



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2018년10월12일
 (11) 등록번호 10-1907411
 (24) 등록일자 2018년10월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 31/122* (2006.01)
A61K 47/24 (2017.01) *A61K 47/34* (2017.01)
A61K 9/10 (2006.01) *A61K 9/107* (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2012-7026782
 (22) 출원일자(국제) 2011년03월11일
 심사청구일자 2016년03월09일
 (85) 번역문제출일자 2012년10월12일
 (65) 공개번호 10-2014-0021467
 (43) 공개일자 2014년02월20일
 (86) 국제출원번호 PCT/US2011/028042
 (87) 국제공개번호 WO 2011/112900
 국제공개일자 2011년09월15일
 (30) 우선권주장
 61/313,632 2010년03월12일 미국(US)
 61/385,107 2010년09월21일 미국(US)
 (56) 선행기술조사문헌
 W02009126764 A1*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
베르그 엘엘씨
 미국 테네시주 37210 네쉬빌 엘름 힐 피크 1845
 (72) 발명자
나라인 니벤 라진
 미국 매사추세츠주 02142 캠프리지 스위트 2005
 씨드 스트리트 350
맥쿱 존 패트릭
 미국 텍사스주 75034 프리스코 서던 힐스 드라이브 4913
 (74) 대리인
장훈

전체 청구항 수 : 총 60 항

심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 **코엔자임 Q10(C o Q10)의 정맥내 제형 및 이의 사용 방법**

(57) 요약

본원에는 코엔자임 Q10과 같은 특성의 소수성 활성제의 비경구 투여에 적합한 제형이 기재되어 있다. 이를 제조하는 방법 및 이를 사용하여 중양성 질환을 치료하는 방법이 또한 본원에 제공된다. 당해 제형은 수용액; 분산되어 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하는 소수성 활성제; 및 분산 안정화제 및 흡소닌화 감소제 중 적어

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



좌측으로부터 우측으로 묘사되는 순서로 R, A, O 및 C 형태인 동결건조

도 하나를 포함하며, 여기서 활성제의 콜로이드성 나노-분산물이, 평균 크기가 200-nm 미만인 나노-분산 입자내로 분산된다. 비경구 제형을 제조하는 방법은 (1) 소수성 활성제를 65℃의 수욕에 가하여 혼합함으로써 소수성 활성제/물 혼합물을 형성하는 단계; (2) 분산 안정화제를 소수성 활성제/물 혼합물에 첨가하여 65℃에서 혼합함으로써 소수성 활성제/물/안정화제 혼합물을 형성하는 단계; (3) 음소닌화 감소제를 첨가하여 소수성 활성제/물/안정화제/음소닌화 감소제 혼합물을 형성하는 단계; (4) 미세유동화기를 65℃로 예비-가열하는 단계; 및 (5) 소수성 활성제/물/안정화제/음소닌화 감소제 혼합물을 미세유동화기 중에서 65℃에서 혼합함으로써 평균 입자 크기가 200-nm 미만인 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물이 형성되도록 가공하는 단계에 의한 고압 균질화에 의해 소수성 활성제를 분산시킴을 포함한다. 본원에는 또한 본원에 기술된 제형을 대상체에게 투여함으로써 종양성 질환의 치료 또는 예방이 이루어지도록 함으로써 종양성 질환을 치료하는 방법이 제공된다.

명세서

청구범위

청구항 1

대상체에 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형으로서,

수용액;

코엔자임 Q10(CoQ10)인 소수성 활성제;

디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC)인 분산 안정화제; 및

폴록사머 및 폴록사민으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 옴소닌화 감소제(opsonization reducer)를 포함하며,

여기서, 상기 코엔자임 Q10이 10 nm 내지 100 nm의 평균 크기를 갖는 입자의 콜로이드성 나노-분산물 내로 분산되는, 대상체에 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 옴소닌화 감소제가 폴록사머 188인, 제형.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물이 현탁물(suspension)인, 제형.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물이 유화물(emulsion)인, 제형.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10이 결정형인, 제형.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10이 초-냉각된(super-cooled) 용융물 형태인, 제형.

청구항 7

제2항에 있어서, 상기 제형이 각각 4%, 3% 및 1.5%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량(weight-per-volume)을 갖는, 제형.

청구항 8

제2항에 있어서, 상기 제형이 각각 8%, 6% 및 3%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는, 제형.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 30 nm 내지 80 nm인, 제형.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 35 nm 내지 40 nm인, 제형.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 10 nm 내지 45 nm인, 제형.

청구항 12

대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형으로서,

수용액;

코엔자임 Q10(CoQ10)인 소수성 활성제;

디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC)인 분산 안정화제; 및

폴록사머 및 폴록사민으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 옹소닌화 감소제(opsonization reducer)를 포함하며.

여기서, 상기 CoQ10이 10 nm 내지 100 nm 의 평균 크기를 갖는 리포솜내로 분산되는, 대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 리포솜이 단일 라멜라(unilamellar)인, 제형.

청구항 14

제12항에 있어서, 상기 리포솜이 2층(bi-layer)들 사이의 수성 공간과 2층들내 친지성 공간을 갖는 2층의 다중 라멜라(bi-layered multilamellar) 리포솜인, 제형.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 소수성 활성제가 상기 2층들의 친지성 공간내에 인트랩(entrap)되는, 제형.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 다중 라멜라 리포솜이 2층들 사이의 수성 공간내에 인트랩되는 친수성 제제를 추가로 포함하는, 제형.

청구항 17

대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형으로서,

수용액;

코엔자임 Q10(CoQ10); 및

디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC)을 포함하며, 여기서, 상기 CoQ10이 10 nm 내지 100 nm의 평균 크기를 갖는 입자의 콜로이드성 나노-분산물 내로 분산되는, 대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형.

청구항 18

제12항에 있어서, 상기 옹소닌화 감소제가 폴록사머 188인, 제형.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 제형이 각각 4%, 3% 및 1.5%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는, 제형.

청구항 20

제18항에 있어서, 상기 제형이 각각 8%, 6% 및 3%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는, 제형.

청구항 21

제17항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물이 현탁물인, 제형.

청구항 22

제17항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물이 유화물인, 제형.

청구항 23

제17항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10이 결정형인, 제형.

청구항 24

제17항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10이 초-냉각된 용융물 형태인, 제형.

청구항 25

제17항에 있어서, 상기 제형이 각각 4% 및 3%의 CoQ10 및 DMPC의 용적-당-중량(weight-per-volume)을 갖는, 제형.

청구항 26

제17항에 있어서, 상기 제형이 각각 8% 및 6%의 CoQ10 및 DMPC의 용적-당-중량을 갖는, 제형.

청구항 27

제17항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 30 nm 내지 80 nm인, 제형.

청구항 28

제17항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 35 nm 내지 40 nm인, 제형.

청구항 29

제17항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 10 nm 내지 45 nm인, 제형.

청구항 30

대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형으로서,

수용액;

코엔자임 Q10(CoQ10);

디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC); 및

폴록사머 188을 포함하며,

여기서, 상기 CoQ10이 10 nm 내지 100 nm의 평균 크기를 갖는 입자의 콜로이드성 나노-분산물 내로 분산되는, 대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물이 현탁물인, 제형.

청구항 32

제30항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물이 유화물인, 제형.

청구항 33

제30항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10이 결정형인, 제형.

청구항 34

제30항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10이 초-냉각된 용융물 형태인, 제형.

청구항 35

제30항에 있어서, 상기 제형이 각각 4%, 3% 및 1.5%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는, 제형.

청구항 36

제30항에 있어서, 상기 제형이 각각 8%, 6% 및 3%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는, 제형.

청구항 37

제30항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 30 nm 내지 80 nm인, 제형.

청구항 38

제30항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 35 nm 내지 40 nm인, 제형.

청구항 39

제30항에 있어서, 상기 나노-분산 입자의 평균 크기가 10 nm 내지 45 nm인, 제형.

청구항 40

대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형으로서,

수용액;

CoQ10;

디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC); 및

폴록사머 188을 포함하며,

여기서, 상기 CoQ10이 30 nm 내지 80 nm의 평균 크기를 갖는 입자의 콜로이드성 나노-분산물 내로 분산되는,

대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형.

청구항 41

제1항에 따른 치료학적 제형을 제조하는 방법으로서,

소수성 활성제를 65°C의 수욕에 가하여 혼합함으로써 소수성 활성제/물 혼합물을 형성하는 단계;

분산 안정화제를 상기 소수성 활성제/물 혼합물에 첨가하여 65°C에서 혼합함으로써 소수성 활성제/물/안정화제 혼합물을 형성하는 단계;

흡소닌화 감소제를 첨가하여 소수성 활성제/물/안정화제/흡소닌화 감소제 혼합물을 형성하는 단계;

미세유동화기를 65°C로 예비-가열하는 단계; 및

상기 소수성 활성제/물/안정화제/흡소닌화 감소제 혼합물을 상기 미세유동화기 중에서 65°C에서 혼합함으로써 평균 입자 크기가 10 nm 내지 100 nm인 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물이 형성되도록 가공하는 단계에 의한

고압 균질화에 의해 소수성 활성제를 분산시키는 것을 포함하는, 제1항에 따른 치료학적 제형을 제조하는 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 흡소닌화 감소제가 폴록사머 188인, 방법.

청구항 43

제41항에 있어서, 상기 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10이 초-냉각된 용융물의 형태인, 방법.

청구항 44

제42항에 있어서, 상기 제형이 각각 4%, 3% 및 1.5%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는, 방법.

청구항 45

제42항에 있어서, 상기 제형이 각각 8%, 6% 및 3%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는, 방법.

청구항 46

제41항에 있어서, 평균 입자 크기가 35 nm 내지 40 nm인 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물이 형성되는, 방법.

청구항 47

제41항에 있어서, 평균 입자 크기가 10 nm 내지 45 nm인 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물이 형성되는, 방법.

청구항 48

제41항에 있어서, 콜로이드성 나노-분산물을 동결건조시켜 CoQ10 콜로이드성 나노-분산 입자를 결정화시키는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 49

제48항에 있어서, 당, 폴리올 및 아미노산으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 동결보호제를 첨가하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 당이 락토스, 만노스, 말토스, 갈락토스, 프럭토스, 소르보스, 라피노스, 뉴라민산, 글루코사민, 갈락토사민, N-메틸글루코사민, 만니톨, 소르비톨, 아르기닌, 글리신 및 슈크로스로서 이루어진 그룹으로부터 선택되는 영양 당(nutritive sugar)인, 방법.

청구항 51

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체의 종양성 질환의 치료 또는 예방에 사용하기 위한, 치료학적 제형.

청구항 52

제51항에 있어서, 대상체내에서 종양성 질환이 치료되는 효능을 제공하기 위해 선택된 용량을 통해 정맥내 투여가 수행되는, 치료학적 제형.

청구항 53

제51항에 있어서, 상기 종양성 질환이 침투성(aggressive) 또는 전이성 종양성 질환인, 치료학적 제형.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 침투성 또는 전이성 종양성 질환이 췌장 암종, 간세포 암종, 유잉 육종(Ewing's sarcoma), 전이성 유방암, 전이성 흑색종, 뇌암(성상세포종, 교모세포종), 신경내분비암, 결장암, 폐암, 골육종, 안드로겐-비의존성 전립선암, 난소암 및 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's Lymphoma)으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 치료학적 제형.

청구항 55

제51항에 있어서, 상기 종양성 질환이 비-침투성 종양성 질환인, 치료학적 제형.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 비-침투성 종양성 질환이 비-전이성 유방암, 안드로겐-의존성 전립선암, 소 세포 폐암 및 급성 림프세포 백혈병으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 치료학적 제형.

청구항 57

제51항에 있어서, 상기 제형이 4%의 코엔자임 Q10, 3% DMPC 및 1.5% 폴록사머 188을 포함하는, 치료학적 제형.

청구항 58

제1항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체에서 종양 세포 성장을 억제하는데 사용하기 위한, 치료학적 제형.

청구항 59

제58항에 있어서, 대상체에서 종양 세포 성장을 억제하는 효능을 제공하기 위해 선택된 용량을 통해 정맥내 투여가 수행되는, 치료학적 제형.

청구항 60

제58항에 있어서, 상기 제형이 4%의 코엔자임 Q10, 3%의 DMPC 및 1.5%의 폴록사머 188을 포함하는, 치료학적 제형.

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본원은 2010년 3월 12일자로 출원된 "코엔자임 Q10(CoQ10)의 정맥내 제형 및 이의 사용 방법"이라는 명칭의 미국 가특허출원 제61/313,632호, 및 2010년 9월 21일자로 출원된 "코엔자임 Q10(CoQ10)의 정맥내 제형 및 이의 사용 방법"이라는 명칭의 미국 가특허출원 제61/385,107호에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 명확히 인용된다.

배경 기술

[0003] 배경

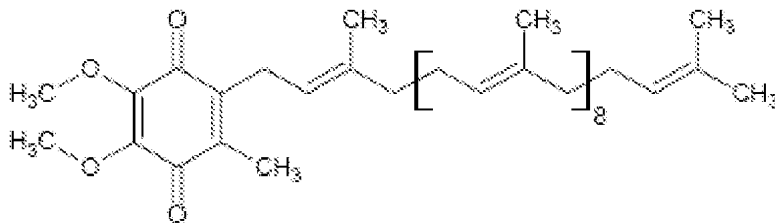
[0004] 암은 현재 개발도상국들에서 사망의 주요 원인들 중의 하나이다. 비록 최근의 연구는 종양발생의 분자 메커니즘들 중의 많은 것들에 대한 본 발명자들의 이해를 대단히 증가시켜왔으며 암의 치료를 위한 다수의 새로운 길들을 제공하여 왔으며, 대부분의 악성 암에 대한 표준 치료에는 교차 절제술, 화학 치료요법, 및 방사선 치료요법이 남아있다. 성공률이 증가한다고 해도, 이들 치료 각각은 다수의 바람직하지 않은 부작용을 유발할 수 있다. 예를 들면, 수술은 통증, 건강한 조직에 대한 외상적 손상 및 반흔(scarring)을 생성할 수 있다. 방사선 치료요법 및 화학 치료요법은 오심, 면역 억제, 위 궤양 및 2차 종양발생을 유발할 수 있다. 암을 포함하는 질환의 치료를 위한 개선된 방법, 및 질환 및 다른 상태의 치료시 보조하는 생물활성제를 전달할 수 있는 조성물이 여전히 요구되고 있다.

[0005] 암을 포함하는 병태에 대해 병원에서 환자에게 투여된 모든 약물 중 대략 60%가 주사의 형태로 제공된다. 현재 정맥내 제형은 약물용 비히클(vehicle)로서 주요 역할을 갖는다. 정맥내 제형은, 신뢰성, 정확성, 편의성, 경구 투여된 약물의 위 자극 잠재성의 회피, 및 연속적일 뿐만 아니라 간헐적인 약물 치료요법의 중요성으로 인하여, 약물의 투여시 보다 큰 용도가 밝혀지고 있다. 정맥내 투여를 제공하는 기술은 지난 10년 동안 점진적으로 개선되어 왔으며, 이러한 정맥내 제형의 사용은 매년 증가해 왔다.

[0006] 국제 특허 출원 공보 제W0/2009/126764호(2009년 4월 9일자로 출원됨)는 CoQ10을 사용한 암의 치료를 기재하고 있다. 당해 출원은 이의 전문이 참조로 본원에 인용되어 있다.

[0007] CoQ10은, 약물이 극도로 친지성이며 물 중에서 실질적으로 불용성이 되도록 하는 10개의 이소프레노이드 단위의 장 측쇄를 갖는다. 경구적으로 투여된 CoQ10의 생체 이용률(bioavailability)은 일반적으로 극도로 낮으며 가변성이고 제형의 용해율과 관련된 것으로 밝혀졌다. 낮은 경구적 생체 이용률, 및 이의 고유의 고 가변성의 결과로서, 정맥내 투여 시스템은 특히 암 환자의 보호시 특별한 관심이 있다. 이의 친지성으로 인하여, CoQ10은 정맥내 투여용 담체내로 도입됨으로써 이의 약동학이 담체 시스템에 의해 영향받도록 할 필요가 있다.

[0008] 본원에서 또한 CoQ10, 유비퀴논, 또는 유비데카레논으로 언급되는 코엔자임 Q10은 인기있는 영양 보충물이며, 영양식품 매장, 건강식품 매장, 약국 등에서 CoQ10의 환원된 형태인, 유비퀴놀의 항산화제 특성을 통해 면역계를 보호하는데 도움을 주는 비타민-유사 보충제로서 캡슐 형태로 발견될 수 있다. CoQ10은 사람 신체의 대부분의 조직 및 다른 포유동물의 조직 전체에서 발견되며, 미토콘드리아에 농축되어 있다. CoQ10은 매우 친지성이며, 대부분의 경우, 물에 불용성이다. 이러한 불용성은 CoQ10의 다음 구조식에서 나타난 바와 같이 탄화수소 특성의, 탄소 원자수 50개의 이소프레노이드 측쇄와 관련되어 있다.



[0009]

[0010] 고도로 소수성인 CoQ10은 수용액 중에서 필수적으로 불용성이다. 비경구적으로 투여될 CoQ10의 경우, 이는 예를 들면, 정맥내 주사와 혼용성인 안정한 제형내에 함유되어야만 한다. 수성 매질 중의 CoQ10의 정맥내 제형을 제조하기 위한 하나의 접근법은 수성 매질 중에 CoQ10의 입자의 분산을 생성하도록 할 수 있는 하나 이상의 계면활성제 및 다른 실체의 혼입을 필요로 한다. 이러한 접근법과 관련하여 많은 곤란성들이 존재한다. 주요 곤란성은, CoQ10이 약 50°C 미만의 온도에서 고체라는 사실과 관련되어 있다. 수성 매질 중에서 CoQ10의 고체 입자의 분산은 임상 적용을 위해 약 2년까지 안정성을 갖는 안전한 제형의 제조에 있어서의 곤란함을 포함한다. 이러한 고체 입자 분산이 시도되어 왔지만, 정치시, CoQ10을 함유하는 입자는 용기의 바닥으로 떨어지고, 교반 또는 진탕에 의한 재분산은 의학적 용도에 대한 요건을 충족시키지 않는다. 성공적인 제형은 약 2년까지 화학적 및 물리적 안정성을 가져야 하며 임상 용도를 위한 정확한 투약을 제공하여야 한다. 두번째 주요 곤란성은 정맥내 투여시 혈류내 입자 분리 또는 침전을 초래하지 않는 제형을 갖는 것이다. 이러한 분리는 혈류에 치명적일 수 있으며 잠재적으로 생명을 위협할 수 있다.

[0011] CoQ10의 생체 이용률을 향상시키기 위한 목적을 갖는 다수의 상이한 제형들을 특허 문헌에서 찾을 수 있다. Taki 및 Takahira는 EP 제23349호(81년 2월 4일)에서, 경구 투여된 CoQ10의 림프선 흡착이 장쇄 지방산 및 모노글리세라이드의 동시투여에 의해 증가됨을 기재하고 있다. CoQ10의 유성(계면활성제) 용액을 함유하는 캡슐제의 투여에 의한 장 흡수의 증가는 제WO 8604503 A1호(86년 8월 14일 공개), JP 제63188623 A2호(88년 8월 4일 공개), JP 제62067019 A2호(87년 3월 26일 공개), JP 제59148735 A2호(84년 8월 25일 공개) 및 JP 제56012309호(81년 2월 6일 공개)와 같은 상이한 특허에 기재되어 있다. 미셀 용액 중 CoQ10의 가용화는 EP 제522433 A1호(1993년 1월 13일 공개), 제WO 8803019 A1호(1988년 5월 5일 공개), 및 JP 제59148718 A2호(1984년 8월 25일 공개)에 기술되어 있다. 우에노(Ueno) 등은 문헌[참조: Acta Pharm. Nord., 1 (1989) 99-104]에서 β-사이클로덱스트린과의 복합체 중 CoQ10의 혼입에 의한 경구적 생체 이용률의 증가를 보고하고 있다. 유사한 제형이 JP 제56109590 A2호(1981년 8월 31일 공개)에 기재되어 있다. 또한, 유화물 중 CoQ10의 혼입은 예를 들면, Yano 등의 EP 제494654 A2호(1992년 7월 15일 공개)에 의해 기술된 바와 같이 장 흡수를 향상시키는 것으로 보고되어 있다. 무정형의 물리학적 상태, 특히 초-냉각된 용융물 상태의 CoQ10 입자는 미국 특허 제6,197,349호(2001년 3월 6일 허여됨) 및 제6,207,178호(2001년 3월 27일자로 허여됨)에 기술되어 있다.

[0012] 비경구, 특히 정맥내 투여에 있어서, CoQ10은, 이것이 CoQ10의 친지성으로 인하여 이의 치료학적 농도를 갖는 수용액을 제조하는 것이 불가능하기 때문에 담지 비히클내로 혼입되어야 한다. 유비데카레논의 정맥내 투여를 위한 레시틴 안정화된 대두 오일 유화물이 Groke 및 Polzer의 문헌(1987년 1월 22일자로 공개된 DE 제3524788 A1호), Sugio 등의 문헌(참조: 1987년 6월 4일자로 공개된 JP 제62123113 A2호) 및 또는 Mizushima 등의 문헌(1985년 10월 9일자로 공개된 JP 제60199814 A2호)에 기재되어 있다. JP 제63319046 A2호(1988년 12월 27일자로 공개됨)는 다당류에 의해 피복된 대두 오일 유화물 비히클을 기술하고 있다. 그러나, 유화물 중에 혼입될

수 있는 CoQ10의 농도는 식물성 유지 중에서 CoQ10의 상대적으로 난용성으로 인하여 제한된다.

- [0013] 달걀 레시틴 및 콜레스테롤 함유 유비데카레논의 리포솜 제제는 EP 제69399 A2호(1983년 1월 12일자로 공개됨)에 기재되어 있다. 다당류-개질된 리포솜은 예를 들면, EP 제94692 A1호(1983년 11월 23일자로 공개됨), JP 제60001124 A2호(1985년 1월 7일자로 공개됨) 및 JP 제63313727 A2호(1988년 12월 21일자로 공개됨)에 기술되어 있다.
- [0014] 그러나, 약물을 담체 시스템내로 혼입하는 것의 단점은, 체내 분포(biodistribution)가 담체의 체내 분포, 이의 RES 활성화 및 담체 비히클로부터의 약물 방출에 의해 영향을 받으므로, 물질의 약동학에 있어서 바람직하지 않은 변화 및/또는 유의적인 가변성이 유발될 것이라는 점일 수 있다. Bogentoft 등은 문헌[참조: Folkers K., Littaru G. P., Yamagami T., (Eds.), Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q. Vol. 6. Elsevier 1991, pp. 215-224]에서, 혼합된 미셀 시스템 또는 유화물 비히클 각각으로 정맥내 투여된 경우 유비데카레논이 RES 기관내에 축적됨을 관찰하였다. 또한, 담체 중의 생활성 물질의 가용성은 흔히 제형의 허용가능한 용적에서 치료학적 용량을 획득하기에는 너무 낮다. 또한, 담체 입자 자체의 독성 부작용은 특히 비경구 지질 유화물에 대한 문헌에서 논의되어 왔다[참조: Hajri T. et al., Biochim. Biophys. Acta 1047 (1990) 121-130; Connelly P. W. et al.; Biochim. Biophys. Acta 666 (1981) 80-89; Aviram M. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 155 (1988) 709-713; Singh M. et al.; J. Parenter. Sci. Technol. 40 (1986) 34-40; Cotter R. et al., Am J. Clin. Nutr. 41 (1985) 994-1001; Untracht S., Biochim. Biophys. Acta 711 (1982) 176-192].
- [0015] CoQ10은 당해 약물의 약제학적 제형과 관련하여 문제가 되는 물질이다. 입자 크기를 감소시키는 것이 필요한 CoQ10의 약제학적 정맥내 제제에 대해, 전통적인 방법들은 성공적이지 못했다. 예를 들면, 코엔자임 Q10의 비-파쇄 특성 및 저 용점으로 인하여, 볼-밀(ball-mill), 해머 밀(hammer mill), 제트 밀(jet mill), 또는 극저온 성 밀링(cryogenic milling) 등을 사용한 재료의 미분화(micronization)가 가능하지 않았다.

발명의 내용

- [0016] **발명의 요약**
- [0017] 본 발명은 임상적으로 효과적인 혈액 수준의 코엔자임 Q10(또한 본원에서 CoQ10 또는 Q10으로 언급됨)을 생산하기 위해 대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 안정하고 무-독성인 CoQ10 제형을 포함한다.
- [0018] 본 발명은 또한 임상적으로 효과적인 혈액 수준의 CoQ10을 생산하기 위해 대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 안정하고 무-독성인 CoQ10 제형을 제조하는 방법을 포함한다.
- [0019] 본원에 특허청구된 본 발명의 특징의 비-제한적 실시형태에서, 대상체에게 정맥내 투여하기에 적합한 치료학적 제형을 제공한다. 특정 실시형태에서, 치료학적 제형은 수용액, 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하기 위해 분산된 소수성 활성제; 및 분산 안정화제 및 옵소닌화 감소제(opsonization reducer) 중 적어도 하나를 포함한다. 활성제의 콜로이드성 나노-분산물은, 크기가 200nm 미만인 나노-분산 입자내로 분산된다. 일부 실시형태에서, 분산 안정화제는 천연 또는 반합성 인지질로부터 선택된다. 예를 들면, 적합한 안정화제는 폴리에톡실화된(즉, 페길화된(pegylated)) 피마자 오일(Cremophor[®] EL), 폴리에톡실화되고 수소첨가된 피마자 오일(Cremophor[®] RH 40), 토코페롤 폴리에틸렌 글리콜 석시네이트(페길화된 비타민 E, 비타민 E TPGS), 소르비탄 지방산 에스테르(Spans[®]), 담즙산 및 담즙산 염 또는 디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 안정화제는 DMPC이다.
- [0020] 특정 실시형태에서, 옵소닌화 감소제는 폴록사민 및 폴록사머 중에서 선택된다. 적합한 폴록사머는 폴록사머 188을 포함한다. 일부 실시형태에서, 옵소닌화 감소제는 폴록사머 188이다.
- [0021] 일부 실시형태에서, 소수성 활성제는 코엔자임 Q10(즉, CoQ10, 유비데카레논, 유비퀴논 등)이다.
- [0022] 일부 실시형태에서, 소수성 활성제는 CoQ10이고, 옵소닌화 감소제는 폴록사머 188이며 분산 안정화제는 DMPC이다.
- [0023] 특정 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물은 현탁물이다.
- [0024] 특정 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물은 유화물이다.

- [0025] 일부 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 활성제는 결정형이다.
- [0026] 일부 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 활성제는 초-냉각된 용융물 형태이다.
- [0027] 제형이 각각 4%, 3% 및 1.5%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머의 용적-당-중량(weight-per-volume)을 갖는 실시형태들이 또한 제공된다. 다른 실시형태에서, CoQ10, DMPC 및 폴록사머의 용적-당-중량은 각각 8%, 6% 및 3.0%이다.
- [0028] 일부 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 10-nm 내지 약 200-nm이다.
- [0029] 일부 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 10-nm 내지 약 100-nm이다.
- [0030] 일부 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 30-nm 내지 약 80-nm이다.
- [0031] 일부 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 35-nm 내지 약 40-nm이다.
- [0032] 일부 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 45-nm 미만이다.
- [0033] 특정 실시형태에서, 제형은 수용액, 분산되어 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하는 소수성 활성제; 및 분산 안정화제 및 흡소닌화 감소제 중 적어도 하나를 포함한다. 활성제의 콜로이드성 나노-분산물은, 크기가 200-nm 미만인 리포솜내로 분산된다.
- [0034] 일부 실시형태에서, 분산 안정화제는 단일 라멜라(unilamellar)인 리포솜을 형성한다. 다른 실시형태에서, 리포솜은 2층(bi-layer)들 사이의 수성 공간과 2층들내 친지성 공간을 갖는 2층의 다중 라멜라(multilamellar) 리포솜이다. 다른 실시형태에서, 소수성 활성제는 2층의 친지성 공간 내에 인트랩된다(entrap). 다른 실시형태에서, 다중 라멜라 리포솜은 또한 2층 사이의 수성 공간 내에 인트랩된 친지성 제제를 포함한다.
- [0035] 특정 실시형태에서, 제형은 수용액; 분산되어 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하는 소수성 활성제; 및 DMPC 및 흡소닌화 감소제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 흡소닌화 감소제는 폴록사머 및 폴록사민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 흡소닌화 감소제는 폴록사머 188이다. 일부 실시형태에서, 소수성 활성제는 코엔자임 Q10(CoQ10)이다. 일부 실시형태에서, 소수성 활성제는 코엔자임 Q10 (CoQ10)이고 흡소닌화 감소제는 폴록사머 188이다. 일부 실시형태에서, 제형은 각각 4%, 3% 및 1.5%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 갖는다. 일부 실시형태에서, 제형은 각각 8%, 6% 및 3%의 CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적당 중량을 갖는다. 일부 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물은 현탁물이다. 다른 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물은 유화물이다. 일부 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 활성제는 결정형이다. 다른 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 활성제는 초-냉각된 용융물 형태이다.
- [0036] 일부 실시형태에서, 제형은 수용액; 분산되어 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하는 소수성 활성제; 및 DMPC를 포함한다. 활성제의 콜로이드성 나노-분산물은, 평균 크기가 200-nm 미만인 나노-분산 입자내로 분산된다. 일부 실시형태에서, 소수성 활성제는 코엔자임 Q10 (CoQ10)이다. 일부 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물은 현탁물이다. 다른 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물은 유화물이다. 일부 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 활성제는 결정형이다. 다른 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 활성제는 초-냉각된 용융물 형태이다. 일부 실시형태에서, 제형은 각각 4% 및 3%의 CoQ10 및 DMPC의 용적-당-중량을 갖는다. 다른 실시형태에서, CoQ10 및 DMPC의 용적-당-중량은 각각 8% 및 6%이다. 일부 실시형태에서 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 10-nm 내지 약 200-nm이다. 다른 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 10-nm 내지 약 100-nm이다. 다른 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 30-nm 내지 약 80-nm이다. 다른 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 35-nm 내지 약 40-nm이다. 다른 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 45-nm 미만이다.
- [0037] 특정 실시형태에서, 제형은 수용액; 분산되어 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하는 CoQ10; 폐길화된 피마자 오일, 크레모포르(Cremophor) EL, 크레모포르 RH40, 폐길화된 비타민 E TPGS 및 디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 분산 안정화제; 및 폴록사머 및 폴록사민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 흡소닌화 감소제를 포함한다. CoQ10의 콜로이드성 나노-분산물은, 평균 크기가 약 10-nm 내지 약 100-nm인 나노-분산 입자내로 분산된다.
- [0038] 특정 실시형태에서, 제형은 수용액; 분산되어 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하는 CoQ10; DMPC; 및 폴록사머 188을 포함한다. CoQ10의 콜로이드성 나노-분산물은, 평균 크기가 30-nm 내지 80-nm인 나노-분산 입자내로 분산된다.

- [0039] 특정 실시형태에서, 정맥내 투여에 적합한 CoQ10 나노-분산물의 제조를 위한 방법들이 제공된다. 일부 실시형태에서, 당해 방법은 (1) 소수성 활성제를 65°C의 수욕에 가하여 혼합함으로써 소수성 활성제/물 혼합물을 형성하는 단계; (2) 분산 안정화제를 소수성 활성제/물 혼합물에 첨가하여 65°C에서 혼합함으로써 소수성 활성제/물/안정화제 혼합물을 형성하는 단계; (3) 읍소닌화 감소제를 첨가하여 소수성 활성제/물/안정화제/읍소닌화 감소제 혼합물을 형성하는 단계; (4) 미세유동화기를 65°C로 예비-가열하는 단계; 및 (5) 소수성 활성제/물/안정화제/읍소닌화 감소제 혼합물을 미세유동화기 내에서 65°C에서 혼합함으로써 평균 입자 크기가 200-nm 미만인 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물이 형성되도록 가공하는 단계에 의한 고압 균질화에 의해 소수성 활성제를 분산시킴을 포함한다.
- [0040] 일부 실시형태에서, 당해 방법은 콜로이드성 나노-분산물을 동결건조시켜 CoQ10 콜로이드성 나노-분산 입자를 결정화시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0041] 일부 실시형태에서, 당해 방법은 동결보호제(lyoprotectant)를 첨가하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 동결보호제는 영양 당이다. 일부 실시형태에서, 영양 당은 락토스, 만노스, 말토스, 갈락토스, 프럭토스, 소르보스, 라피노스, 뉴라민산, 글루코사민, 갈락토사민, N-메틸글루코사민, 만니톨, 소르비톨, 아르기닌, 글리신 및 슈크로스도 이루어진 그룹으로부터 선택된다.
- [0042] 일부 실시형태에서, 당해 방법은 폐길화된 피마자 오일, 크레모포르 EL, 크레모포르 RH40, 폐길화된 비타민 E, 비타민 E TPGS 및 디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 분산 안정화제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 분산 안정화제는 DMPC이다. 일부 실시형태에서, 읍소닌화 감소제는 폴록사머 및 폴록사민으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 읍소닌화 감소제는 폴록사머 188이다. 일부 실시형태에서, 읍소닌화 감소제는 폴록사머 188이고 분산 안정화제는 DMPC이다. 일부 실시형태에서, 소수성 활성제는 CoQ10이다. 일부 실시형태에서, 소수성 활성제는 CoQ10이고, 읍소닌화 감소제는 폴록사머 188이며 분산 안정화제는 DMPC이다. 일부 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10은 초-냉각된 용융물의 형태이다. 다른 실시형태에서, 콜로이드성 나노-분산물의 CoQ10은 결정형이다.
- [0043] 일부 실시형태에서, 본 방법으로부터 생성되는 제형은 수용액; 분산되어 입자의 콜로이드성 나노-분산물을 형성하는 소수성 활성제; 및 분산 안정화제 및 읍소닌화 감소제 중 적어도 하나를 포함한다. 활성제의 콜로이드성 나노-분산물은, 평균 입자 크기가 200-nm 미만인 나노-분산 입자로 분산된다. 일부 실시형태에서, CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량은 각각 4%, 3% 및 1.5%이다. 다른 실시형태에서, CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량은 각각 8%, 6% 및 3%이다. 일부 실시형태에서, 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물의 평균 입자 크기는 약 10-nm 내지 약 100-nm이다. 다른 실시형태에서, 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물은, 평균 입자 크기가 약 35-nm 내지 40-nm이다. 다른 실시형태에서, 소수성 활성제 콜로이드성 나노-분산물은, 평균 입자 크기가 45-nm 미만이다.
- [0044] 하나의 실시형태에서, 제형은 혈액과 등-삼투압성(iso-osmotic)인 표준 약제학적 비경구 희석제로 사용 전에 희석시킨다. 적합한 비경구 희석제의 비-제한적 예는 N 염수, 5% 텍스트로스, 락테이트화된 링거액(lactated ringer's solution), 및 인산염 완충된 염수(PBS)를 포함한다. 희석된 제형, 즉, 주입제는 4시간 또는 이 보다 짧은 기간에 걸쳐 투여될 수 있다. 주입은 느린 점적 주입으로서 또는 계량된 펌핑 시스템에 의해 간헐적으로 또는 연속적으로 투여될 수 있다. 이러한 주입은 1 내지 5 마이크론 여과기와 같은 여과기를 사용하여 사용 전에 즉시(in line) 여과할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 주입용 멸균 생성물로 제조되며, 여기서 멸균은 여과, 오토클레이빙(autoclaving), 방사선 등에 의해 달성된다. 각종 멸균 방법이 당해 분야에 공지되어 있다. 하나의 실시형태에서, 제형은 내독소가 포함되지 않도록 제조된다. 하나의 실시형태에서, 제형은, 전염가능한 해면 뇌염(spongiform encephalitis: BSE/TSE)의 경우일 수 있는 유기체를 포함하지 않도록 제조된다.
- [0045] 대상체에서 종양성 질환의 치료 또는 예방을 위한 방법들이 또한 제공된다. 일부 실시형태에서, 대상체에서 종양성 질환을 치료하거나 예방하는 방법은 본원에 기술된 바와 같은, 치료학적 제형을 대상체에게 정맥내 투여하여 종양성 질환의 치료 또는 예방이 이루어지도록 함을 포함한다. 일부 실시형태에서, 정맥내 투여는 치료되는 종양성 질환에 대해 대상체에서 효능을 제공하기 위해 선택된 용량을 통한다. 일부 실시형태에서, 종양성 질환은 공격적인 또는 전이성 종양성 질환이다. 일부 실시형태에서, 공격적 또는 전이성 종양성 질환은 췌장 암종, 간세포 암종, 윙웁 육종(Ewing's sarcoma), 전이성 유방암, 전이성 흑색종, 뇌암(성상세포종, 교모세포종), 신경내분비암, 결장암, 폐암, 골육종, 안드로겐-비의존성 전립선암, 난소암 및 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's Lymphoma)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 다른 실시형태에서, 종양성 질환은 비-침투성 종양성 질환이다. 일부 실시형태에서, 비-침투성 종양성 질환은 비-전이성 유방암, 안드로겐-의존성 전립선암, 소 세포 폐암

및 급성 림프세포 백혈병으로 이루어진 그룹으로부터 선택된다.

[0046] 치료 방법의 일부 실시형태에서, 제형은 약 4%의 코엔자임 A10, 약 3% DMPC 및 약 1.5% 폴록사머 188을 포함한다.

[0047] 특정 실시형태에서, 대상체에서 종양 세포 성장을 억제하기 위한 방법들이 제공된다. 일부 실시형태에서, 당해 방법은 본원에 기술된 바와 같은 치료학적 제형을 대상체에게 투여하여 종양 세포 성장을 억제시킴을 포함한다. 일부 실시형태에서, 정맥내 투여는 대상체에서 종양 세포 성장을 억제하는데 있어서 효능을 제공하기 위해 선택된 용량을 통한다. 일부 실시형태에서, 당해 제형은 약 4%의 코엔자임 Q10, 약 3%의 DMPC 및 약 1.5%의 폴록사머 188을 포함한다.

[0048] 일부 실시형태에서, 종양성 질환은 단백질의 Bcl-2 계열의 조절장애와 관련되거나 연합된 종양학적 병태이다.

도면의 간단한 설명

[0049] 본 기재내용의 각종 실시형태는 도면을 참조로 하기 본원에 기술될 것이며, 여기서:

도 1은 좌에서 우로 묘사한 바와 같이 형태 R, A, O 및 C로서 표지된 CoQ10 나노-입자의 동결건조된 시료를 나타내며, 여기서 형태 R, O 및 C는 각각 균질화 공정을 통해 20회 통과시켰지만, 형태 A는 균질화 공정을 통해 40회 통과시켰다.

도 2는 좌에서 우로 나타낸 바와 같이 형태 G, Q, S 및 T로 표지된 CoQ10 나노-입자의 동결건조된 시료를 나타내며, 여기서 형태 G, Q, S 및 T는 균질화 공정을 통해 각각 20회 통과시켰다.

도 3은 좌에서 우로 나타낸 것으로서 형태 U 및 V로서 표지된 CoQ10 나노-입자의 동결건조된 시료를 나타내며, 여기서 형태 U 및 V는 균질화 공정을 통해 각각 20회 통과시켰다.

도 4는 동결건조된 시료 형태 A에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 5는 동결건조된 시료 형태 C에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 6은 동결건조된 시료 형태 G에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 7은 동결건조된 시료 형태 O에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 8은 동결건조된 시료 형태 Q에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 9는 동결건조된 시료 형태 R에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 10은 동결건조된 시료 형태 S에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 11은 동결건조된 시료 형태 T에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 12는 동결건조된 시료 형태 U에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 13은 동결건조된 시료 형태 V에 대한 XRDP 패턴을 나타내며 CoQ10 벌크 물질로부터 취득된 패턴과 겹쳐져 있다.

도 14는 콜로이드성 나노-입자에 대한 가공 시간의 효과를 나타내며, 여기서 CoQ10은 2.5g이고, DMPC는 1.5g이며, 46 mL의 물 중에 균질화되어 있다.

도 15는 본원에 기재된 방법에 의해 형성된 리포솜을 나타내며, 여기서 리포솜은 이-층의 단일 라멜라 리포솜 (bi-layered multi-lamellar liposome)이다.

- 도 16은 본원에 기재된 방법으로 형성된 리포솜을 나타내며, 여기서 리포솜은 이-층의 다중-라멜라 리포솜이다.
- 도 17은 콜로이드성 나노-입자의 크기에 대한 통과 횟수의 효과를 나타내며, 여기서 CoQ10:DMPC:폴록사머의 제형 비는 4:1:0, 4:2:0 및 4:3:0이다.
- 도 18은 콜로이드성 나노-입자의 크기에 대한 통과 횟수의 효과를 나타내며, 여기서 CoQ10:DMPC:폴록사머의 제형 비는 4:1:1, 4:2:1 및 4:3:1이다.
- 도 19는 콜로이드성 나노-입자의 크기에 대한 통과 횟수의 효과를 나타내며, 여기서 CoQ10:DMPC:폴록사머의 제형 비는 4:3:0.5, 4:3:1 및 4:3:1.5이다.
- 도 20은 콜로이드성 나노-입자의 크기에 대한 통과 횟수의 효과를 나타내며, 여기서 CoQ10:DMPC:폴록사머의 제형 비는 4:2:0.5, 4:2:1 및 4:2:1.5이다.
- 도 21은 폴록사머를 포함하지 않는 제형 I의 투여를 기준으로 한 시간(분)에 대한 혈장 중의 CoQ10의 평균 농도를 그래프 형태로 나타낸다.
- 도 22는 폴록사머를 포함하는 제형 II의 투여를 기준으로 한 시간(분)에 대한 혈장 중의 CoQ10의 평균 농도를 그래프 형태로 나타낸다.
- 도 23은 화학 치료요법 단독과 비교시 및 화학 치료요법과 함께 비교시 4:3:1.5 비의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188을 사용한 악성 녹색종의 간 클론(liver clone)을 치료하는데 있어서 CoQ10 나노-입자의 IV 제형의 효능을 그래프 형태로 나타낸다.
- 도 24는 화학 치료요법 단독과 비교시 및 화학 치료요법과 함께 비교시 4:3:1.5 비의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188을 사용한 악성 녹색종의 폐 클론을 치료하는데 있어서 CoQ10 나노-입자의 IV 제형의 효능을 그래프 형태로 나타낸다.
- 도 25는 HepG2 세포에 대한 2개의 CoQ10 IV 제형의 효과를 해독된 정보로서 OCR을 사용하여 그래프 형태로 나타낸다. 제형 I은 4:3:0의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었고, 제형 II는 4:3:1.5의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었다.
- 도 26은 MCF-7 세포에 대한 2개의 CoQ10 IV 제형의 효과를 해독된 정보로서 OCR을 사용하여 그래프 형태로 나타낸다. 제형 I은 4:3:0의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었고, 제형 II는 4:3:1.5의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었다.
- 도 27은 PC-3 세포에 대한 2개의 CoQ10 IV 제형의 효과를 해독된 정보로서 OCR을 사용하여 그래프 형태로 나타낸다. 제형 I은 4:3:0의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었고, 제형 II는 4:3:1.5의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었다.
- 도 28은 PaCa2 세포에 대한 2개의 CoQ10 IV 제형의 효과를 해독된 정보로서 OCR을 사용하여 그래프 형태로 나타낸다. 제형 I은 4:3:0의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었고, 제형 II는 4:3:1.5의 CoQ10:DMPC:폴록사머 188이었다.
- 도 29는 치료 후 24시간째에 겔 1(gel 1) 중의 카스파제의 수준을 측정하기 위한 웨스턴 블롯(western blot)을 나타낸다.
- 도 30은 치료 후 24시간째에 겔 1 중의 액틴의 수준을 측정하기 위한 웨스턴 블롯을 나타낸다.
- 도 31은 치료 후 24시간째에 겔 2 중의 카스파제의 수준을 측정하기 위한 웨스턴 블롯을 나타낸다.
- 도 32는 치료 후 24시간째에 겔 2 중의 액틴의 수준을 측정하기 위한 웨스턴 블롯을 나타낸다.
- 도 33은 PC3에서 관찰된 정규화된 카스파제 3 단백질의 수준을 나타낸다.
- 도 34는 PaCa2에서 관찰된 정규화된 카스파제 3 단백질의 수준을 나타낸다.
- 도 35는 HepG2 세포에서 관찰된 정규화되지 않은 카스파제 3 단백질의 수준을 나타낸다.
- 도 36는 HDfa 세포에서 관찰된 정규화된 카스파제 3 단백질의 수준을 나타낸다.
- 도 37은 MiaPACA2 연구에서 치료되지 않은 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 38은 MiaPACA2 연구에서 치료되지 않은 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 39는 MiaPACA2 연구에서 부형제 대조군으로 치료된 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 40은 약 4시간에 걸쳐 정맥내 주입 투여를 통한 0.5 mg/kg의 4:3:1.5의 CoQ10 IV 제형을 사용한 MiaPACA2 연구에서 치료된 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 41은 약 4시간에 걸쳐 정맥내 주입 투여를 통한 5 mg/kg의 4:3:1.5의 CoQ10 IV 제형을 사용한 MiaPACA2 연구에서 치료된 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 42는 약 4시간에 걸쳐 정맥내 주입 투여를 통한 10 mg/kg의 4:3:1.5의 CoQ10 IV 제형을 사용한 MiaPACA2 연구에서 치료된 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 43은 약 4시간에 걸쳐 정맥내 주입 투여를 통한 25 mg/kg의 4:3:1.5의 CoQ10 IV 제형을 사용한 MiaPACA2 연구에서 치료된 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 44는 약 4시간에 걸쳐 정맥내 주입 투여를 통한 50 mg/kg의 4:3:1.5의 CoQ10 IV 제형을 사용한 MiaPACA2 연구에서 치료된 NSG 마우스의 결과를 나타낸다.

도 45는 단독 치료요법 독소루비신으로 치료한 마우스의 생존 결과를 나타낸다.

도 46은 독소루비신 및 4:3:1.5의 CoQ10 IV 제형의 병용 치료요법을 사용하여 치료한 마우스의 생존 결과를 나타낸다.

도 47은 수컷 및 암컷 래트 및 개에 대한 CoQ10 대 용량의 평균 간 농도를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0050] 상세한 설명

[0051] 본 발명은 난용성 활성 약제학적 제제, 예를 들면, CoQ10의 정맥내 제형에 관한 것이다.

[0052] 본 발명의 정맥내 제형은 CoQ10과 같은 활성 약제학적 제제의 정확한 양을 종양을 포함하는 간 및 심장과 같은 기관, 및 다른 조직으로 수송하기 위해 혈류내로 전달하도록 한다. 본 발명은 적어도 12개월의 기간 동안 분산 특성이 필수적으로 변하지 않고 일반적으로 주위 온도에서 안정한, 예를 들면, CoQ10의 임상적으로 및 치료학적으로 효과적이고 유용한 정맥내 제형을 제공한다.

[0053] 본 발명의 관독을 최적화하고 본원에 기술된 바와 같은 본 발명의 이해를 촉진시킬 목적으로, 본원에 사용된 용어 및 어구의 다음 정의를 고려하는 것이 유리할 수 있다.

[0054] I. 정의

[0055] 본 기재내용에 따라서 및 본원에 사용된 것으로서, 하기 용어들은 달리 표현하여 기술하지 않는 한, 다음 의미로 정의된다.

[0056] 본원에 사용된 것으로서, 단수 정관사("a", "an", 및 "the")는, 내용이 달리 명확하게 나타내지 않는 한 복수의 참조를 포함한다.

[0057] 본원에 사용된 것으로서, "약제학적으로 허용되는" 성분은 합리적인 이점/위험비에 적합한 과도한 부작용(예를 들면, 독성, 자극, 및 알레르기 반응)없이 사람 및/또는 동물에서 사용하기 적합한 것이다.

[0058] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "안전한 및 치료학적 유효량"은 본 기재내용의 방식으로 사용된 경우 합리적인 이점/위험 비에 적합한 과도한 부작용(예를 들면, 독성, 자극 또는 알레르기 반응)없이 바람직한 치료학적 반응을 획득하기에 충분한 성분의 양을 말한다. "치료학적 유효량"은 바람직한 치료학적 반응을 획득하기에 효과적인 본 기재내용의 화합물의 양을 의미한다. 예를 들면, 가속화된 상처 치유는 통증 및 피로를 완화시킨다. 구체적인 안전한 및 효과적인 양 또는 치료학적 유효량은 치료되는 특정 상태, 환자의 생리적 상태, 치료하는 포유동물 또는 동물의 유형, 치료 기간, 동시 치료요법(경우에 따라)의 특성, 및 사용된 특정 제형 및 화합물 또는 이의 유도체의 구조와 같은 인자와 함께 변할 것이다.

[0059] "치료"는 장애의 병리학 또는 증상의 발달의 예방 또는 변경의 의도로 수행된 중재이다. 따라서, "치료"는 치

료학적 치료 및 예방학적 또는 방지학적 척도 둘 다를 말한다. 치료가 요구되는 것들은 이미 장애를 가진 것들 뿐만 아니라 장애가 예방될 것들도 포함한다. 본원에 사용된 것으로서, "완화된" 또는 "치료"는 정규화된 값 (예를 들면, 건강한 환자 또는 개인에서 수득된 값)에 근접한, 예를 들면, 정규화된 값과 25% 미만 상이한 실시 형태들에서, 정규화된 값과 약 10% 미만 상이한 다른 실시 형태들에서, 정규화된 값과 50% 미만 상이한, 또 다른 실시 형태들에서 증상의 존재가 통상의 통계학적 시험을 사용하여 측정된 정규화된 값과 유의적으로 상이하지 않은 증상을 말한다.

- [0060] 본원에 사용된 것으로서, "완화된 증상" 또는 "치료된 증상"은 정규화된 값에 근접한, 예를 들면, 정규화된 값과 25% 미만 상이한 실시 형태들에서 정규화된 값과 약 10% 미만 상이한 다른 실시 형태들에서 정규화된 값과 약 10% 미만 상이한, 및 여전히 다른 실시 형태에서 증상의 존재가 통상의 통계학적 시험을 사용하여 측정된 정규화된 값과 유의적으로 상이하지 않은 증상을 말한다.
- [0061] 본원에 사용된 것으로서, "옵소닌화"는, 본원에 사용된 것으로서 친지성 생물활성제가 포식세포에 의한 소화 및 파괴를 위해 표시되는 공정을 말한다. 옵소닌화는 옵소닌의 생물활성제에 대한 결합을 포함한다. 옵소닌이 막에 결합한 후, 포식세포는 활성제에 부착된다. 옵소닌은 포식작용의 공정을 위한 결합 개선제(binding enhancer)로서 작용하는 특정 분자이다.
- [0062] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "옵소닌화 감소제"는 포식작용의 공정을 위한 결합 개선제로서 작용하는 옵소닌의 능력을 감소시키기 위해 활성제와 함께 작동하는 특정 제제를 말한다.
- [0063] 본 기재내용에 따라서, 제형은 본원에서 또한 소수성 생물활성제로 언급될 수 있는 친지성 생물활성제의 개선된 투여를 위해 제공된다. 본원에 사용된 것으로서, "친지성 생물활성제" 또는 "소수성 생물활성제"는 물 중에서 불용성이거나 실질적으로 불용성인 제제를 포함한다. 구체적으로, 본원에 사용된 것으로서, 친지성 생물활성제는 물 약 1000부 중 생물활성 약물 약 1부 미만인 물 중에서의 용해도를 가질 것이다.
- [0064] 본원에 사용된 것으로서, 용어 "콜로이드성"은, 매질 중에 분산된 분자 또는 다중분자 입자가 적어도 하나의 방향으로 대략 1-nm 내지 1- μ m의 치수를 가짐을 내포하는 소분열 상태를 말한다.
- [0065] 본원에 사용된 것으로서, "분산물" 또는 "콜로이드성 분산물"은 어떠한 특성(예를 들면, 고체, 액체 또는 기체)의 콜로이드성 크기의 입자들이 상이한 조성 또는 상태의 연속 상에 분산된 시스템을 말한다. 정맥내 약물 전달시 연속 상은 실질적으로 물이며 분산된 입자는 고체일 수 있거나(현탁물) 또는 비혼화성 액체일 수 있다(유화물).
- [0066] 본원에 사용된 "초-냉각된 용융물(super-cooled melt)"은 균질화 후 활성제의 상태를 말하며, 여기서, 활성제의 벌크 물질(bulk material)의 용점 미만의 온도에서, 콜로이드성 입자가 고체 또는 결정형이 아니라 오히려 무정형 상태이다.
- [0067] 본원에 사용된 것으로서, "동결보호제"는 동결건조 공정, 후속적인 저장 및 재구성 동안 탈안정화 조건에 대해 분산된 활성제를 보호하는, 약제학적으로 허용되는 부형제를 말한다.
- [0068] 용어 "콜로이드성 입자", "분산 입자", "나노-분산 입자", 및 "콜로이드성 분산 입자"는 모두 본원에서 상호교환적으로 사용되며 활성제가 벌크 상태 또는 용융된 상태로 나노-입자 내에 분산된 형태를 말한다.
- [0069] CoQ10을 언급하기 위해 본원에 사용된 용어 "제형"은, 달리 명시하지 않는 한 폴록사머를 포함한다.
- [0070] 본 발명의 방법에 의해 치료될 "환자" 또는 "대상체"는 사람 또는 비-사람 동물, 바람직하게는 포유동물을 의미할 수 있다. 본원에 기술된 임상적 관찰은 사람 대상체로 이루어졌으며 적어도 일부 실시 형태에서, 대상체는 사람임에 주목하여야 한다.
- [0071] "치료학적 유효량"은 질환을 치료하기 위해 환자에게 투여되는 경우 질환에 대해 이러한 치료를 달성하는데 충분한 화합물의 양을 의미한다. 질환을 예방하기 위해 투여된 경우, 당해 양은 질환의 발병을 피하거나 지연시키기에 충분하다. "치료학적 유효량"은 화합물, 치료되는 환자의 질환 및 이의 중증도 및 연령 등에 따라 변할 것이다.
- [0072] "예방하는" 또는 "예방"은 질환 또는 장애에 걸릴 위험에 있어서의 감소(즉, 질환에 노출되거나 예비노출될 수 있지만 질환의 증상을 아직 경험하지 않거나 나타내지 않는 환자에서 질환의 임상적 증상들 중 적어도 하나가 진행되지 않도록 하는 것)를 말한다.
- [0073] 용어 "예방학적" 또는 "치료학적" 치료는 대상 조성물 중 하나 이상을 대상체에게 투여함을 말한다. 원치않는

상태(예를 들면, 질환 또는 숙주 동물의 다른 원치않는 상태)의 임상적 징후 전에 투여되는 경우, 이후 치료는 예방학적이며, 즉, 이는 원치않는 상태로의 진행에 대해 숙주를 보호하는 반면, 원치않는 상태의 징후 후에 투여되는 경우, 치료는 치료학적(즉, 이는 존재하는 원치않는 상태 또는 이로부터의 부작용을 약화시키거나, 완화시키거나 유지하는 것을 의도한다)이다.

[0074] 용어 "치료학적 효과"는 약리학적으로 활성인 물질에 의해 유발된 동물, 특히 포유동물, 및 보다 특히 사람에서 국소 또는 전신 효과를 말한다. 따라서, 당해 용어는 동물 또는 사람에서 질환의 진단, 치유, 경감, 치료 또는 예방, 또는 바람직한 육체적 또는 정신적 발달 및 상태의 향상에 사용하도록 의도된 특정 물질을 의미한다. 어구 "치료학적-유효량"은 어떠한 치료에도 적용가능한 합리적인 이점/위험 비에서 일부 바람직한 국소 또는 전신 효과를 생산하는 이러한 물질의 양을 의미한다. 특정 실시형태에서, 화합물의 치료학적 유효량은 이의 치료학적 지표, 가용성 등에 의존할 것이다. 예를 들면, 본 발명의 방법에 의해 발견된 특정 화합물은 이러한 치료에 적용가능한 합리적인 이익/위험 비를 획득하기에 충분한 양으로 투여할 수 있다.

[0075] 용어 "장애" 및 "질환"은 포괄적으로 사용되며 신체의 특정 부분, 기관 또는 시스템(또는 이의 특정 조합)의 정상 구조 또는 기능으로부터의 임의의 일탈(deviation)을 말한다. 구체적인 질환은 생물학적, 화학적 및 물리적 변화를 포함하는, 특징적인 증상 및 징후에 의해 나타나며, 흔히 인구학적, 환경적, 고용, 유전적 및 의학적 병력 인자들을 포함하나, 이들에 한정되지 않는 각종의 다른 인자들과 흔히 관련된다. 특정의 특징적인 징후, 증상 및 관련된 인자들은 중요한 진단적 정보를 획득하기 위한 각종 방법을 통해 정량화할 수 있다.

[0076] 용어 "발현"은 본원에서 폴리펩타이드가 DNA로부터 생산되는 공정을 의미하는데 사용된다. 당해 공정은 유전자의 mRNA내로의 전사 및 당해 mRNA의 폴리펩타이드로의 해독을 포함한다. 사용된 내용에 따라서, "발현"은 RNA, 단백질 또는 이들 둘 다의 생산을 말할 수 있다.

[0077] 용어 "유전자의 발현 수준" 또는 "유전자 발현 수준"은 mRNA, 및 또한 전-mRNA 초기(nascent) 전사체(들), 전사체 프로세싱 중간체, 성숙한 mRNA(들) 및 분해 생성물의 수준, 또는 세포내에서 유전자에 의해 암호화된 단백질의 수준을 말한다.

[0078] 참조는 이제 본 발명의 바람직한 실시형태에 대해 상세히 이루어질 것이다. 본 발명은 바람직한 실시형태와 함께 기술될 것이지만, 이것이 본 발명을 바람직한 실시형태들로 제한함을 의도하지 않음을 이해할 것이다. 대조적으로, 첨부된 특허청구의 범위에 의해 정의된 바와 같은 본 발명의 취지 및 영역내에 포함될 수 있는 대안, 변화 및 등가물을 포함하는 것으로 의도된다.

[0079] 일련의 인용된 수치가 존재하는 본 출원의 모든 출현에서, 어떠한 인용된 수치도 숫자 범위의 상한치 또는 하한치일 수 있음을 이해하여야 한다. 또한, 본 발명은 이러한 숫자 범위, 즉 상한치와 하한치의 조합을 갖는 범위 모두를 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 여기서 상한치 및 하한치 각각에 대한 수치는 본원에 인용된 수치일 수 있다.

[0080] **II. 조성물**

[0081] 본 기재내용은 암의 치료 및 예방을 위한 CoQ10 조성물을 제공한다. 본 기재내용의 조성물은 자체로서, 또는 이것이 적합한 담체 또는 부형제(들)과 혼합된 약제학적 조성물로서 환자에게 투여할 수 있다. 목적인 장애를 나타내는 환자의 치료시, 이들과 같은 제제 또는 제제들의 치료학적 유효량이 투여된다. 치료학적 유효량은 환자에서 증상의 완화 또는 생존의 연장을 생성하는 화합물의 양을 말한다.

[0082] 많은 상이한 종으로부터의 대상체는 본 기재내용의 조성물로 치료될 수 있다. 이러한 동물의 철저하지 않은 예시적인 목록은 마우스, 래트, 토끼, 염소, 양, 돼지, 말, 소, 개, 고양이, 및 원숭이, 유인원과 같은 영장류, 및 사람과 같은 포유동물을 포함한다. 근육 피로, 통증, 상처 등을 겪는 것으로 공지된 이들 동물 대상체는 본 기재내용의 용도에 적합할 수 있다. 특히, 손상, 수술, 관절염, 근육 피로, 암 등으로 고생하는 사람 환자는 본원에 기재된 본 발명의 용도를 위한 적합한 동물 대상체이다. 본원에 교시된 방법을 의약 또는 수의학 과학에서 공지된 다른 방법에 채택함으로써(예를 들면, 대상체 동물의 체중에 따라 투여된 물질의 용량을 조절함으로써), 본 기재내용에서 이용된 조성물을 다른 동물에서 사용하도록 용이하게 최적화할 수 있다.

[0083] 본 발명의 본 조성물의 적합한 투여 경로는 일부 예를 들면, 정맥내, 근육내, 피하, 척수내 주사, 및 또한 경막내, 직접적인 심실내, 정맥내, 복강내, 비강내, 또는 안구내 주사를 포함하는 비경구 전달을 포함할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본원에 제공된 조성물은 종양에 직접 주사하여 투여할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 제형은 정맥내 주사 또는 정맥내 주입으로 투여할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 정맥내 주사로 투여된다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 정맥내 주입으로 투여된다. 투여 경로가

예를 들면, 정맥내 주입인 경우, IV 주입은 활성제, 예를 들면 코엔자임 Q10을 대략 40 mg/mL 농도로 포함하는 실시형태들이 본원에 제공된다. 조성물이 IV 주입으로 투여되는 경우, 이는 인산염 완충된 염수 중에 회석된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 투여 경로, 예를 들면, 정맥내 및 종양내, 또는 정맥내 및 경구(peroral), 또는 정맥내 및 경구(oral), 또는 정맥내 및 경피 또는 경점막내와 같이 조합할 수 있다.

[0084] 본원에 기술된 조성물은 대상체에게 어떠한 적합한 제형으로도 투여할 수 있다. 예를 들면, CoQ10은 비경구 전달, 예를 들면, 피하, 정맥내, 근육내 또는 종양내 주사로 제형화할 수 있다. 조성물은 단일 볼루스(bolus), 다중 주사, 또는 연속 주입으로(예를 들면, 정맥내로 또는 복강내 투석에 의해) 투여할 수 있다. 비경구 투여의 경우, 조성물은 멸균된 발열원이 없는 형태로 제형화할 수 있다. 본 기재내용의 조성물은 또한 시험관내에서 세포(예를 들면, 세포내 Bcl-2 생산 또는 시험관내 배양으로)에, 조성물을 세포가 함유된 유화물에 단순 첨가함으로써 투여할 수 있다.

[0085] 본 발명의 실시를 위해, 본원에 기재된 화합물을 전신계 투여에 적합한 용량으로 제형화하기 위한 약제학적으로 허용되는 담체의 용도는 본 기재내용의 영역 내에 있다. 담체 및 적합한 제조 실시의 적절한 선택으로, 본 기재내용의 조성물, 특히, 액체로서 제형화된 것들은 정맥내 주사에 의한 것과 같이 비경구적으로 투여될 수 있다.

[0086] 이러한 화합물의 독성 및 치료학적 효능은 세포 배양물 또는 실험 동물에서, 예를 들면, LD50(집단의 50%까지 치사되는 용량) 및 ED50(집단의 50%에서 치료학적으로 효과적인 용량)을 측정하기 위한 표준 약제학적 과정으로 측정할 수 있다. 독성 효과와 치료학적 효과 사이의 용량 비는 치료학적 지표이며, 이는 LD50/ED50 비로 표현할 수 있다. 큰 치료학적 지표를 나타내는 화합물이 바람직할 수 있다. 이들 세포 배양 검사 및 동물 연구로부터 수득된 데이터는 사람에게 사용하기 위한 용량 범위를 제형화하는데 사용될 수 있다. 이러한 화합물의 용량은 독성이 거의 없거나 없는 ED50을 포함하는 순환하는 농도의 범위내일 수 있다. 용량은 사용된 용량 형태 및 이용된 투여 경로에 따라 당해 범위내에서 변할 수 있다.

[0087] 본 발명에서 사용하기에 적합한 약제학적 조성물은, 활성 성분이 유효량으로 함유되어 이의 의도된 목적을 달성하는 조성물을 포함한다. 유효량의 측정은 특히 본원에 제공된 상세한 기재내용의 측면에서, 당해 분야의 숙련가의 능력내에 있다. 활성 성분 이외에, 이들 약제학적 조성물은 활성 화합물의 약제학적으로 사용될 수 있는 제제로의 가공을 촉진시키는 부형제 및 보조제를 포함하는 적합한 약제학적으로 허용되는 담체를 함유할 수 있다. 정맥내 투여용으로 제형화된 제제는 콜로이드성 분산물의 액체의 형태일 수 있다.

[0088] 비경구 투여용 약제학적 조성물은 수용성 형태의 활성 화합물의 수용액을 포함한다. 또한, 활성 화합물의 현탁물은 적절한 오일성 주사 현탁물로 제조될 수 있다. 적합한 친지성 용매 또는 비히클은 참깨 오일과 같은 지방 오일, 또는 에틸 올레이트 또는 트리글리세라이드와 같은 합성 지방산 에스테르, 또는 리포솜을 포함한다. 수성의 주사 현탁물은 현탁물의 점도를 증가시키는 물질, 예를 들면, 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 소르비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 임의로, 현탁물은 또한 화합물의 용해도를 증가시켜 고 농축 액체의 제조를 허용하는 적합한 안정화제 또는 제제를 함유할 수 있다.

[0089] **III. 제형**

[0090] 본 발명은 본원에 기술된 바와 같이 대상체에 정맥내 투여하기에 적합한 코엔자임 Q10(CoQ10)과 같은 소수성 활성제를 포함하는 치료학적 제형을 제공한다. 고압 균질화를 통해, 활성제(예를 들면, CoQ10) 입자는 감소되어 200-nm 평균 여과기를 통해 통과하기에 충분히 작은 입자를 생산한다. 200-nm 평균 여과기를 통해 통과하기에 충분히 작은 입자는 정맥내 주사할 수 있다. 이들 입자는 혈액 세포보다 훨씬 더 작아서 모세혈관 색전을 일으키지 않을 것이다. 예를 들면, 적혈구 세포는 6-mm x 2-mm 원반이다. 당해 입자들은 분산되어 안정화제에 의해 감싸지거나 둘러싸여진다. 어떠한 이론에 얽매일 의도는 아니지만, 안정화제는 소수성 활성제에 이끌려서 소수성 활성제의 분산된 입자가 안정화제에 의해 둘러싸여 현탁물 또는 유화물을 형성하는 것으로 여겨진다. 현탁물 또는 유화물 중 분산된 입자는 안정화제 표면, 및 고체 미립자 형태(현탁물) 또는 비혼화성 액체 형태(유화물) 중의 소수성 활성제로 이루어진 코어를 포함한다. 특정 양상에서, 분산된 입자는 리포솜의 친지성 영역내에 견고하게 자리잡는다.

[0091] 본원에 제공된 분산된 콜로이드성 시스템은 선행 기술을 능가하는 특성의 수행 장점을 제공한다. 예를 들면, 본 발명은 보조-용매를 사용하지 않고 제형 내에서 고 약물 부하(load)를 허용한다. 또한, 내인성 저-밀도 지단백질 담체에 의존하지 않고 높고 비교적 재현성있는 혈장 수준이 달성된다. 보다 중요하게는, 본 발명은 소

수성 활성제의 콜로이드성 입자의 수동적 축적으로 인하여 고체 중앙내에서 지속된 높은 약물 수준을 허용한다.

- [0092] 본 발명의 정맥내 제형은 실질적으로, 연속 상인 물 및 분산된 고체(현탁물) 또는 분산된 비혼화성 액체(유화물)를 포함한다. 입자들이 대부분 활성제(약물) 자체로 구성된 분산된 콜로이드성 시스템은, 당해 시스템이 적절히 안정하게 제조될 수 있는 경우, 흔히, 연속된 가용화 시스템보다, 단위 용적당 보다 많은 약물을 전달할 수 있다. 본 발명은 CoQ10과 같은 난용성 활성제의 콜로이드성 분산물을 제공한다.
- [0093] 미세유동화기와 같은 기계적 장치를 이용함으로써, 입자 크기가, 고압 연속 균질화에 의해, 또는 분무 시스템에서의 콜로이드성-크기의 소적 형성에 의해, 또는 제한되고 복잡한 경로로 고속으로 유동하는 액체 속에서 전단 시킴에 의해 감소된다. 벌크 입자 자체를 개열시키기 위해서는 상당한 에너지가 요구된다. 보다 작은 입자는 활성제의 계면 면적을 증가시킨다. 계면활성제를 사용하여 계면 에너지를 감소시킴으로써 분산물을 안정화시킨다. 입자 크기는 안정한 시스템을 달성하기 위해 제공되어야만 하는 총 계면 면적 및 계면 에너지를 결정한다. 입자 크기가 작아짐에 따라 입자를 생산하는데 보다 많은 에너지가 요구되며, 총 표면 면적이 커지므로, 계면활성제는 보다 큰 계면 에너지를 수용하여야 한다.
- [0094] 본원에 예시된 바와 같은 고압 균질화를 통해, 활성제, 예를 들면, CoQ10의 입자 크기는 200-nm 미만으로 감소되었다. 일부 실시형태에서, 입자 크기는 10-nm 내지 200-nm 또는 10-nm 내지 100-nm 또는 보다 바람직하게는 30-nm 내지 80-nm로 감소되었다. 일부 실시형태에서, 수득되는 콜로이드성 활성제, 예를 들면, CoQ10, 입자는 본원에 정의된 바와 같이 무정형의 초-냉각된 상태에 있다.
- [0095] 특정 실시형태에서, 분산된 CoQ10 입자는 동결건조 공정에 의해 결정화되어, 활성제 코어가 결정 형태인 나노-분산 입자를 생산한다(참조: 도 1 내지 도 3). 편광 현미경(PLM) 또는 X-선 분말 회절(XRDP)을 사용하여 CoQ10 콜로이드성 분산물의 결정성을 확인하고 벌크 CoQ10의 XRDP와 비교하였다(참조: 도 4 내지 도 13). 도 1에 나타낸 바와 같이, 형태 R에서, 5.0 wt%의 CoQ10, 3.3 wt%의 폴록사머 및 91 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 1의 좌측으로부터 첫번째 바이알(vial)에 묘사된 입자를 생산하였다. 도 9에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 1의 좌측으로부터 두번째 바이알에 나타낸 바와 같이, 형태 A에서, 3 wt%의 CoQ10, 1.8 wt%의 리포이드(Lipoid) SPC-3 및 95.2 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시켜 입자 크기를 감소시켰다. 이어서, 입자를 동결건조시켜 도 1의 좌측 바이알로부터 두번째에 나타낸 입자를 생산하였다. 하기 도 4에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 1에 나타낸 바와 같이, 형태 O에서, 5.0 wt%의 CoQ10, 3.0 wt%의 DMPC 및 92 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 1의 좌측으로부터 세번째 바이알에 나타낸 입자를 생산하였다. 하기 도 7에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 1에 나타낸 바와 같이, 형태 C에서, 5.0 wt%의 CoQ10, 3.3 wt%의 폴록사머 및 91 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 1에서 좌측으로부터 네번째 바이알에 나타낸 입자를 생산하였다. 도 5에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 형태 G에서, 5.0 wt%의 CoQ10, 3.0 wt%의 리포이드 SPC-3 및 92 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 2에서 좌측으로부터 첫번째 바이알에 나타낸 입자를 생산한다. 도 6에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 형태 G에서, 5.0 wt%의 CoQ10, 2.5 wt%의 DMPC, 0.5wt%의 나트륨 테옥시콜레이트 및 92 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 2에서 좌측으로부터 두번째 바이알에 나타낸 입자를 생산하였다. 도 8에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 형태 S에서, 7.5 wt%의 CoQ10, 4.5 wt%의 DMPC 및 88 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 2에서 좌측으로부터 세번째 바이알에 나타낸 입자를 생산하였다. 도 10에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 형태 T에서, 7.5 wt%의 CoQ10, 5.0 wt%의 폴록사머 및 87.5 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 2에서 좌측으로부터 네번째 바이알에 나타낸 입자를 생산하였다. 도 11에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 3에 나타낸 바와 같이, 형태 U에서, 7.5 wt%의 CoQ10, 4.0 wt%의 DMPC, 1.0wt%의 폴록사머 188 및 87.5 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 3에서 좌측으로부터 첫번째 바이알에 나타낸 입자를 생산하였다. 도 12에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다. 도 3에 나타낸 바와 같이, 형태 V에서, 3.0 wt%의 CoQ10, 1.5 wt%의 DMPC, 및 95.5 wt%의 물을 포함하는 제형을 미세유동화기 중에서 20회 순환시킨 후 동결건조시켜 도 3에서 좌측으로부터 두번째 바이알에 나타낸 입자를 생산하였다. 도 13에 나타낸 바와 같이, XRDP는, CoQ10 입자가 결정성이었음을 입증한다.

- [0096] 입자를 동결건조시, 건조기를 -35℃로 냉각시켰다. 상기 제형 각각의 3 밀리리터를 5 mL의 혈청 바이알에 중첩하여 첨가하였다. 혈청 정지기를 상부에 두지만 수증기용 실내가 피해지도록 하였다. 제형을 -78℃ 동결기에 1시간 동안 두어 급속 냉각시켰다. 당해 기간 후, 모두 완전하게 건조기의 중간 선반으로 이동시켰다. 진공을 즉시 개시하였다. 16시간 후, 온도를 -35℃ 내지 -30℃로 조절하였다. 24시간 후 온도를 -30℃ 내지 -28℃로 조절하였다. 2시간 후, 온도를 -28℃ 내지 -26℃로 조절하였다. 4시간 후, 온도를 -26℃ 내지 -25℃로 조절하였다. -25℃에 이른 후, 바이알을 중지시키고 진공을 주위 공기로 방출시켰다. 바이알에 밴드를 붙이고 도 1 내지 도 3에 나타낸 바와 같이 무수 생성물의 사진을 촬영하였다.
- [0097] 분산 입자 크기를 감소시키는데 있어서, CoQ10 혼합물을 미세유동화기를 수회 통과시켜 바람직한 입자 크기를 취득하는 것이 바람직할 수 있다. F12Y 상호작용 챔버(chamber)가 장착된 M110P 미세유동화기를 75- μ m 통로로 1회 통과시킨 후, 평균 직경이 200-nm 미만인 입자를 생산하였다. 20회 통과 후 입자의 평균 직경은 50-nm 미만이었다(참조: 도 14). 제형은 5g의 CoQ10, 3g의 DMPC 및 92 mL의 물을 함유하였다. 당해 분야의 통상의 기술자는, CoQ10, DMPC 및 물의 양이 바람직한 치료학적 용도에 따라 조절될 수 있음을 이해할 것이다. 미세유동화기는 25,000 PSI의 최대 압력에서 작동하였다. 특정 실시형태에서, 분산 안정화제 및 흡소닌화 감소제 중 적어도 하나를 첨가하는 것이 바람직할 수 있다. 특정 실시형태에서, 콜로이드성 입자는 분산 안정화제 및 흡소닌화 감소제 둘 다를 사용하여 제조된다. 바람직한 분산 안정화제는 폴리에톡실화된(즉, 폐길화된) 피마자 오일(Cremophor[®] EL), 폴리에톡실화된 수소첨가된 피마자 오일(Cremophor[®] RH 40), 토크페롤 폴리에틸렌 글리콜 석시네이트(폐길화된 비타민 E, 비타민 E TPGS), 폴리소르베이트(Tweens[®]), 소르비탄 지방산 에스테르(Spans[®]), 담즙산 및 담즙산 염 및 DMPC를 포함하는 반면, 바람직한 흡소닌화 감소제는 다양한 쇠 길이의 폴리에틸렌 글리콜, 다당류, 다른 PEG-함유 공중합체, 폴록사민 또는 폴록사머 188과 같은 폴록사머를 포함한다. 특정 실시형태에서, 헤파린은 또한 적합한 흡소닌화 감소제를 구성한다. 폴록사머는 친수성 표면을 제공함으로써 투여 후 입자 흡소닌화를 감소시킨다. 폴록사머는 또한 입자 표면 개질제로 작용하여 벌크 쇠에 첨가되어 입체적 상호작용에 의한 흡소닌화를 감소시킨다. 폴록사머 188(Pluronic[®] F68, Lutrol[®] F68)은 중심 블록이 대략 28 PPG 단위이고 말단 블록이 79 PEG 단위이다. 소수성 중심 블록은 분자를 입자에 고정시키며, PEG 말단 블록은 입자로부터 연장된다. 흡소닌화는 PEG 쇠의 친수성과 쇠의 입체적(공간-충전) 효과(즉, 단백질은 표면에 접근할 수 없다) 둘 다에 의해 감소된다.
- [0098] 본원에 추가로 기술된 방법들을 통해, 본 발명은 대상체에게 정맥내 투여용으로 적합한 치료학적 제형을 제공한다. 치료학적 제형은 수용액을 포함한다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 수용액은 물이다. 수용액은, 콜로이드성 시스템에 대한 분산 매질과 콜로이드성 입자의 비경구 투여 및 전달용 제형 매질 중의 어느 하나 또는 이들 둘 다로 기능할 수 있다. 분산 매질로서, 수용액은 다른 수용성 또는 수 분산성 안정화제, 글리세롤 또는 크실리톨과 같은 등장성 제제, 슈크로스, 글루코스, 트레할로스 등과 같은 동결보호제, 전해질, 완충제, 시트르산나트륨, 피로인산나트륨 또는 도데실황산나트륨과 같은 안티로쿨런트(antiloculant) 또는 방부제를 함유할 수 있다.
- [0099] 동결보호제는 당, 폴리올(예를 들면, 당 알코올) 및 아미노산으로 이루어진 그룹을 함유하나 이들에 한정되지 않는다. 바람직한 동결보호제는 슈크로스, 트레할로스 및 글루코스와 같은 당을 포함한다. 다른 적합한 당은 락토스, 만노스, 말토스, 갈락토스, 프럭토스, 소르보스, 라피노스, 뉴라민산, 아미노 당, 예를 들면, 글루코사민, 갈락토사민, N-메틸글루코사민("메틸글루민"), 폴리올, 예를 들면, 만니톨 및 소르비톨, 및 아미노산, 예를 들면, 아르기닌 및 글리신을 포함한다.
- [0100] 제형 매질로서, 수용액은 헵크스 용액(Hank's solution), 링거액(ringer's solution), 인산염 완충된 염수(PBS), 생리학적 염수 완충제 또는 비경구적으로 전달된 제형에 대해 적절한 pH 및 삼투압(osmolality)을 달성하기 위한 다른 적합한 염 또는 조합물을 포함할 수 있다. 수용액은 용액의 점도를 증가시키는 물질, 예를 들면, 카복시메틸 셀룰로스, 소르비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다.
- [0101] 본 발명의 치료학적 제형은 소수성, 또는 달리는 난용성의 활성제를 포함한다. 소수성 활성제는 수용액 중에 분산되어 콜로이드성 분산물이 형성되도록 하며, 여기서 소수성 활성제의 나노-분산 입자는 분산 안정화제에 의해 도포되거나 감싸지거나 둘러싸여져서 활성제(예를 들면, CoQ10) 입자의 나노-분산물을 형성한다. 나노-분산된 활성제(예를 들면, CoQ10) 입자는 안정화제에 의해 둘러싸인 소수성 활성제로 형성된 코어를 갖는다. 유사하게, 특정 양상에서, 안정화제는 친수성 부분과 친지성 부분 둘 다를 갖는 인지질이다. 인지질은 균질화시 리포솜 또는 다른 나노입자를 형성한다. 특정 양상에서, 이들 리포솜은 이-층의 단일 라멜라 리포솜인 반면 다른

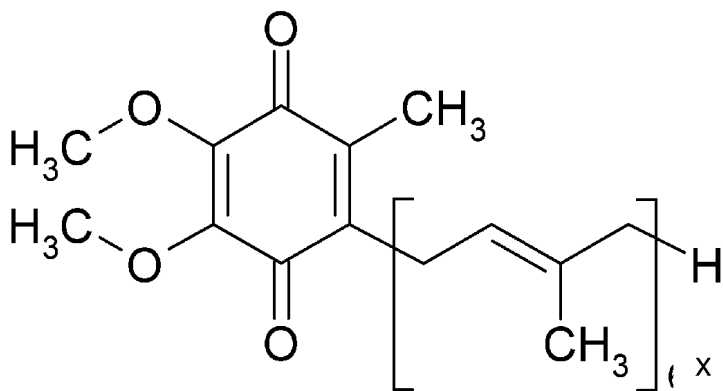
양상에서 리포솜은 이-층의 다중-라멜라 리포솜이다. 분산된 활성제(예를 들면, CoQ10) 입자는 인지질로부터 형성된 리포솜의 이-층의 구조의 친지성 부위에 분산된다. 특정의 다른 양상에서, 활성제(예를 들면, CoQ10) 입자의 나노-분산물의 코어와 같은, 리포솜의 코어는 소수성 활성제로 형성되며, 외부 층은 인지질의 이-층의 구조로 형성된다. 특정 실시형태에서, 콜로이드성 분산물은, 나노입자 분산물이 무수 분말로 전환되는 동결건조 공정으로 처리된다.

[0102] 본 발명의 특정 실시형태에서, 소수성 제제는 코엔자임 Q10(CoQ10)이다. 또한 본원에서 CoQ10으로 언급되는, 코엔자임 Q10은 또한 유비퀴논, 또는 유비데카레논으로 공지되어 있다. CoQ10은 당해 분야에 인식되어 있으며, 또한 이의 전문가 본원에 참조로 인용된 국제 공보 제W0 2005/069916호에 기술되어 있다. CoQ10은 진핵 세포의 미토콘드리아 전자 수송 시스템내에 존재하는 폴리프레닐 2,3-디메톡시-5-메틸벤조퀴논(유비퀴논)의 계열 중 하나이다. 사람 세포는 전적으로 CoQ10을 생산하며, 이는 모든 사람 세포의 미토콘드리아 막 및 세포내에서 간 및 심장과 같은 고 에너지 요건을 갖춘 기관내에서 최대 수준으로 발견된다. CoQ10의 신체 풀(body pool)은 약 2 그램인 것으로 추정되며, 이중 50% 이상이 내인성이다. 대략 0.5 그램의 CoQ10이 식이 또는 생합성으로부터 매일 요구된다. CoQ10은 세계적인 보충 시장으로부터 톤 양(ton quantity)으로 생산되며 카네카(Kaneka)로부터 텍사스주의 파사데나 및 일본의 다카사고시에 서식하는 식물을 사용하여 수득될 수 있다.

[0103] 사람에서 CoQ10의 조직 분포 및 산화환원 상태(redox state)는 확인되어 있다. 전형적으로, 고-에너지 요건 또는 대사 활성을 갖는 조직, 예를 들면, 심장, 신장, 간 및 근육은 비교적 고 농도의 CoQ10을 갖는다. 혈장 중 대부분의 CoQ10은 환원된 유비퀴놀로서 존재한다. 조직내에서 CoQ10의 실질적인 부분은 하이드로퀴논 또는 유비퀴놀로서 환원된 형태이다. 뇌와 폐는 예외이다. 산화된 상태는 조직내 증가된 산화성 스트레스의 반영인 것으로 추정된다. 보다 구체적으로, 심장, 신장, 간, 근육, 장 및 혈액(혈장)에서, CoQ10의 각각 약 61%, 75%, 95%, 65%, 95% 및 96%가 환원된 형태이다.

[0104] CoQ10은 매우 친지성이며, 대부분의 경우 물 중에서 불용성이다. 물 중에서의 이의 불용성, 지질 중에서의 제한된 가용성, 및 비교적 큰 분자량으로 인하여, 경구 투여된 CoQ10의 흡수 효율은 불량하다. 문헌[참조: Bhagavan, *et al.* (*Free Rad. Res.* 40:445-453(2006))]은, 래트에서 경구 투여된 CoQ10 중 약 2 내지 3%만이 흡수되었으며 CoQ10은 장내에서 흡수 동안 또는 흡수 후 유비퀴놀로 환원됨을 보고하였다. Matthews 등의 연구 [참조: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:8892-8897 (1998)]에서, CoQ10 흡수는 일부 조직내에 연령 의존성인 것으로 밝혀졌다. 예를 들면, 어린 래트에서, 혈장, 간 및 비장 농도는 투약 후 4일 후에 증가되었지만, 심장 또는 신장에서의 증가는 관찰되지 않았다. 유사하게, 경구 투여는 1 내지 2개월령 동물의 뇌에서 CoQ10의 농도를 증가시키지 않았다. 그러나, 12개월 및 24개월령 래트에게의 CoQ10의 투여는 중추 조직내에서 산화된 및 환원된 형태 둘 다의 CoQ10의 축적을 생성하였다. 흥미롭게도, CoQ10 생산은 허혈-재관류 손상 후, 어린 래트에서 자극되지만, 늙은 래트에서는 자극되지 않는다.

[0105] 본 발명의 하나의 실시형태에서, 소수성 활성제는 CoQ10, CoQ10의 대사물질, CoQ10의 빌딩 블록(building block), CoQ10의 유사체, 또는 CoQ10의 유도체이다. CoQ10의 유사체는, 이소프레닐 반복단위를 갖지 않거나 적어도 하나를 갖는 유사체를 포함한다. CoQ10은 다음 구조를 갖는다:

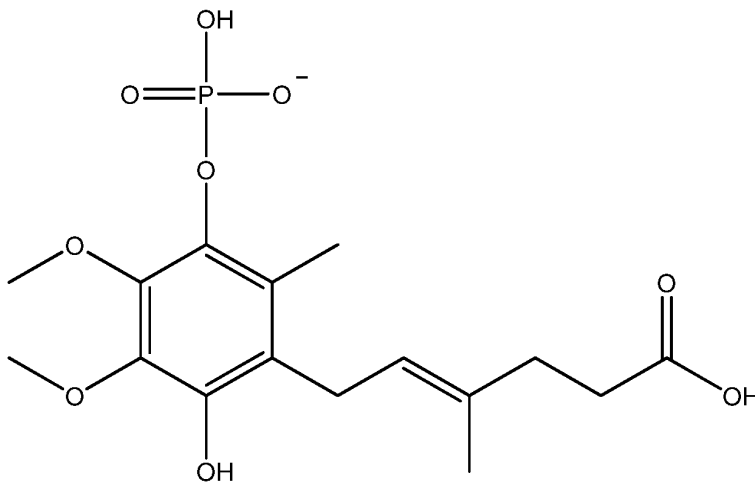


[0106] 상기 구조식에서, x는 10이다. 본 발명에서, CoQ10은 CoQ10의 유도체를 포함할 수 있으며, 여기서 x는 4 내지 10의 이소프레닐 단위의 특정 수, 또는 6 내지 10의 이소프레닐 단위의 특정 수, 또는 8 내지 10으로부터의 이소프레닐 단위의 특정 수, 또는 9 내지 10개의 이소프레닐 단위이다. CoQ10은 또한 세미퀴논 또는 유비세미퀴논으로 공지된, 부분적으로 산화된 버전인, 유비퀴논으로 또한 공지된 일부 산화된 버전, 또는 유비퀴놀로 또한

공지된 완전 환원된 버전; 또는 이의 특정 혼합물 또는 조합을 포함한다.

[0108] CoQ10의 빌딩 블록은 CoQ10의 특정 성분 또는 합성 전구체, 바람직하게는 생물학적으로 관련된 전구체를 포함한다. 따라서, CoQ10의 빌딩 블록은 페닐알라닌, 타이로신, 4-하이드록시페닐피루베이트, 페닐아세테이트, 3-메톡시-4-하이드록시만델레이트, 바닐산, 4-하이드록시벤조에이트, 메발론산, 파르네실, 2,3-디메톡시-5-메틸-p-벤조퀴논, 및 또한 상응하는 이의 산 또는 이온을 포함하나, 이들에 한정되지 않는다. 실험 데이터는, CoQ10 생합성의 빌딩 블록, 예를 들면, 벤조퀴논 환의 생합성용 전구체, 및 이소프레노이드 반복 단위의 생합성용 전구체 및 벤조퀴논 환에 대한 이들의 부착물이 표적 세포에 개별적으로 투여되거나 함께 투여되어 세포자멸사 억제제 Bcl-2의 발현 및/또는 세포자멸사 프로모터 카스파제-3의 발현을 조절할 수 있음을 나타낸다. 예를 들면, 미국 특허 출원 일련 번호 제12/778,094호 및 본원에 제공된 실시예를 참조한다.

[0109] CoQ10의 대사산물은 임의의 공지된 CoQ10의 대사산물도 포함한다. 예를 들면, 이의 전문이 본원에 참조로 인용된, Turunen, M. et al. *Biochemica et Biophysica Acta* 1660: 171-199 (2004)를 참조한다. 주요 대사산물은 5 내지 7개 원자로 단축된 측쇄를 갖는 방향족 환을 갖는 것으로 확인되어 있다. 이러한 대사산물은 하기에 나타낸다. 대사산물은 4번 탄소 또는 1번 탄소에서 임의로 포스포릴화될 수 있다.



[0110] CoQ10의 유도체는 1개 원자가 다른 원자 또는 원자들의 그룹으로 대체된 것을 제외하고는 CoQ10과 구조적으로 동일한 임의의 화합물을 포함한다.

[0112] 당해 콜로이드성 시스템내로 혼입하기에 적합한 다른 소수성 활성제는 부타닐리카인, 포모카인, 리도카인, 프릴로카인, 테트라카인 및 에토미데이트와 같은 마취제; 포스포마이신, 포스미도마이신 및 리파펜딘과 같은 항생제; 미녹시딜, 디하이드로에르고톡신 및 엔드랄라진과 같은 항고혈압제; 디하이드로에르고타민과 같은 항저혈압제; 케토코나졸, 미코나졸 및 그리세오폴빈과 같은 전신계 항진균제; 인도메타신, 디클로페낙, 이부프로펜, 케토프로펜 및 피르프로펜과 같은 항피오지스틱스(antiphlogistics); 아시클로비르, 비다라빈 및 면역글로불린과 같은 항바이러스제; 카프토프릴 및 에날라프릴과 같은 ACE 억제제; 프로프라놀롤, 아테놀롤, 메토프롤롤, 핀돌롤, 옥스프레놀롤 및 라베탈롤과 같은 베타차단제; 이프라트로피움브로마이드 및 소브레롤과 같은 기관지확장제; 딜티아젯, 플루나리진, 베라파밀, 니페디핀, 니모디핀 및 니트렌디핀과 같은 칼슘 길항제; 디기톡신, 디곡신, 메틸디곡신 및 아세틸디곡신과 같은 심장 글리코시드; 세프티죽심, 세팔렉신, 세팔로틴 및 세포탁심과 같은 세팔로스포린; 클로르메틴, 사이클로포스파미드, 클로람부실, 사이타라빈, 빈크리스틴, 미토마이신 C, 독소루비신, 블레오마이신, 시스플라틴, 탁솔, 펜크롤메딘 및 에스트라무스틴과 같은 세포 증식 억제제; 플루라제팜, 니트라제팜 및 로라제팜과 같은 수면제; 옥사제팜, 디아제팜 및 브로마제팜과 같은 향정신 약물; 코르티손, 하이드로코르티손, 프레드니손, 프레드니솔론, 텍사메타손, 프로게스테론, 프레그나놀론, 테스토스테론 및 테스토스테론 운데카노에이트와 같은 스테로이드 호르몬; 몰시도민, 하이드릴라진 및 디하이드릴라진과 같은 혈관확장제; 디하이드로에르고톡신, 시클로니카트 및 빈카민과 같은 대뇌 혈관확장제; 유비테카레논 및 아토바퀴온과 같은 유비퀴논 및 이들의 유사체; 비타민 A, E, D, K 및 이들의 유도체와 같은 친지성 비타민; 아세페이트, 시클루트린, 아진포스포메틸, 사이페르메트린, 펜클로포스, 페르멜트린, 피페로날, 테트라메트린 및 트리플루랄린과 같은 제초제 및 살충제를 포함한다. 특정의 다른 실시형태에서, 콜로이드성 시스템은 mTor 억제제, EGF α , 및 FGF 유사체를 포함한다.

- [0113] 활성제는, 이들이 매트릭스 중에 용해되거나, 가용화되거나 분산되는 콜로이드성 입자의 코어내에 및/또는 입자 코어를 둘러싸는 안정화제 층(들)내에 위치하고/하거나, 콜로이드성 입자의 표면에 흡착될 수 있다. 생활성 물질은 용해될 수 있거나 결정성 또는 무정형일 수 있거나 또는 이들 상태 중 어느 것의 조합일 수 있다. 치료학적 제형은 또한 분산 안정화제 및 흡소닌화 감소제 중 적어도 하나를 포함한다. 콜로이드성 입자는 본원에 기술된 바와 같은 리포솜일 수 있으며, 또한 다른 활성제 또는 다른 불활성제, 또는 다른 소수성 또는 친수성 제제를 함유할 수 있다.
- [0114] 활성제, 예를 들면, CoQ10, 벌크 물질의 나노-입자내로의 분산은, 입자의 크기가 균질화 공정을 통해 통과함에 따라 감소되므로 계면 에너지를 증가시킨다. 분산 안정화제, 예를 들면, DMPC의 활성제, 예를 들면, CoQ10, 나노-입자에 대한 친화성은, 분산 안정화제(예를 들면, DMPC)가 나노-입자를 감싸서 활성제, 예를 들면, CoQ10, 나노-분산물을 형성하도록 한다. 분산 안정화제는 고 계면 에너지를 제공함으로써 분산된 활성제, 예를 들면, CoQ10, 입자들의 유착을 방지시키거나 감소시킴으로써 활성제, 예를 들면, CoQ10, 나노-분산물을 안정화시킨다. 본 발명의 특징의 실시형태에서, 리포솜은 콜로이드성 분산물에 의해 형성되며, 여기서 인지질 안정화제는 소수성 생물활성제 또는 물질의 분산된 입자에 대해 이-층의 시스템을 형성한다. 특정 실시형태에서, 리포솜은 도 15에 나타낸 바와 같은 이-층의 단일 라멜라 리포솜이다. 다른 실시형태에서, 리포솜은 도 15에 나타낸 바와 같은 이-층의 다중 라멜라 리포솜이다. 특정 실시형태에서, 소수성 활성제의 분산된 입자는 이-층의 친지성 부위내에 있다. 특징의 다른 실시형태에서, 리포솜이 다중-라멜라인 경우, 소수성 활성제는 이-층의 친지성 부위내에 있다. 특징의 다른 실시형태에서, 리포솜이 다중-라멜라인 경우, 분산된 소수성 활성제는 리포솜의 이-층의 친지성 부위내에 있고 제2 제제는 다중-라멜라 리포솜의 이-층의 부위들 사이에 있는 친수성 부위내에 있다.
- [0115] 계면활성제, 또는 계면활성제들의 혼합물의 적절한 선택은, 유통 제품(shelf product)이 액체 계면활성제 중에 약물의 농축 용액인 제형을 생산할 수 있으며, 주입 유화물의 첨가시, 계면활성제에 의해 달성된 계면 에너지 감소는 시스템을 콜로이드성 시스템으로 유화시키기에 충분하다. 분산 안정화제는 폴리에톡실화된(즉, 폐길화된) 피마자 오일(Cremophor[®] EL), 폴리에톡실화된 수소첨가된 피마자 오일(Cremophor[®] RH 40), 토크페롤 폴리에틸렌 글리콜 석시네이트(폐길화된 비타민 E, 비타민 E TPGS), 폴리소르베이트(Tweens[®]), 소르비탄 지방산 에스테르(Spans[®]), 담즙산 및 담즙산 염 및 디미리스토일포스파티딜 콜린(DMPC) 중에서 선택될 수 있다. 분산 안정화제는 감소된 크기 입자들의 계면에서 유기적 형태를 갖춰 계면 에너지를 감소시킴으로써, 분산물을 보다 안정하게 한다.
- [0116] 인지질은 생물학적 막 내의 2개의 밀접한 회합에 의해 입증되는 바와 같이 CoQ10에 대해 높은 친화성을 갖는다. 분산 안정화제는 제형 속에 포함되어 적어도 입자 크기가 감소되면서 계면 장력을 감소시킨다. 콜로이드성 분산물에서, 나노-분산 입자는 안정화제에 의해 둘러싸인 활성제 코어를 포함한다. 분산 안정화제는 전형적으로 양친매성 물질, 즉, 분자의 친수성 및 소수성 부분을 갖는 물질이다. 입자 표면에서, 양친매성 물질은 주로, 분자의 소수성 부위가 코어로 돌출되고 친수성 부위가 분산 매질 주변내로 돌출되는 방식으로 배열된다. 따라서, 표면은 친수성이다.
- [0117] 다른 적합한 인지질은 레시틴, 라이소레시틴, 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜글리세롤, 포스파티드산, 포스파티딜세린, 라이소포스파티딜콜린, 라이소포스파티딜에탄올아민, 라이소포스파티딜글리세롤, 라이소포스파티드산, 라이소포스파티딜세린, PEG-포스파티딜에탄올아민, PVP-포스파티딜에탄올아민, 및 이의 및 이들과의 조합물을 포함한다.
- [0118] 하나의 실시형태에서, 분산 안정화제는 레시틴, 폴리소르베이트 80 및 올락타의 그룹으로부터 선택된 제제가 아니다. 하나의 실시형태에서, 분산 안정화제는 레시틴이 아니다. 하나의 실시형태에서, 분산 안정화제는 폴리소르베이트 80이 아니다. 하나의 실시형태에서, 분산 안정화제는 올락타가 아니다.
- [0119] 본 발명의 제형은 흡소닌화 감소제를 추가로 포함할 수 있다. 흡소닌화 감소제는 다양한 쇠 길이의 폴리에틸렌 글리콜, 다당류, 다른 PEG-함유 공중합체, 폴록사민 또는 폴록사머 188과 같은 폴록사머로부터 선택될 수 있다. 본원에 정의된 것으로서, 흡소닌화 감소제는 활성제와 함께 작용하여 포식작용의 공정을 위한 결합 향상제로서 작용하는 흡소닌의 능력을 감소시키는 임의의 불활성 제제를 말한다. 불활성 제제는 이의 전문가가 본원에 참조로 혼입된 FDA의 불활성 성분 목록에 포함되어야 한다. 불활성 제제는 폐길화된 비이온성 계면활성제(예를 들면, 폴리소르베이트 80, 폴리에톡실화된 피마자 오일, 및 지방 알코올 및 산의 PEG 에테르 및 에스테르 각각)를 포함하지 않아야 하고, 그 이유는 극도의 과민성 반응을 유발할 수 있기 때문이다. 따라서, 하나의 실시형태에서, 흡소닌화 감소제는 폴리소르베이트 80이 아니다. 하나의 실시형태에서, 흡소닌화 감소제는 폴리에톡실화된

피마자 오일이 아니다. 하나의 실시형태에서, 옴소닌화 감소제는 지방 알코올의 PEG 에테르가 아니다. 하나의 실시형태에서, 옴소닌화 감소제는 지방산의 PEG 에스테르가 아니다.

[0120] 예를 들면, 10-nm보다 큰 콜로이드성-크기의 입자는 신장에 의해 여과되지 않으며 이들이 활성 공정에 의해 청소되거나 이들이 혈관 내피 세포들 사이의 갭을 통한 확산에 의해 침출될 때까지 순환할 것이다. 망상내피 시스템(RES) 또는 단핵 포식세포 시스템(MPS)의 포식세포성 세포는 세포내이입에 의해 콜로이드성 입자를 포획할 것이다. 이들 세포는 간[쿠퍼 세포(Kupffer 세포)], 비장, 림프절(혈관주위 대식구), 신경계(미세아교세포), 및 골(파골세포)와 관련된 대식세포를 포함한다. 옴소닌(예를 들면, 면역글로불린, 보충 성분, 다른 혈청 단백질)의 비특이적인 부착은 입자를 외부 물질로 표시한다. 엔도솜에서 효소 및 산화-반응성 환경은 포획된 입자를 파괴할 것이다.

[0121] 콜로이드성 입자의 옴소닌화는 감소되어 100-nm 미만의 입자 크기, 중성 또는 음성 표면 전하, 및 벌크 친수성쇄의 흡착 또는 결합을 포함하는 다수의 인자에 의해 보다 긴 순환을 생성할 수 있다. 고휘 종양으로 콜로이드성 약물 전달의 유효성의 중요한 성분은 종양의 독특한 해부학적 및 생리학적 특성으로부터 생성된다. 종양의 모세관 네트워크는 광범위한 내피세포사이 연결((100 내지 780-nm)과 함께 복잡하며 종양은 림프성 배출을 갖지 않는다. 이러한 특성은 콜로이드성 입자의 종양에 대한 수동적 표적화를 생성한다. 입자는 누출성 연결부를 통해 침출되어 종양 간질내에 잔류한다.

[0122] 옴소닌화 감소제는 입자에 대한 생물학적 반응을 변형시키기 위해 제형 중에 포함된다. 본 발명은, 옴소닌화에 의해 콜로이드성 약물 입자를 청소하는 능력이 본원에 제공된 제형 중의 옴소닌화 감소제의 혼입에 의해 감소되는 방법을 제공한다. 옴소닌화 감소제의 혼입은 혈장에서보다는 종양내 보다 높은 약물 수준을 생성한다.

[0123] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 폴리소르베이트 80을 포함하지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 폴리에톡실화된 피마자 오일을 포함하지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 지방 알코올의 PEG 에테르를 포함하지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 지방산의 PEG 에스테르를 포함하지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 레시틴, 폴리소르베이트 80 및 울락타의 그룹으로부터 선택된 제제를 포함하지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 레시틴을 포함하지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 폴리소르베이트 80을 포함하지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본 발명의 제형은 울락타를 포함하지 않는다.

[0124] 활성제 및 불활성제의 비는 입자의 크기 제어에 대한 중요함이 밝혀져 있고 본원에 기재되어 있다. 입자 크기, 활성제(예를 들면, CoQ10)의 비, 분산 안정화제(예를 들면, DMPC) 및 옴소닌화 감소제(예를 들면, 폴록사머) 각각의 이익 또는 이들의 이익에 부정적으로 영향을 미치지 않으면서 분산 안정화제 및 옴소닌화 감소제의 이점을 획득하기 위하여, 분산 안정화제(예를 들면, DMPC) 및 옴소닌화 감소제(예를 들면, 폴록사머)를 조절하여 정맥내 투여시 바람직한 입자 크기 및 콜로이드성 분산물에 대한 바람직한 생물학적 반응을 제공할 수 있다. 특정 실시형태에서, 제형은, 활성제(예를 들면, CoQ10), 분산 안정화제(예를 들면, DMPC) 및 옴소닌화 감소제(예를 들면, 폴록사머)의 용적-당-중량이 각각 4%, 3% 및 1.5%가 되도록 제조한다. 특정의 다른 실시형태에서, 활성제(예를 들면, CoQ10), 분산 안정화제(예를 들면, DMPC) 및 옴소닌화 감소제(예를 들면, 폴록사머)의 용적-당-중량은 각각 8%, 6% 및 3.0%이다. 특정 실시형태에서, 제형은 CoQ10, DMPC 및 폴록사머의 용적-당-중량이 각각 4%, 3% 및 1.5%가 되도록 제조된다. 특정의 다른 실시형태에서, CoQ10, DMPC 및 폴록사머의 용적-당-중량은 각각 8%, 6% 및 3.0%이다.

[0125] 소수성 활성제는 분산을 촉진시키기 위해 이의 용점 초과 온도에서 분산된다. CoQ10은 용점이 대략 48°C이다. 본원에서 용점은 변할 수 있으며, 예를 들면, 47.5°C 내지 49.5°C 범위의 특정 값, 예를 들면, 47.5°C, 48.0°C, 48.5°C, 49.0°C 또는 49.5°C를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, CoQ10은 65°C의 수욕 중에서 혼합되어 CoQ10/물 혼합물을 형성함으로써, CoQ10의 입자 크기를 감소시키고 이를 분산시키는 능력을 개선시킨다.

[0126] 바람직한 실시형태에서, 활성제, 예를 들면, CoQ10은 Microfluidics, Inc.로부터 시판되는 것들과 같은 고압 균질화기(미세유동화기)를 통해 가공된다. CoQ10을 함유하는 공정 스트림(process stream)은 고속으로 상호작용 챔버 내로 펌핑되며 입자는 벽 충돌 및 캐비테이션(cavitation)에 의해 전단(shearing)된다. 이들 전단 효과는 미세유동화기를 통한 반복된 통과를 거쳐 입자 크기를 감소시킨다. 본 발명의 입자는, 양성자 상관 분광법에 의해 측정된 것으로서 평균 입자 직경이 약 200-nm 미만인 나노미터 크기 범위내 크기 분포를 갖는다. 하나의 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 150-nm 미만이다. 하나의 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 125-nm 미만이다. 하나의 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 100-nm 미만이다. 하

나의 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 95-nm 미만, 약 90-nm 미만, 약 85-nm 미만, 약 80-nm 미만, 약 75-nm 미만, 약 70-nm 미만, 약 65-nm 미만, 약 60-nm 미만, 약 55-nm 미만, 약 50-nm 미만, 약 45-nm 미만, 약 40-nm 미만, 약 35-nm 미만, 약 30-nm, 또는 약 25-nm 미만이다. 하나의 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 49-nm 미만, 약 48-nm 미만, 약 47-nm 미만, 약 46-nm 미만, 약 45-nm 미만, 약 44-nm 미만, 약 43-nm 미만, 약 42-nm, 또는 약 41-nm 미만이다. 하나의 실시형태에서, 나노-분산 입자의 평균 크기는 약 45-nm 미만이다. 상한치 또는 하한치로서 이들 값 중 어느 하나를 갖는 범위, 예를 들어, 약 40-nm 내지 49-nm, 약 25-nm 내지 48-nm, 또는 25-nm 내지 47-nm는 본 발명의 일부인 것으로 의도된다.

[0127] 특정의 다른 실시형태에서, 미세유동화기의 수회 통과를 통해, 평균 입자 크기는 10-nm 내지 200-nm로 감소된다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 10-nm 내지 150-nm로 감소된다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 10-nm 내지 125-nm로 감소된다. 다른 실시형태에서 평균 입자 크기는 10-nm 내지 100-nm로 감소된다. 특정의 다른 실시형태에서 평균 입자 크기는 10-nm 내지 90-nm, 10-nm 내지 80-nm, 10-nm 내지 70-nm, 10-nm 내지 60-nm, 10-nm 내지 50-nm, 10-nm 내지 45-nm, 10-nm 내지 40-nm, 또는 10-nm 내지 30-nm로 감소된다. 특정의 바람직한 실시형태에서, 평균 입자 크기는 20-nm 내지 80-nm로 감소된다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 20-nm 내지 70-nm로 감소된다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 20-nm 내지 60-nm로 감소된다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 20-nm 내지 50-nm로 감소된다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 25-nm 내지 45-nm로 감소된다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 30-nm 내지 45-nm로 감소된다. 특정의 다른 바람직한 실시형태에서 평균 입자 크기는 35-nm 내지 40-nm로 감소된다. 상한치 또는 하한치로서 상기 값들 중 어느 하나를 갖는 추가의 범위, 예를 들어, 30-nm 내지 80-nm, 또는 30-nm 내지 40-nm는 본 발명의 일부인 것으로 의도된다.

[0128] 현탁물의 형태, 또는 달리는 유화물의 형태인 콜로이드성 분산물을 갖는 것이 바람직할 수 있다. 본원에서 또한 정의된 것으로서, 현탁물, 또는 나노현탁물은 연속상 및 분산된 고체를 포함하는 반면 유화물은 분산된 비혼화성 액체를 포함한다. 특정의 양상에서 유화물은 용융되고 연속 상으로 분산되어 나노-입자를 형성하는 분산된 소수성 제제를 포함한다. 소수성 활성제가 CoQ10인 경우, 용융되고 분산된 입자가 추가로 분산되며 입자의 크기는 균질화 공정을 통한 후속적인 통과에 의해 추가로 감소되었다. 고체 입자를 사용하는 경우, 용융된 소수성 활성제의 입자가 작을 수록 계면 에너지는 더 높아진다. DMPC와 같은 안정화제를 사용하여 분산된 입자 주변의 표면 층을 형성함으로써 분산된 입자를 안정화시켜 나노-분산된 CoQ10 입자를 생성할 수 있다. 형성된 입자는 200 nm 미만이다. 현탁물은 고 에너지 균질화에 의해 분산된 벌크 소수성 활성제의 입자를 포함한다. CoQ10과 같은 소수성 활성제의 나노-분산물은 현탁물 중에 있다. 예를 들면, CoQ10의 나노-분산물은 DMPC와 같은 안정화제에 의해 둘러싸인 벌크 CoQ10의 분산된 입자를 포함한다. 안정화제는 분산된 벌크 소수성 제제 주변에서 표면 층을 형성하며, CoQ10의 분산된 입자는 나노-분산된 입자의 코어를 형성한다. 일부 실시형태에서, 나노-분산된 입자는 무정형 상태이다. 특정의 다른 실시형태에서, 입자는 동결건조되며 CoQ10의 나노-분산 입자의 CoQ10 코어는 결정화된다.

[0129] 본원에 기술된 제형은 대상체에게 유효량으로 투여할 수 있다. 유효량은 치료된 대상체 또는 세포에서 바람직한 결과를 생산할 수 있는 양이다. 의학 및 수의학 분야에 잘 공지되어 있는 바와 같이, 임의의 하나의 동물의 용량은 특정 동물의 크기, 신체 유형, 연령, 투여될 특정 조성물, 투여 시간 및 투여 경로, 일반적인 건강, 및 약물 투여-전, -동시 또는 -후의 효과를 포함하는 인자에 의존할 수 있다. 제형의 비경구 투여용으로 적절한 용량은 약 110 내지 약 300-lbs 범위의 대상체에 대해 약 10 내지 약 500mg의 CoQ10일 수 있다. 세포 배양물과 함께 사용하기 위한 유효량은 또한 변할 것이지만, 실험적으로(즉, 세포에 대해 다양한 농도를 첨가하고 바람직한 결과를 최대로 잘 생산하는 농도를 선택함으로써) 용이하게 측정할 수 있다. 적절한 농도는 약 1 내지 약 250- μ M일 수 있는 것으로 예측된다.

[0130] **IV. 제형을 제조하는 방법**

[0131] CoQ10은 벌크 상(즉, 벌크 물질)으로 실온에서 고체이고, 주로 결정성 물질이다. 본 발명에 따른 콜로이드성 입자를 제조하기 위한 출발 물질로서 사용되는 고체 벌크 물질은 비-미립자 또는 미립자, 예를 들면, 일반적으로 사용된 분말, 침전물, 응집물, 결정 또는 어떠한 다른 고체 원료일 수 있다.

[0132] 본 발명의 제형을 제조하는데 있어서, 벌크 상 CoQ10과 같은 난용성 소수성 활성제 또는 난용성 물질의 혼합물은 소수성 활성제의 용점 초과액의 배스(bath) 중에서 가열된다. 예를 들면, CoQ10의 용점은 대략 48 $^{\circ}$ C이다. 용점은 변할 수 있으며 예를 들면, 47.5 $^{\circ}$ C 내지 49.5 $^{\circ}$ C 범위의 특정 값을 포함할 수 있는 것으로 고려된다. 물로 이루어진 배스는 65 $^{\circ}$ C이다. 실온에서 벌크 형태의 CoQ10을 65 $^{\circ}$ C 물에 가하고 혼합하여 CoQ10/물 혼합물을 형성

시킨다. 특정 실시형태에서, CoQ10/물 혼합물을 45분 동안 혼합하였다. 특정의 다른 실시형태에서 이를 20 내지 30분 동안 혼합한다. 이어서, 분말 DMPC를 CoQ10/물 혼합물(M1)에 첨가하고 혼합하여 CoQ10/물/안정화제 혼합물을 형성한다. 특정 실시형태에서 CoQ10/물/안정화제 혼합물(M2)을 25 내지 45분 동안 65°C에서 혼합한다. 특정의 다른 실시형태에서, CoQ10/물/안정화제 혼합물을 30분 동안 65°C에서 혼합한다. 이어서, 옵소닌화 감소제를 첨가하여 CoQ10/물/안정화제/옵소닌화 감소제 혼합물을 형성한다. 미세유동화기 챔버를 60 내지 65°C로 예비-가열한다. 이어서, CoQ10/물/안정화제/옵소닌화 감소제(M3)를 미세유동화기내에서 반복된 통과로 가공하여 입자 크기를 200-nm 미만으로 감소시킨다.

[0133] 적합한 미세유동화기는 M110P를 포함하며 마이크로플루이딕스, 인코포레이티드(Microfluidics, Inc.: MFI)를 통해 시판중이다. M110P는 75- μ m 통과 및 F12Y 상호작용 챔버를 갖는다. M3 가공시, 미세유동화기는, 주입구 압력이 30,000 psi이다.

[0134] 미세유동화기내에서 20회 통과 후, 입자 크기를 30-nm 내지 80-nm 또는 바람직하게는 30-nm 내지 75-nm로 감소시켰다.

[0135] CoQ10의 콜로이드성 분산물을, 다양한 형태 및 양의 안정화제 및 옵소닌화 감소제를 사용하여 물 중에서의 용융된 CoQ10 원료의 유화로 제조하였다. 유화는 프로브 초음파처리 및/또는 고압 균질화에 의해 달성하였다. 바람직하게는, 유화는 고압 균질화에 의해 달성한다. 고압 균질화 시스템은 보다 작은 평균 입자 크기 및 보다 협소한 입자 크기 분포를 나타낸다. CoQ10의 콜로이드성 분산물의 평균 입자 직경은 균질화 장비, 균질화 매개변수(시간, 주기, 압력 등) 및 분산물의 조성(안정화제 및 옵소닌화 감소제의 유형 및 양, 상 비 등)과 같은 공정 매개변수를 변경시킴으로써 고려할만한 범위 내에서 변할 수 있다. 시이크만(Siekmann) 및 웨스테센(Westesen)은, 유화에 의해 제조된 CoQ10의 마이크론 이하 크기 제형을 기술하고 있으며, 여기서 콜로이드성 입자는 무정형 상태이다[참조: 이의 전문이 본원에 참조로 인용된, Siekmann, B., and K. Westesen. "Preparation and physicochemical characterization of aqueous dispersions of coenzyme Q10 nanoparticles". *Pharmaceutical Research* 12, no. 2 (1995): 201-208.].

[0136] 본 발명은 시이크만 및 웨스테센에 의해 기재된 것들과 다른 방법에 의해 제조된, CoQ10과 같은 소수성 활성제의 콜로이드성 분산물을 제공한다. 본 발명은, CoQ10이 유화되어 CoQ10의 콜로이드성 입자를 생산하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서 입자는 무정형 상태인 반면, 다른 실시형태에서, 입자는 동결건조됨으로써 콜로이드성 CoQ10 입자가 결정성 형태로 존재하도록 한다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 동결보호제를 사용하여 동결건조시 입자 크기를 안정화시킨다. 또한, 본 발명에서 중요한 차이는 본 발명의 콜로이드성 입자의 균질화 시 사용된 불활성제를 포함한다. 현재 기재된 방법은 본원에 추가로 기술된 안정화제 및 옵소닌화 감소제 중 적어도 하나를 포함한다.

[0137] 본 발명은 소수성 제제, 안정화제 및 옵소닌화 감소제에 대한 신규 비를 추가로 포함한다. CoQ10에 대한 균질화 공정은 폴록사머(옵소닌화 감소제로서) 및 DMPC(분산 안정화제로서)를 크기가 200-nm이고 바람직하게는 약 40-nm인 콜로이드성 CoQ10 입자를 생산하는 비로 포함하는 무정형 CoQ10 콜로이드성 분산물을 생산한다. 적합한 DMPC는 진자임 코포레이션(Genzyme Corporation), 리포이드(Lipoid), 아반티(Avanti), 또는 엔오에프(NOF)에서 구입할 수 있고, 한편 적합한 폴록사머 188은 스펙트럼 코포레이션(Spectrum Corporation) 또는 바스프 코포레이션(BASF Corporation)에서 구입할 수 있다.

[0138] 콜로이드성 분산물을 제조하는데 있어서, CoQ10, DMPC 및 폴록사머 188의 용적-당-중량을 각각 4%, 3% 및 1.5% (즉, 4:3:1.5 비)로 선택하였다. 특정의 다른 적합한 실시형태에서, CoQ10, DMPC 및 폴록사머의 용적-당-중량은 각각 8%, 6% 및 3%(즉 8:6:3 비)이었다. 특정 실시형태에서, CoQ10의 농도는 30 mg/mL 내지 90 mg/mL이다. 특정의 다른 실시형태에서, CoQ10의 농도는 4:3:1.5의 비의 경우 약 40 mg/mL, 8:6:3 비의 경우 약 80 mg/mL 및 6:3:1의 비의 경우 약 60 mg/mL이다.

[0139] CoQ10의 콜로이드성 분산물은 수 주에 걸쳐 실온에서 안정하다. 2 내지 3주에 걸쳐, 입자 크기는 표 1 및 표 2에 나타난 바와 같이 변하지 않고 남았다. "여과된" 및 "반복"으로 표지된 컬럼의 비교는, 여과된 현탁물의 2주 이하 저장은 입자 크기에 유의적으로 영향을 미치지 않았음을 나타낸다. 표 1은 DMPC/CoQ10 비에 있어서의 증가 및 폴록사머 188의 첨가가 감소된 입자 크기를 생성함을 추가로 입증한다. CoQ10/DMPC/P188 4:3:0 제형을 25°C 및 60% 습도에서 안정성 챔버내에 저장하였다. $Z_{\text{평균}}$ (입자 크기)를 시간에 대하여 평가하였다.

표 1

제형 / SOP	입자 크기 (Z-avg)					
	가공됨		여과됨		반복	
	날짜	nm	날짜	nm	날짜	nm
4/1/0 (SOP4.4)	9/8/2009	77.2	9/9/2009	74.3	9/17/09	74.2
4/2/0 (SOP4.2)	9/1/2009	61.7	9/2/2009	63.5	9/17/09	62.2
4/3/0 (SOP4.1)	8/28/2009	51.1	9/2/2009	57.4	9/17/09	53.8
4/1/1 (SOP4.4)	9/9/2009	85	9/9/2009	83.2	9/17/09	86.8
4/2/1 (SOP4.4)	9/3/2009	47.2	9/3/2009	54.7	9/17/09	48.2
4/3/1 (SOP4.4)	9/4/2009	43.6	9/4/2009	39	9/17/09	42.8
4/3/0.5 (SOP4.4)	9/10/2009	44.3	9/10/2009	41.0	9/17/09	40.0
4/3/1.5 (SOP4.4)	9/11/2009	40.5	9/11/2009	38.3	9/17/09	37.5
4/2/0.5 (SOP4.4)	9/16/09	53.1	9/16/09	54.3	9/17/09	55.7
4/2/1.5 (SOP4.4)	9/14/09	50.0	9/14/09	52.7	9/17/09	50.9

[0140]

표 2

제형 / SOP	Zavg 가공됨		Zavg 반복 1		Zavg 반복 2		Zavg 반복 3	
	날짜	nm	날짜	nm	날짜	nm	Date	nm
0494-01-41	9/25/09	43.8	10/15/09	44.8	10/19/09	52.7	10/28/09	
0494-01-44	9/28/09	37.2	10/15/09	42.1	10/19/09	53.2	10/28/09	52.3

[0141]

[0142]

4:3:1.5 및 4:3:0 제형을 염수 용액(희석 인자 1.6)으로 희석하였다. 200 µL의 현탁물 및 120 µL의 염수. 희석된 시료와 희석되지 않은 시료를 안정성 챔버 내에서 25°C 및 60% 습도에서 저장하였다. 입자 크기를 24, 48, 및 96 시간 후에 평가하였다. 표 3은 안정성 결과를 제공한다. 시간 의존성 입자 크기 증가를 염수 희석된 시료 및 희석되지 않은 시료내에서 관찰하였다. "0시간" 내지 "48시간"에서 입자 크기는 4:3:0 제형의 경우 5-8-nm까지 4:3:1.5 제형의 경우 10 내지 11-nm까지 증가하였다.

표 3

로트 번호	Zavg	10/15/09	10/16/09	10/17/09	10/19/09
		0시간 Zavg	24시간 Zavg	48시간 Zavg	96시간 Zavg
0494-01-41 (9/25/09)	42.1	44.8	46.7	46.7	52.7
0494-01-41 + 염수		45.3	47.0	46.0	50.5
0494-01-44 (9/28/09)	38.3	42.1	41.5	48.0	53.2
0494-01-44 + 염수		42.1	43.5	46.1	52.9

[0143]

[0144]

일부 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 0.001% 내지 약 20% (w/w)의 코엔자임 Q10, 보다 바람직하게는 약 0.01% 내지 약 15% 및 심지어 보다 바람직하게는 약 0.1% 내지 약 10% (w/w)의 코엔자임 Q10을 포함할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 제형은 약 4% (w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 제형은 약 8% (w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다. 각종 실시형태에서, 제형은 약 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% 또는 20% (w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다. CoQ10은 가네카(Kaneka) Q10으로부터 분말 형태의 가네카 Q10(USP UBIDECARENONE)[제조원: 파사데나(Pasadena), 미국

텍사스주 소재]로서 수득될 수 있다. 본원에 예시된 방법에 사용된 CoQ10은 다음 특징을 갖는다: 잔류 용매는 USP 467 요건을 충족한다. 물 함량은 0.0% 미만, 0.05% 미만 또는 0.2% 미만이고; 발화시 잔사는 0.0%, 0.05% 미만, 또는 0.2% 미만이며; 중금속 함량은 0.002% 미만, 또는 0.001% 미만이고; 순도는 98 내지 100% 또는 99.9%, 또는 99.5%이다.

[0145] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 IV 제형은 상기 제조된 바와 같이 나노현탁물로 CoQ10을 함유하는 4% 멸균 수성 콜로이드성 분산물이다. 특정 실시형태에서, 제형은 정맥내, 복강내, 정국소(orthotopical), 두개내, 근육내, 피하, 척수내 주사, 및 수막내, 직접적인 뇌실내, 비강내, 또는 안구내 주사를 포함하는 비경구 투여에 적합하다. 특정 실시형태에서, 제형은 입자의 나노현탁물을 안정화하기 위해 고안된 CoQ10, 디미리스토일-포스파티딜콜린, 및 폴록사머 188을 각각 4:3:1.5의 비로 함유한다. 일부 실시형태에서, 제형은 이염기성 인산나트륨, 일염기성 인산칼륨, 염화칼륨, 염화나트륨 및 주사용 물을 함유하는 인산염 완충액 염수 용액을 포함한다.

[0146] 특정 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 1 mg/mL 내지 150 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 5 mg/mL 내지 125 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 10 mg/mL 내지 100 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 20 mg/mL 내지 90 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, CoQ10의 농도는 30 mg/mL 내지 80 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, CoQ10의 농도는 30 mg/mL 내지 70 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, CoQ10의 농도는 30 mg/mL 내지 60 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, CoQ10의 농도는 30 mg/mL 내지 50 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, CoQ10의 농도는 35 mg/mL 내지 45 mg/mL이다. 상한치 또는 하한치로서 앞서의 값중 어느 하나를 갖는 추가의 범위, 예를 들면, 10 mg/mL 내지 50 mg/mL, 또는 20 mg/mL 내지 60 mg/mL가 본 발명의 일부인 것으로 의도됨은 이해하여야 한다.

[0147] 특정 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 약 10, 15, 20, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 또는 95 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 약 50 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 약 60 mg/mL이다. 하나의 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 약 30 mg/mL이다. 바람직한 실시형태에서, 제형내 CoQ10의 농도는 약 40 mg/mL이다. 상한치 또는 하한치로서 이들 값들 중 어느 하나를 갖는 범위, 예를 들면, 37 mg/mL 내지 47 mg/mL, 또는 31 mg/mL 내지 49 mg/mL는 본 발명의 일부인 것으로 의도됨을 이해하여야 한다.

[0148] 일부 실시형태에서, 제형의 평균 입자 크기는 10-nm 내지 200-nm이다. 다른 실시형태에서, 입자 크기는 대략 10-nm 내지 100-nm, 대략 30-nm 내지 80-nm 또는 대략 35-nm 내지 40-nm의 범위이다. 일부 실시형태에서 제형의 평균 입자 크기는 대략 10-nm 내지 150-nm의 범위이다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 10-nm 내지 125-nm의 범위이다. 다른 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 10-nm 내지 100-nm의 범위이다. 특정의 다른 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 10-nm 내지 90-nm, 10-nm 내지 80-nm, 10-nm 내지 70-nm, 10-nm 내지 60-nm, 10-nm 내지 50-nm, 10-nm 내지 45-nm, 10-nm 내지 40-nm, 또는 10-nm 내지 30-nm의 범위이다. 특정의 바람직한 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 20-nm 내지 80-nm의 범위이다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 20-nm 내지 70-nm의 범위이다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 20-nm 내지 60-nm의 범위이다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 20-nm 내지 50-nm의 범위이다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 25-nm 내지 45-nm의 범위이다. 하나의 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 30-nm 내지 45-nm의 범위이다. 특정의 다른 바람직한 실시형태에서, 평균 입자 크기는 대략 35-nm 내지 45-nm의 범위이다. 상한치 또는 하한치로서 앞서의 값들 중 어느 하나를 갖는 추가의 범위, 예를 들어, 30-nm 내지 80-nm, 또는 10-nm 내지 40-nm는 본 발명의 일부인 것으로 의도됨을 이해하여야 한다.

[0149] 특정 실시형태에서, 본원에 제공된 나노현탁물 콜로이드성 제형의 저장 및 취급을 위한 키트(kit)가 제공되며, 이에 의해, 나노-현탁물은 바이알 속에 패키징되어 클로로부틸 고무 마개 및 캡(cap) 위의 알루미늄으로 밀봉된다.

[0150]

[0151] **V. 중양성 질환의 치료**

[0152] 본 기재내용의 제형은 중양성 질환의 치료에 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 대상체에게 본 발명의 제형을 중양성 질환을 치료하거나 예방하기에 충분한 양으로 정맥내 투여함으로써 중양성 질환을 치료하거나 예방함을 포함하는, 상기 대상체에서 중양성 질환을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 본 발명의 제형은 또한 중양 세포 성장을 억제하기 위해 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 대상체에게 본 발명의 제형을 정맥내 투여함으로써 중양 세포 성장이 억제되도록 함을 포함하는, 대상체에서 중양 세포 성장을 억제하는 방법을 추가로 제공

한다. 특정 실시형태에서, 대상체는 사람 대상체이다.

[0153] 이러한 제형은 소수성 활성제, 예를 들면, CoQ10 또는 이의 대사산물을 약제학적으로 허용되는 담체 중에 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 이러한 제형은 약 0.001% 내지 약 20% (w/w)의 코엔자임 Q10, 보다 바람직하게는 약 0.01% 내지 약 15% 및 심지어 보다 바람직하게는 약 0.1% 내지 약 10% (w/w)의 코엔자임 Q10을 포함할 수 있다. 하나의 실시형태에서, 제형은 약 4% (w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다. 하나의 실시형태에서 제형은 약 8% (w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다. 각종 실시형태에서, 제형은 약 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% 또는 20%(w/w)의 코엔자임 Q10을 포함한다. 본원에 또한 주목된 바와 같이, 본 기재내용의 조성물은 대상체내로 당해 분야의 숙련가의 이해의 범위내에서 어떠한 투여 수단 또는 투여 경로에 의해 도입될 수 있는 액체 형태일 수 있다. 예를 들면, 조성물은 정맥내, 종양내, 이의 조합 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는 투여 경로로 투여될 수 있다.

[0154] 본 발명의 특정 실시형태에서, 본 발명의 코엔자임 Q10 제형을 사람에게 정맥내 투여하여 치료 또는 예방이 일어나도록 함으로써 사람에서 종양성 질환을 치료하거나 예방하는 방법이 제공되며, 여기서 사람은 코엔자임 Q10을 약 0.5 mg/kg 내지 약 10,000 mg/kg, 약 5 mg/kg 내지 약 5,000 mg/kg, 약 10 mg/kg 내지 약 3,000 mg/kg의 범위의 용량으로 투여받는다. 하나의 실시형태에서, 코엔자임 Q10은 약 10 mg/kg 내지 약 1,400 mg/kg의 범위로 투여된다. 하나의 실시형태에서, 코엔자임 Q10은 약 10 mg/kg 내지 약 650 mg/kg의 범위로 투여된다. 하나의 실시형태에서, 코엔자임 Q10은 약 10 mg/kg 내지 약 200 mg/kg의 범위로 투여된다. 각종 실시형태에서, 코엔자임 Q10은 약 2mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 55 mg/kg, 60 mg/kg, 65 mg/kg, 70 mg/kg, 75 mg/kg, 80 mg/kg, 85 mg/kg, 90 mg/kg, 95 mg/kg, 100 mg/kg, 110 mg/kg, 120 mg/kg, 130 mg/kg, 140 mg/kg, 150 mg/kg, 160 mg/kg, 170 mg/kg, 180 mg/kg, 190 mg/kg 또는 200 mg/kg의 용량으로 투여된다. 상한치 또는 하한치로서 이들 값 중 어느 하나를 갖는 범위, 예를 들면, 약 50 mg/kg 내지 약 200 mg/kg, 또는 약 650 mg/kg 내지 약 1400 mg/kg이 본 발명의 일부인 것으로 의도된다. 하나의 실시형태에서, 투여된 용량은 적어도 약 1 mg/kg, 적어도 약 5 mg/kg, 적어도 약 10 mg/kg, 적어도 약 12.5 mg/kg, 적어도 약 20 mg/kg, 적어도 약 25 mg/kg, 적어도 약 30 mg/kg, 적어도 약 35 mg/kg, 적어도 약 40 mg/kg, 적어도 약 45 mg/kg, 적어도 약 50 mg/kg, 적어도 약 55 mg/kg, 적어도 약 60 mg/kg, 적어도 약 75 mg/kg, 적어도 약 100 mg/kg, 적어도 약 125 mg/kg, 적어도 약 150 mg/kg, 적어도 약 175 mg/kg, 적어도 약 200 mg/kg, 적어도 약 300 mg/kg, 또는 적어도 약 400 mg/kg이다.

[0155] 하나의 실시형태에서, 코엔자임 Q10 제형은 주당 1회 투여된다. 하나의 실시형태에서, 코엔자임 Q10 제형은 주당 3회 투여된다. 다른 실시형태에서, 코엔자임 Q10 제형은 주당 5회 투여된다. 하나의 실시형태에서, 코엔자임 Q10 제형은 하루에 1회 투여된다. 일부 실시형태에서, 정맥내 제형이 주입에 의해 투여되는 경우, 용량은 약 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간 또는 그 이상에 걸친 주입에 의해 투여된다. 하나의 실시형태에서, IV 제형은 약 4시간에 걸친 주입에 의해 투여된다.

[0156] 다른 실시형태에서, 코엔자임 Q10은 CoQ10 IV 제형의 형태로 약 10 mg/kg 내지 약 10,000 mg/kg의 CoQ10, 약 20 mg/kg 내지 약 5000 mg/kg, 약 50 mg/kg 내지 약 3000 mg/kg, 약 100 mg/kg 내지 약 2000 mg/kg, 약 200 mg/kg 내지 약 1000 mg/kg, 또는 약 300 mg/kg 내지 약 500 mg/kg의 용량으로 투여되며, 여기서 CoQ10 제형은 약 1% 내지 10%의 코엔자임 Q10을 포함한다. 하나의 실시형태에서, CoQ10 제형은 약 4%의 코엔자임 Q10을 포함한다. 하나의 실시형태에서, CoQ10 IV 제형은 약 8%의 코엔자임 Q10을 포함한다. 다른 실시형태에서, CoQ10 IV 제형은 약 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5%, 4%, 4.5%, 5%, 5.5%, 6%, 6.5%, 7%, 7.5%, 8%, 8.5%, 9%, 9.5% 또는 10%의 코엔자임 Q10을 포함한다. 상한치 또는 하한치로서 이들 값들 중 어느 하나를 갖는 범위는 본 발명의 일부로 의도됨을 이해하여야 한다.

[0157] 본원에 사용된 것으로서, "종양성 질환"는 백혈병, 림프종, 흑색종, 암종 및 육종을 포함하나, 이들에 한정되지 않는, 사람에서 발견된 암 또는 신생물 또는 악성 종양의 모든 유형을 말한다. 본원에 사용된 것으로서, 용어 또는 언어 "종양성 질환", "암", "신생물" 및 "종양"은 상호교환적으로 사용되며 단수 또는 복수 형태 어느 것도 숙주 유기체에 대해 이들이 병리학적으로 되도록 하는 악성 형질전환을 겪은 세포를 말한다. 원발성 암 세포(즉, 악성 형질전환의 부위 근처로부터 입수한 세포)는 잘-확립된 기술, 특히, 조직학적 실험에 의해 비-암성 세포로부터 용이하게 구별될 수 있다. 본원에 사용된 것으로서, 암 세포의 정의는 원발성 암 세포만을 포함하는 것이 아니라, 암 줄기 세포, 및 또한 암 후대 세포, 또는 암 세포 조상으로부터 유도된 임의의 세포도 포함한다. 이는 전이된 암 세포, 및 시험관내 배양물, 및 암 세포로부터 유도된 세포주를 포함한다. 고품 종양으로서 일반적으로 나타나는 암의 유형을 언급하는 경우, "임상적으로 검출가능한" 종양은 예를 들면, CAT 스캔, MR 영상화, X-선, 초음파 또는 촉진과 같은 과정에 의해 종양 덩어리를 기초로 검출될 수 있고/있거나 환자

로부터 수득가능한 시료에서 하나 이상의 암-특이적인 항원의 발현으로 인하여 검출가능한 것이다.

[0158] 용어 "육종"은 일반적으로 배아 연결 조직과 같은 물질로 이루어지고 일반적으로 원섬유 또는 균질성 물질 중에 봉매된 밀착되어 패키징된 세포로 구성된 종양을 말한다. IV 제형으로 CoQ10의 콜로이드성 분산물을 사용하여 치료될 수 있는 육종의 예는 예를 들면, 연골 육종, 섬유 육종, 림프 육종, 흑색 육종, 점액 육종, 골육종, 아베메티스 육종(Abemethy's sarcoma), 지방 육종, 지방육종, 포상 연부 육종, 사기질 육종, 보트리오이드 육종(botryoid sarcoma), 녹색종 육종, 용모막 암종, 배아 암종, 윌름즈 종양 육종(Wilms' tumor sarcoma), 자궁내막 육종, 기질 육종, 유잉 육종(Ewing's sarcoma), 근막 육종, 섬유아세포 육종, 거대세포 육종, 과립구 육종, 호지킨 육종(Hodgkin's sarcoma), 특발성 다발 색소침착 출혈 육종(idiopathic multiple pigmented hemorrhagic sarcoma), B 세포의 면역아세포 육종, 림프종, T-세포의 면역아세포 육종, 얀센 육종(Jensen's sarcoma), 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 쿠퍼 세포 육종(Kupffer Cell sarcoma), 혈관 육종, 백혈구 육종, 악성 내배엽 육종, 뼈주위 육종, 망상적혈구 육종, 로우스 육종(Rous sarcoma), 장액낭종 육종, 윤활막 육종, 및 혈관확장 육종(telangiectaltic sarcoma)을 포함한다.

[0159] 용어 "흑색종"은 피부 및 다른 기관의 멜라닌계로부터의 발생하는 종양을 의미한다. IV 제형의 CoQ10의 콜로이드성 분산물로 치료할 수 있는 흑색종은 예를 들면, 말단-흑자 흑색종(acral-lentiginous melanoma), 멜라닌결핍 흑색종, 양성 소아 흑색종, 클라우드만 흑색종(Cloudman's melanoma), S91 흑색종, 하딩-패시 흑색종(Harding-Passey melanoma), 소아 흑색종, 악성 흑색점 흑색종, 악성 흑색종, 손발톱밑 흑색종, 및 표재확산 흑색종을 포함한다.

[0160] 용어 "암종"은 주변 조직으로 침투하여 전이를 유발하는 경향이 있는 내피 세포로 구성된 악성 신 성장을 말한다. 본원에 기술된 바와 같이 IV 제형의 CoQ10의 콜로이드성 분산물을 사용하여 치료할 수 있는 암종은 예를 들면, 상피성 암종, 선방상 암종, 샘낭암종, 선낭암종, 선암종, 부신피질의 암종, 폐포세포암종, 기저 세포 암종, basocellulare 암종(carcinoma basocellulare), 상피성 암종, 기저편평세포 암종, 세기관지성 암종, 기관지원성 암종, 대뇌모양 암종, 담관세포 암종, 용모막 암종, 점액성 암종, 면포 암종, 자궁체부 암종, 체모양 암종, 갑옷 암종, 내피종 암종(carcinoma cutaneum), 원주 암종, 원주 세포 암종, 관 암종, 굳음 암종(carcinoma durum), 배아 암종, 엔세팔로이드 암종(encephaloid carcinoma), 에피에르모이드 암종(epiermoid carcinoma), 에피텔리알 아테노이드 암종(carcinoma epitheliale adenoides), 외성장 암종(exophytic carcinoma), 괴양 바깥 암종(carcinoma ex ulcere), 섬유성 암종(carcinoma fibrosum), 젤라틴모양 암종(gelatiniform carcinoma), 젤라틴성 암종, 거대세포 암종, 거대세포핵 암종(carcinoma gigantocellulare), 선암종, 과립세포 암종, 모발-매트릭스 암종(hair-matrix carcinoma), 헤마토이드 암종(hematoid carcinoma), 간세포 암종, 허틀 세포 암종(Hurthle Cell carcinoma), 유리질 암종, 하이페메프roid 암종(hypemephroid carcinoma), 초기 배아 암종(infantile embryonal carcinoma), 상피내암종(carcinoma in situ), 표피내 암종, 상피내 암종, 크롬페처스 암종(Krompecher's carcinoma), 쿨치츠키-세포 암종(Kulchitzky-cell carcinoma), 거대-세포 암종(large-cell carcinoma), 수정체 암종, 수정체양 암종, 지방종 암종, 림프상피성 암종, 수질성 암종(carcinoma medullare), 골수 암종(medullary carcinoma), 멜라닌 암종, 연성 암종(carcinoma molle), 흑각 세포 암종, 점액암종, 무시과립 암종(carcinoma muciparum), 점액세포 암종(carcinoma mucocellulare), 점막표피모양 암종, 점액암(carcinoma mucosum), 점액암종, 연골종 암종(carcinoma myxomatodes), 코인두 암종, 커리 세포 암종, 화골성 암종, 유골 암종, 유두상 암종, 문맥주위 암종, 자궁경부상피내암(preinvasive carcinoma), 가지세포 암종, 폴타세우스 암종(pultaceous carcinoma), 신장의 신세포 암종, 예비세포 암종(reserve cell carcinoma), 육종성 암종, 슈나이데리안 암종(schneiderian carcinoma), 굳은 암종(scirrhus carcinoma), 음낭 암종, 반지세포 암종(signet-ring cell carcinoma), 단순 암종(carcinoma simplex), 소-세포 암종(small-cell carcinoma), 솔라노이드 암종(solanoid carcinoma), 구형세포 암종(spheroidal cell carcinoma), 방추세포 암종, 해면양 암종(carcinoma spongiosum), 편평 암종(squamous carcinoma), 편평 세포 암종(squamous cell carcinoma), 스트링 암종(string carcinoma), 모세혈관확장성 암종, 모세혈관확장고리 암종(carcinoma telangiectodes), 이행세포 암종, 결절성 암종(carcinoma tuberosum), 결절암종(tuberous carcinoma), 사마귀모양 암종, 및 용모막 암종을 포함한다.

[0161] 암을 치료하기 위해 사용된 경우, 제형은 단독-치료요법으로서, 제공된 처방을 위한 적어도 하나의 다른 화학치료제와 함께, 방사선 치료요법과 함께, 종양을 방사선으로 제거하기 위한 외과적 개입 후, 암에 대한 다른 대안의 및/또는 보충적으로 허용되는 치료와 함께 종양발생 부위에 대해 치료학적 유효량으로 투여될 수 있는 약제학적으로 허용되는 담체 속에 존재할 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 기재내용은 또한 환자에서 종양형성 부위에 본 기재내용의 조성물을 투여함으로써 돌연변이된/불활성화된 p53 단백질을 재활성화시키기 위한 방법을

제공한다.

[0162] 본 기재내용은 또한 환자에서 종양형성 부위에 본 기재내용의 조성물을 투여함으로써 종양형성에 관여된 단백질을 조절하는 방법을 제공한다. 본 기재내용의 조성물에 의해 조절될 수 있는 이러한 단백질은 Bcl-2 단백질; Bax 단백질; Bid 단백질; Bim 단백질; Bad 단백질; Bak 단백질; mcl-1 단백질; Bcl-x1 단백질; Bcl-xs 단백질; Bcl-w 단백질; Bik 단백질; Bok 단백질; BimL 단백질; Al 단백질; Hrk 단백질; Bik 단백질; BNIP3 단백질; BIK 단백질; Noxa 단백질; Puma 단백질; VEGF 단백질; FGF-1/FGF-2 단백질; Hif- α 단백질; 안지오테틴 단백질; TGF- β 단백질; smad 단백질; cdk(사이클린-의존성 키나제); PI3K/akt 복합체를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 다른 실시형태에서, 본 기재내용의 조성물을 이용하여 암 세포내에서 건강한 세포자멸사 상태를 조절하고/하거나 회복시킬 수 있다. 미토콘드리아 기능장애 및 세포자멸사의 조절장애는 암 및 신경변성과 같은 많은 질환에 관여되어 있다. 호흡기 쇄(RC) 기능장애는 유전 모델로서 미토콘드리아 DNA 돌연변이를 사용하여 입증되는 바와 같이, 세포자멸사에서 역할을 가질 수 있다. 비록 일부 돌연변이가 전체 RC를 제거한다고 해도, 전자 유동의 감소되거나 완전한 손실을 생성하는 다른 표적 특이적인 복합체는 손상된 호흡 및 아데노신 트리포스페이트(ATP) 합성을 초래한다. 이들 유사성에도 불구하고, 세포자멸사 자극에 대한 반응시 유의적인 차이가 나타난다. RC를 결여한 세포는 미토콘드리아- 및 세포질 세망(ER) 스트레스-유도된 세포자멸사 둘 다에 대해 보호된다. RC를 가진 세포는 전자 유출을 생성할 수 없지만, 이들이 ER 스트레스에 대해 민감성이 증가되어 있음에도 불구하고, 미토콘드리아 세포자멸사에 대해 보호된다. 최종적으로, 전자 유출이 부분 감소된 세포는 조건들 둘 다하에서 세포자멸사가 증가되어 있다. RC는 ATP 생산과는 독립적인 내용-의존적 방식으로 세포자멸사를 조절하며, 세포자멸사 반응은 미토콘드리아 기능 상태와 환경적 신호 사이의 상호작용의 결과이다.

[0163] 종양발생 인자들 사이의 교통신호 및 세포자멸사의 수행은 또한 시토크롬 C, 엔도 G, 또는 AIF와 같은 방출된 인자에 의해 막 탈분극시 개방되는 미토콘드리아 막 공극을 통해 매개될 수 있다. 또한, 암 세포는 산소의 존재(호기성 당분해)하에서 과도한 락테이트를 생성한다. 현재 이러한 현상은 2개 인자들: 배아의 더 많은 당분해 대사로의 복귀 및 반응성 산소 종(ROS) 생산을 증가시키기 위한 산화 포스포릴화(OXPHOS)에 있어서의 변경의 생성물인 것으로 여겨지고 있다. Ras-PI3K-Akt 시그널 형질유도 경로에 있어서의 변경은 핵스키나제 II의 유도 및 당을 포스포릴화시키고 당분해를 유도하는 미토콘드리아 ATP를 재지시하는 미토콘드리아 포린에 대한 이의 부착을 생성할 수 있다. 또한, 미토콘드리아 유전자 돌연변이(배자-계 또는 체세포)에 의한 OXPHOS의 부분적 억제 는 전자 수송 쇄를 통한 전자 흐름을 감소시켜, 미토콘드리아 ROS 생산을 증가시킬 수 있다. 증가된 ROS는 핵 프로토-종양유전자(nuclear proto-oncogene)를 돌연변이시키고(개시) 핵 복제를 유도하여(촉진), 암을 생성한다. 따라서, 핵스키나제 II 및 미토콘드리아 ROS는 암 치료요법에 대한 대안적인 표적으로서 유용할 수 있다. 대사적 흐름은 이것이 암과 관련되므로 당분해 상태를 통해 종양유전자성 상태에서 연루되어 당분해 상태로 이동한다. 암 세포의 생존은 당 대사 및 낮은산소 수준에 필수적으로 의존한다. 보다 큰 복잡성은, 미토콘드리아 활성이 정지의 시점에 대해 유의적으로 약화된다는 것이다. 시트르산 주기(TCA)로부터의 전자를 수용하는 복합체 1-IV와 일반적으로 관련된 산화적 인산화는 필수적으로 정지(shut down)되어 있다. 유리 라디칼과 락테이트 데하이드로게나제 활성의 양에 있어 현저한 증가가 존재하다. 따라서, 암 세포는 (1) 감소된 산소(저산소증); (2) 증가된 유리-라디칼 형성; (3) 조절곤란한 세포자멸사(세포 사멸); (4) 당 대사의 의존성; (5) 증가된 혈관 형성; 및 (6) 변경된 면역 인식(자가-조절 상태 개시)의 상태에 있다.

[0164] 일반적으로, 본원에 기술된 CoQ10 IV 제형은 어떠한 신생물도 예방학적으로 또는 치료학적으로 치료하는데 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 제형을 사용하여 고형 종양을 치료한다. 본 발명의 각종 실시형태에서, CoQ10은 뇌, 중추 신경계, 두부 및 경부, 전립선, 유방, 고환, 췌장, 간, 결장, 방광, 요도, 담낭, 신장, 폐, 비-소세포 폐, 흑색종, 중피종, 자궁, 자궁경부, 난소, 육종, 골, 위 및 속질모세포종 암의 치료 또는 예방을 위해 사용된다. 하나의 실시형태에서, 본원에 기술된 CoQ10 IV 제형은 예를 들면, 폐, 간 또는 중추 신경계와 같은 특정 기관에 나타나거나, 이들 기관으로 이주하거나 대사하는 녹색백혈병, 예를 들면, 원발성 녹색백혈병 또는 2차 또는 전이성 녹색백혈병을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0165] 그러나, 본 발명의 CoQ10 IV 제형을 사용한 치료는 암의 앞서의 유형에 제한되지 않는다. 본 발명의 CoQ10 IV 제형을 사용한 치료에 적합한 암의 예는 예를 들면, 호지킨 병(Hodgkin's Disease), 비-호지킨 림프종(Non-Hodgkin's Lymphoma), 다발골수종, 신경모세포종, 유방암, 난소암, 폐암, 횡문근육종, 원발성 혈소판증가증, 원발성 마크로글로불린혈증, 소-세포 폐 종양, 원발성 뇌 종양, 위암, 결장암, 악성 췌장 인슐린종, 악성 유암종, 방광암, 전암 피부 변형, 고환 암, 림프종, 갑상샘암, 신경모세포종, 식도암, 비노생식기관 암, 악성 고갈습혈증, 자궁경부암, 자궁내막 암, 부신피질 암, 및 전립선 암을 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 하나의 실시형태에서, 본원에 기술된 CoQ10 IV 제형을 사용하여 각종 유형의 피부암(예를 들면, 편평 세포 암종 또는 기저 세

포 암종), 췌장 암, 유방 암, 전립선 암, 간 암 또는 골 암을 치료하거나 예방할 수 있다. 하나의 실시형태에서, CoQ10은 편평 세포 암종(SCCIS(반응계내) 및 보다 공격적인 편평세포 암종 포함), 기저 세포 암종(표재, 결절 및 침윤성 기저 세포 암종 포함), 흑색종, 및 광선각화증을 포함하나, 이에 한정되지 않는 피부 종양성 질환의 치료에 사용된다. 하나의 실시형태에서, CoQ10으로 치료될 수 있는 종양성 질환 또는 암은 흑색종이 아니다. 하나의 실시형태에서, 종양성 질환은 측각 세포 암종(MCC)이다.

[0166] 특정 실시형태에서, 암 세포 위에서 가질 수 있는 효과적인 CoQ10은 부분적으로 암 세포에 의해 나타난 대사 및 산화 흐름의 각종 상태에 의존할 수 있다. CoQ10은 당분해의 종양원성 세포의 의존성의 전환 및 증가된 락테이트 유용성을 차단하고/하거나 방해하는데 이용될 수 있다. 이는 암 상태와 관련되므로, 종양 미세환경의 당분해 및 산화성 흐름을 사용한 이러한 방해는 암 세포의 발달을 감소시키는 방식으로 세포자멸사 및 종양형성에 영향을 미칠 수 있다. 일부 실시형태에서, CoQ10과 당분해 및 산화 흐름 인자의 상호작용은 CoQ10의 능력을 향상시켜 암에서 이의 복원성 세포자멸사 효과를 발휘하는 한편 약물 발견 및 개발을 위한 가치있는 약물 표적을 확립한다. 본 기재내용은 CoQ10 및 이의 대사산물에 초점이 맞추어져 있지만, CoQ10 대신 또는 이와 함께 투여될 수 있는 CoQ10과 관련된 다른 화합물은 벤조퀴논, 이소프레노이드, 파르네솔, 파르네실 아세테이트, 파르네실 피로포스페이트, 1-페닐알라닌, d-페닐알라닌, dl-페닐알라닌, 1-타이로신, d-타이로신, dl-타이로신, 4-하이드록시-페닐피루베이트, 4-하이드록시-페닐락테이트, 4-하이드록시-신나메이트, 타이로신 또는 페닐알라닌의 디펩타이드 및 트리펩타이드, 3,4-디하이드록시만델레이트, 3-메톡시-4-하이드록시페닐글리콜, 3-메톡시-4-하이드록시만델레이트, 바닐산, 페닐아세테이트, 피리독신, S-아데노실 메티오닌, 판테놀, 메발론산, 이소펜틸 피로포스페이트, 페닐부티레이트, 4-하이드록시-벤조에이트, 데카프레닐 피로포스페이트, 베타-하이드록시부티레이트, 3-하이드록시-3-메틸-글루타레이트, 아세틸카르니틴, 아세토아세틸카르니틴, 아세틸글리신, 아세토아세틸글리신, 카르니틴, 아세트산, 피루브산, 3-하이드록시-3-메틸글루타릴카르니틴, 세린, 알라닌, 시스테인, 글리신, 트레오닌, 하이드록시프롤린, 라이신, 이소루이신, 및 루이신의 모든 이성체 형, 심지어 카르니틴 및 글리신의 탄소수 C₄ 내지 C₈ 지방산(부티르산, 카프로익산, 카프릴산, 카프르산, 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 및 스테아르산) 염, 예를 들면, 팔미토일카르니틴 및 팔미토일글리신, 및 4-하이드록시-벤조에이트 폴리프레닐트랜스퍼라제, 이들 화합물의 어떠한 염, 및 또한 이의 어떠한 조합물 등을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0167] 하나의 실시형태에서, 본원에 기술된 바와 같은 CoQ10의 콜로이드성 분산물의 IV 투여는 종양 크기를 감소시키고/시키거나 종양 성장을 억제하고/하거나 종양을 지닌 대상체의 생존 시간을 연장시킨다. 따라서, 본 발명은 또한 사람 또는 동물에게 유효한, 비-독성 양의 CoQ10을 정맥내 주여함으로써 사람 또는 다른 동물에서 종양을 치료하는 방법에 관한 것이다. 당해 분야의 숙련가는 통상의 실험에 의해, 악성 암의 치료 목적을 위한 효과적이고, 비-독성 양의 CoQ10을 결정할 수 있다. 예를 들면, 치료학적 활성량의 CoQ10은 질환 상태(예를 들면, 단계 I 대 단계 IV), 대상체의 연령, 성별, 의학적 합병증(예를 들면, 면역억제된 상태 또는 질환) 및 체중, 대상체에서 바람직한 반응을 유발하기 위한 CoQ10의 능력과 같은 인자들에 따라 변할 수 있다. 용량 요법을 조절하여 최적의 치료학적 반응을 제공할 수 있다. 예를 들면, 수개의 분할된 용량을 매일 투여하거나, 용량을 치료학적 상태의 위급성에 의해 나타난 바와 같이 비례적으로 감소시킬 수 있다.

[0168] 다른 양상에서, 본 발명은 또한 사람에서 침투성 종양성 질환을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 이들 방법은 코엔자임 Q10을 사람에게 치료학적 유효 용량으로 정맥내 투여함으로써 응집성 종양성 질환의 치료 또는 예방이 일어나도록 함을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 이들 방법은 코엔자임 Q10을 사람에게 거의 침투성이 아니거나 비-침투성인 종양성 질환에 대해 사용되거나 선택된 용량 요법보다 더 적은 선택된 용량으로 정맥내 투여함으로써, 침투성 종양성 질환의 치료 또는 예방이 일어나도록 함을 포함한다. 특정 실시형태에서, 침투성의 종양성 질환은 췌장 암종, 간세포 암종, 윙 육종(Ewing's sarcoma), 전이성 유방 암, 전이성 흑색종, 뇌암(성상세포종, 교모세포종), 신경내분비 암, 결장 암, 간 암, 폐암, 골육종, 안드로겐-독립성 전립선 암, 난소 암 및 비-호지킨 림프종을 포함한다.

[0169] 관련 양상에서, 본 발명은 사람에서 비-침투성 종양성 질환을 치료하거나 예방하기 위한 방법을 제공한다. 이들 방법은 코엔자임 Q10을 사람에게 치료학적 유효 용량으로 정맥내 투여함으로써 비-침투성 종양성 질환의 치료 또는 예방이 일어나도록 함을 포함한다. 하나의 실시형태에서, 이들 방법은 코엔자임 Q10을 사람에게 침투성 종양성 질환에 대해 사용되거나 선택된 용량 요법보다 더 높은 선택된 용량으로 투여하여 비-침투성 종양성 질환의 치료 또는 예방이 일어나도록 함을 포함한다. 특정 실시형태에서, 비-침투성 종양성 질환은 비-전이성 유방 암, 안드로겐-의존성 전립선 암, 소 세포 폐 암 및 급성 림프성 백혈병을 포함한다.

[0170] 본 발명의 일부 실시형태에서, 종양성 질환의 치료 또는 예방은 CoQ10과, HNF4-알파, Bcl-x1, Bcl-xS, BNIP-2,

Bcl-2, Birc6, Bcl-2-L11 (Bim), XIAP, BRAF, Bax, c-Jun, Bmf, PUMA, cMyc, 트랜스알돌라제 1, COQ1, COQ3, COQ6, 프레닐트랜스퍼라제, 4-하이드로벤조에이트, 중성구 세포질성 인자 2, 산화질소 신타제 2A, 슈퍼옥사이드 디스뮤타제 2, VDAC, Bax 채널, ANT, 시토크롬 c, 복합체 1, 복합체 II, 복합체 III, 복합체 IV, Foxo 3a, DJ-1, IDH-1, Cpt1C 및 Cam 키나제 II로 이루어진 그룹 중에서 선택된 단백질과의 상호작용을 통해 발생한다. 일부 실시형태에서, 종양성 질환은 백혈병, 림프종, 흑색종, 암종 또는 육종으로 이루어진 그룹 중에서 선택된다.

[0171] 본 발명의 특정 실시형태에서, 종양성 질환은 백혈병, 림프종, 흑색종, 암종 및 육종으로 이루어진 그룹 중에서 선택된다.

[0172] 본 발명의 특정 실시형태에서, 당해 방법은 또한 수술, 방사선, 호르몬 치료요법, 항체 치료요법, 성장 인자, 사이토킨을 사용한 치료요법, 및 화학치료요법 중 어느 하나를 포함하는 치료 요법을 포함한다.

[0173] 수득되는 CoQ10 나노입자는 또한 다른 친지성 약물에 대한 담체 시스템으로서 제공될 수 있다. 비타민 A 및 K3를 예를 들면, 이에 혼입시킬 수 있다.

[0174] **VI. 병용 치료요법**

[0175] 특정 실시형태에서, 본 발명의 제형, 예를 들면, CoQ10 정맥내 제형은 적어도 하나의 다른 치료제와의 병용 치료요법에서 사용될 수 있다. CoQ10 및/또는 이의 약제학적 제형 및 다른 치료제는 추가적으로, 또는 보다 바람직하게는, 상승적으로 작용할 수 있다 하나의 실시형태에서, CoQ10 및/또는 이의 제형은 다른 치료제의 투여와 동시에 투여된다. 다른 실시형태에서, 화합물 및/또는 이의 약제학적 제형은 다른 치료제의 투여 이전에 또는 후속적으로 투여된다. 하나의 실시형태에서, CoQ10 및 추가의 치료제는 상승적으로 활성이다. 하나의 실시형태에서, CoQ10 및 추가의 치료제는 추가적으로 작용한다.

[0176] 하나의 실시형태에서, 본 발명의 치료학적 방법은 하나 이상의 첨가제, 예를 들면, 하나 이상의 치료제의 투여를 추가로 포함한다. 예를 들면, 하나의 실시형태에서, 본 발명의 치료제에서 사용하기 위한 첨가제는 화학치료제이다.

[0177] 화학치료제는 일반적으로 예를 들면, 1. 토포이소머라제 II 억제제(세포독성 항생제), 예를 들면, 안트라사이클린/안트라세네디온, 예를 들면, 독소루비신, 에피루비신, 이다루비신 및 네모루비신, 안트라퀴논, 예를 들면, 미톡산트론 및 로숙산트론, 및 포도필로톡신, 예를 들면, 에토포시드 및 테니포시드; 2. 미세관 형성에 영향을 미치는 제제(유사분열 억제제), 예를 들면, 식물 알칼로이드(예를 들면, 알칼린의 계열에 속하는 화합물, 생물학적으로 활성이고 세포독성인 식물로부터 기원한 질소-함유 분자), 예를 들면, 탁산, 예를 들면, 파클리탁셀 및 도세탁셀, 및 빈카 알칼로이드, 예를 들면, 빈블라스틴, 빈크리스틴, 및 비노렐빈, 및 포도필로톡신의 유도체; 3. 알킬화제, 예를 들면, 질소 무스타드, 에틸렌이민 화합물, 알킬 설포네이트, 및 알킬화 작용을 갖는 다른 화합물, 예를 들면, 니트로소우레아, 다카르바진, 사이클로포스파미드, 이포스파미드 및 멜팔란; 4. 항대사물질(뉴클레오사이드 억제제), 예를 들면, 플레이트, 예를 들면, 엽산, 피우로피리미딘, 푸린 또는 피리미딘 유사체, 예를 들면, 5-플루오로우라실, 카페시타빈, 겐시타빈, 메토티렉세이트 및 에다트렉세이트; 5. 토포이소머라제 I 억제제, 예를 들면, 토포테칸, 이리노테칸, 및 9-니트로캄프토테신, 및 캄프토테신 유도체; 및 6. 백금 화합물/복합체, 예를 들면, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 및 카르보플라틴을 포함하는 각종 부류에 속한다. 본 발명의 방법에 사용하기 위한 예시적인 화학치료제는 아미포스틴(에티올), 시스플라틴, 다카르바진(DTIC), 닥티노마이신, 메클로레타민(질소 무스타드), 스트렙토조신, 사이클로스포스파미드, 카르누스틴(BCNU), 로무스틴(CCNU), 독소루비신(아드리아마이신), 독소루비신 리포(독실), 겐시타빈(겐자르), 다우노루비신, 다우노루비신 리포(다우녹슘), 프로카르바진, 미토마이신, 사이타라빈, 에토포시드, 메토티렉세이트, 5-플루오로우라실(5-FU), 빈블라스틴, 빈크리스틴, 블레오마이신, 파클리탁셀(탁술), 도세탁셀(탁소테), 알데스큐린, 아스파라기나제, 부셀판, 카르보플라틴, 클라드리빈, 캄프토테신, CPT-11, 10-하이드록시-7-에틸-캄프토테신(SN38), 다카르바진, S-I 카페시타빈, 프토라푸르, 5' 데옥시플루오루리딘, UFT, 에닐우라실, 데옥시사이티딘, 5-아자사이토신, 5-아자데옥시사이토신, 알로푸리놀, 2-클로로 아데노신, 트리메트렉세이트, 아미노프테린, 메틸렌-10-데아자아미노프테린(MDAM), 옥사플라틴, 피코플라틴, 테트라플라틴, 사트라플라틴, 백금-DACH, 오르마플라틴, CI-973, JM-216, 및 이의 유사체, 에피루비신, 에토포시드 포스페이트, 9-아미노캄프토테신, 10,11-메틸렌디옥시캄프토테신, 카레니테신, 9-니트로캄프토테신, TAS 103, 빈테신, L-페닐알라닌 무스타드, 이포스파미드메포스파미드, 페르포스파미드, 트로포스파미드 카르무스틴, 세무스틴, 에포틸론, A-E, 토무텍스, 6-머캄투핀, 6-티오구아닌, 암사크린, 에토포시드 포스페이트, 카레니테신, 아사이클로비르, 발라사이클로비르, 간시클로비르, 아만

타딘, 리만타딘, 라미부딘, 지도부딘, 베바시주마브, 트라스투주마브, 리톡시마브, 5-플루오로우라실, 카페시타빈, 펜토스타틴, 트리메트렉세이트, 클라드리빈, 플록수리딘, 플루다라빈, 하이드록시우레아, 이포스파미드, 이다루비신, 메스나, 이리노테칸, 미톡산트론, 토포테칸, 류프롤라이드, 메게스트롤, 벨팔란, 머캅토푸린, 플리카마이신, 미토탄, 페가스타르가세, 펜토스타틴, 피포브로만, 플리카마이신, 스트렙토조신, 타목시펜, 테니포시드, 테스토락톤, 티오구아닌, 티오테파, 우라실 무스타드, 비노렐빈, 클로람부실, 시스플라틴, 독소루비신, 파클리탁셀(탁솔), 블레오마이신, mTor, 상피 성장 인자 수용체(EGFR), 및 섬유모세포 성장 인자(FGF), 및 특정 종양 또는 암에 대한 보호의 적절한 표준을 기준으로 한 당해 분야의 숙련자에게 용이하게 명백한 이의 조합물을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0178] 다른 실시형태에서, 본 발명의 병용 치료요법에서 사용하기 위한 추가의 제제는 생물학 제제(biologic agent)이다.

[0179] 생물학 제제[또한 생물의약품(biologics)으로 칭함]은 생물 시스템, 예를 들면, 유기체, 세포 또는 재조합체 시스템의 생성물이다. 이러한 생물학 제제의 예는 핵산 분자(예를 들면, 안티센스 핵산 분자), 인터페론, 인터루킨, 콜로니-자극 인자, 항체, 예를 들면, 모노클로날 항체, 항-혈관형성제, 및 사이토킨을 포함한다. 예시적인 생물학 제제는 하기에 보다 상세히 논의되어 있으며 일반적으로 예를 들면, 1. 호르몬, 호르몬 유사체, 및 호르몬 복합체, 예를 들면, 에스트로겐 및 에스트로겐 유사체, 프로게스테론, 프로게스테론 유사체 및 프로게스틴, 안드로겐, 아드레노코르티코스테로이드, 항에스트로겐, 항안드로겐, 항테스토스테론, 아드레날 스테로이드 억제제, 및 항-황체화 호르몬; 및 2. 효소, 단백질, 펩타이드, 폴리클로날 및/또는 모노클로날 항체, 예를 들면, 인터루킨, 인터페론, 콜로니 자극 인자 등을 포함하는 각종 부류에 속한다.

[0180] 하나의 실시형태에서, 생물의약품은 인터페론이다. 인터페론(IFN)은 신체에서 천연적으로 발생하는 생물학 제제 유형이다. 인터페론은 또한 실험실에서 생산되며 생물학적 치료요법에서 암 환자에게 제공된다. 이들은, 암 환자의 면역계가 암 세포에 대해 작용하는 방식을 증진시키는 것으로 밝혀졌다.

[0181] 인터페론은 암 세포에게 직접적으로 작용하여 이들의 성장을 지연시키거나, 이들은 암 세포가 보다 정상적인 행위를 갖는 세포로 변화하도록 할 수 있다. 일부 인터페론은 또한 천연 킬러(NK) 세포, T 세포, 및 암세포와 싸우는 것을 돕는 혈류 속의 백혈구 세포의 유형인 대식구를 자극할 수 있다.

[0182] 하나의 실시형태에서, 생물의약품은 인터류킨이다. 인터류킨(IL)은 많은 면역 세포의 성장 및 활성을 자극한다. 이들은 신체내에서 천연적으로 생성되는 단백질(사이토킨 및 케모킨)이지만, 또한 실험실에서도 제조될 수 있다.

[0183] 일부 인터류킨은 암 세포를 파괴하는 작업을 하는, 림프구와 같은 면역 세포의 성장 및 활성을 자극한다.

[0184] 다른 실시형태에서, 생물의약품은 콜로니-자극 인자이다.

[0185] 콜로니-자극 인자(CSF)는 골수내에서 줄기 세포가 보다 많은 혈액 세포를 생산하도록 장려하기 위해 환자에게 제공된 단백질이다. 신체는, 특히 암이 존재하는 경우, 새로운 백혈구, 적혈구, 및 혈소판을 일정하게 필요로 한다. CSF는 화학치료요법과 함께 제공되어 면역계를 증강시키는 것을 돕는다. 암 환자가 화학치료요법을 제공하는 경우, 새로운 혈액 세포를 생산하는 골수의 능력이 억제되어 환자는 감염으로 진행되기가 보다 더 쉽다. 면역계의 일부는 적혈구의 부재하에서 기능할 수 없으므로, 콜로니-자극 인자는 골수 줄기 세포가 백혈구, 혈소판, 및 적혈구를 생산하도록 장려한다.

[0186] 적절한 세포 생산과 함께, 다른 암 치료는, 환자가 보다 높은 용량의 화학치료요법을 계속해서 안전하게 제공받도록 할 수 있다.

[0187] 다른 실시형태에서, 생물의약품은 항체이다. 항체, 예를 들어, 모노클로날 항체는 암 세포에 결합하는, 실험실에서 생산된 제제이다.

[0188] 암을 파괴하는 제제가 체내로 도입되는 경우, 이들은 항체를 찾아서 암 세포를 사멸시킨다. 모노클로날 항체 제제는 건강한 세포를 파괴하지 않는다. 모노클로날 항체는 다양한 메카니즘을 통해 자체의 치료학적 효과를 달성한다. 이들은 세포사멸사 또는 프로그램된 세포 사멸을 생산하는데 있어 직접적인 효과를 가질 수 있다. 이들은 성장 인자 수용체를 차단하여, 종양 세포의 증식을 효과적으로 정지시킬 수 있다. 모노클로날 항체를 발현하는 세포에서, 이들은 항-유전형 항체 형성을 가져올 수 있다.

[0189] 본 발명의 병용 치료에서 사용될 수 있는 항체의 예는 세톡시마브, 토시투모마브, 리톡시마브, 및 이브리투모마브와 같은, 그러나 이에 한정되지 않는 항-CD20 항체를 포함한다. 항-HER2 항체는 또한 암의 치료를 위한 환경

적 영향인자(environmental influencer)와 함께 사용될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 항-HER2 항체는 트라스투주마브(헤르셉틴)이다. 암의 치료용의 환경적 영향인자와 함께 사용될 수 있는 항체의 다른 예는 항-CD52(예를 들면, 알렘투주마브), 항-CD-22 항체(예를 들면, 에프라투주마브), 및 항-CD33 항체(예를 들면, 겐투주마브 오조가미신)을 포함한다. 항-VEGF 항체는 또한 암 치료용의 환경적 영향인자와 함께 사용될 수 있다. 하나의 실시형태에서, 항-VEGF 항체는 베마키주마브이다. 다른 실시형태에서, 생물학 제제는 항-EGFR 항체, 예를 들면, 세툽시마브인 항체이다. 다른 예는 항-당단백질 17-1A 항체 에드레콜로마브이다. 다수의 다른 항-종양 항체가 당해 분야에 공지되어 있으며 당해 분야의 숙련가에 의해 본 발명에 포함되는 것으로 이해될 수 있다.

[0190] 다른 실시형태에서, 생물학 제제는 사이토킨이다. 사이토킨 치료요법은 단백질(사이토킨)을 사용하여 대상체의 면역계가 암성인 세포를 인식하여 파괴하는 것을 돕는다. 사이토킨은 면역계에 의해 체내에서 천연적으로 생산되지만, 또한 실험실에서도 생산될 수 있다. 당해 치료요법은 진전된 흑색종과 함께 및 보조제 치료요법(원발성 암 치료 이후 또는 이외에 제공된 치료요법)과 함께 사용된다. 사이토킨 치료요법은 신체의 모든 부위에 도달하여 암 세포를 사멸시키고 종양이 성장하는 것을 방지한다.

[0191] 다른 실시형태에서, 생물의약품은 융합 단백질이다. 예를 들면, 재조합체 사람Apo2L/TRAIL[제조원: 제넨테크(Genentech)]를 병용 치료요법에서 사용할 수 있다. Apo2/TRAIL은 세포자멸사(프로그램화된 세포 사멸)의 조절 시 관여된 전-세포자멸사 수용체 DR4 및 DR5 둘 다를 활성화시키는 것으로 설계된 최초의 이중 전-세포자멸사 수용체 효능제이다.

[0192] 하나의 실시형태에서, 생물의약품은 안티센스 핵산 분자이다.

[0193] 본원에 사용된 것으로서, "안티센스" 핵산은 단백질을 암호화하는 "센스" 핵산에 대해 상보성인, 예를 들면, 이 본쇄 cDNA 분자의 암호화 쇠에 대해 상보성이거나, mRNA 서열에 대해 상보성이거나 유전자의 암호화 쇠에 대해 상보성인 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 따라서, 안티센스 핵산은 센스 핵산에 대해 수소 결합할 수 있다.

[0194] 하나의 실시형태에서, 생물학 제제는 예를 들면, 혈관형성을 향상시키는 분자의 siRNA 분자, 예를 들면, bFGF, VEGF 및 EGFR이다. 하나의 실시형태에서, 혈관형성을 억제하는 생물학 제제는 RNAi를 매개한다. RNA 간섭(RNAi)은 dsRNA와 동일한 서열을 함유하는 전령 RNA(mRNA)를 분해하기 위해 이본쇄 RNA(dsRNA)를 사용하는 전사 후, 표적화된 유전자-사일런싱 기술(gene-silencing technique)이다[참조: Sharp, P.A. and Zamore, P.D. 287, 2431-2432 (2000); Zamore, P.D., et al. Cell 101, 25-33 (2000). Tuschl, T. et al. Genes Dev. 13, 3191-3197 (1999); Cottrell TR, and Doering TL. 2003. Trends Microbiol. 11:37-43; Bushman F.2003. Mol Therapy. 7:9-10; McManus MT and Sharp PA. 2002. Nat Rev Genet. 3:737-47]. 당해 공정은, 외인성 리보뉴클레아제가 보다 긴 dsRNA를 보다 짧은 것, 예를 들면, 소 방해 RNA 또는 siRNA로 명명된, 21- 또는 22-뉴클레오타이드-길이 RNA로 분해하는 경우 발생한다. 이후에, 보다 작은 RNA 분자는 표적 mRNA의 분해를 매개한다. RNAi의 합성을 위한 키트는 예를 들면, 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs) 또는 암비온(Ambion)으로부터 시판된다. 하나의 실시형태에서 안티센스 RNA에서 사용하기 위한 하나 이상의 화학을 RNAi를 매개하는 분자에서 사용할 수 있다.

[0195] 세포내에서 특정 단백질의 발현을 하향조절(downregulate)하기 위한 안티센스 핵산의 용도는 당해 분야에 잘 공지되어 있다[참조: 예를 들면, Weintraub, H. et al., Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis, Reviews - Trends in Genetics, Vol. 1(1) 1986; Askari, F.K. and McDonnell, W.M. (1996) N. Eng. J. Med. 334:316- 318; Bennett, M.R. and Schwartz, S.M. (1995) Circulation 92:1981-1993; Mercola, D. and Cohen, J.S. (1995) Cancer Gene Ther. 2:47-59; Rossi, JJ. (1995) Br. Med. Bull. 51:217-225; Wagner, R.W. (1994) Nature 372:333-335]. 안티센스 핵산 분자는 다른 핵산 분자(예를 들면, mRNA 서열)의 암호화 쇠에 대해 상보성인 뉴클레오타이드 서열을 포함하며 이에 따라서 기타 핵산 분자의 암호화 쇠에 수소 결합할 수 있다. mRNA의 서열에 대해 상보성인 안티센스 서열은 mRNA의 암호화 영역, mRNA의 5' 또는 3' 해독되지 않은 영역 또는 암호화 영역과 해독되지 않은 영역을 브릿징하는 영역(예를 들면, 5' 해독되지 않은 영역과 암호화 영역의 연결부에서)에서 발견된 서열에 대해 상보성일 수 있다. 또한, 안티센스 핵산은 mRNA를 암호화하는 유전자의 조절 영역, 예를 들면, 해독 개시 서열 또는 조절 성분에 대해 서열내에서 상보성일 수 있다. 바람직하게는, 안티센스 핵산은 mRNA의 3' 해독되지 않은 영역 또는 암호화 쇠 상의 개시 코돈 앞에 있는 또는 이에 스패닝(spanning)하는 영역에 대해 상보성이도록 설계된다.

[0196] 혈관형성을 향상시키는 분자의 암호화 쇠의 서열이 제공되면, 본 발명의 안티센스 핵산을 왓슨 앤드 크릭 염기 쌍화(Watson and Crick base pairing)의 규칙에 따라 설계할 수 있다. 안티센스 핵산 분자는 mRNA의 전체 암호화 영역에 대해 상보성일 수 있지만, 보다 바람직하게는 mRNA의 암호화 또는 비암호화 영역의 일부 만에 대해

안티센스인 올리고뉴클레오타이드이다. 예를 들면, 안티센스 올리고뉴클레오타이드는 mRNA의 해독 개시 부위 주변의 영역에 대해 상보성일 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오타이드는, 예를 들면, 길이가 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0197] 본 발명의 안티센스 핵산은 당해 분야에 공지된 과정을 사용하여 화학적 합성 또는 효소 연결 반응을 사용하여 작제할 수 있다. 예를 들면, 안티센스 핵산(예를 들면, 안티센스 올리고뉴클레오타이드)는 천연적으로 존재하는 뉴클레오타이드, 또는 분자의 생물학적 안전성을 증가시키거나 안티센스와 센스 핵산 사이에 형성된 이중쇄(duplex)의 물리적 안전성을 증가시키기 위해 설계된 다양하게 변형된 뉴클레오타이드를 사용하여 화학적으로 합성시킬 수 있는데, 예를 들면, 포스포로티오에이트 유도체 및 아크리딘 치환된 뉴클레오타이드를 사용할 수 있다. 안티센스 핵산을 생성하는데 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오타이드의 예는 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-요도우라실, 하이포크산틴, 크산틴, 4-아세틸사이토신, 5-(카복시하이드록실메틸)우라실, 5-카복시메틸아미노메틸-2-티오우리딘, 5-카복시메틸아미노메틸 우라실, 디하이드로우라실, 베타-D-갈락토실쿠에오신, 이노신, N6-이소펜테닐아데닌, 1-메틸구아닌, 2,2-디메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸사이토신, 5-메실사이토신, N6-아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸우라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오우라실, 베타-D-만노실쿠에오신, 5'-메톡시카복시메틸우라실, 5-메톡시우라실, 2-메틸티오-N6-이소펜테닐아데닌, 우라실-5-옥시아세트산 (v), 위부톡소신, 슈도우라실, 쿠에오신, 2-티오사이토신, 5-메틸-2-티오우라실, 2-티오우라실, 4-티오우라실, 5-메틸우라실, 우라실-5-옥시아세트산 메틸에스테르, 우라실-5-옥시아세트산 (v), 5-메틸-2-티오우라실, 3-(3-아미노-3-N-2-카복시프로필)우라실, (acp3)w, 및 2,6-디아미노푸린을 포함한다. 세포내에서 발현을 억제하기 위하여, 하나 이상의 안티센스 올리고뉴클레오타이드를 사용할 수 있다. 대안적으로, 안티센스 핵산을, 핵산이 안티센스 배향(즉, 하기 소단락에서 추가로 기술된 바와 같이, 삽입된 핵산으로부터 전사된 RNA가 목적인 표적 핵산에 대해 안티센스 배향으로 될 것이다)으로 서브클로닝된 발현 벡터를 사용하여 생물학적으로 생산할 수 있다.

[0198] 여전히 다른 실시형태에서, 본 발명의 안티센스 핵산 분자는 a-아노머 핵산 분자이다. a-아노머 핵산 분자는 일반적인 a-단위와는 대조적으로, 쇠가 서로에 대해 평행으로 진행되는 상보성 RNA와 특이적인 이분쇄 하이브리드를 형성한다[참조: Gaultier et al. (1987) Nucleic Acids. Res. 15:6625-6641]. 안티센스 핵산 분자는 또한 2'-o-메틸리보뉴클레오타이드[참조: Inoue et al. (1987) Nucleic Acids Res. 15:6131- 6148] 또는 키메라 RNA-DNA 유사체[참조: Inoue et al. (1987) FEBS Lett. 215:327-330]를 포함할 수 있다.

[0199] 다른 실시형태에서, 본 발명의 안티센스 핵산은 RNAi를 매개하는 화합물이다. RNA 방해제는 표적 유전자 또는 계놈 서열에 대해 상동성인 RNA 분자, "짧은 방해 RNA" (shRNA), 및 RNA 간섭(RNAi)에 의한 표적 유전자의 발현을 간섭하거나 억제하는 소 분자를 포함하는 핵산 분자를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. RNA 간섭은 이분쇄 RNA(dsRNA)를 사용하여 dsRNA와 동일한 서열을 함유하는 전령 RNA(mRNA)를 분해하는 전사-후, 표적화된 유전자-사일런싱 기술이다[참조: Sharp, P.A. and Zamore, P.D. 287, 2431-2432 (2000); Zamore, P.D., et al. Cell 101, 25-33 (2000). Tuschl, T. et al. Genes Dev. 13, 3191-3197 (1999)]. 당해 공정은, 내인성 리보뉴클레아제가 보다 긴 dsRNA를 소 간섭 RNA 또는 siRNA로 명명된, 보다 짧은, 21- 또는 22-뉴클레오타이드-긴 RNA로 분해하는 경우에 발생한다. 이후에, 보다 작은 RNA 분절은 표적 mRNA의 분해를 매개한다. RNAi의 합성을 위한 키트는 예를 들면, 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs) 및 암비온(Ambion)으로부터 시판된다. 하나의 실시형태에서 안티센스 RNA에서 사용하기 위한 상기 기술된 화학 중 하나 이상을 사용할 수 있다.

[0200] 대상체내에 대상체의 세포내에서 암호화된 단백질의 발현에 적합한 형태로 도입될 수 있는, 예를 들면, 혈관형성을 억제하는 분자를 암호화하는 핵산 분자를 본 발명의 방법에서 또한 사용할 수 있다. 혈관형성을 억제하는 예시적인 분자는 TSP-I, TSP-2, IFN-g, IFN-a, 안지오스타틴, 엔도스타틴, 투마스타틴, 칸스타틴, VEGI, PEDF, 바소히빈, 및 프롤라틴 2-메톡시에스트라디올의 16 kDa 단편을 포함하나, 이에 한정되지 않는다[참조: 김토를 위해 Kerbel (2004) J. Clin Invest 114:884].

[0201] 예를 들면, 완전한 길이 또는 부분적인 cDNA 서열을 재조합체 발현 벡터내로 클로닝하며 벡터는 표준 분자 생물학 기술을 사용하여 세포내로 형질감염시킨다. cDNA는 예를 들면, 폴리머라제 쇠 반응(PCR)을 사용한 증폭에 의해 또는 적절한 cDNA 라이브러리를 스크리닝함으로써 획득될 수 있다. cDNA의 뉴클레오타이드 서열은 표준 PCR 방법에 의한 cDNA의 증폭 또는 표준 하이브리드화 방법을 사용하여 cDNA 라이브러리를 스크리닝하는데 사용될 수 있는 하이브리드화 프로브의 설계를 허용하는 PCR 프라이머의 설계를 위해 사용될 수 있다.

[0202] 본 발명의 방법에 사용하기 위한 예시적인 생물학 체제는 게피티니브(이레싸), 아나스트라졸, 디에틸stil베스테롤, 에스트라디올, 프레마린, 탈록시펜, 프로게스테론, 노르에티노드렐, 에스티에스테론, 디메스티스테론, 메게

스트롤 아세테이트, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 하이드록시프로게스테론 카프로에이트, 노르에티스테론, 메틸테스토스테론, 테스토스테론, 텍사메타손, 프레드니손, 코르티솔, 솔루메드롤, 타목시펜, 폴베스트란트, 토레미펜, 아미노글루테쓰이미드, 테스틀락톤, 드롤록시펜, 아나스트로졸, 비칼루타미드, 플루타미드, 닐루타미드, 고세렐린, 플루타미드, 류프롤라이드, 트리프트렐린, 아미노글루테쓰이미드, 미토탄, 고세렐린, 설텍시마브, 에플로티니즈, 이마티니브, 토시투모마브, 알렘투주마브, 트라스투주마브, 겐투주마브, 리톡시마브, 이브리투모마브 티옥세탄, 베바키주마브, 데니류킨 디프티톡스, 다클리주마브, 인터페론 알파, 인터페론 베타, 항-4-1BB, 항-4-1BBL, 항-CD40, 항-CD 154, 항-OX40, 항-OX40L, 항-CD28, 항-CD80, 항-CD86, 항-CD70, 항-CD27, 항- HVEM, 항-LIGHT, 항-GITR, 항-GITRL, 항-CTLA-4, 가용성 OX40L, 가용성 4-1BBL, 가용성 CD154, 가용성 GITRL, 가용성 LIGHT, 가용성 CD70, 가용성 CD80, 가용성 CD86, 가용성 CTLA4-Ig, GVAX[®] 및 이의 조합물을 포함하나, 이에 한정되지 않으며, 이들은 특정한 종양 또는 암에 대한 적절한 표준 보호를 기준으로 당해 분야의 숙련자에게 용이하게 명백하다. 제제의 가용성 형태는 제제를 예를 들면, Ig-Fc 영역과 작동적으로 연결시킴으로써, 예를 들면, 융합 단백질로서 제조될 수 있다.

[0203] 하나 이상의 추가의 제제, 예를 들면, 1, 2, 3, 4, 5개를 본 발명의 CoQ10 제형과 함께 투여할 수 있음에 주목하여야 한다. 예를 들면, 하나의 실시형태에서 2개의 화학치료제를 CoQ10과 함께 투여할 수 있다. 다른 실시형태에서, 화학치료제, 생물학 제제, 및 CoQ10을 투여할 수 있다.

[0204] 각종 형태의 생물학 제제를 사용할 수 있다. 이들은 전구형(proform) 분자, 하전되지 않는 분자, 분자 복합체, 염, 에테르, 에스테르, 아마이드 등을 포함하나, 이에 한정되지 않으며, 이들은, 종양내로 이식되거나, 주사되거나, 달리는 삽입되는 경우 생물학적으로 활성화된다.

[0205] 본 발명은 다음 실시예(들)에 의해 추가로 이해될 것이다. 그러나, 당해 분야의 숙련자들은, 특정 실험적 세부 사항이 단지 설명적이며 이후에 오는 특허청구범위에 의해 정의되는, 본원에 기술된 바와 같은 발명을 한정하는 것으로 의미되지 않음을 용이하게 인식할 것이다. 본 명세서 전체에서 인용된 어떠한 특허, 특허 출원, 특허공개 공보 및 참조문헌의 내용은, 이의 전문이 본원에 참조로 혼입된다.

[0206] **실시예**

[0207] 다음 실시예는 CoQ10의 콜로이드성 분산물의 제조를 위한 예시적인 제형을 제공한다.

[0208] **실시예 1 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:3:0 - SOP4.1):** (a) 4g의 CoQ10을 93 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 CoQ10/물 혼합물(M1)을 형성한다; (b) 3g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 CoQ10/물/DMPC 혼합물(M2)을 형성한다; (c) 65°C에서 7000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 미세유동화기 챔버를 65°C로 예비-가열한다; (e) M2를 미세유동화기 중에서 65°C 및 28,000 PSI에서 가공한다.

[0209] **실시예 2 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:2:0 - SOP4.2):** (a) 4g의 CoQ10을 94 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 3g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M2를 형성한다; (c) 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 미세유동화기 가공 챔버를 65°C로 예비-가열시킨다; (e) M2를 예비-가열된 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0210] **실시예 3 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:3:1 - SOP4.3):** (a) 4g의 CoQ10을 92 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 3g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M2를 형성시킨다; (c) 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 1g의 P188(분말)을 M2에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M3을 형성한다; (e) 이어서, 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M3에 적용시킨다; (f) 이어서, 미세유동화기 챔버를 65°C로 예비-가열시킨다; (g) 이어서, M3을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0211] **실시예 4 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:2:1 - SOP4.4):** (a) 4g의 CoQ10을 93 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 2g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합한다; (c) 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 이어서, 1g의 P188 (분말)을 전단된 M2 혼합물에 가하고 65°C에서 10분 이상 혼합하여 혼합물 M3을 형성한다; (e) 미세유동화기를 65°C로 예비-가열한다; (f) 이어서, M3을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0212] **실시예 5 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:3:1 - SOP4.4):** (a) 4g의 CoQ10을 92 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안

혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 이어서, 3g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M2를 형성한다; (c) 이어서, 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 1g의 P188(분말)을 전단된 M2 혼합물에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M3을 형성한다; 이어서, 미세유동화기 가공 챔버를 65°C로 예비-가열한다; 이어서, 혼합물 M3을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0213] **실시예 6 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:1:0 - SOP4.4):** (a) 4g의 CoQ10을 95 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 1g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M2를 형성한다; (c) 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (c) 미세유동화기 가공 챔버를 65°C로 예비-가열한다; (d) 전단된 M2 혼합물을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0214] **실시예 7 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:1:1 - SOP4.4):** (a) 4g의 CoQ10을 94 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 1g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M2를 형성한다; (c) 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 1g의 P188(분말)을 전단된 M2 혼합물에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M3를 형성한다; (e) 미세유동화기 가공 챔버를 65°C로 예비-가열한다; (f) M3 혼합물을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0215] **실시예 8 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:3:0.5 - SOP4.4):** (a) 4g의 CoQ10을 92 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 3g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M2를 형성한다; (c) 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 0.5g의 P188(분말)을 전단된 M2 혼합물에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M3을 형성한다; (e) 미세유동화기 가공 챔버를 65°C로 예비-가열한다; (f) M3 혼합물을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0216] **실시예 9 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:3:1.5 - SOP4.4):** (a) 4g의 CoQ10을 91.5 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 3g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M2를 형성한다; (c) 65°C에서 8,000 rpm으로 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 1.5g의 P188(분말)을 전단된 M2 혼합물에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M3을 형성한다; (e) 미세유동화기 가공 챔버를 65°C로 예비-가열한다; (f) M3 혼합물을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0217] **실시예 10 - 제형 CoQ10/DMPC/P188 (4:2:1.5 - SOP4.4):** (a) 4g의 CoQ10을 92 mL의 65°C 물에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M1을 형성한다; (b) 2g의 DMPC(분말)를 M1에 가하고 10분 동안 혼합하여 혼합물 M2를 형성한다; (c) 65°C에서 8,000 rpm에서 고 전단 혼합기를 M2에 2분 동안 적용시킨다; (d) 1.5g의 P188(분말)을 전단된 M2 혼합물에 가하고 10분 이상 65°C에서 혼합하여 혼합물 M3을 형성한다; (e) 미세유동화기 가공 챔버를 65°C로 예비-가열한다; (f) M3 혼합물을 미세유동화기 중에서 65°C 및 30,000 PSI에서 가공한다.

[0218] 도 17로부터 알 수 있는 바와 같이, 제형 4:3:0 - SOP4.1 혼합물의 가공은, 18회 통과 후 약 50-nm의 입자 크기를 생성하고; 제형 4:2:0 - SOP4.2는 18회 통과 후 약 60-nm의 입자 크기를 생성하며; 제형 4:1:0 - SOP4.4는 18회 통과 후 약 80-nm의 입자 크기를 생성한다.

[0219] 도 18에 묘사한 바와 같이, 혼합물에서의 폴록사머 188(P188)의 첨가는, 제형 4:1:1 - SOP4.4가 12회 통과 후 약 80-nm의 입자 크기를 생성하며; 제형 4:2:1 - SOP4.4가 12회 통과 후 약 50-nm의 입자 크기를 생성하며; 4:3:1 - SOP4.4가 12회 통과 후 약 40-nm의 입자 크기를 생성함을 나타낸다. 따라서, DMPC/CoQ10 및 DMPC/P188 비는 입자 크기를 결정하는데 있어서 중요한 인자이다. 어떠한 특정 이론에 의해 엄메이고자 하지는 않지만, P188은 DMPC 층을 연화시키며 보다 작은 크기의 입자의 초기 형성을 촉진하는 것으로 여겨진다.

[0220] 특정 실시형태에서, 4:3 및 4:2의 CoQ10/DMPC 비는 다양한 양의 P188로 조절하였다. 도 19에 묘사된 바와 같이, CoQ10/DMPC 비가 4:3인 경우에 최종 입자 크기에 대한 P188 농도의 유의적인 효과는 없었다.

[0221] 유사하게, CoQ10/DMPC 4:2 비에 대한 P188 농도의 변화는 도 20에서 알 수 있는 바와 같이 입자 크기에 대해 사소한 효과를 가졌다.

[0222] 다음 실시예는 본원에 제공된 CoQ10의 콜로이드성 분산물의 CoQ10 IV 제형의 투여와 관련된 용도 및 방법을 입증하는 예시적인 실시형태를 제공한다.

[0223] **실시예 11 - 코엔자임 Q10의 pK의 측정:** 4 내지 6주령의 39마리의 암컷 SCID.CB 17 마우스를 용량을 연구하기 전 3 내지 5일 동안 적용시켰다. 39마리의 마우스를 투약일 전에 측정된 평균 체중에 의해 각각 3마리의 13개 그룹으로 두었다. 0일째에, 그룹 1 내지 6에게 단일 용량의 본원에 기술한 바와 같은 폴록사머를 포함하지 않

는 제형(제형 1)을 투여하였다. 그룹 1 내지 6에게 100 mg/kg의 제형 1을 정맥내 주사로 투여하고 혈장 및 조직(비장, 간, 췌장, 폐 및 뇌) 시료를 투약 후 2h, 4h, 8h, 12h, 24h 및 36h 췌에 취하였다. 0일째에, 그룹 7 내지 12에게 단일 용량의 본원에 기술한 바와 같은 폴록사머를 포함하는 CoQ10 제형(제형 2)을 투여하였다. 그룹 7 내지 12에게 100 mg/kg의 제형 2를 정맥내 주사로 투여하고 혈장 및 조직(비장, 간, 췌장, 폐 및 뇌) 시료를 투약 후 2h, 4h, 8h, 12h, 24h 및 36h 췌에 회수하였다. 그룹 13에게는 치료를 제공하지 않았다.

[0224] 생물학적 검사를 수행하여 마우스 혈장, 간, 폐, 비장, 췌장 및 뇌 조직내 CoQ10의 수준을 LC/MS/MS를 사용하여 정량화하였다. CoQ10은 IV 투여 후 36시간까지 마우스 혈장에 대해 1 내지 600µg/mL의 범위에서 마우스 조직에서 0.25 내지 100µg/mL의 범위에서 정량화되었다. 도 22 및 도 23은 혈장 중 CoQ10 제형 1의 농도 프로파일을 제공한다. 도 24 및 도 25는 혈장 중 CoQ10 제형 2의 농도 프로파일을 제공한다. 도 26 및 도 27은 제형 1 및 제형 2 각각에 대한 간 농도를 제공한다. 도 28 및 도 29는 제형 1 및 제형 2 각각에 대한 폐 농도를 제공한다. 도 30 및 도 31은 제형 1 및 제형 2 각각에 대한 비장 농도를 제공한다. 도 32 및 도 33은 제형 1 및 제형 2 각각에 대한 췌장 농도를 제공한다. 도 34 및 도 35는 제형 1 및 제형 2 각각에 대한 뇌 농도를 제공한다.

표 4

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 I)	시간 (시간)	농도 (µg/mL)	평균 농도 (µg/mL)
1	혈장 -G13-예비 용량-1356	0	0.00	0.00
2	혈장 -G13-예비 용량-1354	0	0.00	
3	혈장 -G13-예비 용량-1366	0	0.00	
4	혈장 -F1-G1-1370-2h	2	506.58	503.39
5	혈장 -F1-G1-1344-2h	2	570.76	
6	혈장 -F1-G1-1373-2h	2	432.83	
7	혈장 -F1-G2-1360-4h	4	25.86	62.70
8	혈장 -F1-G2-1374-4h	4	129.70	
9	혈장 -F1-G2-1376-4h	4	32.54	
10	혈장 -F1-G3-1351-8h	8	5.50	7.74
11	혈장 -F1-G3-1371-8h	8	7.14	
12	혈장 -F1-G3-1359-8h	8	10.59	
13	혈장 -F1-G4-1352-12h	12	10.92	8.21
14	혈장 -F1-G4-1347-12h	12	8.33	
15	혈장 -F1-G4-1377-12h	12	5.37	
16	혈장 -F1-G5-1353-24h	24	4.27	5.13
17	혈장 -F1-G5-1369-24h	24	6.14	
18	혈장 -F1-G5-1378-24h	24	4.97	
19	혈장 -F1-G6-1357-36h	36	5.31	5.12
20	혈장 -F1-G6-1372-36h	36	5.87	
21	혈장 -F1-G6-1367-36h	36	4.18	

[0225]

표 5

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 II)	시간 (시간)	농도 (µg/mL)	평균 농도 (µg/mL)
1	혈장 -G13-예비 용량-1356	0	0.00	0.00
2	혈장 -G13-예비 용량-1354	0	0.00	
3	혈장 -G13-예비 용량-1366	0	0.00	
4	혈장 -F2-G7-1345-2h	2	410.81	423.24
5	혈장 -F2-G7-1368-2h	2	406.94	
6	혈장 -F2-G7-1375-2h	2	451.98	
7	혈장 -F2-G8-1358-4h	4	88.82	79.01
8	혈장 -F2-G8-1361-4h	4	54.78	
9	혈장 -F2-G8-1364-4h	4	93.42	
10	혈장 -F2-G9-1346-8h	8	7.40	11.73
11	혈장 -F2-G9-1350-8h	8	15.80	
12	혈장 -F2-G9-1341-8h	8	11.99	
13	혈장 -F2-G10-1348-12h	12	9.32	6.64
14	혈장 -F2-G10-1355-12h	12	3.89	
15	혈장 -F2-G10-1363-12h	12	6.71	
16	혈장 -F2-G11-1342-24h	24	2.41	2.72
17	혈장 -F2-G11-1340-24h	24	2.47	
18	혈장 -F2-G11-1365-24h	24	3.28	
19	혈장 -F2-G12-1349-36h	36	1.36	3.67
20	혈장 -F2-G12-1362-36h	36	5.40	
21	혈장 -F2-G12-1343-36h	36	4.26	

[0226]

표 6

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 I)	시간 (시간)	농도 (µg/g 조직)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	간 -G13-예비 용량-1356	0	0.00	0.00
2	간 -G13-예비 용량-1354	0	0.00	
3	간 -G13-예비 용량-1366	0	0.00	
4	간 -F1-G1-1370-2h	2	181.90	272.82
5	간 -F1-G1-1344-2h	2	299.50	
6	간 -F1-G1-1373-2h	2	337.05	
7	간 -F1-G2-1360-4h	4	432.75	387.30
8	간 -F1-G2-1374-4h	4	382.75	
9	간 -F1-G2-1376-4h	4	346.40	
10	간 -F1-G3-1351-8h	8	369.85	421.45
11	간 -F1-G3-1371-8h	8	513.90	
12	간 -F1-G3-1359-8h	8	380.60	
13	간 -F1-G4-1352-12h	12	314.65	320.42
14	간 -F1-G4-1347-12h	12	304.75	
15	간 -F1-G4-1377-12h	12	341.85	
16	간 -F1-G5-1353-24h	24	316.20	307.28
17	간 -F1-G5-1369-24h	24	308.85	
18	간 -F1-G5-1378-24h	24	296.80	
19	간 -F1-G6-1357-36h	36	352.45	294.10
20	간 -F1-G6-1372-36h	36	272.10	
21	간 -F1-G6-1367-36h	36	257.75	

[0227]

표 7

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 II)	시간 (시간)	농도 (µg/g 조직)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	간 -G13-예비 용량-1356	0	0.00	0.00
2	간 -G13-예비 용량-1354	0	0.00	
3	간 -G13-예비 용량-1366	0	0.00	
4	간 -F2-G7-1345-2h	2	214.55	177.90
5	간 -F2-G7-1368-2h	2	158.30	
6	간 -F2-G7-1375-2h	2	160.85	
7	간 -F2-G8-1358-4h	4	245.15	234.52
8	간 -F2-G8-1361-4h	4	222.30	
9	간 -F2-G8-1364-4h	4	236.10	
10	간 -F2-G9-1346-8h	8	243.85	213.22
11	간 -F2-G9-1350-8h	8	211.55	
12	간 -F2-G9-1341-8h	8	184.25	
13	간 -F2-G10-1348-12h	12	195.00	206.22
14	간 -F2-G10-1355-12h	12	196.90	
15	간 -F2-G10-1363-12h	12	226.75	
16	간 -F2-G11-1342-24h	24	244.70	205.17
17	간 -F2-G11-1340-24h	24	212.05	
18	간 -F2-G11-1365-24h	24	158.75	
19	간 -F2-G12-1349-36h	36	167.90	167.87
20	간 -F2-G12-1362-36h	36	143.00	
21	간 -F2-G12-1343-36h	36	192.70	

[0228]

표 8

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 I)	시간 (시간)	농도 (µg/g 조직)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	폐 -G13-예비 용량 - 1356	0	0.00	0.00
2	폐 -G13-예비 용량 - 1354	0	0.00	
3	폐 -G13-예비 용량 - 1366	0	0.00	
4	폐 -F1-G1-1370-2h	2	139.35	103.68
5	폐 -F1-G1-1344-2h	2	105.80	
6	폐 -F1-G1-1373-2h	2	65.90	
7	폐 -F1-G2-1360-4h	4	22.50	32.55
8	폐 -F1-G2-1374-4h	4	35.35	
9	폐 -F1-G2-1376-4h	4	39.80	
10	폐 -F1-G3-1351-8h	8	30.05	32.47
11	폐 -F1-G3-1371-8h	8	34.65	
12	폐 -F1-G3-1359-8h	8	32.70	
13	폐 -F1-G4-1352-12h	12	12.85	24.80
14	폐 -F1-G4-1347-12h	12	30.05	
15	폐 -F1-G4-1377-12h	12	31.50	
16	폐 -F1-G5-1353-24h	24	19.05	21.30
17	폐 -F1-G5-1369-24h	24	22.20	
18	폐 -F1-G5-1378-24h	24	22.65	
19	폐 -F1-G6-1357-36h	36	54.75	33.08
20	폐 -F1-G6-1372-36h	36	22.75	
21	폐 -F1-G6-1367-36h	36	21.75	

[0229]

표 9

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 II)	시간 (시간)	농도 (µg/g 조직)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	폐 -G13-예비 용량 - 1356	0	0.00	0.00
2	폐 -G13-예비 용량 - 1354	0	0.00	
3	폐 -G13-예비 용량 - 1366	0	0.00	
4	폐 -F2-G7-1345-2h	2	81.15	74.87
5	폐 -F2-G7-1368-2h	2	75.70	
6	폐 -F2-G7-1375-2h	2	67.75	
7	폐 -F2-G8-1358-4h	4	72.90	49.15
8	폐 -F2-G8-1361-4h	4	17.00	
9	폐 -F2-G8-1364-4h	4	57.55	
10	폐 -F2-G9-1346-8h	8	32.95	39.70
11	폐 -F2-G9-1350-8h	8	45.45	
12	폐 -F2-G9-1341-8h	8	40.70	
13	폐 -F2-G10-1348-12h	12	20.75	18.60
14	폐 -F2-G10-1355-12h	12	18.70	
15	폐 -F2-G10-1363-12h	12	16.35	
16	폐 -F2-G11-1342-24h	24	27.80	31.65
17	폐 -F2-G11-1340-24h	24	34.55	
18	폐 -F2-G11-1365-24h	24	32.60	
19	폐 -F2-G12-1349-36h	36	29.75	23.90
20	폐 -F2-G12-1362-36h	36	18.95	
21	폐 -F2-G12-1343-36h	36	23.00	

[0230]

표 10

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 I)	시간 (시간)	농도 ($\mu\text{g/g}$ 조직)	평균 농도 ($\mu\text{g/g}$ 조직)
1	비장 -G13- 예비 용량 - 1356	0	0.00	0.00
2	비장 -G13- 예비 용량 - 1354	0	0.00	
3	비장 -G13- 예비 용량 - 1366	0	0.00	
4	비장 -F1-G1-1370-2h	2	175.60	219.60
5	비장 -F1-G1-1344-2h	2	298.60	
6	비장 -F1-G1-1373-2h	2	184.60	
7	비장 -F1-G2-1374-4h	4	411.60	386.97
8	비장 -F1-G2-1376-4h	4	318.20	
9	비장 -F1-G2-1360-4h	4	431.10	
10	비장 -F1-G3-1351-8h	8	409.20	458.43
11	비장 -F1-G3-1371-8h	8	552.70	
12	비장 -F1-G3-1359-8h	8	413.40	
13	비장 -F1-G4-1352-12h	12	473.40	424.03
14	비장 -F1-G4-1347-12h	12	392.90	
15	비장 -F1-G4-1377-12h	12	405.80	
16	비장 -F1-G5-1353-24h	24	322.10	328.00
17	비장 -F1-G5-1369-24h	24	363.70	
18	비장 -F1-G5-1378-24h	24	298.20	
19	비장 -F1-G6-1357-36h	36	227.80	322.83
20	비장 -F1-G6-1372-36h	36	343.30	
21	비장 -F1-G6-1367-36h	36	397.40	

[0231]

표 11

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 II)	시간 (시간)	농도 ($\mu\text{g/g}$ 조직)	평균 농도 ($\mu\text{g/g}$ 조직)
1	비장 -G13- 예비 용량 - 1356	0	0.00	0.00
2	비장 -G13- 예비 용량 - 1354	0	0.00	
3	비장 -G13- 예비 용량 - 1366	0	0.00	
4	비장 -F2-G7-1345-2h	2	197.70	217.10
5	비장 -F2-G7-1368-2h	2	240.90	
6	비장 -F2-G7-1375-2h	2	212.70	
7	비장 -F2-G8-1358-4h	4	273.60	254.30
8	비장 -F2-G8-1361-4h	4	198.80	
9	비장 -F2-G8-1364-4h	4	290.50	
10	비장 -F2-G9-1346-8h	8	105.40	203.73
11	비장 -F2-G9-1350-8h	8	362.90	
12	비장 -F2-G9-1341-8h	8	142.90	
13	비장 -F2-G10-1348-12h	12	131.10	214.00
14	비장 -F2-G10-1355-12h	12	236.90	
15	비장 -F2-G10-1363-12h	12	274.00	
16	비장 -F2-G11-1342-24h	24	117.50	256.20
17	비장 -F2-G11-1340-24h	24	303.10	
18	비장 -F2-G11-1365-24h	24	348.00	
19	비장 -F2-G12-1349-36h	36	225.00	209.87
20	비장 -F2-G12-1362-36h	36	326.80	
21	비장 -F2-G12-1343-36h	36	77.80	

[0232]

표 12

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 I)	시간 (시간)	농도 (µg/g 조직)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	캡슐 -G13- 예비 용량 -1356	0	0.00	0.00
2	캡슐 -G13- 예비 용량 -1354	0	0.00	
3	캡슐 -G13- 예비 용량 -1366	0	0.00	
4	캡슐 -F1-G1-1370-2h	2	8.00	6.47
5	캡슐 -F1-G1-1344-2h	2	4.75	
6	캡슐 -F1-G1-1373-2h	2	6.65	
7	캡슐 -F1-G2-1360-4h	4	0.00	0.00
8	캡슐 -F1-G2-1374-4h	4	0.00	
9	캡슐 -F1-G2-1376-4h	4	0.00	
10	캡슐 -F1-G3-1351-8h	8	1.75	0.68
11	캡슐 -F1-G3-1371-8h	8	0.05	
12	캡슐 -F1-G3-1359-8h	8	0.25	
13	캡슐 -F1-G4-1352-12h	12	0.10	0.03
14	캡슐 -F1-G4-1347-12h	12	0.00	
15	캡슐 -F1-G4-1377-12h	12	0.00	
16	캡슐 -F1-G5-1353-24h	24	0.00	0.77
17	캡슐 -F1-G5-1369-24h	24	0.65	
18	캡슐 -F1-G5-1378-24h	24	1.65	
19	캡슐 -F1-G6-1357-36h	36	0.00	0.48
20	캡슐 -F1-G6-1372-36h	36	1.45	
21	캡슐 -F1-G6-1367-36h	36	0.00	

[0233]

표 13

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 II)	시간 (시간)	농도 (µg/g 조직)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	캡슐 -G13- 예비 용량 -1356	0	0.00	0.00
2	캡슐 -G13- 예비 용량 -1354	0	0.00	
3	캡슐 -G13- 예비 용량 -1366	0	0.00	
4	캡슐 -F2-G7-1345-2h	2	6.75	4.78
5	캡슐 -F2-G7-1368-2h	2	3.00	
6	캡슐 -F2-G7-1375-2h	2	4.60	
7	캡슐 -F2-G8-1358-4h	4	1.25	2.98
8	캡슐 -F2-G8-1361-4h	4	1.75	
9	캡슐 -F2-G8-1364-4h	4	5.95	
10	캡슐 -F2-G9-1346-8h	8	0.60	1.45
11	캡슐 -F2-G9-1350-8h	8	3.75	
12	캡슐 -F2-G9-1341-8h	8	0.00	
13	캡슐 -F2-G10-1348-12h	12	0.00	0.88
14	캡슐 -F2-G10-1355-12h	12	0.00	
15	캡슐 -F2-G10-1363-12h	12	2.65	
16	캡슐 -F2-G11-1342-24h	24	7.15	3.43
17	캡슐 -F2-G11-1340-24h	24	3.15	
18	캡슐 -F2-G11-1365-24h	24	0.00	
19	캡슐 -F2-G12-1349-36h	36	0.00	0.12
20	캡슐 -F2-G12-1362-36h	36	0.35	
21	캡슐 -F2-G12-1343-36h	36	0.00	

[0234]

표 14

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 I)	시간 (시간)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	녀 -G13-예비 용량 -1356	0	0.00
2	녀 -G13-예비 용량 -1354	0	
3	녀 -G13-예비 용량 -1366	0	
4	녀 -F1- 그룹 4-12h	12	1.45
5	녀 -F1- 그룹 5-24h	24	8.65
6	녀 -F1- 그룹 6-36h	36	4.45

[0235]

표 15

시료 번호	시료 확인 번호 (제형 II)	시간 (시간)	평균 농도 (µg/g 조직)
1	녀 -G13-예비 용량 -1356	0	0.00
2	녀 -G13-예비 용량 -1354	0	
3	녀 -G13-예비 용량 -1366	0	
4	녀 -F2- 그룹 10-12h	12	8.35
5	녀 -F2- 그룹 11-24h	24	3.90
6	녀 -F2- 그룹 12-36h	36	5.40

[0236]

[0237]

본 연구의 결과는 폴록사머를 포함하는 제형 2와 비교한 것으로서, 폴록사머를 포함하지 않는 제형 1의 경우 간 및 비장에서 코엔자임 Q10의 보다 큰 축적을 입증한다. 당해 결과는 폴록사머의 부재 하에 간 및 비장에 의한 혈액으로부터의 코엔자임 Q10의 보다 큰 청소(clearance)를 나타내며, 폴록사머의 존재 하에서는 이들 기관에 의한 혈액으로부터의 코엔자임 Q10의 청소가 거의 없음을 나타내고, 흡소닌화 감소제로서 코엔자임 Q10 제형 중에서의 폴록사머의 역할과 일치한다.

[0238]

실시예 12 - 간 암에 대한 CoQ10 IV 제형의 효과: 간 종양 세포의 증식을 억제하는 본 발명의 코엔자임 Q10 제형의 능력을 동물 모델에서 실험하였다. 24마리의 피셔(Fischer) 344 래트에게 악성 녹색종의 간 클론을 복강 내 주사하였다. 이어서, 래트를 각각 6마리 래트의 그룹으로 무작위처리하였다. 대조군으로서 제공된 그룹 1에 0.5 mL의 인산염 완충된 염수로 3주 동안 월요일, 수요일 및 금요일에 치료하였다. 그룹 II에는 20 mg의 코엔자임 Q10을 IP 주사에 의해 멸균 나노분산물로 제공하였다. 이러한 제형은 중량 기준으로, PBS 중에 4% 코엔자임 Q10, 3% DMPC, 및 1.5% 폴록사머 188을 함유하였다. 제형을 0.5 mL의 용적으로 3주 동안 월요일, 수요일 및 금요일에 IP 주사에 의해 투여하였다. 그룹 III에는 35 mg/kg의 사이클로포스파미드를 1회 제공하였다. 그룹 IV에는 0.5 mL 중 20 mg의 4:3:1.5 CoQ10 제형을 3주 동안 월요일, 수요일 및 금요일에 제공하였다. 또한, 이들에게 35 mg/kg의 사이클로포스파미드를 1회 제공하였다.

[0239]

대조군 그룹의 모든 동물은 이식-후 20일까지 간 전이로 사망하였다. 멸균4:3:1.5 CoQ10 IV 나노분산물 제형(그룹 II)으로 치료한 그룹에서, 래트 중 50%가 생존하였고, 질환이 사라졌다(disease-free). 다른 50%는 38일 이상 생존하였다. 화학 치료요법만으로 치료한 그룹(그룹 III)에서, 1마리의 래트만이 질환이 사라진 반면 다른 3마리 래트는 34일 후까지 생존하였다. 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형 및 화학 치료요법을 제공받은 그룹(그룹 I V)에서, 6마리의 래트 중 5마리가 질환이 사라졌고 1마리는 38일까지 생존하였다.

[0240]

4:3:1.5 CoQ10 IV 제형은 보다 우수한 안전성 프로파일을 입증하였다. 체중 증가 및 행위에 의해 입증되는 바와 같이 CoQ10을 제공받은 동물에서 부작용은 관찰되지 않았다. 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형 단독은 화학 치료요법

단독보다 단일 제제로서 더 유의적인 효능을 나타내었다. 또한, 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 화학 치료요법과 병용하여 사용한 경우, 생존에 대한 효과는 상승적이었고, 83%가 생존하였다. 도 35는 이들 결과를 묘사한다.

[0241] 결론적으로, CoQ10 제형은 화학 치료요법보다 개선된 안전성을 입증하였으며, 간 암을 치료하는데 있어서 유의적인 치료학적 활성은 화학 치료요법 단독보다 더 효과적이었고, 간 암을 치료하는데 있어서 화학 치료요법을 사용한 상승적인 치료학적 활성을 입증하였다.

[0242] **실시예 13 -- 간 종양에 대한 CoQ10 IV 제형의 1일 투약의 효능:** 7일령의 피서 344 래트의 그룹(n=30/그룹)에게 악성 녹색종의 간 클론을 복강내 주사하였다. 6시간 후 개시하여, 동물에게 20일 동안 다음과 같이 복강내 주사를 통해 매일 투약하였다: 미치료, 염수 대조군, 비히클 대조군(PBS 중 DMPC 및 폴록사머 188), 또는 0.5, 2, 5, 10, 25 및 50 mg/kg/일로 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형. 사망률은 다음과 같았다: 미치료 및 염수 대조군에서 30/30(29일까지); 0.5 mg/kg/일에서 29/30(29일까지); 2 mg/kg/일에서 27 또는 28/30(44일까지); 5 mg/kg/일에서 24/30(55일까지); 10 mg/kg/일에서 21/30(46일까지); 25 mg/kg/일에서 15/30(46일까지); 및 50 mg/kg/일에서 13/30(53일까지). 생존에 있어서 용량-관련된 증가 이외에, 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형은 사망률이 개시되는 일을 연장시켰고(즉, 2, 5, 10, 25, 및 50 mg/kg/용량 각각에서 대략 25, 38, 36, 40, 및 45일과 비교한 것으로서 미치료 및 염수 대조군의 경우 대략 15일), 사망률 곡선의 기울기를 감소시켰다.

[0243] **실시예 14 - 폐 종양에 대한 CoQ10 IV 제형의 효과:** 폐 종양 세포의 증식을 억제하는 본 발명의 코엔자임 Q10 제형의 능력을 동물 모델에서 실험하였다. 24마리의 피서 344 래트에게 악성 녹색종의 폐 클론을 복강내 주사하였다. 이어서, 래트를 각각 6마리 래트의 그룹으로 무작위처리하였다. 대조군으로서 제공된 그룹 1에 0.5 mL의 인산염 완충된 염수로 3주 동안 월요일, 수요일 및 금요일에 치료하였다. 그룹 II에게는 4:3:1.5 제형 중 40 mg/mL 코엔자임 Q10의 농도로 멸균 나노분산물 중에 함유된 20 mg의 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 제공하였다. 당해 제형을 0.5 mL의 용적으로 3주 동안 월요일, 수요일 및 금요일에 복강내 주사에 의해 투여하였다. 그룹 III에 35 mg/kg의 사이클로포스파미드를 IP 주사로 1회 제공하였다. 그룹 IV에 20 mg의 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 그룹 II에 대해 사용된 것과 동일한 제형을 통해 제공하고 0.5 mL의 용적으로 3주 동안 월요일, 수요일 및 금요일에 IP 주사하고, 또한, 35 mg/kg의 사이클로포스파미드를 1회 제공하였다.

[0244] 대조군 그룹의 모든 동물은 폐 전이로 인하여 이식-후 21일까지 사망하였다. 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형으로 치료한 그룹(그룹 II)에서, 래트의 50%가 생존하였고 질환이 사라졌다. 다른 50%는 40일 이상 생존하였다. 화학 치료요법만으로 치료한 그룹(그룹 III)에서, 1마리의 래트가 질환이 사라진 반면, 4마리 래트는 35일까지 생존하였다. 1마리의 동물은 대조군 범위 내에서 사망하였으므로 비-반응자로 고려하였다. 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형과 화학 치료요법의 병용 치료를 제공받은 그룹에서, 6마리 래트 중 6마리에서 질환이 사라졌다.

[0245] 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형은 보다 우수한 안전성 프로파일을 입증하였다. 체중 증가 및 행위에 의해 입증된 바와 같이 CoQ10을 제공받은 동물에서 부작용은 관찰되지 않았다. 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형 단독은 화학 치료요법 단독보다 단일 제제로서 유의적이고 보다 큰 효능을 나타내었다. 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 화학 치료요법과 병용하여 사용한 경우, 치료학적 활성은 상승적이며, 100% 생존을 획득하였다. 도 36은 이들 결과를 묘사한다.

[0246] 결론적으로, 4:3:1.5 CoQ10 제형은 화학 치료요법보다 개선된 안전성을, 화학 치료요법 단독보다 폐 암을 치료하는데 있어서 유의적이고 보다 큰 치료학적 활성을 입증하였으며, 폐 암을 치료하는데 있어서 화학 치료요법과 함께 상승적인 치료학적 활성을 입증하였다.

[0247] **실시예 15 -- CoQ10 IV 제형에 의한 시험관내에서의 세포내 세포자멸사의 유도:** 3개의 세포자멸사 검사, (1) 산소 소모율(OCR), (2) 카스파제 3 활성 검사, 및 (3) 카스파제 3에 대한 웨스턴 블롯팅 분석(Western Blotting analysis)을 사용하여 암 세포에서 CoQ10 IV 제형의 효과를 입증하였다.

[0248] 산소 소모율 검사를 위해, 세포주에서 산소 소모율을 Seahorse 장치를 사용하여 측정하였다. 카스파제 3 활성은 제조업자의 지침에 따라 시판되는 키트를 사용하여 열량계 방법을 사용하여 측정하였다. 세포자멸사의 척도로서 카스파제 3의 발현에 있어서의 증가는 카스파제 3 단백질의 검출에 특이적인 항체를 사용하여 웨스턴 블롯 분석으로 측정하였다.

[0249] 2개의 CoQ10 IV 제형의 효과를 관독물로서 OCR을 사용하여 실험하였다. 제1 제형(폴록사머를 포함하지 않음)은 4% CoQ10; 3% DMPC; 및 93% 물을 포함하였다. 제2 제형(폴록사머를 포함함)은 4% CoQ10; 3% DMPC; 1.5% 폴록사머 P188; 및 91.5% 물을 포함하였다. OCR에 대한 2개 제형의 효과를 각각의 세포주에 대해 치료되지 않은 "배지만"의 대조군에 대해 치료 개시 후 6시간째에 평가하였다. CoQ10의 50 μM 및 100 μM의 최종 농도를 제형 둘 다에 대해 사용하였다.

- [0250] 도 25 내지 도 28에 묘사한 바와 같이, 이들 연구의 결과는, 고도의 양성 또는 전이성 세포주가 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형 치료에 대해 특히 민감함을 입증한다. 시험한 암 세포주의 대부분은 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형 치료에 대해 민감성인 OCR 값을 가졌다. CoQ10 IV 제형은 HepG2 세포(50 및 100 μ M), MCF-7 세포(100 μ M), PC-3 세포(50 및 100 μ M), 및 PaCa2 세포(50 및 100 μ M)에서 OCR을 감소시켰다. 비-전이성 세포주 LnCap 및 HDFa와 같은 정상 세포주는 CoQ10 IV 제형에 대해 민감하지 않았다.
- [0251] 카스파제 3 수준을 상기 사용된 바와 같이 동일한 2개의 CoQ10 IV 제형(제1 제형은 4% CoQ10; 3% DMPC; 및 93% 물을 포함하였고, 제2 제형은 4% CoQ10; 3% DMPC; 1.5% 폴록사머 P188; 및 91.5% 물을 포함하였다)을 사용한 치료 후 다양한 세포주에서 측정하였다. 상세하게는, PC-3, HepG2, MCF-7, HDFa 및 MIAPACA2 세포를 CoQ10 IV 제형으로 치료하고, 치료 24시간 후 수거하였다. 이들 세포의 전체 세포 펠렛을 웨스턴 블롯을 위해 사용하였다. 10 μ g의 단백질과 동등한 시료 용적을 라멜리 로딩 염료(Lamelli Loading Dye: LDS) 및 물을 사용하여 제조하고 하기 상세히 설명한 바와 같이 2개의 10 레인 겔(레인당 로딩된 15 μ L) 상에서 4 내지 12% 비스-트리스 노벨(Bis-Tris Novel) NuPAGE 겔 상에서 이동시켰다.
- [0252] 겔 1(도 29 및 도 30)의 경우, 레인 1은 배지만으로 치료한 MCF-7 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 2는 폴록사머를 포함하지 않는 CoQ10 제형으로 치료한 MCF-7 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 3은 폴록사머를 포함하는 CoQ10 제형으로 치료한 MCF-7 세포로부터의 시료를 함유하며, 레인 4는 배지만으로 치료한 HDFa 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 5는 폴록사머를 포함하지 않는 CoQ10 제형으로 치료한 HDFa 세포로부터의 시료를 함유하며, 레인 6은 폴록사머를 포함하는 CoQ10 제형으로 치료한 HDFa 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 7은 배지만으로 치료한 Paca2 세포로부터의 시료를 함유하며, 레인 8은 폴록사머를 포함하지 않는 CoQ10 제형으로 치료한 Paca2 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 9는 폴록사머를 포함하는 CoQ10 제형으로 치료한 Paca2 세포로부터의 시료를 함유하며, 레인 10은 표준 단백질 크기 마커를 함유한다.
- [0253] 겔 2(도 31 및 도 32)의 경우, 레인 1은 단백질 마커를 함유하며, 레인 2는 배지만으로 치료한 PC3 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 3은 폴록사머를 포함하지 않는 CoQ10 제형으로 치료한 PC3 세포로부터의 시료를 함유하며, 레인 4는 폴록사머를 포함하는 CoQ10 제형으로 치료한 PC3 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 5는 배지만으로 치료한 HepG2 세포로부터의 시료를 함유하며, 레인 6은 폴록사머를 포함하지 않는 CoQ10 제형으로 치료한 HepG2 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 7은 폴록사머를 포함하는 CoQ10 제형으로 치료한 HepG2 세포로부터의 시료를 함유하고, 레인 8은 블랭크이며 레인 9 및 레인 10 둘 다는 단백질 크기 마커를 함유한다.
- [0254] 겔을 50분 동안 1X MOPS 완충액을 사용하여 NOVEX Xcell Surelock 시스템을 사용하여 200 V의 전압으로 이동시켰다. 이어서, 겔을 1시간 동안 NOVEX Xcell Surelock 습윤 전이 프로토콜을 사용하여 35 V의 전압으로 전이시켰다. 블롯을 5시간 동안 인비트로젠(Invitrogen)(LC6065)으로부터의 심플리 블루 세이프스테인(Simply Blue Safestain)으로 염색하였다.
- [0255] 웨스턴 블롯 분석을 수행하여 카스파제 3 및 베타 액틴의 수준을 상기 시료 중에서 측정하였다. 카스파제 3의 검출의 경우, 전이 후, 각각의 블롯을 2개의 화트만 여과지(Whatman Filter paper) 사이에 두고 15 내지 20분 동안 건조시켰다. 블롯을 메탄올을 사용하여 5초 동안 활성화시키고, 물로 5분 동안 세척하고, TBST로 15분 동안 세척하였다. 블롯을 1시간 동안 5% 차단 시약을 사용하여 TBS-T 중에서 실온으로 차단시킨 후 TBS-T(1X-15'; 각각 2X 5')로 3회 세척하고, 5% BSA(1:200 희석) 중에서 카스파제 3(Santacruz sc7272)에 대한 주요 항체를 사용하여 밤새 4 $^{\circ}$ C에서 진탕하면서 항온처리하여 프로브하였다.
- [0256] 카스파제 3에 대한 주요 항체와 함께 밤새 항온처리한 후, 블롯을 TBS-T(1X-15'; 각각 2X 5')로 3회 세척하고, 제2 항체(항마우스; 1:10,000 희석)로 1시간 동안 실온에서 진탕시키면서 프로브하였다. 블롯을 TBS-T(1X-15'; 각각 2X 5')로 3회 세척하고, ECF 시약으로 5분 동안 항온처리한 후 각각의 블롯을 25 μ M 해상도, 16 비트(bit), 녹색 레이저에서, 400V 및 500V에서 5100 후지 레이저 스캐너(Fuji Laser scanner)를 사용하여 스캔하였다.
- [0257] 시료 중의 액틴을 검출하기 위해, 카스파제 3 블롯을 메탄올과 함께 30분 동안 항온처리하여 박리(striping)한 후, TBS-T를 사용하여 10분 동안 2회 세척한 후, 박리 완충액과 함께 50 $^{\circ}$ C에서 30분 항온처리한 후, 100 mL 이상의 TBS-T로 각각 30분 동안 2회 세척하였다. 블롯을 레이저 스캐너 중에서 스캔하여 완전한 박리를 확인하였다. 블롯을 메탄올로 5초 동안 활성화시키고, 물로 5분 동안 세척하고, TBST로 15분 동안 세척하였다. 블롯을 1시간 동안 TBS-T 중 5% 차단 시약으로 실온에서 차단시킨 후 TBS-T(1X-15'; 각각 2X 5')로 3회 세척하고 5% BSA(1:5000 희석에서 Sigma # A5316 클론 AC 74) 중 액틴에 대한 항체를 1시간 동안 실온에서 진탕시키면서 프

로브하였다.

- [0258] 액틴에 대한 주요 항체와 함께 항온처리한 후, 막을 TBS-T(1X-15'; 각각 2X 5')로 3회 세척하고 제2 항체(항마우스; 1:10,000 희석)와 함께 1시간 동안 실온에서 진탕시키면서 프로브하였다. 블롯을 TBS-T(1X-15'; 각각 2X 5')로 3회 세척하고, ECF 시약과 함께 5분 동안 항온처리한 후, 각각의 블롯을 25 μ M 해상도, 16 비트, 녹색 레이저에서 5100 후지 레이저 스캐너를 사용하여, 400V 및 500V에서 스캔하였다.
- [0259] 겔 1의 경우 최종 웨스턴 블롯은 도 29(카스파제 3) 및 도 26(액틴)에 나타내며, 겔 2의 경우 도 31(카스파제 3) 및 도 32(액틴)에 나타낸다. 카스파제 3의 수준을 정량화하고, 액틴에 대해 정규화하고 수득되는 데이터는 도 33 내지 도 36에 나타낸다.
- [0260] 이들 연구의 결과는, 정규화된 카스파제 3 단백질 수준에 있어서의 증가가 폴록사머를 포함하는 CoQ10 제형으로 치료한 PC3(도 33) 및 MiaPACA2(도 34) 세포에서 치료 후 24시간째에 관찰되었음을 나타낸다. 액틴은 이들 시료의 경우 수득되지 않았으므로, 치료 24시간 후 HepG2 세포내에서 정규화되지 않은 카스파제 3 단백질의 수준은 도 35에 묘사한다. HepG2 하부 밴드에서의 증가는 상부 밴드에서 PACA2(도 34) 및 PC-3(도 33) 세포에서 관찰된 것과 매우 유사하다. 단지 하부 밴드가 HDFa 세포에서 검출되었으며, 당해 밴드의 강도는 CoQ10 처리로 감소하였고(도 36), 이는, HepG2에 있어서 상부 밴드로 관찰된 패턴과 유사하였다(도 35). 요약하면, 카스파제 3 단백질 수준에 있어서의 증가는 PACA2 및 PC-3 세포 둘 다에서 적어도 관찰되었으며, HepG2 세포에서와 유사하게, CoQ10를 사용한 치료 후에도 관찰되었고, 이는, 이들 세포에서 세포자멸사의 유도를 나타낸다. 정상 세포에서, CoQ10 IV 제형에 대한 노출 후 세포자멸사의 유도는 관찰되지 않았다.
- [0261] **실시예 16 - 췌장 암종 세포주에 대한 CoQ10 IV 제형의 효과:** 췌장 세포주, MiaPACA2를 NSG 마우스에 사용하였다. 마우스를 이들이 가두어져 있는 멸균 환경에서 마취시켰다. 동물이 외과-수준 마취(durgical-plane anesthesia)에 이른 후, 마우스를 눕히고, 복부 부위를 촉진(palpatate)하였다. 췌장은 위장 뒤에 그리고 둘 다 촉진가능한 기관인 비장과 위장 사이에 위치하였다. 이후에, 10×10^6 세포를, 동물을 온화하게 조작하여 위장 뒤의 부위에 이르도록 함으로써 췌장내에 주사하였다. 이들 과정 모두를 생안전성 캐비넷 내의 멸균 조건 하에 수행하고, 동물을 엄격한 멸균 조건 하에 가두어 또한 기회적 감염을 피하였다. 세포의 주사 후, 동물을 매일 근접하게 모니터링하였다. 이어서, 동물을 상이한 용량의 CoQ10 IV 제형을 제공받는 8개 그룹으로 무작위처리하였다. 그룹 1은 처리하지 않고 두었고; 그룹 2에는 염수만을 제공하였으며; 그룹 3에는 부형제 대조군을 제공하였고; 그룹 4에는 0.5 mg/kg의 본원에 기술한 바와 같은 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 제공하였으며; 그룹 5에는 5 mg/kg의 본원에 기술한 바와 같은 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 제공하였고; 그룹 6에는 10 mg/kg의 본원에 기술한 바와 같은 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 제공하였으며; 그룹 7에는 25 mg/kg의 본원에 기술된 바와 같은 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 제공하였고; 그룹 8에는 50 mg/kg의 본원에 기술된 바와 같은 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형을 제공하였다. 당해 제형을 꼬리 정맥을 통해 격일로 28일까지 주당 3회 투약으로 정맥내 투여하였다. 결과의 요약은 다음 그래프에서 묘사한다(도 49 내지 도 56).
- [0262] 치료되지 않은 및 염수 치료된 대조군 그룹의 모든 동물은 21일까지 사망하였다. 부형제-치료된 동물은 36일까지 사망하였다. 사망률에 있어서 용량-관련된 개선이 CoQ10 IV 제형을 사용한 치료 후 주목되었다. 0.5, 5 및 10 mg/kg/용량의 투약은 각각 31, 41 및 56일까지 완전한 사망률을 생산하였다. 25 및 50 mg/kg/용량에서, 완전한 사망률은 생존하는 3 및 11마리의 동물에서 관찰되지 않았다. 생존은 5 mg/kg/용량 이상에서 유의적으로 증가하였으며 건강은 이들 용량에서 개선되었다. 또한, 25 및 50 mg/kg/용량에서, 각각 3마리 및 4마리의 생존 동물이 종양을 가졌다. 50 mg/kg에서의 CoQ10 IV 제형과 독소루비신의 동시-투여는 생존(독소루비신 그룹에서 30마리 중 0마리의 생존자와 비교하여 60일째에 30마리의 동물 중 25마리가 생존하였다) 및 종양이 없는 동물의 수(CoQ10 IV 제형을 사용한 30마리 중 25마리)에 있어서 유의적인 개선을 생성하였다.
- [0263] **실시예 17 -- CoQ10 IV 제형 및 화학 치료요법 보조제를 사용한 병용 치료요법:** 강력한 화학 치료제인, 독소루비신은 설치류에서 자체로 복강내 투여되는 경우 치명적이다. CoQ10 IV 제형을 독소루비신과 병용하여 투여하였다. 도 45 및 도 46에 나타낸 그래프에서 알 수 있는 바와 같이, 독소루비신을 4:3:1.5 CoQ10 IV 제형과 병용하여 투여한 경우, 설치류의 생존은 단독 투여한 경우의 독소루비신보다 유의적으로 증가하였다.
- [0264] 도 58에서 알 수 있는 바와 같이, COQ10 IV는 독소루비신 독성에 대해 부가적일 뿐만 아니라 보호성이었다. 사망률은 41일째에 개시하는 단지 약간의 사망과 함께 매우 통계적으로 유의적으로 낮았다. 그럼에도 불구하고, 30마리의 동물 중 25마리가 생존하였으며 60일째에 암이 사라졌으며, 6마리의 동물은 60일째에 작은 종양을 나타내었다. 이들 발견은, 투여된 코엔자임 Q10 제형이 강력한 보조제 효과를 발휘함을 입증한다.

[0265] **실시예 18 -- 유방 암에 대한 CoQ10의 효과:** 다른 시험관내 연구에서, 2마리의 유방 암 세포주, MCF-7 및 Sk-BR3에서 Bcl-2 계열의 다양한 구성원(bcl-2, bcl-x1, bid, bad, bak, mcl-1, bim, 및 bax), p53, 및 카스파제 4, 8, 12에 대한 CoQ10 (50 및 100 μM)의 효과를 평가하였다. Bcl-2 단백질 계열은 암 치료요법에 대한 내성을 부여하는 주요 기여 인자로서 관련되어 있다. 세포자멸사-촉진 구성원 및 BH3 소계열 구성원(bid, bad, bax, bim, 및 bak)의 CoQ10 상향조절된 단백질 발현은 항-세포자멸사 구성원(bcl-x1, mcl-1, 및 bcl-2)의 수준을 유의적으로 감소시켰고, 정상 유방 조직에 대해 어떠한 부작용도 나타내지 않고 유방 암에서 세포자멸사 가능성을 회복하는 세포자멸사(카스파제 3, 6 및 9의 활성화에 의해 측정함)를 증가시켰다.

[0266] **실시예 19 -- CoQ10 IV 제형의 흡수/약동학:** CoQ10 IV 제형의 약동학을 100 mg/kg의 2개의 CoQ10 IV 제형 중 1개를 정맥내 투여한 후 측정하였다(표 16 내지 표 18). 제형 1은 어떠한 폴록사머 188도 함유하지 않았지만, 제형 2는 폴록사머 188을 함유하였다. 각각의 제형 그룹에서 18마리의 암컷 마우스가 존재하였으며, 투약-후 2, 4, 8, 12, 24 및 36시간 후에 시료채취를 위해 마우스를 희생시켰다. 2개 제형에 대한 혈장 프로파일에 있어서 명백한 차이는 없었다. 대략 38시간의 t_{1/2} 값을 측정하였다. 3개의 치료되지 않은 마우스의 그룹에서 CoQ10 IV 제형의 측정가능한 혈장 농도는 없었다.

[0267] 스프라그 다울리 래트(Sprague Dawley rat)에서 CoQ10 IV 제형에 대한 약동학적 매개변수를 2개의 독성 연구에 대해 독성 동태학적 평가(toxicokinetic evaluation)로 측정하였다. 찰스 리버 연구 번호(Charles River Study Number) 20000711은 후속적인 7-일 치료 상태를 사용한 용량-증가 연구(rising-dose study)였다. 용량-증가 상에서의 독성 동태학적 평가를 위해(표 18), 9마리의 수컷 및 9마리의 암컷 래트의 그룹에게 100, 250, 750 및 1,000 mg/kg의 CoQ10 IV 제형을 단일의 볼루스 정맥내 주사로 제공하였다. 다중 용량 상태를 위해(표 19), 9마리의 수컷 및 9마리의 암컷의 그룹에게 250 또는 500 mg/kg CoQ10 IV 제형을 볼루스 정맥내 주사로 7일 동안 매 3일마다 제공하였다. 용량-증가 상태 및 다중-투약 상태의 7일째에, 시료를 3마리의 수컷 및 3마리의 암컷의 소그룹으로부터 투약-전, 투약-후 5 및 15분, 및 1, 4, 및 24시간째에 수집하였다. 농도 중 대부분은 100, 250 또는 500 mg/kg을 제공받은 동물의 경우 1 mg/mL 초과이었고, 소수는 750 또는 1,000 mg/kg을 제공받은 동물의 경우 10 mg/mL 초과이었고, 나머지 시료 중 대부분은 1 mg/mL 초과이었다. 혈장 프로파일은 대표적인 정맥내 투여가 아니었다. 비록 C_{max} 및 AUC₀₋₁가 일반적으로 용량과 함께 증가하였지만, 예외가 존재하였으며, 정맥내 투여로 예측되는 명백한 선형 용량-의존성은 없었다. t_{1/2}의 추정치는 0.8 내지 10.0시간의 범위였고, 성별 또는 용량에 있어서 명백한 의존성은 없었다.

표 16

단일 투약 후의 약동학

CTD내 위치	m4-2-2-2		
연구 번호	EB08-014-12a		
종	마우스	마우스	마우스
성별(M/F)/동물 수	18 F	18 F	3 F
급식 조건	NA	NA	NA
비허블/제형	폴록사머를 함유하지 않는 제형 1	폴록사머를 함유하는 제형 2	처리하지 않음
투여 방법	IV	IV	-
용량 (mg/kg)	100	100	-
시료(예를 들면, 전혈, 혈장, 혈청)	혈장	혈장	혈장
분석물	31510	31510	31510
검사	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK 매개변수:			
C ₀ (μg/mL) (C _{max} 에 대한 어림 평가)	4.035	2.265	-
AUC ₀₋₁ (μg•hr/mL) (어림 평가)	5.418	3.503	-
C ₂ (μg/mL)	503	423	BLQ
AUC ₂₋₃₆ (μg•hr/mL)	880	815	-
t _{1/2} (hr)	38.1	no reliable value	-
추가 정보: 최초 시료 채취 시간은 투약 후 2시간째였다. C ₀ 및 AUC ₀₋₁ 에 대한 값은 >75%의 추론을 기준으로 하며 단지 어림 평가로 고려된다. C ₂ 및 AUC ₂₋₃₆ 에 대한 값은 2시간 내지 36시간째에 취한 시료를 기준으로 하며 성분들 및 추론하지 않았다.			

[0268]

표 17

단일 투약 후 약동학

CTD내 위치 연구 번호		m4-2-2-2 20000711					
종		랫트	랫트	랫트	랫트	랫트	랫트
성별(M/F)/동물 수		9 M, 9 F	9 M, 9 F	9 M, 9 F	9 M, 9 F	9 M, 9 F	9 M, 9 F
급식 조건		공급됨	공급됨	공급됨	공급됨	공급됨	공급됨
비허용/제형		IV Formulation	IV 제형	IV 제형	IV 제형	IV 제형	IV 제형
투여 방법		IV bolus	IV 볼루스	IV 볼루스	IV 볼루스	IV 볼루스	IV 볼루스
용량 (mg/kg)		100	250	750	750	1,000	1,000
시료 유형		혈장	혈장	혈장	혈장	혈장	혈장
분석물		31510	31510	31510	31510	31510	31510
검사		LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS
PK 매개변수:							
C _{max} (µg/mL)	M	1,933	1,661	9,953	13,000	18,267	
	F	1,907	4,130	10,820	8,479	15,800	
T _{max} (hr)	M	0.083	0.083	1	0.25	0.25	
	F	0.25	1	0.083	0.25	1	
AUC ₀₋₁ (µg•hr/mL)	M	3,098	2,077	36,850	57,248	29,788	
	F	3,908	9,747	79,541	49,860	83,812	
t _{1/2} (hr)	M	1.19	-	2.40	10.0	0.806	
	F	0.940	-	2.35	3.99	2.72	

[0269]

표 18

단일 투약 후 약동학

CTD내 위치 연구 번호		m4-2-2-2 20000713			
종		개	개	개	개
성별(M/F)/동물 수		1 M, 1 F	2 M, 2F		
급식 조건		공급됨	공급됨		
비허용/제형		IV 제형	IV 제형		
투여 방법		IV 볼루스	IV 볼루스		
용량 (mg/kg)		125	250		
시료 유형		혈장	혈장		
분석물		31510	31510		
검사		LC/MS/MS	LC/MS/MS		
PK 매개변수:					
C _{max} (µg/mL)	M	2,450	4,110		
	F	2,390	4,120		
T _{max} (hr)	M	0.25	0.083		
	F	0.25	0.25		
AUC ₀₋₁ (µg•hr/mL)	M	19,231	36,992		
	F	6,787	38,992		
t _{1/2} (hr)	M	4.60	8.16		
	F	2.07	5.94		

[0270]

표 19

반복 투약 후 약동학 (7일 이하)

CTD내 위치 연구 번호		m4-2-2-2 20000711		m4-2-2-2 20000713		
종		랫트	랫트	개	개	
성별(M/F)/동물 수		9 M, 9 F	9 M, 9 F	2 M	2 F	
급식 조건		공급됨	공급됨	공급됨	공급됨	
비허용/제형		IV 제형	IV 제형	IV 제형	IV 제형	
투여 방법		IV 볼루스	IV 볼루스	IV 볼루스	IV 볼루스	
용량 (mg/kg)		250	500	125	125	
기간 (일)		7일 동안 1일 1회	7일 동안 1일 1회	1, 3, 5, 7일째	1, 3, 5일째	
시료 유형		혈장	혈장	혈장	혈장	
검사		LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	LC/MS/MS	
PK 매개변수:						
C _{max} (µg/mL)	M	4,703	6,970	2,225	2,320	
	F	4,533	7,310			2,355
T _{max} (hr)	M	1	1	0.083	0.25	
	F	0.25	0.25			0.167
AUC ₀₋₁ (µg•hr/mL)	M	11,906	43,955	13,139	12,726	
	F	9,666	10,837			13,739
t _{1/2} (hr)	M	-	2.53	3.68	4.24	
	F	2.00	-			3.73

추가 정보: 5일째에 수컷 개에 대한 용량을 측정하였다. 모든 다른 용량은 언급된 바와 같다.

[0271]

[0272]

제2의 래트 독성 연구, 찰스 리버 연구 번호 20000328에서, CoQ10을 1.0 mL/분의 속도로 4주 동안 주당 3회 짧은 정맥내 주입으로 투여하였다. 독성 동태학적 평가를 위해, 9마리의 수컷 및 9마리의 암컷의 3개 그룹에게 62.5, 125, 및 250 mg/kg의 CoQ10 IV 제형(표 20)을 제공하였다. 1 및 26일째에, 시료를 3마리의 수컷 및 3마리의 암컷의 소그룹으로부터 투약-후 5 및 15분째에, 및 1, 4, 24 및 48시간째에 수집하였다. C_{max}에 의해 측정

된 바와 같은 CoQ10 IV 제형에 대한 피크 전신계 노출, 및 AUC_{0-t}에 의해 측정된 바와 같은 총 노출은 용량 증가와 함께 증가하였다. C_{max}에 있어서의 증가는 용량과 함께 선형에 근접하며, AUC_{0-t}에서의 증가는 비례적으로 용량보다 약간 더 컸다. 1일 내지 26일 사이에, C_{max} 및 AUC_{0-t}는 감소하였다. T_{max}는 처음 2회 시료채취 시간인 0.083 또는 0.25시간째에 발생하였다. t_{1/2}에 있어서 작은 용량-의존성 증가가 있을 수 있다. 명백한 성별 차이는 없었다.

표 20

반복 투약 후 약동학 (4주)

CTD에 위치 연구 번호		m4-2-2-2 20000328		레드		레드	
중		레드		레드		레드	
성별(M/F)/동물 수		9 M, 9 F		9 M, 9 F		9 M, 9 F	
급식 조건		공급됨		공급됨		공급됨	
비히클/제형		IV 제형		IV 제형		IV 제형	
투여 방법		IV 단 주입		IV 볼루스		IV 볼루스	
용량 (mg/kg)		62.5		125		250	
기간 (일)		4주 동안 매주 3회		4주 동안 매주 3회		4주 동안 매주 3회	
시료 유형		혈장		혈장		혈장	
검사		LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS	
PK 매개변수:		1일	26일	1일	26일	1일	26일
C _{max} (µg/mL)	M	1,663	1,052	3,197	2,660	6,397	4,257
	F	1,670	891	2,970	2,400	6,900	4,167
T _{max} (hr)	M	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
	F	0.083	0.083	0.083	0.25	0.083	0.083
AUC _{0-t} (µg•hr/mL)	M	3,004	1,542	6,866	5,037	16,550	8,873
	F	2,692	1,747	5,107	3,859	15,521	8,368
t _{1/2} (hr)	M	0.806	0.835	1.19	1.13	1.96	1.34
	F	0.713	0.791	1.01	0.994	1.63	1.62

[0273]

[0274]

비글 개(beagle dog)에서 CoQ10 IV 제형에 대한 약동학적 매개변수를 2개의 독성 연구에 대한 독성 동태학적 평가로 측정하였다. 찰스 리버 연구 번호 20000713은 후속적인 5- 내지 7-일 치료 상태를 사용한 용량-증가 연구이었다. 연구의 용량 증가 상태에서(표 16 내지 표 18), 2마리의 수컷 및 2마리의 암컷 개의 1개 그룹에게 250 mg/kg CoQ10 IV 제형을 단일의 볼루스 정맥내 주사로서 제공하였다. 연구의 다중-투약 상태(표 19)에서, 2마리의 수컷 및 2마리의 암컷의 1개 그룹에게 125 mg/kg의 CoQ10 IV 제형을 1, 3 및 5일째에 볼루스 정맥내 주사로서 제공하였다. 5일째에 수컷의 경우, CoQ10 IV 제형의 양은 정확히 측정할 수 없었으며, 수컷에게 7일째에 재-투약하였다. 혈장 시료를 5 및 15분째에, 및 용량-증가 상태 1일째에 투여 후 1, 4, 및 24 시간째에 및 다중-투약 상태의 1 및 5일(암컷) 또는 7일(수컷)째에 수집하였다. C_{max} 및 AUC₀₋₂₄에 의해 측정된 것으로서, 노출은 125 mg/kg경우에서 보다 250 mg/kg의 경우 대략 2배 높았다. 125 mg/kg(2.07 내지 4.87시간)의 경우보다 250 mg/kg (5.94 내지 8.16시간)의 경우 가능하게는 반감기가 더 길었다. 격일로 투약하는 동안, 매개변수는 수컷의 경우 1일 및 7일째 동안 유사하였고 암컷의 경우 1일 및 5일째 동안 유사하였다. 약동학적 매개변수 중 어느 것에 대해서도 일치하는 성별 차이는 없었다.

[0275]

제2의 개 독성 연구, 찰스 리버 연구 번호 20000334에서, CoQ10 IV 제형을 4주 동안 매주 3회 5.0 mL/분의 속도로 짧은 정맥내 주입으로 투여하였다. 5마리의 수컷 및 5마리의 암컷 개의 4개 그룹에게 비히클, 31.25, 62.5 또는 125 mg/kg의 CoQ10 IV 제형을 제공하였다(표 20). 혈장 시료를 투약-전, 1일 및 26일째에 투약-후 5, 15, 및 30분, 및 1, 2, 4, 8, 및 24시간째에 수집하였다. C_{max}, AUC_{0-t}, 및 AUC_{0-∞}은 시료 채취일들 둘 다에서 성별 둘 다에 대한 용량과 함께 증가하였다. C_{max}에 있어서의 증가는 1일째에 용량에 대해 비례하여 보다 컸지만, 26일째에 용량-비례하여 근접하였다. AUC_{0-t}에 있어서의 증가는 1일 및 26일째 둘 다에서 용량에 비례하여 더 컸지만, 비선형성(nonlinearity)의 크기는 26일째에 보다 적었다. 1일 내지 26일 사이에, 저-용량 및 중간-용량 그룹에 대한 평균 C_{max} 및 AUC_{0-t}에 있어서 약간 또는 작은 변화가 있었으며, 이는 2개의 보다 적은 용량 그룹에 대한 노출시 변화가 거의 없음을 나타낸다. 고-용량 그룹의 경우, 1일과 26일 사이에 평균 C_{max} 및 AUC_{0-t} 둘 다에 있어서 감소되었다. 0.5시간의 T_{max} 값을 갖는 하나의 고-용량 암컷을 제외하고는, 모든 다른 T_{max} 값은 제1 또는 제2 시료채취 시간에 발생하였다. 일에 대한 저-용량 및 중간-용량 그룹, 및 26일째에 고-용량 동물 둘 다의 경우, 평균 t_{1/2} 값은 1.91 내지 3.62시간의 범위이었다. 1일째에 고-용량 수컷 및 암컷의 경우, 평균 t_{1/2}값은 각각 3.92 및 4.14 hr이었다. 약동학적 매개변수 중 어느 것에 대해서 명백한 성별 차이는 없었다.

[0276]

비-GLP 4-주 독성 연구를 성장기가 거의 끝난 수컷 마카크(macaque)(The Mannheimer Foundation Study 2010-

01)를 사용하여 수행하였다. 4마리의 마카크의 그룹에게 비히클, 31.25, 62.5, 또는 125 mg/kg의 CoQ10을 4주 동안 주당 3회 정맥내 주사로 제공하였다. 독성 동태학적 분석을 위한 혈장 시료를 투약-전, 및 투약 첫날에 투약 후 0.25, 1, 6, 24, 및 48 hr째에 수집하였다. 투약-전 시료는 7, 14, 21 및 29일째에 수집하였으나, 투약 후 시료는 수집하지 않았다. 예비 결과는, C_{max} 및 AUC_{0-t}가 용량의 증가와 함께 증가하였음을 나타낸다. C_{max}에 대한 증가는 직접적인 용량-비례하여 약간 더 컸다. AUC_{0-t}에 대한 증가는 직접적으로 용량-비례하여 명백하게 실질적으로 더 컸으나, 비선형성은 부분적으로 시료채취 스케줄의 반영일 수 있다. T_{max}는 최초 시료채취 시간, 0.25 hr째에 발생하였으며, 1시간째에 T_{max}를 갖는 1마리의 동물의 경우는 배제하였다. 6과 24 hr 사이에 시료채취 시간의 결여로 인하여, 확고한 결론이 t_{1/2}에 대해 유추될 수 없었다.

[0277] 래트, 개, 및 마카크에서 4-주 독성 연구는 용량에 따른 C_{max} 및 AUC_{0-t}에 있어서의 증가를 나타내었다. 일부 증가의 경우 비-선형성이 관찰되었으나, 다른 경우 선형성이 관찰되었다. 성별 둘 다의 동물을 포함하는, 래트 및 개 연구는, 약동학에 있어서 어떠한 명백한 성별 차이를 나타내지 않았다.

[0278] 간, 폐, 비장, 췌장 및 뇌의 시료를 제형 1 또는 제형 2에서 100 mg/kg CoQ10의 단일 투여 후 마우스로부터 수집하였다(표 21 내지 표 23). 간, 폐, 비장 및 췌장의 시료를 투약-후 2, 4, 8, 12, 24 및 36시간째에 수집하였다. 뇌의 시료는 투약-후 12, 24 및 36시간째에 수집하였다. 모든 조직의 시료를 또한 치료하지 않은 마우스로부터 수집하였다. 치료되지 않은 마우스로부터의 시료 중 어느 것도 어떠한 측정가능한 CoQ10 농도를 가지지 않았다. 투약-후 시료에 대한 결과는 제형 1 및 제형 2의 경우와 유사하였다. 조직에 대한 결과는, 간 및 비장에 의한 CoQ10 IV 제형의 고 흡수, 폐에 의한 중간 흡수, 및 췌장에 의한 매우 적은 흡수를 나타내었다. 뇌에 대한 매우 제한된 데이터는 적어도 12 내지 36시간에서, 혈장 농도와 유사한 수준의 가능한 뇌 수준을 나타내었다.

표 21

약동학: 기관 분포

CTD내 위치	m4-2-2-2							
연구 번호	EB08-014-12a							
종	마우스							
성별(M/F)/동물 수	18 F per Formulation Group							
급식 조건	NA							
비히클/제형	플록사미를 함유하지 않는 제형 1: 플록사미를 함유하는 제형 2							
투여 방법	IV							
용량 (mg/kg):	100							
분석물	31510							
검사	LC/MS/MS							
조직농도 (µg/g)			2 hr	4 hr	8 hr	12 hr	24 hr	36 hr
간	제형 1		273	387	421	320	307	294
	제형 2		178	235	213	206	205	168
비장	제형 1		220	387	458	424	328	323
	제형 2		217	254	204	214	256	210
폐	제형 1		104	32.6	32.5	24.8	21.3	33.1
	제형 2		74.9	49.2	39.7	18.6	31.7	23.9
췌장	제형 1		6.47	0	0	0	0	0
	제형 2		4.78	1.98	1.25	0.883	3.43	0
뇌	제형 1		-	-	-	1.45	8.65	4.45
	제형 2		-	-	-	8.35	3.90	5.40

추가 정보: 처리하지 않은 3마리의 마우스로부터 조직을 수집하였으며, 조직내에서 측정가능한 31510이 없었다.

[0279]

표 22

약동학: 기관 분포

CTD내 위치	m4-2-2-2			
연구 번호	20000328			
종	개			
성별(M/F)/동물 수	투약 그룹 당 5 M/5 F			
급식 조건	공급됨			
비허탈/제형	주사용 멸균 API 31510			
투여 방법	매주 3회 IV			
기간	4주			
분석물	31510			
검사	LC/MS/MS			
용량 (mg/kg)	0	62.5	125	250
조직 농도 (µg/g)	~ 72시간			
간	수컷 < 50	1.816	5.352	9.506
	암컷 < 50	2.976	6.292	9.420
폐	수컷 < 25	34.7	162	495
	암컷 < 25	12.0	98.1	374
췌장	수컷 < 25	14.4	20.1	71.2
	암컷 < 25	17.0	19.4	113
뇌	수컷 < 25	< 25	< 25	10.6
	암컷 < 25	< 25	< 25	< 25

주목: <25µg/g 으로서 나열된 평균 값의 경우, 그룹내 모든 시료는 정량 한계 미만이다. 정량 한계 미만인 하나 이상의 시료를 갖는 다른 그룹의 경우, BLQ 값은 평균의 계산을 위해 0µg/g로 설정하였으며, 25µg/g 미만의 일부 평균 값을 생성하였다.

[0280]

표 23

약동학: 기관 분포

CTD내 위치	m4-2-2-2			
연구 번호	20000334			
종	개			
성별(M/F)/동물 수	투약 그룹 당 3 M/3 F			
급식 조건	공급됨			
비허탈/제형	주사용 멸균 API 31510			
투여 방법	매주 3회 IV			
기간	4주			
분석물	31510			
검사	LC/MS/MS			
용량 (mg/kg)	0	31.25	62.5	125
조직 농도 (µg/g)	~ 72시간			
간	수컷 48.8	843	2,403	6,267
	암컷 < 50	1,024	2,923	4,780
폐	수컷 < 25	< 25	13.0	52.1
	암컷 < 25	< 25	10.1	27.7
췌장	수컷 < 25	< 25	< 25	< 25
	암컷 < 25	< 25	< 25	< 25
뇌	수컷 < 25	< 25	< 25	< 25
	암컷 < 25	< 25	< 25	< 25

주목: <25 또는 <50µg/g 으로서 나열된 평균 값의 경우, 그룹내 모든 시료는 정량 한계 미만이다. 정량 한계 미만인 하나 이상의 시료를 갖는 다른 그룹의 경우, BLQ 값은 평균의 계산을 위해 0µg/g로 설정하였으며, 25 또는 50µg/g 미만의 일부 평균 값을 생성하였다.

[0281]

[0282]

찰스 리버 연구 번호 20000328에서, 간, 폐, 췌장, 및 뇌의 시료를 래트로부터 0, 62.5, 125 또는 250 mg/kg/용량의 CoQ10 IV 제형의 주당 3회의 정맥내 투여의 4주 말기 후에 대략 72시간째에 수집하였다(표 21 내지 표 23). 대조군 그룹으로부터의 조직 중 어느 것에서도 측정가능한 농도의 CoQ10 IV 제형은 없었다. 투약-후 72 시간째에, 대략 선형으로 용량-의존성인 간에서 고 농도가 존재하였다. 폐 및 췌장에서 농도는 간에서보다 더 낮았다. 고-용량 수컷 중 단지 2마리가 뇌에서 측정가능한 농도의 CoQ10 IV 제형을 가졌으며; 나머지 다른 것들 모두는 측정가능한 농도를 가지지 않았다. 조직 농도에 있어서 명백한 성별 차이는 없었다.

[0283]

찰스 리버 연구 번호 20000334에서, 간, 폐, 췌장, 및 뇌의 시료를 개로부터 0, 31.25, 62.5, 또는 125 mg/kg/용량의 CoQ10의 주당 3회 정맥내 투여의 4주 말기 후에 대략 72시간째에 수집하였다(표 21 내지 표 23). 대조군 그룹으로부터의 폐, 췌장 또는 뇌 시료에서 측정가능한 농도의 CoQ10 IV 제형은 없었다. 대조군 그룹에서 2 마리의 수컷은 간 시료에서 낮은 수준의 CoQ10 IV 제형을 가졌으며, 이는, 낮은 수준의 내인성 CoQ10 IV 제형을 나타낸다. 투약-후 72시간째에, CoQ10 IV 제형으로 치료된 개로부터의 간 시료에서 고 농도가 존재하였다. 평균 농도는 대략 선형적으로 용량-의존성이었다. 폐에서의 농도는 간에서의 농도의 1% 미만이었다. 췌장 또는 뇌 시료 중 어느 것도 측정가능한 농도를 가지지 않았다. 조직 농도에 있어서 명백한 성별 차이는 없었다.

[0284]

도 47은 수컷 및 암컷 래트 및 개에 대한 CoQ10 IV 제형 대 용량의 평균 간 농도를 나타낸다. 용량 의존성은 래트 및 개의 경우 유사하며, 어느 종에 대해서도 명백한 성별 차이는 없음을 나타낸다.

[0285]

래트 및 개에서 4-주 독성 연구는 용량과 함께 C_{max} 및 AUC_{0-t}에 있어서 증가를 나타내었다. 일부 증가로 비-선

형성이 관찰되었으나, 다른 것들의 경우 선형성이 관찰되었다. 성별 둘 다의 동물을 포함한 래트 및 개 연구는 약동학에 있어서 어떠한 명백한 성별 차이를 나타내지 않았다.

[0286] 마우스에서 조직-분포 연구의 결과는, 간 및 비장에 의한 CoQ10 IV 제형의 고 흡수, 폐에 의한 중간 흡수, 및 췌장에 의한 매우 적은 흡수가 존재하였음을 나타내었다. 마우스 뇌에 대한 매우 제한된 데이터는 적어도 12 내지 36시간째에 혈장 농도와 유사한 가능한 뇌 수준을 나타내었다. 래트 및 마우스에서 분포의 발표된 연구는 일반적으로 마우스에서 CoQ10 IV 제형의 연구로부터의 제한된 데이터와 일치한다.

[0287] 4-주 치료기간에 마지막 투약 후 72시간째에 취한 부검 시료는, 간에서 고 농도의 CoQ10 IV 제형을, 폐에서 보다 낮은 농도를, 췌장에서 낮은(래트) 또는 측정불가능한(개) 농도를, 및 어떠한 종의 뇌에서도 측정가능하지 않은 수준의 농도를 나타내었다. 평균 간 농도의 용량-의존성은 래트 및 개의 경우와 유사하였다. 조직 농도에 있어서 명백한 성별 차이는 없었다.

[0288] **실시예 20 -- 래트에서의 CoQ10 IV 제형의 단일-투약 독성 연구:** 래트에서의 단일-투약 독성 연구에서, 스프라그-다울리 래트(n = 3/성별/그룹)에게 꼬리 정맥을 통해 100, 250, 750 mg/kg(45.9 mg/mL 제형을 사용), 및 750 및 1000 mg/kg(80 mg/mL 제형을 사용)에서 CoQ10 제형을 단일 정맥내 주사로 제공하였다(찰스 리버 연구 번호 20000711; 표 24). 동물을 투약-후 3일 동안 관찰하였다. 하나의 추가의 그룹(3마리/성별)에게 비히클(3% DMPC 및 1.5% 폴록사머 188) 만을 제공하였다. 추가의 9마리/성별/그룹을 유사하게 치료하고 독성 동태학적 연구에 사용하였다. 평가한 매개변수는 치료에 대한 사망률 및 반응, 상세한 실험, 체중, 사료 소비, 혈액학 및 임상 화학, 육안 병리학(gross pathology), 및 기관 중량을 포함하였다. 조직병리학을 750 mg/kg(45.9 mg/mL)을 제외한 모든 그룹에서 동물로부터의 제한된 수의 조직(심장, 신장, 간, 폐, 췌장, 변색된 피부 시료, 림프절)에서 수행하였다. 독성 동태학을 다음 각각의 용량으로 평가하였다.

표 24

단일-투약 특성

종/스트레인	투여 방법 (비허탈)	용량 (mg/kg)	성별 및 그룹당 수	관찰된 최대 비치사 용량 (mg/kg)	대략적인 치사 용량 (mg/kg)	주목할 만한 발견	연구 번호
스프링-다울리 레트	IV 분무스 (후원자-공급된 비허탈)	0, 100 ^a , 250 ^a , 750 ^a , 750 ^b , 1000 ^b	3M, 3F	250	>250 - <750	0: 없음 100: 림프절의 변색(F) 250: 림프절 및 고리의 기저로부터 뒷다리까지의 피부의 변색 750a: 사망률(1F); 림프절 및 고리의 기저로부터 뒷다리까지의 피부의 변색 750b: 사망률(2M, 2F); 림프절 및 고리의 기저로부터 복부까지의 피부의 변색, 흉강내 유체, 신장내 피브린 침착(M-FD) 및 폐(M&F-FD), 간세포 괴사(F-FD) 1000: 사망률(2F); 림프절 및 고리의 기저로부터 뒷다리까지의 변색, 황색 간 흉강내 유체(F); 수컷 세생 기관 중량에 있어서의 감소; 주사 부위 염종(M&F-S), 폐내 피브린 침착(F-FD)	20000711
Beagle Dog: IV Bolus (Sponsor-supplied vehicle):	IV 분무스 (후원자-공급된 비허탈)	0 (비허탈d) 0 (PBS중 플록사머 188) 1 내지 2M 1 내지 2F	1 내지 2M 1 내지 2F	125	>125 - <250	0(비허탈): 사망률(1M&1F); 부작용 임상 신호(적색뇨, 탈수); 체중 감소 및 감소된 사료 소비; 적혈구 매개변수에 있어서 유의적인 감소 및 세포 형태에 있어서의 변화	20000713
종/스트레인	투여 방법 (비허탈)	용량 (mg/kg)	성별 및 그룹당 수	관찰된 최대 비치사 용량 (mg/kg)	대략적인 치사 용량 (mg/kg)	주목할 만한 발견	연구 번호
		(PBS내 관찰된 비허탈), 125, 250				장 성분 신장 및 동물사체의 변색, 비정상적인 발광 성분, 근적 색개질; 신장내 호산구성 비말, 루포 세포 (Kuffer cell)에 의한 적혈구 포식을 갖는 율혈된 간 동양 혈관 0(PBS내 플록사머 188): 없음 0(PBS내 완전한 비허탈): 사망률(1M&1F); 부작용 임상 신호(적색뇨, 호흡곤란); 체중 감소 및 감소된 사료 소비; 적혈구 매개변수에 있어서 유의적인 감소 및 세포 형태에 있어서의 변화; 장 성분 신장 및 헤장의 변색, 비정상적인 발광 성분, 근적 색개질; 신장내 호산구성 비말, 루포 세포에 의한 적혈구 포식을 갖는 율혈된 간 동양 혈관, 만성 신장병(F) 125: 없음 250: 사망률(2M&2F); 부작용 임상 신호(적색뇨, 감소된 활성); 체중 감소 및 감소된 사료 소비; 적혈구 매개변수에 있어서 유의적인 감소 및 세포 형태에 있어서의 변화; 장 성분 신장 및 동물사체의 변색, 비정상적인 발광 성분, 근적 색개질; 신장내 호산구성 비말, 루포 세포에 의한 적혈구 포식을 갖는 율혈된 간 동양 혈관	
종/스트레인	투여 방법 (비허탈)	용량 (mg/kg)	성별 및 그룹당 수	관찰된 최대 비치사 용량 (mg/kg)	대략적인 치사 용량 (mg/kg)	주목할 만한 발견	연구 번호
<p>M = 수컷 F= 암컷 IV= 정맥내 주사 FD=발견된 사망 또는 빈사 희생된 동물 S= 생존 동물 PBS=포스페이트 완충된 염수 a - 45.9mg/mL 투여된 농도 b - 90.0mg/mL 투여된 농도 c - 비허탈 성분은 PBS중에 디메틸소포라티딜릴린(DMPC)(3% w/w) 및 플록사머 188(1.5% w/w)을 함유한다 d - 비허탈 성분은 PBS중에 디메틸소포라티딜릴린(DMPC)(6% w/w) 및 플록사머 188(3% w/w)을 함유한다 e - 완전한 비허탈 성분은 PBS중에 디메틸소포라티딜릴린(DMPC)(3% w/w) 및 플록사머 188(1.5% w/w)을 함유한다</p>							

[0289]

[0290]

100 및 250 mg/kg(45.9 mg/mL 제형을 사용함)으로 치료한 동물은 단일 투약 후 명백한 시험 제품-관련된 효과를 나타내지 않았으며, 혈액학 데이터는 일반적으로 현저하지 않았다. 80 mg/mL 제형을 사용한 750 및 1000 mg/kg의 용량은 사망률(750 mg/kg에서 각각의 성별의 2마리 동물 및 1000 mg/kg에서 2마리의 암컷)을 생산하였다. 45.9 mg/mL 제형을 사용하여 750 mg/kg을 제공받은 1마리 암컷도 사망하였다. 이들 동물은 투약 당일 정상을 나타내었으나, 다음날 사망 또는 빈사로 희생되었음이 밝혀졌다.

[0291]

체중 또는 사료 소모에 있어서 일치하는 효과는 없었다. 임상 화학 데이터는 또한 현저하지 않았다.

[0292]

750 및 1000 mg/kg에서 부검 발견은 흉강내 유체 및 변색된 간을 나타내었으며; 변색된 림프절은 100 및 250 mg/kg에서 주목되었다. 사망한 750 및 1000 mg/kg으로 치료한 동물로부터의 조직병리학적 평가는 흉곽내 유체, 주사 부위 병변 및 조직의 변색을 나타내었다. 750 mg/kg에서 사망한 2마리 수컷에서 신장 사구체에서 피브린 침착이 관찰되었으나 1000 mg/kg에서 사망한 2마리의 암컷에서는 관찰되지 않았다. 폐내 피브린 침착은 용량 둘 다에서 사망한 동물에서 관찰되지 않았다. 간 괴사는 750mg/kg에서 사망한 1마리의 동물에서 관찰되었다. 조직은 주사 부위에서 혈관 염종의 경우를 제외하고 이들 2개 용량에서 생존자 중에서 일반적으로 정상이었다.

비히클 치료한 동물의 평가는 신장내 호산구 결정의 경우(1마리의 암컷), 폐내 히파파리 상피 과다형성(1마리 암컷) 및 췌장내 최소 염증(1마리 암컷)을 제외하고는 일반적으로 현저하지 않았다. 이러한 변화는 부수적일 수 있다.

[0293] **실시예 21 -- 개에서의 CoQ10 IV 제형의 단일-투약 독성학 연구:** 비글 개(n = 1 또는 2마리/성별)에게 250 및 125 mg/kg으로 느린 볼루스 IV 주사로서의 주사용 단일 용량의 평균 CoQ10 나노-현탁물을 제공하였다(찰스 리버 실험실 연구 번호 20000713; 표 24). 비히클에 이어 250 mg/kg(6% DMPC 및 3% 폴록사머 188을 함유하는 비히클을 사용함)에서 관찰된, 관찰된 유의적인 독성의 가능한 효과를 평가하기 위해, 개의 추가 그룹을 비히클(6% DMPC 및 3% 폴록사머), "완전한" 비히클(3% DMPC 및 1.5% 폴록사머 188), 또는 PBS/폴록사머(PBS 중 DMPC의 적합한 제형은 제조할 수 없었다)으로 치료하였다. 250 mg/kg 용량 및 비히클에 대한 초기 주사 속도는 45.9 mg/mL의 CoQ10 농도의 제형을 기준으로 5.44mL/kg이었다. 125 mg/kg 용량에 대한 주사 속도는 35.6 mg/mL의 CoQ10 농도의 제형을 기준으로 3.51 mL/kg이었다. 평가한 매개변수는 사망률 및 치료에 대한 반응, 상세한 실험, 체중, 사료 소모, 혈액학 및 생화학, 육안 병리학, 및 기관 중량 및 제한된 조직병리학(250 mg/kg, 비히클, 및 완전한 비히클로 투여된 개로부터의 심장, 신장, 간, 폐, 췌장, 변색된 피부)을 포함하였다. 독성 동태학을 각각의 투약 후 측정하였다.

[0294] 250 mg/kg을 투약한 2마리의 수컷 및 2마리의 암컷을 유의적인 부작용 임상 신호로 인하여 2일째에 빈사 희생시켰다. 비히클의 가능한 역할을 평가하기 위하여, 비히클을 1마리/성별의 다른 그룹에 투여하였다. 관찰된 반응은 빈사 안락사를 포함하여, 250 mg/kg에서 치료된 동물에서 관찰된 바와 동일하였으며, 이는, 당해 용량의 비히클이, 주목된 효과 모두는 아니지만, 일부에 대해 관여함을 나타내었다. 이는, 다른 수컷 및 암컷에게 완전한 비히클을 5.44 mL/kg의 동일한 속도로 투약한 경우 확인되었다. 다른 수컷 및 암컷 개에 대한 PBS 및 폴록사머 188의 투여는 이러한 효과를 생산하지 않았으며, 이는, 보다 고 농도의 부형제를 갖는 비히클 제형내 DMPC가 효과를 유발하는 성분이었음을 제안한다. 1마리/성별의 제5 그룹에서, 약물 제형을 3.51 mL/kg의 감소된 용량 용적을 사용하여 125mg/kg으로 제공하였다. 효과는 구토 및 묽은 변에 제한되지만, 동물은 생존하였다.

[0295] 체중, 사료 소모, 임상 병리학(용혈), 신장, 위장관, 담낭, 및 방광내 육안병리학 변화, 및 신장 및 간에서의 용혈과 일치하는 현미경적 변화에 대한 부작용이 250 mg/kg, 비히클 및 완전한 비히클을 투여한 동물에서 단지 주목되었다. PBS/폴록사머 188 또는 125 mg/kg을 투여한 개에서는 발견되지 않았다.

[0296] 독성 동태학적 데이터는, C_{max} 및 AUC에 있어서의 용량 비례적인 증가 및 125 mg/kg/용량에서보다 250 mg/kg/용량에서 약간 증가된 반감기를 나타내었다.

[0297] **실시예 22 -- 래트에서의 CoQ10 IV 제형의 반복-투약 독성학 연구:** 래트에서 1-주의 반복 용량 연구에서, 5마리의 래트/성별의 2개 그룹에게 총 3회 투약에 대해 매 3일마다 250 및 500 mg/kg을 제공하였다(찰스 리버 래브러토리즈 연구 번호 20000711; 표 25). 평가된 매개변수는 치료에 대한 사망률 및 반응, 상세한 실험, 체중, 및 육안 병리학(사망하지 않은 동물에서)을 포함하였다. 조직병리학은 이들 동물에서 수행하지 않았다. 독성 동태학을 치료 마지막 날에 평가하였다. 부작용 임상 신호는 250 mg/kg/용량에서 관찰되지 않았다. 500 mg/kg/용량에서, 4마리의 동물이 사망하거나 빈사 상태에서 희생되었고: 2마리 수컷은 2일째에 사망하였으며, 1마리 암컷은 3일째에 빈사 상태로 안락사되었으며(저체온증 및 감소된 활성의 임상 신호), 1마리의 암컷은 6일째에 사망하였다. 500 mg/kg/용량에서의 생존자는 부정적인 임상 신호를 나타내지 않았다. 용량 둘 다에서 동물은, 4일 전체에서 체중에 있어 일반적으로 유지되거나(수컷) 증가(암컷)하였으며, 이후 약간의 체중 감소를 경험하였다. 혈액학적 데이터는 500 mg/kg/일에서 증가된 망상적혈구 및 다양한 백혈구 세포 유형을 나타내었다. 약간의 다염성 및/또는 적혈구부동증이 용량 둘 다에서 일부 동물 중에 관찰되었다. 치료 기간의 말기(3회 투약)에, ALT, AST, GGT 및 노 질소에 대해 증가된 값이 500 mg/kg/용량을 제공받은 동물 중에서 주목되었으며 총 단백질, 알부민 및 글로불린에서 감소되었다. 부검시, 변색된 림프절, 피부의 피하 층의 변색 및 창백한 간 및 주사 부위 병변이 관찰되었다. 250 mg/kg/용량에서의 동물과 비교하여, 흉선, 부고환, 전립선, 정낭, 난소 및 자궁의 감소된 중량, 및 암컷에서 간 중량의 증가가 주목되었다. 조직병리학은 평가되지 않았다.

[0298] 독성 동태학적 데이터는, 일반적으로, CoQ10의 혈장 농도, C_{max} 및 AUC_{0-t} 값이 용량이 증가하면서 증가하였음을 나타내었다. 이들 결과를 기준으로, 250 mg/kg/용량을 최종적인 연구에서 고 용량으로서 선택하였다.

표 25

반복-투약 독성

종/트레인	투여 방법 (비히클)	투약 기간 ^a	용량 (mg/kg/day)	성별 및 그룹당 수	NOAEL (mg/kg/용량)	주목할 만한 발견	연구 번호
스프라그-다울리 래트	IV 볼루스 (후원자-공급원 비히클 ^b)	7일	250, 500	5M, 5F	<250	250: 체중 감소; 림프절 및 피하 피부의 변색, 광배관 갈 500: 사망률(2M&2F); 중기된 체중 감소; 감소된 사료 소모; 혈액학 및 임상 화학 변경; 림프절 및 피하 피부의 변색, 창백한 간; 감소된 가슴살 및 제생 기관 증량; 증가된 간 증량	20000711
비글 개	IV 볼루스 (후원자-공급원 비히클 ^b)	5 또는 7일	125	2M, 2F	125		20000713

M = 수컷 F= 암컷 IV= 정맥내 주사
a - 5 또는 7일 동안 격일로 투여된 용량
b - 비히클 성분은 PBS중에 DMPC (3% w/w) 및 폴록사머 188(1.5% w/w)을 함유한다.

[0299]

[0300]

실시예 23 -- 래트에서의 CoQ10 IV 제형의 4-주 반복-투약 독성학 연구: 젊은 성숙한 스프라그 다울리 래트((n = 10마리/성별/그룹)의 4개 그룹에 비히클(폴록사머 188 및 DMPC를 함유하는 PBS) 또는 0, 62.5, 125 및 250 mg/kg의 용량의 시험 제품을 주당 3회 IV 주사로 제공하였다(찰스 리버 래보러토리스 연구 번호20000328; 표 26). 추가의 5마리 래트/성별이 각각의 그룹에 포함되었으며 2주의 회복 기간 동안 치료 후 유지되었다. 40 mg/mL의 표적 농도의 CoQ10을 사용한 시험 제품의 단일 배치(#0494-02-021)를 연구에 사용하기 위해 제공하였다. 62.5, 125 및 250 mg/kg의 용량을 각각 1.56, 3.13, 및 6.25 mL/kg의 용량 용적을 사용하여 달성 하였다. 비히클을 고-용량 그룹과 동일한 용량 용적으로 투여하였다. 또한, 9마리/성별의 3개 그룹을 독성 동태학적(TK) 동물로서 제공하고 주요 연구 그룹과 동일한 방식으로 시험 제품을 제공하였다. 평가한 매개변수는 우리주변 관찰(cageside observation), 임상 관찰, 체중, 사료 소모, 안과학, 임상 병리학 평가(혈액학, 응고 시험, 임상 화학, 및 뇨 분석), 육안 병리학, 및 기관 증량을 포함하였다. 조직병리학을 치료 기간의 말기에 희생시킨 동물로부터의 대조군 및 고-용량 그룹에서 모든 조직, 및 저 용량 및 중간 용량 그룹에서의 동물로부터의 골수, 신장, 간, 하악골 및 장간막 림프절에서 수행하였다. 회복 희생으로부터 동물의 시험은 육안 병변을 나타내는 조직으로 한정되었으며, 간 및 림프절을 포함하였다. 시험 제품의 혈장 농도의 측정을 위한 혈액 시료를 1일 및 28일째 투약(마지막 투약 후) 후 5, 15 및 60분 및 4, 24 및 48 시간째에 용량 그룹 당 성별당 3마리의 TK 동물의 집단으로부터 수집하였다.

표 26

중/스트레인: 스프라그-다울리 래트	투약 기간: 4주	연구 번호: 2000328
기초 연령: 대략 8주	투약 후 기간: 2주	CTD내 위치: m4-2-3-2
처음 투약 날짜: 2010. 4. 14	투여 방법: 정맥내 (블투스) 주사	GLP 준수: 이행
	비허탈/제형: PBS 중 DMPC 및 플록사머 188	
구체적인 특징: 투여는 주당 3회 실시하였다(월, 수, 금요일) 물질의 단일 농도가 제공되었다(40mg/mL); 용량은 용량 용적을 변화시킴으로써 달성되었다. 동물의 10%까지 심각한 독성 용량(STD10): 62.5mg/kg/용량		

용량(mg/kg) 동물 수	0		62.5		125		250	
	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
독성 동태학: AUC ₀₋₂₄ (µg·hr/mL)								
1일	NA	NA	3004	2692	6866	5107	16550	15521
26일	NA	NA	1953	1747	5037	3859	8873	8368
구독할만한 발견 사망 또는 희생됨 빈사	0	0	0	0	0	0	0	0
체중 (%*) (g)	404	258	-0.5	-1.7	-8.7*	-5.5	-17.6*	-8.9*
사료 소모 (g/동물/일) (%*)	31	25	+2.5	-4.0	-9.2*	-12.5*	-16.4*	-18.3*

용량(mg/kg) 동물 수	0		62.5		125		250	
	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
임상 관찰	-	-	-	-	-	-	-	-
안과학	-	-	-	-	-	-	-	-
혈리학								
적혈구 (10 ⁶ /cmm)	6.47	5.99	8.14*	7.77*	7.59*	6.90*	6.23	6.12
헤모글로빈 (g/dL)	14.3	13.7	15.1*	14.7*	14.3	13.5	12.9*	13.2
적혈구 용적률 (%b)	43.2	40.7	44.3	42.4*	41.6*	39.1*	40.4*	39.2*
백혈구 (10 ³ /cmm)	12.71	9.32	8.56*	8.33	11.03	9.49	15.55*	13.15*
림프구 (10 ³ /cmm)	10.88	7.85	7.02*	6.79	8.70*	7.35	12.58	10.50*
호중구 (10 ³ /cmm)	1.39	1.06	1.06	1.06	1.71	1.64	2.13*	1.97*
호산구 (10 ³ /cmm)	0.05	0.08	0.09*	0.09	0.08	0.08	0.14*	0.10
응고								
APPT(초)	17.5	15.8	17.6	15.1	15.9*	14.4*	14.7*	14.5*
임상 화학								
AST (IU/L)	79	99	74	67*	83	76*	113*	88
ALT (IU/L)	21	21	22	19	25	20	35*	22
GGT (IU/L)	0.00	0.32	0.00	0.42	0.09	0.53	0.16	0.25
콜레스테롤 (g/dL)	37	56	45	51	45	52	65*	69*
노 검사	-	-	-	-	-	-	-	-
시행된 수	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
총 병리학								
장백한 부신	0	0	0	0	0	0	4	2
장백한 간	1	0	9	7	9	10	10	10
장백한 림프절	0	0	0	1	4	0	8	7
확장된 회장 림프절	0	0	0	0	1	1	5	1
장백한 난소	NA	0	NA	0	NA	1	NA	9
장백한 뇌하수체	0	0	0	0	0	0	3	0
장백한 SQ 피부	0	0	1	0	1	3	0	4
기관 중량								
간 (%*) (g)	10.91	7.54	-5.5	-6.1	-7.2	-0.6	+11.0	+14.5*
비장 (%*) (g)	1.95	1.17	-57.3*	-48.2*	-23.4	-11.2	+65.9	+51.0*
조직학								

[0301]

용량(mg/kg) 동물 수	0		62.5		125		250	
	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
부신								
공포형성	1	0	NE	NE	NE	NE	10	10
최소	1	0					0	0
약함	0	0					5	3
중간	0	0					5	7
현저함								
없음								
과다형성	0	0	0	0	2	0	4	0
최소	0	0	0	0	2	0	0	0
약함	0	0	0	0	0	0	4	0
중간								
현저함								
없음								
주사 부위								
단백 세포	2	5	NE	NE	1	NE	10	10
최소	1	4			0		0	0
약함	1	1			0		0	1
중간	0	0			0		9	7
현저함	0	0			1		1	2
없음								
간								
극소 괴사	0	0	0	1	0	0	0	0
최소	0	0	0	1	0	0	0	0
조직세포 침윤	0	0	2	7	6	9	10	9
최소	0	0	1	7	3	1	1	4
약함	0	0	1	0	3	7	7	5
중간	0	0	0	0	0	1	2	0
공포형성	1	0	2	7	8	10	10	10
최소	1	0	2	7	4	6	0	0
약함	0	0	0	0	4	4	10	10
중간								
현저함								
없음								
림프관, Man.								
조직세포 침윤	0	0	6	4	7	3	9	9
최소	0	0	4	4	3	2	0	7
약함	0	0	1	0	4	0	3	1
중간	0	0	1	0	0	1	6	1
현저함								
없음								
림프관, Mes.								
조직세포 침윤	0	0	6	4	7	3	9	9
최소	0	0	4	4	3	2	0	7
약함	0	0	1	0	4	0	3	1
중간	0	0	1	0	0	1	6	1
현저함								
없음								
용량(mg/kg) 동물 수	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
조직세포 침윤	0	1	9	9	10	10	9	9
최소	0	1	5	7	4	5	1	5
약함	0	0	4	2	6	5	7	4
중간	0	0	0	0	0	0	1	0
현저함								
없음								
난소								
조직세포 침윤	NA	0	NA	0	NA	10	NA	10
최소						10		0
약함						0		6
중간						0		4
현저함								
없음								
피부, 진피								
조직세포 침윤	0	0	0	0	1	2	0	2
약함	0	0	0	0	0	1	0	0
중간	0	0	0	0	0	1	0	2
현저함	0	0	0	0	1	0	0	0
없음								
피부, SQ								
조직세포 침윤	0	0	0	0	0	2	0	0
약함	0	0	0	0	0	2	0	0
중간								
현저함								
없음								
비장								
조직세포 침윤	0	0	1	4	8	9	10	10
최소	0	0	0	4	5	4	0	1
약함	0	0	1	0	3	3	9	7
중간	0	0	0	0	0	2	1	2
현저함								
없음								
부약 후 평가								
동물 수	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
체중 (%) (g)	449	280	+7.4	-0.9	-2.2	-3.9	-15.0*	-12.6
사료 소모 (%) (g/동물/일)	35	28	+5.8	-7.9	-1.2	-10.5	-14.1	+0.7
용고								
APPT(초)	17.8	15.6	16.7	14.4	15.9*	15.4	15.3*	14.7
임상 화학								
AST (IU/L)	78	71	79	83	94	68	213*	153*
ALT (IU/L)	22	20	20	19	27	21	96*	63*

[0302]

용량(mg/kg) 동물 수	0		62.5		125		250	
	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
GGT (IU/L)	0.00	0.14	0.00	0.12	0.00	0.63*	0.42	0.58*
콜레스테롤 (g/dL)	36	47	49	45	47	52	50	60
총 병리학								
장백한 간	0	0	2	3	5	5	5	5
장백한 장관 림프절	0	0	2	2	2	3	3	4
장백한 회장 림프절	0	0	1	1	2	2	3	3
Node								
장백한 난소	NA	0	NA	0	NA	0	NA	4
확장된 비장	0	0	0	0	1	0	4	2
기관 중량								
간 (96%) (g)	11.54	7.58	+5.0	+4.6	-2.5	+3.5	+7.6	+19.6
비장 (96%) (g)	1.15	0.76	-22.2	+0.5	-5.9	-3.4	+38.7*	+82.7*
조직학								
부신								
공포형성	0	0	5	3	5	5	4	5
최소	0	0	2	3	0	0	0	0
약함	0	0	3	0	2	4	2	0
중간	0	0	0	0	3	1	2	4
현저함	0	0	0	0	0	0	0	1
간								
극소 피사	0	0	0	0	3	0	2	1
최소	0	0	0	0	2	0	0	0
약함	0	0	0	0	1	0	2	1
간								
다웃쩍 피사	0	0	0	0	0	1	1	1
약함	0	0	0	0	0	1	1	0
중간	0	0	0	0	0	0	0	1
조직세포 침윤	0	0	1	5	5	5	5	5
최소	0	0	1	3	4	2	1	0
약함	0	0	0	2	1	3	4	1
중간	0	0	0	0	0	0	0	4
공포형성	0	0	5	5	5	5	5	5

용량(mg/kg) 동물 수	0		62.5		125		250	
	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15	M:15	F:15
최소	0	0	4	2	1	0	0	0
약함	0	0	1	2	4	4	0	0
중간	0	0	0	1	0	1	5	5
림프절, Man.								
조직세포 침윤	0	0	4	2	5	2	5	5
최소	0	0	4	2	3	2	2	1
약함	0	0	0	0	2	0	1	3
중간	0	0	0	0	0	0	2	1
림프절, Mes.								
조직세포 침윤	0	0	5	4	5	5	5	5
최소	0	0	4	4	3	4	0	0
약함	0	0	1	0	2	1	5	5
난소								
조직세포 침윤	NA	0	NA	4	NA	5	NA	5
최소				4		3		0
약함				0		2		4
중간				0		0		1
비장								
조직세포 침윤	0	0	2	3	3	2	5	5
최소	0	0	2	2	2	2	0	1
약함	0	0	0	1	1	0	3	4
중간	0	0	0	0	0	0	1	0
현저함	0	0	0	0	0	0	1	0

* 주류량만 발견 없음, NA = 적용가능하지 않음, NE = 시험하지 않음, SQ = 피하, Man = 하악골 Mes = 장간막
 * p < 0.05 [ANOVA(Anova)/Dunn's Test] 또는 크루스칼-왈리스(Kruskal-Wallis)/Dunn's Test]
 a - 유의 차이 또는 회복 기간, 대조군의 경우, 그룹 평균을 나타낸다. 처리된 그룹의 경우, 대조군으로부터의 그룹 평균 퍼센트 차이를 나타낸다.
 B - 나타낸 방향으로 대조군으로부터 상이한 절대적 및 상대적 중량 같다. 수는 절대 기관 중량에 대한 차이 퍼센트를 나타낸다.

[0303]

[0304]

모든 동물은 말기 안락사까지 생존하였다. 임상 관찰, 안과학, 혈액학, 또는 뇨분석 매개변수에 대한 부작용 시험 제품-관련 효과는 관찰되지 않았다. 감소된 체중 증가 및 사료 소비는 고 용량으로 치료한 동물에 대해 관찰되었으며 중간 용량에서 보다 적은 정도로 관찰되었다. 일부 회복이 비-치료 기간의 말기에 관찰되었다.

[0305]

혈액학적 데이터의 평가는 고 용량 수컷에 주로 제한된 적혈구 매개변수에 있어서 약하지만 일치하지 않는 감소를 나타내었다. 망상적혈구는 의미있는 영향을 미치지 않았다. 활성화된 부분 트롬보플라스틴 시간은 회복 기간 전체에서 지속하는 경향이 있는 고 용량 동물 중에서 어느 정도 더 길었다. 호중구, 호산구 또는 림프구에 있어서 증가를 또한 반영한 총 백혈구 수에 있어서의 평가는 또한 최대 용량에서만 관찰되었다. 임상 화학 데이터는 치료 기간 말기에 고 용량 수컷의 경우 AST, ALT, GGT 및 콜레스테롤에 대해 증가된 값을 나타내었으며 회복 기간의 말기에 보다 더 밝혀졌다. 암컷의 경우, 회복 기간의 말기에만 증가가 관찰되었다.

[0306]

부검(말기 및 회복)시, 시험 제품-관련된 육안 변화는 62.5 mg/kg/용량 이상에서 간의 창백한 변색 및 다수의 림프절의 창백한 변색/확장, 125 mg/kg/용량 이상에서 비장의 확장, 및 창백한 부신, 창백한 난소, 및 250 mg/kg/용량에서 피하 피부 변색을 포함한다. 비장 및 간 중량은 말기 및 회복 부검에서 250 mg/kg/용량에서 증가하였다.

[0307]

29일째에 스케줄된 종결시 시험 제품-관련된 조직병리학적 발견은 부신 피질의 약한 내지 중간의 세포질성 공포형성(250 mg/kg/용량), 수컷의 흉골의 골수내에서 최소 내지 약한 적혈구 과다형성(≥ 125 mg/kg/용량), 주사 부위의 약한 내지 현저한 단핵구 세포 침윤(250 mg/kg/용량), 최소 내지 약한 간세포 세포질성 공포형성(≥

62.5 mg/kg/용량), 간의 최소 내지 중간의 조직구 세포 침윤(≥ 62.5 mg/kg/용량), 최소 내지 중간의 다발 림프절의 조직구 세포 침윤(≥ 62.5 mg/kg/용량), 암컷에서 난소의 약한 내지 중간의 조직구 세포 침윤(250 mg/kg/용량 암컷), 암컷에서 진피 및/또는 피하조직의 약한 내지 중간의 조직구 세포 침윤(≥ 125 mg/kg/용량), 및 수컷에서 비장의 최소 내지 중간의 조직구 세포 침윤(≥ 125 mg/kg/용량) 및 암컷에서 비장의 최소 내지 중간의 조직구 세포 침윤(≥ 62.5 mg/kg/용량)을 포함하였다. 회복 동물에서, 유사한 시험 제품-관련된 병변이 주요 연구 동물에서 관찰된 바와 같이 주목되었으며; 이들 변화의 중증도는 용량-반응을 수반하였다. 발견들은 ≥ 62.5 mg/kg/용량(수컷 및 암컷)에서 부신 피질의 최소 내지 현저한 공포형성, ≥ 125 mg/kg/용량(수컷 및 암컷)에서 최소 내지 중간의 췌장 또는 다췌장 간 괴사, ≥ 62.5 mg/kg/용량(수컷 및 암컷)에서 최소 내지 중간의 간의 조직구 침윤 및 공포형성, ≥ 62.5 mg/kg/용량(수컷 및 암컷)에서 림프절의 최소 내지 중간의 조직구 침윤, ≥ 62.5 mg/kg/용량(수컷 및 암컷)에서 비장의 최소 내지 현저한 조직구 침윤, 및 ≥ 62.5 mg/kg/용량(암컷)에서 난소의 최소 내지 중간의 조직구 침윤을 포함하였다. 몇몇의 기관/조직에서, 특히 125 및 250 mg/kg/용량에서 회복 동물에서 관찰된 변화의 중증도는 부신, 간, 및 추가의 림프절(장골, 신장, 췌장, 경부, 오금, 종격, 및/또는 상완)을 포함하는 말단 부검에서 보다 더 확연하였다.

[0308] 독성 동태학적 분석은, C_{max} 및 AUC가 용량 비례적이거나 용량-비례적인 방식보다 크게 증가하였음을 나타내었다. 26일째 값은 1일째와 비교하여 실질적으로 더 낮았다. 주목할만한 성별 차이는 없었다. 적절한 데이터의 표에 의한 표현은 하기 나타낸다(표 27).

표 27

매개변수	용량(mg/kg/용량)					
	62.5		125		250	
	M	F	M	F	M	F
1일째						
C_{max} (ug/mL)	1,663	1,670	3,197	2,970	6,397	6,900
AUC_{0-24} (ug•hr/mL)	3,004	2,692	6,866	5,107	16,550	15,521
T_{max} (hr)	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
$T_{1/2}$ (hr)	0.806	0.713	1.19	1.01	1.96	1.63
26일째						
C_{max} (ug/mL)	1,052	891	2,660	2,400	4,257	4,167
AUC_{0-24} (ug•hr/mL)	1,542	1,747	5,037	3,859	8,873	8,368
T_{max} (hr)	0.083	0.083	0.083	0.250	0.083	0.083
$T_{1/2}$ (hr)	0.835	0.791	1.13	0.994	1.34	1.62

이들 데이터를 기준으로, SD_{10} 은 62.5mg/kg/용량인 것으로 측정되었다.

- [0309] 개에서의 1-주 독성 연구에서, 2마리 개/성별의 1개 그룹에게 총 3회 용량에 대해 매 3일마다 125 mg/kg을 제공하였다(찰스 리버 래보러토리즈 연구 번호 20000713; 표 25). 평가된 매개변수는 치료에 대한 사망률 및 반응, 상세한 실험, 체중, 사료 소모, 심장학 매개변수, 혈액학 및 임상 화학 매개변수, 기관 중량 및 육안 병리학을 포함하였다. 조직병리학은 이들 동물에서 수행하지 않았다. 독성 동태학을 치료 마지막 날에 평가하였다.
- [0311] 치료 기간의 말기에 적혈구 질량 및 형태학에 있어서 약간의 감소를 제외하고는 평가된 매개변수 중 어느 것에 대해서도 125 mg/kg/용량 수준에서 부작용이 관찰되지 않았다.
- [0312] 독성 동태학적 데이터는, CoQ10 IV 제형의 C_{max} , AUC_{0-24} , 및 $AUC_{0-\infty}$ 에 대한 혈장 농도 및 평균 값이 투여된 제1 용량과 제3 용량 사이에서 비교가능하였음을 나타내었다.
- [0313] 이들 결과를 기초로 하여, 125 mg/kg/용량을 최종적인 개 연구에서 고 용량으로서 선택하였다.
- [0314] 개에서의 4-주 반복-투약 연구에서, 비글 개($n = 3$ /성별/그룹)의 4개 그룹에게 비히클 또는 31.25, 62.5 및 125 mg/kg의 용량으로 약물 생성물을 함유하는 CoQ10 IV 제형을 4주 동안 매일 IV 주사로 제공하였다(찰스 리버 래보러토리즈 연구 번호 20000334; 표 28). 추가의 2마리 개/성별을 각각의 그룹에 포함시키고 치료 후 2주 회복 동안 유지시켰다. 40 mg/mL의 단일 시험 제품 농도를 연구에서 사용하기 위해 제공하였다. 31.25, 62.5 및 125 mg/kg의 용량을 0.78, 1.56 및 3.13 mL/kg 각각의 용량 용적을 사용하여 달성하였다. 평가한 매개변수는 우리주변 관찰, 임상 관찰, 체중, 사료 소모, 검안경검사, 심전도법, 임상 병리학, 육안 병리학, 기관 중량, 및 조직병리학을 포함하였다. CoQ10 IV 제형의 혈장 농도의 측정을 위한 혈액 시료를 투약-전 및 1일 및 26일째에

투약 후 5, 15, 30 및 60분 및 2, 4, 8 및 24 시간째에 수집하였다.

표 28

반복-투약 독성. 보고서 표제: 2주 회복 기간을 갖는 개에게 정맥내(블루스) 주사에 의해 투여된 31510의 4주 독성 연구

중/스트레인: 비글 개	투약 기간: 4주	연구 번호 : 20000334
초기 연령: 대략 6 내지 7개월	투약 후 기간: 2주	CID내 위치: m4-2-3-2
처음 투약 날짜: 2010. 4. 12	투여 방법: 정맥내(블루스) 주사	GLP 준수: 이행
	비히클/제형: PBS 중 DMPC 및 플록사머 188	

구체적인 특징: 투약은 주당 3회 실시하였다(월, 수, 금요일)
물질의 단일 농도가 제공되었다(40mg/mL); 용량은 용량 용적을 변화시키므로써 달성되었다.
최대 비-중증 독성 투여량(HNSTD): 62.5mg/kg/투여량

용량 (mg/kg) 동물 수	0		31.25		62.5		125	
	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
독성 동태학 AUC ₀₋₂₄ (µg·hr/mL)								
1일	NA	NA	1129	1216	3354	2922	12790	12522
26일	NA	NA	1038	1207	2719	2735	7151	7370
주목할만한 발견								
사망 또는 희생됨	0	0	0	0	0	0	0	1c
빈사 체중 사료 소비 감상 관찰	7.760	6.633	+3.3	+4.7	0.0	+4.2	+1.2	-1.0
	-	-	-	-	-	-	-	-

용량 (mg/kg) 동물 수	0		31.25		62.5		125	
	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
안과학	-	-	-	-	-	-	-	-
심전도법	-	-	-	-	-	-	-	-
혈액학								
망상 적혈구(10 ⁹ /L)	185.8	201.2	48.7*	36.7*	68.0*	52.0*	190.6	160.69
임상 화학	-	-	-	-	-	-	-	-
노 검사	-	-	-	-	-	-	-	-
시험관 수	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
총 병리학	-	-	-	-	-	-	-	-
창백한 간	0	0	0	0	3	3	3	3
기관 중량	-	-	-	-	-	-	-	-
조직학	-	-	-	-	-	-	-	-
간								
글리코겐 축적	3	3	3	2	3	3	3	3
최소한	2	1	2	2	0	2	0	2
약함	1	2	1	0	3	1	3	1

투여 후 평가	0		31.25		62.5		125	
동물 수	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2
체중 (%)(g)	8.521	7.636	+4.7	-10.9	-1.4	+5.1	+7.9	-1.0
혈액학								
망상 적혈구(10 ⁹ /L)	149.3	86.0	71.6	63.4	85.4	50.8	131.1	53.6
총 병리학	-	-	-	-	-	-	-	-
창백한 간	0	0	0	0	1	1	2	2
조직학	-	-	-	-	-	-	-	-
간								
글리코겐 축적	0	0	0	0	1	1	2	2
최소한	0	0	0	0	1	0	1	1
약함	0	0	0	0	0	1	1	1

- 주목할만한 발견 없음, NA = 적용가능하지 않음, *p<0.05(아노바/돈넷 또는 크루스칼-왈리스/돈스 시험), Accum. = 축적
a - 투여 말기 또는 회복 기간, 대조군의 경우, 그룹 평균을 나타낸다. 처리된 그룹의 경우, 대조군으로부터의 그룹 평균 퍼센트 차이를 나타낸다.
B - 나타낸 방향으로 대조군으로부터 상이한 절대적 및 상대적 증량 등 다. 수는 절대 기준 증량에 대한 차이 퍼센트를 나타낸다.

용량 (mg/kg) 동물 수	0		31.25		62.5		125	
	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
체중								
C- 36일째(회복 2주 동안) 빈사 희생됨 않음								

[0315]

[0316]

모든 동물이 치료 상태 말기까지 생존하였다. 1회의 고 용량 암컷 개(125 mg/kg/일)를 회복 상의 2주 동안 빈사 상태(moribund condition)에서 희생시켰다. 사망전 신호(premortem sign)는 감소된 사료 소비, 체중 감소, 간 효소에 있어서의 상승, 및 부검시 창백하게 나타나는 간을 포함하였으나, 사망의 최종적인 원인은 당해 동물에서 조직의 조직병리학적 평가 후 측정되지 않았다.

[0317]

모든 다른 동물들 중에서, 시험 제품-관련된 부작용 발견은 임상 관찰, 체중, 사료 소비, 눈 및 심전도 평가, 임상 병리학, 육안, 및 기관 중량 매개변수에서 관찰되었다. 망상적혈구 수에 있어서의 증가는 치료 기간의 말기에 비히클 및 고 용량 치료된 동물에 대해 주목되었으며, 이는 회복 기간의 말기에 수컷에서만 지속되었다. 제형 비히클과의 연함은 배제될 수 없다. 부검시, 육안 관찰은 중간 및 고 용량 그룹에서 간에 대한 창백한 외관에 한정되었으며, 이는 또한 회복 부검시에 주목되었다. 조직병리학에서, 형태학적 변경은 간을 제외한 어떠한 조직에서도 관찰되지 않았다. 간세포 글리코겐 침착은 비히클 치료된 그룹을 포함하는, 모든 그룹에서 확인되었다. 이들 동물의 간에서 주목된 부작용 변화는 없었다. 회복 기간에 이어서, 이들 현미경적 변화는 중간

및 고 용량 동물로 한정되었다.

[0318] 독성 동태학적 평가는, 노출이 용량 증가와 함께 증가되었으며, C_{max} 및 AUC에 있어서의 증가도 비례하는 용량보다 더 커지는 경향이 있음을 나타내었다. 현저한 성별 차이는 존재하지 않았으며, 대부분의 경우, 노출 매개변수는 26일째에 고 용량 동물의 경우 감소된 값을 제외하고는 1일 및 26일째와 유사하였다. 적절한 매개변수의 표 요약은 하기에 나타낸다(표 29).

표 29

매개변수	용량(mg/kg/용량)					
	31.25		62.5		125	
	M	F	M	F	M	F
1일째						
C_{max} (µg/mL)	534	518	1,114	1,074	2,930	701
AUC_{0-24} (µg·hr/mL)	1,129	1,216	3,354	2,922	12,760	2,796
T_{max} (hr)	0.15	0.083	0.116	0.116	0.150	1.3
$T_{1/2}$ (hr)	2.74	2.97	3.62	2.83	3.92	4.14
26일째						
C_{max} (µg/mL)	518	555	1,282	1,324	2,322	2,322
AUC_{0-24} (µg·hr/mL)	1,038	1,207	2,719	2,735	7,151	7,320
T_{max} (hr)	0.083	0.082	0.183	0.116	0.150	0.200
$T_{1/2}$ (hr)	2.42	2.59	3.38	1.91	2.61	2.54

당해 4주 반복 용량 독성 연구로부터의 데이터를 기준으로, HNSTD는 62.5mg/kg/용량인 것으로 측정되었다.

[0319]

[0320]

IX. 관련된 참조 문헌

[0321]

본 출원에서 인용된 모든 공보 및 특허 서류들은, 각각의 개별 공보 또는 특허 서류가 개별적으로 주목되었던 바와 동일한 정도로 모든 목적에 대해 적절한 부분에서 참조로 인용되어 있다. 당해 서류에서 각종 참조문헌의 이들의 인용에 의해, 출원인은, 어떠한 특정 참조 문헌도 이들의 기재내용에 대해 "선행 분야"인 것으로 인정하지 않는다. 본 기재내용이 이의 상세한 설명과 관련하여 기술되어 있다고 해도, 앞서의 설명이 설명하기 위한 것이며 첨부된 특허청구범위의 영역에 의해 정의된, 본 기재내용의 영역을 한정하는 것은 아님을 이해하여야 한다. 다른 양상, 이점, 및 변형은 다음의 특허청구범위 및 이들의 등가물의 범위 내에 있다.

[0322]

모든 도면들은 설명을 위해 제공되며, 한정하는 것은 아니다. 구체적인 실시예가 제공되었지만, 설명은 설명하기 위한 것이며 제한되지 않는다. 앞서 기술된 실시형태들 중의 특징의 어느 하나 이상은, 본 기재내용에서 어떠한 다른 실시형태의 하나 이상의 특징과 어떠한 방식으로도 조합되지 않을 수 있다. 또한, 본 기재내용의 많은 변형이 본 기재내용의 고찰시 당해 분야의 숙련가에게 익숙해질 것이다.

[0323]

등가물

[0324]

당해 분야의 숙련가들은 더 이상의 통상의 실험 없이도, 본원에 기술된 본 발명의 구체적인 실시형태에 대한 많은 등가물들을 인식하거나 추정할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 다음 특허청구범위에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1



좌측으로부터 우측으로 묘사되는 순서로
R, A, O 및 C 형태인 동결건조

도면2



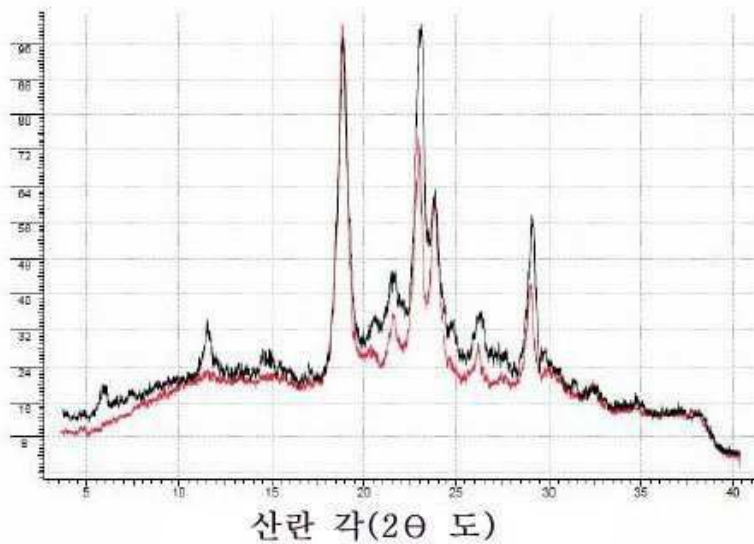
좌측으로부터 우측으로 묘사되는 순서로
G, Q, S 및 T 형태인 동결건조

도면3



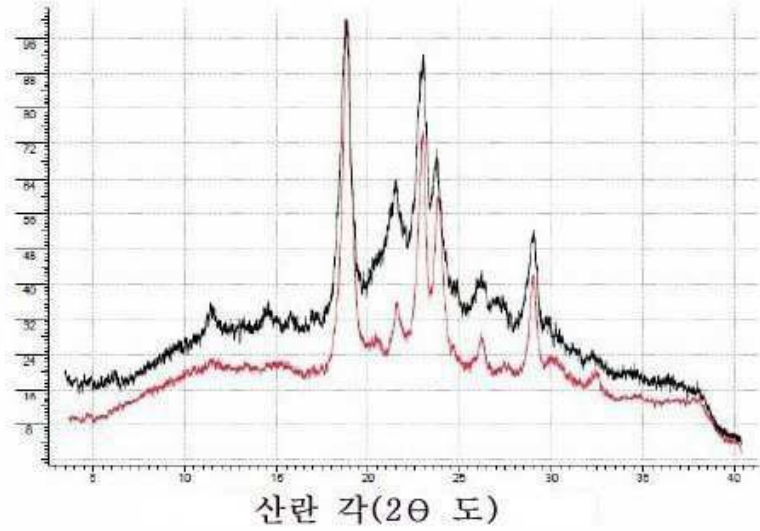
좌측으로부터 우측으로 묘사되는 순서로
U 및 V 형태인 동결건조

도면4



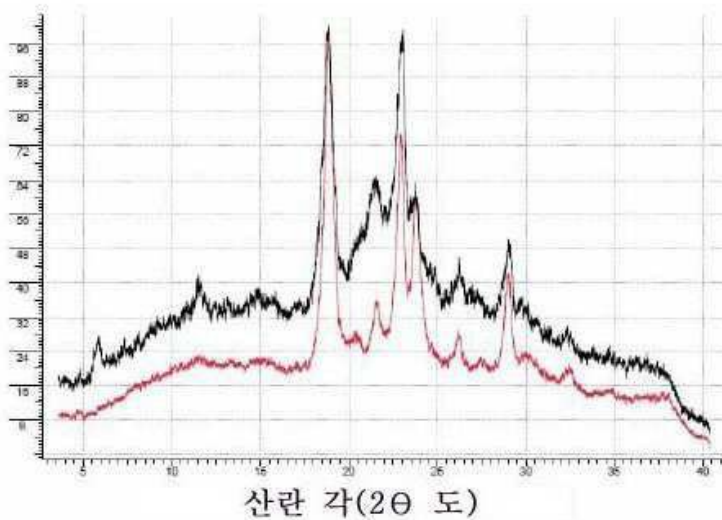
"A 형태 40 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색)
및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은
가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면5



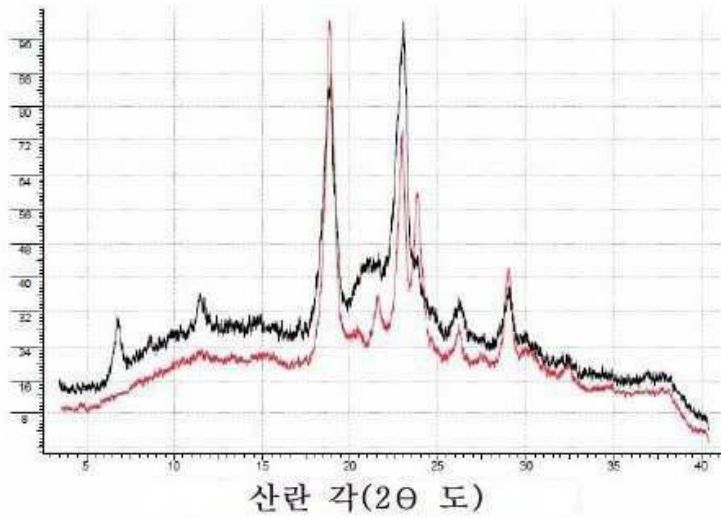
"C 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면6



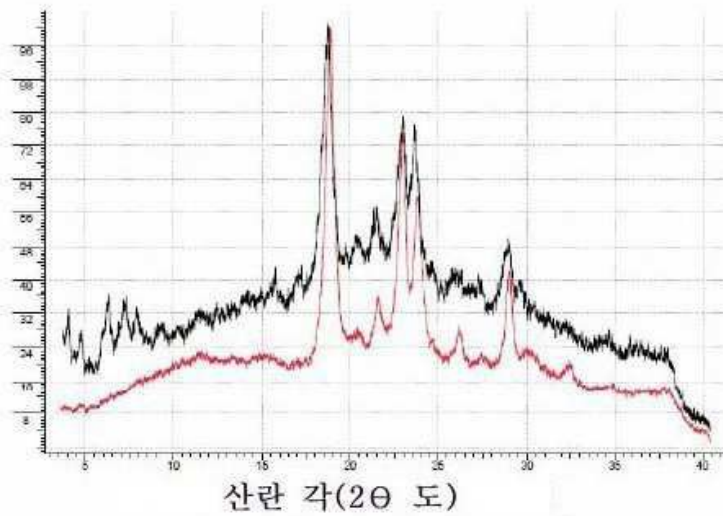
"G 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면7



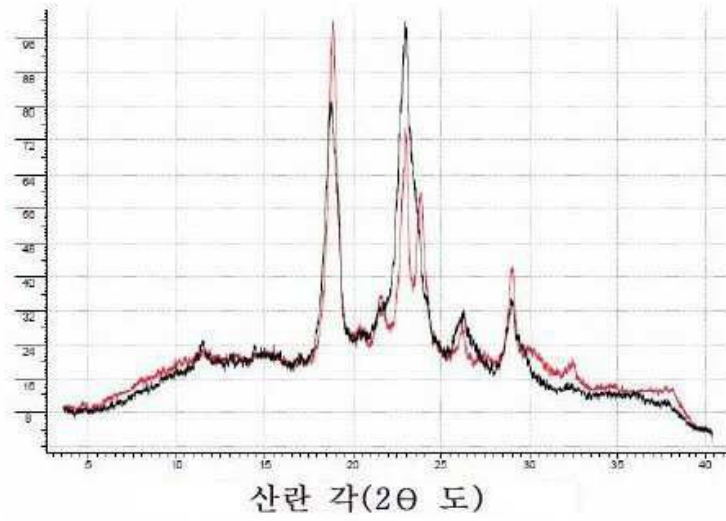
"O 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면8



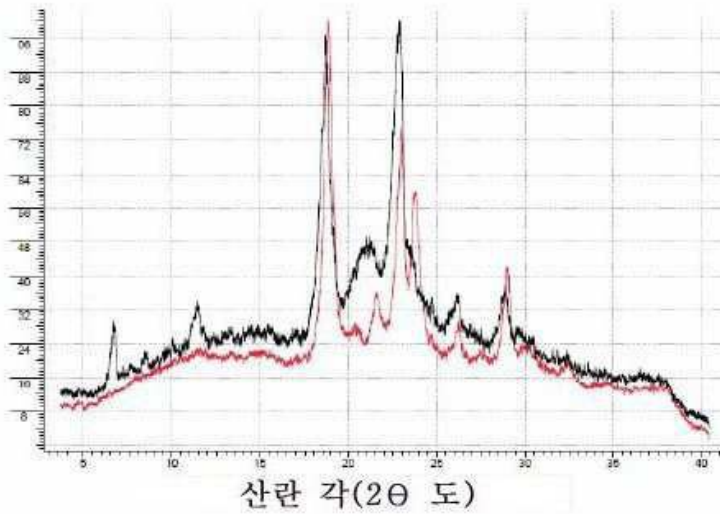
"Q 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면9



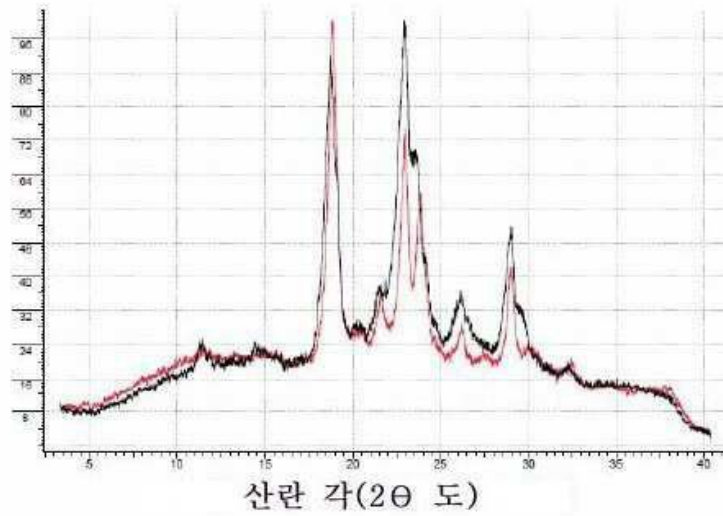
"R 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면10



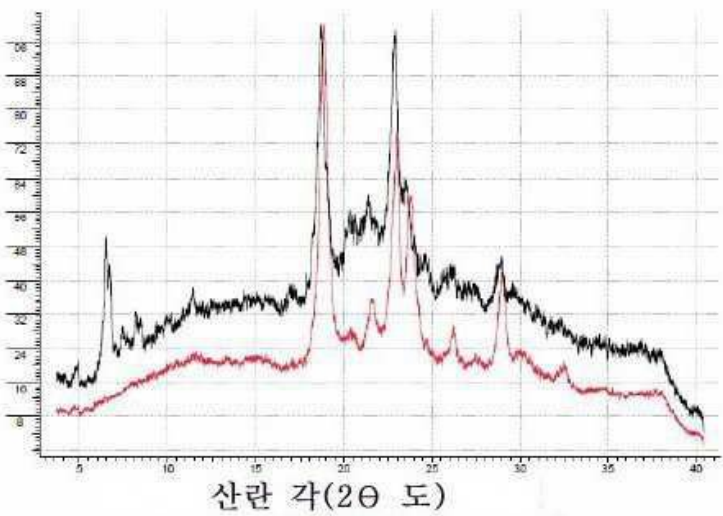
"S 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면11



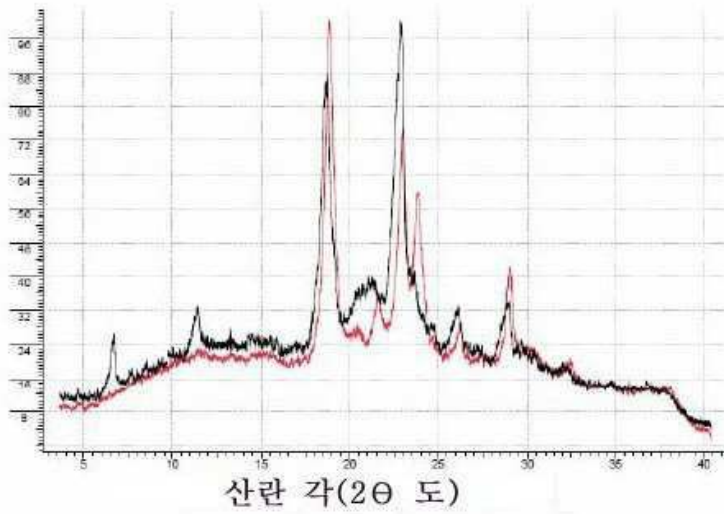
"T 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면12



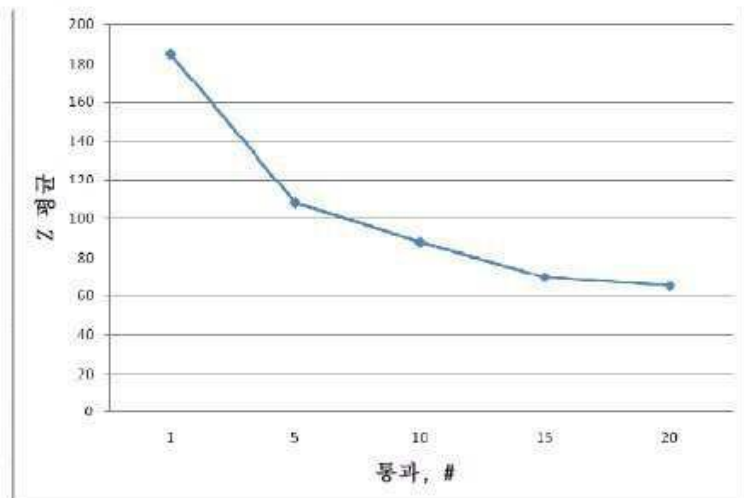
"U 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면13



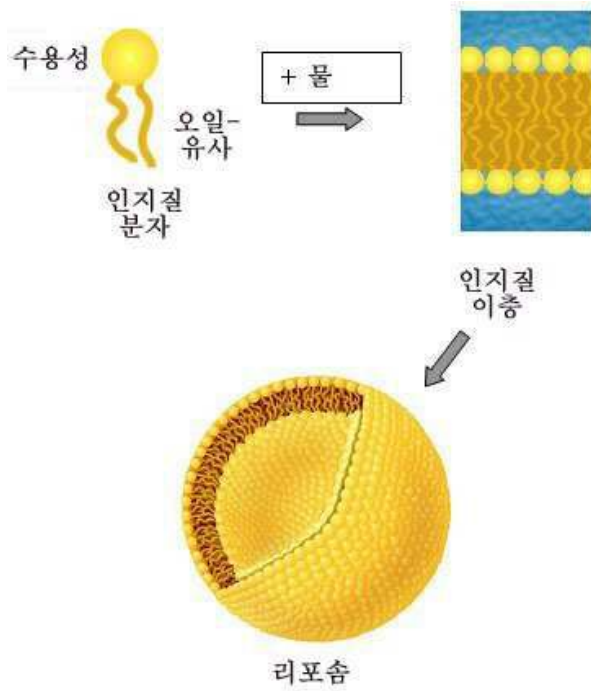
"V 형태 20 통과" 동결건조 시료에 대해 취득된 XRPD 패턴(흑색) 및 CoQ10 벌크 약물 물질의 XRPD 패턴(적색). 당해 패턴은 가장 강한 피크의 강도가 100%와 동일하도록 정규화되었다.

도면14

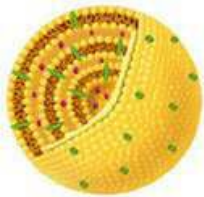


입자 크기에 대한 통과 수의 효과
 5g의 Cytotech 31510, 3g의 DMPC, 및 92ml의 물,
 MFz 모델 - M-110P. 프로세싱 챔버 - F12Y,
 최대 압력 - 25,000 PSI

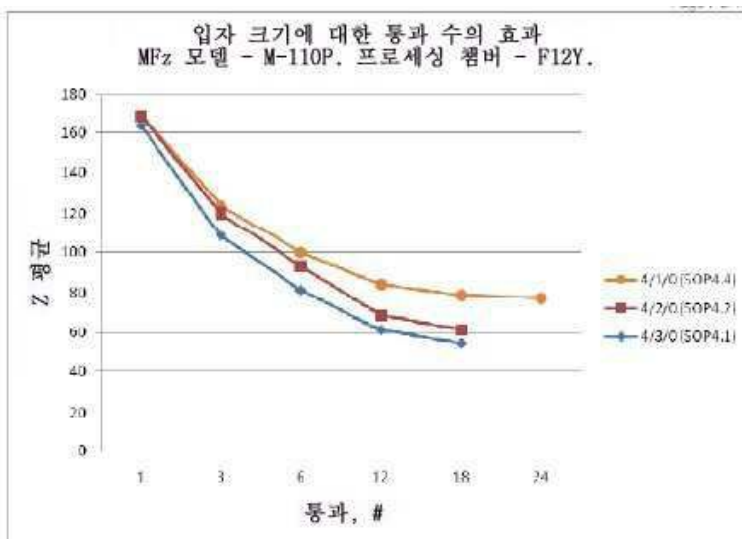
도면15



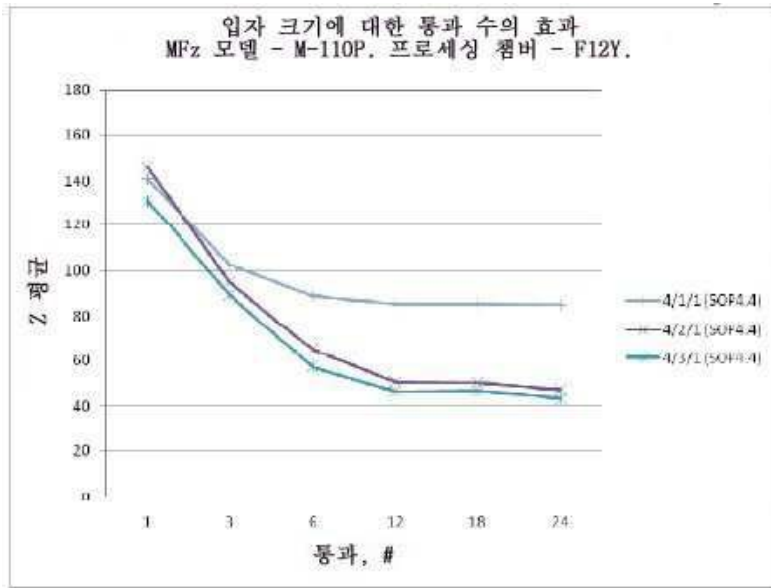
도면16



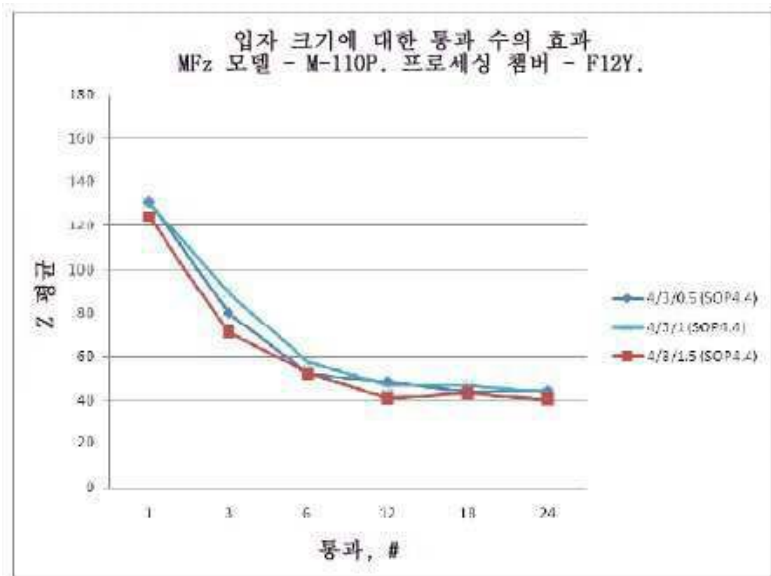
도면17



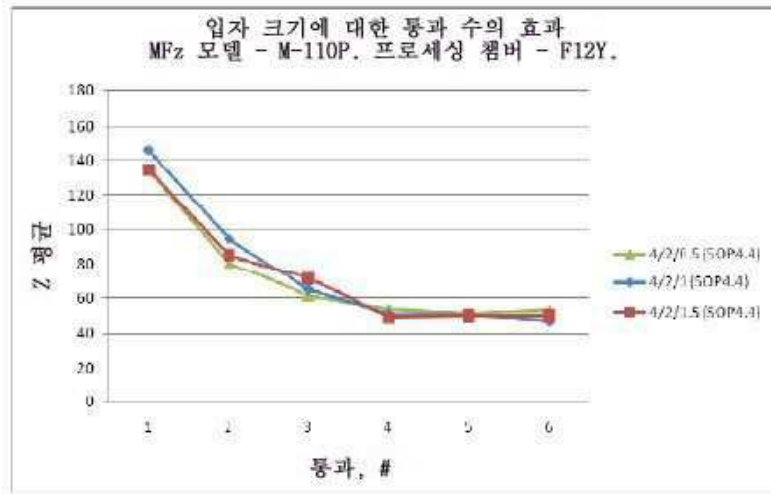
도면18



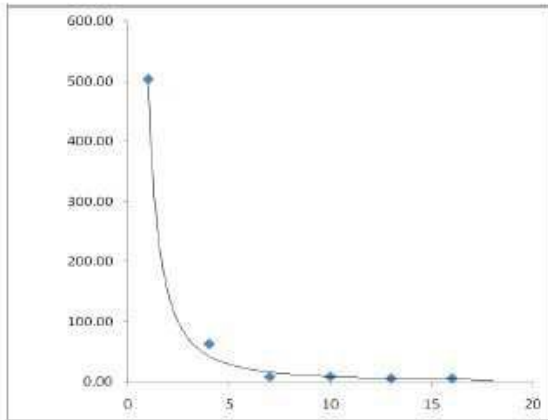
도면19



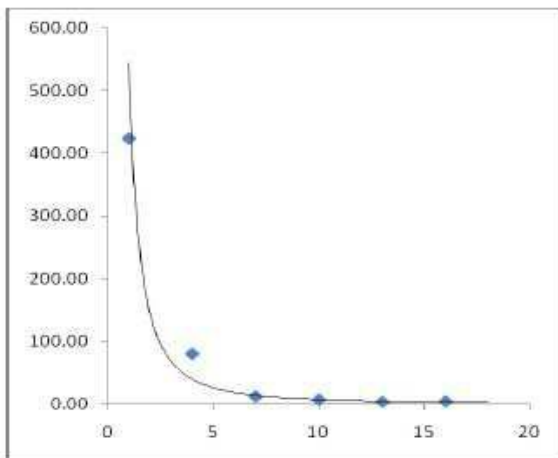
도면20



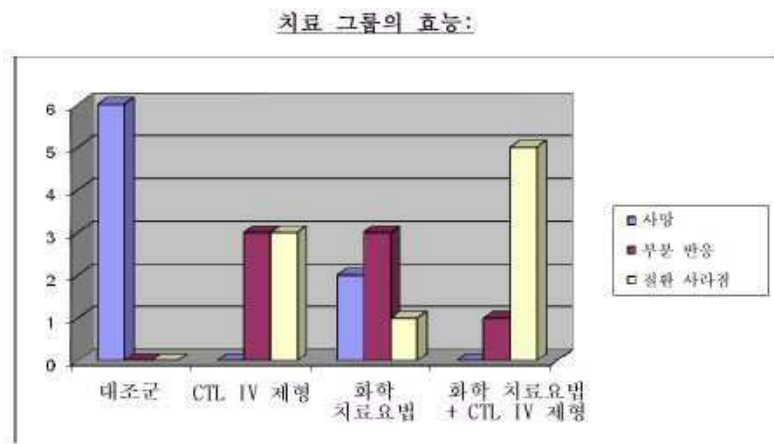
도면21



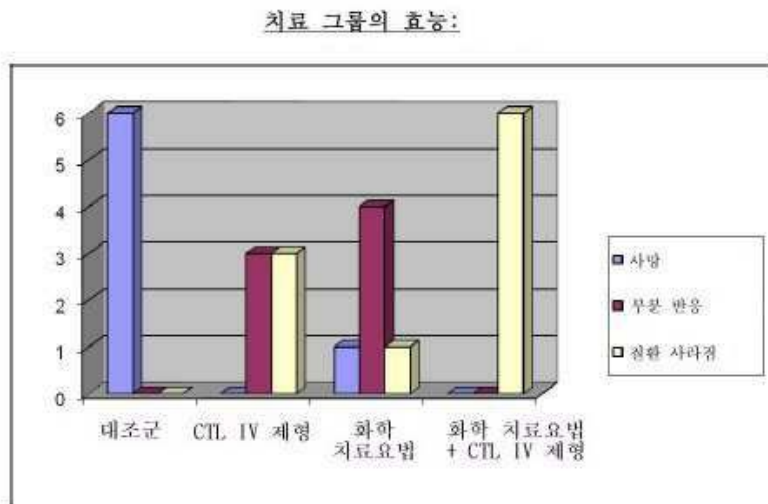
도면22



도면23



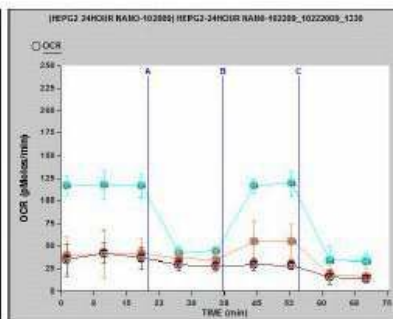
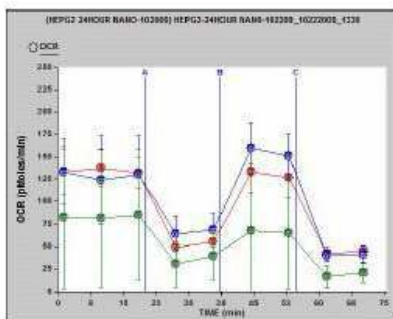
도면24



도면25

폴록사머 포함하지 않음

폴록사머 포함

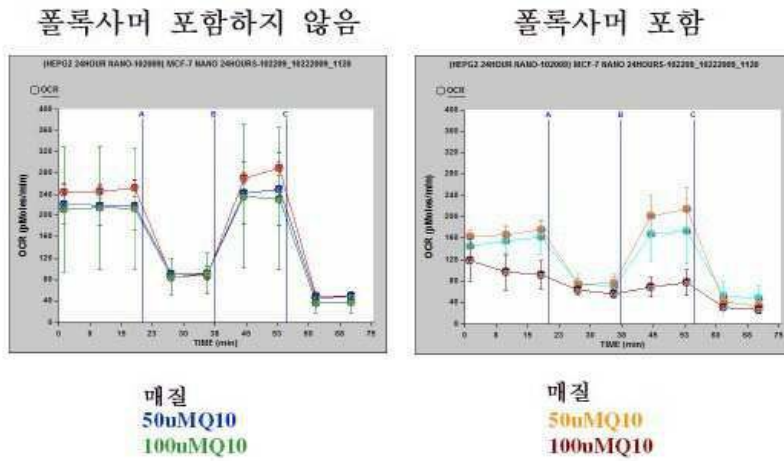


매질
50uMQ10
100uMQ10

매질
50uMQ10
100uMQ10

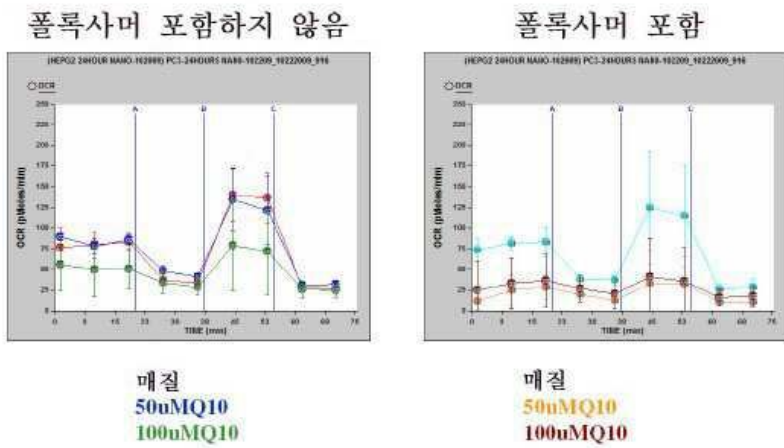
HepG2 세포의 OCR에 대한 IV 제형의 효과

도면26



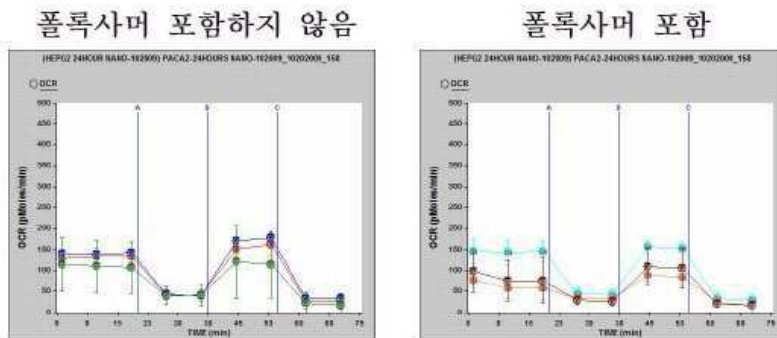
MCF-7 세포의 OCR에 대한 IV 제형의 효과

도면27



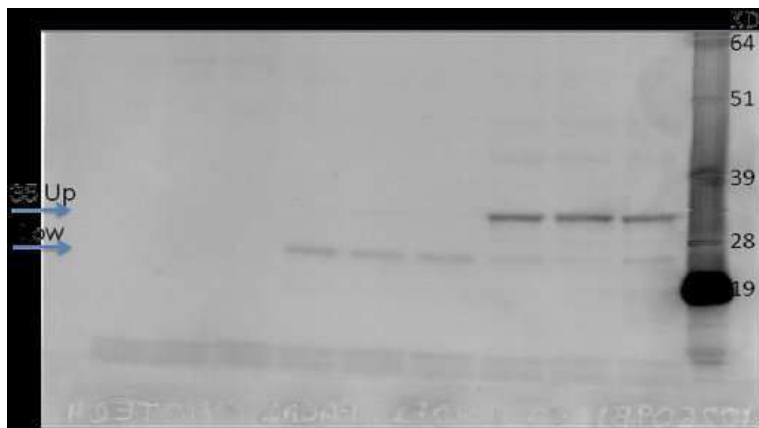
PC-3 세포의 OCR에 대한 IV 제형의 효과

도면28

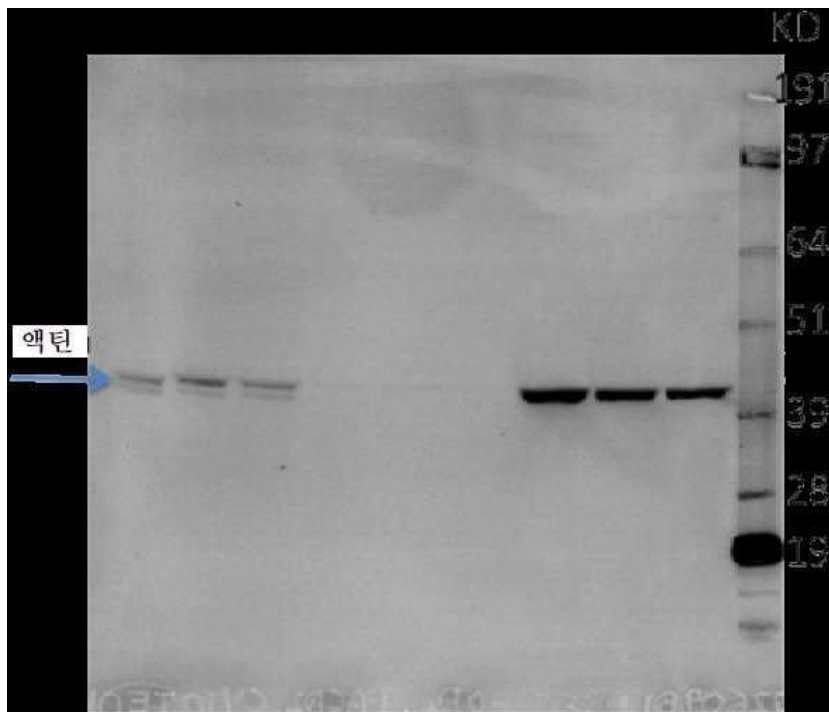


PaCa2 세포의 OCR에 대한 IV 제형의 효과

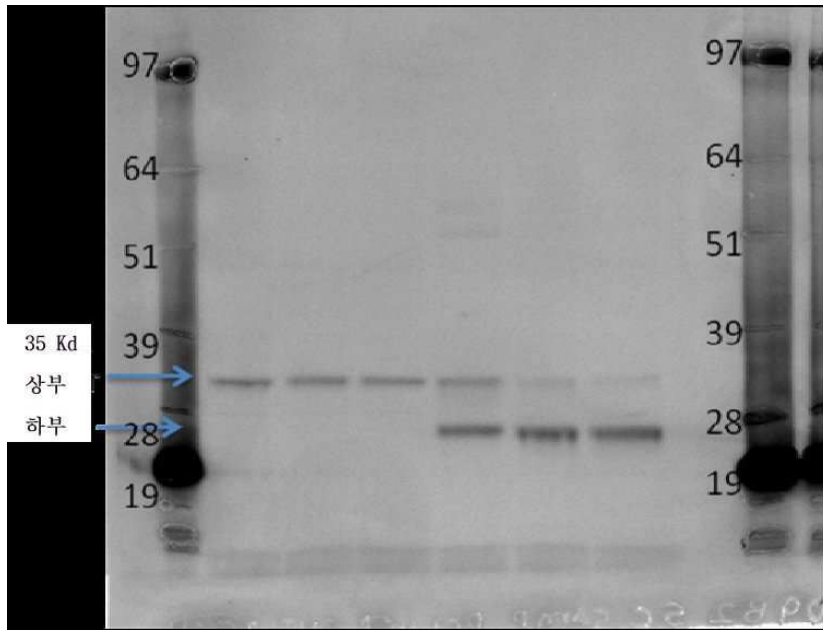
도면29



도면30



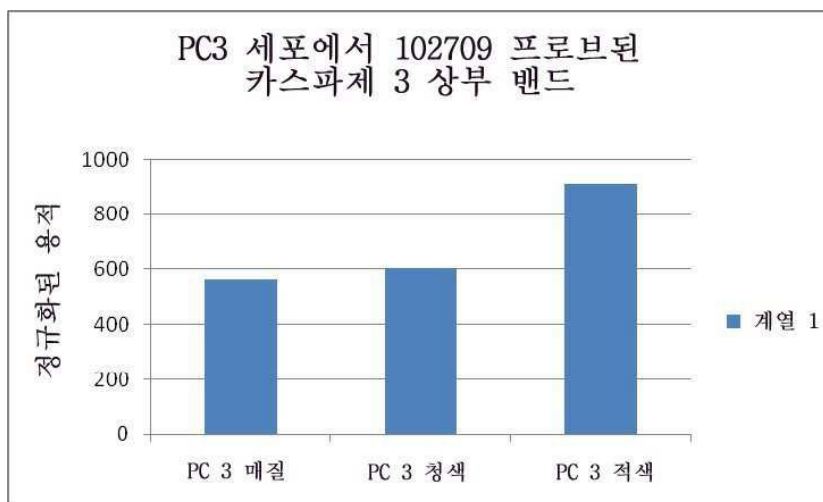
도면31



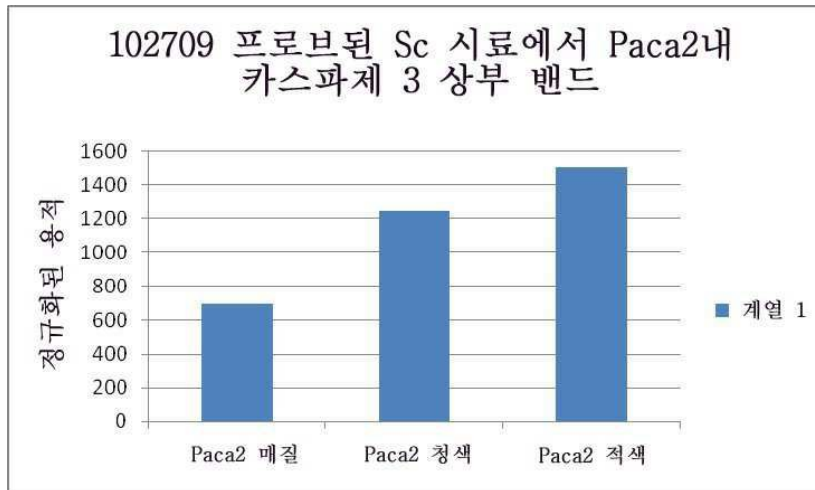
도면32



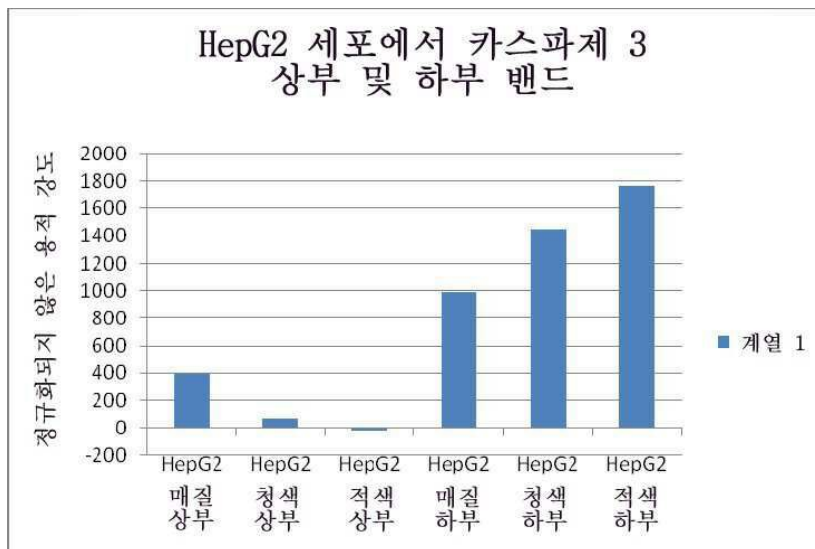
도면33



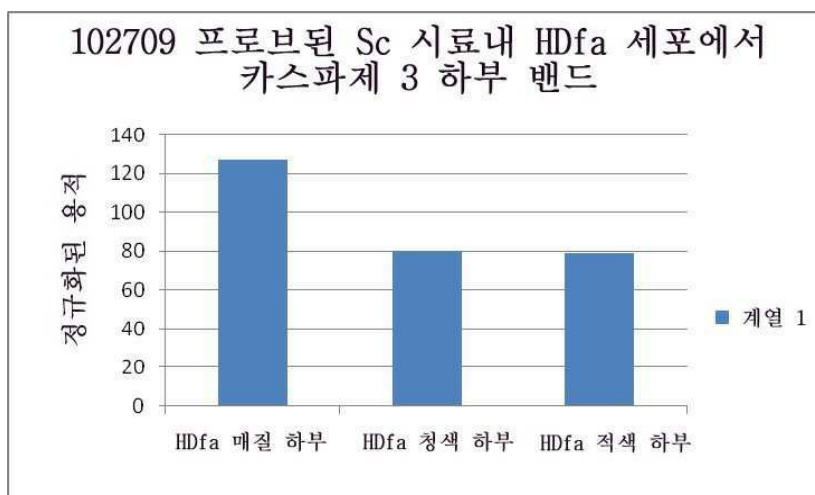
도면34



도면35

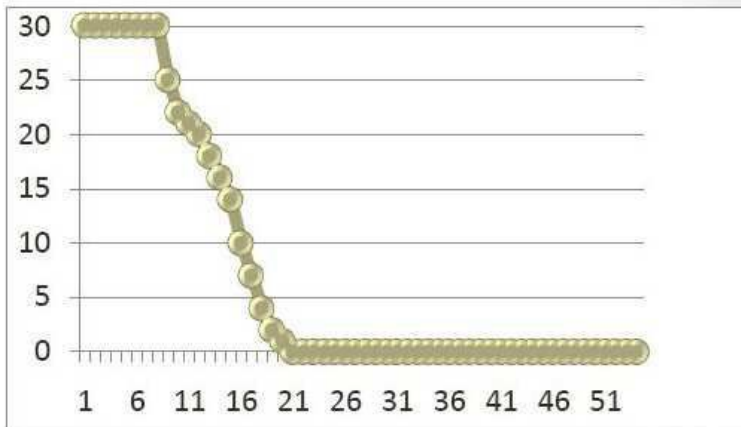


도면36



도면37

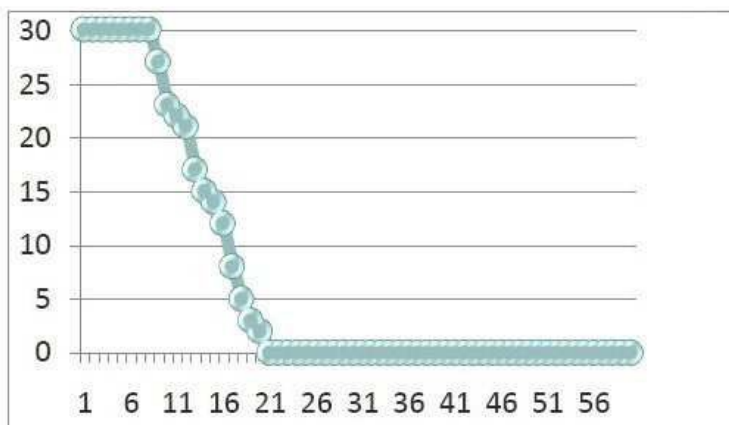
그룹 1: 염수 대조군



나타낸 바와 같이, 모든 동물은 대략 21일째에 사망하였다.

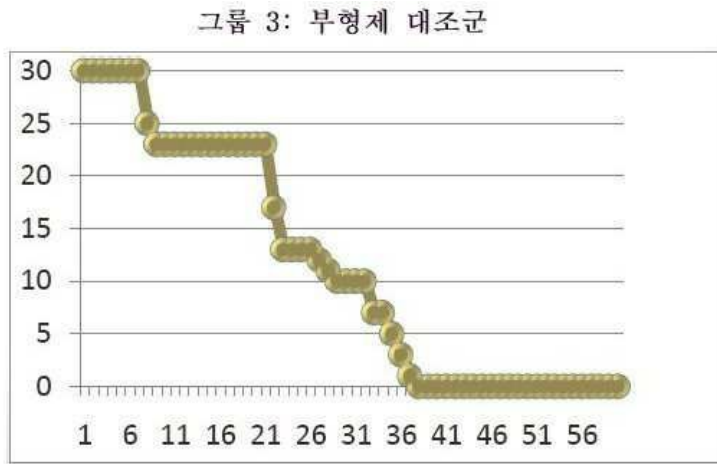
도면38

그룹 2: 염수 대조군



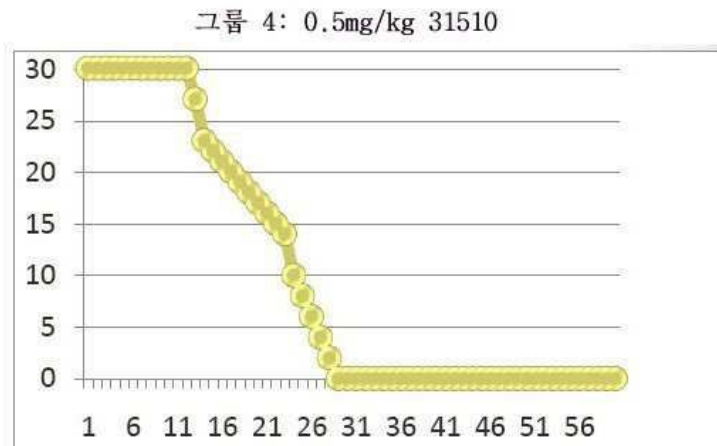
나타낸 바와 같이, 염수가 제공된 그룹에서 동일한 결과가 관찰되었으며 생존률에 있어 변화는 없다.

도면39



부형제 그룹에 의해 생명이 대략 15일 더 연장되었다. 이는 치료학적 효과 등을 나타내는 것이 아니라, 생명이 연장된 사람에서 관찰된 것과 유사한 일시적인 효과를 나타낸다.

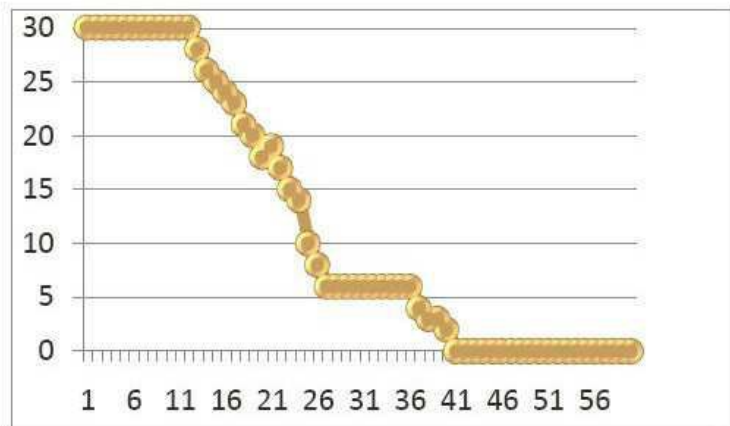
도면40



0.5mg/kg 31510에서, 10일의 생존일의 증가가 있었다.

도면41

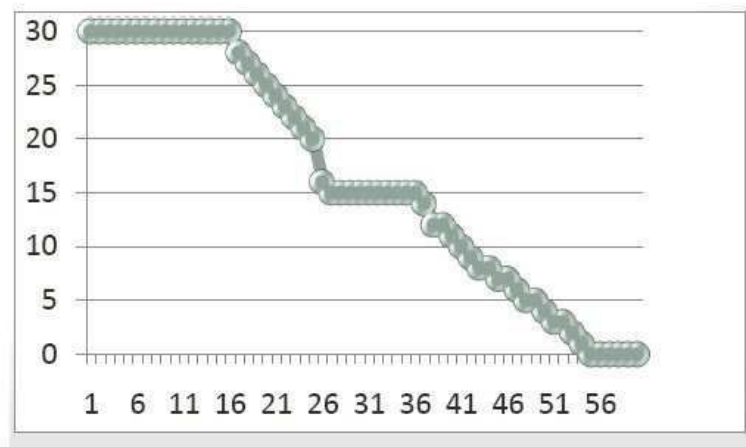
그룹 5: 5mg/kg



당해 그룹에서 통계적으로 유의적인 생명의 연장 또는 대략 20일의 생명 연장이 있었다. 동물은 보다 우수한 건강상태로 밝혀졌고, 빈사의 신호는 거의 없었다.

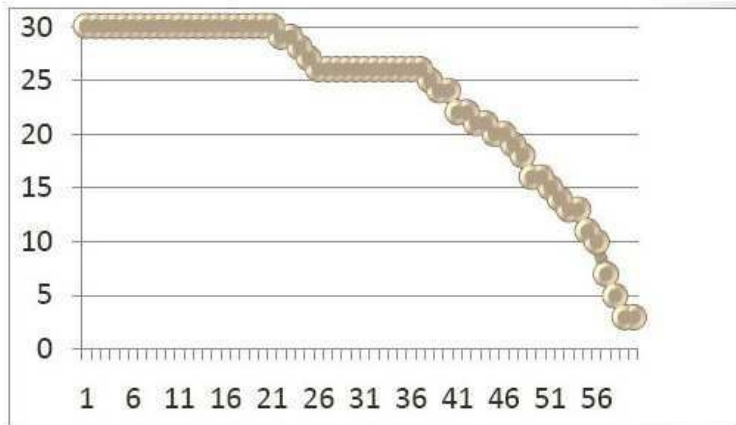
도면42

그룹 6: 10mg/kg



도면43

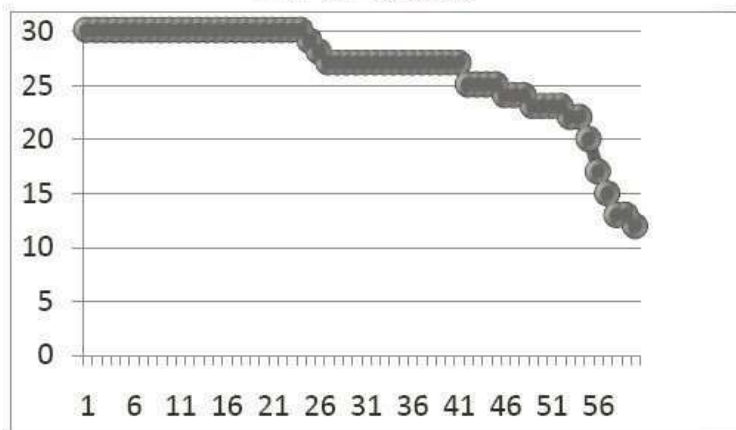
그룹 7: 25mg/kg



당해 용량을 사용한 결과는 실제로 인상적이다. 생존은 유의적으로 증가되었다. 3마리의 생존한 동물을 60일째에 희생시켰으며, 각각은 작은 중양을 가졌다.

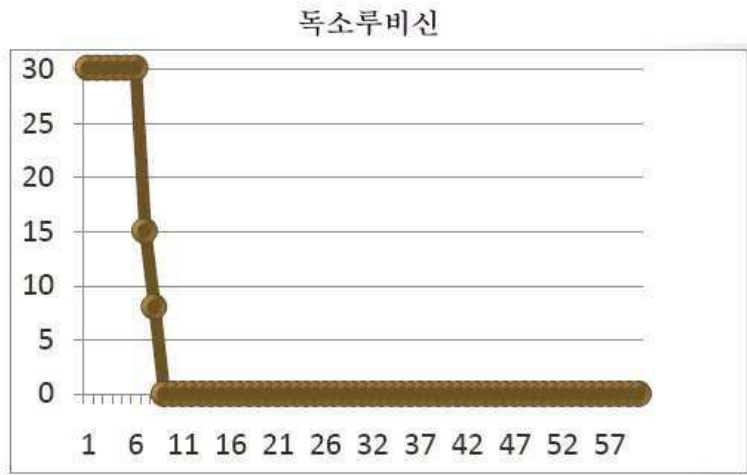
도면44

그룹 8: 50mg/kg

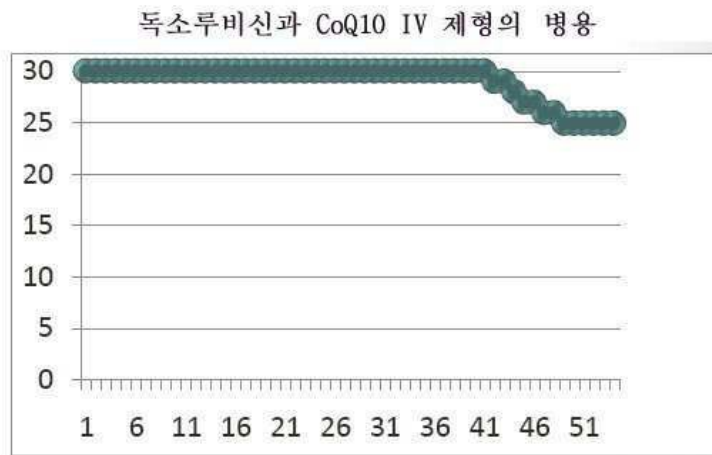


지금까지, 이는 가장 놀라운 발견이다. 31일째 사망은 최소였고, 생명의 연장은 통계적으로 유의적이었다. 또한, 당해 투여량에서 60일째에 생존율은 유의적으로 증가하였으며, 동물의 대략 60%가 생존하였고 단지 4마리 동물들이 가시적인 중양을 나타내었다.

도면45



도면46



도면47

