주요 기관을 추출하여 따로 측정하였다. 시체를 기관 제거후 및 머리 분리후의 두 단계로 측정하였다. 배설물 및 우리내 방사능도 또한 측정하였다.
- <204> **결과** 다른 시간-지점의 결과는 도 4에 도시되어 있다. 이들은 실질량의 경비 투여된 방사능이 위장관 추출후에도, 특히 현탁액 투여후 첫번째 시간중에도 신체로부터 회수된다는 것을 보여준다. 혈액내 수치는 0.5h에 9% 내지 2%이며, 특정 농도는 시작시에 3%/ml로부터 0.7%/ml까지 떨어진다. 코내 활성은 0.5h에 10.4%에서 8h에 0.3%로 감소한다. 간 수치는 0.5h에 2.3% 내지 1h에 최대 약 2.8%이고, 4h 후에 1% 이상이다. 8h후, 간내 찌꺼기는 약 0.4%이다. 비교적 높은 간 수치는 배리어를 통해 입자, 즉 침투제가 통과하여 세망내피계에 흡수된다는 것을 보여준다.
- <205> 상응하는 CNS 값은 0.1% 내지 0.03%이다. 뇌속에서 제1 및 제2 시간내에 각각 최대 약 0.11% 및 0.14%로 측정되며, 약 0.3%/기관(g)이다. 예를 들어, 트랜스페린-수용체가 약물 송달에 사용될때, CNS로 종래의 약물 송달 결과와 비교했을때 확실히 낮은 값, 주입 투여량의 0.5% 또는 약 0.15%/기관(g)이었다(Pasechnik & Price, 1996). 백색-백의 경우에, 응집소 0.1%가 후구내에서 발견되었다.
- <206> **실시예 10-11:**
- <207> 적합성이 높은 투과제
- <208>        퉁에서 포스파티딜콜린 87.4mg/ml (SPC)
- <209>        50% 이온화 콜산 12.6mg/ml

- <210> 인산염 완충액 50mM, pH 6.5
- <211> 인간 재조합 인슐린(Actrapid<sup>TM</sup>, Novo-Nordisk)
- <212> Amersham제 표지된 인슐린
- <213> 관련 실험에서, <sup>125</sup>I-표지된 인슐린 345 $\mu$ l를 차가운 Actrapid<sup>TM</sup>(Novo-Nordisk)와 혼합하고, 2배 정제하였다. 인산염 완충액 200 $\mu$ l를 첨가한 후, 결과용액 150 $\mu$ l를 지질과 혼합하고, 최종 소포 크기로 압출하였다. 투여량은 비강당 3 $\mu$ l였다. 1시간후 마우스를 죽이고, 고정시켜서 얇은 구획으로 절단하여, 전신 방사선촬영술에 의해 조사하였다. 인슐린이 없는 용액을 비교를 위해 사용하였다.
- <214> 상기 실험결과(도시되지 않음)는 예측했던 대로 비강 영역 중의 표식의 축적이 높고, GI계로 실질적인 양이 일출되어 방광내에 밀도가 매우 높지만, 간내에 방사능은 인슐린을 함유하지 않는 것과 비교하여 담체에 도입된 것보다 약간 높았다.
- <215> **실시예 12-13:**
- <216> 시험 마우스의 비점막을 통한 표지된 인터페론- $\gamma$  송달
- <217> 적합성이 높은 침투제:
- <218> 콩에서 포스파티딜콜린 86.6mg/ml(SPC)
- <219> Na 콜레이트 13.4mg/ml
- <220> \* 인산염 완충액 10mM, pH 7.2(명목상)
- <221> IFN- $\gamma$  1mg/현탁액 ml
- <222> (100  $\mu$  Ci/현탁액 ml, 3-<sup>125</sup>I-티로실-IFN- $\gamma$ )
- <223> 투여량: 비강당 5 $\mu$ l
- <224> NMRI종 마우스(36 $\pm$ 0.6g)를 기르고, 이전 실시예에서 기술된 바와 같이 돌보았다. 시험 제제를 적용하기 전에, 동물을 상기와 같이 진정시켰다. 그후, 시험제제를 미세한 카테터(catheter)를 통해 5 $\mu$ l의 2방울을 투여하여 지질 1mg의 전체 투여량을 얻었다. 그후, 상기 동물을 격리 우리에 넣고, 상호 오염을 방지하였다.
- <225> 혈액 중에서 측정된 방사능은 2시간 이후에, 투여량의 약 2.5%에 대응하는 것으로 밝혀졌으며, 간 농도는 약 2%, 결장 농도는 약 2.5%였다. 그후, 최고량의 방사능을 위(37%) 및 우리와 배설물(32%)에서 회수되었다.
- <226> 적합성이 높은 단백질이 담지된 혼합 지질-계면활성제 소포에 의해 약물 투여한 후 1시간후에 유도 방사능에 의한 판단에 따라, 전체 경비 투여된 투여량의 0.06%가 중추신경계(CNS)에서 나타났다.
- <227> **실시예 14-19:**
- <228> 시험 마우스의 비점막을 통한 시토킨 송달
- <229> 적합성이 높은 침투제
- <230> 콩에서 포스파티딜콜린 37.7mg/ml(SPC)
- <231> 폴리소르베이트 62.3mg/ml(Tween 80)
- <232> 인산염 완충액 10mM, pH 6.5
- <233> 항원으로서, 파상풍 독소이드(2mg/ml)
- <234> 인터페론- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )
- <235> 과립구-단핵구-집락자극인자(GM-CSF)
- <236> 인터류킨 4(IL-4)
- <237> 인터류킨 12(IL-12)

- <238> 투여량: 비강당 3 $\mu$ l
- <239> 스위스 알비노계 마우스(18-20g)를 The National Institute of Nutrition(Hyderabad, India)로부터 얻었다. 이들은 처음 면역화시에 8 내지 12주였다. 적어도 일부 담체와 담지되는 것으로 믿어지는, 여러 시토킨과의 조합된 형태 또는 항원 단독으로 동물 코의 앞부분에 순차적으로 가하고, 후에 흡인하였다. 혈액 샘플을 안와후방에 수집하고, ELISA에 의한 블랭크 샘플을 서브택션(subtraction)후에 492nm에서 흡광도를 측정함으로써 사용된 항원에 대한 특이 항체에 의해 시험하였다.
- <240> 도 6에 도시되어 있는 상기 측정 결과는 적합성이 높은 항원 담체에 기초한 백신접종 체제내 모든 시험된 시토킨의 존재는 간단한 면역-담체 투여후 측정된, 비-조절된 값에 비해 혈청 흡광도를 증가시킨다는 것을 보여준다. 상대적 차이는 비점막을 통한 여러 거대분자 수송의 표시에 비해 본 발명의 특정 실험 시스템에서 사용된 시험된 면역-조절제의 보다 나은 생물-잠재성의 결과이다.
- <241> GM-CSF/IL-4 조합에 대해 측정된 혈청 흡광도에서 관찰된 100% 증가는 뚜렷하며, 폴리소르베이트 또는 포스파티딜콜린(콩)도 투과능력을 뚜렷하게 향상시킬 수 없다는 것이 공지되어 있다. 그러므로, 관찰된 효과는 비점막을 통해 항원 분자(분자질량 150kDa)를 송달하는 것으로 인해 간단하지 않지만, 동시-투여된 시토킨의 적어도 일부가 생물학적으로 활성인 형태의 배리어를 통과하는 것이 가정 및 입증된다.
- <242> **실시예 20-21:**
- <243> 적합성이 높은 침투제
- <244> 시토킨이 없는 것 외에는, 실시예 14-19에서와 같음
- <245> 파상풍 독소이드 항원(2mg/ml)
- <246> 혼합 지질 미셀(micelle)
- <247> 콩에서 포스파티딜콜린(SPC) 14.8mg/ml
- <248> 폴리소르베이트(polysorbate) (Tween 80) 85.2mg/ml
- <249> 인산염 완충액, 10mM, pH 6.5
- <250> 파상풍 독소이드 항원(2mg/ml)
- <251> 투여량: 비강당 3 $\mu$ l
- <252> 실험은 앞의 실시예(14-19)로 기술된 바와 같이 실시되었다.
- <253> 실시예 14-19에서 혼합 지질 미셀로 처리된 동물의 면역 반응은 후자가 전자보다 Tween 80의 양이 더 적게 포함되었다는 사실에도 불구하고, 적합성이 높은 지질 소포에서 항원의 경비 적용 후 측정된 것보다 분명히 열등했다. 만약 계면활성제가 비점막을 가로지르는 거대분자의 수송을 담당한다면, 피부 투과 촉진제로서의 작용때문에 정확하게 반대 시험 결과가 기대된다.
- <254> 이는 적합성이 높은 담체 (혼합 지질 소포)가 약물 투과 이외의 기작에 의해 거대분자를 비점막을 가로질러 수송한다는 것을 제안한다.
- <255> **실시예 22-29:**
- <256> 응집물 크기(안정성) 효과
- <257> NaCh(트랜스퍼좀(상표명))의 고변형성 소포
- <258> 콩에서 포스파티딜콜린 89.3mg
- <259> 나트륨 콜레이트(NaCh) 10.7mg
- <260> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <261> NaCh를 갖는 (혼합 지질) 미셀, 타입 1
- <262> 콩에서 포스파티딜콜린 65mg
- <263> 나트륨 콜레이트 35mg

- <264> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <265> NaCh를 갖는 (혼합 지질) 미셀, 타입 2
- <266> 콩에서 포스파티딜콜린 31.6mg
- <267> 나트륨 콜레이트 68.5mg
- <268> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <269> Tw를 갖는 고변형성 소포, 트랜스퍼솜(상표명) 타입 1
- <270> 콩에서 포스파티딜콜린 37.7mg
- <271> Tween 80(Tw) 62.3mg
- <272> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <273> Tw를 갖는 고변형성 소포, 트랜스퍼솜(상표명), 타입2
- <274> 콩에서 포스파티딜콜린 64.5mg
- <275> Tween 80 35.5mg
- <276> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <277> Tw를 갖는 (혼합 지질) 미셀, 타입 1
- <278> 콩에서 포스파티딜콜린 13.2mg
- <279> Tween 80 86.8mg
- <280> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <281> Tw를 갖는 (혼합 지질) 미셀, 타입 2
- <282> 콩에서 포스파티딜콜린 7mg
- <283> Tween 80 93mg
- <284> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <285> 0.10
- <286> 지질 소포(리포솜)
- <287> 콩에서 포스파티딜콜린(SPC) 65mg
- <288> 콜레스테롤 35mg
- <289> 0.9ml 인산염 완충액, pH 6.5
- <290> 마우스 및 면역화당 40 $\mu$ g (20 $\mu$ l) TT의 투여량으로 사용된 과상풍 독소이드(2mg/ml; 내제(內製))
- <291> 시험관내에서 배양한 과상풍균(*Clostridium tetani*)의 배양액으로부터 중간 여과액이 정제 항원으로 사용되었다. 순수 독소이드는 미국, 뉴욕주의 Accurate Antibodies에서 구입하였다.
- <292> 제제내 응집물 성질의 효과를 시험하기 위해, 3종류의 응집물: 가요성 막(트랜스퍼솜) 또는 비교적 견고한 막(리포솜) 및 훨씬 더 작은 미셀(직경 50nm 이하)로 구성된 비교적 큰 소포(직경 100nm 내지 200nm)를 제조하였다. 후자가 비점막 투과 촉진제로서 계면활성제를 사용하는 종래의 방법과 유사하여 선택되었다.
- <293> 8개의 시험된 제제 중에서, 평균적으로 트랜스퍼솜이 최상의 결과를 내었지만, 절대 적정량은 항원 불순물 때문에 항상 매우 낮다. 혼합 지질 미셀이 IgA 생성에 가장 효율적이지만 실제로 IgG2a 및 IgM의 경우에 다른 응집물과 다르지 않고, Ig2b의 경우에는 트랜스퍼솜과 비교할 수 있다. 트랜스퍼솜이 코를 통해 가로질러 TT를 수송하는데 사용될 때 동물 방어를 위해 결정적인 확고한 IgG1 수준이 상당히 높을 뿐이다(도 7a 참조).
- <294> 효능이 적은(피부 침투 촉진력이 낮음) 계면활성제를 함유하는 혼합 미셀은 비교적 효과가 낮은 '면역-담체'이고(도 7b 참조), IgG2a 및 IgM의 경우에 현저하게 Tw 함량이 높고 변형성이 높은 트랜스퍼솜은 IgG1 및 IgG3의

경우에 Tw 함량이 낮고 변형성이 낮은 트랜스퍼좀과 유사하고, IgA 및 IgG2b의 경우에 Tw를 포함하는 혼합 미셀 만큼 효율적이다. 그러나 측정값이 적은 이유는 더 순수한 항원을 사용하여 최선으로 극복될 수 있다.

<295> 혈청에서 모든 특이 항-TT 항체의 누적 역가를 보면 리포좀은 초기 응답 및 성숙 응답에 있어서 비교적 효과적인 '면역-담체'이고(아마 결합되지 않은 TT의 작용에 의함), 반면 Tw 풍부한 혼합 미셀은 최저이다. NaCh 트랜스퍼좀은 낮은 면역 응답에서 최고로 성능이 양호하다(도 7c 참조).

<296> **실시예 30-35:**

<297> 항원 투여량 및 순도 효과

<298> 변형성이 높은 소포 (트랜스퍼좀):

<299> 콩에서 포스파티딜콜린(SPC) 86.3mg

<300> 나트륨 콜레이트(NaChol) 13.7mg

<301> SPC에 대한 +/- 0.04mol-% 모노포스포릴 지질 A (LA)

<302> 0.9ml 인산염 완충액, 10mM, pH 6.5

<303> 과상풍 특소이드 (TT, 국소 공급원에서 얻고, 한외여과에 의해 정제됨)

<304> TT 0µg, 40µg 또는 80µg/마우스/면역화

<305> 부분적으로 정제된 항원을 얻기 위해, 상기 여과액을 10kDa 분리 막(cut-off membrane)을 통과시키고 인산염 완충액, pH 6.5로 철저히 씻고; 과정에서, 배양 여과액이 15배 농축되었다.

<306> 투여량 의존성 결과는 도 8a에서 상술된다. 트랜스퍼좀에 의한 방법으로 코를 통해 TT 투여후 혈청 흡수에서 TT-특이성 증가는 LA의 부재시 초기 면역 응답 및 지연 면역 응답의 포지티브 투여량 의존성을 나타내지만, LA가 존재하면 이런 경향을 복귀시킨다. 역가-방식 및 특이적 항체 이소타입 분포에 관하여, 유사하지만 동일하지 않는 그림이 얻어진다(도 8b 및 8c 참조). 생존 데이터가 모든 경우에 좋은 방어를 나타낸다. 이를 함께 고려하면, 변형성이 높은 담체에 의해 비-침습성 코 면역화에 필요한 투여량이 피부를 통해 성공적인 비-침습성 TT 투여에 필요한 양보다 훨씬 더 적다는 것을 보여준다.

<307> 항원 순도 효과. 도 8c와 7a 및 7b에 도시된 데이터 비교는 특소이드가 비-침습적으로 적용될 때 항원 순도가 과상풍균 독소에 대한 마우스(murine) 면역 응답의 수준에 강한 영향을 주는 것을 보여준다.

<308> **실시예 36-46:**

<309> 투여 경로

<310> 변형성이 높은 소포, NaCh 트랜스퍼좀(상표명):

<311> 실시예 1-8로 기술된 바와 같음

<312> NaCh 현탁액과 혼합된 과상풍 특소이드

<313> 인산완충액, pH 7내 나트륨 콜레이트 20mg/ml

<314> 과상풍 특소이드 투여량: 면역화당 TT 40µg; 면역화당 TT 5µg, TT 10µg, TT 20µg, TT 40µg

<315> 앞의 실시예에 기술되는 바와 같은 시험 방법을 사용하여, 항체-특이성 혈청 흡광도, 대응되는 항체 역가 및 이소타입 분포 및 과상풍균 독소에 대한 동물 방어의 수준이 코, 경구 및 피하 항원 투여 후에 측정되었다.

<316> 결과는 도9에 도시되어 있다. 침습성 및 비-침습성 항원 투여후 혈청 흡광도의 증가는 비교가능하다(도 9a). 그러나, 후자 경우에서 역가는 1차 응답을 제외하고는 상당히 낮았다. 피하 주사는 2차 추가 후에 좋은 결과를 내고, 반면 그 후 전체 항체 역가에서 비강 침투 촉진제로 작용할 수 있는 TT 및 콜레이트의 배합물은 항상 양호한 결과를 준다. 상기에 대한 적당한 이유는 도 9b로부터 알 수 있는 바와 같이 IgG2b의 높은 농도에 있다. 주사가 항체의 IgG1 및 IgM 타입을 가장 효과적으로 이끌어낸다.

<317> 동물은 TT에 의한 상기 백신접종에 의해 잘 방어되지만, 경비 백신접종의 경우에는 2번의 추가후에만 방어된다. 반대로, 한번의 추가 투여로 충분하다(도시되지 않음). 정제된 TT의 4-8배 더 낮은 투여량을 사용하는 것은 경비 백신접종의 경우 방어에 충분하지만 항원이 주사될 때는 충분하지 않다(도 10 참조).

- <318> **실시예 47**
- <319> 저분자량 보조제(지질 A) 효과
- <320> 변형성이 높은 면역-조절된 TT-트랜스퍼좀(상표명):
- <321> 실시예 9-14에서와 같음
- <322> \*과상품 특소이드: 2mg/ml, 20 $\mu$ l 또는 40 $\mu$ l(면역화당 40 $\mu$ g 또는 80 $\mu$ g TT에 상당함)
- <323> 면역-활성 분자, 전형적으로 면역 증강 분자를 동시투여하면, 담체에 회합된 TT의 체내 침투에 유리하다고 믿어진다. 상기 결론을 증명하기 위해 특히 TT의 비-침습성 면역표시결과는 예를 들면 TNF의 생성을 유도하는 것으로 잘 알려진 면역자극제인 모노포스포릴 지질 A (LA)를 함유하거나 또는 함유하지 않는 트랜스퍼좀에 의해 비교하였다. 그러나 사용된 비교적 높은 항원량에 대해 강한 의존성을 보이지 않았다. 어떤 경우에 실질적인 역가 및 예방 면역 응답에 도달하고 이는 LA의 존재로부터 이득을 얻는 정제된 TT의 경우는 아니다.
- <324> **실시예 48-53:**
- <325> 고분자량 면역조절제 (시토킨)
- <326> 변형성이 높은 소포, Tw 트랜스퍼좀(상표명):
- <327> 실시예 1-8로 기술된 바와 같음, 또한
- <328> 다양한 시토킨(인터페론- $\gamma$ , GM-CSF, IL-4, IL-12)
- <329> (IFN- $\gamma$  0.05mg; GM-CSF 0.004mg; ml당 IL-4 0.004mg, ml당 IL-12 0.004mg)
- <330> 과상품 특소이드 2mg/ml[마우스/면역화당 TT 40 $\mu$ g(정제됨, 내제됨)에 상당함]
- <331> 시토킨의 효과는 개별적으로 및 배합하여 연구하였다. 결과는 도 5에 도시되어 있다. GM-CSF와 IL-4의 배합은 마우스에서 항-TT 항체가 생성되는 것을 지지할 수 있고, 아마 IFN- $\gamma$  및 IL-12일 수 있고, 및 IL-4일 수도 있다(도 11a 참조). 가장 강한 효과는 강하게 IgG2b 제조에 영향을 주는 IL-12 사용의 경우를 제외하고는 IgM 및 IgA의 경우에 보여진다. 관련된 IgG1의 방어는 GM-CSF 및 IL-4의 조합에 의해서만 강하게 증가되는 반면 IgG3는 전혀 영향이 없다. 주사가 IgG1에 대해 최고로 작동한다(도 11b 참조).
- <332> **실시예 54-58:**
- <333> 저분자량 보조제 및 고분자량 보조제의 배합물(LA + IL-12)의 효과
- <334> 변형성이 높은 소포, NaCh 트랜스퍼좀(상표명),
- <335> 실시예 1-8로 기술된 바와 같음, 또한
- <336> 면역원 현탁액 ml당 IL-12 0.4mg
- <337> SPC에 대한 0.04mol-% 모노포스포릴 지질 A(LA)
- <338> 과상품 특소이드(정제된) 2mg/ml(마우스/면역화 당 TT 40 $\mu$ g에 상당함)
- <339> 실시예 25-31에 논의된 효과는 저분자량 및 고분자량 면역보조제 혼합물에서 확인하였다. 결과는 도 12에 도시되어 있으며, 상기 배합에 의한 면역 강화는 특히 면역 응답의 초기 단계동안 강하고, LA 단독보다 배합되는 경우가 더 낫다는 것을 보여준다.
- <340> **실시예 59-71:**
- <341> 보조제로서의 세균벽 성분, 콜레라 독소
- <342> 변형성이 높은 소포, 트랜스퍼좀(상표명)(Tfs):
- <343> TfsC
- <344> 콩에서 포스파티딜콜린(SPC) 86.3mg
- <345> 나트륨 콜레이트(NaChol) 13.7mg
- <346> 0.9ml 인산염 완충액, 10mM, pH 6.5

- <347> 0.1ml 에탄올
- <348> TfsT
- <349> 콩에서 포스파티딜콜린(SPC) 36mg
- <350> Tween 80 64mg
- <351> 0.9ml 인산염 완충액, 10mM, pH 7
- <352> \* 콜레라 독소 (CT; Sigma, Neu-Ulm) 2 $\mu$ g/면역화,
- <353> 파상풍 독소이드 (TT, 순수; Accurate Antibodies) 2mg/ml.
- <354> TT 0 $\mu$ g/마우스/면역화 (음성 대조군), TT 1 $\mu$ g/마우스, TT 5 $\mu$ g/마우스, TT 10 $\mu$ g/마우스, TT 20 $\mu$ g/마우스, TT 40 $\mu$ g/마우스(CT의 부재시) 및 TT 0.5 $\mu$ g/마우스/면역화, TT 1 $\mu$ g/마우스, TT 5 $\mu$ g/마우스(CT를 사용하는 경우)에 상당하는 부피 투여량은 양쪽 비강에 타입 T의 트랜스퍼좀(TfsT)에 있어서 비강내에 사용하고, 및 4-6마리의 스위스 알비노계(albino) 마우스에 타입 C의 트랜스퍼좀(TfsC)에 있어서 TT 0.5 $\mu$ g/마우스/면역화의 투여량을 사용하였다. 또한, TfsT에서 TT 20 $\mu$ g/마우스/면역화를 양성 대조군의 상당하는 위치에 피하주사하였다. 면역화는 1일, 14일, 28일에 이루어졌다.
- <355> 코에 적용된 항원의 방어 효과는 항원 투여량이 20 $\mu$ g/면역화를 초과할 때 양호하고; 더 적은 투여량은 불충분하지만 방어를 검출할 수 있다(도 13 참조). 콜레라 독소(CT)가 파상풍 독소이드와 함께 시험 제제에 포함될 때, 초변형성 담체 조성물과 독립적으로, 시험된 최저 투여량(0.5 $\mu$ g/면역화)에서 우수한 방어 효과가 달성되었다. 방어는 피부에 적용된 제제내 CT를 포함하는 모든 시험 그룹에서 완료했다.
- <356> **실시예 72-74:**
- <357> 면역 보조제로서 E. coli로부터의 이열성 독소(HLT)
- <358> 변형성이 높은 소포, 트랜스퍼좀(상표명):
- <359> TfsC
- <360> 콩에서 포스파티딜콜린 (SPC) 86.3mg
- <361> 나트륨 콜레이트 (NaChol) 13.7mg
- <362> 0.9ml 인산염 완충액, 10mM, pH 6.5
- <363> 이열성 독소(HLT, SIGMA, Neu-Ulm),  $\leq$ 1mg/ml 이하(필요하다면),
- <364> 파상풍 독소이드 (TT, 순수, Accurate Antibodies) 2mg/ml
- <365> 또는
- <366> TfsT
- <367> 콩에서 포스파티딜콜린 (SPC) 36mg
- <368> Tween 80 64mg
- <369> 0.9ml 인산염 완충액, 10mM, pH 7
- <370> 이열성독소(HLT, SIGMA, Neu-Ulm),  $\leq$ 1mg/ml,
- <371> 파상풍 독소이드 (TT, 순수, Accurate Antibodies) 2mg/ml
- <372> 항원 담체를 제조하고, (스위스 알비노계 마우스에 의한) 모든 실험 및 분석을 이전 실시예에서 기술된 바와 같이 실시하였다. 적용당 대략 50ng에서 수  $\mu$ g양까지의 범위의 여러 HLT 양을 적용당 대략 100ng에서 10 $\mu$ g까지의 범위의 TT 농도와 조합하여 사용하였다. 대부분의 경우에, TT 0.5 $\mu$ g / 마우스 / 비강내 면역화 및 HLT 0.1  $\mu$ g 내지 0.5 $\mu$ g / 마우스 / 비강내 면역화에 상당하는 양 및 피하주사용 TT 0.5 $\mu$ g의 양성 대조군을 마우스 면역화에 사용하였다.
- <373> 도 14에 도시된 바와 같이, 항-TT 역가는 보조제를 수반하지 않는 피하 주사 결과에 비해 보조제로서 작용하는 HLT에 의해 향상된다. 체액성 응답은 투여량 의존성이며, 즉 더 높은 항-TT 역가가 더 높은 HLT의 투여량에 의

해 달성된다. 그러나, 상기의 상호관계는 비선형적이지만, 오히려 최대량을 보인다(데이터는 도시되지 않음).

<374> 파상풍 독소 공격에 대한 방어는 면역 보조제의 높고 낮은 투여량에 대해 동일하게 유효하다.

<375> 이는 보조제가 종래의 침습성 (피하) 면역화를 위해 사용된 투여량의 최하한 범위에 있어 최대량의 트랜스퍼좀과 결합하여 비강내에서 사용되어야 하며; 면역-트랜스퍼좀의 비강내 사용에 대한 최소량은 또한 전부는 아닐지라도 대부분의 면역보조제에 대한 상기 일련에 시험된 보조제에 대해 1-2 오더 더 낮아야 한다는 것을 보여준다.

<376> **실시예 75:**

<377> 항원으로서 파상풍 독소이드 및 콜레라 독소에 의한 2가 백신접종

<378> 변형성이 높은 소포, 트랜스퍼좀(상표명):

<379>       콩에서 포스파티딜콜린 (SPC) 86.3mg

<380>       나트륨 콜레이트 (NaChol) 13.7mg

<381>       0.9ml 인산염 완충액, 10mM, pH 6.5

<382>       콜레라 독소(CT, SIGMA, Neu-Ulm), ≤1mg/ml

<383>       파상풍 독소이드 (TT, 순수, accurate antibodies) 2mg/ml

<384> 또는

<385>       TfsT

<386>       콩에서 포스파티딜콜린 (SPC) 36mg

<387>       Tween 80 64mg

<388> \*       0.9ml 인산염 완충액, 10mM, pH 7

<389>       콜레라 독소(CT, SIGMA, Neu-Ulm), ≤1mg/ml

<390>       파상풍 독소이드 (TT, 순수, accurate antibodies) 2mg/ml

<391> 제제 및 그의 제조예, 소포 특징화 및 동물 실험에 대한 상세한 설명 뿐만 아니라 하기 분석이 상기의 관련 실시예에 기술되어 있다.

<392> 상기 일련의 실험의 주된 결과는 보조제로 제제에 첨가된 콜레라 독소가 또한 실제로 상대양으로 항-CT 항체 형성을 유도할 수 있다는 것이었다. 이 결과는 파상풍균 독소의 공격에 대한 좋은 방어를 하기에 충분한 CT 및 TT의 농도를 사용하여 달성할 수는 있지만 꼭 필요한 것은 아니다. 도 15는 같은 담체 내에서 TT 및 CT에 의해 면역화된 같은 마우스로부터 항-TT 및 항-CT 역가를 비교한다. 이는 적어도 2가 백신에 대해 기본으로 제공될 하나 이상의 항원을 함유하는 트랜스퍼좀(상표명)의 가능성을 드러낸다.

<393> **\*참고문헌**

<394> Bagnasco-M; Mariani-G; Passalacqua-G; Motta-C; Bartolomei-M; Falagiani-P; Mistrello-G; Canonica-GW Absorption and distribution kinetics of the major Parietaria judaica allergen (Par j 1) administered by noninjectable routes in healthy human beings. J-Allergy-Clin-Immunol. 1997; 100: 122-9

<395> Biberoglu-K; GURSOY-R; YILDIZ-A Treatment of estrogen-dependent gynecological disorders with the gonadotropin releasing hormone agonist buserelin. Gynecol-Endocrinol. 1991; 5: 109-22

<396> Bruins-J; Hijman-R; Van-Ree-JM Effect of acute and chronic treatment with desglycinamide-[Arg8]vasopressin in young male and female volunteers. Peptides. 1995; 16: 179-86

<397> Cevc-G Drug delivery across the skin. Exp. Opin. Invest. Drugs (1997) 6: 1887-1937

<398> Cevc-G; Gebauer-D; Schatzlein-A; Blume-G Ultraflexible vesicles, Transfersomes, have an extremely low permeation resistance and transport therapeutic amounts of insulin across the intact mammalian skin. Biochim. Biophys. Acta 1998; 1368: 201-215

- <399> Draghia-R; Caillaud-C; Manicom-R; Pavirani-A; Kahn-A; Poenaru-L Gene delivery into the central nervous system by nasal instillation in rats. *Gene-Ther.* 1995; 2: 418-23
- <400> Drejer-K, Baag-A, Bech-K, Hansen-P, Sorensen-AR, Mygind-N. *Diab. Med.* 1992, 9: 335-340.
- <401> Flanagan-B; Pringle-CR; Leppard-KN A recombinant human adenovirus expressing the simian immunodeficiency virus Gag antigen can induce long-lived immune responses in mice. *J-Gen-Virol.* 1997; 78: 991-7
- <402> Gizurarson-S; Bechgaard-E Intranasal administration of insulin to humans. *Diabetes-Res-Clin-Pract.* 1991 May; 12: 71-84
- <403> Ghigo-E; Arvat-E; Gianotti-L; Grottoli-S; Rizzi-G; Ceda-GP; Boghen- MF; Deghenghi-R; Camanni-F Short-term administration of intranasal or oral Hexarelin, a synthetic hexapeptide, does not desensitize the growth hormone responsiveness in human aging. *Eur-J-Endocrinol.* 1996; 135: 407-12
- <404> Harris-AS Review: clinical opportunities provided by the nasal administration of peptides. *J-Drug-Target.* 1993; 1: 101-16
- <405> Huneycutt-BS; Plakhov-IV; Shusterman-Z; Bartido-SM; Huang-A; Reiss- CS; Aoki-C Distribution of vesicular stomatitis virus proteins in the brains of BALB/c mice following intranasal inoculation: an immunohistochemical analysis. *Brain-Res.* 1994; 635: 81-95
- <406> Hussain-A; Hamadi-S; Kagashima-M; Iseki-K; Dittert-L Does increasing the lipophilicity of peptides enhance their nasal absorption? *J-Pharm-Sci.* 1991; 80: 1180-1
- <407> Ichikawa-M; Nakamuta-H; Hoshino-T; Ogawa-Y; Koida-M Anti-osteopenic effect of nasal salmon calcitonin in type 1 osteoporotic rats: comparison with subcutaneous dosing. *Biol-Pharm-Bull.* 1994; 17: 911-3
- <408> Illum-L The nasal delivery of peptides and proteins. *Trends-Biotechnol.* 1991; 9: 284-9
- <409> Illum-L; Davis-SS Intranasal insulin. *Clinical pharmacokinetics.* *Clin-Pharmacokinet.* 1992 Jul; 23: 30-41
- <410> Invitti-C; Fatti-L; Camboni-MG; Porcu-L; Danesi-L; Delitala-G; Effect of chronic treatment with octreotide nasal powder on serum levels of growth hormone, insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins 1 and 3 in acromegalic patients. Cavagnini-F *J-Endocrinol-Invest.* 1996; 19: 548-55
- <411> Kida-S; Pantazis-A; Weller-RO. SF drains directly from the subarachnoid space into nasal lymphatics in the rat. Anatomy, histology and immunological significance. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1993; 19: 480-448
- <412> Laursen-T; Grandjean-B; Jorgensen-JO; Christiansen-JS Bioavailability and bioactivity of three different doses of nasal growth hormone (GH) administered to GH-deficient patients: comparison with intravenous and subcutaneous administration. *Eur-J-Endocrinol.* 1996; 135: 309-15
- <413> Machida-M; Sano-K; Arakawa-M; Hayashi-M; Awazu-S Absorption of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) from rat nasal mucosa. *Pharm-Res.* 1993; 10: 1372-7.
- <414> Maejima-K; Tamura-K; Taniguchi-Y; Nagase-S; Tanaka-H Comparison of the effects of various fine particles on IgE antibody production in mice inhaling Japanese cedar pollen allergens. *J-Toxicol-Environ-Health.* 1997; 52: 231-48
- <415> Maitani-Y; Machida-Y, Nagai-T Influence of molecular weight and charge on nasal absorption of dextran and DEAE-dextran in rabbits. *Int. J. Pharmaceut.* 1989; 49: 23-27
- <416> McMartin-C; Hutchinson-LEF; Hyde-R; Peterrs-GE. Analysis of structural requirements for the absorption of drugs and macromolecules from the nasal cavity. *J. Pharm. Sci.* 1987; 76: 535-540
- <417> Mori-I; Nakakuki-K; Kimura-Y Temperature-sensitive parainfluenza type 1 vaccine virus directly

accesses the central nervous system by infecting olfactory neurons. *J-Gen-Virol.* 1996; 77: 2121-4

- <418> Naumann-E; Bartussek-D; Kaiser-W; Fehm-Wolfsdorf-G Vasopressin and cognitive processes: two event-related potential studies. *Peptides.* 1991; 12: 1379-84
- <419> Pasechnik-V; Price-J Macromolecular drug delivery to the CNS with protein carriers. *Exp. Opin. Invest. Drugs* 1996, 5: 1255-1276
- <420> Paul-A; Cevc-G Non-invasive Administration of Protein Antigens: Transdermal Immunization with Bovine Serum Albumine in Transfersomes. *Vaccine Res.* 1995; 4: 145-164
- <421> Paul, A., Cevc, G. Non-invasive administration of protein antigens. Epicutaneous immunisation with the bovine serum albumin. *Vaccine Res.* (1995) 4: 145-164.
- <422> Perras-B; Molle-M; Born-J; Fehm-HL Sleep and signs of attention during 3 months of intranasal vasopressin: a pilot study in two elderly subjects. *Peptides.* 1996; 17: 1253-5
- <423> Pietrowsky-R; Struben-C; Molle-M; Fehm-HL; Born-J Brain potential changes after intranasal vs. intravenous administration of vasopressin: evidence for a direct nose-brain pathway for peptide effects in humans. *Biol-Psychiatry.* 1996; 39: 332-40
- <424> Pihoker-C; Middleton-R; Reynolds-GA; Bowers-CY; Badger-TM Diagnostic studies with intravenous and intranasal growth hormone-releasing peptide-2 in children of short stature. *J-Clin-Endocrinol-Metab.* 1995; 80: 2987-92
- <425> Pohl-J; Arnold-H; Schulz-A; Pause-BM; Schulte-HM; Fehm-Wolfsdorf-G Modulation of pain perception in man by a vasopressin analogue. *Peptides.* 1996; 17: 641-7
- <426> Sarkar-MA Drug metabolism in the nasal mucosa. *Pharm-Res.* 1992; 9: 1-9
- <427> Shimoda-N; Maitani-Y; Machida-Y; Nagai-T Effects of dose, pH and osmolarity on intranasal absorption of recombinant human erythropoietin in rats. *Biol-Pharm-Bull.* 1995; 18: 734-9
- <428> Sperber-SJ; Doyle-WJ; McBride-TP; Sorrentino-JV; Riker-DK; Hayden- FG Otologic effects of interferon beta serine in experimental rhinovirus colds. *Arch-Otolaryngol-Head-Neck-Surg.* 1992; 118: 933-6
- <429> Ting-TY; Gonda-I; Gipps-EM Microparticles of polyvinyl alcohol for nasal delivery. I. Generation by spray-drying and spray-desolvation. *Pharm-Res.* 1992; 9: 1330-5
- <430> Tsume-Y; Taki-Y; Sakane-T; Nadai-T; Sezaki-H; Watabe-K; Kohno-T; Yamashita-S Quantitative evaluation of the gastrointestinal absorption of protein into the blood and lymph circulation. *Biol-Pharm-Bull.* 1996; 19: 1332-1337
- <431> Watanabe-Y; Matsumoto-Y; Yamaguchi-M; Kikuchi-R; Takayama-K; Nomura-H; Maruyama-K; Matsumoto-M Absorption of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) and blood leukocyte dynamics following intranasal administration in rabbits. *Biol-Pharm-Bull.* 1993; 16: 93-5.
- <432> Watanabe-Y; Matsumoto-Y; Kikuchi-R; Kiriyama-M; Nakagawa-K; Nomura- H; Maruyama-K; Matsumoto-M Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) following intranasal administration in rabbits. *J-Drug-Target.* 1995; 3: 231-8
- <433> Wearley-LL Recent progress in protein and peptide delivery by noninvasive routes. *Crit-Rev-Ther-Drug-Carrier-Syst.* 1991; 8: 331-94
- <434> Westenberg-HG; Hijman-R; Wiegant-VM; Laczi-F; Van-Ree-JM Pharmacokinetics of DGAVP in plasma following intranasal and oral administration to healthy subjects. *Peptides.* 1994; 15: 1101-4
- <435> van-der-Wiel-HE; Lips-P; Nauta-J; Kwakkel-G; Hazenberg-G; Netelenbos-JC; van-der-Vijgh-WJ Intranasal calcitonin suppresses increased bone resorption during short-term immobilization: a double-blind study of the effects of intranasal calcitonin on biochemical parameters of bone turnover. *J-Bone-Miner-Res.* 1993; 8: 1459-65

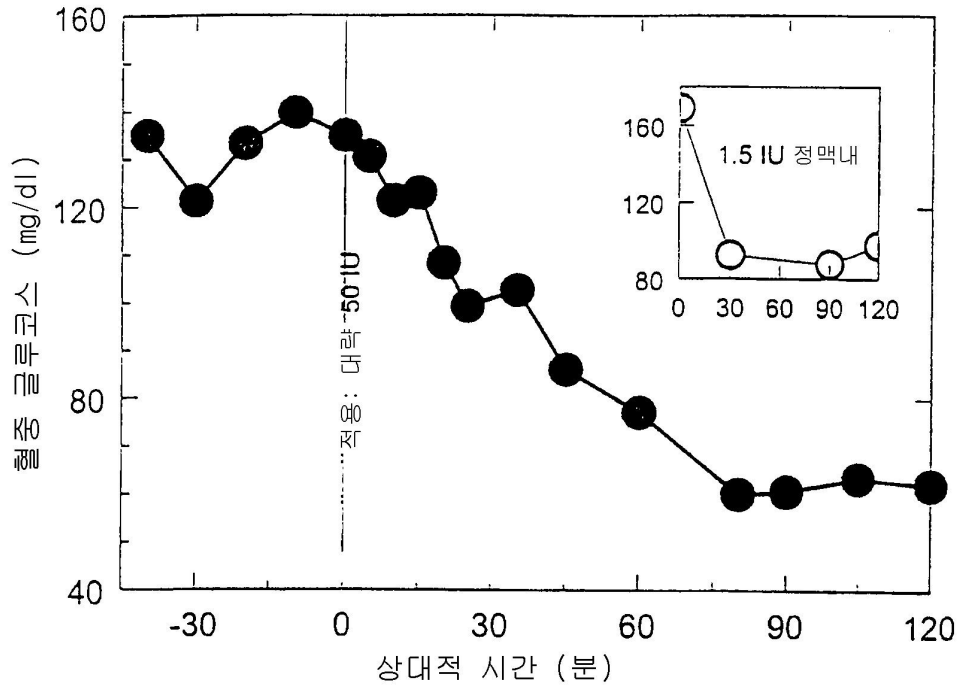
**도면의 간단한 설명**

- <436> 도 1은 인슐린 의존성 당뇨병 환자에 있어서, 담체에 의한 인슐린 경비 투여의 효과를 나타낸다. 또한 참고를 위해 즉효성 인슐린(Actrapid, Novo-Nordisk)의 정맥 주사의 결과가 삽입된 도면에 표시되어 있다.
- <437> 도 2는 건강한 지원자에 있어서 트랜스퍼좀에 의한 인슐린의 경비 당동역학(glucodynamics)을 도시한 것이며, 삽입도는 참고를 위해 동일한 제제의 정맥 투여의 결과를 표시했다.
- <438> 도 3a 및 3b는 건강한 지원자에 의해, 담체로부터 약물 방출이 매우 느린 것으로 사료되는, 열등한 특성을 갖는 인슐린 제제의 경비 투여 후 측정된 추가의 예를 제공한다.
- <439> 도 4는 트랜스퍼좀과 회합되어 경비 투여될 수 있는 시토킨의 과상풍 독소이드에 의한 경비 면역화 결과에 작용하는 능력을 도시하였다.
- <440> 도 5는 마우스에 있어서 트랜스퍼좀내 물질의 경비 투여한 후 인슐린-유래 방사능의 생체 분포를 나타낸다.
- <441> 도 6은 마우스내에서 측정된, 인터페론의 대응결과를 제공한다.
- <442> 도 7은 TT를 담지한 여러 혼합 미셀, 트랜스퍼좀 또는 리포좀에 의해 처리된 마우스에 있어서 TT 특이적 면역 응답에 대한 응집물 크기 및/또는 변형성의 변경 효과를 나타낸다. 패널 a 및 b는 항체의 이소타입 패턴을 나타낸 것이고, 패널 c는 흡광도 변화로 표시되는 전체 항체 역가를 나타낸다.
- <443> 도 8은 면역 보조제로서 지질 A 유도체를 수반하거나, 또는 수반하지 않는 트랜스퍼좀에 의해 마우스의 TT에 의한 경비 면역에 대한 항원량(고용량 범위)의 (적은) 효과를 강조하고 있다. 패널 a에서 전체 흡광도 측정 결과를 제공하며, 패널 b는 대응하는 적정 곡선을 나타내며, 패널 c는 관련 항체의 이소타입을 나타낸다.
- <444> 도 9는 다른 항원량 및 순도를 사용하여 경비, 경구 또는 피하 TT 투여의 결과를 비교하여 동일 양식으로 나타내었다.
- <445> 도 10은 비교를 위해 여러 투여량 및 투여 경로를 비교하는 실험에 관한 동물 방어 (생존) 데이터를 나타내며,
- <446> 도 11은 트랜스퍼좀에 의해 비강에 투여된 TT에 대한 마우스 면역 응답에 대한 여러 시토킨 또는 이들을 조합시킨 효과에 대한 데이터를 나타낸다. 또 비교를 위해 피하 데이터를 나타내고 있다. 패널 a는 흡광도 및 역가 데이터를 나타내고, 패널 b는 이소타입 분포 결과를 포함한다.
- <447> 도 12는 저분자량 및 고분자량 면역 보조제(지질 유사체 및 인터류킨-12)를 배합한 효과를 나타낸다.
- <448> 도 13은 미생물 기원의 특이적 시토킨 유도물질의 효과를 도시한 것이며, 이의 목적으로 콜레라 독소(CT)가 사용된다.
- <449> 도 14는 면역-보조제로서 E.coli로부터의 이열성 독소의 효과를 나타낸다.
- <450> 도 15는 2종의 항원인 과상풍 독소이드 및 콜레라 독소이드를 배합하여 수득된 결과를 도시한 것이다.

도면

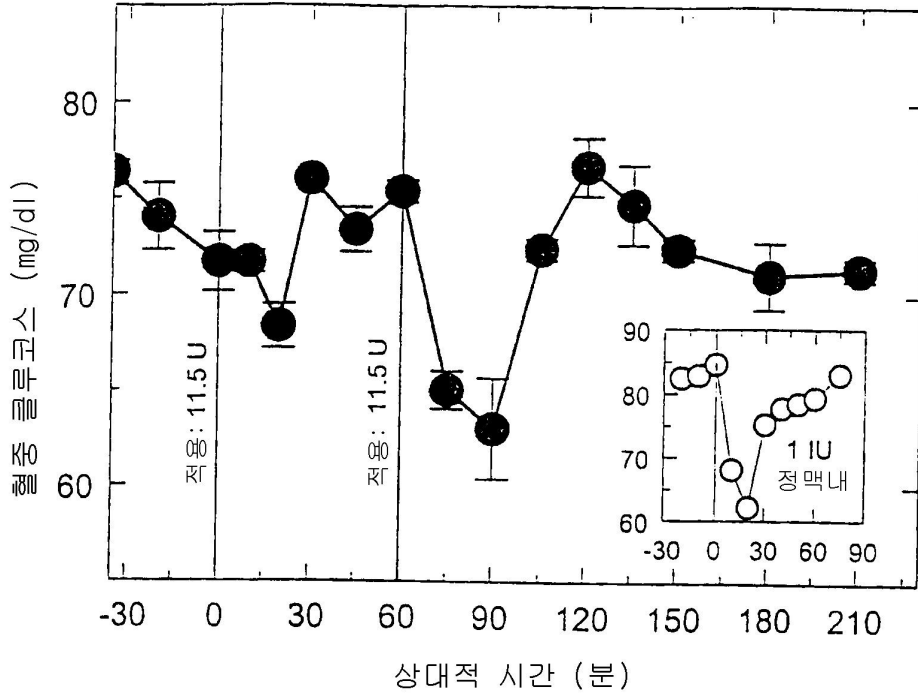
도면1

IDDM 피험자에게 트랜스퍼솔린(Transfersulin)을  
비강내 적용함, -0.8 IU/kg



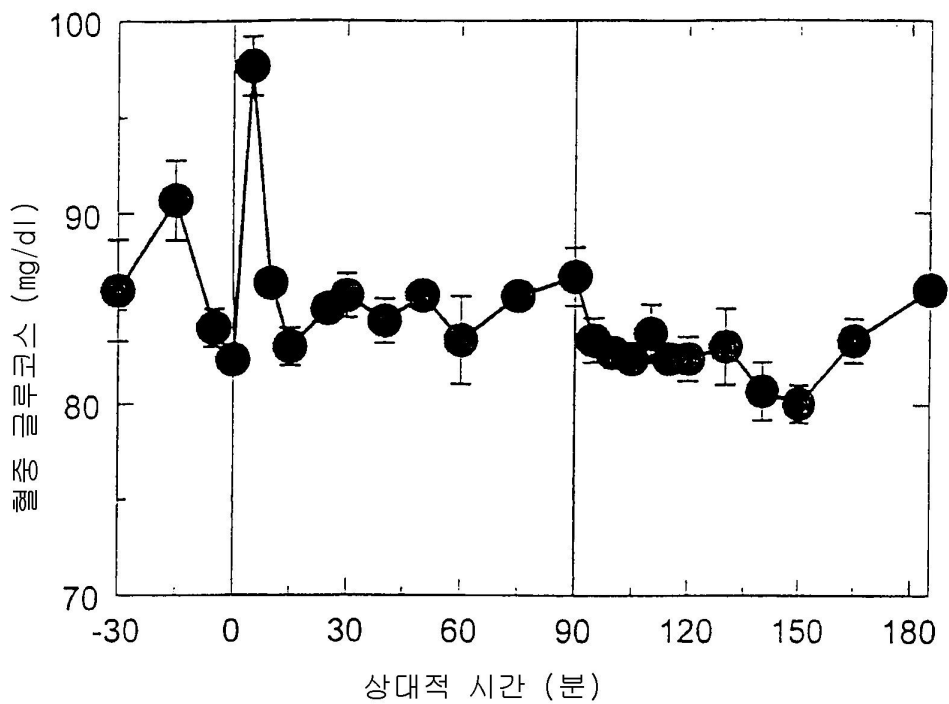
도면2

정상혈당 피험자에게 트랜스퍼슬린을  
비강내 적용함, ~ 0.15 IU/kg (2x)



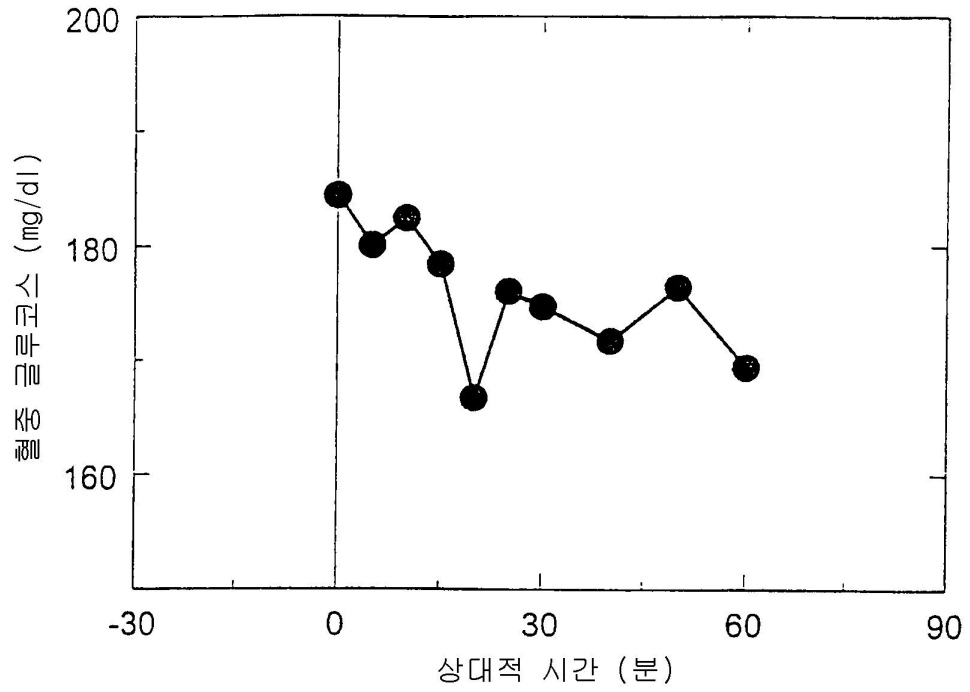
도면3a

정상혈당 피험자에게 트랜스퍼슬린을  
비강내 적용함, ~ 0.15 IU/kg (2x)



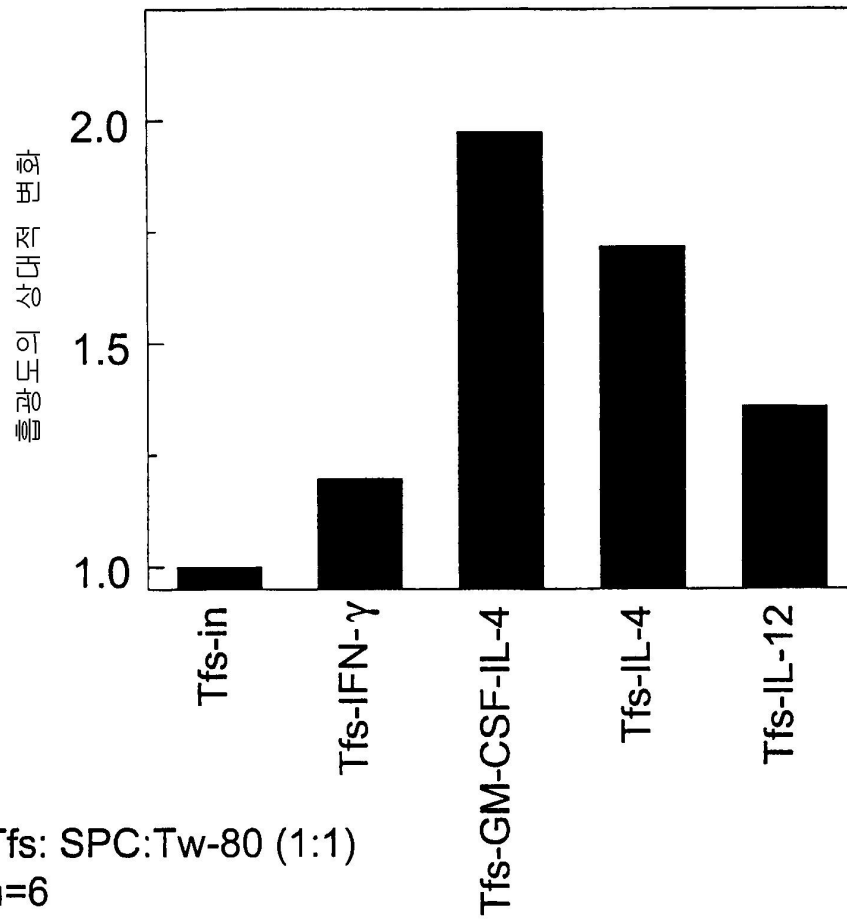
도면3b

IDDM 피험자에게 트랜스퍼솔린을  
비강내 적용함, -0.4 IU/kg

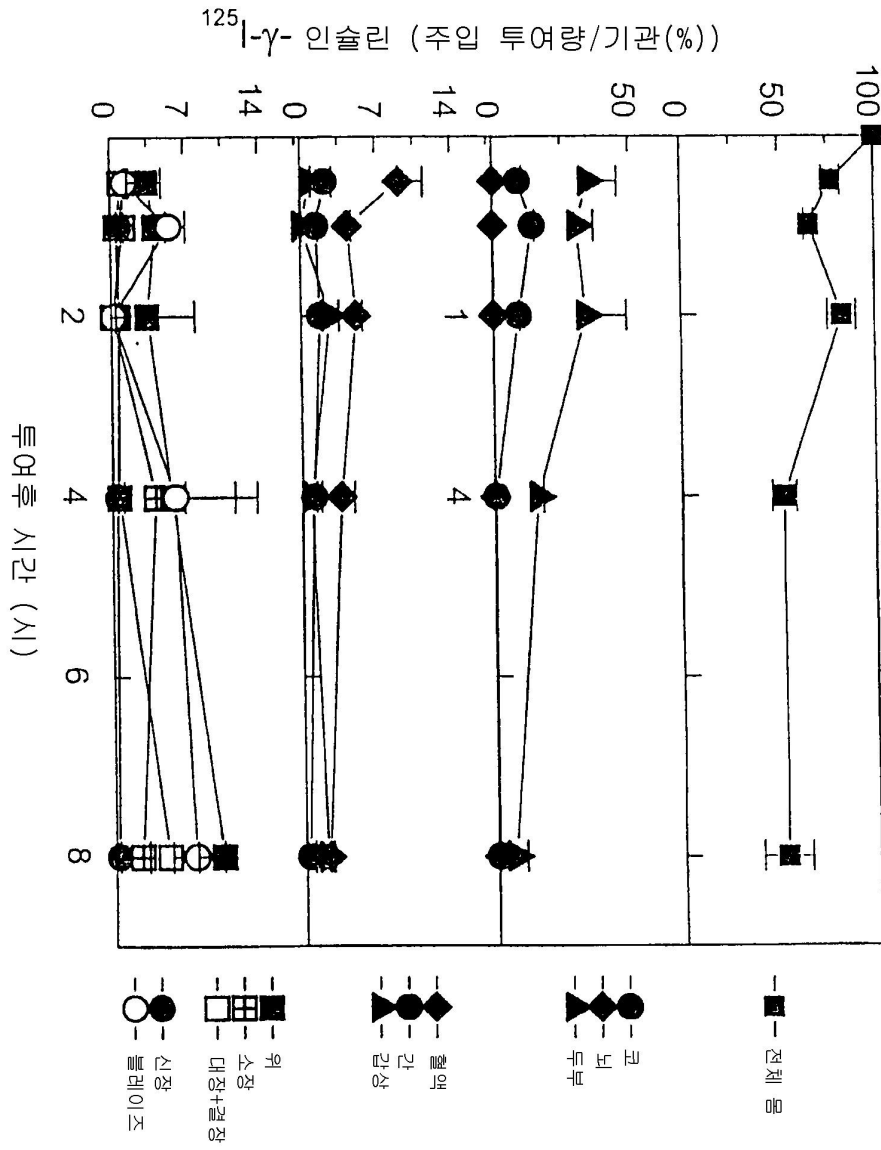


도면4

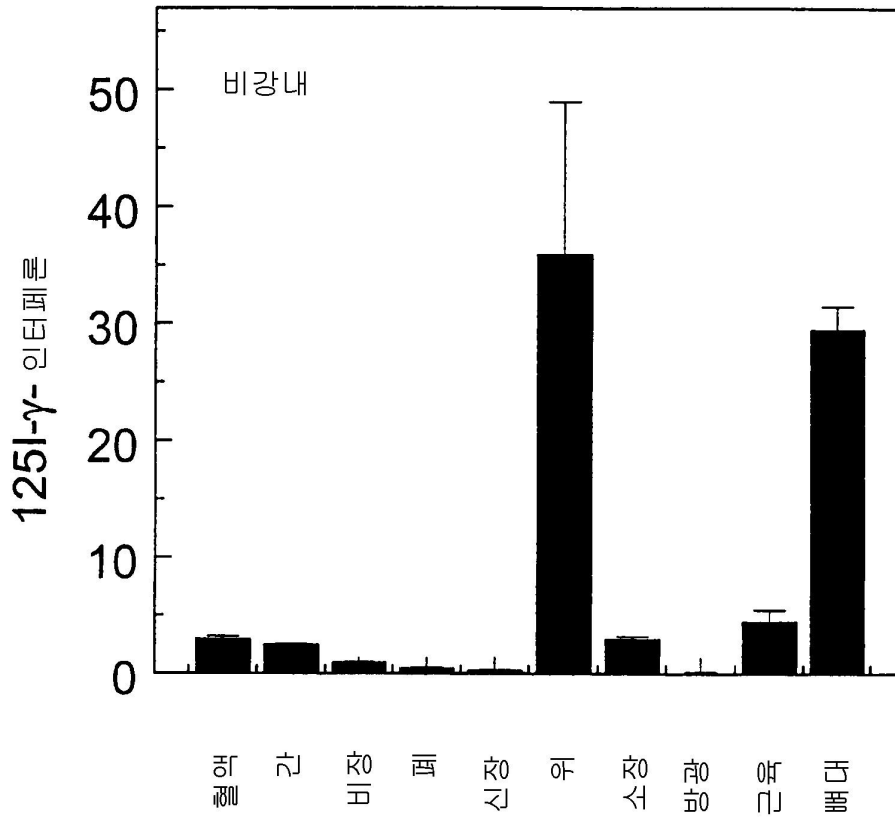
코로 투여된 시토킨이 특이면역반응에 미치는 효과,  
첫번째 추가 + 7 d



도면5

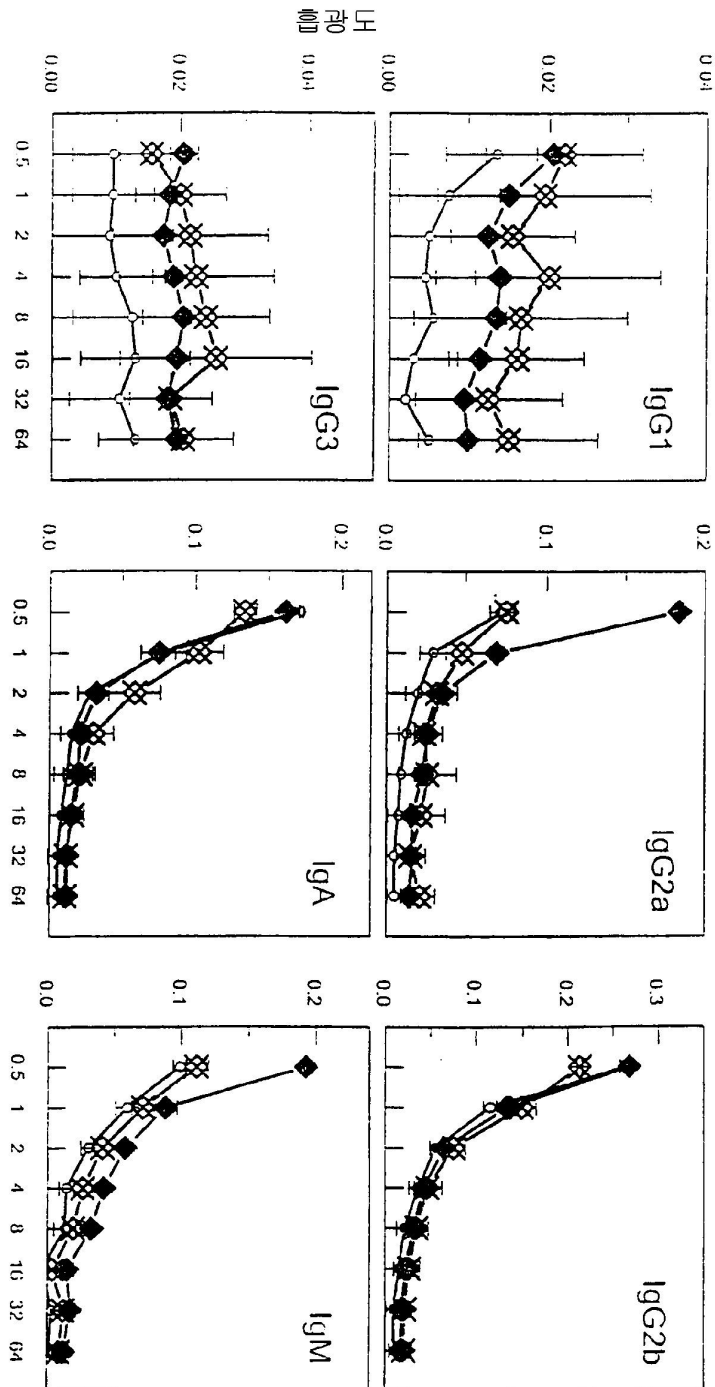


도면6



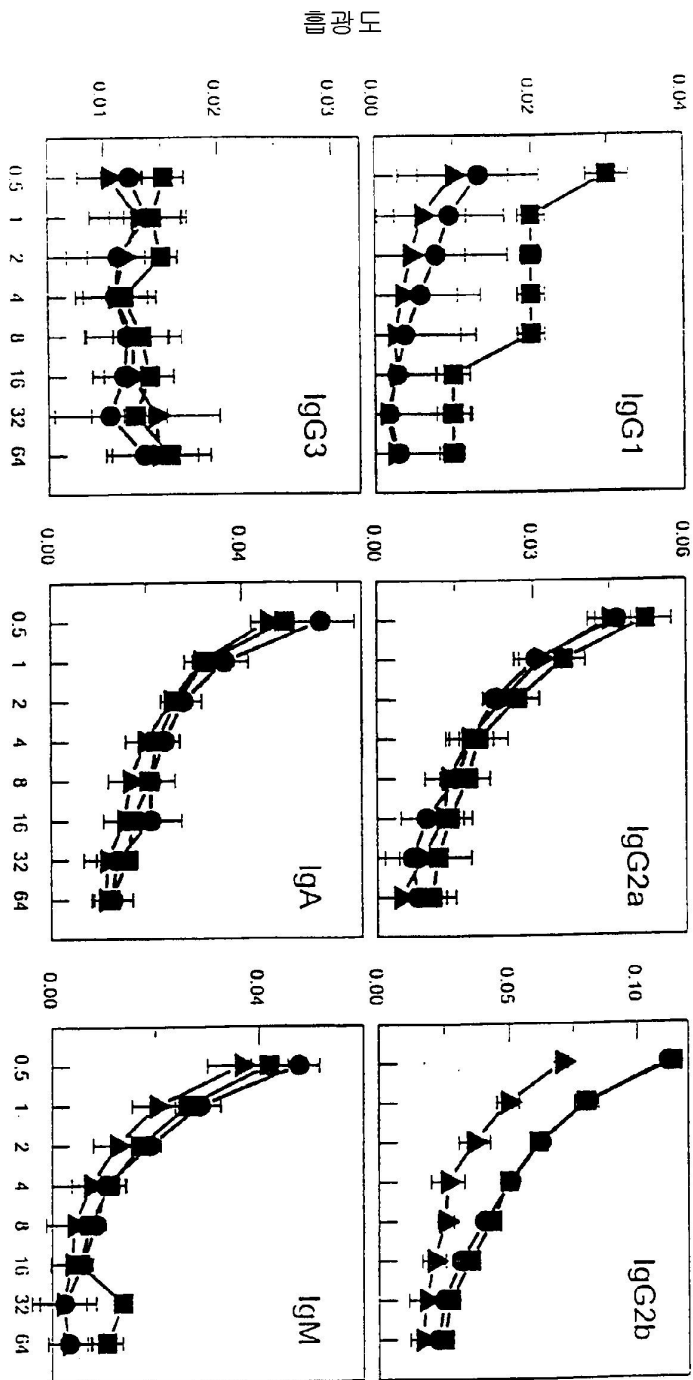
도면7a

비강내 투여 : 파상풍 독소이드 (TT, 불순)



○—○— 혼합형 미셀 SPC:Tw-80(1:4)-40 µg 독소이드  
 ◆—◆— SPC:Tw-80 (1:1)-40 µg 독소이드  
 ✕—✕— SPC:Tw-80 (3:1)-40 µg 독소이드

비강내 면역화: 피상풍 특소이드 (TT, 불순)



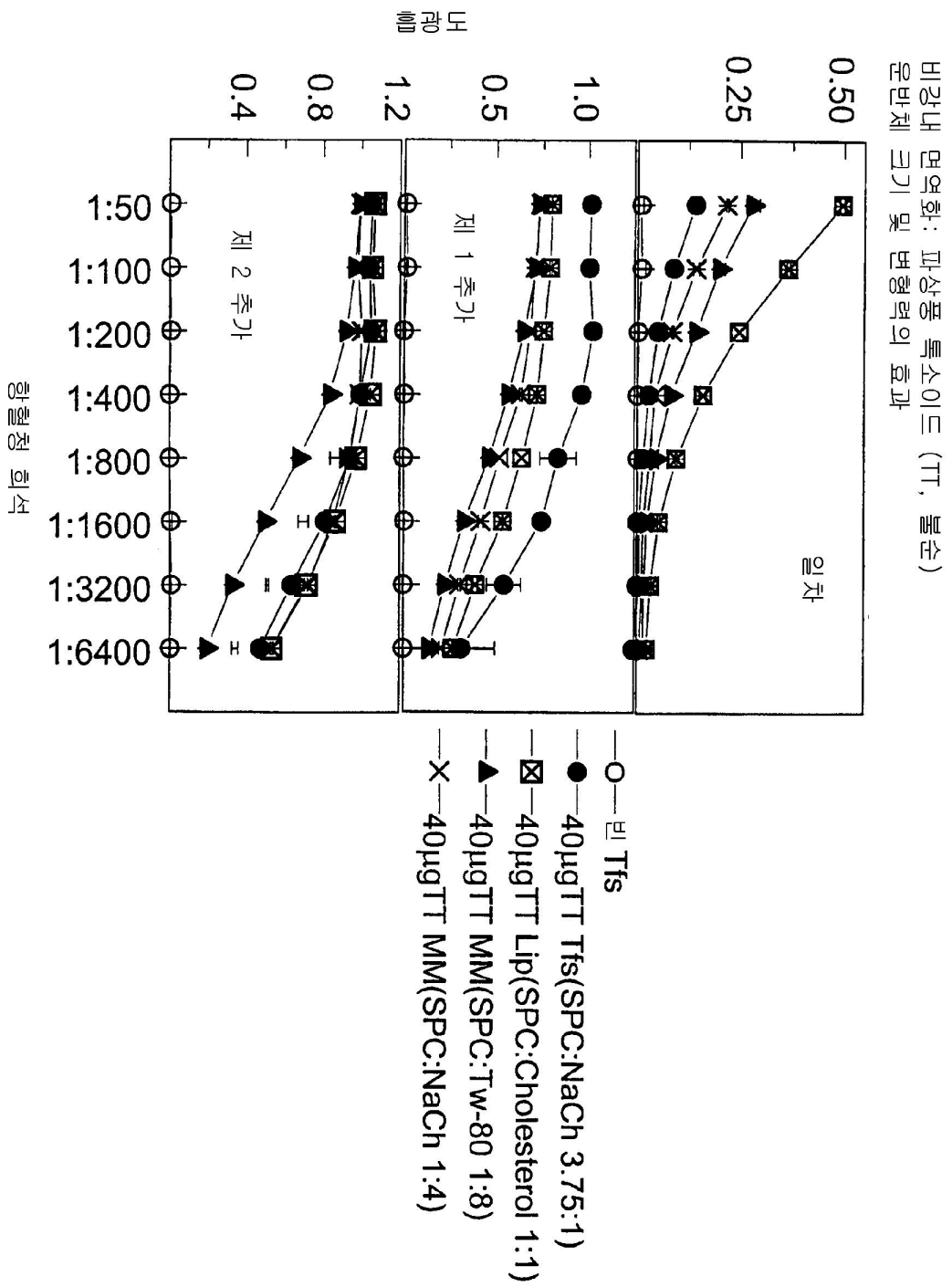
상호 항혈청 희석 X 10<sup>2</sup>

- SPC:NaOH (4:5:1)
- 불린 마늘 (SNA 1:1)
- ▲ SPC 클레스티를 (1:1)

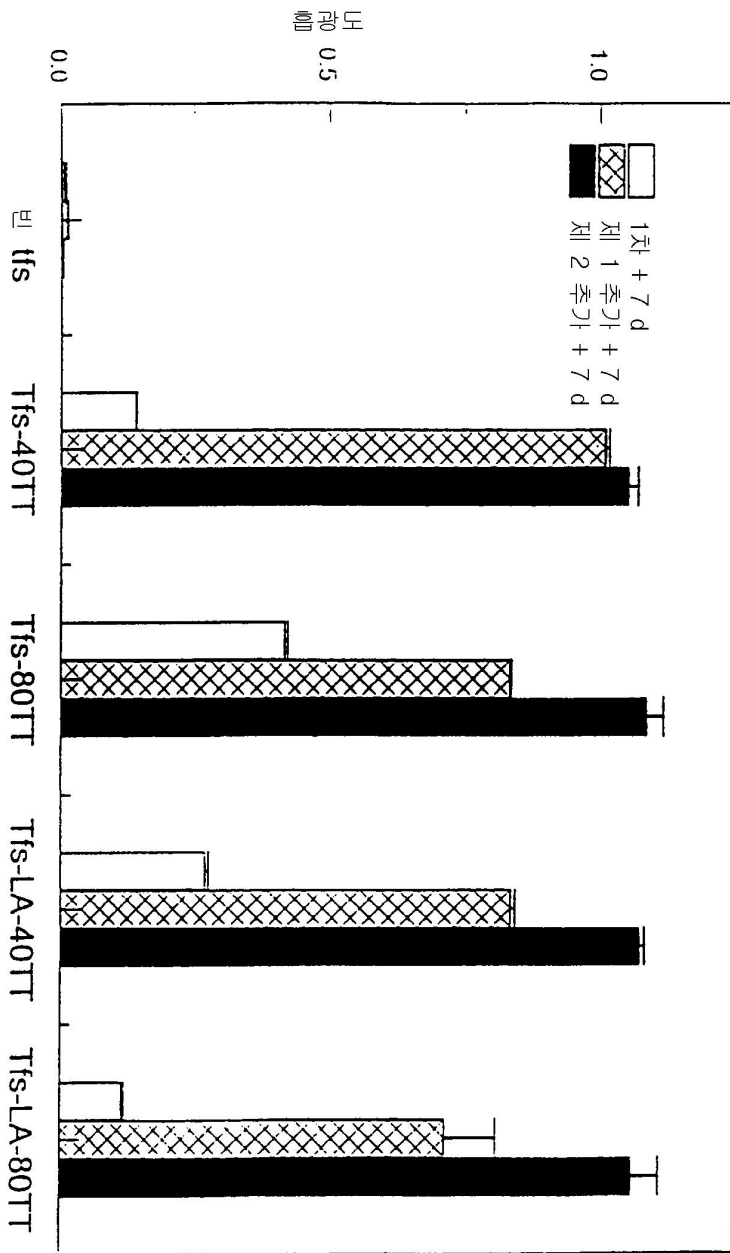
모든 군에서 항원 투여량: 마우스당 40 µg

도면7b

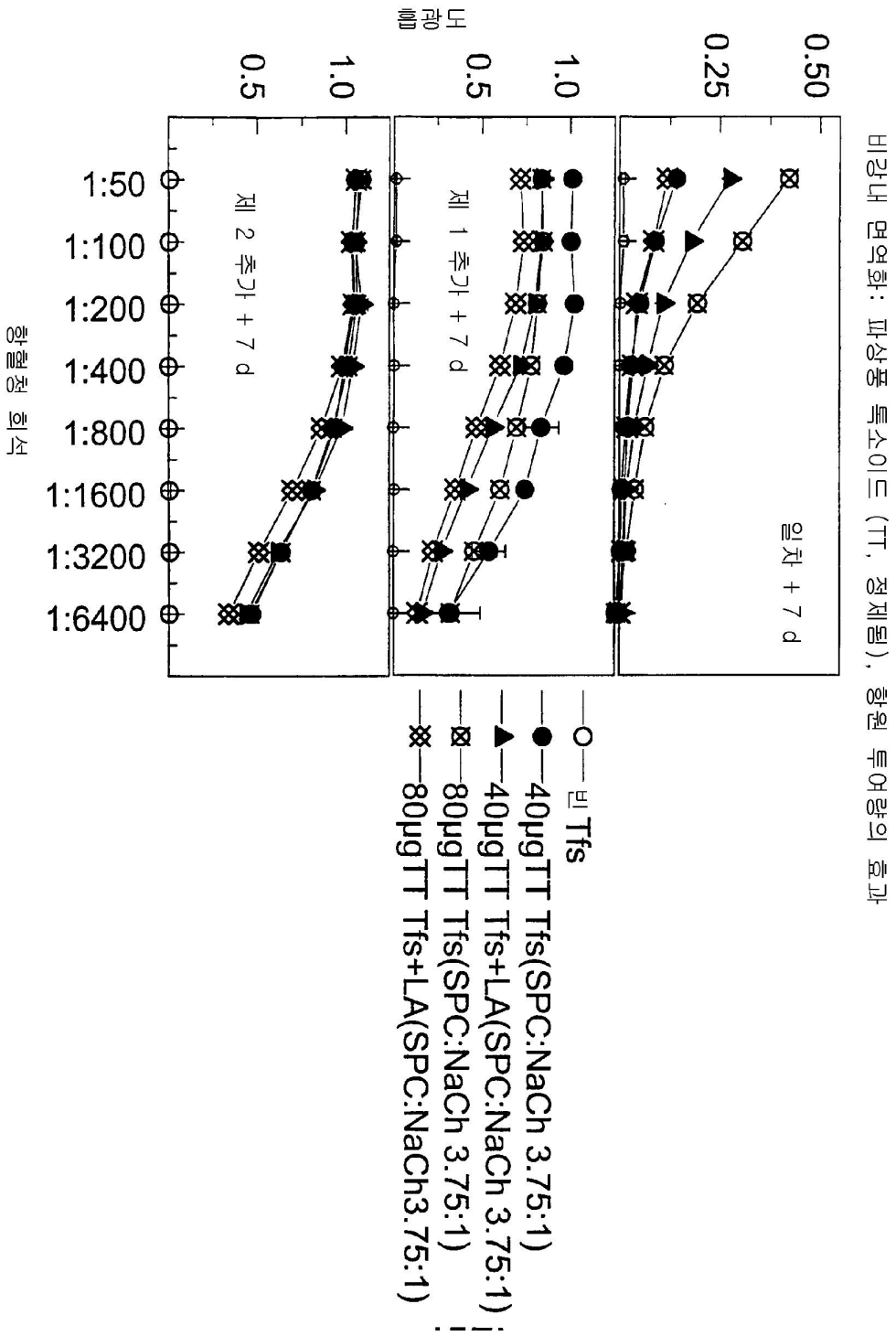
도면7c



도면8a



도면8b



도면8c

비강내 면역화: 파상풍 특소이드 (TT, 정제됨), 투여량 효과

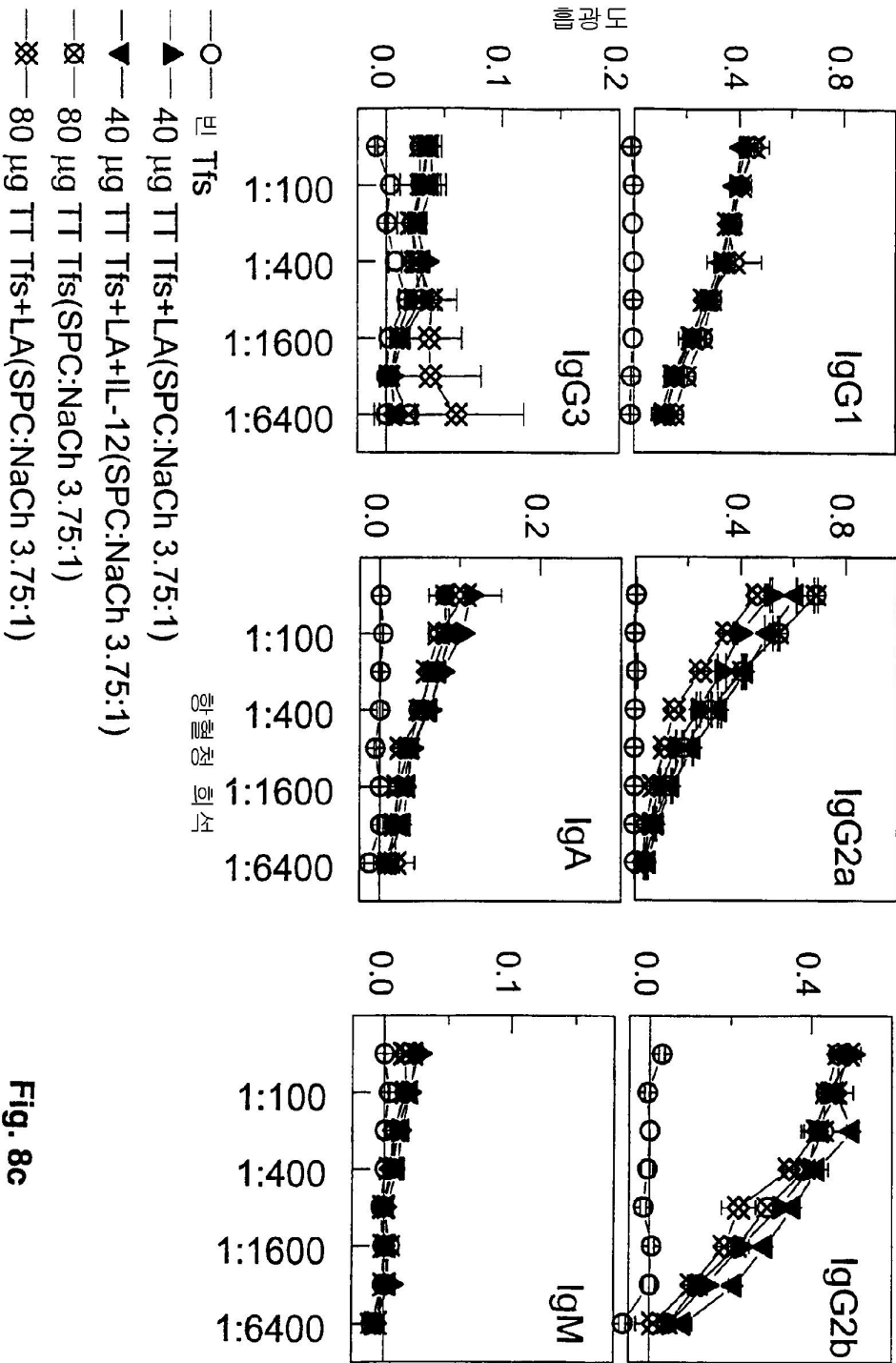
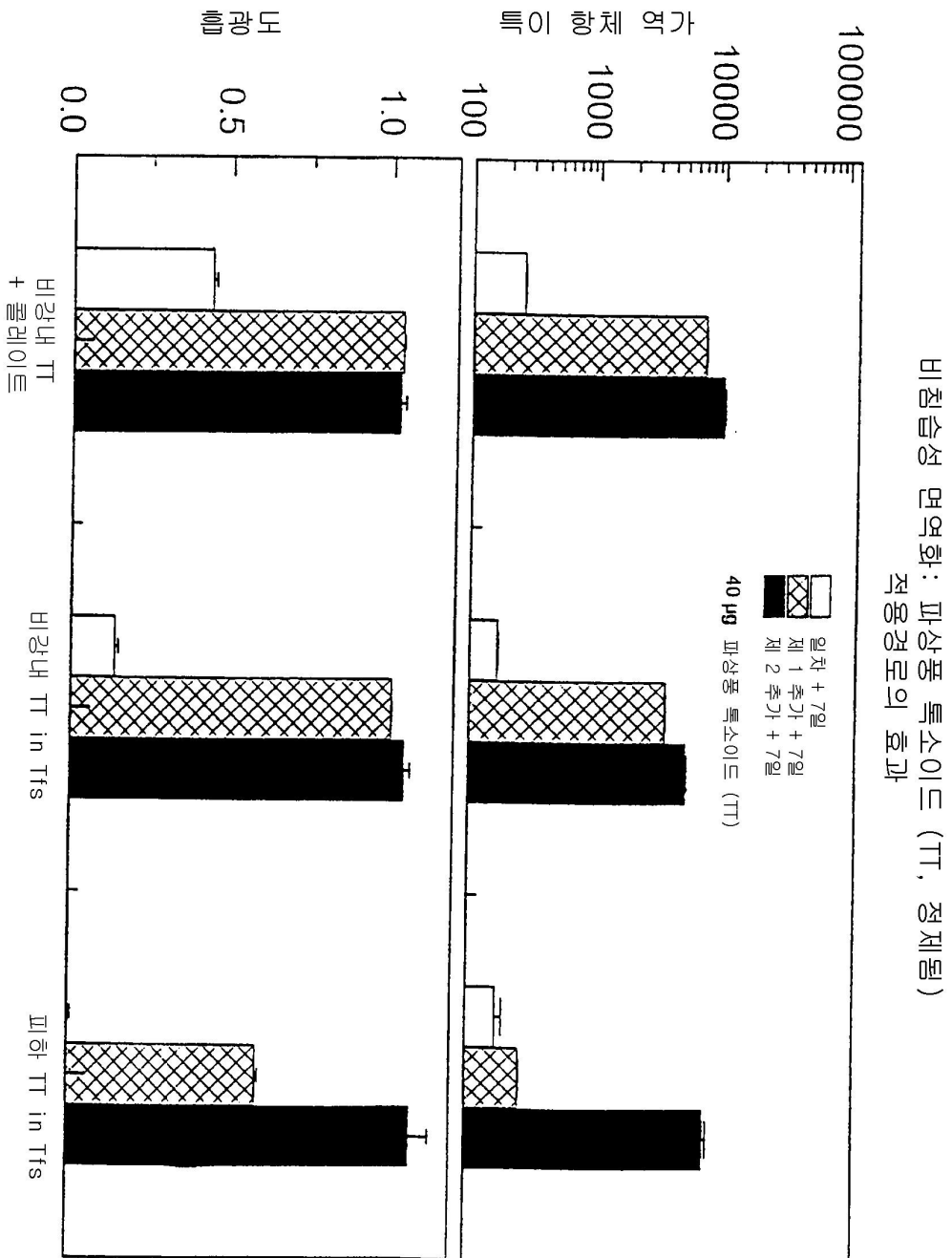
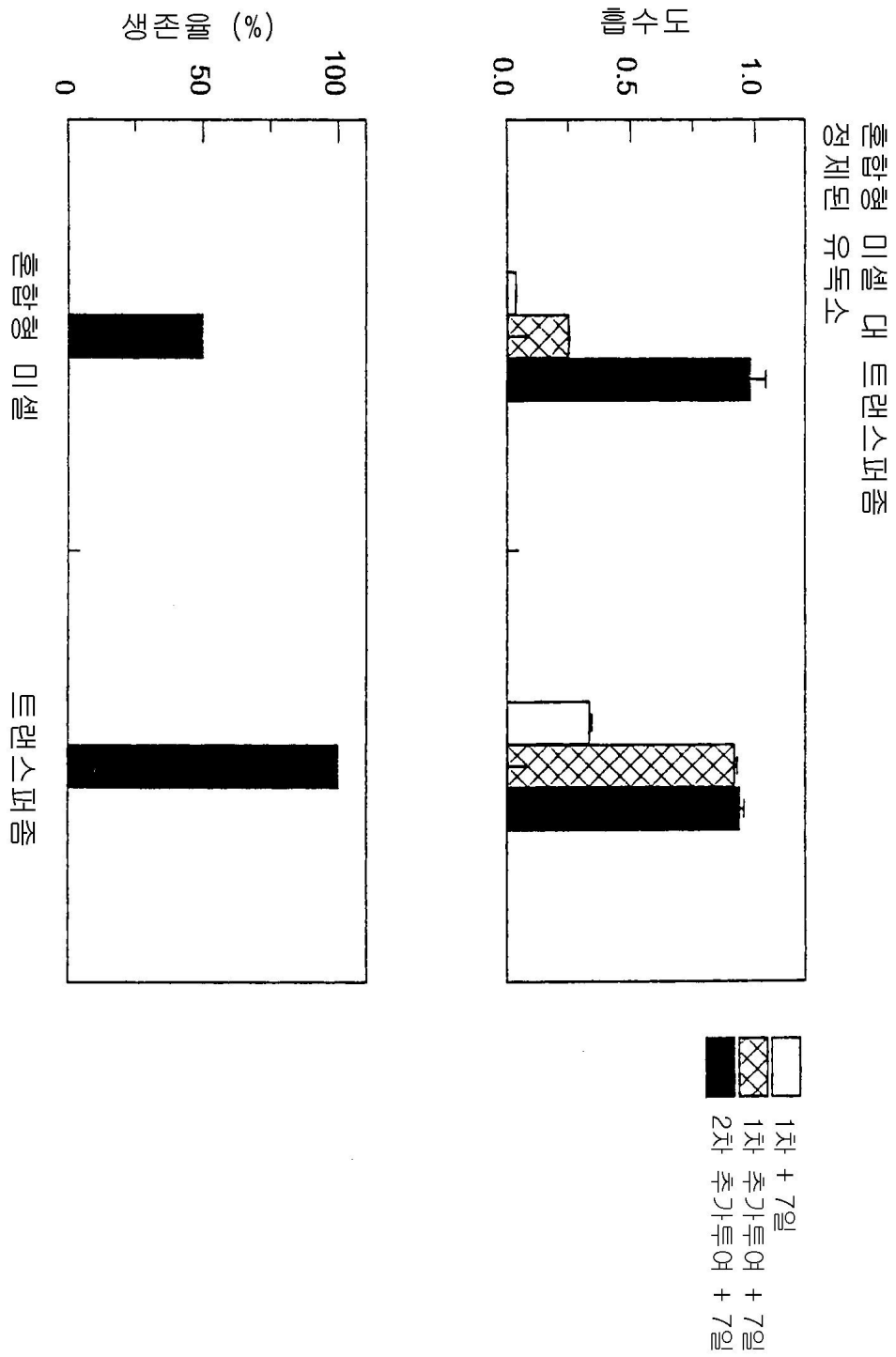


Fig. 8c

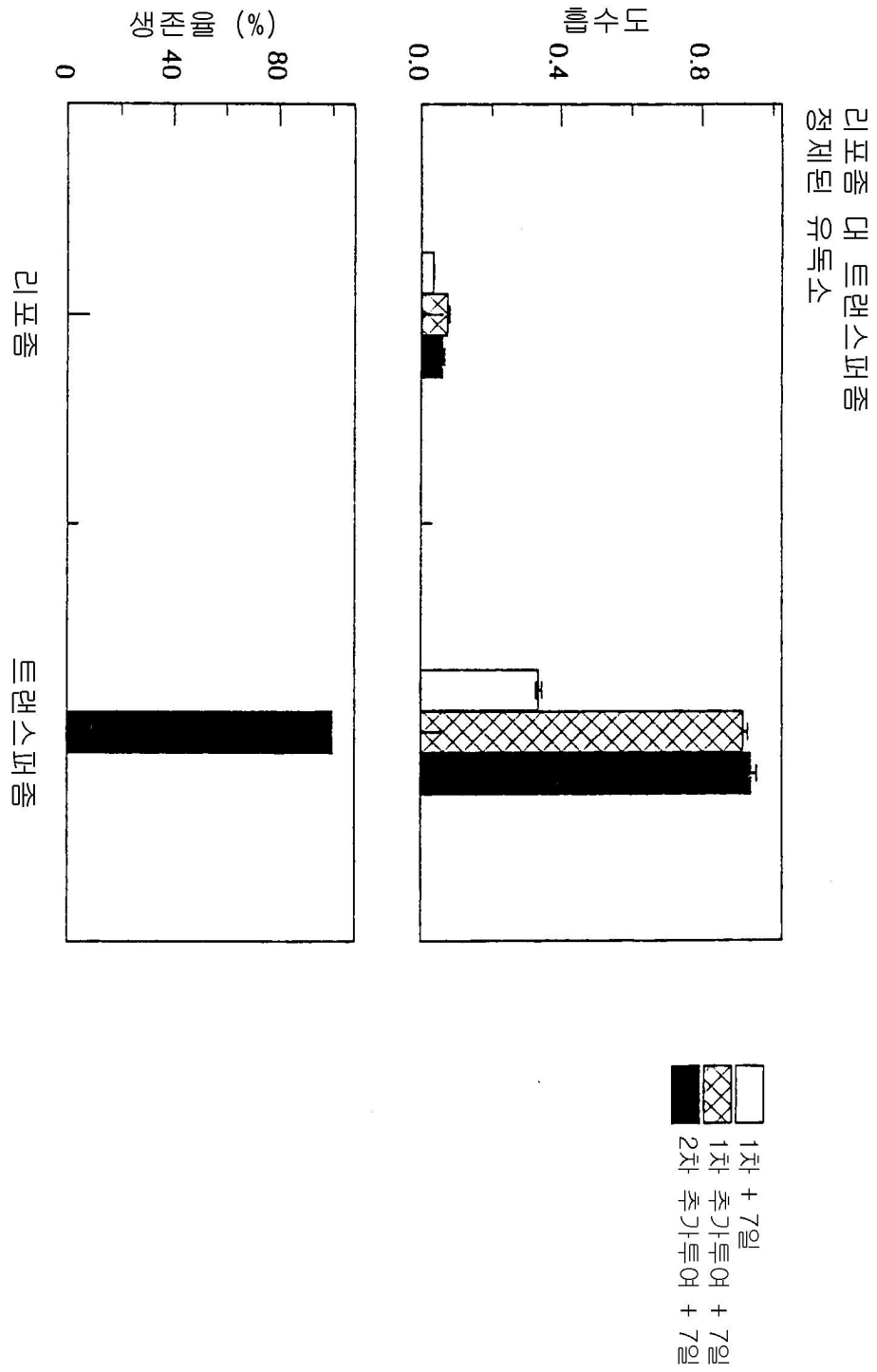
도면9a



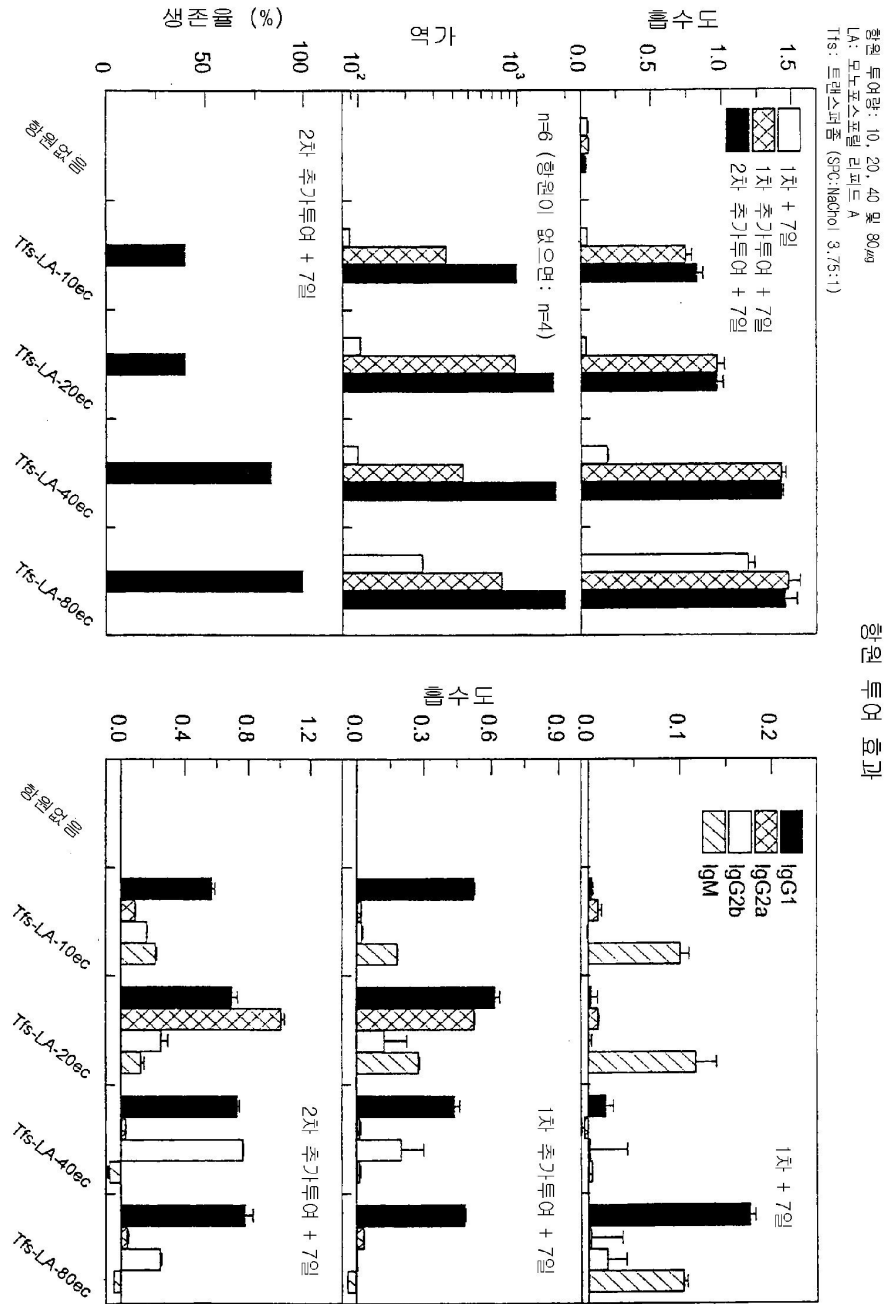
도면9b



도면9c

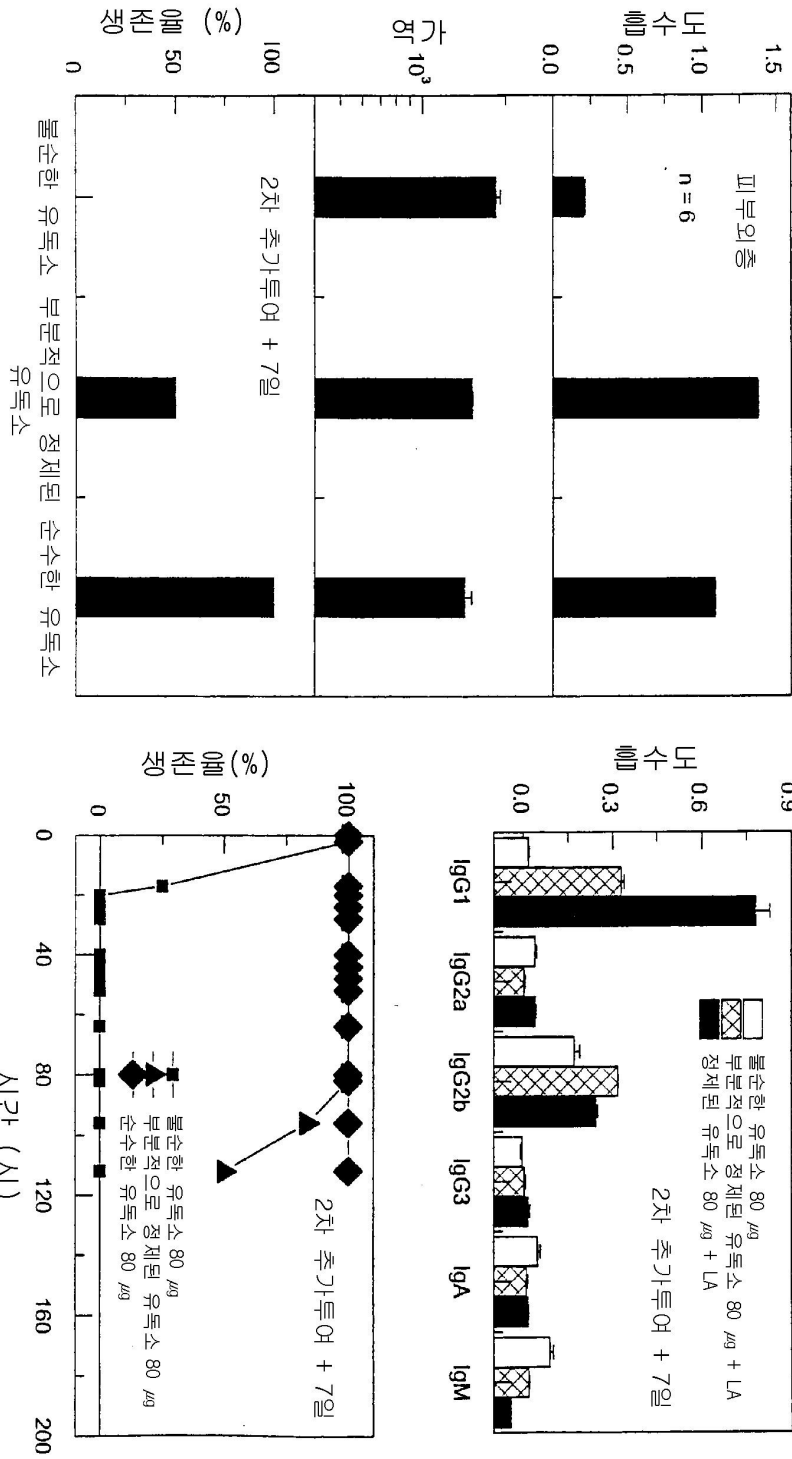


도면10a

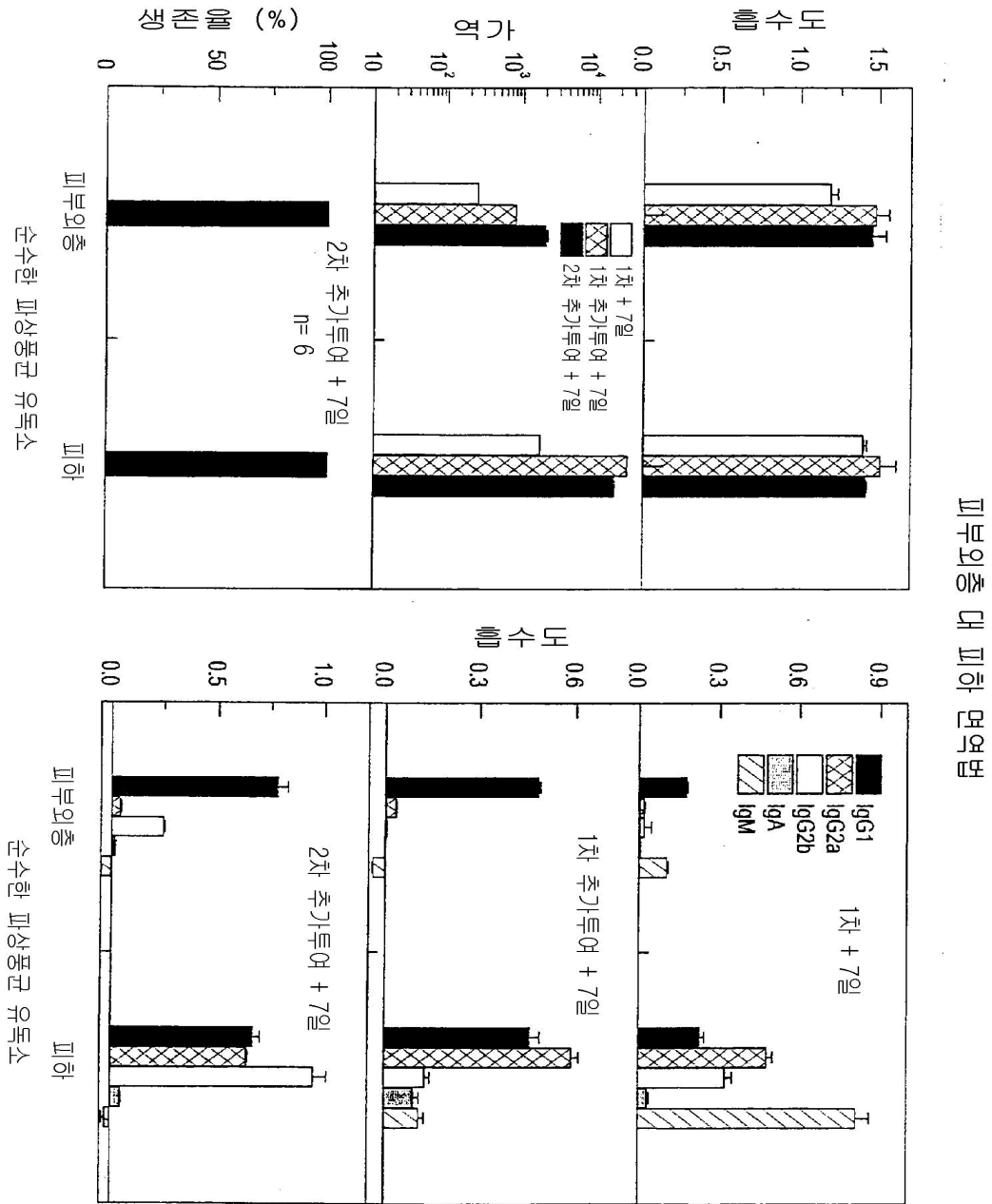


도면10b

항원 산도 결과

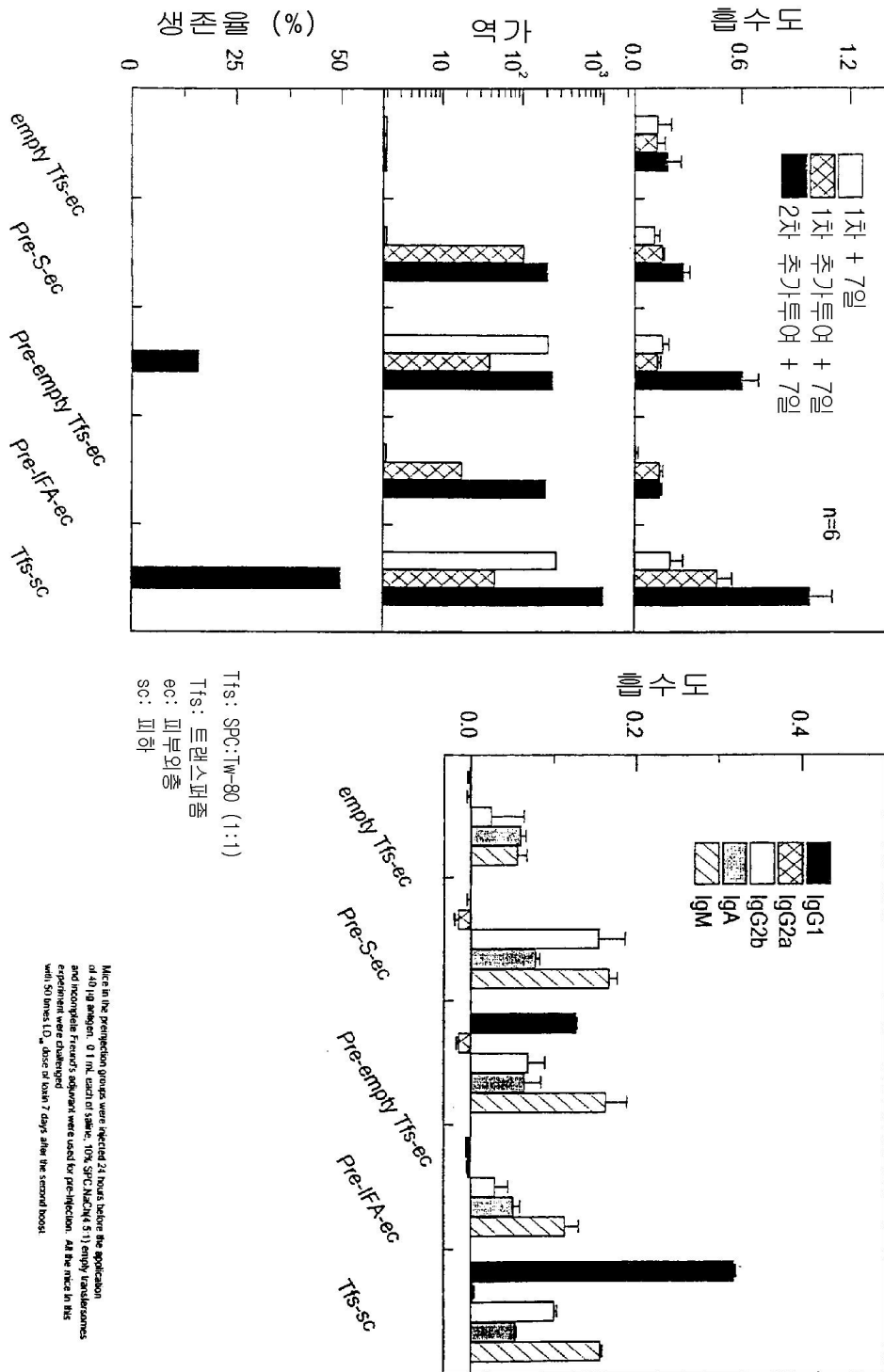


도면11a



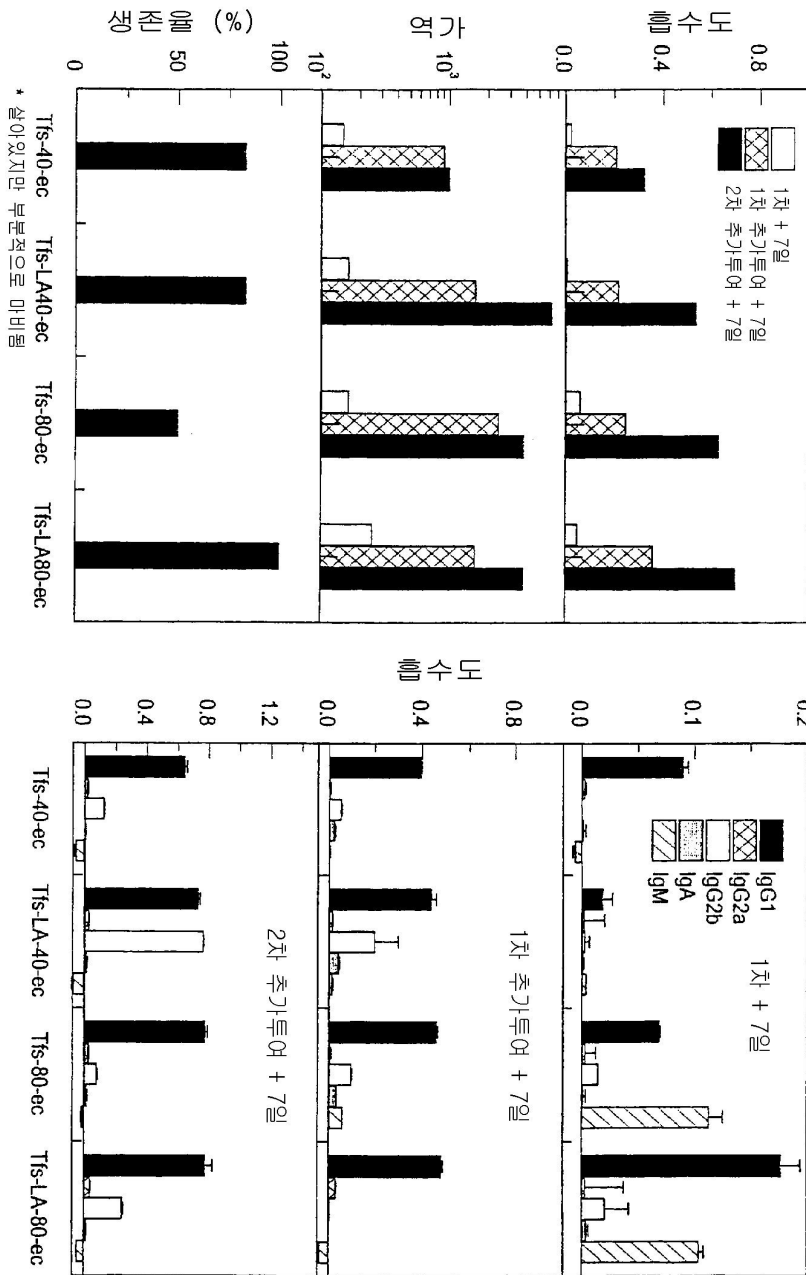
도면11b

전주입 효과



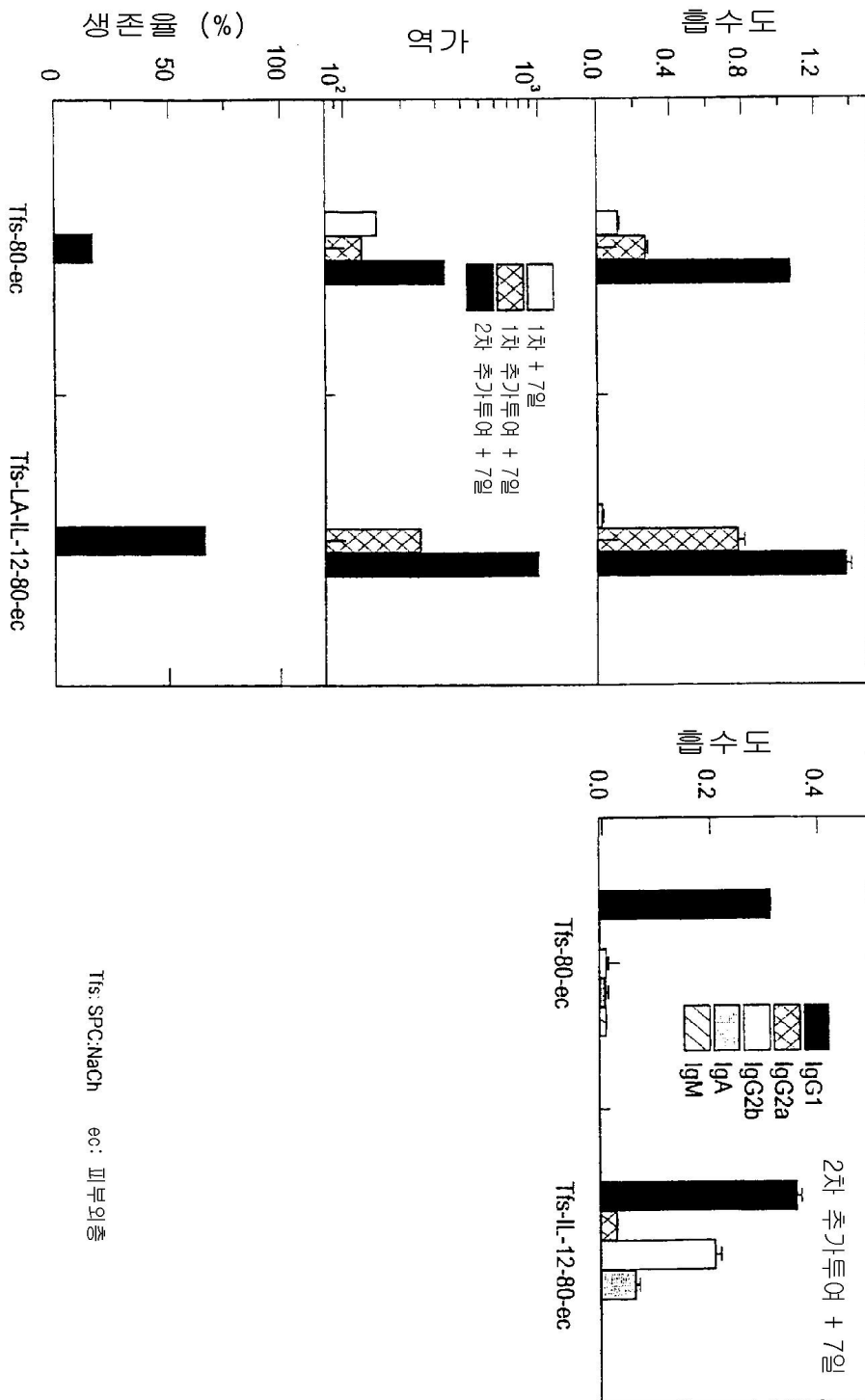
도면12

보조제 효과: 예를 들면 모노포스포릴 리피드 A (LA)

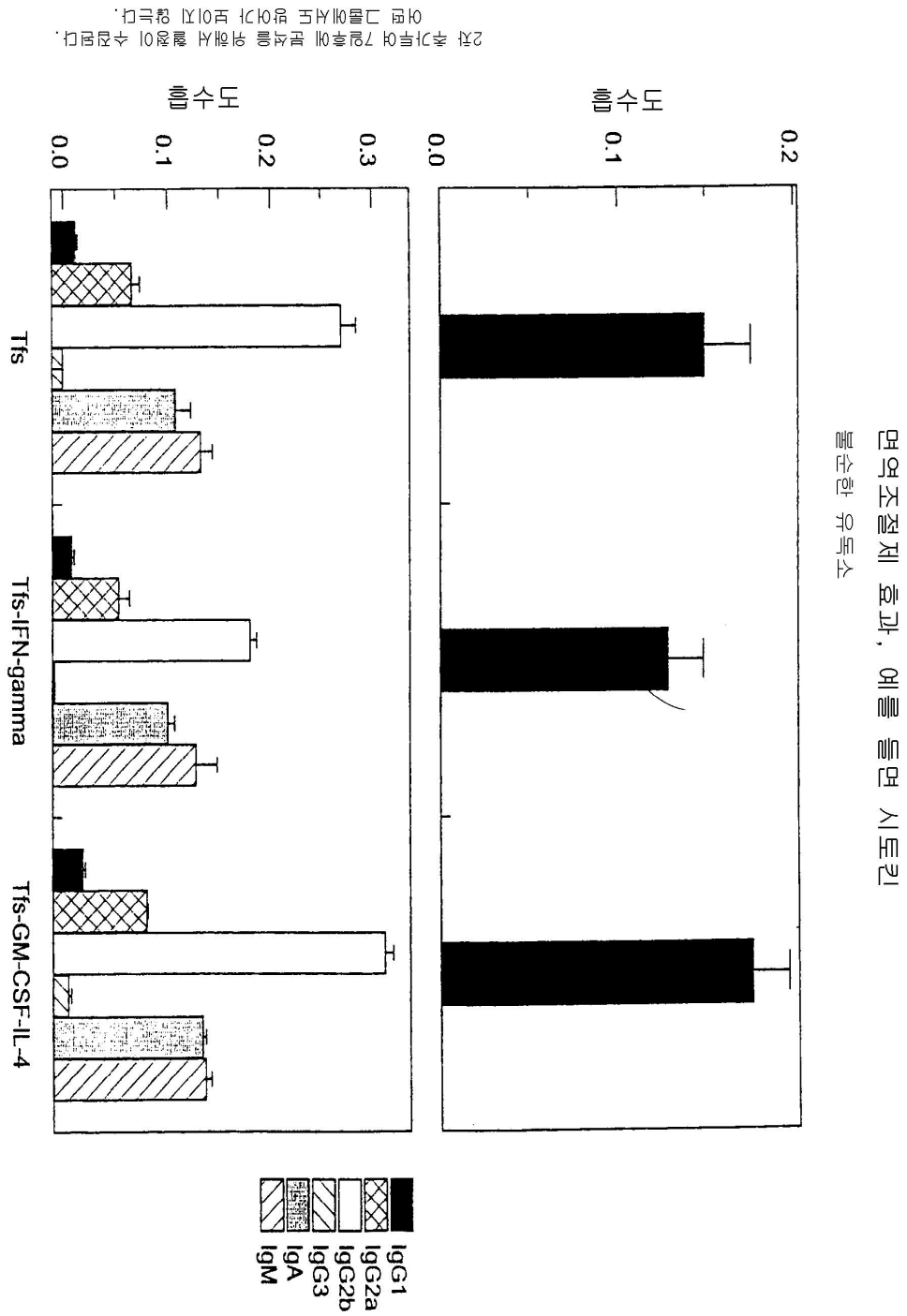


도면13

보조제 효과: 예를 들면 시토킨 IL-12



도면14



도면15

