



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월20일
(11) 등록번호 10-2708208
(24) 등록일자 2024년09월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2006.01) A61K 31/519 (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/1271 (2013.01)
A61K 31/519 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7033296(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년08월12일
심사청구일자 2023년09월26일
- (85) 번역문제출일자 2023년09월26일
- (65) 공개번호 10-2023-0145501
- (43) 공개일자 2023년10월17일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7006810
원출원일자(국제) 2017년08월12일
심사청구일자 2020년08월11일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/046667
- (87) 국제공개번호 WO 2018/031980
국제공개일자 2018년02월15일
- (30) 우선권주장
62/374,458 2016년08월12일 미국(US)
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌
국제공개공보 W02016/025882 A2*
Chuan Shih, et al., LY231514, a pyrrolo[2,3-d]pyrimidine-based antifolate that inhibits multiple folate-requiring enzymes, Cancer Research, 1997, 57, 1116-1123.*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
엘.이.에이.에프. 홀딩스 그룹 엘엘씨.
미국 19428 펜실베니아주 걸프 밀스 오버룩 레인 326
- (72) 발명자
나이키자 클렛
미국 펜실베니아주 19428 걸프 밀스 326 오버룩 레인
모요 빅터 만들라
미국 뉴저지주 08551 링고즈 2 내셔널 드라이브
- (74) 대리인
특허법인아주김장리

전체 청구항 수 : 총 21 항

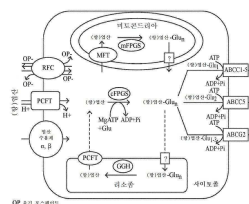
심사관 : 나영국

(54) 발명의 명칭 폴리글루타메이트화 항엽산 및 이의 용도

(57) 요약

본 개시내용은 일반적으로 폴리글루타메이트화 항엽산, 폴리글루타메이트화 항엽산으로 충전된 리포솜을 함유하는 제제, 폴리글루타메이트화 항엽산 및 리포솜 함유 제제를 제조하는 방법, 및 과증식성 장애(예를 들어, 암) 및 면역계의 장애(예를 들어, 자가면역 질환, 예컨대 류마티스성 관절염)를 치료하기 위해 폴리글루타메이트화 항엽산 및 리포솜 함유 제제를 사용하는 방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/645 (2017.08)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

(30) 우선권주장

15/675,695 2017년08월11일 미국(US)

15/675,701 2017년08월11일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

감마 카복실기에 의해 연결된 4-6개의 L-글루타메이트를 갖는 폴리글루타메이트화 항염산제를 캡슐화하는 리포솜을 포함하는 리포솜 조성물로서, 상기 리포솜은 폐길화되어 있고, 관심 표적 세포의 표면 항원에 대해 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 포함하며, 상기 폴리글루타메이트화 항염산제는 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 4-[2-(2-아미노-4-옥소-4,6,7,8-테트라히드로-3H-피리미디노[5,4,6][1,4]티아진-6-일)-(S)-에틸]-2,5-티에노일아미노-L-글루탐산(AG2034), 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 프탈라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 (S)-2[5-[[[(1,2-디히드로-3-메틸-1-옥소벤조[f]퀴나졸린-9-일)메틸]아미노-1-옥소-2-이소인돌린]글루타르산(GW1843), 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 6R-2',5'-티에닐-5,10-디데아자테트라히드로엽산(LY309887)로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원인, 리포솜 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 폴리글루타메이트화 항염산제는 펜타글루타메이트화 엽산제인, 리포솜 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 폴리글루타메이트화 항염산제는 폴리글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 또는 LTX인, 리포솜 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 폴리글루타메이트화 항염산제는 헥사글루타메이트화 항염산제를 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 폴리글루타메이트화 항염산제는 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 또는 LTX를 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 폴리글루타메이트화 항염산제는 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 PMX를 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 리포솜은 20nm 내지 200nm 또는 80nm 내지 120nm의 직경을 갖는, 리포솜 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 리포솜은,

디스테아로일-포스파티디딜-에탄올아민(DSPE), DSPE-PEG-말레이미드, 수소화 대두 포스파티딜콜린(HSPC), HSPC-PEG, 콜레스테롤, 콜레스테롤-PEG 및 콜레스테롤-말레이미드로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 1종;

DSPE, DSPE-PEG-FITC, DSPE-PEG-말레이미드, 콜레스테롤 및 HSPC로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종; 또는

폴리에틸렌 글라이콜(PEG); 폴리-L-라이신(PLL); 모노시알로강글리오사이드(GM1); 폴리(비닐 피롤리돈)(PVP); 폴리(아크릴아마이드)(PAA); 폴리(2-메틸-2-옥사졸린); 폴리(2-에틸-2-옥사졸린); 포스파티딜 폴리글라이세롤; 폴리[N-(2-하이드록시프로필) 메타크릴아마이드]; 양친매성 폴리-N-비닐피롤리돈; 및 폴리비닐 알코올로 이루어

진 균으로부터 선택된 입체 안정화제를 포함하는 리포솜 성분으로 형성되는, 리포솜 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 리포솜은 양이온성, 음이온성 또는 중성인, 리포솜 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 리포솜은 0 이하; 0 내지 -150mV; 또는 -30 내지 -50mV인 제타 전위를 갖는, 리포솜 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 리포솜은 내부 공간을 갖고, 상기 내부 공간은 상기 폴리글루타메이트와 항염산제 및 수성 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 상기 수성 약제학적으로 허용 가능한 담체는 트레할로스이고, 상기 약제학적으로 허용 가능한 담체는 5중량% 내지 20중량%의 트레할로스를 포함하거나, 5 내지 200mM의 농도 및 2.8 내지 6의 pH의 시트레이트 완충제를 포함하거나, 50mM 내지 500mM의 아세트산나트륨 및 아세트산칼슘의 전체 농도를 포함하거나, 또는 5 내지 8의 pH에 있는, 리포솜 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 리포솜은 상기 폴리글루타메이트와 항염산제의 200,000개 미만 또는 10,000개 내지 100,000개의 분자를 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 상기 표적화 모이어티는 폴리펩티드, 항체, 인간화 항체, 항체의 항원 결합 단편, 단일 사슬 항체, 단일 도메인 항체, 이중특이적 항체, 합성 항체, 폐길화 항체 및 다량체 항체로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 상기 리포솜이 30 내지 200개의 표적화 모이어티를 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서,
하나 이상의 플루오레세인 아이소티오시아아네이트(FITC); 또는
플루오레세인, 베타 글루칸, 베타-1,3-글루칸 및 베타-1,6-글루칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나를 추가로 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 만니톨; 트레할로스; 소르비톨; 및 수크로스로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 저온 보호제를 더 포함하는, 리포솜 조성물.

청구항 18

암 또는 자가면역 질환의 치료를 위한, 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 리포솜 조성물을 포함하는 약제학적 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 폐암, 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암,

자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 암의 치료를 위한, 약제학적 조성물.

청구항 20

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 따른 리포솜 조성물을 제조하는 방법으로서,

용액 중에 리포솜 성분 및 폴리글루타메이트화 항염산제를 포함하는 혼합물을 형성하는 단계; 상기 혼합물을 균질화시켜서 상기 용액 중에 리포솜을 형성하는 단계; 및 상기 혼합물을 가공(processing)하여 폴리글루타메이트화 항염산제를 함유하는 리포솜을 형성하는 가공 단계를 포함하되,

선택적으로, 상기 가공 단계는 박막 수화, 압출, 인라인 혼합 및 교반 중 하나 이상의 단계를 포함하거나, 또는 상기 가공 단계는 압출 단계 및/또는 음과처리 단계 중 하나 이상에 의해 상기 리포솜의 크기를 변형시키는 하나 이상의 단계를 포함하는, 방법.

청구항 21

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 따른 리포솜 조성물을 제조하는 방법으로서,

용액 중에 리포솜 성분 및 폴리글루타메이트화 세포독성 약물을 포함하는 혼합물을 형성하는 단계; 상기 혼합물을 균질화시켜 상기 용액 중에 리포솜을 형성하는 단계; 상기 혼합물을 가공하여 폴리글루타메이트화 항염산제를 포획 및/또는 캡슐화하는 리포솜을 형성하는 가공 단계를 포함하되,

선택적으로, 상기 가공 단계는 박막 수화, 압출, 인라인 혼합 및 교반 중 하나 이상의 단계를 포함하거나, 또는 상기 가공 단계는 압출 단계 및/또는 음과처리 단계 중 하나 이상에 의해 상기 리포솜의 크기를 변형시키는 하나 이상의 단계를 포함하는, 방법.

청구항 22

삭제

발명의 설명

기술 분야

관련 사례

[0001]

[0002]

본 출원은 35 U.S.C. § 119 하에 미국 특허상표청에 2016년 8월 12일자로 출원된 미국 가특허 출원 제 62/374,458호(이의 전체내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)에 기초하고, 이에 대한 우선권을 주장한다. 본 출원은 또한 2017년 8월 11일자로 출원된 미국 출원 제15/675,695호 및 2017년 8월 11일자로 출원된 미국 출원 제 15/675,701호에 대한 우선권을 주장한다. 각각의 미국 출원의 내용은 본 명세서에 그 전문이 포함된다. 본 명세서에 언급된 모든 참고문헌, 특허 및 특허 출원은 본 명세서에 그 전문이 참고로 포함된다.

배경 기술

[0003]

본 개시내용은 일반적으로 전달 비히클, 예컨대 폴리글루타메이트화 항염산에 의해 충전된 표적화된 및 비표적화된 리포솜을 포함하는 L-감마 폴리글루타메이트화 항염산 조성물, 및 과증식성 질환, 예컨대 암, 면역계의 장애, 예컨대 류마티스성 관절염 및 감염성 질환, 예컨대 HIV와 같은 질환을 치료하기 위해 조성물을 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0004]

엽산은 세포 성장 및 조직 재생을 위해 필수적이다. 포유류 세포는 엽산을 신생 합성하지 않고, 환원된 엽산 캐리어(reduced folate carrier: RFC) 시스템; 엽산 수용체(folate receptor: FR) α 및 β의 시스템; 및 엽산 동시수송체(folate symporter: PCFT) 시스템의 3개의 주요 엽산 흡수 시스템에 의해 흡수된 세포의 엽산에 의존한다. 엽산 의존적 생합성 경로를 표적화하는 항염산은 항증식제로서 작용한다. 천연 발생 엽산은 효소 폴릴폴리글루타릴 생성효소(FPGS)의 작용을 통해 폴리글루타메이트로서 세포 내에 존재하고, 이것은 엽산 기질에 대한 감마 펩타이드 연결에서 6개 이하의 글루타미기를 첨가할 수 있다. 폴리글루타메이트화는 적어도 3개의 주요 목적을 제공한다: (1) 이것은 매우 과량의 모노글루타메이트 풀에서 세포내 엽산의 축적을 촉진하고, 이는 세포의 내 및 외로 자유로이 수송 가능하고; (2) 이것은 이 비교적 큰 음이온성 분자의 선택적인 세포내 보유를 허용하고; (3) 이것은 타이미딜레이트 합성효소 및 AICAR 풀일전환효소를 포함하는 몇몇 엽산 의존적 효소에 대한 엽

산 보인자 친화도를 크게 증대시킨다(예를 들어, 도 2 참조).

[0005] 항염산은 처음에 "염산 모방 분자" 세포독성제로서 70년도 이전에 개발된 항증식제의 종류이다. 이유는 빠르게 복제하는 세포, 예컨대 암 세포에서 염산의 작용에 대응하여서, 세포 분열 동안 DNA 복제에 대한 이의 촉진하는 세포내 작용 방식 및 생리학적 염산 수송 기전의 이점을 취하여, 분자의 종류를 설계하는 것이다. 구체적으로, 항염산은 이의 전신 수송, (예를 들어, 환원된 염산 캐리어(RFC) 및 양성자 커플링된 염산 수송체(PCFT)를 통한) 생리학적 세포 흡수 및 세포내 가공(intracellular processing)에서 염산을 모방하도록 설계된다. 항염산은 구체적으로 DNA 및 RNA 합성 동안 작용하여서, 세포 주기의 S상 동안 세포독성 효과를 발휘한다. 그 결과, 이것은 신속히 분열하는 세포, 예컨대 악성 및 골수성 세포에 더 큰 독성 효과를 갖는다.

[0006] 항염산은 염산 대사의 이의 저해에 대해 널리 인식된다. 주요 항염산 효소 표적 및 이들 효소를 표적화하는 예시적인 항염산은 (a) 다이하이드로염산 환원효소(DHFR)[예를 들어, 메토티렉세이트(MTX) 및 프랄라트렉세이트], (b) 타이미딜레이트 합성효소(TS)[예를 들어, 알티트렉세드(RTX), GW1843U 및 페메트렉세드(PMX)], (c) β-글라이신아מיד 리보뉴클레오타이드 폼일 전환효소(GARFTase)[예를 들어, 로메트렉솔(LMX), PMX] 및 (d) 5-아미노이미다졸-4-카복사마이드 리보뉴클레오타이드 폼일 전환효소(AICARFTase)[예를 들어, PMX]를 포함한다. 상기 효소의 저해는 신생 뉴클레오타이드 생합성을 억제하여서, 퓨린 및 피리미딘 전구체의 불균형을 발생시키고, 세포가 정확한 DNA 복제를 겪지 못하게 하여서, 궁극적으로 세포사를 발생시킨다. 따라서, 염산 대사 경로의 저해제가 과증식성 질환, 예를 들어 혈액학적 악성종양 및 고형 종양, 및 면역계의 장애, 예컨대 류마티스성 관절염을 치료하는 데 중요한 역할을 한다는 것이 놀랍지 않다.

[0007] 각각의 상기 항염산은 생리학적 pH에서 주요 수송 시스템인 환원된 염산 캐리어(RFC)에 의해 수송된다. RFC는 정상 및 이환된 세포에서 편재하여 발현되고, 결과적으로 이들 약물은 암의 화학요법에서의 주요 장애인 용량 제한 독성을 겪는다.

[0008] 페메트렉세드(브랜드명 ALIMTA(등록상표) 하에 상업적으로 판매됨)는 타이미딘 및 퓨린 뉴클레오타이드의 합성에 관여된 염산 의존적 효소인 타이미딜레이트 합성효소(TS), 글라이신아מיד 리보뉴클레오타이드 폼일전환효소(GARFT) 및 다이하이드로염산 환원효소(DHFR)를 저해하는 6개 또는 5개의 융합된 피롤로[2,3,-d]피리미딘 핵을 함유하는 항염산이다. 메토티렉세이트와 같이, 페메트렉세드는 RFC 및 막 염산 결합 단백질에 의해 세포로 수송되고, 여기서 이것은 폴릴폴리-감마-글루타메이트 생성효소에 의해 폴리글루타메이트화된다. 페메트렉세드의 폴리글루타메이트화 형태는 페메트렉세드 모노글루타메이트와 비교하여 더 높은 세포내 보유를 갖고 TS 및 GARFT에 대해 더 높은 친화도를 갖는다. 페메트렉세드는 중피종 및 비소세포 폐 암종(non-small lung carcinoma: NSCLC)의 치료에 허가된다. 골수억제는 통상적으로 페메트렉세드 치료에 의해 용량 제한 독성이고, 이 약물의 임상 적용을 제한하였다. 염산 및 비타민 B에 의한 전치료는 골수 억제, 피로 및 피부 발진을 포함하는 가장 흔한 부작용을 완화하도록 이제 사용된다.

[0009] 암 치료의 도전 과제 중 하나는 정상의 건강한 세포에서 이러한 물질의 효과를 최소화 및/또는 감소시키면서 암 세포에 세포독성제를 전달하는 것이다. 정상 세포에서의 항염산의 독성을 해결하기 위해, WO 제2016/25882호는 예를 들어 많은 암 세포에 의해 발현된 염산 수용체에 대한 특이적 친화도를 갖는 항체를 사용하여 암 세포에 표적화된 항염산의 리포솜 제제를 기재한다. 이 제제는 건강한 세포에서의 항염산의 효과를 감소 및/또는 최소화할 수 있고, 이것은 환자가 더 적은 부작용을 경험할 수 있다는 것을 의미한다.

[0010] 항염산을 사용한 암 및 다른 과증식성 장애의 치료에서의 진보에도 불구하고, 부가적인 조성물 및 방법은 효율을 개선하고 항염산 치료와 연관된 용량 제한 독성을 감소시키는 데 필요하다. 본 개시내용은 이 수요를 해결하는 조성물 및 방법을 제공한다.

발명의 내용

[0011] 본 개시내용은 일반적으로 전달 비히클, 예컨대 폴리글루타메이트화 항염산에 의해 충전된 리포솜을 포함하는 폴리글루타메이트화 항염산 조성물, 및 과증식성 질환, 예컨대 암, 면역계의 장애, 예컨대 류마티스성 관절염 및 감염성 질환, 예컨대 HIV와 같은 질환을 치료하기 위해 조성물을 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용은 추가로 펜타글루타메이트화 및 헥사글루타메이트화 항염산에 의해 충전된 전달 비히클, 예컨대 리포솜을 포함하는 펜타글루타메이트화 및 헥사글루타메이트화 항염산 조성물, 및 과증식성 질환, 면역계의 장애 및 감염성 질환을 포함하는 질환을 치료하기 위해 조성물을 제조하고 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0012] 예로서 및 제한 없이, 본 개시내용은 항염산 MTX, PMX, LTX, AG2034, RTX, 피리트렉심, 프랄라트렉세이트, AG2034, GW1843, 아미노프테린 및 LY309887의 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 및 헥사글루

타메이트화) 형태를 함유하는 리포솜 조성물을 기재한다. 이들 조성물은 이의 투여된 모노글루타메이트화 상태에서 항염산의 세포독성과 비교하여 더 세포독성인 페이로드(예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산)의 우선적인 전달을 제공함으로써 암 세포에 항염산을 전달하는 것의 효율 및 안전성에 대한 개선을 제공한다. 본 개시내용은 또한 관심 대상의 표적 세포의 표면에서 발현된 에피토프(항원)에 대한 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 함유하는 표적화된 리포솜 조성물을 제공한다. 표적화된 리포솜은 표적 세포에 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 특이적으로 전달함으로써 암 세포에 항염산을 전달하는 것의 효율 및 안전성에 대한 추가의 개선을 제공한다.

[0013] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 폴리글루타메이트화 항염산(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화)을 포함하는 조성물을 제공한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에 따르면, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 구성원이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 구성원은 펜타글루타메이트화된다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 구성원은 헥사글루타메이트화된다.

[0014] 일 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다.

[0015] 일 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다.

[0016] 또 다른 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다.

[0017] 또 다른 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다.

[0018] 부가적인 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다.

[0019] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(LPA) 조성물을 제공한다. 예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산은 리포솜 내의 HEPES 완충 용액 중에 있을 수 있다. 추가의 실시형태에서, LPA 조성물은 폐길화된 (PLPA)이다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 리포솜은 음이온성 또는 중성이다. 다른 실시형태에서, PLPA 리포솜은 양이온성이다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 조성물은 적어도 10%, 적어도 20%, 또는 적어도 30%의 리포솜 포획된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 리포솜은 20nm 내지 200nm, 30nm 내지 175nm, 또는 50nm 내지 150nm의 범위의 직경을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 리포솜은 30nm 내지 175nm 또는 50nm 내지 150nm의 범위의 직경을 갖는다. 추가의 실시형태에서, PLPA 리포솜은 80nm 내지 120nm의 범위의 직경을 갖는다.

[0020] 몇몇 실시형태에서, PLPA 조성물은 폴리글루타메이트화 MTX, 폴리글루타메이트화 PMX, 폴리글루타메이트화 LTX, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 RTX, 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화된다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화된다. 일 실시형태에서, PLPA 조성물은 폴리글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 펜타글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 헥사글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 또는 LTX를 포함한다. 일 실시형태에서, PLPA 조성물은 폴리글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다.

- [0021] 또 다른 실시형태에서, PLPA 조성물은 폴리글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA는 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA는 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다.
- [0022] 또 다른 실시형태에서, PLPA 조성물은 폴리글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다.
- [0023] 부가적인 실시형태에서, PLPA 조성물은 폴리글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 조성물은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다.
- [0024] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 조성물을 제공하고, 여기서 리포솜은 폐길화되고, 폴리글루타메이트화 항염산, 및 PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착된 표적화 모이어티를 포함하고, 표적화 모이어티는 관심 대상의 표적 세포 상의 표면 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 폴리펩타이드이다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 항체 또는 항체의 단편이다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 항체, 인간화 항체, 항체의 항원 결합 단편, 단쇄 항체, 단일-도메인 항체, 이중특이적 항체, 합성 항체, 폐길화된 항체 및 다합체 항체 중 하나 이상을 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 중앙 세포에 존재하지만 비중앙 세포에 부재하거나 접근 불가능한 중앙 세포 표면 항원 상의 에피토프에 대해 특이적 친화도를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티-PLPA는 PEG 및 리포솜의 외부 중 적어도 하나에 배치된 면역자극제, 검출 가능한 마커 및 말레이미드 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티-PLPA 리포솜은 음이온성 또는 중성이다. 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티-PLPA 리포솜은 양이온성이다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티-PLPA 조성물은 적어도 10% 리포솜 포획된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티-PLPA 리포솜은 20nm 내지 200nm의 범위의 직경을 갖는다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 80nm 내지 120nm의 범위의 직경을 갖는다.
- [0025] 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티-PLPA는 폴리펩타이드 표적화 모이어티, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 포함하고, 표적화 모이어티는 BIACORE 분석을 이용하여 결정된 바대로 0.5×10^{-10} 내지 10×10^{-6} 의 범위의 평형 해리 상수(Kd)로 표적 항원에 결합한다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 염산 수용체에 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티에 의해 결합된 염산 수용체는 염산 수용체 알파(FR- α), 염산 수용체 베타(FR- β) 및 염산 수용체 델타(FR- δ)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 염산 수용체이다.
- [0026] 본 개시내용은 또한 과증식성 세포를 PLPA 및/또는 LPA 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 과증식성 세포를 살해하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 과증식성 세포는 암 세포이다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 생체내 수행된다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 시험관내 수행된다. 추가의 실시형태에서, 암 세포는 폐암, 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 암으로부터 획득된 세포주로부터의 세포 또는 1차 세포이다.
- [0027] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 암을 갖거나 가질 위험에 있는 대상체에게 리포솜 폴리글루타메이트화 (예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산(LPA) 조성물 및/또는 폐길화된 LPA(PLPA) 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 폐암, 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 암을 치료하기 위해 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토타렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉셀(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 말티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 구성원이다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 폴리글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 일 실시

시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 일 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 투여된 조성물은 MTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 투여된 조성물은 MTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다.

[0028] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 암을 갖거나 가질 위험에 있는 대상체에게 유효량(리포솜은 임의로 폐길 화됨)을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 폐암, 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 암을 치료하기 위해 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 구성원이다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 폴리글루타메이트화 형태를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 MTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 MTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다.

[0029] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 암을 갖거나 가질 위험에 있는 대상체에게 LPA 조성물 및/또는 폐길화된 LPA(PLPA) 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공하고, 여기서 PLPA 및/또는 LPA 조성물은 추가로 암에 대한 표면 항원(에피토프)에 대한 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 함유한다. 추가의 실시형태에서, 본 개시내용은 표적화 모이어티에 의해 결합된 염산 수용체를 이의 표면 상에 발현하는 암을 갖거나 가질 위험에 있는 대상체에게 폴리글루타메이트화 항염산 및 염산 수용체에 대한 특이적 결합 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 포함하는 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 염산 수용체 알파(FR- α), 염산 수용체 베타(FR- β), 및/또는 염산 수용체 델타(FR- δ)에 대한 특이적 결합 친화도를 갖는다.

[0030] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 폐암, 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 암을 치료하기 위해 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 구성원이다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 폴리글루타메이트화 형태를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 MTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 MTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다.

형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다.

[0031] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 암 치료를 겪거나 겪은 대상체에게 LPA 조성물 및/또는 PLPA 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 암 유지 치료를 위한 방법을 제공한다.

[0032] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 면역계 장애를 갖거나 가질 위험에 있는 대상체에게 관심 대상의 면역 세포 상의 표면 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 함유하는 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산 조성물(리포솜은 임의로 폐길화됨)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 면역계의 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 자가면역 질환을 치료하기 위해 투여된다. 추가의 실시형태에서, 상기 방법은 류마티스성 관절염을 치료하기 위해 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 구성원이다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 폴리글루타메이트화 형태를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 MTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 PMX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 또 다른 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 RTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 펜타글루타메이트화 형태를 포함한다. 부가적인 추가의 실시형태에서, 투여된 조성물은 LTX의 헥사글루타메이트화 형태를 포함한다.

[0033] 본 개시내용은 또한 중양을 갖는 대상체에게 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 및/또는 헥사글루타메이트화) 항염산(LPA) 조성물 및/또는 중양 상의 표면 항원에 대한 특이적 결합 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 포함하는 폐길화된 LPA(PLPA)를 투여하는 단계를 포함하는 중양에 폴리글루타메이트화 항염산을 전달하는 방법을 제공하고, 여기서 표적화된-PLPA 및/또는 표적화된-LPA 조성물은 치료학적 유효 용량으로 중양에 전달된다.

[0034] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 조성물을 포함하는 조성물을 제조하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 용액 중에 리포솜 성분; 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 혼합물을 형성하는 단계; 혼합물을 균질화시켜 용액 중에 리포솜을 형성하는 단계; 및 혼합물을 가공하여 폴리글루타메이트화 항염산을 함유하는 리포솜을 형성하는 단계를 포함한다.

[0035] 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 및/또는 헥사글루타메이트화) 항염산(LPA) 조성물 및/또는 폐길화된 LPA(PLPA) 조성물을 포함하고, 임의로 관심 대상의 표적 세포의 표면에서 표면 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 추가로 포함하는 약제학적 조성물이 또한 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0036] **도 1**은 엽산의 항상성 및 항염산의 세포 축적을 도시한다. 유입 및 유출 (항)엽산 수송체. 세포 내에 있으면, (항)엽산은 사이토졸 및 미토콘드리아에서 폴리글루타메이트화를 겪는 한편, 가수분해의 대응하는 공정은 리소좀에서 발생한다. **도 1**은 문헌[Gonen *et al.*, Drug Resistance Updates 15:183-210 (2012)]으로부터 적응된다.

도 2는 사이토졸 및 미토콘드리아에서의 세포 엽산 대사 및 이의 구획화를 도시한다. **도 2**는 문헌[Gonen *et al.*, Drug Resistance Updates 15:183-210 (2012)]으로부터 적응된다.

도 3a 및 3b는 진행된 상피 중양의 특징인 세포 극성의 파괴 및 조직 분열을 도시한다. **도 3a**에 도시된 바대로, 정상 상피는 명확한 정단부-기저부 극성을 나타내는 개별 세포의 단층을 포함한다. 세포는 조밀히 패키징되고 정단부 결합 복합체에 의해 서로에 연결되고, 이는 정단부 및 하측면 막 도메인을 분리한다. 극성이 보

존된 정상 조직에서, FR- α 는 혈액 순환에서 염산과의 직접 접촉으로부터 멀리 그리고 이것 밖으로 위치한 세포의 정단부 표면에서 부착된다. 도 3b에 도시된 바대로, 고등급 상피 종양에서의 세포는 정단부-기저부 극성의 손실 및 전체 조직 분열을 나타내어서, FR- α 를 혈액 순환에서 염산과의 직접 접촉에 넣는다.

도 4는 암에서 항염산 내성에 기초한 분자 기전을 보여준다. 도 4는 문헌[Gonen *et al.*, Drug Resistance Updates 15:183-210 (2012)]으로부터 적용된다.

도 5는 L-감마 헥사글루타메이트 페메트렉세드의 화학식을 보여준다.

도 6은 본 개시내용에 의해 포함된 예시적인 L-감마 폴리글루타메이트화 항염산 조성물의 화학식을 보여준다.

도 7은 선암 아형인 NCI H2342 비소세포 폐암(NSCLC)에서의 유리 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(gG6), 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6), 페메트렉세드 및 염산 수용체 알파 표적화 항체(FR1Ab) 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6-FR1Ab)의 용량 반응 관계식을 도시한다. 아웃풋은 루시페라제 발광에 의해 측정된 바와 같은 세포 생존능력이다. 총체적으로 도 7에 도시된 바대로, 유리 페메트렉세드 gG6은 IC₅₀에 의해 측정된 바대로 저해된 세포 생존능력에서 가장 덜 강력한 것으로 보인다. 리포솜 페메트렉세드 gG6 및 리포솜 페메트렉세드 gG6-FR1Ab 둘 다는 각각 유리 페메트렉세드보다 7배 및 40배 더 강력하다.

도 8은 치료의 48시간 후 생존가능 세포의 백분율로서 도시된 선암 아형인 NCI H2342 비소세포 폐암(NSCLC)에서의 유리 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(gG6), 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6), 페메트렉세드 및 염산 수용체 알파 표적화 항체(FR1Ab) 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6-FR1Ab)의 용량 반응 관계식을 제시한다.

도 9는 치료의 48시간 후 생존가능 세포의 백분율로서 도시된 선암 아형인 NCI H2342 비소세포 폐암(NSCLC)에서의 유리 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(gG6), 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6), 페메트렉세드 및 염산 수용체 알파 표적화 항체(FR1Ab) 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6-FR1Ab)의 예시적인 용량 반응 관계식을 제시한다.

도 10은 48시간에 HT-29(결장암)에서의 유리 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(gG6), 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6), 페메트렉세드 및 염산 수용체 알파 표적화 항체(FR1Ab) 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6-FR1Ab)의 용량 반응 관계식을 제시한다. 유리 페메트렉세드 gG6은 가장 덜 강력한 것으로 보인다. 부가적으로, 리포솜 페메트렉세드 gG6은 페메트렉세드만큼 2배 강력하고, 리포솜 페메트렉세드 gG6-FR1Ab는 유리 페메트렉세드보다 5배 더 강력하다.

도 11은 48시간에 HT-29(결장암)에서의 유리 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(gG6), 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6), 페메트렉세드 및 염산 수용체 알파 표적화 항체(FR1Ab) 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6-FR1Ab)의 예시적인 용량 반응 관계식을 제시한다.

도 12는 48시간 동안 상응하는 물질의 256nM의 노출 이후에 난소암 OAW28 세포의 성장에 대한 페메트렉세드, 유리 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(헥사 gG6), 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 헥사 gG6) 및 유리 페메트렉세드의 효과를 보여준다. 리포솜 페메트렉세드 헥사 gG6은 난소암 OAW28 세포의 성장을 저해하기 위해 페메트렉세드 헥사 gG6 및 페메트렉세드보다 더 효율적으로 세포에 진입할 수 있다.

도 13은 48시간 동안 상응하는 물질의 256nM의 노출 이후에 결장암 SW260 세포의 성장에 대한 유리 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(헥사 gG6) 및 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 헥사 gG6)의 효과를 보여준다. 비표적화된 및 표적화된 리포솜 페메트렉세드 헥사 gG6은 결장암 SW260 세포의 성장을 저해하기 위해 유리 페메트렉세드 헥사 gG6보다 더 효율적으로 세포에 진입할 수 있다.

도 14는 48시간에 걸친 암 세포주 SW620(CRC), HT-29(결장암), H1806(삼중 음성 유방암), OAW28(난소암), H292(NSCLC, 선암 아형) 및 H2342(NSCLC, 선암 아형)의 노출 이후에 페메트렉세드에 대한 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6)의 상대 효력을 제시한다.

도 15는 48시간에 걸친 페메트렉세드와 비교된 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(Lps 헥사 gG6)의 노출 이후에 HCC1806 삼중 음성 유방암 세포에 대한 치료 효과를 제시한다.

도 16은 48시간에 걸친 페메트렉세드와 비교된 리포솜 페메트렉세드 L-감마 헥사글루타메이트(Lps 헥사 gG6)의 노출 이후에 H292 비소세포 폐암 세포에 대한 치료 효과를 제시한다.

도 17은 48시간에 걸친 페메트렉세드와 비교된 리포솜 페메트렉세드 L-감마 핵사글루타메이트(Lps 핵사 gG6)의 노출 이후에 OAW28 난소암 세포에 대한 치료 효과를 제시한다.

도 18은 48시간에 걸친 리포솜 페메트렉세드 L-감마 핵사글루타메이트(리포솜 gG6) 및 페메트렉세드의 16 내지 128nM의 범위의 다양한 용량 수준의 노출 이후에 H292 비소세포 폐암 세포에 대한 치료 효과를 제시한다. 시험된 용량 범위의 각각에서, 리포솜 페메트렉세드 gG6 제제는 페메트렉세드와 비교하여 H292 비소세포 폐암 세포를 저해하는 데 있어서 탁월하다.

도 19는 48시간에 걸친 리포솜 페메트렉세드 L-감마 핵사글루타메이트(리포솜 gG6) 및 페메트렉세드의 16nM, 32nM, 64nM 및 128nM의 노출 이후에 HCC1806 삼중 음성 유방암 세포에 대한 치료 효과를 제시한다. 시험된 용량의 각각에서, 리포솜 페메트렉세드 gG6 제제는 HCC1806 삼중 음성 유방암 세포를 저해하는 데 있어서 페메트렉세드보다 탁월하다.

도 20은 48시간에 걸쳐 그리고 일련의 농도에 걸쳐 노출 이후에 리포솜 페메트렉세드 L-감마 핵사글루타메이트(리포솜 gG6) 및 페메트렉세드의 OAW28 난소암 세포에 대한 치료 효과를 제시한다. 128nM의 용량에서, 페메트렉세드는 리포솜 페메트렉세드 gG6 리포솜 제제보다 세포 증식을 더 효율적으로 저해하는 것으로 보이는 한편, 32nM 및 64nM의 용량에서 리포솜 제제는 페메트렉세드보다 양호한 치료 효과를 갖고; 16nM에서 리포솜 페메트렉세드 gG6 치료 효과는 페메트렉세드와 유사하다.

도 21은 16nM, 32nM, 64nM 및 128nM에서의 분화하는 인간 호중구에 대한 리포솜 페메트렉세드 L-감마 핵사글루타메이트(리포솜 gG6) 및 페메트렉세드의 독성을 보여준다. 도면은 리포솜 페메트렉세드 gG6이 페메트렉세드보다 분화하는 인간 호중구에 상당히 덜 독성이라는 것을 입증한다.

도 22는 상응하는 물질의 16nM, 32nM, 및 64nM 및 128nM에 48시간에 걸쳐 노출 이후에 AML12 간 세포에 대한 리포솜 페메트렉세드 L-감마 핵사글루타메이트(리포솜 gG6) 및 페메트렉세드의 효과를 보여준다. 두드러지게, 시험된 임의의 용량 수준에서 리포솜 페메트렉세드 gG6에 의한 치료 이후에 AML12 간 세포에 대해 어떠한 독성이 있는 것으로 보이지 않는다. 반대로, 페메트렉세드 치료는 연구된 모든 용량에서 대략 40%의 AML12 간 세포 수의 감소를 발생시킨다.

도 23은 상응하는 물질의 16nM, 32nM 및 64nM 및 128nM에서 48시간에 걸친 노출 이후에 CCD841 결장 상피 세포에 대한 리포솜 L-감마 핵사글루타메이트(리포솜 gG6) 및 페메트렉세드의 효과를 보여준다. 시험된 모든 농도에서, 페메트렉세드는 리포솜 gG6에 의한 치료 후 대략 20% 이하의 세포 수의 감소와 비교하여 대략 50% 이상의 CCD841 결장 상피 세포의 수의 감소를 발생시킨다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 본 출원은 이전의 암 치료 및 암 세포에 항염산을 전달하는 방법에 대한 이점을 기재한다. 특히, 본 개시내용은 이전에 인정되지 않던 항염산의 종류에 관한 것이다.

[0038] 더 구체적으로, 본 출원은 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산, 예컨대 페메트렉세드 폴리글루타메이트 및 로메트렉솔 폴리글루타메이트(이들로 제한되지는 않음)를 기재한다. 비제한적인 예에서, 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산(예를 들어, 페메트렉세드 폴리글루타메이트)는 하나 이상의 염산 수용체 알파, 베타 및 델타에 대해 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 사용하여 표적화된다. 또 다른 비제한적인 예에서, 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산은 비표적화된다.

[0039] 엽산은 수용성 B 비타민이다. 신체/세포에서의 엽산의 주요 역할은 세포 분열에 관여된 중요 과정인 세린, 메티오닌, 타이미딘 및 퓨린 생합성에 관여된 다양한 메틸전환효소에 대한 보인자로서 이다. 엽산의 주요 기능은 뉴클레오타이드 생합성, 호모시스테인(Hcy)의 재메틸화 및 생물학적 메틸화 반응에 관여된 1개 탄소 단위의 이동을 매개하는 것이다. 뉴클레오타이드의 신생 생합성의 필수 보인자로서, 엽산은 DNA 합성, 안정성 및 통합, 및 보수에서 중요한 역할을 한다. 엽산은 또한 DNA(유전자 발현을 조절), 단백질(중요한 번역 후 변형) 및 지질(이의 합성에서 중요, 예를 들어 포스파티딜콜린)의 메틸화에 대한 1차 메틸기 도너를 제공한다. 하기 더 자세히 설명된 것처럼, 이것 때문에, 항염산은 엽산의 작용을 차단하려는 의도로 암에 대한 치료로서 개발되어서, 세포 분열, DNA/RNA 합성 및 보수, 및 단백질 합성을 저해한다.

[0040] 본질상, 엽산은 동물 생성물 및 폴리글루타메이트화 형태의 잎 채소에서 생긴다. 폴리글루타메이트는 생리학적 수송에 수정 가능하지 않다. 천연 폴리글루타메이트는 생리학적으로 수송되고 세포에 의해 흡수되기 전에 주로 모노글루타메이트로 공장에서 분해된다. 폴리글루타메이트의 형태의 식이 엽산은 이것이 흡수되는 공장에서 모

노글루타메이트로 절단된다. 창자세포에 의해 흡수되면, 엽산은 폴리글루타메이트화되고 세포 내에 보유되거나, 대사, 저장 또는 장간 재순환을 위해 다양한 구획에 대해 문맥 순환으로 방출된다. 엽산은 혈장에 진입하고, 간 세포 및 다른 세포에 진입함으로써 신속히 청소된다.

- [0041] 간은 문맥 순환에 진입하는 대부분의 엽산을 흡수하지만, 남은 엽산은 간을 통과하고, 일반 순환에 진입하고, 이것이 세포내 저장을 위해 이의 폴리글루타메이트 형태로 전환되는 다른 조직에 의해 흡수된다. 간은 엽산의 주요 저장소이다. 수술적 담즙 배수는 6시간 내에 혈청 엽산의 감소를 발생시킬 수 있는 한편, 식이 제한은 아마도 엽산의 전체 신체 저장이 500 내지 20,000mcg인 것으로 예상되므로 3주 동안 필적하는 하락을 생성하지 않는다. 이 관찰은 엽산의 큰 장간 순환이 있다는 것을 나타낸다.
- [0042] 모노글루타메이트는 혈액 중의 엽산의 유일한 순환 형태 및 세포막에 걸쳐 수송된 엽산의 유일한 형태이다. 창자세포에 의해 흡수되면, 엽산은 폴리글루타메이트화되고 세포 내에 보유되거나, 대사, 저장 또는 장간 재순환을 위해 다양한 구획에 대해 문맥 순환으로 방출된다. 모노글루타메이트가 세포로 흡수되면, 세포내 엽산은 세포 분열에 관여된 중요 과정인 세린, 메티오닌, 타이미딘 및 퓨린 생합성에 관여된 다양한 메틸전환효소에 대한 보인자로서 생물학적으로 활성인 형태인 폴리글루타메이트로서 주로 존재한다.
- [0043] 폴리글루타메이트화는 에너지원으로서 ATP를 사용하는 효소 폴릴폴리글루타메이트 생성효소(folylpolyglutamate synthetase: FPGS)에 의해 이웃하는 폴릴 글루타메이트의 말단 카복실기에 대한 감마 연결에서 글루타메이트기의 첨가를 수반한다.
- [0044] 폴리글루타메이트화는 분자(예컨대, 항엽산)에 대한 글루탐산 잔기(들)의 첨가를 의미하여서, 폴리글루타메이트화 후 생성된 분자는 하나 초과와 글루탐산 잔기를 갖는다. 문헌은 글루탐산 잔기, 예컨대 글루타메이트, 글루타밀기, 글루타밀 라디칼 등을 의미하도록 다수의 명칭을 사용한다. 각각의 글루탐산 잔기(글루타밀기)는 독립적으로 L-형태 또는 D-형태일 수 있다.
- [0045] 예를 들어, 화학명이 "N-[4-2-(2-아미노-4,7-다이하이드로-4-옥소-1H-피롤로[2,3-d]피리미딘-5-일)에틸]벤조일]-1-글루탐산"인 페메트렉세드는 이미 1개의 글루타밀기(모노글루타메이트화)를 갖는다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 페메트렉세드에 대한 글루탐산 잔기(들)의 첨가는 폴리글루타메이트화 페메트렉세드를 생성시킨다. 예를 들어, 페메트렉세드에 대한 5개 초과와 글루탐산 잔기의 첨가는 전체 6개의 글루타밀기(페메트렉세드로부터 1개 및 첨가된 5개의 부가적인 글루타밀기)를 발생시킬 것이고, 본 문헌에서 페메트렉세드 헥사글루타메이트 또는 헥사글루타메이트화 페메트렉세드라 불린다. 문헌에서, 이 집합체는 또한 펜타글루타메이트 페메트렉세드 또는 페메트렉세드 펜타글루타메이트라 불릴 수 있다.
- [0046] 감마 폴리글루타메이트화는 펩타이드 결합이 글루탐산 측쇄의 감마 탄소에서의 카복실기와 글루탐산의 아미노기 사이에 있는 상기 기재된 바와 같은 분자에 대한 글루탐산 잔기(들)의 첨가를 의미한다. 알파 폴리글루타메이트화는 펩타이드 결합이 글루탐산 측쇄의 알파 탄소에서의 카복실기와 글루탐산의 아미노기 사이에 있는 상기 기재된 바와 같은 분자에 대한 글루탐산 잔기(들)의 첨가를 의미한다.
- [0047] 단일 분자는 오직 감마 폴리글루타메이트화, 오직 알파 폴리글루타메이트화, 또는 감마 폴리글루타메이트화 및 알파 폴리글루타메이트화의 조합에 의해 형성될 수 있다.
- [0048] 항엽산은 "엽산 모방 분자" 세포독성제로서 70년도 이전에 개발되었다. 이유는 빠르게 복제하는 세포, 예컨대 암 세포에서 엽산의 작용에 대응하여서, 세포 분열 동안 DNA 복제에 대한 이의 촉진하는 세포내 작용 방식 및 생리학적 엽산 수송 기전의 이점을 취하여, 분자의 종류를 설계하는 것이다. 구체적으로, 항엽산은 이의 전신 수송, (예를 들어, 환원된 엽산 캐리어(RFC) 및 양성자 커플링된 엽산 수송체(PCFT)를 통한) 생리학적 세포 흡수 및 세포내 가공에서 엽산을 모방하도록 설계된다. 항엽산은 구체적으로 DNA 및 RNA 합성 동안 작용하여서, 세포 주기의 S상 동안 세포독성 효과를 발휘한다. 그 결과, 이것은 신속히 분열하는 세포, 예컨대 악성 및 골수성 세포에 더 큰 독성 효과를 갖는다.
- [0049] 일반적으로 말해서, 인간 신체에서 환원된 엽산 캐리어(RFC), 엽산 수송체(FR), 양성자 커플링된 엽산 수송체(PCFT) 및 ATP-결합-카세트 수송체의 엽산 및 항엽산의 4개의 수송체가 존재한다. 상기 기재된 바대로, 이들 수송 기전 중 어느 것도 세포막에 걸쳐 유리 폴리글루타메이트를 수송하는 데 효과적이지 않다.
- [0050] RFC는 환원된 엽산 및 친수성 항엽산, 예컨대 MTX 또는 PMX에 대한 더 높은 친화도 및 MTX에 대한 것보다 2배 높은 PMX에 대한 친화도를 갖는 포화 가능한 음이온 의존적 세포막 캐리어이다. 이것은 용질 캐리어의 슈퍼패밀리의 구성원이고, 세포로의 힘겨운 엽산 수송을 달성하도록 세포의 에너지 상황에 의해 조정되는 높은 막관통

음이온 구배, 특히 유기 포스페이트 구배를 이용한다.

- [0051] RFC에 의한 세포독성 항엽산의 수송은 중앙 특이적이 아니다. RFC가 정상 조직에서 편재하여 발현되고 가장 정성인 조직의 특징인 중성 pH에서 활성의 높은 수준을 나타내므로, RFC를 통해 수송된 항엽산은 독성이 정상 조직의 유형을 선택하게 하는 것으로 나타났다.
- [0052] 엽산 수용체 알파, 베타 및 델타(FR- α , FR- β 및 FR- δ)는 글라이코실포스파티딜이노시톨(GPI) 앵커 도메인에 의해 세포막에서 고정된 고친화도 엽산 결합 단백질이다. FR은 FA에 대해 특히 높은 친화도를 갖는다. 이것은 내포작용 기전을 통해 엽산을 세포로 수송한다. 세포질에 있으면, 소포가 6.0 내지 6.5의 pH로 산성화될 때, 엽산은 수용체로부터 방출되고, 부분적으로 PCFT에 의해 매개되는 것으로 제안된 기전에 의해 엔도솜으로부터 수출된다. FR- α 가 RFC보다 이의 바람직한 기질에 대해 더 높은 친화도를 갖더라도, 세포로의 이의 엽산 수송은 일련의 단계, 예컨대 결합, 합입, 소포 형성 및 전좌, 산성화, 및 소포로부터의 세포질로의 기질의 수출을 요한다. 세포로의 수송에 필요한 이 다수의 단계 때문에, FR 매개된 엽산 수송의 속도는 RFC에 의해 매개된 속도의 1%이다.
- [0053] 양성자 커플링된 엽산 수송체(PCFT)는 무엇보다도 저산소 환경의 특징인 산성 세포외 환경에서 가장 효율적으로 작용하는 엽산-H⁺동시수송체이다. RFC와 PCFT 사이의 중요한 차이는 수송 기질에 대한 이의 친화도에 영향을 미치는 최적 pH이다. pH 7.4에서, RFC 활성이 최적이고 PCFT의 활성이 최소화되면서 항엽산의 수송은 대부분 RFC에 의해 매개된다. 대안적으로, pH가 감소하면서 PCFT 활성은 더 현저하다. 산성 세포외 환경, 예컨대 고휘 종양이 있는 조직으로의 흡수 및 장 엽산 흡수, 또는 덜 효율적으로, 중성 pH 환경에서 조직으로의 수송을 매개하는 것 이외에, PCFT는 엽산 수용체 매개된 내포작용에서 역할을 할 수 있다.
- [0054] 몇몇 ATP-결합-카세트 수송체는 엽산 및 항엽산의 저친화도, 고역량 ATP 의존적 유출 펌프이다. 이것은 MRP1-MRP5인 다중약물 내성 연관된 단백질 및 BCRP인 유방암 내성 단백질을 포함한다. 모든 이들 약물 내성 유출 펌프는 세포 밖으로 항엽산을 펌프질하는 데 관여될 뿐만 아니라, 약물의 다른 종류를 세포 밖으로 펌프질하는 것으로 또한 나타났다.
- [0055] 세포내 엽산은 FPGS에 의해 폴리글루타메이트로 전환되는 한편, GGH는 말단 글루타메이트를 제거하여서, 때때로 엽산 유출 펌프로도 불리는, ATP-결합-카세트 수송체에 의해 다시 세포 밖으로 세포의 순환으로의 엽산의 수출을 촉진한다. 이론에 의해 구속되고자 바라지 않으면서, 폴리글루타메이트화 엽산은 ATP-결합-카세트 수송체의 불량한 기질이므로 세포에서 더 양호하게 보유되는 것으로 생각된다. 또한, 이론에 의해 구속되고자 바라지 않으면서, 폴리글루타메이트화 엽산은 모노글루타메이트와 비교하여 세포내 엽산 의존적 효소에 대한 더 양호한 기질인 것으로 믿어진다.
- [0056] 엽산에 대한 사레처럼, 항엽산, 예컨대 MTX, PMX 및 RTX는 FPGS 유도된 폴리글루타메이트화에 의해 중앙 및 정상 세포에서 보유하고, GGH에 의해 모노글루타메이트로 가수분해 후 세포로부터 수출되는 것으로 믿어진다. 생리학적 엽산에서처럼, 폴리글루타메이트화 항엽산은 더 길게 세포에 보유되어서, 노출의 길이를 연장시킴으로써 이의 세포독성을 증가시킨다. 폴리글루타메이트화 항엽산은 일반적으로 더 높은 친화도를 갖고, 그 결과 모노글루타메이트 형태보다 더 높은 정도로 타이미딜레이트 및 퓨린 생합성에서 이의 표적 엽산 의존적 효소를 저해한다. FPGS 및 GGH가 최적 엽산 의존적 1개 탄소 이동 반응 및 항엽산 유도된 세포독성 효과에 대해 엽산 및 항엽산의 세포내 항상성의 유지를 위한 중요한 효소인 것으로 생각되는 것은 이것 때문이다.
- [0057] 세포 내에 있으면, 엽산 및 항엽산(예컨대, 예를 들어 및 제한 없이, 페메트렉세드 및 프랄라트렉세이트)는 FPGS에 의해 폴리글루타메이트로 폴리글루타메이트화된다. 이 과정은 생물학적 활성에 필요하다. 예를 들어, 폴리글루타메이트화는 보유를 촉진하고(세포내 농도를 증가시키고), 엽산 의존적 효소(타이미딜레이트 합성효소 포함)에 대한 친화도를 증가시킨다. 폴리글루타메이트를 형성하는 세포의 능력은 또한 항엽산의 세포독성 작용을 증대시켜서, 항엽산이 세포독성제에 매우 효과적이게 만든다.
- [0058] 본 출원은 암성 세포를 치료하는 데 있어서의 이의 유효성을 평가하도록 항엽산의 폴리글루타메이트화 형태의 세포독성 효과를 연구하도록 수행되었다. 항엽산의 폴리글루타메이트화 형태가 (하기 더 자세히 기재된 바대로) 정상 또는 암 세포에 의해 흡수되지 않으므로, 본 출원인은 이러한 폴리글루타메이트화 형태가 암 세포에 직접적으로 전달되는 경우, 암 세포에서 과량의 항엽산의 수출의 결과로서 생길 수 있는 정상 세포에 대한 감소된 바람직하지 않은 독성으로 항엽산의 독성이 개선된다는 것을 상정하였다.
- [0059] 특히, 암 세포에 존재하는 과량의 항엽산이 엽산 및 항엽산의 고역량 ATP 의존적 유출 펌프를 통해 순환계로 돌아갈 수 있다. 이것은 항엽산이 WO 제2016/25882호(이의 전체 내용은 본 명세서에 그 전문이 참고로 포함됨)에

기재된 표적화된 리포솜 접근법을 이용하여 전달될 때에서 사실이다. 다른 말로, WO 제2016/25882호의 기법이 실질적으로 정상 세포를 우회하면서 암 세포에 항염산을 전달할 수 있다라도, 전달된 항염산의 과량의 유출물은 순환계로 돌아가고 정상 세포에 의해 흡수될 수 있어서, 바람직하지 않은 독성을 발생시킨다. 이 독성이 환자의 순환계에서 유리 항염산의 전통적인 투여와 연관된 독성과 비교하여 상당히 감소되지만, 이것은 그럼에도 불구하고 바람직하지 않다. 본 명세서에 기재된 항염산 및 전달 시스템은 WO 제2016/25882호에 의해 달성된 정상 세포에 대한 비록 상당히 감소된 독성 효과를 추가로 감소시키고, 정상 세포에 대한 독성의 훨씬 더 높은 감소를 제공할 수 있다.

- [0060] 본 발명자들은 암 치료를 위해 폴리글루타메이트화 항염산을 사용하는 것의 잠재적인 이점을 실현하였다. 예를 들어, 폴리글루타메이트, 특히 펜타글루타메이트는 세포가 이의 염산 풀을 더 효율적으로 보유하도록 허용할 수 있다. 그러나, 이의 높은 음전하 및 다른 특성으로 인해, 폴리글루타메이트는 현재 공지된 세포막 횡단 수송 기질을 갖지 않는다.
- [0061] 본 개시내용은 이전에 암 세포에 의해 흡수될 수 없었던 항염산의 상이한 종류(예를 들어, 폴리글루타메이트)를 암 세포에 전달하기 위한 진전되고 개선된 기법을 기재한다. 세포막 횡단 수송의 결여로 인해, 암 세포에 전달된 폴리글루타메이트는 암 세포 내에 효과적으로 보유된다. 폴리글루타메이트가 순환계로 돌아가지 않으므로, 이것은 예를 들어 비폴리글루타메이트화 항염산, 예컨대 모노글루타메이트화 항염산과 연관된 독성을 감소시키고/시키거나 제거한다. 실제로, 이것이 그렇더라도, 이것은 건강한 세포에 의해 찾아지지 않을 것이다.
- [0062] 폴리글루타메이트화 항염산 조성물 및 이의 용도에 의해 제공된 치료 이익은 많으면서 놀랍다.
- [0063] 첫째로, 많은 세포독성제 및 특히 항염산의 활성 형태는 폴리글루타메이트화 형태이고, 따라서 항염산의 이전의 전달 불가능한 폴리글루타메이트화 형태의 전달은 약물이 즉시 활성이라는 것을 의미한다. 더욱이, 몇몇 고품종양이 FPGS 활성 및 폴리글루타메이트화 수준에서 낮거나 결핍이라고 공지되어 있다. 이것은 약물이 세포로 진입 후 활성화를 위해 낮은 내인성 FPGS 활성에 여전히 의존적이므로 FPGS 활성에서 낮은 종양이 비폴리글루타메이트화 약물을 통해 화학요법에 더 내성이라는 것을 의미한다.
- [0064] 둘째로, 이의 비폴리글루타메이트화 상태의 약물의 보유는 또한 문제가 된다. 종양, 및 특히 낮은 내인성 FPGS 활성을 갖는 종양을 치료하는 데 있어서의 문제의 부분은 적어도 2배이다. 이전의 문단은 FPGS의 낮은 수준으로 인해 약물의 낮은 활성에 대한 논의를 기재한다. 이 결함 이외에, 비폴리글루타메이트화 약물, 예컨대 비폴리글루타메이트화 페메트렉세드는 세포 밖으로 능동적으로 수송될 수 있으므로 세포에서 제한된 보유를 갖는다. 비폴리글루타메이트화 약물(예를 들어, 비폴리글루타메이트화 페메트렉세드)의 수송은 그 자체가 2배 문제이다. 첫째로, 비폴리글루타메이트화 약물이 세포 밖으로 수송되면, 이것은 치료를 위해 암 세포 내에 더 이상 작용할 수 없다. 또한, 세포독성제, 예컨대 세포의 밖에 위치한 항염산은 정상 세포를 포함하는 다른 세포에 재진입할 수 있고, 정상 세포에 바람직하지 않은 독성을 야기한다. 세포로 진입 시, 소정의 세포 과정이 모노글루타메이트로 본 명세서에 제공된 폴리글루타메이트화 항염산을 환원시키는 것이 가능하다. 그러나, 현재의 시험은 제공된 폴리글루타메이트화 항염산의 독성 및 활성이 이러한 환원이 발생하기 전에 세포를 사멸한다는 것을 제안한다.
- [0065] 셋째로, 폴리글루타메이트화 항염산이 세포 내부에 보유되고 세포외로 수송되지 않으므로, 폴리글루타메이트화 항염산 약물의 투여(예를 들어, 정맥내 투여)는 오직 제한된 시간 동안 수행될 수 있어서, 따라서 정상 조직에 대한 잠재적인 바람직하지 않은 독성을 추가로 감소시킨다. 임상 환경에서의 투여의 기간이 비례하여 감소할 수 있으므로, 감소된 투여 시간은 또한 환자 편안함을 개선하고 비용을 감소시킨다. 예를 들어 종양 세포 내의 폴리글루타메이트화 항염산의 보유는, 약물이 세포외 환경으로부터 제거된 후에도(예를 들어, 정맥내 투여가 중단됨) 종양 세포가 치료로부터 아마도 덜 회수될 것이라는 것을 의미한다.
- [0066] 넷째로, 개시된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산, 예컨대 표적화된 및 비표적화된 폐기화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산의 활성은 종양이 FPGS 결핍이더라도 종양에서 감소하지 않는다. 이것은 약물을 활성화하기 위한 FPGS의 의존성이 없기 때문이다.
- [0067] 모든 상기 언급된 이유로, 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산은 동일한 방법에서 전달된 비폴리글루타메이트화 항염산보다 더 높은 치료 지수를 갖는다. 즉, 본 발명자들은 약물이 최소/감소된 독성을 갖고, 환자가 더 낮은 부작용을 갖는 약물의 더 높은 투약량을 견딜 것으로 예상된다. 상기 기재된 이익은 폴리글루타메이트화되지 않은 투여된 약물에 부재하다.
- [0068] 본 개시내용의 조성물 및 방법에 의해 포함된 폴리글루타메이트화 항염산의 비배타적인 목록은 폴리글루타메이

트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887을 포함한다.

[0069] 몇몇 실시형태에서, 펜타글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 펜타글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 펜타글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다.

[0070] 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산 조성물(예를 들어, 폴리글루타메이트 및 폴리글루타메이트를 함유하는 전달 비히클, 예컨대 리포솜) 조성물은 "단리"된다. 본 명세서에 사용된 바대로, 용어 단리된 자연에서 발견되지 않는 형태인 조성물을 의미한다. 단리된 폴리글루타메이트화 항염산 조성물은 이들이 자연에서 발견된 형태로 이들이 더 이상 있지 않는 정도로 정제된 것을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 단리된 폴리글루타메이트화 항염산 조성물은 실질적으로 순수하다. 단리된 조성물은 이들이 자연에서 연관된 재료, 예컨대 다른 세포 성분, 예컨대 이들이 잠재적으로 자연에서 발견될 수 있는 단백질 및 핵산, 또는 이들이 제조된 환경(예를 들어, 세포 배양)이 없거나 실질적으로 없을 것이다. 폴리글루타메이트화 항염산 조성물은 희석제 또는 애주번트와 제제화되고, 여전히 현실적인 목적을 위해 단리될 수 있고, 예를 들어 폴리글루타메이트화 항염산 조성물은 진단 또는 치료에서 사용될 때 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제와 보통 혼합될 것이다. 몇몇 실시형태에서, 단리된 폴리글루타메이트화 항염산 조성물(예를 들어, 폴리글루타메이트 및 전달 비히클, 예컨대 폴리글루타메이트를 함유하는 리포솜)은 1% 미만 또는 0.1% 미만의 DNA 또는 단백질을 함유한다.

[0071] 몇몇 실시형태에서, 제공된 리포솜 조성물 내의 폴리글루타메이트화 항염산의 70% 초과, 80% 또는 90%는 펜타글루타메이트화된다. 몇몇 실시형태에서, 제공된 조성물 내의 폴리글루타메이트화 항염산의 70% 초과, 80% 또는 90%는 펜타글루타메이트화된다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜 조성물 내의 폴리글루타메이트화 항염산의 70% 초과, 80% 또는 90%는 헥사글루타메이트화된다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜 조성물 내의 폴리글루타메이트화 항염산의 70% 초과, 80% 또는 90%는 헥사글루타메이트화된다. 몇몇 실시형태에서, 조성물 내의 폴리글루타메이트화 항염산의 70% 초과, 80% 또는 90%는 5개 내지 10개 또는 4개 이상의 글루타미기를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜 조성물 내의 폴리글루타메이트화 항염산의 70% 초과, 80% 또는 90%는 5개 내지 10개 또는 4개 이상의 글루타미기를 갖는다.

[0072] 몇몇 실시형태에서, 알파(L-알파 또는 D-알파) 또는 D-감마 폴리글루타메이트화 항염산 조성물(예를 들어, 폴리글루타메이트 및 폴리글루타메이트를 함유하는 전달 비히클, 예컨대 리포솜)은 수성 용액 중에 있다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 100ng/ml 내지 700mg/ml의 농도이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 100ng/ml 초과, 250ng/ml, 500ng/ml, 750ng/ml, 1 μ g/ml, 100 μ g/ml, 250 μ g/ml, 500 μ g/ml, 750 μ g/ml, 1mg/ml, 100mg/ml, 250mg/ml 또는 500mg/ml의 농도이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산을 함유하는 리포솜의 농도는 100ng/ml 내지 1mg/ml의 농도이다. 몇몇 실시형태에서, 100ng/ml 초과, 250ng/ml, 500ng/ml, 750ng/ml, 1 μ g/ml, 100 μ g/ml, 250 μ g/ml, 500 μ g/ml, 750 μ g/ml, 또는 1mg/ml의 농도.

[0073] 몇몇 실시형태에서, 헥사글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 헥사글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 헥사글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다.

[0074] 페메트렉세드는 예를 들어 염산 대사 및 퓨린 및 피리미딘 합성에 관여된 적어도 3개의 효소를 저해하는 다중표적화된 항염산이다. 이들 효소는 타이미딜레이트 합성효소(thymidylate synthase: TS), 다이하이드로엽산 환원효소(dihydrofolate reductase: DHFR) 및 글라이신아마이드 리보뉴클레오타이드 폼일전환효소(glycinamide ribonucleotide formyltransferase: GARFT)이다(도 2 참조). 페메트렉세드는 FDA에 의해 허가되고, 중피종 및 비소세포 폐암에 대한 중요한 치료로 현재 있다.

[0075] 중피종 및 비소세포 폐암의 치료에서, 페메트렉세드는 악성 중피종의 치료를 위해 및 비소세포 폐암을 갖는 환자의 초기 및 유지 치료를 위해 시스플라틴과 조합되어 승인된다. 페메트렉세드는 비소세포 폐암의 제2선 치료

에서 상당히 덜한 독성을 갖지만 도세탁셀에 동등한 효율을 나타냈다. 페메트렉세드의 가장 흔하고 심각한 독성인 골수억제 및 점막염은 엽산 및 비타민 B12 보충에 의해 상당히 완화되었지만, 바람직하지 않은 독성이 남아 있다. 몇몇 특정한 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX)이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 PMX이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 PMX이다.

[0076] 이 독성은 본 명세서에 기재된 바와 같은 폴리글루타메이트화 항엽산을 사용하여 감소, 최소화 및/또는 제거될 수 있다. 본 명세서에 기재된 몇몇 특정한 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX)이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 PMX이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 PMX이다.

[0077] 몇몇 특정한 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 폴리글루타메이트화 랠티트렉세드(RTX)이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 RTX이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 RTX이다.

[0078] 로메트렉솔은 글라이신아마이드 리보뉴클레오타이드 전환효소(GARFT) 활성의 이의 직접 억제로 인해 퓨린 합성에 저해인 처음의 강력한 항엽산이었다. 특정한 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX)이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 LTX이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 LTX이다.

[0079] 본 명세서에 기재된 바대로, 임상 환경에서 항엽산, 예컨대 페메트렉세드의 사용은 심각한 임상 딜레마를 발생시켰다. 빠르게 재생하는 정상 조직 세포, 예컨대 골수, GI 관 및 구강 점막 세포는 이들이 또한 이의 DNA를 더 자주 복제하므로 이 종류의 약물의 세포독성 효과에 감수성인 것으로 나타났다. 결과적으로, 임상 실행에서, 항엽산의 사용은 중증이고 삶을 위협하는 혈액학적 및 비혈액학적 독성 부작용을 대개 발생시킨다. 게다가, 독성은 한편으로 용량 제한이고, 다른 한편으로 양호한 효율을 달성하는 능력을 방해하는 것으로 생각된다. 이의 연관된 중증의 삶을 위협하는 독성으로 인해, 유망한 항엽산은 로메트렉솔과 같은 개발 동안 실패하거나, 랠티트렉세드(TOMUDEX(등록상표)) 및 페메트렉세드(ALIMTA(등록상표))와 같은 임상 실행에서 제한된 사용을 갖는다.

[0080] 본 명세서에 기재된 인자는 또한 일반적으로 항엽산 및 항종양 활성이 폴리글루타메이트화에 의해 강화된 것, 예컨대 메토티렉세이트, 페메트렉세드, 로메트렉솔, 및 랠티트렉세드에 내성의 기전의 중심에 있다.

[0081] 개시된 폴리글루타메이트화 항엽산은 항엽산 약물의 용량 제한 독성과 연관된 약리학적 문제를 극복하기 위한 전략을 제공한다. 제공된 방법은, (1) 정상 조직 세포에 대한 노출을 최소화/감소시키고, (2) 암 세포에 대한 항엽산의 세포독성 효과를 최적화/개선하고, (3) 유출 펌프의 영향을 최소화/감소시키면서, 항엽산 페이로드의 (수송 기전의 결여로 인해) 이전에 전달 불가능한 폴리글루타메이트 형태를 종양 세포에 전달한다.

[0082] 본 명세서에 제공된 폴리글루타메이트화 화학 집합체는 폴리글루타메이트화 형태로 세포에 전달되지 않은 대응 항엽산에 비해 많은 이점을 달성한다. 예를 들어, 폴리글루타메이트화 항엽산은 (엽산 의존적 효소에 대한 증가된 결합 친화도를 통해) 증가된 활성 및 세포 보유를 갖도록 PMX, MTX, RTX 및 LTX와 같은 항엽산에 필요한 FPGS 유도된 폴리글루타메이트화 활성을 우회시키는 볼루스로서 투여된다. 본 명세서에서 도면, 본 개시내용 및 실시예에 반영된 바대로, 세포 내의 더 높은 폴리글루타메이트(예를 들어, 4개, 5개 또는 5개 초과)의 글루타메이트기를 함유하는 약물)의 보유는 이의 사슬 길이의 직접 함수이다. 따라서, 비결합된 MTX-Glu4의 상당한 부분 및 대부분의 MTX-Glu5는 세포의 약물의 제거 후 적어도 24시간 동안 세포에 남아 있고, DHFR, DNA 합성 및 세포 생존능력에 대한 저해 효과를 계속해서 발휘한다.

[0083] 새로운 화학 집합체는 뿐만 아니라 세포 및 엽산 경로의 분자 생물학을 조심스럽게 레버리징함으로써 항엽산의 폴리글루타메이트화 형태의 종양 세포내 농도를 증가 및/또는 최대화하도록 설계될 수 있다. 새로운 화학 집합체의 소정의 표적화된 형태는 종양과 정상 조직 사이에 차등 세포 극성을 이용할 수 있고, 여기서 암 특이적 형태는 암 치료를 위한 항엽산의 사용과 연관된 임상 및 약리학적 문제를 완화시키기 위한 목표에 유용한 것으로 인정받지 못하였다. 게다가, 새로운 화학 집합체는 세포 유출 펌프에 의해 매개되는 종양 세포 내성 치료를 최소화할 것이다.

[0084] 예로서 및 제한 없이, 표적화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물은 포획된 및/또는 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항엽산을 포함하는 폐길화된 리포솜; 및 아미노산 사슬(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)을 포함하는 표적화 모이어티, 복수의 아미노산을 포함하는 아미노산 사슬, 엽산 수용체의 적어도 하나의 유형에 대한 특이적 친화도를 갖는, PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착된 표적화 모이어티를 포함할 수 있다.

예시적인 실시형태에서, 리포솜 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산(LPA)은 페메트렉세드의 펜타글루타메이트 형태 또는 임의의 적합한 항염산의 펜타글루타메이트 형태일 수 있다. 예시적인 실시형태에서, 리포솜 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산(LPA)은 페메트렉세드의 헥사글루타메이트 형태 또는 임의의 적합한 항염산의 헥사글루타메이트 형태일 수 있다.

[0085] 예로서 및 제한 없이, 비표적화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 조성물은 포획된 및/또는 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 폐길화된 리포솜을 포함할 수 있다. 예시적인 실시형태에서, 리포솜 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산(LPA)은 페메트렉세드의 펜타글루타메이트 형태 또는 임의의 적합한 항염산의 펜타글루타메이트 형태일 수 있다. 예시적인 실시형태에서, 리포솜 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산(LPA)은 페메트렉세드의 헥사글루타메이트 형태 또는 임의의 적합한 항염산의 헥사글루타메이트 형태일 수 있다.

[0086] 몇몇 실시형태에서, 표적화된, 임의로 폐길화된, 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 조성물은 포획된 및/또는 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 폐길화된 리포솜; 및 아미노산 사슬(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)을 포함하는 표적화 모이어티, 복수의 아미노산을 포함하는 아미노산 사슬, 염산 수용체의 적어도 하나의 유형에 대한 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 포함한다. 특이적 친화도는 염산 수용체의 적어도 하나의 유형, PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착된 표적화 모이어티에 대해 예를 들어 제한 없이 0.5×10^{-10} 내지 10×10^{-6} mol[0.05나노몰 내지 10 μ몰]의 범위의 평형 해리 상수(Kd)를 포함하는 것으로 정의될 수 있다.

[0087] 몇몇 실시형태에서, 표적화된, 임의로 폐길화된, 리포솜 조성물은 포획된 및/또는 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 폐길화된 리포솜; 및 아미노산 사슬(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)을 포함하는 표적화 모이어티, 복수의 아미노산을 포함하는 아미노산 사슬, 염산 수용체의 적어도 하나의 유형에 대한 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티의 특이적 친화도는 염산 수용체의 적어도 하나의 유형에 대해 0.5×10^{-10} 내지 10×10^{-6} mol의 범위의 평형 해리 상수(Kd)이다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착된다.

[0088] 유리 세포독성제, 예컨대 증대된 활성에 대해 폴리글루타메이트화를 요하는 항염산의 사용에서 적어도 3개의 주요 제한이 있다. 본 명세서에 고려되고 개시된 새로운 화학 집합체는 이 기본적인 제한을 해결하도록 설계된다. 이 제한은 하기를 포함한다. 제1 제한은 정상 조직 세포에 대한 독성이고; 이 독성은 예를 들어 RFC 또는 PCFT를 통한 모노글루타메이트 형태의 세포 흡수 및 정상 조직 세포에서 연장된 세포 보유와 커플링된 증대된 세포 세포독성을 갖는 폴리글루타메이트화 형태로의 FPGS에 의한 이의 후속하는 세포내 전환으로 인한다. 제2 제한은 이러한 화합물이 세포막에 걸쳐 횡단할 수 없으므로 약물의 가장 활성인 폴리글루타메이트 형태의 적절한 양을 전달하는 것이다. 대신에, 이의 세포내 이용가능성은 세포외 환경으로부터 수송된 약물의 모노글루타메이트 형태를 폴리글루타메이트화하는 세포의 능력에 따라 달라진다. 제3 제한은 중앙 세포 내에 항염산의 가장 세포독성인 형태, 예컨대 펜타글루타메이트 및 헥사글루타메이트화 형태의 적절한 수준을 보유하는 것이다. 이것은 감소된 폴리글루타메이트화를 발생시키는 FPGS를 하향조절하고, 몇몇 경우에 GGH에 의한 폴리글루타메이트화 형태의 분해를 증가시키는 암 세포 능력, 및 세포 밖으로 염산의 더 고차의(예를 들어, 펜타글루타메이트화 및 헥사글루타메이트) 형태 및 이의 유사체가 아닌 모노 및 다른 저차의 글루타메이트화 형태(1-, 2-, 3-)-글루타메이트를 펌프질하는 능력을 갖는 유출 펌프(ATP-카세트)의 상향조절로 인한다.

[0089] 본 명세서에 고려되고 개시된 새로운 화학 집합체인 폴리글루타메이트화 항염산은 상기 단점 및 제한을 겪지 않고, 이들 및 다른 제한을 해결하도록 설계된다. 실제로, 새로운 화학 집합체는 약물의 활성 형태의 전신 수송, 세포 흡수 및 중앙내 세포 축적과 연관된 약리학적 문제를 감소시킬/최소화할 것이다. 본 개시내용의 새로운 화학 집합체는 항염산의 펜타글루타메이트화 및 헥사글루타메이트화 형태에 대한 노출에 대해 중앙 세포를 우선적으로 표적화하고/하거나, 골수에서 및 위장관의 상피 내벽에서 정상 세포, 특히 높은 턴오버(예를 들어, 빠르게 복제하는) 정상 세포에 대한 이러한 항염산 약물 각테일의 노출을 최소화한다.

[0090] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 조성물을 제공한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에 따르면, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랠티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화

구성원은 펜타글루타메이트화된다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 구성원은 헥사글루타메이트화된다.

- [0091] 일 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다.
- [0092] 일 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다.
- [0093] 또 다른 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다.
- [0094] 또 다른 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다.
- [0095] 부가적인 실시형태에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 조성물은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다.
- [0096] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 조성물을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 임의로 폐길화된 (PLPA)이다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 조성물은 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 조성물은 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 리포솜은 음이온성 또는 중성이다. 다른 실시형태에서, PLPA 리포솜은 양이온성이다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 조성물은 적어도 10%의 리포솜 포획된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 리포솜은 20nm 내지 200nm의 범위의 직경을 갖는다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 80nm 내지 120nm의 범위의 직경을 갖는다.
- [0097] 몇몇 실시형태에 따르면, LPA는 폴리글루타메이트화 MTX, 폴리글루타메이트화 PMX, 폴리글루타메이트화 LTX, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 RTX, 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화된다. 추가의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화된다.
- [0098] 일 실시형태에서, LPA는 폴리글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 펜타글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 헥사글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 및/또는 LTX를 포함한다.
- [0099] 일 실시형태에서, LPA는 폴리글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다.
- [0100] 또 다른 실시형태에서, LPA는 폴리글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다.
- [0101] 또 다른 실시형태에서, LPA는 폴리글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다.
- [0102] 부가적인 실시형태에서, LPA는 폴리글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 추가의 실시형태에서, LPA는 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다.
- [0103] 리포솜
- [0104] 몇몇 실시형태에서, 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산이 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산은 내부 공간을 포함하는 리포솜; 내부 공간 내에 배치된 폴리글루타메이트화 항염산; 리포솜의 외부에 부착된 PEG 분자; 및 암 세포의 표면에서 발현된 적어도 하나의 항원(예를 들어, 염산 수용체(예를 들어, FR- α , FR- β 및/또는 FR- δ))에 대한 특이적 친화도를 갖는 단백질(예를 들어, 항체 또는 항체 단편)을 포함하는, PEG 및 리포솜의 외부 중 적어도 하나에 부착된 표적화 모이어티를 포함할 수 있다.

- [0105] 다른 실시형태에서, 비표적화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산이 제공된다.
- [0106] 표적화된 및 비표적화된 리포솜 조성물에 함유된 리포솜은 당해 분야에 공지된 임의의 리포솜일 수 있다. 그러나, 임의의 특정한 약물, 예컨대, 및 제한 없이, 본 명세서에 기재된 폴리글루타메이트화 항염산의 리포솜 캡슐화가 유용하고 기능적인 리포솜 제제를 달성하기 위한 실질적인 일상적인 실험을 수반할 수 있는 것으로 당업자에 의해 이해될 것이다. 일반적으로, 제공된 리포솜은 임의의 리포솜 구조, 예를 들어 하나 이상의 지질 이중층에 의해 외부 매질로부터 봉쇄된 내부 공간을 갖는 구조, 또는 막이 내부를 봉쇄하는 친수성 중앙 부분을 갖는 반투과성 막을 갖는 임의의 마이크로캡슐을 가질 수 있다. 지질 이중층은 친수성 부분(친수성 모이어티) 및 소수성 부분(소수성 모이어티)을 특징으로 하는 양친매성 분자의 임의의 배열일 수 있다. 보통, 이중층에서의 양친매성 분자는 소수성 모이어티가 시트 안으로 배향되지만, 친수성 모이어티가 밖으로 배향된 2차원 시트로 배열된다. 제공된 리포솜을 형성하는 양친매성 분자는 임의의 공지된 또는 차후 개발된 양친매성 분자, 예를 들어 합성 또는 천연 기원의 지질 또는 생체적합성 지질일 수 있다. 리포솜은 또한 양친매성 중합체 및 계면활성제, 예를 들어 폴리머리포솜 및 니오솜에 의해 형성될 수 있다. 본 개시내용의 목적을 위해, 제한 없이, 이 리포솜 형성 재료는 또한 "지질"이라 칭해진다.
- [0107] 본 명세서에 제공된 리포솜 조성물 제제는 액체 또는 건조 형태, 예컨대 건조 분말 또는 건조 케이크일 수 있다. 건조 분말 또는 건조 케이크는 예를 들어 동결건조 조건 하에 1차 건조를 겪을 수 있거나, 임의로 건조 케이크 또는 건조 분말은 오직 1차 건조 둘 다 또는 1차 건조 및 2차 건조 둘 다를 겪을 수 있다. 건조 형태로, 분말 또는 케이크는 예를 들어 1% 내지 6%의 수분, 예를 들어 2% 내지 5%의 수분 또는 2% 내지 4%의 수분 등을 가질 수 있다. 하나의 예의 건조 방법은 동결건조(냉동 건조 또는 저온건조라고도 칭함)이다. 본 개시내용의 임의의 조성물 및 방법은 리포솜, 동결건조된 리포솜 또는 동결건조된 리포솜으로부터 재구성된 리포솜을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 개시된 조성물 및 방법은 하나 이상의 동결보호제 또는 저온보호제를 포함한다. 이 보호제는 통상적으로 폴리하이드록시 화합물, 예컨대 당(단당류, 이당류 및 다당류), 폴리알코올, 및 이의 유도체, 글라이세롤, 또는 폴리에틸렌글라이콜, 트레할로스, 말토스, 수크로스, 글루코스, 락토스, 텍스트란, 글라이세롤 또는 아미노글라이코사이드이다. 추가의 실시형태에서, 동결보호제 또는 저온보호제는 리포솜 외부에, 리포솜 내부에 또는 리포솜 외부 및 내부 둘 다에서 용액의 10% 이하 또는 20% 이하를 포함한다.
- [0108] 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 순환 시 이의 수명을 증가시키는 입체 안정화제를 포함한다. 하나 이상의 입체 안정화제, 예컨대 친수성 중합체(폴리에틸렌 글라이콜(PEG)), 당지질(모노시알로강글리오사이드(GM1)) 또는 기타는 리포솜 표면에 바로 인접한 공간을 점유하고, 이 공간으로부터 다른 거대분자를 배제한다. 결과적으로, 리포솜 표면에 대한 혈액 혈장 흡소닌의 접근 및 결합이 방해되고, 이에 따라 이러한 리포솜과의 마크로파지의 상호작용 또는 임의의 다른 청소 기전은 저해되고, 순환 시 리포솜의 수명은 증대된다. 몇몇 실시형태에서, 입체 안정화제 또는 입체 안정화제의 집단은 PEG 또는 PEG를 포함하는 조합이다. 추가의 실시형태에서, 입체 안정화제는 200 내지 5000달톤의 수 평균 분자량(Mn)을 갖는 PEG 또는 PEG를 포함하는 조합이다. 이 PEG(들)는 임의의 구조, 예컨대 선형, 분지형, 별 또는 빗 구조일 수 있고, 상업적으로 구입 가능하다.
- [0109] 개시된 리포솜의 직경은 특별히 제한되지는 않는다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 예를 들어 30 내지 150nm(나노미터)의 범위의 직경을 갖는다. 다른 실시형태에서, 리포솜은 40 내지 70nm의 범위의 직경을 갖는다.
- [0110] 리포솜의 특성은 리포솜을 제조하기 위해 사용된 지질의 성질에 의해 영향을 받는다. 광범위한 지질이 리포솜을 제조하기 위해 사용된다. 이것은 양이온성, 음이온성 및 중성 지질을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 리포솜은 음이온성 또는 중성이다. 다른 실시형태에서, 제공된 리포솜은 양이온성이다. 전하(예를 들어, 음이온성, 중성 또는 양이온성)의 결정은 리포솜의 제타 전위를 측정함으로써 일상적으로 결정될 수 있다. 리포솜의 제타 전위는 양수, 0 또는 음수일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜의 제타 전위는 0 이하이다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜의 제타 전위는 0 내지 -150mV의 범위이다. 또 다른 실시형태에서, 리포솜의 제타 전위는 -30 내지 -50mV의 범위이다.
- [0111] 몇몇 실시형태에서, 양이온성 지질은 유전자 형질주입 물질로서 보통 사용되는 양이온성 리포솜을 제조하기 위해 사용된다. 양이온성 리포솜에서의 양전하는 세포 표면 상의 음전하와의 상호작용이 가능하게 한다. 세포에 대한 양이온성 리포솜의 결합 이후에, 리포솜은 내포작용을 통해 세포 내부에 수송된다.
- [0112] 몇몇 실시형태에서, 중성 내지 음이온성 리포솜을 사용한다. 일 실시형태에서, 음이온성 리포솜을 사용한다. 예를 들어, 중성 지질, 예컨대 HSPC 및 음이온성 지질, 예컨대 PEG-DSPE의 혼합물의 사용은 정상 세포에 비특이적으로 덜 결합할 것 같은 음이온성 리포솜을 형성시킨다. 중앙 세포에 대한 특이적 결합은 중앙 표적화 항체, 예를 들어 엽산 수용체 알파 항체, 엽산 수용체 베타 항체 및/또는 엽산 수용체 델타 항체를 포함하는 엽산 수용

체 항체 등을 사용함으로써 달성될 수 있다.

- [0113] 예로서, 지질의 적어도 하나(또는 몇몇)는 친수성 부분 및 소수성 부분(통상적으로 친수성 헤드 및 소수성 꼬리)을 갖는 것으로 정의된 양친매성 지질이다. 소수성 부분은 통상적으로 소수성 상으로(예를 들어, 이중층 내부에) 배향하는 한편, 친수성 부분은 통상적으로 수성 상을 향해(예를 들어, 이중층 외부에) 배향한다. 친수성 부분은 극성 또는 하전된 기, 예컨대 탄수화물, 포스페이트, 카복실릭, 설페이트, 아미노, 설프하이드릴, 나이트로, 하이드록시 및 다른 유사한 기를 포함할 수 있다. 소수성 부분은 제한 없이 장쇄 포화 및 불포화 지방족 탄화수소 기, 및 하나 이상의 방향족, 지환족 또는 헤테로사이클릭 기(들)에 의해 치환된 기를 포함하는 비극성 기를 포함할 수 있다. 양친매성 화합물의 예는 인지질, 아미노지질 및 스펅고지질을 포함하지만, 이들은 제한되지는 않는다.
- [0114] 통상적으로, 예를 들어 지질은 인지질이다. 인지질은 제한 없이 포스파티딜콜린, 포스파티딜에탄올아민, 포스파티딜글라이세롤, 포스파티딜이노시톨, 포스파티딜세린 등을 포함한다. 다른 지질 막 성분, 예컨대 콜레스테롤, 스펅고미엘린 및 카디올리핀(cardiolipin)이 사용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.
- [0115] 본 명세서에 제공된 리포솜을 포함하는 지질은 음이온성 및 중성 인지질을 포함하는 음이온성 및 중성(쌍성이온 및 극성 포함) 지질일 수 있다. 중성 지질은 선택된 pH에서 비하전된 또는 중성 쌍성이온 형태로 존재한다. 생리학적 pH에서, 이러한 지질은 예를 들어 다이올레오일포스파티딜글라이세롤(DOPG), 다이아실포스파티딜콜린, 다이아실포스파티딜에탄올아민, 세라마이드, 스펅고미엘린, 세팔린, 콜레스테롤, 세레브로사이드 및 다이아실글라이세롤을 포함한다. 쌍성이온 지질의 예는 제한 없이 다이올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 다이미리스토일포스파티딜콜린(DMPC) 및 다이올레오일포스파티딜세린(DOPS)을 포함한다. 음이온성 지질은 생리학적 pH에서 음으로 하전된다. 이 지질은 제한 없이 포스파티딜글라이세롤, 카디올리핀, 다이아실포스파티딜세린, 다이아실포스파티딘산, N-도데카노일 포스파티딜에탄올아민, N-숙신일 포스파티딜에탄올아민, N-글루타릴포스파티딜에탄올아민, 라이실포스파티딜글라이세롤, 팔미토일로엘올포스파티딜글라이세롤(POPG) 및 중성 지질에 연결된 다른 음이온성 변형 기를 포함한다.
- [0116] 종합적으로, 음이온성 및 중성 지질은 본 명세서에서 비양이온성 지질이라 칭해진다. 이러한 지질은 인을 함유할 수 있지만, 이것은 이렇게 제한되지는 않는다. 비양이온성 지질의 예는 레시틴, 라이소레시틴, 포스파티딜에탄올아민, 라이소포스파티딜에탄올아민, 다이올레오일포스파티딜에탄올아민(DOPE), 다이팔미토일 포스파티딜 에탄올아민(DPPE), 다이미리스토일포스포에탄올아민(DMPE), 다이스테아로일포스파티딜-에탄올아민(DSPE), 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민(POPE) 팔미토일올레오일포스파티딜콜린(POPC), 난 포스파티딜콜린(EPC), 다이스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 다이올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 다이팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 다이올레오일포스파티딜글라이세롤(DOPG), 다이팔미토일포스파티딜글라이세롤(DPPG), 팔미토일로엘올포스파티딜글라이세롤(POPG), 16-0-모노메틸 PE, 16-0-다이메틸 PE, 18-1-트랜스 PE, 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민(POPE), 1-스테아로일-2-올레오일포스파티딜에탄올아민(SOPE), 포스파티딜세린, 포스파티딜이노시톨, 스펅고미엘린, 세팔린, 카디올리핀, 포스파티딘산, 세레브로사이드, 다이세틸포스페이트 및 콜레스테롤을 포함한다.
- [0117] 리포솜은 당해 분야에 공지된 리포솜 성분(리포솜 성분이라고도 칭함)을 사용하여 임의의 리포솜 어셈블리 방법을 이용하여 어셈블링될 수 있다. 리포솜 성분은 예를 들어 지질, 예컨대 DSPE, HSPE, 콜레스테롤 및 이들 성분의 유도체를 포함한다. 다른 적합한 지질은 예를 들어 Avanti Polar Lipids, Inc.(미국 앨라배마주 알바스터)로부터 상업적으로 구입 가능하다. 음이온성 리포솜을 제조하기에 적합한 이용 가능한 음으로 또는 중성으로 하전된 지질의 부분 목록은 예를 들어 하기 중 적어도 하나일 수 있다: DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DOPC, DMPE, DPPE, DOPE, DMPA • Na, DPPA • Na, DOPA • Na, DMPG • Na, DPPG • Na, DOPG • Na, DMPS • Na, DPPS • Na, DOPS • Na, DOPE-글루타릴 • (Na)₂, 테트라미리스토일 카디올리핀 • (Na)₂, DSPE-mPEG-2000 • Na, DSPE-mPEG-5000 • Na 및 DSPE-말레이미드 PEG-2000 • Na.
- [0118] 지질 유도체는 예를 들어 적어도 리포솜 성분에 대한 하나 이상의 입체 안정화제 및/또는 작용기의 결합(바람직하게는 공유 결합)을 포함할 수 있고, 이후 입체 안정화제 및/또는 작용기는 리포솜 성분의 부분이라고 생각되어야 한다. 작용기는 리포솜 성분을 또 다른 모이어티, 예컨대 단백질에 부착시키도록 사용될 수 있는 기를 포함한다. 이러한 작용기는 적어도 말레이미드를 포함한다. 이 입체 안정화제는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG); 폴리-L-라이신(PLL); 모노시알로강글리오사이드(GM1); 폴리(비닐 피롤리돈)(PVP); 폴리(아크릴아마이드)(PAA); 폴리(2-메틸-2-옥사졸린); 폴리(2-에틸-2-옥사졸린); 포스파티딜 폴리글라이세롤; 폴리[N-(2-하이드록시프로필) 메타크릴아마이드]; 양친매성 폴리-N-비닐피롤리돈; L-아미노산계 중합체; 및 폴리비닐 알코올로 이루어진 군으로

부터의 적어도 하나를 포함한다.

- [0119] 리포솜의 성분이 이것에 결합된 임의의 분자(들)(즉, 화학/시약/단백질)을 포함할 수 있으므로, 몇몇 실시형태에서, 제공된 리포솜의 성분은 적어도 DSPE, DSPE-PEG, DSPE-말레이미드, HSPC; HSPC-PEG; HSPC-말레이미드; 콜레스테롤; 콜레스테롤-PEG; 및 콜레스테롤-말레이미드의 군으로부터 선택된 구성원을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 제공된 리포솜의 성분은 DSPE, DSPE-PEG, DSPE-말레이미드, HSPC; HSPC-PEG; HSPC-말레이미드; 콜레스테롤; 콜레스테롤-PEG; 및 콜레스테롤-말레이미드를 포함한다. 예시적인 실시형태에서, 리포솜을 구성하는 리포솜 성분은 DSPE; DSPE-FITC; DSPE-말레이미드; 콜레스테롤; 및/또는 HSPC를 포함한다.
- [0120] 몇몇 실시형태에서, 리포솜 지질 이중층의 적어도 하나의 성분은 작용기화된다(또는 반응성이다). 본 명세서에 사용된 바대로, 작용기화된 성분은 시약 및 모이어티를 지질로 가교결합시키도록 사용될 수 있는 반응성 기를 포함하는 성분이다. 지질이 작용기화되면, 이것이 형성하는 임의의 리포솜은 또한 작용기화된다. 몇몇 실시형태에서, 반응성 기는 가교결합을 형성하도록 가교결합제(또는 다른 모이어티)와 반응하는 것이다. 리포솜 지질 이중층 내의 반응성 기는 이것이 가교결합제를 접촉시키고 또 다른 모이어티(예를 들어, 입체 안정화제 또는 표적화 모이어티)와 가교결합되게 하는 지질 상의 어느 곳이든 위치한다. 몇몇 실시형태에서, 반응성 기는 예를 들어 인지질을 포함하는 지질의 헤드 기에 있다. 몇몇 실시형태에서, 반응성 기는 말레이미드기이다. 말레이미드기는 다이티올트레이톨(DTT)(이것으로 제한되지는 않음)을 포함하는 다이티올 가교결합제의 존재 하에 서로에 가교결합될 수 있다.
- [0121] 상기 기재된 것을 넘어 다른 작용기화된 지질, 다른 반응성 기 및 다른 가교결합제의 사용이 추가로 고려되는 것으로 이해되어야 한다. 말레이미드기 이외에, 고려되는 반응성 기의 다른 예는 다른 티올 반응성 기, 아미노기, 예컨대 1차 및 2차 아민, 카복실기, 하이드록실기, 알데하이드기, 알킨기, 아지드기, 카보닐, 할로 아세틸(예를 들어, 요오도아세틸)기, 이미도에스터기, N-하이드록시숙신이미드 에스터, 설프하이드릴기 및 피리딜 다이설파이드기를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0122] 작용기화된 및 비작용기화된 지질은 Avanti Polar 5 Lipids(엘라베마주 알바스터)를 포함하는 다수의 상업적 소스로부터 구입 가능하다.
- [0123] 몇몇 실시형태에서, 제공된 리포솜은 이의 외부에 배치된 면역자극제, 검출 가능한 마커, 또는 둘 다를 추가로 포함한다. 면역자극제 또는 검출 가능한 마커는 예를 들어 임의로 리포솜의 입체 안정화제 성분예를 포함하여 리포솜의 외부에 이온성으로 결합되거나 공유로 결합될 수 있다.
- [0124] 면역자극 물질 및 면역자극성 물질로도 공지된 용어 면역자극제는 임의의 이의 성분의 활성화를 유도하거나 활성을 증가시킴으로써 면역계를 자극하는 물질을 의미한다. 이 면역자극제는 합텐, 애주번트, 단백질 면역자극제, 핵산 면역자극제 및 화학 면역자극제 중 하나 이상을 포함할 수 있다. 많은 애주번트는 면역 반응을 자극하도록 설계된 물질, 예컨대 지질 A, 보르데텔라 백일해 또는 마이코박테륨 결핵 유래된 단백질을 함유한다. 소정의 애주번트는 예를 들어 프로인트 불완전 애주번트 및 완전 애주번트(Difco Laboratories(미시간주 디트로이트)); Merck Adjuvant 65(Merck and Company, Inc.(뉴저지주 라웨이)); AS-2(SmithKline Beecham(펜실베이니아주 필라델피아)); 알루미늄염, 예컨대 수산화알루미늄 겔(명반) 또는 인산알루미늄; 칼슘, 철 또는 아연의 염; 아실화된 타이로신의 불용성 현탁액; 아실화된 당; 양이온성으로 또는 음이온성으로 유도체화된 다당류; 폴리포스파젠; 생체분해성 마이크로구체; 모노포스포릴 지질 A 및 quil A로서 상업적으로 구입 가능하다. 사이토킨, 예컨대 GM-CSF, 인터류킨-2, -7, -12, 및 다른 유사한 성장 인자는 애주번트로서 또한 사용될 수 있다. 예시적인 실시형태에서, 면역자극제는 플루오레세인, DNP, 베타 글루칸, 베타-1,3-글루칸, 베타-1,6-글루칸으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나일 수 있다.
- [0125] 검출 가능한 마커는 예를 들어 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 수단, 예를 들어 자기 공명 영상화(MRI), 광학 영상화, 형광/발광 영상화 또는 핵 영상화 기법에 의해 검출 가능한, 적어도 방사선동위원소, 형광성 화합물, 생물발광 화합물, 화학발광 화합물, 금속 킬레이트제, 효소, 염료, 잉크, 자기 화합물, 생체촉매 또는 안료를 포함할 수 있다.
- [0126] 몇몇 실시형태에서, 면역자극제 및/또는 검출 가능한 마커는 이것을 리포솜과 동시향온처리함으로써 외부에 부착된다. 예를 들어, 면역자극제 및/또는 검출 가능한 마커는 소수성 상호작용에 의해 또는 이온 결합, 예컨대 아비딘/바이오틴 결합 또는 금속 킬레이트화 결합(예를 들어, Ni-NTA)에 의해 리포솜 막과 회합될 수 있다. 대안적으로, 면역자극제 또는 검출 가능한 마커는, 예를 들어 리포솜 성분 또는 PEG인 입체 안정화제에 공유 결합됨으로써, 리포솜의 외부에 공유 결합될 수 있다.

- [0127] 하나의 예시적인 시약은 실험에 기초하여 면역자극제 및 검출 가능한 마커 둘 다로서 작용할 수 있는 플루오레세인 아이소티오사이아네이트(fluorescein isothiocyanate: FITC)이다.
- [0128] 추가의 비제한적인 실시형태에서, 제공된 리포솜은 내부 공간을 둘러싼다. 몇몇 실시형태에서, 내부 공간은 수성 용액을 포함하지만, 이것으로 제한되지는 않는다. 몇몇 실시형태에서, 내부 공간은 본 명세서에 제공된 바대로 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 내부 공간은 약제학적으로 허용 가능한 담체, 예컨대 트레할로스를 추가로 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 트레할로스는 5% 내지 20%의 전체 농도로 하나 이상의 동결보호제 또는 저온보호제의 임의의 조합 또는 트레할로스의 약 5% 내지 20중량%로 존재한다. 몇몇 실시형태에서, 내부 공간은 완충제를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 완충제는 HEPES 완충제 또는 시트레이트 완충제이다. 훨씬 추가의 실시형태에서, 시트레이트 완충제는 5 내지 200mM의 농도이다. 몇몇 실시형태에서, 내부 공간은 2.8 내지 6의 pH를 갖는다. 부가적인 실시형태에서, 리포솜의 내부 공간은 아세트산나트륨 및/또는 아세트산칼슘을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜의 내부 공간은 50mM 내지 500mM의 아세트산나트륨 및 아세트산칼슘의 전체 농도를 포함한다.
- [0129] 몇몇 실시형태에서, 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산은 내부 공간을 포함하는 리포솜; 내부 공간 내에 배치된 수성 폴리글루타메이트화 항염산; 및 적어도 하나의 염산 수용체에 대한 특이적 친화도를 갖는 단백질을 포함하는 표적화 모이어티를 포함하는 매질을 포함하고, 표적화 모이어티는 리포솜의 외부에 배치된다. 몇몇 실시형태에서, 매질은 수성 용액이다. 몇몇 실시형태에서, 내부 공간, 외부 공간(예를 들어, 매질), 또는 내부 공간 및 매질 둘 다는 상기 기재된 하나 이상의 동결보호제 또는 저온보호제를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 저온보호제는 만니톨, 트레할로스, 소르비톨, 및/또는 수크로스이다.
- [0130] 몇몇 실시형태에서, 비표적화된 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산은 내부 공간을 포함하는 리포솜; 및 내부 공간 내에 배치된 수성 폴리글루타메이트화 항염산을 함유하는 매질을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 매질은 수성 용액이다. 몇몇 실시형태에서, 내부 공간, 외부 공간(예를 들어, 매질), 또는 내부 공간 및 매질 둘 다는 상기 기재된 하나 이상의 동결보호제 또는 저온보호제를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 저온보호제는 만니톨, 트레할로스, 소르비톨, 및/또는 수크로스이다.
- [0131] 상기 기재된 바대로, 리포솜은 순환 시 이의 수명을 증가시킬 수 있는 입체 안정화제를 포함할 수 있다. 입체 안정화제를 포함한 실시형태에 대해, 입체 안정화제는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG), 폴리-L-라이신(PLL), 모노시알로강글리오사이드(GM1), 폴리(비닐 피롤리돈)(PVP), 폴리(아크릴아마이드)(PAA), 폴리(2-메틸-2-옥사졸린), 폴리(2-에틸-2-옥사졸린), 포스파티딜 폴리글라이세롤, 폴리[N-(2-하이드록시프로필) 메타크릴아마이드], 양친매성 폴리-N-비닐피롤리돈, L-아미노산계 중합체 및 폴리비닐 알코올로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 구성원일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 입체 안정화제 또는 입체 안정화제의 집단은 PEG이다. 일 실시형태에서, 입체 안정화제는 PEG이다. 추가의 실시형태에서, PEG는 200 내지 5000달톤의 수 평균 분자량(Mn)을 갖는다. 이 PEG(들)는 임의의 구조, 예컨대 선형, 분지형, 별 또는 빗 구조일 수 있고, 상업적으로 구입 가능하다.
- [0132] 몇몇 실시형태에서, 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(LPA 또는 PLPA)은 수용성이다. 즉, 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산은 수성 용액의 형태이다. 몇몇 실시형태에서, LPA 또는 PLPA는 폴리글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유하는 내부 공간을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, LPA 또는 PLPA는 폴리글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 추가의 실시형태에서, LPA 또는 PLPA는 펜타글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 추가의 실시형태에서, LPA 또는 PLPA는 펜타글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다.
- [0133] 몇몇 실시형태에서, LPA 또는 PLPA의 내부 공간은 폴리글루타메이트화 MTX, 폴리글루타메이트화 PMX, 폴리글루타메이트화 LTX, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 RTX, 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 PMX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 MTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 펜타글루타메이트화 LTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 헥사글루타메이트화 LTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다.

- [0134] 몇몇 실시형태에서, LPA 또는 PLPA의 내부 공간은 폴리글루타메이트화 MTX, 폴리글루타메이트화 PMX, 폴리글루타메이트화 LTX, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 RTX, 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 PMX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 MTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 RTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 펜타글루타메이트화 LTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 헥사글루타메이트화 LTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다.
- [0135] 몇몇 실시형태에서, LPA 또는 PLPA의 내부 공간은 펜타글루타메이트화 항염산 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 펜타글루타메이트화 PMX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 펜타글루타메이트화 MTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 펜타글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 펜타글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다.
- [0136] 몇몇 실시형태에서, LPA 또는 PLPA의 내부 공간은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 헥사글루타메이트화 PMX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 헥사글루타메이트화 MTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 헥사글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 헥사글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다.
- [0137] 몇몇 실시형태에서, 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산은 폐길화된다(즉, 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산(PLPA 또는 PLPNA)). 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 수용성이다. 즉, PLPA 또는 PLPNA는 수성 용액의 형태이다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 폴리글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 폴리글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다.
- [0138] 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA의 내부 공간은 폴리글루타메이트화 MTX, 폴리글루타메이트화 PMX, 폴리글루타메이트화 LTX, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 RTX, 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 폴리글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 PMX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 폴리글루타메이트화 MTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 폴리글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 LTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 LTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다.
- [0139] 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA의 내부 공간은 폴리글루타메이트화 항염산: 폴리글루타메이트화 MTX, 폴리글루타메이트화 PMX, 폴리글루타메이트화 LTX, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 RTX, 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 폴리글루타메이트화 PMX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 폴리글루타메이트화 MTX의 10,000개

내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 폴리글루타메이트화 RTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 LTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 LTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다.

[0140] 추가의 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA의 내부 공간은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 PMX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 MTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다.

[0141] 추가의 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA의 내부 공간은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 PMX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 MTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 RTX의 200,000개 미만의 분자를 함유한다.

[0142] 추가의 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA의 내부 공간은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 PMX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 MTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 RTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 펜타글루타메이트화 RTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다.

[0143] 추가의 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA의 내부 공간은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 PMX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 MTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 RTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, PLPA 또는 PLPNA는 헥사글루타메이트화 RTX의 10,000개 내지 100,000개의 분자를 함유한다.

[0144] 몇몇 실시형태에서, 리포솜 조성물을 포함하는 용액의 pH는 pH 5 내지 8 또는 pH 2 내지 6이다.

[0145] 표적화된 리포솜

[0146] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 리포솜이 폐길화되고, 폴리글루타메이트화 항염산 및 PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착된 표적화 모이어티를 포함하고, 표적화 모이어티가 관심 대상의 표적 세포 상의 표면 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는, 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 조성물을 제공한다. 이러한 리포솜은 일반적으로 본 명세서에서 "표적화된 리포솜", 예를 들어 리포솜의 표면 상의 또는 달리 이것에 부착된, 하나 이상의 표적화 모이어티 또는 생체분포 변형제를 포함하는 리포솜이라 칭해질 수 있다. 표적화된 리포솜의 표적화 모이어티는 원하는 표적(예를 들어, 관심 대상의 표적 세포의 표면에서 발현된 항원 표적)에 특이적으로 결합

합할 수 있는 임의의 모이어티 또는 물질일 수 있다. 일 실시형태에서, 표적화된 리포솜은 특이적으로 및 우선적으로 리포솜 캡슐화된 폴리글루타메이트화 세포독성제(예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산, 예컨대 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 PMX, LTX 및 MTX)가 이의 세포독성 효과를 발휘하는 표적화된 리포솜을 내재화하는 관심 대상의 표적 세포의 표면 상의 표적에 결합한다. 추가의 실시형태에서, 표적 세포는 암 세포, 종양 세포 또는 전이성 세포이다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 리포솜은 면역리포솜이다.

[0147] 용어 부착한다 또는 부착된은 예를 들어 임의의 유형의 결합, 예컨대 공유 결합, 소수성 상호작용에 의한 이온 결합(예를 들어, 아비딘-바이오틴) 및 작용기, 예컨대 말레이미드, 또는 링커, 예컨대 PEG를 통한 결합을 의미한다. 예를 들어, 검출 가능한 마커, 입체 안정화제, 리포솜, 리포솜 성분, 면역자극제는 직접적으로, 말레이미드 작용기에 의해 또는 PEG-말레이미드기에 의해 서로에 부착될 수 있다.

[0148] 몇몇 실시형태에서, 리포솜에 부착된 표적화 모이어티는 폴리펩타이드이다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 항체 또는 항체의 단편이다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 항체, 인간화 항체, 항체의 항원 결합 단편, 단쇄 항체, 단일-도메인 항체, 이중특이적 항체, 합성 항체, 폐길화된 항체 및 다합체 항체 중 하나 이상을 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 종양 세포에 존재하지만 비종양 세포에 부재하거나 접근 불가능한 종양 세포 표면 항원 상의 에피토프에 대한 특이적 친화도를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 PEG 및 리포솜의 외부 중 적어도 하나에 배치된 면역자극제, 검출 가능한 마커 및 말레이미드 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(LPA) 또는 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(PLPA) 리포솜의 표적화 모이어티는 음이온성 또는 중성이다. 다른 실시형태에서, LPA 또는 PLPA 리포솜의 표적화 모이어티는 양이온성이다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티 LPA 또는 PLPA 리포솜 조성물은 적어도 10%의 리포솜 포획된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티-LPA 또는 표적화 모이어티-PLPA 리포솜은 20nm 내지 200nm의 범위의 직경을 갖는다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 80nm 내지 120nm의 범위의 직경을 갖는다.

[0149] 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티-LPA 또는 표적화 모이어티-PLPA는 폴리펩타이드 표적화 모이어티, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 포함하고, 표적화 모이어티는 BIACORE 분석을 이용하여 결정된 바대로 0.5×10^{-10} 내지 10×10^{-6} 의 범위의 평형 해리 상수(Kd)로 표적 항원에 결합한다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티-LPA 또는 표적화 모이어티-PLPA는 폴리펩타이드 표적화 모이어티를 포함한다.

[0150] 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티-LPA 또는 표적화 모이어티-PLPA는 폴리펩타이드 표적화 모이어티, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 포함하고, 표적화 모이어티는 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 염산 수용체- α , 염산 수용체- β , 뮤신 1(Mucin 1), 염산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린(Mesothelin), 넵틴 4(Nectin 4), ENPP3, 구아닐릴 시클라제 C(Guanylyl cyclase C: GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린(P-Cadherin), 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(Fibronectin Extra-domain B: ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신(Tenascin), 콜라겐 IV, 페리오스틴(Periostin), 엔도텔린 수용체(endothelin receptor), HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는다.

[0151] 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 폴리펩타이드 표적화 모이어티, 예컨대 항체 또는 항체 단편을 포함하고, 표적화 모이어티는 염산 수용체에 대한 결합 특이성을 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 BIACORE 분석을 이용하여 결정된 바대로 0.5×10^{-10} 내지 10×10^{-6} 의 범위의 평형 해리 상수(Kd)로 염산 수용체에 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티에 의해 결합된 염산 수용체는 염산 수용체 알파(FR- α), 염산 수용체 베타(FR- β) 및 염산 수용체 델타(FR- δ)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 염산 수용체이다.

[0152] 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 관심 대상의 표적화된 세포의 표면 상에 발현된 관심 대상의 표적에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체의 항원 결합 부분이다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 전장 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 항체의 항원 결합 부분이다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 항체 기원의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 개시된 표적화된 리포솜에 대한 표적화 모이어티로서 작용할 수 있는 적합한 단백질의 예는 전장 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 항체의 항원 결합 단편, 단쇄 항체, 단일-도메인 항체, 이중특이적 항체, 합성 항체, 폐길화된 항체 및 다합체 항체를 포함한다. 제공된 표적화된 리포솜의 항체는 상기 특징의 조합을 가질 수 있다. 예를 들어, 인간화 항체는 항원 결합 단편일 수 있고, 또한 폐길화되고 다합체화될 수 있다.

[0153] 용어 "인간화 항체"는 최소 비인간(예를 들어, 쥐)과) 서열을 함유하는 특이적 면역글로불린 사슬, 키메라 면역

글로불린 또는 이의 단편인 비인간(예를 들어, 쥐과) 항체의 형태를 의미한다. 통상적으로, 인간화 항체는 상보성 결정 영역(CDR)으로부터의 잔기가 원하는 특이성, 친화도 및 역량을 갖는 비인간 중(예를 들어, 마우스, 래트, 토끼 및 햄스터)의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 면역글로불린이다(Jones *et al.*, Nature 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, Nature 332:323-327 (1988); Verhoeyen *et al.*, Science 239:1534-1536 (1988)). 몇몇 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역(FR) 잔기는 원하는 특이성, 친화도 및 역량을 갖는 비인간 중으로부터의 항체에서 상응하는 잔기에 의해 대체된다. 인간화 항체는 항체 특이성, 친화도, 및/또는 역량을 개선하고 최적화하도록 Fv 프레임워크 영역에서 및/또는 대체된 비인간 잔기 내에 부가적인 잔기의 치환에 의해 추가로 변형될 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 비인간 면역글로불린에 상응하는 CDR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두를 함유하는 적어도 1개, 및 통상적으로 2개 또는 3개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함하는 한편, FR 영역의 모두 또는 실질적으로 모두는 인간 면역글로불린 공통 서열의 것이다. 인간화 항체는 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인(Fc)의 적어도 일부, 통상적으로 인간 면역글로불린의 것을 또한 포함할 수 있다. 인간화 항체를 생성하기 위해 사용된 방법의 예는 미국 특허 제5,225,539호 및 제5,639,641호에 기재되어 있다.

[0154] 본 명세서에 기재된 바대로, 엽산 수용체(FR)는 환원된 엽산 캐리어(RFC)로부터 구별되고, 엽산 및 항엽산을 세포에 데려가는 데 상이한 경로를 이용한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 엽산 수용체에 특이적으로 결합한다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 엽산 수용체 알파, 엽산 수용체 베타 및 엽산 수용체 델타로부터 선택된 엽산 수용체에 특이적으로 결합한다. 엽산 수용체 알파에 대한 항체는 일상적으로 당해 분야에 공지된 기법을 이용하여 생성될 수 있다. 더욱이, 다수의 항엽산 수용체 항체의 서열은 공공 도메인에 있고/있거나, 상업적으로 구입 가능하고, 용이하게 수득 가능하다.

[0155] 엽산 수용체에 대한 쥐과 항체는 엽산 수용체에 대해 쥐과 항체인 개시된 표적화된 리포솜의 표적화 모이어티로서 사용될 수 있는 항체의 예이다. 이 항체의 서열은 공지되어 있고, 예를 들어 미국 특허 제5,646,253호; 제 8,388,972호; 제8,871,206호; 및 제9,133,275호 및 국제 출원 제PCT/US2011/056966호 및 제PCT/US2012/046672호에 기재되어 있다. 예를 들어, 공공 도메인에 이미 개시된 서열에 기초하여, 항체에 대한 유전자는 합성되고 일시적 발현 벡터에 배치될 수 있고, 항체는 HEK-293 일시적 발현 시스템에서 제조되었다. 항체는 완전한 항체, Fab, 또는 본 명세서에 기재되거나 당해 분야에 달리 공지된 임의의 다양한 항체 변이일 수 있다.

[0156] 몇몇 실시형태에서, 표적화된 리포솜은 30개 내지 500개의 표적화 모이어티(예를 들어, 30개 내지 250개의 표적화 모이어티 또는 30개 내지 200개의 표적화 모이어티)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 제공된 표적화된 리포솜은 220개 미만의 표적화 모이어티, 200개 미만의 표적화 모이어티 또는 175개 미만의 표적화 모이어티를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 (예를 들어, 이온 상호작용 또는 GPI 앵커를 통해) 리포솜의 밖으로 비공유로 결합된다.

[0157] 몇몇 실시형태에서, 표적화된 리포솜의 밖에서의 분자는 지질, 표적화 모이어티, 입체 안정화제(예를 들어, PEG), 말레이미드 및 콜레스테롤을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 말레이미드 작용기를 통해 공유로 결합된다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 리포솜 성분 또는 입체 안정화제, 예컨대 PEG 분자에 공유로 결합된다. 몇몇 실시형태에서, 모든 표적화 모이어티는 리포솜의 하나의 성분, 예컨대 PEG에 결합된다. 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티는 리포솜의 상이한 성분에 결합된다. 예를 들어, 몇몇 표적화 모이어티는 지질 성분 또는 콜레스테롤에 결합될 수 있고, 몇몇 표적화 모이어티는 입체 안정화제(예를 들어, PEG)에 결합될 수 있고, 훨씬 다른 표적화 모이어티는 검출 가능한 마커 또는 또 다른 표적화 모이어티에 결합될 수 있다.

[0158] 몇몇 실시형태에서, 표적화된 리포솜의 표적화 모이어티는 암 세포의 표면에서 발현된 항원에 대한 친화도 및 특이성을 갖는다(즉, 이에 특이적으로 결합한다). 추가의 몇몇 실시형태에서, 표적화된 리포솜의 표적화 모이어티는 엽산 수용체 알파, 엽산 수용체 베타 및 엽산 수용체 델타로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 항원에 대한 친화도 및 특이성을 갖는다. 일 실시형태에서, 표적화 모이어티는 엽산 수용체 알파, 엽산 수용체 베타 및 엽산 수용체 델타로 이루어진 군으로부터 선택된 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는다(즉, 이에 특이적으로 결합한다). 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 엽산 수용체 알파, 엽산 수용체 베타 및 엽산 수용체 델타로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는다. 또 다른 실시형태에서, 표적화 모이어티는 예를 들어 엽산 수용체 알파; 엽산 수용체 베타; 및 엽산 수용체 델타인 3개의 항원에 대한 특이적 친화도를 갖는다. 때때로 표적화 모이어티가 완전한 항원에 결합하지 않고, 항원에서의 많은 에피토프들 중 단지 하나의 에피토프에 결합하므로, 표적화 모이어티는 에피토프에 대한 친화도 및 특이성을 가질 수 있다.

[0159] 용어 "에피토프" 또는 "항원성 결정부위"는 본 명세서에서 상호 교환되어 사용되고, 특정한 항체 또는 결합 모

이어티에 의해 인식되고 특이적으로 결합될 수 있는 항원의 부분을 의미한다. 항원이 폴리펩타이드일 때, 에피토프는 단백질의 3차 폴딩에 의해 병치된 인접 아미노산 및 비인접 아미노산 둘 다로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산으로부터 형성된 에피토프가 단백질 변성에서 통상적으로 보유했던 반면, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 단백질 변성에서 통상적으로 소실된다. 에피토프는 통상적으로 고유한 공간 구성에서 적어도 3개, 및 더 보통은, 적어도 5개 또는 8개 내지 10개의 아미노산을 포함한다.

[0160] 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 종양 세포에 존재하지만, 비종양 세포에 부재하거나 접근 불가능한 종양 세포 표면 항원 상의 에피토프에 특이적 친화도를 갖는다. 예를 들어, 몇몇 경우에, 종양 항원은 정상 세포 및 악성 암 세포 둘 다 표면에 있지만, 종양 에피토프는 암 세포에서 오직 노출된다. 추가의 예로서, 종양 항원은 암에서 구성 변화를 경험하여서 암 세포 특이적 에피토프가 존재하게 할 수 있다. 본 명세서에 기재된 에피토프에 대한 특이적 친화도를 갖는 표적화 모이어티는 유용하고, 개시된 조성물 및 방법에 의해 포함된다. 몇몇 실시형태에서, 암 세포 특이적 에피토프(들)를 갖는 종양 세포는 암 세포이다. 이러한 종양 세포 표면 항원의 예는 엽산 수용체 알파, 엽산 수용체 베타 및 엽산 수용체 델타를 포함한다.

[0161] 몇몇 실시형태에서, 리포솜 조성물은 리포솜 및 담체, 예를 들어 약제학적으로 허용 가능한 담체를 함유하는 약제학적 조성물로서 제공된다. 제공된 약제학적 조성물에 함유된 약제학적으로 허용 가능한 담체의 예는 일반 식염수, 등장성 텍스트로스, 등장성 수크로스, 링거액 및 헵크액을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 완충제 물질은 약제학적 조성물의 저장 안정성을 위해 최적 pH를 유지시키도록 첨가된다. 몇몇 실시형태에서, 약제학적 조성물의 pH는 6.0 내지 7.5이다. 몇몇 실시형태에서, pH는 6.3 내지 7.0이다. 추가의 실시형태에서, pH는 6.5이다. 이상적으로, 약제학적 조성물의 pH는 리포솜 막 지질의 안정성 및 포획된 집합체의 보유 둘 다를 허용한다. 통상적으로 2 내지 20mM 농도의 히스티딘, 하이드록시에틸피페라진-에틸설포네이트(HEPES), 모르포리포에틸설포네이트(MES), 숙시네이트, 타르트레이트 및 시트레이트는 예시적인 완충제 물질이다. 다른 적합한 담체는 예를 들어 물, 완충 수성 용액, 0.4% NaCl 및 0.3% 글라이신을 포함한다. 단백질, 탄수화물 또는 중합체성 안정화제 및 등장성 조정제, 예를 들어 젤라틴, 알부민, 텍스트란 또는 폴리비닐피롤리돈을 첨가할 수 있다. 조성물의 등장성은 글루코스 또는 더 불활성인 화합물, 예컨대 락토스, 수크로스, 만니톨 또는 텍스트린에 의해 0.25 내지 0.35mol/kg의 생리학적 수준으로 조정될 수 있다. 이 조성물은 당해 분야에 공지된 종래의 무균 기법을 이용하여 (예를 들어, 여과에 의해) 일상적으로 살균될 수 있다. 생성된 수성 용액은 사용을 위해 포장되거나, 무균 조건 하에 여과되고 동결건조될 수 있고, 동결건조된 제제는 투여 전에 무균 수성 매질과 배합된다.

[0162] 제공된 약제학적 리포솜 조성물은 또한 생리학적 조건에 비슷해지는 데 필요한 다른 약제학적으로 허용 가능한 보조 물질, 예컨대 pH 조정 및 완충 물질, 및 등장성 조정제, 예를 들어 아세트산나트륨, 락트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨 및 염화칼슘을 함유할 수 있다. 부가적으로, 리포솜 현탁액은 저장 시 유리 라디칼 및 지질-과산화적 손상에 대해 지질을 보호하는 지질 보호제를 포함할 수 있다. 친유성 유리 라디칼 킬링제, 예컨대 알파-토코페롤 및 수용성 철 특이적 킬레이터, 예컨대 페리옥사민이 적합하다.

[0163] 제공된 유체 약제학적 제제에서의 리포솜 농도는 예를 들어 보통 약 0.05% 미만 또는 적어도 약 2 내지 10중량%, 내지 30 내지 50중량%만큼 수요에 따라 널리 변할 수 있고, 선택된 특정한 투여 방식에 따라 주로 수액 용적 및 점도에 의해 선택될 수 있다. 예를 들어, 농도는 치료와 연관된 수액 부하를 낮추도록 증가될 수 있다. 이것은 죽상동맥경화증 연관된 울혈성 심부전 또는 중증 고혈압을 갖는 환자에서 특히 바람직할 수 있다. 대안적으로, 자극성 지질로 이루어진 리포솜 약제학적 조성물은 투여의 부위에서 염증을 줄이도록 낮은 농도로 희석될 수 있다.

[0164] 몇몇 실시형태는 표면에서 엽산 수용체를 발현하는 종양에 폴리글루타메이트화 항엽산의 표적화된 폐길화된 리포솜 제제를 전달하는 방법에 관한 것이다. 예시적인 방법은 종양에 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항엽산의 치료학적 유효 용량을 전달하는 양으로 본 개시내용에서 리포솜을 포함하는 적어도 하나의 임의의 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0165] 투여된 리포솜 약제학적 조성물의 양은 리포솜 내부에 포획된 특정한 폴리글루타메이트화 항엽산 치료학적 집합체, 치료되는 질환 상태, 사용되는 리포솜의 유형 및 임상적 판단에 따라 달라질 것이다. 일반적으로, 투여된 리포솜 약제학적 조성물의 양은 특정한 치료학적 집합체의 치료학적 유효 용량을 전달하기에 충분할 것이다.

[0166] 치료학적 유효 용량을 전달하는 데 필요한 리포솜 약제학적 조성물의 분량은 약물 시험의 분야에서 흔한 일상적인 시험관내 및 생체내 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, 문헌[D. B. Budman, A. H. Calvert, E. K. Rowinsky (editors). Handbook of Anticancer Drug Development, LWW, 2003]을 참조한다. 다양한 치료학적 조성물을 위한 치료학적 유효 투약량은 당업자에게 공지되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 약제학적 리포솜 조성물을

통해 전달된 치료학적 집합체는 이의 일상적인 비리포솜 제제에서 치료학적 집합체의 동일한 양을 투여함으로써 얻은 활성과 적어도 동일하거나 이보다 높은 활성을 제공한다. 통상적으로, 리포솜 약제학적 조성물에 대한 투약량은 예를 들어 체중의 킬로그램당 약 0.005 내지 약 500mg의 치료학적 집합체, 가장 자주 체중의 킬로그램당 약 0.1 내지 약 100mg의 치료학적 집합체의 범위이다.

[0167] 본 명세서에 사용된 바와 같은, "유효량"은 의학적으로 원하는 결과를 제공하기에 충분한 물질의 투약량을 의미한다. 유효량은 원하는 결과, 치료되거나 예방되는 특정한 병태, 치료되는 대상체의 연령 및 신체 컨디션, 병태의 중등도, 치료의 기간, (있다면) 병행 또는 조합 치료의 성질, 특정한 투여 경로 및 건강 요인의 지식 및 전문지식 내의 유사한 인자에 따라 변할 것이다. "유효량"은 기재된 목적과 관련하여 경험적으로 및 일상적인 방식으로 결정될 수 있다. 본 개시내용에서, 용어 "대상체" 및 "환자"는 상호 교환되어 사용되고, 동일한 의미를 갖는다. 최대 용량, 즉 충분한 의학적 판단에 따라 가장 높은 안전한 용량이 사용되는 것이 일반적으로 바람직하다.

[0168] 예를 들어, 대상체가 종양을 갖는 경우, 유효량은 (예를 들어, 종양을 영상화함으로써 결정된 바대로) 종양 용적 또는 부하를 감소시키는 물질(예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산)의 양일 수 있다. 유효량은 또한 혈액 또는 다른 체액 또는 조직(예를 들어, 생검)에서 암 세포의 존재 및/또는 빈도에 의해 일상적으로 평가될 수 있다. 종양이 조직 또는 기관의 정상 기능에 영향을 미치는 경우, 유효량은 일상적으로 조직 또는 기관의 정상 기능을 측정함으로써 평가될 수 있다. 몇몇 경우에, 유효량은 하나 이상의 및 바람직하게는 모든 증상을 감소시키거나 제거하는 데 필요한 양이다.

[0169] "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하는 것"과 같은 용어는 (a) 진단된 병리학적 병태 또는 장애의 증상을 치유하고/하거나, 느리게 하고/하거나, 감소시키고/시키거나, 이의 진행을 정지시키는 치료학적 조치 및 (b) 표적화된 질환 또는 병태의 발생을 예방하고/하거나 느리게 하는 예방적 또는 예방학적 조치 둘 다를 의미한다. 따라서, 치료를 요하는 대상체는 이미 암 또는 병태를 갖는 대상체; 암 또는 병태를 가질 위험에 있는 대상체; 및 감염 또는 병태가 예방되는 대상체를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 대상체가 예를 들어 질환 또는 병태(예를 들어, 암, 류마티스성 관절염)와 연관된 증상의 전체, 부분 또는 일시적 경감 또는 제거를 나타내는 경우, 대상체는 본 명세서에 제공된 방법에 따라 성공적으로 "치료"된다.

[0170] 제공된 폴리글루타메이트화 항염산 조성물을 포함하는 (예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 항염산을 함유하는 리포솜) 약제학적 조성물이 또한 제공된다. 약제학적 조성물은 바람직하게는 약제학적으로 허용 가능한 담체 중에 샘플 리포솜 및 바람직하게는 항염산(들)을 포함하는 무균 조성물이다.

[0171] 용어 "전달 비히클"은 일반적으로 세포로의 폴리글루타메이트화 항염산의 진입을 돕거나, 촉진하거나, 수월하게 하도록 작용하는 임의의 조성물, 예를 들어 바이러스 서열, 바이러스 재료, 또는 지질 또는 리포솜 제제를 의미한다.

[0172] 용어 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 인간 또는 다른 대상체에 대한 투여에 적합한 예를 들어 하나 이상의 상용성 고체 또는 액체 충전제, 희석제 또는 캡슐화 물질을 의미한다.

[0173] 용어 "담체"는 리포솜 조성물이 투여를 촉진하도록 배합되는 천연 또는 합성의 유기 또는 무기 성분을 나타낸다. 약제학적 조성물의 성분은 실질적으로 이의 원하는 약제학적 효율을 손상시키는 상호작용을 방해하는 방식으로 혼합된다. 적합한 완충제는 아세트산 및 염(1 내지 2%의 W/V); 시트르산 및 염(1 내지 3%의 W/V); 붕산 및 염(0.5 내지 2.5%의 W/V); 및 인산 및 염(0.8 내지 2%의 W/V)을 포함한다. 적합한 보존제는 벤즈알코늄 클로라이드(0.003 내지 0.03%의 W/V); 클로로부탄올(0.3 내지 0.9%의 W/V); 및 파라벤(0.01 내지 0.25%의 W/V)을 포함한다.

[0174] 본 명세서에 달리 기재되지 않는 한, 다양한 투여 경로가 이용 가능하다. 선택된 특정한 방식은 선택된 특정한 활성 물질, 치료되는 특정한 병태 및 치료학적 효율에 필요한 투약량에 따라 달라질 것이다. 제공된 방법은 의학적으로 허용 가능한 임의의 공지된 투여 방식을 이용하여 우수 의료 지침에 따라 실행될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 투여 경로는 주사이다. 추가의 실시형태에서, 주사는 근육내, 피하, 정맥내, 동맥내, 복강내, 관절내, 경막외강내, 척추강내, 정맥내, 근육내 또는 흉골내 주사로부터 선택된 비경구 경로에 의한다. 몇몇 실시형태에서, 투여 경로는 인퓨전이다. 부가적인 실시형태에서, 투여 경로는 경구, 비강, 점막, 설하, 기관내, 안과, 직장, 질, 눈, 국소, 피부경유, 폐 또는 흡입이다.

[0175] 몇몇 실시형태에서, PLPA 및/또는 표적화된 PLPA는 인퓨전 조성물, 주사 조성물, 비경구 조성물 또는 국소 조성물로서 제조된다. 추가의 실시형태에서, 주사는 복강내 주사, 직접적인 종양내 주사, 동맥내 주사, 및 정맥내

주사, 피하 주사, 근육내 주사, 경피성 및 비강내 경로를 통한 전달 중 하나 이상을 포함한다. 추가의 실시형태에서, PLPA 및/또는 표적화된 PLPA는 액체 용액 또는 현탁액이다. 그러나, 주사 전에 액체 비히클 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태가 또한 본 명세서에 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산은 당해 분야에 공지된 방법에 따라 장용 코팅 정제 또는 겔 캡슐로서 제제화된다.

[0176] 몇몇 실시형태에서, 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 제제는 직접적으로 종양으로 리포솜의 느린 지속된 두개내 인퓨전(예를 들어, 대류 증대 전달(convection-enhanced delivery: CED))을 사용하여 중추 신경계의 종양에 투여된다. 문헌[Saito et al., Cancer Research 64:2572-2579 (2004); Mamot et al., J. Neuro-Oncology 68:1-9 (2004)]을 참조한다. 다른 실시형태에서, 제제는 조직 표면에 직접적으로 적용된다. 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(예를 들어, 데포 주사 및 침식성 임플란트)의 서방 방출, pH 의존적 방출, 및 다른 특정한 화학적 또는 환경적 조건 매개된 방출 투여가 또한 제공된다. 이러한 방출 매개 조성물의 예는 추가로 본 명세서에 기재되거나 달리 당해 분야에 공지되어 있다.

[0177] 흡입에 의한 투여를 위해, 조성물은 적합한 추진제, 예를 들어 다이클로로다이플루오로메탄, 트라이클로로플루오로메탄, 다이클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 가스의 사용에 의해 가압 팍 또는 분무기로부터의 에어로졸 스프레이 제시의 형태로 편리하게 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우에, 투약량 단위는 계량된 양을 전달하는 밸브를 제공함으로써 결정될 수 있다.

[0178] 조성물을 전신으로 전달하는 것이 바람직할 때, 이것은 주사에 의해, 예를 들어 보루스 주사 또는 연속 인퓨전에 의해 비경구 투여에 대해 제제화될 수 있다. 주사용 제제는 단위 제형에, 예를 들어 앰플 또는 다용량 용기에 존재할 수 있다. 약제학적 비경구 제제는 성분의 수성 용액을 포함한다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대 나트륨 카복시메틸 셀룰로스, 소르비톨 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 대안적으로, 리포솜의 현탁액은 유성 현탁액으로서 제조될 수 있다. 적합한 친유성 용매 또는 비히클은 지방 오일, 예컨대 참깨유 또는 합성 지방산 에스터, 예컨대 에틸 올레에이트 또는 트라이글라이세라이드를 포함한다.

[0179] 대안적으로, 비표적화된 또는 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산은 사용 전에 적합한 비히클, 예를 들어 무균 발열원 비함유 물과의 구성을 위한 분말 형태 또는 동결건조된 형태일 수 있다.

[0180] 제공된 조성물(예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산 및 폴리글루타메이트화 항염산을 함유하는 리포솜)은 예를 들어 종래의 좌제 기제, 예컨대 코코아 버터 또는 다른 글라이세라이드를 함유하는 직장 또는 질 조성물, 예컨대 좌제 또는 정제 관장에서 또한 제제화될 수 있다.

[0181] 제공된 조성물은 생체내, 생체외 및 시험관내 분야를 갖는다. 몇몇 실시형태에서, 조성물은 시험관내 분야를 갖는다. 시험관내 용도는 세포의 소집단의 선택적 치료가 원해지는 세포 배양 및 조직 조작과 같은 용도를 포함할 수 있다. 예를 들어, 정상 환자 또는 암을 겪는 환자로부터의 줄기 세포의 배양 동안, 세포는 세포의 암성 소집단을 해결하도록 기재된 바와 같은 샘플 조성물 또는 샘플 리포솜에 의해 처리될 수 있다. 도너가 원래 암을 가지므로 또는 세포가 시험관내 절차 동안 자발적으로 형질전환하므로, 암성 소집단이 생길 수 있다.

[0182] 몇몇 실시형태에서, 리포솜 조성물은 리포솜을 갖는 용기, 및 임의로, 리포솜에 의해 표적화되거나 우선적으로 결합된 집합체(항원)를 갖는 용기, 및 설명서, 예를 들어 하나 이상의 분야에서 리포솜 조성물을 사용하는 것에 관한 절차 또는 정보를 포함하는 키트에서 제공된다. 이러한 설명서는 임의의 매체, 예를 들어 하드 페이퍼 카피, 전자 매체, 또는 설명서를 함유하는 데이터베이스 또는 웹사이트에 대한 접근을 통해 제공될 수 있다.

[0183] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 과증식성 세포를 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)과 접촉시키는 단계를 포함하는 과증식성 세포를 살해하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉세드(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루

타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 과증식성 세포의 표면 상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 과증식성 세포의 표면 상의 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 과증식성 세포의 표면 상의 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티에 특이적으로 결합하고 포함하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0184] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 중앙 세포를 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)과 접촉시키는 단계를 포함하는 중앙 세포의 증식을 저해하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토틱렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 칼티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 과증식성 세포의 표면 상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아

닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 종양 세포의 표면 상의 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 종양 세포의 표면 상의 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티에 특이적으로 결합하고 포함하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0185]

몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 과증식성 질환을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 과증식성 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 관심 대상의 표적 세포의 표면 상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0186]

몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 자가면역 질환을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리

포섭)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 면역계의 장애(예를 들어, 자가면역 질환, 예컨대 류마티스성 관절염)를 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 면역계의 장애는 자가면역 질환이다. 추가의 실시형태에서, 면역계의 장애는 류마티스성 관절염이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 칼티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트(PTX)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트(PTX)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 관심 대상의 표적 세포의 표면 상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0187]

몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 암을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 암은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암), 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양(예를 들어, 백혈병 또는 림프종)으로 이루어진 군으로부터 선택된 암이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 칼티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타

메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 관심 대상의 표적 세포의 표면 상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0188] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 폐암을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암)을 치료하는 방법을 제공한다. 특정한 실시형태에서, 암은 비소세포 폐암이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토트렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 비표적화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암) 세포의 표면

상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , 넥틴 4, NaPi2b, CD56, EGFR 및 SC-16으로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , 넥틴 4, NaPi2b, CD56, EGFR 및 SC-16으로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0189] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 cheatam을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 cheatam을 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐기화된다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 비표적화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 cheatam 세포의 표면 상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 TACSTD2(TROP2), 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , 메소텔린, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4 및 넥틴 4로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 TACSTD2(TROP2), 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , 메소텔린, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4 및 넥틴 4로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0190] 부가적인 실시형태에서, 본 개시내용은 유방암을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 유방암(예를 들어, 삼중 음성 유방암(에스트로겐 수용체⁻, 프로게스테론 수용체⁻ 및 HER2⁻)을 치료하는 방법을 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리

트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 비표적화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 유방암 세포의 표면 상의 항원에 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 LIV-1(ZIP6), EGFR, HER2, HER3, 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , GONMB 및 넥틴 4로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 LIV-1(ZIP6), EGFR, HER2, HER3, 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , GONMB 및 넥틴 4로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0191] 몇몇 실시형태에서, 제공된 조성물(예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 리포솜)은 이의 세포 표면 상의 종양 특이적 항원 또는 종양 연관된 항원의 발현에 의해 구별 가능한 혈액학적 암을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 투여된다. 따라서, 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 암, 고형 종양, 및/또는 이의 세포 표면 상의 종양 특이적 항원 또는 종양 연관된 항원의 발현에 의해 구별 가능한 전이를 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 표적화 모이어티 및 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공하고, 표적화 모이어티는 전달 비히클의 표면에서 발현되고, 종양 특이적 항원 또는 종양 연관된 항원에 특이적으로 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토트렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 혈액학적 암 세포의 표면 상에 발현된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0192] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 과증식성 질환의 치료를 위한 약제의 제조를 위한 폴리글루타메이트화 항염

산의 용도를 제공한다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 5개 이상의 글루타미기를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 펜타글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화된다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 메토티렉세이트(MTX)이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX)이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX)이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 AG2034이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX)이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 AG2034이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 GW1843이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 아미노프테린이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 LY309887이다. 몇몇 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 리포솜 중에 있다. 몇몇 실시형태에서, 과증식성 질환은 암이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 폐(예를 들어, 비소세포 폐암), 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 몇몇 실시형태에서, 암은 췌장암이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 유방암이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 췌장암이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 삼중 음성 유방암이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 폐암이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 비소세포 폐암이다. 몇몇 실시형태에서, 암은 백혈병 또는 림프종이다. 몇몇 실시형태에서, 과증식성 질환은 자가면역 질환이다. 몇몇 실시형태에서, 과증식성 질환은 류마티스성 관절염이다.

[0193] 몇몇 실시형태에서, 개시된 조성물(예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산을 함유하는 리포솜)은 암, 고형 종양, 및/또는 이의 세포 표면 상의 종양 특이적 항원 또는 종양 연관된 항원의 발현에 의해 구별 가능한 전이를 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 투여된다. 따라서, 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 암, 고형 종양, 및/또는 이의 세포 표면 상의 종양 특이적 항원 또는 종양 연관된 항원의 발현에 의해 구별 가능한 전이를 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 표적화 모이어티 및 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공하고, 표적화 모이어티는 전달 비히클의 표면에서 발현되고, 종양 특이적 항원 또는 종양 연관된 항원에 특이적으로 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항염산을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 PMX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항염산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜

은 폐길화된다. 부가적인 실시형태에서, 전달 비히클은 암, 고형 종양, 및/또는 전이성 세포의 표면에서 발현된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합한다. 추가의 실시형태에서, 전달 비히클은 리포솜이고, 리포솜은 GONMB, CD56, TACSTD2(TROP2), CEACAM5, 엽산 수용체- α , 엽산 수용체- β , 뮤신 1, 엽산 수용체- δ , STEAP1, 메소텔린, 넥틴 4, ENPP3, 구아닐릴시클라제 C(GCC), SLC44A4, NaPi2b, CD70(TNFSF7), CA9(탄산 무수화효소), 5T4(TPBG), SLTRK6, SC-16, 조직 인자, LIV-1(ZIP6), CGEN-15027, P-카드헤린, 피브로넥틴 엑스트라-도메인 B(ED-B), VEGFR2(CD309), 테나신, 콜라겐 IV, 페리오스틴, 엔도텔린 수용체, HER 2, EGFR, CD30, CD79b, CD19, CD138, CD74, CD37, CD19, CD22, CD33 및 CD98로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 표면 항원에 특이적으로 결합하는 표적화 모이어티를 포함한다.

[0194] 추가의 실시형태에서, 본 개시내용은 세포 표면 상의 엽산 수용체를 발현하는 세포를 함유하는 암을 갖거나 이를 가질 위험에 있는 대상체에게 엽산 수용체에게 특이적으로 결합하는 이의 표면 상의 표적화 모이어티, 및 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화)을 포함하는 전달 비히클(예를 들어, 리포솜)의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 추가의 실시형태에서, 엽산 수용체는 엽산 수용체 알파, 엽산 수용체 베타 또는 엽산 수용체 델타이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 폴리글루타메이트화 메토티렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 MTX, 펜타글루타메이트화 PMX, 펜타글루타메이트화 LTX, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 RTX, 펜타글루타메이트화 피리트렉심, 펜타글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 펜타글루타메이트화 AG2034, 펜타글루타메이트화 GW1843, 펜타글루타메이트화 아미노프테린 및 펜타글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 펜타글루타메이트화 항엽산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 MTX, 헥사글루타메이트화 PMX, 헥사글루타메이트화 LTX, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 RTX, 헥사글루타메이트화 피리트렉심, 헥사글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 헥사글루타메이트화 AG2034, 헥사글루타메이트화 GW1843, 헥사글루타메이트화 아미노프테린 및 헥사글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 헥사글루타메이트화 항엽산을 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 PMX를 포함한다. 특정한 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 MTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 RTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 펜타글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 폴리글루타메이트화 항엽산은 헥사글루타메이트화 LTX를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 투여된 전달 비히클은 리포솜이다. 추가의 실시형태에서, 리포솜은 폐길화된다. 본 명세서에 개시된 바대로, 폴리글루타메이트화 항엽산을 함유하는 엽산 수용체 표적화된 폐길화된 리포솜은 정상 세포(즉, 암 세포와 달리 리포솜을 능동으로 흡수하지 않고/않거나, 엽산 수용체를 발현하지 않는 세포)와 비교하여 암 세포 및 특히 엽산 수용체를 발현하는 암 세포에 높은 분량의 폴리글루타메이트화 항엽산을 전달할 수 있다. 엽산 수용체를 발현하는 임의의 암은 개시된 방법에 따라 치료될 수 있다. 몇몇 암이 초기 단계에서 엽산 수용체를 발현할 수 있는 한편, 대부분의 암이 후기 단계에서 엽산 수용체를 발현할 수 있다는 것에 주목해야 한다.

[0195] 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 암은 암종, 육종 및 흑색종을 포함한다. 암종은 제한 없이 기저 세포 암종, 담관암, 방광암, 유방암, 자궁경부암, 율모암, CNS 암, 결장 및 직장암, 신장 또는 신장 세포 암, 후두암, 간암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암(NSCLC, 예를 들어 선암, 거대(또는 귀리) 세포 암종 및 편평 세포 암종), 구강암, 난소암, 췌장암, 전립선암, 피부암(기저 세포 암 및 편평 세포 암 포함), 위암, 고환암, 갑상선암, 자궁암, 직장암, 호흡계의 암 및 비뇨기계의 암을 포함한다.

- [0196] 육종은 골(골육종) 및 연조직(섬유육종)에서 생기는 간엽성 신생물이다. 육종은 제한 없이 지방육종(점액성 지방육종 및 다형성 지방육종 포함), 평활근육종, 횡문근육종, 악성 말초 신경초 종양(악성 신경초종, 신경섬유육종 또는 신경성 육종이라고도 함), 유잉 종양(골의 유잉 육종, 연부조직(즉, 골외성) 유잉 육종 및 원시 신경의 배엽 종양 포함), 활막 육종, 혈관육종, 혈관내피육종, 림프관육종, 카포시 육종, 혈관내피종, 섬유성 종양(공격성 섬유종증이라고도 함), 용기성 피부섬유육종(dermatofibrosarcoma protuberans: DFSP), 악성 섬유성 조직구종(malignant fibrous histiocytoma: MFH), 혈관주위세포종, 악성 간엽세포종, 포상 연부 육종, 상피양 육종, 투명 세포 육종, 결합조직 소세포 종양, 위장관 간질 종양(gastrointestinal stromal tumor: GIST) 및 연골육종을 포함한다.
- [0197] 흑색종은 피부 및 다른 기관의 멜라닌세포성 시스템으로부터 생긴 종양이다. 흑색종의 예는 제한 없이 악성 흑자 흑색종, 표재 확산 흑색종 흑색종, 결절성 흑색종 및 말단흑자 흑색종을 포함한다.
- [0198] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 하나 이상의 방법에 의해 치료되는 암은 고행 종양 림프종이다. 고행 종양 림프종의 예는 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종 및 B 세포 림프종을 포함한다.
- [0199] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 하나 이상의 방법에 의해 치료되는 암은 골암, 뇌암, 유방암, 결장직장암, 연결 조직 암, 소화계의 암, 자궁내막암, 식도암, 눈암, 두경부의 암, 위암, 상피내 신생물, 흑색종 신경모세포종, 비호지킨 림프종, 비소세포 폐암, 전립선암, 망막모세포종 또는 횡문근육종이다.
- [0200] 개시된 방법은 본 명세서에서 고려되는 조성물(예를 들어, 폴리글루타메이트화 항염산 조성물, 예컨대 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 항염산을 함유하는 리포솜)의 전달로부터 아마도 이익인 임의의 대상체에서 실행될 수 있다. 포유류 대상체, 및 특히, 인간 대상체가 바람직하다. 몇몇 실시형태에서, 대상체는 또한 동물, 예컨대 가정 애완동물(예를 들어, 개, 고양이, 토끼 및 흰담비), 가축 또는 농장 동물(예를 들어, 소, 돼지, 양, 닭 및 다른 가금류), 말, 예컨대 순종 말, 실험실 동물(예를 들어, 마우스, 래트 및 토끼), 및 다른 포유류를 포함한다. 다른 실시형태에서, 대상체는 어류 및 다른 수생 종을 포함한다.
- [0201] 물질이 전달되는 대상체는 정상 대상체일 수 있다. 대안적으로, 대상체는 진단될 수 있거나 하나 이상의 제공된 조성물의 전달로부터 이익을 얻을 수 있는 병태를 갖거나 이를 가질 위험에 있을 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 병태는 암(예를 들어, 고행 종양 암 또는 비고형 암, 예컨대 백혈병)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 이 병태(예를 들어, 암)는 본 명세서에 개시된 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산에 의해 특이적으로 결합될 수 있는 항원을 발현하는 세포를 수반한다. 추가의 실시형태에서, 이 항원은 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산에 특이적으로 결합하고 이를 세포로 내재화한다. 몇몇 실시형태에서, 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산은 암 세포의 표면에서 발현된 염산 수용체(예를 들어, 염산 수용체 알파(FR- α), 염산 수용체 베타(FR- β) 및 염산 수용체 델타(FR- δ))에 특이적으로 결합한다.
- [0202] 제공된 조성물에 의해 치료될 수 있는 병태를 진단하기 위한 시험은 당해 분야에 공지되어 있고, 의학 실험자에게 친숙할 것이다. 세포 유형이 염산 수용체를 발현하는지의 결정은 상업적으로 구입 가능한 항체를 사용하여 이루어질 수 있다. 이 실험실 시험은 제한 없이 현미경관찰 분석, 배양 의존적 시험(예컨대, 배양물) 및 핵산 검출 시험을 포함한다. 이것은 습식 마운트, 균 증대된 현미경관찰법, 면역 현미경관찰법(예를 들어, FISH), 혼성화 현미경관찰법, 입자 응집, 효소 연관된 면역흡착 검정, 노 스크리닝 시험, DNA 프로브 혼성화 및 혈청학적 시험을 포함한다. 의학 실험자는 일반적으로 또한 완전한 히스토리를 취하고, 상기 기재된 실험실 시험을 실행하는 것 이외에 완전한 신체 검사를 수행할 것이다.
- [0203] 암을 갖는 대상체는 예를 들어 검출 가능한 암 세포를 갖는 대상체일 수 있다. 암을 발생시킬 위험에 있는 대상체는 예를 들어 암을 발생시킬 보통의 확률보다 높은 대상체일 수 있다. 이 대상체는 예를 들어 암을 발생시킬 더 높은 가능성과 연관된 것으로 나타난 유전자 비정상성을 갖는 대상체, 암에 대한 가족력 소인을 갖는 대상체, 암 유발 물질(즉, 발암원), 예컨대 담배, 석면 또는 다른 화학 독소에 노출된 대상체 및 암에 대해 이전에 치료되고 길보기에 관해 중인 대상체를 포함한다.
- [0204] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 높은(예를 들어, 세포 표면에서 염산 수용체를 발현하지 않는 세포보다 적어도 2배 높은, 적어도 3배 높은, 적어도 4배 높은 또는 적어도 5배 높은) 속도로 표면에서 염산 수용체를 발현하는 종양 세포에 염산 수용체 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산을 선택적으로 전달하는 방법을 제공한다.
- [0205] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 리포솜 조성물을 제조하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 상기 방법은 수성 용액 중에 (1) 리포솜 성분; 및 (2) 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트

트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산을 포함하는 혼합물을 형성하는 단계를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 혼합물은 폐길화된 리포솜 성분을 포함한다. 이후, 혼합물을 균질화하여 수성 용액 중에 리포솜을 형성한다. 추가로, 혼합물을 막을 통해 압축하여 수성 용액 중에 폴리글루타메이트화 항염산을 둘러싸는 리포솜을 형성할 수 있다. 본 개시내용의 리포솜 성분이 임의의 지질(콜레스테롤 포함), 예를 들어 작용기화된 지질 및 표적화 모이어티에 부착된 지질, 검출 가능한 라벨 및 입체 안정화제, 또는 이들의 모두의 임의의 하위집단을 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 수성 용액 중의 생물활성 폴리글루타메이트화 항염산이 리포솜의 내부 또는 외부에 대해 본 명세서에 기재되거나 당해 분야에 달리 공지된 임의의 시약 및 화학물질, 예를 들어 완충제, 염 및 저온보호제를 포함할 수 있다는 것을 추가로 주목한다.

[0206] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(표적화된-PLPA) 또는 비표적화된 PLPA를 제조하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 상기 방법은 (1) 리포솜 성분; (2) 수성 용액 중의 폴리글루타메이트화(예를 들어, 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화) 항염산; 및 (3) 표적화 모이어티를 포함하는 혼합물을 형성하는 단계를 포함한다. 이후, 혼합물을 균질화하여 수성 용액 중에 리포솜을 형성한다. 추가로, 혼합물을 막을 통해 압축하여 수성 용액 중에 표적화된 폴리글루타메이트화 항염산을 둘러싸는 리포솜을 형성할 수 있다. 표적화된 폐길화된 리포솜 성분이 임의의 지질(콜레스테롤 포함), 예를 들어 작용기화된 지질 및 표적화 모이어티에 부착된 지질, 검출 가능한 라벨 및 입체 안정화제, 또는 이들의 모두의 임의의 하위집단을 포함할 수 있는 것으로 이해된다. 표적화된 폐길화된 리포솜이 리포솜의 내부 또는 외부에 대해 본 명세서에 기재되거나 당해 분야에 달리 공지된 임의의 시약 및 화학물질, 예를 들어 완충제, 염 및 저온보호제를 포함할 수 있다는 것을 추가로 주목한다.

[0207] 상기 방법은 임의로 동결건조된 조성물을 형성하기 위해 제거 단계 후 조성물을 동결건조하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 기재된 바대로, 수성 용액 중의 표적화된 PTPLA 또는 비표적화된 PTPLA는 본 명세서에 기재되거나 당해 분야에 달리 공지된 저온보호제를 포함할 수 있다. 조성물이 동결건조되어야 하는 경우, 저온보호제가 바람직할 수 있다.

[0208] 부가적으로, 동결건조 단계 후, 상기 방법은 임의로 동결건조 단계 후 용매 중에 조성물을 용해시킴으로써 동결건조된 조성물을 재구성하는 단계를 추가로 포함한다. 재구성의 방법은 당해 분야에 공지되어 있다. 하나의 예시적인 용매는 물이다. 다른 용매는 식염수 용액 및 완충 용액을 포함한다.

[0209] 소정의 예시적인 실시형태가 본 명세서에 기재되어 있지만, 리포솜이 당해 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다고 이해된다. 예를 들어, 문헌[G. Gregoriadis (editor), Liposome Technology, vol. 1-3, 1st edition, 1983; 2nd edition, 1993, CRC Press, 45 Boca Raton, Fla]을 참조한다. 리포솜 조성물을 제조하는데 적합한 방법의 예는 압출, 역상 증발, 음파처리, 용매(예를 들어, 에탄올) 주사, 마이크로유동화, 세제 투석, 에터 주사 및 탈수/재수화를 포함한다. 리포솜의 크기는 일상적으로 저압 압출에 사용된 막의 기공 크기 또는 마이크로유동화 또는 당해 분야에 공지된 임의의 다른 적합한 방법에서 사용된 통과 수 및 압력에 의해 제어될 수 있다.

[0210] 일반적으로, 폴리글루타메이트화 항염산은 내부에, 즉 리포솜의 내부(인테리어) 공간에 함유된다. 일 실시형태에서, 치환된 암모늄은 리포솜을 둘러싸는 외부 매질로부터 부분적으로 또는 실질적으로 완전히 제거된다. 이러한 제거는 당해 분야에 공지된 임의의 적합한 수단(예를 들어, 희석, 이온 교환 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피, 투석, 한외여과 및 침전)에 의해 달성될 수 있다. 따라서, 상기 기재되거나 당해 분야에 달리 공지된 리포솜 조성물을 제조하는 방법은 임의로 압출 단계 후 리포솜의 밖에서 수성 용액 중에 폴리글루타메이트화 항염산을 제거하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0211] 다른 실시형태에서, 본 개시내용은 내부 공간을 포함하는 리포솜, 내부 공간 내에 배치된 폴리글루타메이트화 항염산, 리포솜의 외부에 부착된 입체 안정화제 분자 및 적어도 하나의 염산 수용체에 대한 특이적 친화도를 갖는 단백질을 포함하고, 입체 안정화제 및 리포솜의 외부 중 적어도 하나에 부착된 표적화 모이어티를 포함하는, 염산 수용체를 선택적으로 표적화하는 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(PLPA)을 제공한다. 이 실시형태의 성분은 본 개시내용의 다른 실시형태에 대해 기재된 것과 동일할 수 있다. 예를 들어, 표적화된 폐길화된 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산 및 PEG일 수 있는 입체 안정화제는 본 개시내용의 다른 부분에 기재된 바와 같다.

[0212] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 포획 및/또는 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 리포솜을 포함하는 비표적화된 조성물을 제조하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 용액 중에 리포솜 성분; 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 혼합물을 형성하는 단계; 혼합물을 균질화시켜 용액 중에 리포솜을 형성하는 단계; 및 혼

합물을 가공하여 폴리글루타메이트화 항염산을 포획 및/또는 캡슐화하는 리포솜을 형성하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 가공은 박막 수화, 압출, 인라인 혼합 및 교반 중 하나 이상을 포함하고, 입자가 형성되면, 입자는 압출 및 음파처리 중 하나 이상에 의해 추가로 변형된 이의 크기를 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 비표적화된 조성물은 적어도 10%의 리포솜 포획된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 음이온성 또는 중성이다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 양이온성이다.

[0213] 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 포획된 및/또는 캡슐화된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 폐길화된 리포솜; 표적화 모이어티 아미노산 사슬, 복수의 아미노산을 포함하는 아미노산 사슬, 염산 수용체의 적어도 하나의 유형에 대한 특이적 친화도를 갖고(특이적 친화도는 염산 수용체의 적어도 하나의 유형에 대해 0.5×10^{-10} 내지 10×10^{-6} mol[0.05 나노몰 내지 10 μ 몰]의 범위의 평형 해리 상수(Kd)를 포함하는 것으로 정의됨), PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착된 표적화 모이어티를 포함하는 표적화된 조성물을 제조하는 방법을 제공하고, 47 상기 방법은 용액 중에 리포솜 성분; 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 혼합물을 형성하는 단계; 혼합물을 균질화시켜 용액 중에 리포솜을 형성하는 단계; 혼합물을 가공하여 폴리글루타메이트화 항염산을 포획 및/또는 캡슐화하는 리포솜을 형성하는 단계; 및 폴리글루타메이트화 항염산을 포획 및/또는 캡슐화하는 리포솜의 표면에 표적화 모이어티를 제공하는 단계(표적화 모이어티는 염산 수용체 알파(FR- α), 염산 수용체 베타(FR- β) 및 염산 수용체 델타(FR- δ) 중 적어도 하나에 대한 특이적 친화도를 가짐)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 가공은 박막 수화, 압출, 인라인 혼합 및 교반 중 하나 이상을 포함하고, 입자가 형성되면, 입자는 압출 및 음파처리 중 하나 이상에 의해 추가로 변형된 이의 크기를 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 표적화된 조성물은 적어도 10%의 리포솜 포획된 폴리글루타메이트화 항염산을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 리포솜은 음이온성 또는 중성이다. 몇몇 실시형태에서, 표적화 모이어티는 염산 수용체 알파(FR- α), 염산 수용체 베타(FR- β) 및 염산 수용체 델타(FR- δ) 중 하나 이상에 대한 특이적 친화도를 갖는다. 추가의 실시형태에서, 표적화 모이어티는 염산 수용체 알파(FR- α) 및 염산 수용체 베타(FR- β)에 대한 특이적 친화도를 갖는다. 부가적인 실시형태에서, 표적화 모이어티는 비중양 세포에 부재하거나 접근 불가능한 중양 세포 표면 항원에서 에피토프에 대한 특이적 친화도를 갖는다.

[0214] **실시예**

[0215] 하기 실시예는 명쾌하게 또는 암시적으로 임의의 방식, 형상 또는 형태로 본 개시내용을 예시하지만 제한하지 않도록 의도된다. 이들이 사용된 것에 통상적이지만, 당업자에게 공지된 다른 절차, 방법론 또는 기법을 대안적으로 사용할 수 있다. 예의 조성물은 예의 리포솜을 포함한다. 예의 조성물 및 예의 리포솜 둘 다는 실시예 부문에 기재된 실험에서 사용되고, 본 개시내용에 걸쳐 본 개시내용의 구체적인 실시형태이고, 본 개시내용의 완전 범위를 한정하도록 의도되지 않는다.

[0216] **도 5**는 L-감마 펜타글루타메이트 페메트렉세드의 화학식을 보여준다. 세포 내부에 있으면, 페메트렉세드는 효소 폴릴폴리글루타메이트 합성효소에 의해 폴리글루타메이트 형태로 전환된다. 도시된 화학식은 각각의 글루타메이트가 L-형태인 펜타글루타메이트화 형태이다. 추가로, 각각의 연결은 글루타메이트의 감마 카복실에 의한다.

[0217] **도 6**은 본 개시내용에 의해 포함된 예시적인 L-감마 폴리글루타메이트화 항염산 조성물의 화학식을 보여준다. 글루타메이트는 L-형태이고, 이들은 글루타메이트의 감마 카복실에 의해 연결된다.

[0218] **방법**

[0219] **헥사글루타메이트화 페메트렉세드(HGP) 리포솜의 제조**

[0220] 간단히, 감마 HGP(gG6)를 하기 절차에 의해 리포솜에서 캡슐화하였다. 처음에, 리포솜 막의 지질 성분을 칭량하고, 대략 65°C의 온도에서 에탄올 중의 농축 용액으로 합했다. 이 실시예에서, 사용된 지질은 수소화된 콩 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 DSPE-PEG-2000(1,2-다이스테아로일-sn-글라이세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글라이콜)-2000])였다. HSPC: 콜레스테롤: PEG-DSPE의 몰비는 대략 3:2:0.15였다. 다음에, gG6을 6.5 내지 6.9의 pH로 20mg/ml의 농도로 수성 완충제 중에 용해시켰다. 약물 용액을 65°C로 가열하였다. 에탄올성 지질 용액을 작은 보어 침을 사용하여 gG6 용액으로 주입하였다. 이 단계 동안, 약물 용액을 자기 교반기를 사용하여 잘 교반하였다. 혼합을 승온(63°C 내지 72°C)에서 수행하여 지질이 (이것이 Tm = 51°C 내지 54°C의 지질 전이 온도 아래의 온도에서 획득하는 겔 상태와 반대로) 액체 결정질 상태에 있다는 것을 보장하였다. 그 결과, 지질을 수화시키고, 수성 코어에서 gG6을 함유하는 다수의 이중층(다층) 소포(MLV)를 형성하였다.

[0221] 필터 압출을 사용한 MLV의 다운사이징

[0222] MLV는 적층된(트랙 에칭된 폴리카보네이트) 막을 통한 2회 통과를 이용하여 고압 압출에 의해 원하는 크기의 단 일라멜라(단일 이중층) 소포로 단편화되었다. 적층된 막은 200nm의 기공 크기를 갖는 2개의 층 및 100nm의 기공 크기를 갖는 6개의 층을 가졌다. 압출 동안, 온도를 T_m 초과에서 유지시켜 지질 막의 가소성을 보장하였다. 압출의 결과로서, 크기가 크고 불균질하고 라멜라 MLV는 이의 내부에서 약물을 봉쇄하는 작고 균질한(100 내지 120nm) 단층 소포(ULV)로 변했다. 석영 마이크로 큐벳에서 25℃에서 수력학 크기(직경)를 측정하기 위해 역산란 검출기(90°)를 갖는 Malvern Zetasizer Nano ZS 장치(매사추세츠주 사우스버러)를 사용하였다. 샘플을 분석 전에 제제 매트릭스 중에 50배 희석하였다.

[0223] 리포솜의 정제

[0224] gG6을 함유하는 ULV를 제조한 후, 적은 용적에 대해 칼럼 또는 많은 용적에 대해 적합한 완충제에 대한 접선 유도 정용여과를 이용하여 리포솜의 gG6을 제거하였다. 임의의 완충제 용액을 사용할 수 있지만, 이 실시예에서, 사용된 완충제는 5mM HEPES, 145mM 염화나트륨(pH 6.7)이었다. 정제의 완료 후, 0.22 마이크론 필터를 사용하여 필터 살균을 수행하였다.

[0225] 항체 접합

[0226] DSPE-PEG-말레이미드를 지질 조성물에 첨가함으로써 활성화된 리포솜을 제조하였다. 리포솜은 4개의 상이한 지질을 함유하였다: 3:2:0.1125:0.0375의 비율로 수소화된 대두 포스파티딜콜린(HSPC), 콜레스테롤, 1,2-다이스테아로일-sn-글라이세로-3-포스포에탄올아민-N-[메톡시(폴리에틸렌 글라이콜)-2000](DSPE-PEG-2000), 및 1,2-다이스테아로일-sn-글라이세로-3-포스포에탄올아민-N-[말레이미드(폴리에틸렌 글라이콜)-2000](DSPE-PEG-말레이미드).

[0227] 1차 아민에 설피하이드릴기를 부착하도록 Traut 시약(2-이미노티올란)의 사용을 통해 항체 티올화를 달성하였다. 항체를 0.9 내지 1.6mg/ml의 농도로 PBS 중에 현탁시켰다. Traut 시약(14mM)을 1 내지 5mM의 최종 농도로 항체 용액에 첨가하고, 이후 실온에서 1시간 항온처리 후 투석을 통해 제거하였다. 티올화된 항체를 60g/mol 포스페이트 지질의 비율로 활성화된 리포솜에 첨가하고, 반응 혼합물을 실온에서 1시간 동안 항온처리하고, 4μl-시스테인에서 밤새 사용하여 반응을 결정하고, 비접합된 항체를 투석을 통해 제거하였다.

[0228] 나노입자의 물리적 특징

	출발 농도	캡슐화 효율	최종 농도	약물/지질 비율	직경	PDI	제타 전위
Lps gG6	20 mg/ml	10.60%	1.39 mg/ml	35-50 g/mM 지질	114.9 nm	0.035	-1.76 mV

[0229] HGP(헨타글루타메이트화 페메트렉세드) 및 리포솜의 용량 반응 연구

[0231] 세포 생존능력을 3일(48시간) 및 4일(72시간)에 CellTiter-Glo(등록상표)(CTG) 발광성 세포 생존능력 검정에 의해 결정하였다. 이 검정은, 결국 대사상 활성 세포의 존재를 신호화하는, 내부에 존재하는 ATP를 정량화하는 것에 기초하여 배양물 중의 생존가능 세포의 수를 결정하였다. CTG 검정은 읽어내기로 루시퍼라제를 사용한다. 세포 생존능력을 평가하기 위해, CellTiter-Glo(등록상표) 발광성 세포 생존능력 검정을 이용하여 상이한 암 세포 성장에 대한 페메트렉세드, HGP 및 리포솜의 용량 반응 저해를 조사하였다. 인간 암 세포를 수확하고 계수하고 0일에 동일한 세포 밀도로 플레이팅하였다. 각각의 시험 물품의 8 희석의 시리즈를 1일에 세포에 첨가하였다. 용량 반응 곡선을 생성하고, GraphPad Prism을 사용하여 맞추고, 각각의 시험 물품의 IC50을 계산하였다. IC50이 더 낮을수록, 암 세포 성장 저해의 면에서 시험 물품이 더 강력하였다.

[0232] 세포를 0일에 100μl의 새로운 배지 중에 웰당 5 x 104개의 세포의 세포 밀도로 96웰 플레이트에 시딩하였다. 배양 배지 중의 각각의 시험 물품의 8의 연속 2배 희석액을 생성하고, 1일에 3중으로 세포에 첨가하였다. 또한, 세포의 3개의 웰을 대조군 단독으로서 비히클(유리 약물에 대해 HBS 또는 리포솜 HGP에 대해 빈 리포솜)에 의해 처리하였다.

[0233] 3일 및 4일에, 100μl의 CellTiterGlo(등록상표) 시약을 각각의 웰에 첨가하고, 실온에서 15분 동안 항온처리하였다. 루시퍼라제 발광을 각각의 웰에 대해 기록하였다. 또한, 배양 배지 중에 비히클(HBS 또는 빈 리포솜)의 8의 연속 2배 희석액은 빈 웰에 첨가되고, 배경 발광 신호를 생성하도록 검정에 포함되었다. 각각 읽어내기로부터 배경 발광 신호를 공제함으로써 루시퍼라제 신호를 정규화하였다.

- [0234] 인간 정상 1차 골수 CD34+ 세포를 ATCC(ATCC 카탈로그 PCS-800-012호)로부터 얻었다. 세포를 37°C에서 1분 동안 해동하고, 이후 얼음에 배치하였다. 이후, 세포를 StemSpan SFEM(Stem Cell Tech 카탈로그 9650호)와 10% 열 불활화 소 태아 혈청(Corning 35-015-CV) 중에 재현탁시켰다. 세포를 2.5x10⁴ 세포/웰의 밀도로 96웰 배양 플레이트에 배치하였다. 다음날, 살아 있는 세포를 원심분리를 통해 수집하고, 2.5x10⁴개의 세포/웰의 밀도로 호중구 성장 배지(StemSpan SFEM과 10% 열 불활화 소 태아 혈청과 100ng/ml 인간 줄기 세포 인자(Sigma 카탈로그 H8416호), 20ng/ml 인간 과립구 집락 자극 인자(Sigma 카탈로그 H5541호) 및 10ng/ml 인간 재조합 IL3(Sigma SRP3090) 중에 재현탁시켰다. 세포를 37°C에서 10일 동안 항온처리하였다. 새로운 배지를 2일마다 첨가하였다. 이후, 성숙 호중구를 수집하고, 1x10⁴개의 세포/웰의 밀도로 96웰 플레이트에 배치하고, 37°C에서 밤새 항온처리하였다. 다음날, 시험 물질 또는 비히클을 호중구 성장 배지 중에 재현탁시키고, 플레이트에 첨가하였다. 이후, 세포를 37°C에서 48시간 또는 72시간 동안 항온처리하고, 이후 Cell Titer Glo Assay(Promega 카탈로그 #G7572)을 이용하여 각각의 시점에서 평가하였다.
- [0235] 세포주 AML12(비암성 간 세포) 및 CCD841(비암성 결장 상피 세포)에 사용된 방법론은 암 세포에 사용된 방법과 유사하다.
- [0236] 결과
- [0237] 도 7에 도시된 선암 아형인 NCI H2342 비소세포 폐암(NSCLC)에서의 유리 페메트렉세드 감마 헥사글루타메이트(gG6), (비표적화된) 리포솜 감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6), 페메트렉세드 및 염산 수용체 알파 표적화 항체(FR1Ab) 리포솜 페메트렉세드 감마 헥사글루타메이트(리포솜 gG6-FR1Ab)의 용량 반응 관계식. 아웃풋은 루시퍼라제 발광에 의해 측정된 바와 같은 세포 생존능력이다. 이 도 7에 도시된 바대로, 유리 페메트렉세드 gG6은 IC50에 의해 측정된 바대로 가장 덜 강력한 것으로 보인다. 리포솜 페메트렉세드 gG6 및 리포솜 페메트렉세드 gG6-FR1Ab 둘 다는 유리 페메트렉세드보다 각각 7배 및 40배 더 강력하다. 도 8 및 도 9는 치료의 48시간 후 생존가능 세포의 백분율로 도시된 유사한 데이터를 보여준다.
- [0238] 유사한 데이터는 백분율로 표시된 세포 생존능력을 도시하는 도 10 및 도 11에서 HT-29 결장암 세포주에 대해 도시되어 있다. 이 도면에 도시된 바대로, 유리 페메트렉세드 gG6은 가장 덜 독성인 것으로 보인다. 이 경우에, 리포솜 페메트렉세드 gG6은 페메트렉세드만큼 2배이고, 리포솜 페메트렉세드 gG6-FR1Ab는 유리 페메트렉세드보다 5배 더 강력하다.
- [0239] 추가적인 세포주, 즉 OAW28 난소암 세포 및 SW260 결장암 세포는 또한 페메트렉세드 γ G5(gG6이라고도 칭함) 제제에 의해 치료되었다. 도 12에 도시된 바대로, 상기 데이터와 일치하여, 유리 페메트렉세드 gG6은 가장 덜 효과적이고, 리포솜 페메트렉세드 gG6은 페메트렉세드보다 더 효과적인 것으로 보인다.
- [0240] 도 13은 리포솜 페메트렉세드 gG6-FR1Ab가 비표적화된 리포솜 페메트렉세드 gG6 및 유리 페메트렉세드 gG6보다 암 세포의 숫자상 더 높은 저해를 발생시킨다는 것을 보여준다.
- [0241] 용량 반응 실험의 또 다른 세트에서, 상이한 유형의 암을 나타내는 6개의 세포주, 즉 HT-29(결장암), H2342(NSCLC, 선암 아형), H292(NSCLC, 선암 아형), SW620(CRC), H1806(삼중 음성 유방암) 및 OAW28(난소암)을 연구하였다(도 14). 치료는 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트(리포솜 gG6)를 사용한 48시간 동안 노출로 이루어졌다.
- [0242] 48시간에 걸친 노출 이후에 페메트렉세드와 비교된 모든 상기 언급된 유도체의 상대 효력은 도 14에 표시된다. 이 도면에 도시된 바와 같은 다양한 유도체를 사용한 치료의 상대 효력은 각각의 세포주에 대해 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트의 IC50에 의해 페메트렉세드의 IC50을 나눔으로써 계산되었다. 이 도면에 도시된 바대로, 모든 세포주에서, 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트의 효력은 페메트렉세드의 것을 제대로 초과하였다. 예로서, NSCLC 세포주 H292를 고려한다. 도면에 도시된 바대로, 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트의 효력은 페메트렉세드의 25배 내지 50배 이상이다. 이것은 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트의 4% 이하의 용량이 페메트렉세드의 100% 용량과 동일한 치료 효과를 갖는다는 것을 제안한다.
- [0243] 유방암, 폐암 및 난소암에서의 대표적인 세포주에 대한 세포독성 활성에 대해 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트(리포솜 gG6/Lps 헥사 gG6) 및 페메트렉세드를 비교하는 암 세포 생존능력 연구는 도 15 내지 도 17에 도시되어 있다. 이 데이터는 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트가 페메트렉세드보다 더 강력하다는 것을 보여준다. 추가로, 효율의 표시자로서, 동일한 세포주에서의 실험의 결과는 도 18 내지 도 20에서 16 내지 128nM의 범위의 다양한 용량 수준에서 도시되어 있다. 이 도면에 도시된 바대로, 이들 용량 범위의 각각에서, 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트는 폐암 및 유방암 세포주에 대해 암 세포를 저해하는 것의 면에서 페메트렉세드보다

다 우수하다(각각 도 18 및 도 19). 난소암 세포주에서, 128nM의 용량에서의 페메트렉세드는 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트만큼 동등하게 효과적으로 보이는 한편(도 20 참조), 32nM 및 64nM의 용량에서의 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트는 페메트렉세드보다 더 양호한 치료 효과를 갖고; 16nM에서 치료 효과는 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트 및 페메트렉세드에 대한 규모에서 더 낮고 유사하다.

- [0244] 페메트렉세드에 의해 치료된 환자에서 보인 주요 독성은 호중구(백혈구의 유형) 수를 포함하는 혈액 수의 감소로서 표출된 골수 억제이다. 설사 및 점막염으로서 표출된 입 및 소화관의 내벽에 대한 몇몇 부작용, 및 몇몇 경우에 간에 대한 부작용이 또한 존재한다. 상기 언급된 독성을 평가하기 위해, 치료 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트 및 페메트렉세드를 호중구, CCD841 결장 상피 세포 및 AML12 간 세포로 분화된 CD34+ 세포에서 48 시간에서 측정하였다. 도 21에 도시된 바대로, 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트는 페메트렉세드와 반대로 분화 인간 호중구에 상당히 덜 독성이다. 이것은 16nM 내지 128nM의 용량 범위에서 페메트렉세드와 비교된 유도체에 의한 치료 이후에 더 잘 보존된 호중구 수에 의해 또한 지지된다(도 21). 두드러지게, 연구된 용량 수준에서 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트에 의한 치료 이후에 간 세포에 어떠한 독성이 있는 것으로 보이지 않는다(도 22). 반대로, 연구된 모든 용량에서 페메트렉세드는 대략 40%의 간 세포 수의 감소를 발생시킨다. 그리고 마지막으로, 상피 결장 세포의 치료 이후에 동일한 경향이 보인다(도 23). 이 도면에 도시된 바대로, 연구된 모든 용량에서 페메트렉세드는 리포솜 페메트렉세드 헥사글루타메이트에 의한 치료 이후에 대략 20% 이하의 감소와 비교하여 세포의 수의 대략 50% 이상의 감소를 발생시킨다.
- [0245] 본 개시내용의 비제한적인 예의 실시형태에서, 폴리글루타메이트화 항염산을 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0246] 바로 이전의 문단의 조성물에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 항염산을 포함할 수 있다.
- [0247] 임의의 이전의 2개의 문단의 조성물에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토트렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 구성원일 수 있다.
- [0248] 임의의 이전의 3개의 문단의 조성물에서, 조성물은 폴리글루타메이트화 PMX, MTX, RTX 또는 LTX일 수 있는 폴리글루타메이트화 항염산을 포함할 수 있다.
- [0249] 임의의 이전의 4개의 문단의 조성물에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 항염산을 포함할 수 있는 폴리글루타메이트화 항염산을 포함할 수 있다.
- [0250] 임의의 이전의 5개의 문단의 조성물에서, 조성물은 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 PMX, MTX, RTX, 및/또는 LTX를 포함할 수 있는 폴리글루타메이트화 항염산을 포함할 수 있다.
- [0251] 비제한적인 예의 리포솜 폴리글루타메이트화 항염산(LPA) 조성물은 임의의 이전의 6개의 문단의 조성물을 포함할 수 있고, 리포솜은 임의로 폐길화된 (PLPA)일 수 있다.
- [0252] 바로 이전의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 항염산을 포함할 수 있다.
- [0253] 임의의 이전의 2개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 메토트렉세이트(MTX), 폴리글루타메이트화 페메트렉세드(PMX), 폴리글루타메이트화 로메트렉솔(LTX), 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 랄티트렉세드(RTX), 폴리글루타메이트화 피리트렉심, 폴리글루타메이트화 프랄라트렉세이트, 폴리글루타메이트화 AG2034, 폴리글루타메이트화 GW1843, 폴리글루타메이트화 아미노프테린 및 폴리글루타메이트화 LY309887로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 구성원일 수 있다.
- [0254] 임의의 이전의 3개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 폴리글루타메이트화 PMX, MTX, RTX, 및/또는 LTX이다.
- [0255] 임의의 이전의 4개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 항염산을 포함할 수 있다.
- [0256] 임의의 이전의 5개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 폴리글루타메이트화 항염산은 펜타글루타메이트화 또는 헥사글루타메이트화 PMX, MTX, RTX, 및/또는 LTX를 포함할 수 있다.

- [0257] 임의의 이전의 6개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 리포솜은 음이온성 또는 중성일 수 있다.
- [0258] 임의의 이전의 7개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 표적화 모이어티는 PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착될 수 있고, 표적화 모이어티는 관심 대상의 표적 세포 상의 표면 항원에 대한 특이적 친화도를 가질 수 있다.
- [0259] 임의의 이전의 8개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 표적화 모이어티는 PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착될 수 있고, 폴리펩타이드일 수 있다.
- [0260] 임의의 이전의 9개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 표적화 모이어티는 PEG 및 리포솜의 외부 중 하나 또는 둘 다에 부착될 수 있고, 항체 또는 항체의 단편일 수 있다.
- [0261] 임의의 이전의 10개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 하나 이상의 면역자극제, 검출 가능한 마커 및 말레이미드는 PEG 및 리포솜의 외부 중 적어도 하나에 배치될 수 있다.
- [0262] 임의의 이전의 11개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 폴리펩타이드는 BIACORE 분석을 이용하여 결정된 바대로 0.5×10^{-10} 내지 10×10^{-6} 의 범위의 평형 해리 상수(Kd)로 항원에 결합할 수 있다.
- [0263] 임의의 이전의 12개의 문단의 LPA 또는 PLPA 조성물에서, 폴리펩타이드는 엽산 수용체 알파(FR- α), 엽산 수용체 베타(FR- β) 및 엽산 수용체 델타(FR- δ)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 엽산 수용체에 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0264] 과증식성 세포를 살해하는 비제한적인 예의 방법은 과증식성 세포를 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나(여기서 문단 번호는 본건 국제 출원 공개공보의 원문 기준임, 이하 마찬가지로)의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물과 접촉시키는 단계를 포함할 수 있다.
- [0265] 바로 이전의 문단의 방법에서, 과증식성 세포는 암 세포일 수 있다.
- [0266] 암을 치료하는 비제한적인 예의 방법은 암을 갖거나 가질 위험에 있는 대상체에게 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0267] 바로 이전의 문단의 방법에서, 암은 폐암, 췌장암, 유방암, 난소암, 폐암, 전립선암, 두경부암, 위암, 위장암, 결장암, 식도암, 자궁경부암, 신장암, 담관암, 담낭암 및 혈액학적 악성종양으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있다.
- [0268] 암 치료를 겪거나 겪은 대상체에 대한 비제한적인 예의 유지 치료는 암 치료를 겪거나 겪은 대상체에게 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0269] 비제한적인 예의 약제학적 조성물은 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물을 포함할 수 있다.
- [0270] 면역계의 장애를 치료하는 비제한적인 예의 방법은 면역계의 장애를 갖거나 이의 위험에 있는 대상체에게 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0271] 감염성 질환을 치료하는 비제한적인 예의 방법은 감염성 질환을 갖거나 이의 위험에 있는 대상체에게 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0272] 표면에서 엽산 수용체를 발현하는 종양에 폴리글루타메이트화 항엽산을 전달하는 비제한적인 예의 방법은 종양에 치료학적 유효 용량의 폴리글루타메이트화 항엽산을 전달하는 양으로 종양을 갖는 대상체에게 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물을 투여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0273] 임의의 문단의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물을 포함할 수 있는 리포솜 폴리글루타메이트화 항엽산 조성물을 제조하는 비제한적인 예의 방법은 용액 중에 리포솜 성분; 폴리글루타메이트화 항엽산을 포함하는 혼합물을 형성하는 단계; 혼합물을 균질화하여 용액 중에 리포솜을 형성하는 단계; 및 혼합물을 가공하여 폴리글루타메이트화 항엽산을 함유하는 리포솜을 형성하는 단계를 포함한다.
- [0274] 비제한적인 예의 약제학적 조성물은 문단 [0254] 내지 [0272] 중 어느 하나의 폴리글루타메이트화 항엽산 조성

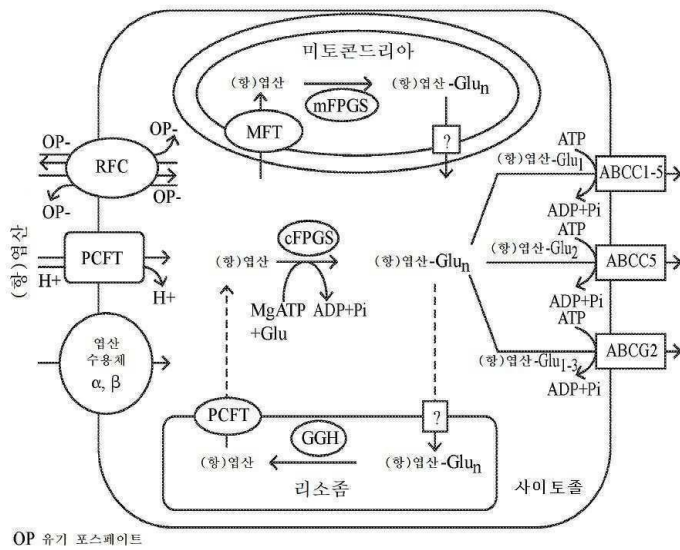
물을 포함할 수 있다.

[0275] 본 개시내용이 다양한 몇몇 실시형태를 참조하여 기재되어 있지만, 본 개시내용의 정신으로부터 벗어나지 않으면서 다양한 변형이 이루어질 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 본 개시내용의 범위는 첨부된 청구항이 권한 부여한 등가물의 완전한 범위와 함께 이 청구항을 참조하여 결정되어야 한다. 특히 출원 및 공보를 포함하는 모든 인용된 문헌 및 참고문헌의 개시내용은 모든 목적을 위해 본 명세서에 참고로 포함된다.

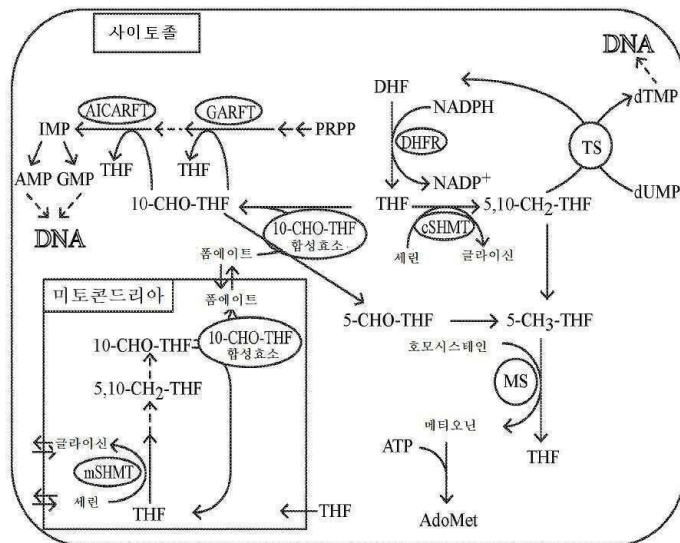
[0276] 다양한 새로운 화학 집합체, 이 화학 집합체를 제조하기 위한 방법 및 설비는 첨부된 청구항에서 하기 기재되어 있다.

도면

도면1



도면2



도면6

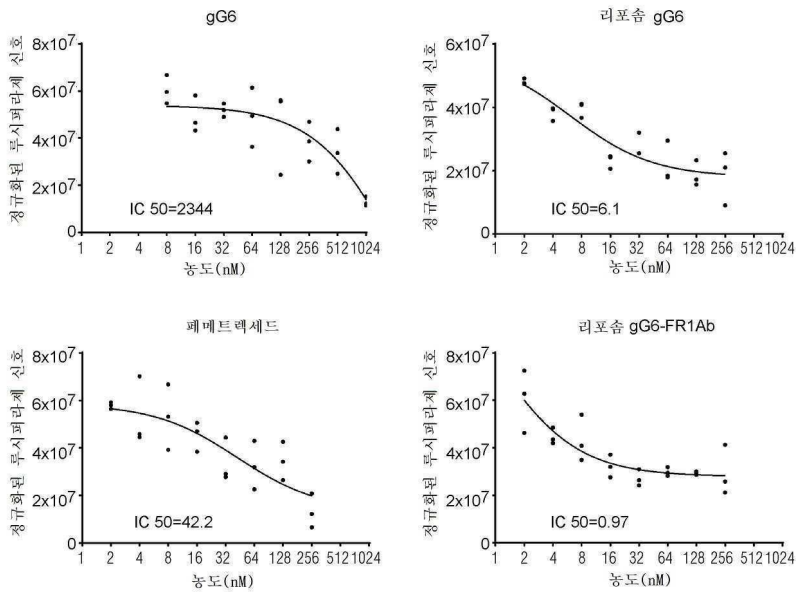
예시적인 L-감마 폴리글루타메이트화 항염산

- PMX-[L-글루타밀]_n
- MTX-[L-글루타밀]_n
- LTX-[L-글루타밀]_n
- RTX-[L-글루타밀]_n
- 피리트렉심-[L-글루타밀]_n
- 프랄라트렉세이트-[L-글루타밀]_n
- AG2034-[L-글루타밀]_n
- GW1843-[L-글루타밀]_n
- 아미노프테린-[L-글루타밀]_n
- LY309887-[L-글루타밀]_n

여기서: L-글루타밀기는 (이의 감마 카복실기에 의해 연결된) 감마 연결로 있고, n = 4, 5, 2-10, 4-6, 또는 >5.

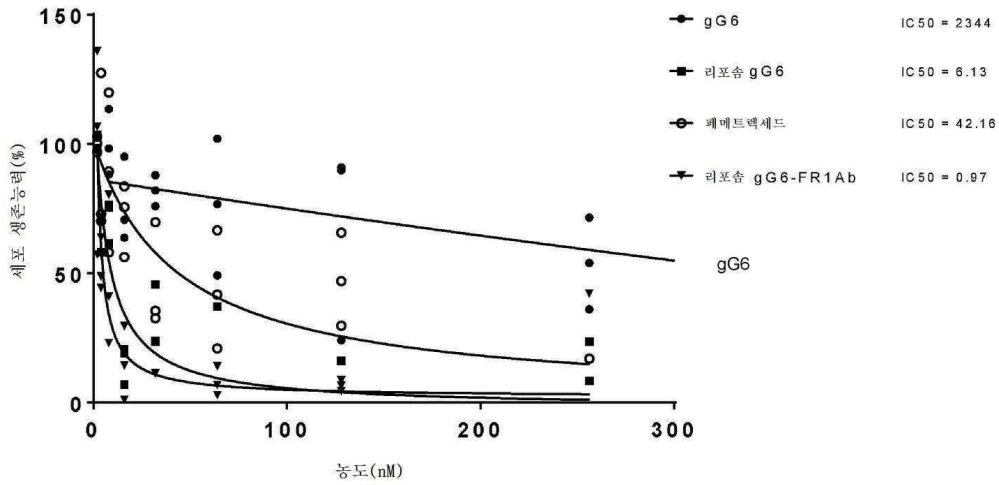
도면7

48시간에 NCI-H2342에 대한 핵사글루타메이트화 페메트렉세드의 용량 반응 곡선



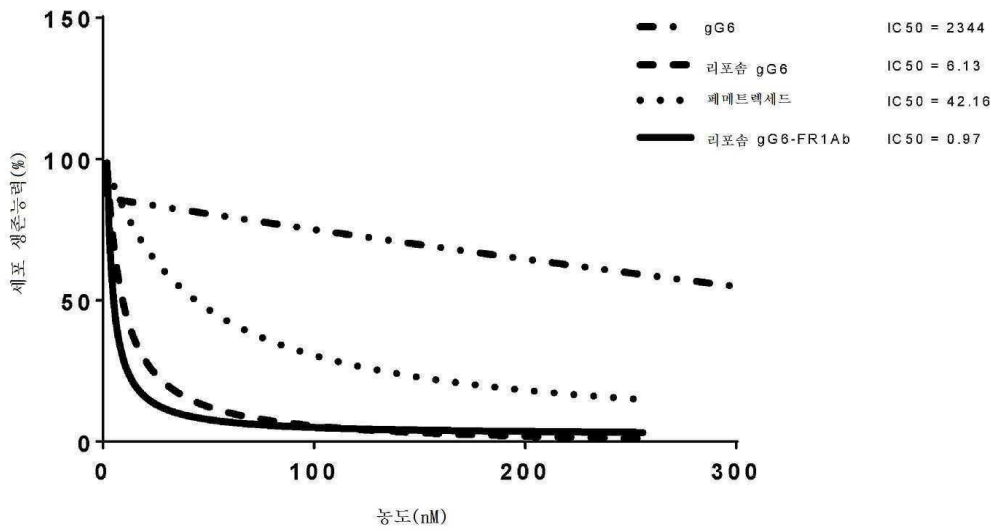
도면8

48시간에 NCI-H2342에 대한
 헥사글루타메이트화 페메트렉세드의 용량 반응 곡선



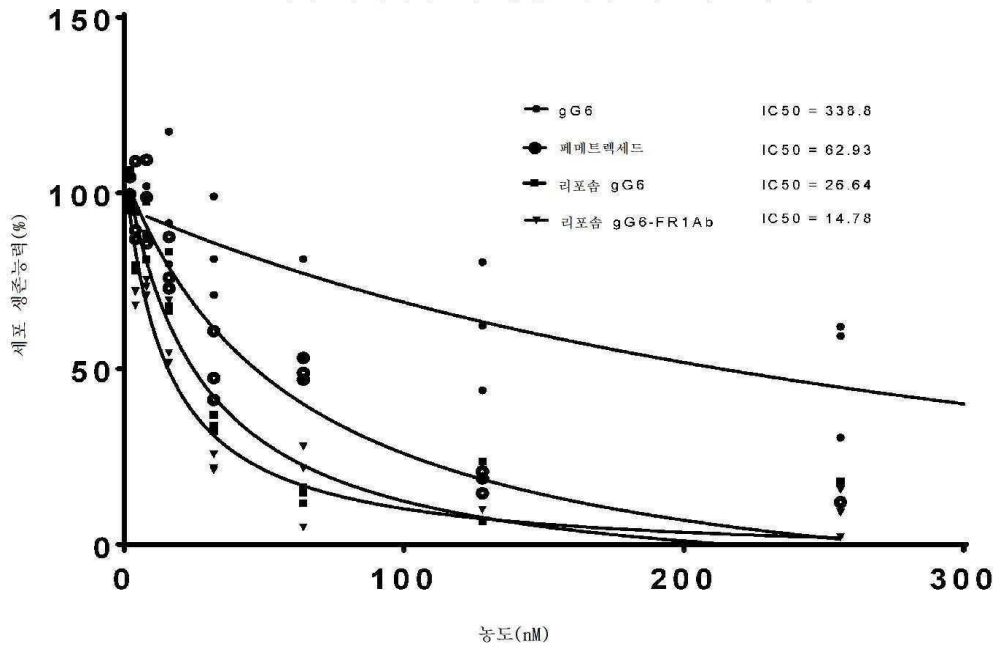
도면9

48시간에 NCI-H2342에 대한
 헥사글루타메이트화 페메트렉세드의 용량 반응 곡선



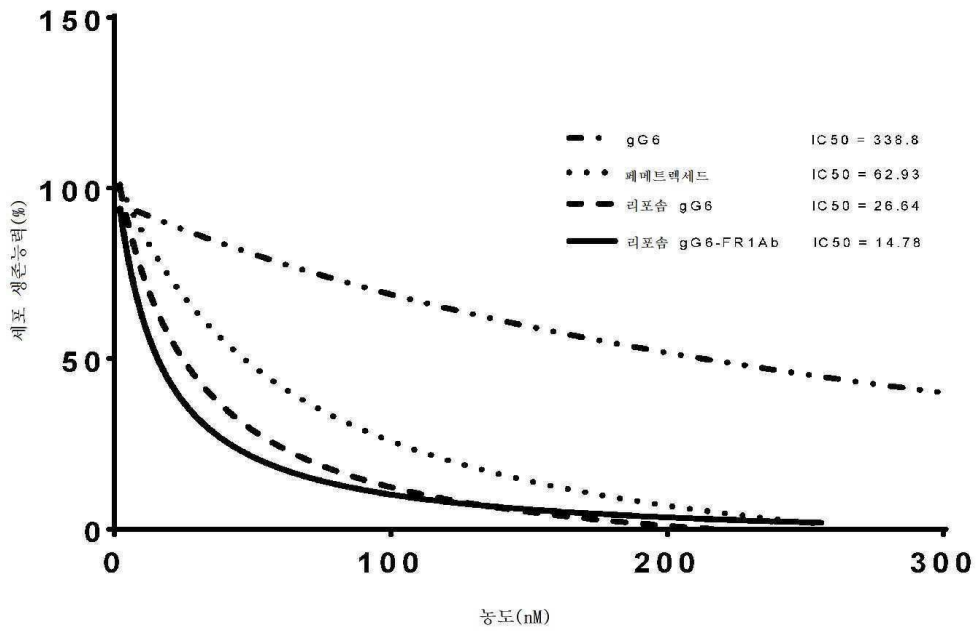
도면10

48시간에 HT-29(결장암)에 대한
헥사글루타메이트화 페메트렉세드의 용량 반응 곡선



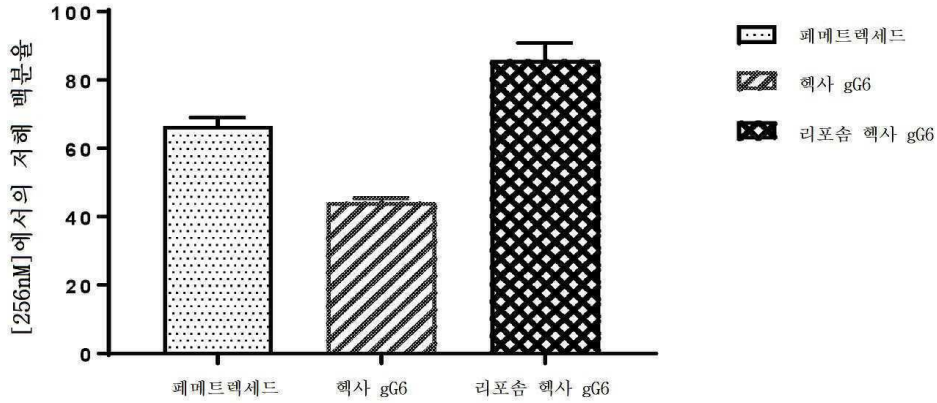
도면11

48시간에 HT-29(결장암)에 대한
헥사글루타메이트화 페메트렉세드의 용량 반응 곡선



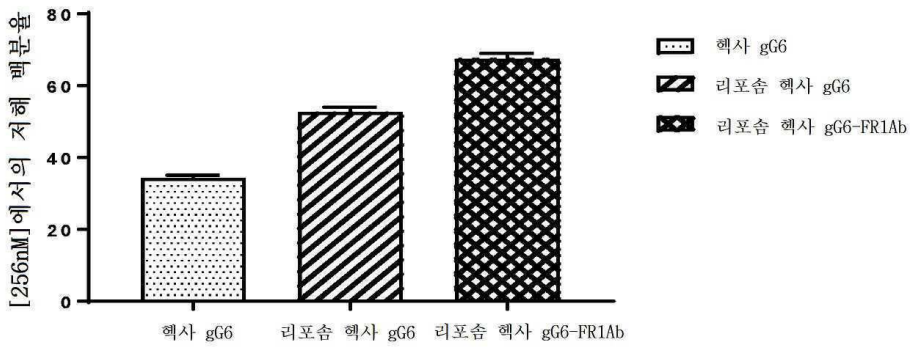
도면12

리포솜 헥사 gG6은 (OAW28 세포) 성장을 저해하도록
헥사 gG6 및 페메트렉세드보다 더 효율적으로 세포에 진입할 수 있다



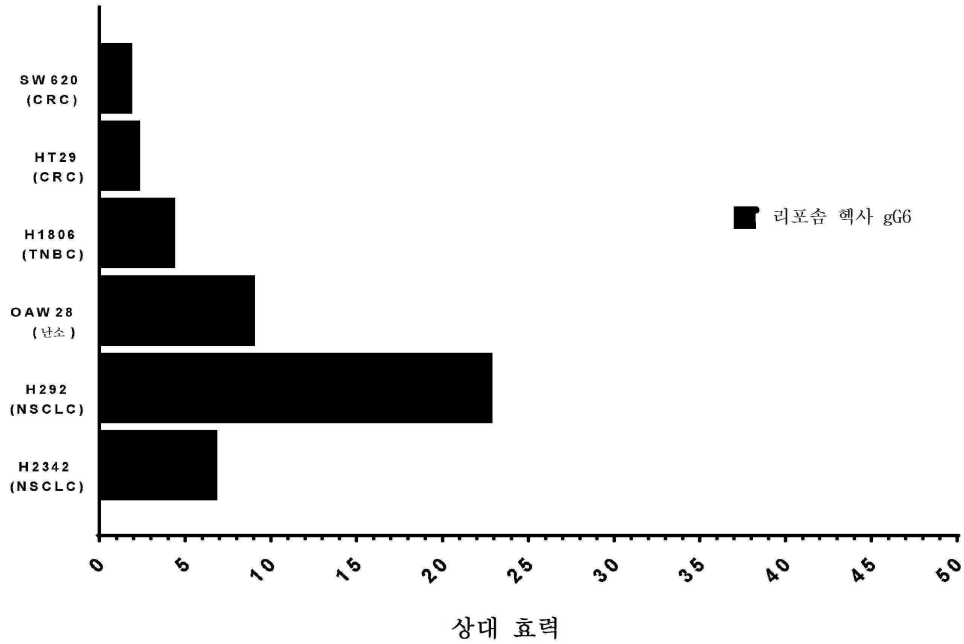
도면13

비표적화된 및 표적화된 리포솜 헥사 gG6은
결장암 세포(SW260)로의 헥사 gG6의 진입을 허용한다



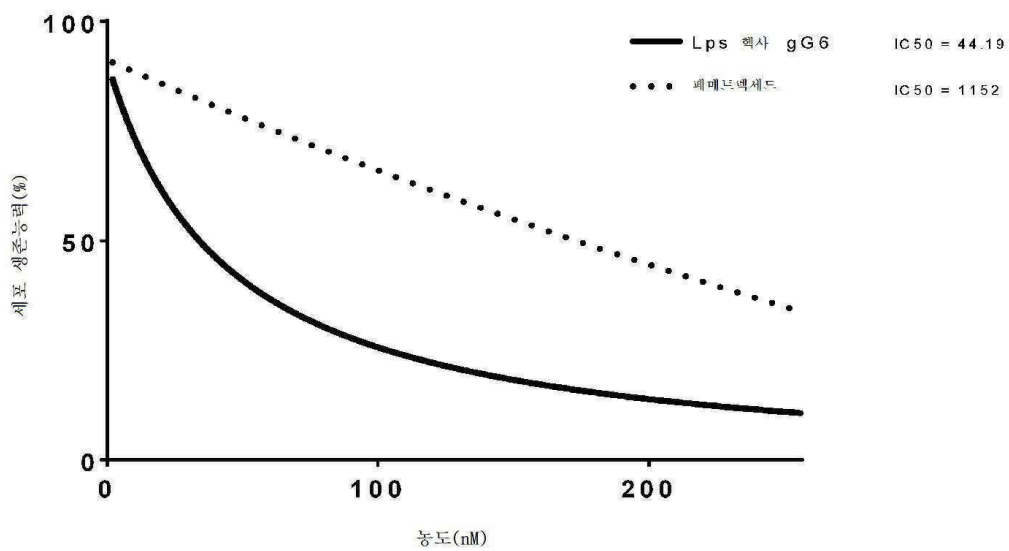
도면14

48시간에 걸친 세포 노출 이후에 페메트렉세드와 비교된 리포솜 L-감마 핵사글루타메이트화 페메트렉세드의 상대 효력



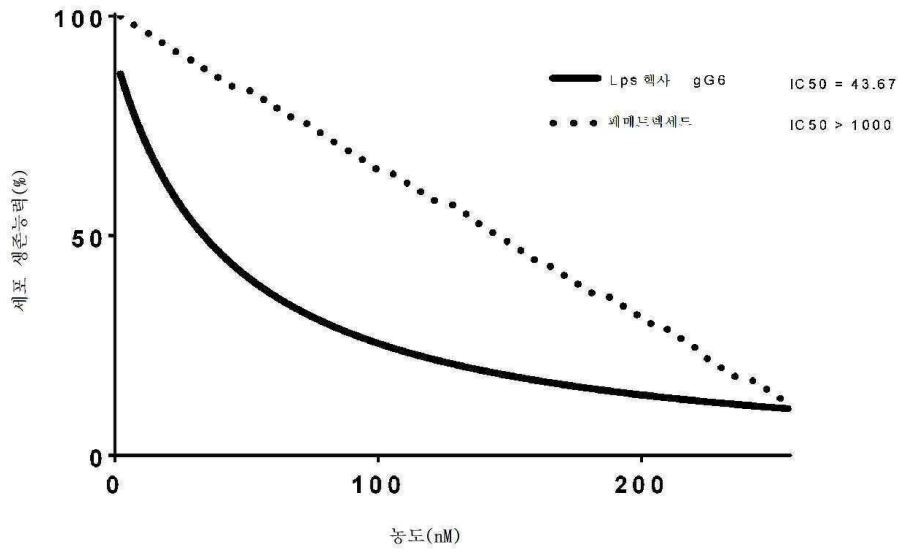
도면15

48시간에 걸친 노출 이후에 HCC1806 삼중 음성 유방암 세포에 대한 치료 효과



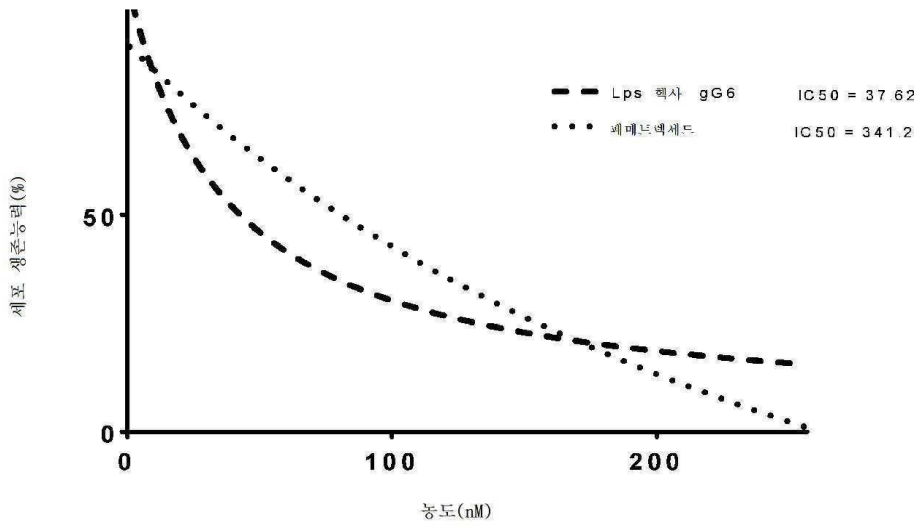
도면16

48시간에 걸친 노출 이후에
H292 비소세포 폐암 세포에 대한 치료 효과

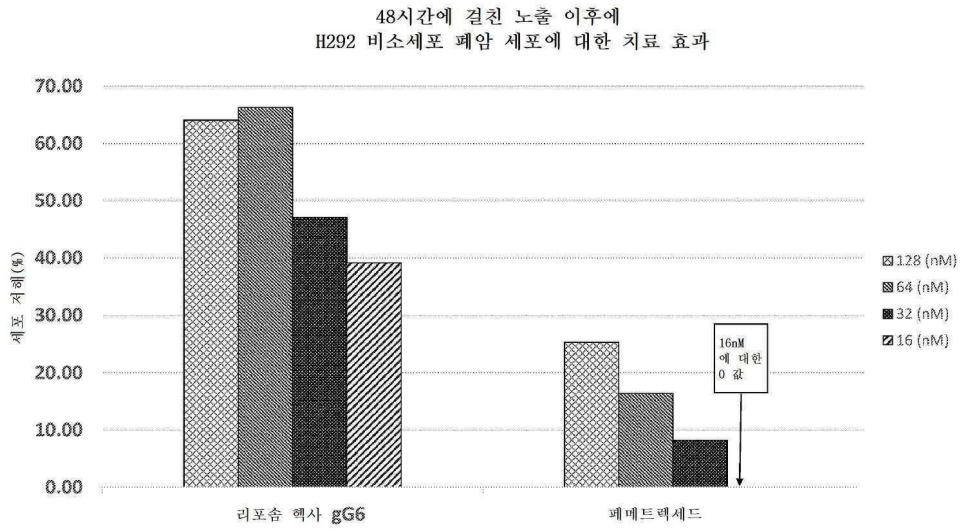


도면17

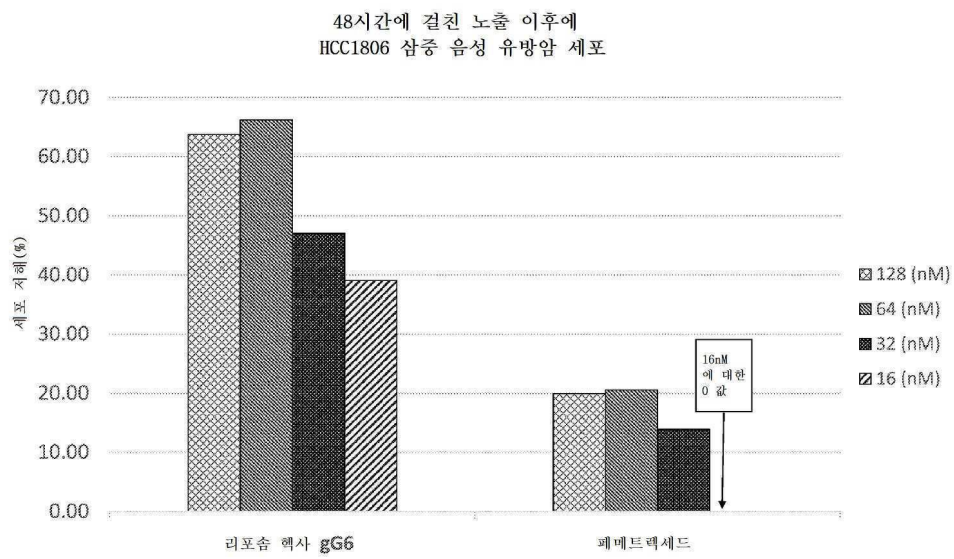
48시간에 걸친 노출 이후에
OAW28 난소암 세포에 대한 치료 효과



도면18

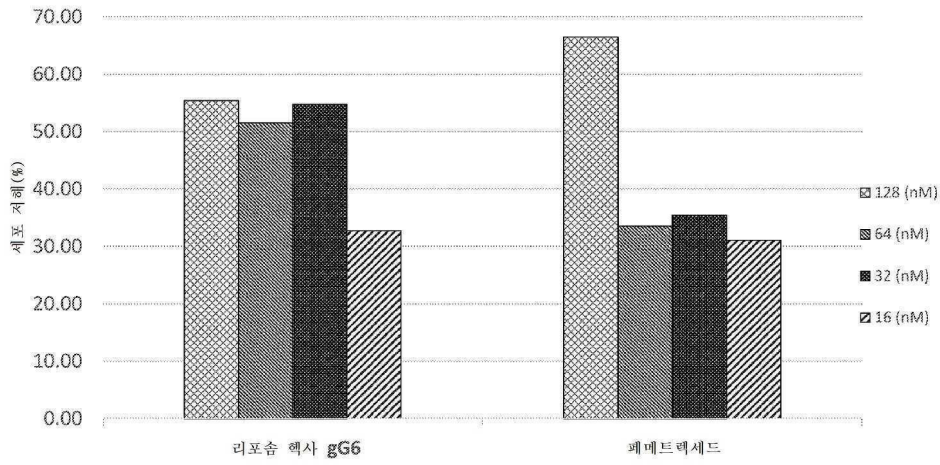


도면19



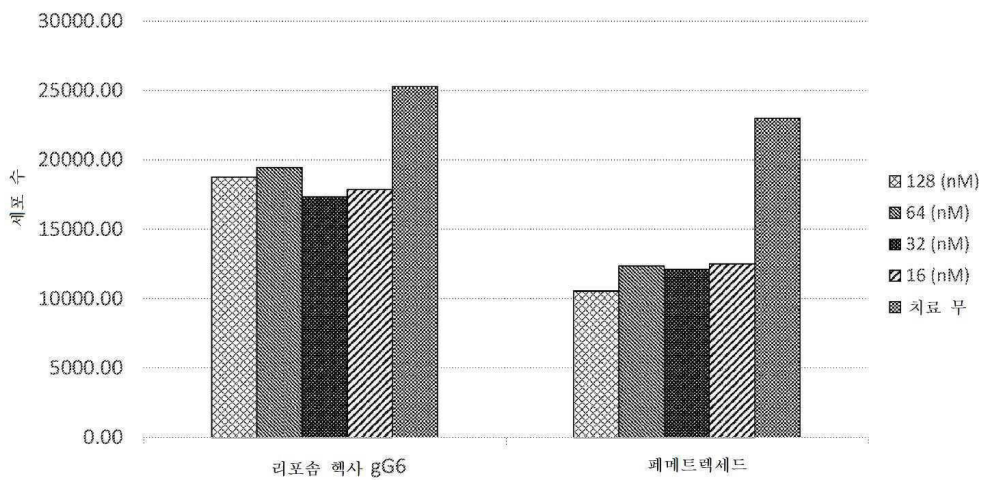
도면20

48시간에 걸친 노출 이후에
OAW28 난소암 세포에 대한 치료 효과



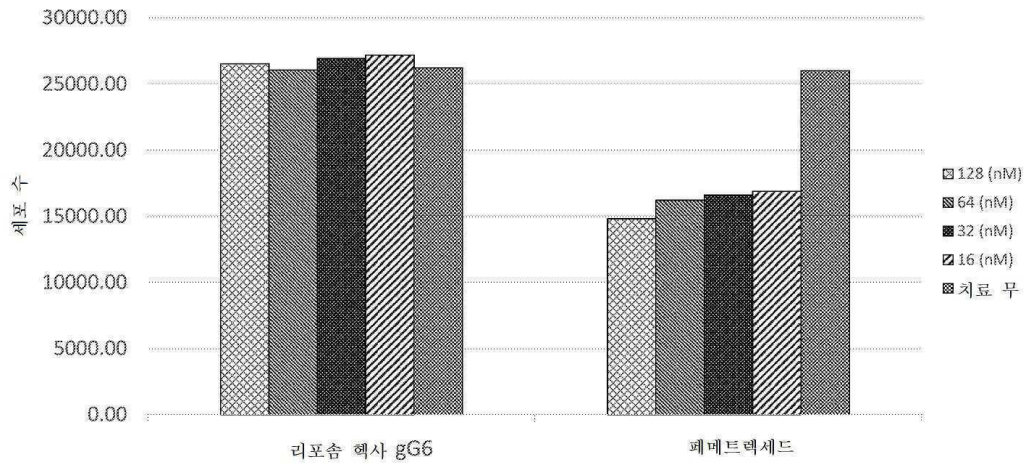
도면21

48시간에 걸친 노출 이후에 호중구에 대한 치료 효과



도면22

48시간에 걸친 노출 이후에 간 세포에 대한 치료 효과



도면23

48시간에 걸친 노출 이후에 상피 결장 세포에 대한 치료 효과

