



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0107894  
(43) 공개일자 2015년09월23일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 47/48* (2006.01) *A61K 31/18* (2006.01)  
*A61K 31/282* (2006.01) *A61K 31/4409* (2006.01)  
*A61K 31/704* (2006.01) *A61K 49/00* (2006.01)  
*A61K 49/04* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 47/48* (2013.01)  
*A61K 31/18* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7024031(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2012년11월30일  
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2014-7014186  
원출원일자(국제) 2012년11월30일  
심사청구일자 2015년09월03일
- (85) 번역문제출일자 2015년09월03일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2012/067236
- (87) 국제공개번호 WO 2013/082389  
국제공개일자 2013년06월06일
- (30) 우선권주장  
61/565,461 2011년11월30일 미국(US)
- (71) 출원인  
말린크로트 엘엘씨  
미국 63042 미주리주 헤이즐우드 맥도넬 블러바드  
675
- (72) 발명자  
로저스 토마스 이.  
미국 63021 미주리주 볼원 트라고 크릭 드라이브  
755
- (74) 대리인  
프레스코스 존 엔.  
미국 63105 미주리주 클레이튼 요크 드라이브  
7572

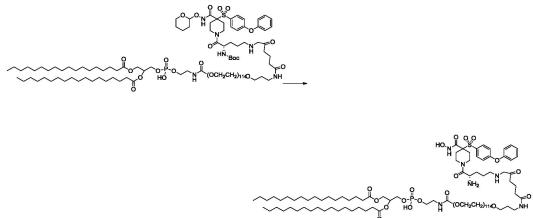
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 MMP-표적 치료 및/또는 진단 나노담체

### (57) 요약

본 발명은 기질 금속단백분해효소 (MMP) 억제제를 포함하는 표적 전달 조성물, 및 대상체에서 질환 상태를 치료 및 진단하기 위한 조성물의 사용 방법에 관한 것이다.

### 대 표 도 - 도17



(52) CPC특허분류

*A61K 31/282* (2013.01)  
*A61K 31/4409* (2013.01)  
*A61K 31/704* (2013.01)  
*A61K 49/0093* (2013.01)  
*A61K 49/04* (2013.01)  
*A61K 51/02* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(a) (i) 치료제 또는 진단제 또는 그의 조합을 포함하는 나노담체; 및  
 (ii) 하기 화학식을 갖는 콘쥬케이트를 포함하는, 표적 전달 조성물을 투여하는 단계  
 를 포함하며, 상기 치료제 또는 진단제는 병태를 치료 또는 진단하기에 충분한 것인, 대상체의 암 병태를 치료 또는 진단하기 위한 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.

A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>

(상기 화학식에서,

A는 상기 콘쥬케이트를 상기 나노담체에 부착시키기 위한 부착 성분이며;

(LPEG)는 하기로부터 선택되며:

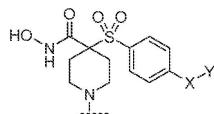
(i) 화학식  $[(EG)(P)]_m$ 을 갖는 결합기(여기서 각각의 EG가 트리에틸렌 글리콜, 테트라에틸렌 글리콜, 펜타에틸렌 글리콜, 헥사에틸렌 글리콜, 헬타에틸렌 글리콜 및 옥타에틸렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 에틸렌 글리콜 기이고, P가 포스포릴 또는 티오포스포릴 기이고, m이 1 내지 20의 정수임); 또는

(ii) 화학식  $-Z^1-Z^2-Z^3-$ 을 갖는 결합기(여기서

$Z^1$  및  $Z^3$ 이 소정의 길이를 갖는 PEG 성분 및  $W_n$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서  $W$ 가 아미노산이고, 아래첨자 n이 0 내지 3의 정수이고;

$Z^2$ 가  $Z^1$ 과  $Z^3$ 을 연결시키기 위한 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트 또는 우레아로부터 선택됨);

MMP<sup>i</sup>는 하기 화학식을 갖는 MMP 효소 억제제임.



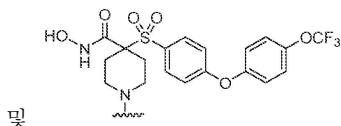
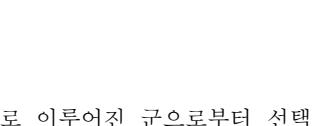
상기 화학식에서,

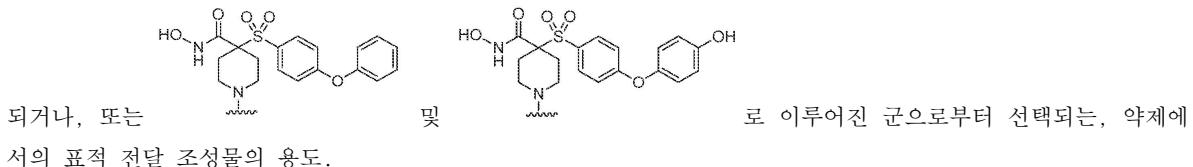
X는 O 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이고;

Y는 피리딜 및 폐닐로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이고, 상기 폐닐은 OH, OCH<sub>3</sub>, OCF<sub>3</sub> 및 CH<sub>3</sub>로 임의로 치환되며;

파상선은 (LPEG)로의 부착 지점을 나타냄)

#### 청구항 2

제1항에 있어서, MMP<sup>i</sup>가  및 로 이루어진 군으로부터 선택



### 청구항 3

제1항에 있어서, 상기 나노담체가 독소루비신, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실, 겔시티빈 및 탁산으로 이루어진 군으로부터 선택된 치료제에 매립, 캡슐화 또는 결박되어 있는, 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.

### 청구항 4

제1항에 있어서, 상기 나노담체가 방사능제, 형광제 및 조영제로 이루어진 군으로부터 선택된 진단제에 매립, 캡슐화 또는 결박되어 있는, 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.

### 청구항 5

(a) (i) 치료제 또는 진단제 또는 그의 조합을 포함하는 나노담체; 및

(ii) 하기 화학식을 갖는 콘쥬게이트를 포함하는, 표적 전달 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 치료제는 병태를 치료하기에 충분하고, 상기 조성물의 투여는 종양 세포의 성장을 적어도 25%까지 억제하는, 대상체의 암 병태를 치료하기 위한 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.

A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>

(상기 화학식에서,

A는 상기 콘쥬게이트를 상기 나노담체에 부착시키기 위한 부착 성분이며;

(LPEG)는 하기로부터 선택되며:

(i) 화학식  $[(EG)(P)]_n$ 을 갖는 결합기(여기서 각각의 EG가 트리에틸렌 글리콜, 테트라에틸렌 글리콜, 펜타에틸렌 글리콜, 헥사에틸렌 글리콜, 헵타에틸렌 글리콜 및 옥타에틸렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 에틸렌 글리콜 기이고, P가 포스포릴 또는 티오포스포릴 기이고,  $n$ 이 1 내지 20의 정수임); 또는

(ii) 화학식  $-Z^1-Z^2-Z^3-$ 을 갖는 결합기(여기서

$Z^1$  및  $Z^3$ 이 소정의 길이를 갖는 PEG 성분 및  $n$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서  $n$ 이 아미노산이고, 아래첨자  $n$ 이 0 내지 3의 정수이고;

$Z^2$ 가  $Z^1$ 과  $Z^3$ 을 연결시키기 위한 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트 또는 우레아로부터 선택됨);

MMP<sup>i</sup>는 MMP 효소 억제제임)

### 청구항 6

(a) (i) 치료제 또는 진단제 또는 그의 조합을 포함하는 나노담체; 및

(ii) 하기 화학식을 갖는 콘쥬게이트를 포함하는, 표적 전달 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 치료제는 병태를 치료하기에 충분하고, 상기 조성물의 투여는 종양 부하를 적어도 25%까지 감소시키는, 대상체의 암 병태를 치료하기 위한 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.

A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>

(상기 화학식에서,

A는 상기 콘쥬게이트를 상기 나노담체에 부착시키기 위한 부착 성분이며;

(LPEG)는 하기로부터 선택되며:

(i) 화학식  $[(EG)(P)]_m$ 을 갖는 결합기(여기서 각각의 EG가 트리에틸렌 글리콜, 테트라에틸렌 글리콜, 펜타에틸렌 글리콜, 헥사에틸렌 글리콜, 헵타에틸렌 글리콜 및 옥타에틸렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 에틸렌 글리콜 기이고, P가 포스포릴 또는 티오포스포릴 기이고, m이 1 내지 20의 정수임); 또는

(ii) 화학식  $-Z^1-Z^2-Z^3-$ 을 갖는 결합기(여기서

$Z^1$  및  $Z^3$ 이 소정의 길이를 갖는 PEG 성분 및  $W_n$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 W가 아미노산이고, 아래첨자 n이 0 내지 3의 정수이고;

$Z^2$ 가  $Z^1$ 과  $Z^3$ 을 연결시키기 위한 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트 또는 우레아로부터 선택됨);

$MMP^i$ 는 MMP 효소 억제제임)

### 청구항 7

(a) (i) 치료제 또는 진단제 또는 그의 조합을 포함하는 나노담체; 및

(ii) 하기 화학식을 갖는 콘쥬게이트를 포함하는, 표적 전달 조성물을 대상체에 투여하는 단계를 포함하며, 상기 치료제는 병태를 치료하기에 충분하고, 상기 조성물은 약 15 mg/Kg 내지 약 60 mg/Kg의 투여량 범위로 투여되는, 대상체의 암 병태를 치료하기 위한 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.

A-(LPEG)- $MMP^i$

(상기 화학식에서,

A는 상기 콘쥬게이트를 상기 나노담체에 부착시키기 위한 부착 성분이며;

(LPEG)는 하기로부터 선택되며:

(i) 화학식  $[(EG)(P)]_m$ 을 갖는 결합기(여기서 각각의 EG가 트리에틸렌 글리콜, 테트라에틸렌 글리콜, 펜타에틸렌 글리콜, 헥사에틸렌 글리콜, 헵타에틸렌 글리콜 및 옥타에틸렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된 에틸렌 글리콜 기이고, P가 포스포릴 또는 티오포스포릴 기이고, m이 1 내지 20의 정수임); 또는

(ii) 화학식  $-Z^1-Z^2-Z^3-$ 을 갖는 결합기(여기서

$Z^1$  및  $Z^3$ 이 소정의 길이를 갖는 PEG 성분 및  $W_n$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 W가 아미노산이고, 아래첨자 n이 0 내지 3의 정수이고;

$Z^2$ 가  $Z^1$ 과  $Z^3$ 을 연결시키기 위한 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트 또는 우레아로부터 선택됨);

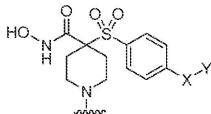
$MMP^i$ 는 MMP 효소 억제제임)

### 청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,  $MMP^i$ 가 약 13nM 이하의  $IC_{50}$ 을 갖는, 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.

## 청구항 9

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,  $\text{MMP}^i$ 가 하기 화학식을 갖는, 약제에서의 표적 전달 조성물의 용도.



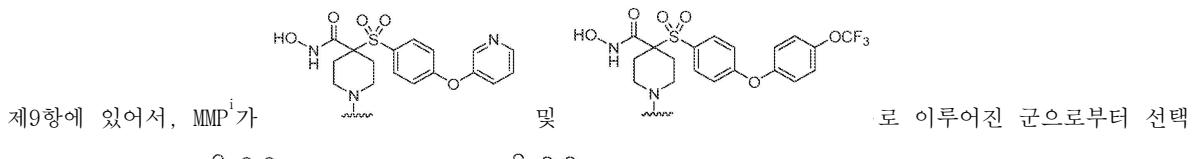
(상기 화학식에서,

X는 O 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이고;

Y는 피리딜 및 폐닐로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이고, 상기 폐닐은 OH,  $\text{OCH}_3$ ,  $\text{OCF}_3$  및  $\text{CH}_3$ 로 임의로 치환되며;

파상선은 (LPEG)로의 부착 지점을 나타냄)

## 청구항 10



제9항에 있어서,  $\text{MMP}^i$ 가

및

로 이루어진 군으로부터 선택

되거나, 또는

및

로 이루어진 군으로부터 선택되는, 약제에

서의 표적 전달 조성물의 용도.

## 발명의 설명

## 기술 분야

## 관련 출원에 대한 교차 참조

본원은 2011년 11월 30일자로 출원된 미국 가출원 특허 출원 제61/565,461호를 우선권 주장하며, 이 가출원은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

## 연방 정부가 지원한 연구 및 개발로 이루어진 본 발명에 대한 권리 성명

## 적용 불가

## 컴팩트 디스크로 제출된 "서열 목록", 표 또는 컴퓨터 프로그램 목록 부록에 대한 참조

## 적용 불가

## 배경 기술

암은 모든 연령의 사람에게 영향을 미칠 수 있는 질환의 유형이다. 따라서, 환자의 암 치료 또는 진단 가능한 요법을 제공하고자 하는 상당한 노력이 있다. 체내에서의 나노담체의 표적 전달은 약물 전달 및 진단 영상화 기법에서의 잠재적인 새로운 분야로서 최근 논의되어 왔다. 불행하게도, 암을 효과적으로 치료 또는 진단할 수 있는 나노담체에 기초한 제품을 제조하는데 여전히 장애가 존재한다.

고형 종양의 전부는 아니지만 다수가 그의 표면에서 기질 금속단백분해효소 (matrix metalloproteinase; MMP) 효소를 발현시키거나 또는 이를 주변의 기질로 배출시키거나 또는 MMP 효소를 혈관형성에 의하여 생성시킨다(문헌[Y. Chau, F. E. Tan, and R. Langer, *Bioconjugate Chem.*, 2004, 15:931-941] 및 [A. Matter, 'Tumor Angiogenesis as a Therapeutic Target', *DRUG DISCOVERY TODAY*, 6:1005-1024 (2001)] 참조). 그래서, 종양 환경은 MMP 2, 9 및 13 효소 함유량뿐 아니라, 막 결합된 패밀리, MMP 14-17의 구성원 등과 같은 것이 특히 풍부하다. 마우스 종양 모델에서의 MMP 효소의 활성은 형광 염료를 지닌 분자가 종양내로 운반되면 형광 염료가

생체내로 배출되는 것으로 FRET계 MMP 효소 분석의 사용에 의하여 명백하게 밝혀졌다(문현[L. Zhu, J. Xie, M. Swierczewska, F. Zhang, Q. Quan, Y. Ma, X. Fang, K. Kim, S. Lee, X. Chen, *Theranostics*, 2011, 1:18-27]).

[0009] 나노입자, 예컨대 리포좀은 통상적으로 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 기를 그의 표면으로 흔입하여 생체내 기능을 향상시키도록 변형된다. 이로 인해 리포좀 나노입자가 종양 세포 관련 수용체 또는 종양내의 효소에 대해 표적화되고 그리고 또한 리포좀 나노입자를 효소/수용체 인지 및 결합 이벤트에 의하여 유도된 세포내이입 (또는 기타 내재화 메카니즘)에 의한 세포독 페이로드 (또는 기타 적하물)의 세포성 흡수에 대하여 표적화하는 것이 이롭다.

[0010] 암을 치료 또는 진단할 수 있으며 그리고 환자에 대한 개별 돌봄을 촉진하기 위한 방법을 제공하는 새로운 표적 전달 접근법에 대한 수요가 여전히 존재한다. 본 개시내용은 이러한 수요를 다룬다.

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

##### 발명의 간단한 개요

[0012] 본 발명은 표적 전달 조성물 및, 대상체에서 암 병태 등의 질환 상태의 치료 및 진단에서의 조성물의 사용 방법을 제공한다.

[0013] 본 발명의 하나의 측면에서, 표적 전달 조성물은 치료제, 진단제 또는 그의 조합을 포함하는 나노담체 및, 하기 화학식을 갖는 콘쥬게이트를 포함할 수 있다:

[0014] A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>

[0015] (상기 화학식에서,

[0016] A는 상기 콘쥬게이트를 상기 나노담체에 부착시키기 위한 부착 성분이며;

[0017] (LPEG)는 폴리에틸렌 글리콜 성분 1 내지 3개의 선형 어셈블리로부터 선택된 결합기; 본원에서 정의된 바와 같은 [(EG)(P)]<sub>m</sub> 결합기; 및 본원에서 정의된 바와 같은 -Z<sup>1</sup>-Z<sup>2</sup>-Z<sup>3</sup>- 결합기이고;

[0018] MMP<sup>i</sup>는 MMP 억제제임).

[0019] 표적 전달 조성물 및 그러한 조성물의 제조 방법 및 사용 방법은 약물 전달 및 진단 영상화의 분야에 다수의 독특한 이점을 제공한다. 예를 들면, 표적 전달 조성물 결합기는 예를 들면 특정 길이 및/또는 화학적 성질을 제공하도록 조정될 수 있는 별개의 개수의 단량체를 갖도록 합성될 수 있다. 게다가, 결합기는 완전 맞춤화될 수 있으며, 단 하나의 유형의 단량체 또는 복수 유형의 단량체를 임의의 순서로 포함하도록 제조될 수 있다. 결합기는 또한 단순한 자동화된 합성을 가능케 하는 고체상 지지체 상에서 합성될 수 있다. 결합기 이외에, 표적 전달 조성물은 정상 투여량으로 투여시 환자에게 독성을 나타내는 작용제를 더 적은 양으로 사용하여 더욱 효과적으로 질환을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0020] 본 발명의 성질 및 이점의 추가의 이해는 명세서의 나머지 부분 및 도면을 참조하여 실현될 수 있다.

#### 도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 콘쥬게이트 1에 대한 질량 스펙트럼을 도시한다.

도 2는 1-tert-부틸 4-에틸 4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-1,4-디카르복실레이트의 합성을 도시한다.

도 3은 1-(tert-부톡시카르보닐)-4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-4-카르복실산의 합성을 도시한다.

도 4는 tert-부틸 4-(벤질옥시카르보닐)-4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-1-카르복실레이트의 합성을 도시한다.

도 5는 N-(벤질옥시)-4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-4-카르복스아미드의 합성을 도시한다.

도 6은 N-(벤질옥시)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐술포닐)파페리딘-4-카르복스아미드의 PEG 1000 파페리딘 아미도 아민 유도체의 합성을 도시한다.

도 7은 N-(벤질옥시)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐술포닐)파페리딘-4-카르복스아미드의 PEG 1000 파페리딘 아미도 아민 유도체의 탈보호를 도시한다.

도 8은 보호된 N-(벤질옥시)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐술포닐)파페리딘-4-카르복스아미드-PEG1000-PEG5000 콘쥬게이트의 합성을 도시한다.

도 9는 N-히드록시-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐술포닐)파페리딘-4-카르복스아미드-PEG1000-PEG5000 콘쥬게이트(콘쥬게이트 1)의 합성을 도시한다.

도 10은 1-벤질 4-메틸 4-((4-페녹시페닐)술포닐)파페리딘-1,4-디카르복실레이트의 합성을 도시한다.

도 11은 1-((벤질옥시)카르보닐)-4-((4-페녹시페닐)술포닐)파페리딘-4-카르복실산의 합성을 도시한다.

도 12는 벤질 4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라히드로-2H-페란-2-일)옥시)카르바모일)파페리딘-1-카르복실레이트의 합성을 도시한다.

도 13은 4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라히드로-2H-페란-2-일)옥시)카르바모일)파페리딘의 합성을 도시한다.

도 14는 벤질 tert-부틸 ((5S)-6-옥소-6-(4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라히드로-2H-페란-2-일)옥시)카르바모일)파페리딘-1-일)헥산-1,5-디일)디카르바메이트의 합성을 도시한다.

도 15는 tert-부틸 ((2S)-6-아미노-1-옥소-1-(4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라히드로-2H-페란-2-일)옥시)카르바모일)파페리딘-1-일)헥산-2-일)카르바메이트의 합성을 도시한다.

도 16은 보호된 4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라히드로-2H-페란-2-일)옥시)카르바모일)파페리딘-PEG5000-DSPE 콘쥬게이트의 합성을 도시한다.

도 17은 N-히드록시-4-((4-페녹시페닐)-술포닐)파페리딘-4-카르복스아미드-PEG5000-DSPE 콘쥬게이트(콘쥬게이트 2)의 합성을 도시한다.

도 18은 콘쥬게이트 2에 대하여 관찰된 질량 스펙트럼을 도시한다.

도 19a는 비표적 리포좀 옥살리플라틴 및 비-리포좀 옥살리플라틴으로 처리된 마우스와 비교하여 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴으로 처리된 BxPC3 체장 종양을 지닌 마우스에서 관찰된 평균 종양 부피를 도시한다. 도 19b는 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴, 비표적 리포좀 옥살리플라틴 및 비-리포좀 옥살리플라틴으로 처리된 시험군에 대한 생존율(%)을 도시한다.

도 20a는 비표적 리포좀 옥살리플라틴 및 비-리포좀 옥살리플라틴으로 처리한 마우스와 비교하여 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴으로 처리한 BxPC3 체장 종양을 지닌 마우스에서 관찰된 체중 변화를 도시한다. 도 20b는 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴, 비표적 리포좀 옥살리플라틴 및 비-리포좀 옥살리플라틴으로 처리한 시험군에 대한 생존율, 빈사율, 체중 손실, 사망, 궤양 발생 종양 및 종양 부하를 도시한다.

도 21a는 비표적 리포좀 옥살리플라틴 및 비-리포좀 옥살리플라틴으로 처리한 마우스와 비교하여 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴으로 처리한, MMP14를 과발현시킨 인칸 섬유육종 HT1080 종양을 지닌 누드 마우스에서 관찰되는 평균 종양 부피를 도시한다. 도 21b는 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴, 비표적 리포좀 옥살리플라틴 및 비-리포좀 옥살리플라틴으로 처리한 시험군에 대한 생존율(%)을 도시한다.

도 22a는 다양한 농도에서 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴의 존재하에서 MMP2의 관찰된 활성을 도시한다. 도 22b는 다양한 농도에서 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴의 존재하에 MMP14의 관찰된 활성을 도시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

#### I. 정의

[0022] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "표적 전달 조성물"은 본원에 추가로 기재된 바와 같이 화학식 A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>를 갖는 콘쥬게이트에 부착된 나노담체의 조성물을 지칭한다. 본 발명의 조성물은 치료 조성물, 진단 조성물

또는 치료 및 진단 조성물로서 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 조성물은 본원에 추가로 기재한 바와 같이 대상체 또는 테스트 샘플내에서 특정 MMP-발현 조직에 대하여 표적화될 수 있다.

[0024] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "나노담체"는 본원에 추가로 기재되어 있는 다양한 크기, 형상, 유형 및 용도를 갖는 입자를 지칭한다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 나노담체의 특징, 예컨대 크기는 나노담체의 유형 및 /또는 용도뿐 아니라, 당업계에서 일반적으로 공지된 기타 인자에 따라 좌우될 수 있다. 일반적으로, 나노담체의 크기는 약 1 nm 내지 약 1,000 nm 범위내일 수 있다. 기타 실시양태에서, 나노담체의 크기는 약 10 nm 내지 약 200 nm 범위내일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 나노담체의 크기는 약 50 nm 내지 약 150 nm 범위내이다. 특정 실시양태에서, 나노담체의 크기는 신배설 한계치보다 크며, 예를 들면 직경이 약 6 nm 초과이다. 기타 실시양태에서, 나노담체는 간에 의한 혈류로부터의 청소를 회피하기에 충분히 작으며, 예를 들면 직경이 1,000 nm 보다 작다. 나노담체는 구체, 원추체, 회전타원체 및 당업계에서 일반적으로 공지된 기타 형상을 포함할 수 있다. 나노담체는 중공체(예를 들면 중실 외부 코어와 중공 내부 코어) 또는 중실체일 수 있거나 또는 중공층 및 중실층 또는 다양한 중실층으로 적층될 수 있다. 예를 들면, 나노담체는 중실 코어 영역 및 중실 외부 캡슐화 영역을 포함할 수 있으며, 이를 둘 다는 가교될 수 있다. 나노담체는 지질, 중합체, 실리카, 자성 물질 또는 금속 물질, 예컨대 금, 산화철 등을 비롯한 하나의 물질 또는 각종 물질의 임의의 조합으로 이루어질 수 있다. 지질은 지방, 왁스, 스테롤, 콜레스테롤, 지용성 비타민, 모노글리세리드, 디글리세리드, 인지질, 스팽고지질, 당지질, 양이온성 또는 음이온성 지질, 유도체화 지질, 카르디올리핀 등을 포함할 수 있다. 중합체는 블록 공중합체, 일반적으로 폴리(락트산), 폴리(락트-코-글리콜산), 폴리에틸렌 글리콜, 아크릴 중합체, 양이온성 중합체뿐 아니라, 나노담체의 제조에 사용하기 위한 당업계에 공지된 기타 중합체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 생분해성 및/또는 생체적합성일 수 있다. 나노담체는 리포좀, 미셀, 지단백질, 지질-피복된 베블, 블록 공중합체 미셀, 폴리머좀, 니오좀, 양자점, 산화철 입자, 금 입자, 덴드리머 또는 실리카 입자를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 지질 단일층 또는 이중층은 지질에 의하여 피복 가능한 물질로 이루어진 나노담체, 예를 들면 중합체 나노담체를 완전히 또는 부분적으로 피복할 수 있다. 일부 실시양태에서, 리포좀은 다층 소포 (MLV), 대형 단층 소포 (LUV) 및 소형 단층 소포 (SUV)를 포함할 수 있다.

[0025] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "치료제"는 유효량으로 존재시 치료를 필요로 하는 대상체에서 원하는 치료적 효과를 생성하는 화합물 또는 분자를 지칭한다. 본 발명은 본원에 추가로 기재된 바와 같이 표적 전달 조성물과 함께 광범위한 치료제 및 그의 사용을 고려한다.

[0026] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "진단제"는 대상체 또는 테스트 샘플 중에 검출될 수 있는 성분을 지칭하며, 본원에서 추가로 기재된다.

[0027] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "콘쥬게이트"는 일반적으로 결합기를 포함하는 분자를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 콘쥬게이트는 화학식 A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>를 갖는다. A는 콘쥬게이트를 나노담체에 부착(공유결합 또는 비-공유결합)시킬 수 있는 부착 성분이다. 콘쥬게이트는 표면을 포함한 나노담체의 임의의 부분 또는 내부 영역에 공유결합으로 결합될 수 있다. 공유결합 부착은 본원에 추가로 기재되는 당업계에 공지된 결합화학을 사용하여 작용기를 통하여 달성될 수 있다. 기타 실시양태에서, 비-공유결합 부착은 일반적으로 당업계에 공지되며 그리고 본원에 추가로 기재된 상호작용을 포함할 수 있다. 본 발명의 콘쥬게이트는 화학식 (LPEG) 및 표적제, MMP<sup>i</sup>를 갖는 결합기를 더 포함할 수 있으며, 각각은 본원에서 추가로 기재된다.

[0028] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "결합기"는 2종의 성분, 예를 들면 부착 성분과 표적제를 결합시키는 콘쥬게이트의 일부를 지칭한다. 제조된 콘쥬게이트 및 콘쥬게이트에 대하여 요구되는 성질에 따라, 결합기는 표적제 및 나노담체 또는 작용제의 적절한 분리를 달성하기 위하여 용이하게 입수 가능한 단량체 성분으로부터 어셈블리될 수 있다.

[0029] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "표적제"는 표적, 예컨대 기질 금속단백분해효소 (MMP)에 대하여 특이성을 갖는 분자를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 표적제는 표적 효소의 소분자 모방체 또는 억제제를 포함할 수 있다. MMP 억제제 (MMP<sup>i</sup>)는 질환의 특정한 발달 단계와 관련될 수 있는 기관, 조직, 세포, 세포외 기질 성분 및/또는 세포내 구획을 비롯한 광범위한 MMP에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적은 암 세포, 특히 암 줄기 세포를 포함할 수 있다. 표적은 세포 표면 상의 항원, 또는 정상 조직에 비하여 암 세포에 존재하거나 또는 더 많이 퍼져있는 항원인 종양 마커를 더 포함할 수 있다.

[0030] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "스텔스제"는 나노담체의 표면 성질을 변경시킬 수 있는 분자를 지칭한다. 스텔스제는 나노담체가 서로 또한 혈액 세포 또는 혈관벽에 접착되는 것을 방지할 수 있다. 특정

실시양태에서, 스텔스 나노담체, 예를 들면 스텔스 리포좀은 나노담체를 대상체에게 투여시 면역원성 및/또는 반응생성력을 감소시킬 수 있다. 스텔스제는 또한 대상체내에서 나노담체의 혈액 순환 시간을 증가시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 예를 들면 나노담체가 스텔스제로 부분적으로 또는 완전하게 구성될 수 있거나 또는 나노담체가 스텔스제로 회복되도록 나노담체는 스텔스제를 포함할 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 스텔스제는 당업계에서 일반적으로 공지된 것을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 스텔스제는 당업계에서 공지된 "폴리에틸렌 글리콜"을 포함할 수 있으며, 일반적으로 에틸렌 옥시드의 올리고머 또는 중합체를 지칭한다. 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)은 선형 또는 분지형일 수 있으며, 여기서 분지형 PEG 분자는 중심 코어로부터 발생하는 추가의 PEG 분자를 가질 수 있고 및/또는 복수의 PEG 분자는 중합체 주체에 그래프팅될 수 있다. PEG는 저분자량 또는 고분자량 PEG, 예를 들면 PEG500, PEG2000, PEG3400, PEG5000, PEG6000, PEG9000, PEG10000, PEG20000 또는 PEG50000을 포함할 수 있으며, 여기서 숫자, 예를 들면 500은 평균 분자량을 나타낸다. 특정 실시양태에서, PEG화-지질은 나노담체의 이중층, 예를 들면 리포좀내에서 나노담체가 "스텔스"를 생성하기에 충분한 양으로 존재하며, 여기서 스텔스 나노담체는 감소된 면역원성을 나타낸다. 기타 적절한 스텔스제의 비제한적인 예로는 텐드리머, 폴리알킬렌 옥시드, 폴리비닐 알콜, 폴리카르복실레이트, 다당류 및/또는 히드록시알킬 전분을 들 수 있다. 스텔스제는 본원에서 추가로 기재된 바와 같이 공유결합 및/또는 비-공유결합 부착을 통하여 본 발명의 표적 전달 조성물에 부착될 수 있다.

[0031] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "~에 매립된"은 나노담체의 표면 상에 또는 표면에 근접하는 작용제의 위치를 지칭한다. 나노담체에 매립된 작용제는 예를 들면 리포좀의 이중층 막내에 위치하거나 또는 해당 쉘(shell)내에서 수용되도록 나노담체의 외부 중합체 쉘내에 위치할 수 있다.

[0032] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "~에 캡슐화된"이라는 것은 나노담체의 내부 안에 봉입되거나 또는 완전 수용되는 작용제의 위치를 지칭한다. 리포좀의 경우, 예를 들면, 치료제 및/또는 진단제는 리포좀의 수성 내부에 존재하도록 캡슐화될 수 있다. 그 후, 이와 같이 캡슐화된 작용제의 방출은 리포좀을 불안정화시키거나 또는 이와 다르게 캡슐화된 작용제의 방출을 실시하고자 하는 특정 조건에 의하여 촉발될 수 있다.

[0033] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "~에 결박된(tethered to)"은 성분들 중 하나 이상이 공간 주변에서 자유롭게 이동하도록 하나의 성분이 또 다른 성분에 부착되는 것을 지칭한다. 특정한 예시의 실시양태에서, 나노담체를 둘러싸는 용액 중에서 자유로이 이동하도록 부착 성분이 나노담체에 결박될 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노담체의 표면에 결박되어 표면으로부터 외향 연장될 수 있다.

[0034] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "지질"은 지방, 왁스, 스테롤, 콜레스테롤, 지용성 비타민, 모노글리세리드, 디글리세리드, 인지질, 스팽고지질, 당지질, 양이온성 또는 음이온성 지질, 유도체화 지질 등을 포함할 수 있는 지질 분자를 지칭한다. 지질은 미쉘, 단일층 및 이중층 막을 형성할 수 있다. 특정 실시양태에서, 지질은 리포좀으로 자가-어셈블리될 수 있다. 기타 실시양태에서, 지질은 단일층 또는 이중층으로서 나노담체의 표면을 회복할 수 있다.

[0035] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "대상체"는 임의 생애 단계에 있는 임의의 포유동물, 특히 인간을 지칭한다.

[0036] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "투여하다", "투여된" 또는 "투여되는"은 본 발명의 표적 전달 조성물을 투여하는 방법을 지칭한다. 본 발명의 표적 전달 조성물은 국소, 비경구, 정맥내, 피내, 근육내, 결장, 직장 또는 복강내를 비롯한 다양한 방식으로 투여될 수 있다. 비경구 투여 및 정맥내 투여가 바람직한 투여 방법이다. 표적 전달 조성물은 또한 조성을 또는 제제의 일부로서 투여될 수 있다.

[0037] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 병태, 질환, 장애 또는 증후군의 "치료하는" 또는 "치료"는 (i) 질환, 장애 또는 증후군의 억제, 즉 그의 발생의 정지; 및 (ii) 질환, 장애 또는 증후군의 완화, 즉 질환, 장애 또는 증후군의 퇴행의 야기를 포함한다. 당업계에서 공지된 바와 같이, 전신 대 국소 전달, 연령, 체중, 일반 건강, 성별, 식이, 투여 시간, 약물 상호작용 및 병태의 경증성의 조절이 필요할 수 있으며, 당업자에 의한 통상의 실험으로 확인될 수 있을 것이다.

[0038] 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "제제"는 대상체에게 투여하기 위한 성분들의 혼합물을 지칭한다. 예를 들면, 관절내(관절 내에서), 정맥내, 근육내, 종양내, 피내, 복강내 및 피하 경로에 의한 것과 같은 비경구 투여에 적절한 제제에는 제제가 의도된 수용체의 혈액과 등장성이 되도록 하는 용질, 정균제, 완충제 및 산화방지제를 함유할 수 있는 수성 및 비-수성의 등장성 멀균 주사 용액 및, 혼탁제, 가용화제, 증점제, 안정화제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성 멀균 혼탁액이 포함된다. 주사 용액 및 혼탁액은 또한 멀균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수 있다. 표적 전달 조성물의 제제는 단일-투여 또는 복수-투여 밀폐 용기, 예컨대

앰풀 및 바이알내에 제공될 수 있다. 표적 전달 조성물은 단독으로 또는 기타 적절한 성분과 조합되어 입 또는 코를 통한 흡입에 의하여 투여하고자 하는 에어로졸 제제(즉, 이들은 "분무화될 수 있음")로 제조될 수 있다. 에어로졸 제제는 가압 허용되는 추진제, 예컨대 디클로로디플루오로메탄, 프로판, 질소 등에 배치될 수 있다. 직장 투여에 적절한 제제의 예로는 유효량의 표적 전달 조성물과 좌제 베이스를 포함하는 좌제를 들 수 있다. 적절한 좌제 베이스로는 천연 또는 합성 트리글리세리드 또는 파라핀 탄화수소를 들 수 있다. 게다가, 예를 들면 액체 트리글리세리드, 폴리에틸렌 글리콜 및 파라핀 탄화수소를 비롯한 베이스와 표적 전달 조성물의 조합을 함유하는 젤라틴 직장 캡슐을 사용할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제제는 국소 투여될 수 있거나 또는 점안액 형태로 투여될 수 있다.

[0039] 본 발명의 실시양태

## II. 총론

[0041] 본 발명은 표적 전달 조성물 및 대상체에서 질환 상태를 치료 및 진단하기 위한 조성물의 사용 방법을 제공한다. 개시된 조성물 및 방법은 통상의 기준 접근법에 비하여 다수의 이로운 특징을 제공한다. 예를 들면, 표적 전달 조성물은 예를 들면 특정 길이 및/또는 화학적 성질을 제공하도록 조절될 수 있는 별개의 개수의 단량체를 갖도록 합성될 수 있는 결합기를 포함한다. 더욱이, 결합기는 완전하게 맞춤화될 수 있으며, 단 하나의 유형의 단량체 또는 복수의 유형의 단량체를 임의의 순서로 포함하도록 제조될 수 있다. 결합기는 또한 고체상 지지체 상에서 합성될 수 있으며, 이는 단순한 자동화된 합성을 허용한다. 표적 전달 조성물은 정상 투여량으로 투여할 경우 환자에게 독성을 나타낼 수 있는 작용체를 더 적은 투여량으로 사용하여 더욱 효과적으로 질환을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0042] 이러한 고형 종양 미세환경으로의 투입은 전신 혈액 공급을 통한 MMP<sup>i</sup>의 표적 리포좀 접근을 허용하여 달성될 수 있다. 상당 비율의 종양 혈관은 불충분하게 형성되고 그리고 '누출'되므로, MMP<sup>i</sup> 표적 리포좀은 이제 종양 기질 MMP 효소와 접촉하게 되며, 효소 구배에 대하여 분배될 수 있다. 이와 같은 그리고 상기 EPR 효과는 나노입자 리포좀을 종양 기질로 효과적으로 전달할 것이다. 일단 기질에서는 MMP<sup>i</sup> 표적 리포좀이 막 결합된 MMP 효소와 접촉할 수 있으며 그리고 세포내이입에 의하여 내재화될 수 있으며 그리고 리포좀 캡슐화된 약물을 세포에 전달할 수 있다. 따라서, 적절하게 고정되고 결합된 MMP 효소 억제제 (MMP<sup>i</sup>) 분자는 종양 기질에 결합될 수 있으며, 적절하게 설계될 경우, 막 결합된 MMP 효소를 발현시키는 세포내로 내재화되어 나노입자/세포독성 약물을 종양 또는 종양 기질 세포내로 전달한다.

## III. 표적 전달 조성물

### A. 나노담체를 포함하는 표적 전달 조성물

[0045] 하나의 측면에서, 본 발명의 표적 전달 조성물은 (a) 치료제 또는 진단제 또는 그의 조합을 포함하는 나노담체; 및 (b) 화학식 A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>를 갖는 콘쥬게이트를 포함하는 표적 전달 조성물을 포함할 수 있다. 그러한 콘쥬게이트의 경우, A는 콘쥬게이트를 나노담체에 부착시키기 위한 부착 성분이고, MMP<sup>i</sup>는 MMP의 억제제이다. (LPEG)는 i) 폴리에틸렌 글리콜 성분 1 내지 3개를 갖는 결합기; ii) 화학식 [(EG)(P)]<sub>n</sub>을 갖는 결합기; 및 iii) 화학식 -Z<sup>1</sup>-Z<sup>2</sup>-Z<sup>3</sup>-을 갖는 결합기로부터 선택된다. 화학식 [(EG)(P)]<sub>n</sub>을 갖는 결합기의 경우, EG는 에틸렌 글리콜 성분 (예를 들면 에틸렌 글리콜, 트리에틸렌 글리콜, 테트라에틸렌 글리콜, 헥사에틸렌 글리콜 등)을 나타내며, P는 포스포릴 또는 티오포스포릴 기를 나타내며, 아래첨자 n은 1 내지 15의 정수이다. 화학식 -Z<sup>1</sup>-Z<sup>2</sup>-Z<sup>3</sup>-을 갖는 결합기의 경우, Z<sup>1</sup> 및 Z<sup>3</sup>은 소정의 길이를 갖는 PEG 성분 및 W<sub>n</sub>으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서 W는 아미노산이고, 아래첨자 n은 0 내지 3의 정수이고; Z<sup>2</sup>는 Z<sup>1</sup> 및 Z<sup>3</sup>을 결합시키기 위한 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트 또는 우레아로부터 선택된 연결기 및 소정의 길이를 갖는 PEG 성분으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

### 나노담체

[0047] 다양한 나노담체가 표적 전달 조성물을 구성하는데 사용될 수 있다. 당업자가 이해하는 바와 같이 나노담체의 특징, 예를 들면 크기는 나노담체의 유형 및/또는 용도뿐 아니라, 당업계에 일반적으로 공지된 기타 요인에 따라 좌우될 수 있다. 적절한 입자는 구체, 회전타원체, 편평체, 판-형상체, 튜브, 경육면체, 직육면체, 난형체,

타원체, 원통형, 원추체 또는 피라미드체일 수 있다. 적절한 나노담체는 약 1 nm 내지 약 1,000 nm, 약 10 nm 내지 약 200 nm 및 약 50 nm 내지 약 150 nm의 최대 치수(예, 직경)의 크기 범위내일 수 있다.

[0048] 적절한 나노담체는 당업계에서 일반적으로 공지된 각종 소재로 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노담체는 지질, 중합체, 실리카 또는 금속성 소재, 예컨대 금, 산화철 등을 비롯한 하나의 물질 또는 각종 물질의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 나노담체의 예로는 리포좀, 미셀, 지단백질, 지질-피복된 베블, 블록 공중합체 미셀, 폴리머좀, 니오좀, 산화철 입자, 금 입자, 실리카 입자, 덴드리머 또는 양자점을 들 수 있으나, 이에 한정되지 않는다.

[0049] 일부 실시양태에서, 나노담체는 부분 또는 완전 포화 또는 불포화 지질로 이루어진 리포좀이다. 적절한 지질의 비제한적인 예로는 지방, 왁스, 스테롤, 콜레스테롤, 지용성 비타민, 모노글리세리드, 디글리세리드, 인지질, 스팽고지질, 당지질, 유도체화 지질 등을 들 수 있다. 일부 실시양태에서, 적절한 지질에는 양쪽성, 중성, 비-양이온성, 음이온성, 양이온성 또는 소수성 지질을 들 수 있다. 특정 실시양태에서, 지질은 통상적으로 세포막 내에 존재하는 것, 예컨대 인지질 및/또는 스팽고지질을 들 수 있다. 적절한 인지질의 비제한적인 예로는 포스파티딜콜린 (PC), 포스파티드산 (PA), 포스파티딜에탄올아민 (PE), 포스파티딜글리세롤 (PG), 포스파티딜세린 (PS) 및 포스파티딜이노시톨 (PI)이 포함된다. 적절한 스팽고지질의 비제한적인 예로는 스팽고신, 세라미드, 스팽고미엘린, 세레브로시드, 술파티드, 강글리오시드 및 피토스팡고신이 포함된다. 기타 적절한 지질로는 지질 추출물, 예컨대 달걀 PC, 심장 추출물, 뇌 추출물, 간 추출물 및 대두 PC를 들 수 있다. 일부 실시양태에서, 대두 PC로는 히드로 소이(Hydro Soy) PC(HSPC)를 들 수 있다. 양이온성 지질의 비제한적인 예로는 N,N-디올레오일-N,N-디메틸암모늄 클로라이드 (DODAC), N,N-디스테아릴-N,N-디메틸암모늄 브로마이드 (DDAB), N-(1-(2,3-디올레오일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTAP), N-(1-(2,3-디올레일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드 (DOTMA) 및 N,N-디메틸-2,3-디올레일옥시)프로필아민 (DODMA)이 포함된다. 비-양이온성 지질의 비제한적인 예로는 디미리스토일 포스파티딜 콜린 (DMPC), 디스테아로일 포스파티딜 콜린 (DSPC), 디올레오일 포스파티딜 콜린 (DOPC), 디팔미토일 포스파티딜 콜린 (DPPC), 디미리스토일 포스파티딜 글리세롤 (DMPG), 디스테아로일 포스파티딜 글리세롤 (DSPG), 디올레오일 포스파티딜 글리세롤 (DOPG), 디팔미토일 포스파티딜 글리세롤 (DPPG), 디미리스토일 포스파티딜 세린 (DMPS), 디스테아로일 포스파티딜 세린 (DSPS), 디올레오일 포스파티딜 세린 (DOPS), 디팔미토일 포스파티딜 세린 (DPPS), 디올레오일 포스파티딜 에탄올아민 (DOPE), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린 (POPC), 팔미토일올레오일-포스파티딜에탄올아민 (POPE) 및 디올레오일-포스파티딜에탄올아민 4-(N-말레이미도메틸)-시클로헥산-1-카르복실레이트 (DOPE-mal), 디팔미토일 포스파티딜 에탄올아민 (DPPE), 디미리스토일포스포에탄올아민 (DMPE), 디스테아로일-포스파티딜-에탄올아민 (DSPE), 16-0-모노메틸 PE, 16-0-디메틸 PE, 18-1-트랜스 PE, 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티디에탄올아민 (SOPE), 1,2-디엘라이도일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (트랜스DOPE) 및 카르디올리핀이 포함된다. 특정 실시양태에서, 지질로는 유도체화 지질, 예컨대 PEG화 지질을 들 수 있다. 유도체화 지질로는 예를 들면, DSPE-PEG2000, 콜레스테롤-PEG2000, DSPE-폴리글리세롤 또는 당업계에서 일반적으로 공지된 기타 유도체를 들 수 있다.

[0050] 지질의 임의의 조합을 사용하여 나노담체, 예컨대 리포좀을 구성하는데 사용할 수 있다. 특정 실시양태에서, 표적 전달 조성물의 지질 조성물, 예컨대 리포좀을 조절하여 조직, 예컨대 종양, 간, 비장 등에서의 리포좀의 특성, 예컨대 누출 속도, 안정성, 입자 크기, 제타 전위, 단백질 결합, 생체내 순환 및/또는 축적에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들면, DSPC 및/또는 콜레스테롤을 사용하여 리포좀으로부터의 누출을 감소시킬 수 있다. 리포좀의 표면 하전에 영향을 미치기 위하여 음의 또는 양의 지질, 예컨대 DSPG 및/또는 DOTAP를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 리포좀은 약 10종 이하의 지질 또는 약 5종 이하의 지질 또는 약 3종 이하의 지질을 포함할 수 있다. 존재하는 특정한 유형의 지질의 물 백분율 (mol %)은 통상적으로 나노담체, 예컨대 리포좀 중에 존재하는 전체 지질의 약 0% 내지 약 10%, 약 10% 내지 약 30%, 약 30% 내지 약 50%, 약 50% 내지 약 70%, 약 70% 내지 약 90% 또는 약 90% 내지 100% 범위내이다. 본원에 기재된 지질은 리포좀에 포함될 수 있거나 또는 지질은 본 발명의 나노담체, 예컨대 중합체 나노담체를 피복하는데 사용될 수 있다. 피복은 나노담체를 부분적으로 또는 전체적으로 둘러쌀 수 있으며, 단일층 및/또는 이중층을 포함할 수 있다. 하나의 실시양태에서, 리포좀은 약 50.6 mol% HSPC, 약 44.3 mol% 콜레스테롤 및 약 5.1 mol% DSPE-PEG2000으로 이루어질 수 있다.

[0051] 기타 실시양태에서, 나노담체의 일부 또는 전체는 중합체, 예컨대 블록 공중합체 또는 나노담체 제조용으로 당업계에 공지된 기타 중합체를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 중합체는 생분해성 및/또는 생체적합성일 수 있다. 적절한 중합체의 비제한적인 예로는 폴리에틸렌, 폴리카르보네이트, 다가무수물, 폴리히드록시산, 폴리프로필푸메레이트, 폴리카프로필락톤, 폴리아미드, 폴리아세탈, 폴리에테르, 폴리에스테르, 폴리(오르토에스테

르), 폴리시아노아크릴레이트, 폴리비닐 알콜, 폴리우레탄, 폴리포스파젠, 폴리아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 폴리시아노아크릴레이트, 폴리우레아, 폴리스티렌, 폴리아민 및 그의 조합을 들 수 있다. 일부 실시양태에서, 예시의 입자는 켈 가교된 크네델(knede1)을 포함할 수 있으며, 이는 미국 특허 출원 번호 11/250,830(Becker et al.); 문헌[Thurmond, K.B. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (28) 6656-6665 (1997)]; [Wooley, K.L., *Chem. Eur. J.*, 3 (9): 1397-1399 (1997)]; [Wooley, K.L., *J. Poly. Sci.: Part A: Polymer Chem.*, 38: 1397-1407 (2000)]에 추가로 기재되어 있다. 기타 실시양태에서, 적절한 입자는 폴리(락트 코-글리콜산) (PLGA)를 포함할 수 있다(문헌[Fu, K. et al., *Pharm Res.*, 27:100-106 (2000)]).

[0052] 나노담체에 부착시키기 위한 콘쥬게이트

특정 실시양태에서, 나노담체를 포함하는 표적 전달 조성물은 또한 화학식 A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>를 갖는 콘쥬게이트를 포함할 수 있으며, 여기서 부착 성분 A는 콘쥬게이트를 나노담체에 부착시키기 위하여 사용될 수 있다. 부착 성분은 나노담체 상에, 예컨대 나노담체의 표면 상의 임의의 위치에 부착될 수 있다. 부착 성분은 공유결합 및 /또는 비-공유결합 부착을 비롯한 다양한 경로를 통하여 나노담체에 부착될 수 있다. 하기에 추가로 기재한 바와 같이, 콘쥬게이트는 또한 결합기 (LPEG) 및 MMP<sup>i</sup> 표적체를 포함할 수 있다.

특정 실시양태에서, 부착 성분 A는 나노담체 상에 존재하는 반응성 기에 부착 성분을 공유결합 부착시키도록 사용될 수 있는 작용기를 포함할 수 있다. 작용기는 부착 성분 상의 어느 곳이나, 예컨대 부착 성분의 말단 위치에 배치될 수 있다. 다양한 작용기는 일반적으로 당업계에 공지되어 있으며, 여러 유형의 반응, 예컨대(이에 한정되지 않음) 친핵성 치환(예를 들면 아민 및 알콜과 아실 할라이드 또는 활성 에스테르의 반응), 친전자성 치환(예를 들면 엔아민 반응) 및 탄소-탄소 및 탄소-헤테로원자 다중 결합으로의 첨가 (예를 들면 마이클(Michael) 반응 또는 디엘스-알더(Diels-Alder) 첨가)에서 반응될 수 있다. 이들 및 기타 유용한 반응은 예를 들면 문헌[March, *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1985]; 및 [Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego, 1996]에서 논의되어 있다. 적절한 작용기는 예를 들면 (a) N-히드록시숙신이미드 에스테르, N-히드록시벤즈트리아졸 에스테르, 산 할로겐화물, 아실 이미다졸, 티오에스테르, p-니트로페닐 에스테르, 알킬, 알케닐, 알키닐 및 방향족 에스테르를 비롯한(이에 한정되지 않음) 카르복실 기 및 그의 각종 유도체; (b) 에스테르, 에테르, 알데히드 등으로 전환될 수 있는 히드록실 기, (c) 할라이드가 친핵성 기, 예컨대 아민, 카르복실레이트 음이온, 티올 음이온, 탄소음이온 또는 알콕시드 이온으로 차후에 치환되어 할로겐 원자의 부위에서 새로운 기의 공유결합 부착을 생성할 수 있는 할로알킬기; (d) 디엘스-알더 반응에 참여할 수 있는 친디엔체 기, 예컨대, 말레이미도 기; (e) 카르보닐 유도체, 예컨대, 아민, 히드라존, 세미카르바존 또는 옥심의 형성에 의하여 또는 그리나드(Grignard) 첨가 또는 알킬리튬 첨가와 같은 반응에 의한 유도체화를 위한 알데히드 또는 케톤 기; (f) 아민과의 차후 반응을 위하여 예를 들면 술풀아미드를 형성하기 위한 술포닐 할라이드 기; (g) 디술피드로 전환될 수 있거나 또는 아실 할라이드 또는 마이클 수용체와 반응할 수 있는 티올 기; (h) 예를 들면 아실화, 알킬화 또는 옥시드화가 가능한 아민 또는 술프리드릴 기; (i) 예를 들면, 시클로첨가, 아실화, 마이클 첨가 등을 실시할 수 있는 알켄; 및 (j) 예를 들면, 아민 및 히드록실 화합물과 반응할 수 있는 에폭시드를 들 수 있다. 일부 실시양태에서, 클릭 화학에 기초한 플랫폼은 부착 성분을 나노담체에 부착시키는데 사용될 수 있다(문헌[Kolb, H.C. et al., M. G. Finn and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int'l. Ed.* 40 (11): 2004-2021 (2001)]). 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노담체와의 복수의 공유 결합을 생성하는 하나의 작용기 또는 복수의 작용기를 포함할 수 있다.

[0055] 하기 표 1은 본 발명에 사용할 수 있는 작용기의 추가의 비제한적인 대표예를 제공한다.

표 1

## 공액 화학을 위한 예시의 작용기 쌍

작용기:	반응물
케톤 및 알데히드 기	아미노, 히드라지도 및 아미노옥시
아미드	아미노, 히드라지도 및 아미노옥시
시아노	히드록시
알킬화제 (예, 할로알킬 기 및 말레이미도 유도체)	티올, 아미노, 히드라지도, 아미노옥시
카르복실 기 (활성화 카르복실 기 포함)	아미노, 히드록실, 히드라지도, 아미노옥시
활성화 술포닐 기 (예, 술포닐 클로라이드)	아미노, 히드록실, 히드라지도, 아미노옥시
술프히드릴	술프히드릴
<b>His-태그</b> (예, 6-His 태그된 웨티드 또는 단백질)	니켈 니트릴로아세트산

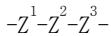
[0056]

기타 실시양태에서, 부착 성분은 친화성 상호작용, 금속 배위결합, 물리적 흡착, 소수성 상호작용, 반 데 발스 (van der Waals) 상호작용, 수소 결합 상호작용, 자기 상호작용, 정전기적 상호작용, 쌍극자-쌍극자 상호작용, 항체-결합 상호작용, 보족 DNA 사이의 하이브리드화 상호작용 등을 비롯한(이에 한정되지 않음) 비-공유결합 상호작용에 의하여 나노담체에 부착될 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노담체의 지질 이중층 부분, 예컨대 리포좀내에 존재할 수 있다. 예를 들면, 부착 성분은 지질 이중층의 소수성 및/또는 친수성 영역과 부분적으로 또는 완전 상호작용하는 지질일 수 있다. 일부 실시양태에서, 부착 성분은 나노담체와의 비-공유결합 상호작용을 허용하는 하나의 기를 포함할 수 있으나, 복수의 기도 또한 고려된다. 예를 들면, 복수의 이온 하전은 부착 성분과 나노담체 사이의 충분한 비-공유결합 상호작용을 생성하도록 사용될 수 있다. 대안의 실시양태에서, 부착 성분은 복수의 지질이 나노담체 상에 코팅된 이중층 또는 단일층, 또는 리포좀의 이중층 막과 상호작용하도록 복수의 지질을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 주위 용액 조건을 변경시켜 비-공유결합 상호작용을 방해하여 부착 성분을 나노담체로부터 분리할 수 있다.

## 결합기

(LPEG)로 표기한 결합기는 본원에서 제공된 조성물에 사용된 표적 전달 콘쥬게이트의 또 다른 특징이 된다. 당업자는 다양한 결합기가 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들면 문헌[Hermanson, G.T., *Bioconjugate Techniques*, 2<sup>nd</sup> Ed., Academic Press, Inc. (2008)]에서 찾아볼 수 있다는 것을 이해할 수 있다. 본 발명의 결합기는 조성물에 추가의 특성을 제공, 예컨대 콘쥬게이트의 상이한 부분, 예를 들면 A와 MMP<sup>i</sup> 사이의 스페이싱을 제공하는데 사용될 수 있다. 이러한 스페이싱은 예를 들면 표적제가 표적에 결합될 때 나노담체에 의하여 야기되는 입체 장애 문제를 극복하기 위하여 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 결합기는 표적 전달 조성물의 물성을 변경시키는데 사용될 수 있다.

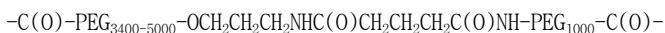
실시양태의 하나의 군에서, 결합기 (LPEG)는 하기 화학식을 갖는다:



일부 실시양태에서,  $Z^1$  및  $Z^3$ 은 소정의 길이를 갖는 PEG 성분 및  $W_n$ 으로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되며, 여기서  $W$ 는 아미노산이고, 아래첨자  $n$ 은 0 내지 3의 정수이고;  $Z^2$ 는  $Z^1$  및  $Z^3$ 을 결합시키기 위한 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트 또는 우레아로부터 선택된 연결기 및 소정의 길이를 갖는 PEG 성분으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서, (LPEG)는  $-Z^1-Z^2-Z^3-$ 이다. 일부 실시양태에서,  $Z^1$ 은  $W_n$ 이고;  $Z^2$ 는 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트 우레아 또는 그의 조합으로부터 선택되며;  $Z^3$ 은 소정의 길이를 갖는 PEG 성분이다. 일부 실시양태에서, 아래첨자  $n$ 은 1이다. 일부 실시양태에서, 아래첨자  $n$ 은 2이다. 일부 실시양태에서, 아래첨자  $n$ 은 3이다. 일부 실시양태에서, 아래첨자  $n$ 은 0이다. 아래첨자  $n$ 이 0이 아닌 실시양

태에서, 아미노산  $\text{W}$ 는  $\alpha$ -아미노산일 수 있다. 결합기는 임의의 적절한  $\alpha$ -아미노산을 함유할 수 있다. 적절한  $\alpha$ -아미노산의 비제한적인 예로는 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 리신, 류신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판 및 티로신이 포함된다. 일부 실시양태에서,  $\alpha$ -아미노산은 아스파르트산, 글루탐산, 리신, 아르기닌 및 글리신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서,  $\alpha$ -아미노산은 글루탐산 및 리신으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시양태에서,  $\alpha$ -아미노산은 리신이다.

[0063] 일부 실시양태에서, 각각의  $Z^1$  및  $Z^3$ 은 소정의 길이를 갖는 PEG 성분이고,  $Z^2$ 는 2개의 PEG 성분을 연결하기 위한 연결기 (예를 들면 아미드, 티오아미드, 에스테르, 카르바메이트, 우레아 또는 조합 연결기)이다. 당업자는 연결기 ( $Z^2$ )가 종종  $-Z^1-Z^2-Z^3-$ 의 어셈블리를 촉진하기 위하여 동일하거나 또는 상이할 수 있는 각각의 말단에서의 작용기를 갖는 알킬렌 기일 것이라는 것을 이해할 것이다. 예를 들면, 실시양태의 하나의 군에서,  $Z^1$ 은 부착 성분 (A, 바람직하게는 지질, 예컨대 인지질 또는 카르디올렙틴 분자)에 부착되는 PEG 성분이다. 유사하게,  $Z^3$ 은  $\text{MMP}^i$ 에 부착되는 PEG 성분이다. 결합 어셈블리에 사용하기 위한 필수 작용기 및 공지의 길이를 갖는 다수의 PEG 성분은 상업적으로 입수 가능하거나 또는 공지의 방법에 의하여 제조될 수 있다. 예를 들면, 화학식  $\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{24}\text{NH-BOC}$ 를 갖는 PEG 성분은 입수가 용이하며, 적절한 결합 어셈블리를 제조하기 위하여 선택적으로 반응할 수 있는 작용기이다. 실시양태의 하나의 군에서,  $Z^1$ 은 PEG 3400 또는 PEG 5000 성분 (각각 77 또는 140 폴리에틸렌 글리콜 유닛)이다. 기타 실시양태에서,  $Z^3$ 은 PEG 1000 성분 (24 폴리에틸렌 글리콜 유닛)이다. 특정한 선택된 실시양태에서, (LPEG)는 하기 화학식을 갖는다:

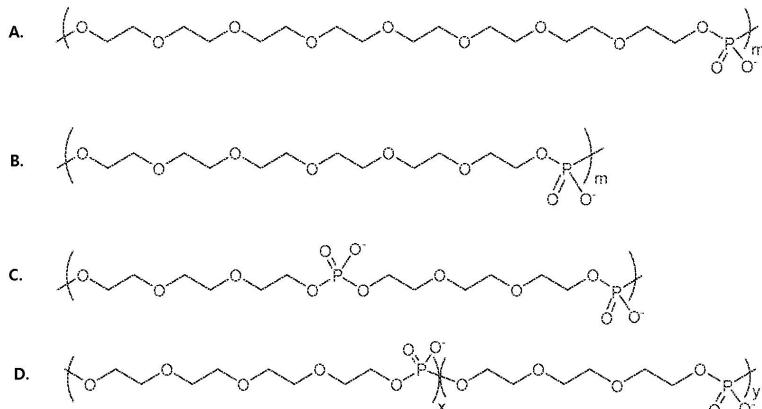


[0065] 일부 실시양태에서, (LPEG)는 하기 화학식을 갖는다:



[0066] 실시양태의 하나의 군에서, 표적 전달 조성물은 화학식  $[(\text{EG})(\text{P})]_m$ 을 갖는 결합기 (LPEG)를 포함할 수 있으며, 여기서 각각의 EG는 트리에틸렌 글리콜, 테트라에틸렌 글리콜, 펜타에틸렌 글리콜, 헥사에틸렌 글리콜, 헬타에틸렌 글리콜 및 옥타에틸렌 글리콜로부터 독립적으로 선택된 에틸렌 글리콜 기이고; P는 포스페이트 및 티오포스페이트로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다. 일부 실시양태에서,  $m$ 은 결합기가 나노단체로부터 연장된 폴리(에틸렌 글리콜) 모이어티보다 더 길도록 하기에 충분한 수일 수 있다. 일부 실시양태에서,  $m$ 은 1보다 클 수 있다. 기타 실시양태에서,  $m$ 은 1 내지 10, 1 내지 20, 1 내지 30 또는 1 내지 40의 정수일 수 있다. 또 다른 실시양태에서,  $m$ 은 2 내지 12, 3 내지 12, 4 내지 12, 5 내지 12, 6 내지 12, 7 내지 12, 8 내지 12, 9 내지 12, 10 내지 12 및 11 내지 12의 정수일 수 있다. 또 다른 실시양태에서,  $m$ 은 4 내지 20, 6 내지 20, 8 내지 20, 10 내지 20, 12 내지 20, 14 내지 20, 16 내지 20 및 18 내지 20 범위일 수 있다. 하나의 실시양태에서,  $m$ 은 8일 수 있다. 또 다른 실시양태에서,  $m$ 은 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12일 수 있다. EG 및 P에 관하여, 둘다의 임의의 조합을 결합기에 사용할 수 있다. 예를 들면, 결합기는 한 종류의 에틸렌 글리콜, 예컨대 포스페이트 만을 갖는 헥사에틸렌 글리콜 (HEGp)로 이루어질 수 있다. 기타 실시양태에서, 상이한 에틸렌 글리콜을 사용할 수 있으며, 임의의 조합의 포스페이트 또는 티오포스페이트와 조합할 수 있다. 예시의 실시양태에서, 결합기는 테트라에틸렌 글리콜-포스페이트-헥사에틸렌 글리콜-티오포스페이트-헥사에틸렌 글리콜-포스페이트-트리에틸렌 글리콜-포스페이트일 수 있다. 당업자는 본 발명의 결합기에 대하여 이용 가능한 방대한 수의 조합을 이해할 것이다.

[0068] 기재된 결합기의 일부 변형을 하기 예시한다:



[0069]

[0070]

결합기 A는 옥타에틸렌 글리콜 포스페이트를 나타낸다. A에서,  $m$ 은 예를 들면 1 내지 20일 수 있다. A는 또한 임의로 또 다른 결합기의 일부일 수 있거나 또는 A는 또 다른 결합기에 부착될 수 있다. 유사하게, 결합기 B는 헥사에틸렌 글리콜 포스페이트 (또한 본원에서 HEGp로 기재함)를 나타낸다. B는 다수의 반복 단위를 포함할 수 있으며, 예를 들면  $m$ 은 1 내지 20, 바람직하게는 약 8일 수 있다. 결합기 C에서 나타낸 바와 같이,  $m$ 은 특정 정수일 수 있으며, 예를 들면 트리에틸렌 글리콜 포스페이트의 예시의 이량체에 의하여 나타난 바와 같이  $m$ 은 2 일 수 있다. 대안으로, 결합기는 예를 들면  $x+y=m$ 이 되도록 추가의 아래첨자 x 및 y를 사용하여 기재할 수 있다. 결합기 D는 예를 들면 트리에틸렌 글리콜 포스페이트에 연결된 테트라에틸렌 글리콜 포스페이트를 나타낸다. 특정 실시양태에서, x 및 y의 아래첨자 팔호내의 에틸렌 글리콜 부분 (EG)은 트리에틸렌 글리콜, 테트라에틸렌 글리콜, 펜타에틸렌 글리콜, 헥사에틸렌 글리콜, 헵타에틸렌 글리콜 및 옥타에틸렌 글리콜로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택될 수 있다.

[0071]

### 치료제

[0072]

본 발명의 표적 치료 또는 진단 전달 조성물에 사용된 나노담체는 치료제, 진단제 또는 그의 조합을 포함한다. 치료제 및/또는 진단제는 나노담체의 내부에, 표면에 또는 주위에 어느 곳이나 존재할 수 있다. 일부 실시양태에서, 치료제 및/또는 진단제는 나노담체에 매립, 캡슐화 또는 결박될 수 있다. 특정 실시양태에서, 나노담체는 리포좀이며, 진단제 및/또는 치료제는 리포좀에 캡슐화된다.

[0073]

본 발명에 사용된 치료제는 대상체에서 병태를 치료하기 위한 임의의 작용제를 포함할 수 있다. 일반적으로, 미국 약전 (U.S.P.), 문헌 [Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10<sup>th</sup> Ed., McGraw Hill, 2001]; [Katzung, Ed., Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill/Appleton & Lange, 8<sup>th</sup> ed., September 21, 2000]; [Physician's Desk Reference (Thomson Publishing)]; 및/또는 [The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 18<sup>th</sup> ed., 2006, Beers and Berkow, Eds., Merck Publishing Group]) 또는 동물의 경우에서 문헌 [The Merck Veterinary Manual, 9<sup>th</sup> ed., Kahn Ed., Merck Publishing Group, 2005] (이들 문헌 모두는 본원에 참조로 포함됨)에 제시된 작용제를 포함하나 이에 제한되지 않는 당업계에서 공지된 임의의 치료제를 사용할 수 있다.

[0074]

치료제는 치료하고자 하는 질환의 유형에 따라 선택될 수 있다. 예를 들면, 특정 유형의 암 또는 종양, 예컨대 암종, 육종, 백혈병, 림프종, 골수종 및 중추 신경계 암뿐 아니라, 고형 종양 및 혼합 종양은 동일하거나 또는 가능하게는 상이한 치료제의 투여를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 치료제는 대상체에서 암 병태를 치료하거나 또는 영향을 주도록 전달될 수 있으며, 화학치료제, 예컨대 알킬화제, 항대사물질, 안트라사이클린, 알칼로이드, 토포이소머라제 억제제 및 기타 항암제를 들 수 있다. 일부 실시양태에서, 작용제로는 안티센스 작용제, 마이크로RNA, siRNA 및/또는 shRNA 작용제를 들 수 있다.

[0075]

일부 실시양태에서, 치료제로는 아바스틴, 독소루비신, 시스플라틴, 옥살리플라틴, 카르보플라틴, 5-플루오로우라실, 켐시티빈 또는 탁산, 예컨대 파클리탁셀 및 도세탁셀을 비롯한(이에 한정되지 않음) 항암제 또는 세포독성제를 들 수 있다. 추가의 항암제의 비제한적인 예로는 20-에피-1,25 디히드록시비타민 D3, 4-이포메아놀, 5-에티닐우라실, 9-디히드로탁솔, 아비라테론, 아시비신, 아클라루비신, 아코다졸 염산염, 아크로닌, 아실풀렌,

아데시페놀, 아도젤레신, 알데스류킨, all-tk 길항제, 알트레타민, 암바무스틴, 암보마이신, 아메탄트론 아세테이트, 아미독스, 아미포스틴, 아미노글루테티미드, 아미놀레불린산, 암루비신, 암사크린, 아나그렐리드, 아나스트로졸, 안드로그라폴리드, 혈관형성 억제제, 길항제 D, 길항제 G, 안타렐릭스, 안트라마이신, 항-배측화 형태 형성 단백질-1, 항에스트로겐, 항네오플라스톤, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 아페디콜린 글리시네이트, 아퓸토시스 유전자 조절제, 아퓸토시스 조절제, 아푸린산, ARA-CDP-DL-PTBA, 아르기닌 테아미나제, 아스파라기나제, 아스퍼를린, 아수라크린, 아타메스탄, 아트리무스틴, 악시나스타틴 1, 악시나스타틴 2, 악시나스타틴 3, 아자시티딘, 아자세트론, 아자톡신, 아자티로신, 아제테파, 아조토마이신, 바카틴 III 유도체, 발라놀, 바티마스타트, 벤조클로린, 벤조데파, 벤조일스타우로스포린, 베타 락탐 유도체, 베타-알레틴, 베타클라마이신 B, 베톤린산, BFGF 억제제, 비칼루타미드, 비산트伦, 비산트伦 염산염, 비사지리디닐스페르민, 비스나피드, 비스나피드 디메실레이트, 비스트라텐 A, 비젤레신, 블레오마이신, 블레오마이신 술페이트, BRC/ABL 길항제, 브레플레이트, 브레퀴나르 소듐, 브로페리민, 부도티탄, 부술판, 부티오닌, 술폭시민, 카티노마이신, 칼시포트리올, 칼포스틴 C, 칼루스테론, 캄프토테신 유도체, 카나리폭스 IL-2, 카페시타빈, 카라세미드, 카르베티메르, 카르보플라틴, 카르복스아미드-아미노-트리아졸, 카르복시아미도트리아졸, 카레스트 M3, 카르무스틴, 캄 700, 연골 유래 억제제, 카루비신 염산염, 카르젤레신, 카제인 키나제 억제제, 카스타노스페민, 세크로핀 B, 세데핀골, 세트로렐릭스, 클로람부실, 클로린, 클로로퀴독살린 술폰아미드, 시카프로스트, 시클레마이신, 시스플라틴, 시스-포르피린, 클라드리빈, 클로미펜 유사체, 클로트리마졸, 콜리스마이신 A, 콜리스마이신 B, 콤브레타스타틴 A4, 콤브레타스타틴 유사체, 코나게닌, 크람베스시딘 816, 크리스나톨, 크리스나톨 메실레이트, 크립토피신 8, 크립토피신 A 유도체, 쿠라신 A, 시클로펜탄트라퀴논, 시클로포스파미드, 시클로플라탐, 시페마이신, 시타라빈, 시타라빈 옥포스페이트, 세포용해 인자, 시토스타틴, 다카르바진, 닥클리시맙, 닥티노마이신, 다우노루비신 염산염, 데시타빈, 디히드로디템닌 B, 데슬로렐린, 텍시포스파미드, 텍소르마플라틴, 텍스리죽산, 텍스베라파밀, 테자구아닌, 테자구아닌 메실레이트, 디아지쿠온, 디템닌 B, 디독스, 디에틸노르스페민, 디히드로-5-아자시티딘, 디옥사마이신, 디페닐 스피로무스틴, 도세탁셀, 도코사놀, 돌라세트론, 독시플루리딘, 독소루비신, 독소루비신 염산염, 드롤록시펜, 드롤록시펜 시트레이트, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 드로나비놀, 두아조마이신, 두오카르마이신 SA, 에브셀렌, 에코무스틴, 에디트렉세이트, 에델포신, 에드레콜로맙, 에플로미틴, 에플로미틴 염산염, 엘레멘, 엘사미트루신, 에미테푸르, 엔로플라틴, 엔프로메이트, 에피프로피딘, 에피루비신, 에피루비신 염산염, 에프리스테리드, 에르볼로졸, 적혈구 유전자 요법 백터 시스템, 에소루비신 염산염, 에스트라무스틴, 에스트라무스틴 유사체, 에스트라무스틴 포스페이트 소듐, 에스트로겐 작용제, 에스트로겐 길항제, 에타니다졸, 에토포시드, 에토포시드 포스페이트, 에토프린, 엑세메스탄, 파드로졸, 파드로졸 염산염, 파자라빈, 펜레티니드, 필그라스팀, 피나스테리드, 플라보피리돌, 플레겔라스틴, 플록수리딘, 플루아스테론, 플루다라빈, 플루다라빈 포스페이트, 플루오로다우노루니신 염산염, 플루오로우라실, 플루오로시타빈, 포르페니멕스, 포르메스탄, 포스퀴돈, 포스트리에신, 포스트리에신 소듐, 포테무스틴, 가돌리늄 택사피린, 갈륨 니트레이트, 갈로시타빈, 가니렐릭스, 젤라티나제 억제제, 젠시타빈, 젠시타빈 염산염, 글루타티온 억제제, 헵슬팜, 헤레굴린, 헥사메틸렌 비사세타미드, 히드록시우레아, 히페리신, 이반드론산, 이다루비신, 이다루비신 염산염, 이독시펜, 이드라만톤, 이포스파미드, 일모포신, 일로마스타트, 이미다조아크리돈, 이미퀴모드, 면역자극 펩티드, 인슐린-유사 성장 인자-1 수용체 억제제, 인터페론 작용제, 인터페론 알파-2A, 인터페론 알파-2B, 인터페론 알파-N1, 인터페론 알파-N3, 인터페론 베타-IA, 인터페론 감마-IB, 인터페론, 인터류킨, 이오벤구안, 요오도독소루비신, 이프로플라틴, 이리노테칸, 이리노테칸 염산염, 이로플락트, 이르소글라딘, 이소벤가졸, 이소호모할리콘드린 B, 이타세트론, 자스플라키놀리드, 카할랄리드 F, 라멜라린-N 트리아세테이트, 란레오티드, 란레오티드 아세테이트, 레이나마이신, 레노그라스팀, 렌티난 술페이트, 렙톨스타틴, 레트로졸, 백혈병 억제 인자, 백혈구 알파 인터페론, 류프롤리드 아세테이트, 류프롤리드/에스트로겐/프로게스테론, 류프로렐린, 레바미솔, 리아로졸, 리아로졸 염산염, 선형 폴리아민 유사체, 친지성 이당류 펩티드, 친지성 백금 화합물, 리소클리나미드 7, 로바플라틴, 롬브리신, 로메트렉솔, 로메트렉솔 소듐, 로무스틴, 로니다민, 로속산트론, 로속산트론 염산염, 로바스타틴, 록소리빈, 루르토테칸, 루테튬 택사피린, 리소필린, 용해 펩티드, 마이탄신, 만노스타틴 A, 마리마스터트, 마소프로콜, 마스핀, 마트릴리신 억제제, 기질 금속단백분해효소 억제제, 마이탄신, 메클로레타민 염산염, 메게스트롤 아세테이트, 멜렌게스트롤 아세테이트, 멜팔란, 메노가릴, 메르바론, 메르캅토푸린, 메테렐린, 메티오니나제, 메토트렉세이트, 메토트렉세이트 소듐, 메토클로프라미드, 메토프린, 메투레데파, 미세조류 단백질 키나제 C 억제제, MIF 억제제, 미페프리스톤, 밀테포신, 미리모스팀, 미스매치 이중 가닥 RNA, 미틴도미드, 미토카르신, 미토크로민, 미토길린, 미토구아존, 미토락톨, 미토말신, 미토마이신, 미토마이신 유사체, 미토나피드, 미토스페르, 미토탄, 미토톡신, 섬유모세포 성장 인자-사포린, 미톡산트론, 미톡산트론 염산염, 모파로텐, 몰그라모스팀, 모노클로날 항체, 인간 용모성 성선자극호르몬, 모노포스포릴 지질 a/미코박테리아 세포벽 SK, 모피다몰, 복합 약제 내성 유전자 억제제, 복수 종양 억제제 1-계 요법, 머스타드 항암제, 미카페옥시드 B, 미코박테리아 세포벽 추

출물, 미코페놀산, 미리아포론, n-아세틸디날린, 나파렐린, 나그레스틴, 날록손/펜타조신, 나파빈, 나프테르핀, 나르토그라스팀, 네다플라틴, 네모루비신, 네리드론산, 중성 엔도펩티다제, 널루타미드, 니사마이신, 산화질소 조절제, 니트록시드 항산화제, 니트롤린, 노코다졸, 노갈라마이신, n-치환된 벤즈아미드, 06-벤질구아닌, 옥트 레오티드, 오키세논, 올리고뉴클레오티드, 오나프리스톤, 온단세트론, 오라신, 경구 시토킨 유도제, 오르마플라틴, 오사테론, 옥살리플라틴, 옥사우노마이신, 옥시수란, 파클리탁셀, 파클리탁셀 유사체, 파클리탁셀 유도체, 팔라우아민, 팔미토일리족신, 파미드론산, 파나크시트리올, 파노미펜, 파라박틴, 파겔립틴, 페가스파르가제, 펠데신, 펠리오마이신, 펜타무스틴, 펜토산 폴리술페이트 소듐, 펜토스타틴, 펜트로졸, 페플로마이신 술페이트, 페르플루브론, 페르포스파미드, 페릴릴 알콜, 페나지노마이신, 페닐아세테이트, 포스파타제 억제제, 페시바닐, 필로카르핀 염산염, 피포브로만, 피포술판, 피라루비신, 피리트렉심, 피록산트론 염산염, 플라세틴 A, 플라세틴 B, 플라스미노겐 활성제 억제제, 백금 착물, 백금 화합물, 백금-트리아민 착물, 플리카마이신, 플로메스탄, 포르피메르 소듐, 포르피로마이신, 프레드니무스틴, 프로카르바진 염산염, 프로필 비스-아크리돈, 프로스타글란дин J2, 전립선 암종 항안드로겐, 프로테아좀 억제제, 단백질 A에 기초한 면역 조절제, 단백질 키나제 C 억제제, 단백질 티로신 포스파타제 억제제, 푸린 뉴클레오시드 포스포릴라제 억제제, 푸로마이신, 푸로마이신 염산염, 푸르푸린, 피라조푸린, 피라졸로아크리딘, 피리독실화 헤모글로빈 폴리옥시에틸렌 콘쥬게이트, RAF 길항제, 랄티 트렉세드, 라모세트론, RAS 파르네실 단백질 트랜스퍼라제 억제제, RAS 억제제, RAS-GAP 억제제, 레텔립틴 데메틸화, 레늄 RE 186 에티드로네이트, 리족신, 리보프린, 리보자임, RII 레틴아미드, RNAi, 로글레티미드, 로히투킨, 로무르티드, 로퀴니멕스, 루비기논 B1, 루복실, 사핀골, 사핀골 염산염, 사인토핀, 사르크누, 사르코피톨 A, 사르그라모스팀, SDI 1 모방체, 세무스틴, 노화 유래 억제제 1, 센스 올리고뉴클레오티드, 신호 전달 억제제, 신호 전달 조절제, 심트라젠, 단일쇄 항원 결합 단백질, 시조푸란, 소부족산, 소듐 보로캅테이트, 소듐 페닐아세테이트, 솔베롤, 소마토메딘 결합 단백질, 소네르민, 스파르포세이트 소듐, 스파르포스산, 스파르소마이신, 스피카마이신 D, 스피로게르마늄 염산염, 스피로무스틴, 스피로플라틴, 스플레노펜틴, 스폰지스타틴 1, 스쿠알아민, 줄기 세포 억제제, 줄기 세포 분열 억제제, 스티피아미드, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 스트로 멜리신 억제제, 술피노신, 술도페누르, 슈퍼액티브 혈관활성 장 펩티드 길항제, 수라디스타, 수라민, 스웨인소닌, 합성 글리코사미노글리칸, 탈리소마이신, 탈리무스틴, 타목시펜 메티오디드, 타우로무스틴, 타자로텐, 테코 갈란 소듐, 테가푸르, 텔루라피릴륨, 텔로머라제 억제제, 텔록산트론 염산염, 테모포르핀, 테모졸로미드, 테니 포시드, 테록시론, 테스토락톤, 테트라클로로데카옥시드, 테트라조민, 탈리블라스틴, 탈리도미드, 티아미프린, 티오코랄린, 티오구아닌, 티오텐파, 트롬보포이에틴, 트롬보포이에틴 모방체, 티말파신, 티모포이에틴 수용체 작용제, 티모트리난, 갑상선 자극 호르몬, 티아조푸린, 주석 에틸 에티오푸르푸린, 티라파자민, 티타노센 디클로라이드, 토포테칸 염산염, 톱센틴, 토레미펜, 토레미펜 시트레이트, 토티포텐트 줄기 세포 인자, 면역 억제제, 트레스톨론 아세테이트, 트레티노인, 트리아세틸우리딘, 트리시리빈, 트리시리빈 포스페이트, 트리메트 렉세이트, 트리메트렉세이트 글루쿠로네이트, 트립토렐린, 트리피세트론, 투불로졸 염산염, 투로스테리드, 티로신 키나제 억제제, 티르포스틴, UBC 억제제, 우베니멕스, 우라실 머스타드, 우레데파, 비뇨생식 등-유래 성장 억제 인자, 우로키나제 수용체 길항제, 바프레오티드, 바리올린 B, 벨라레솔, 베라민, 베르딘, 베르테포르핀, 빈블라스틴 술페이트, 빙크리스틴 술페이트, 빈데신, 빈데신 술페이트, 비네피딘 술페이트, 빙글리시네이트 술페이트, 빈류로신 술페이트, 비노렐빈, 비노렐빈 타르트레이트, 빈로시딘 술페이트, 빈크살틴, 빈졸리딘 술페이트, 비탁신, 보로졸, 자노테론, 제니플라틴, 지랄스코르브, 지노스타틴, 지노스타틴 스틸말라메르 또는 조루비신 염산염 또는 전술한 약물의 적절한 전구약물을 들 수 있다.

[0076] 일부 실시양태에서, 치료제는 2종 이상의 치료제를 투여하는 것을 포함하는 작용제의 각태일의 일부가 될 수 있다. 예를 들면, 시스플라틴 및 옥살리플라틴 모두를 갖는 리포좀을 투여할 수 있다. 게다가, 치료제는 면역 자극 아주반트, 예컨대 알루미늄 젤 또는 염 아주반트 (예를 들면 인산알루미늄 또는 수산화알루미늄), 인산칼슘, 내독소, 툴-유사 수용체 아주반트 등의 이전, 이후 또는 이와 함께 전달될 수 있다.

[0077] 본 발명의 치료제는 또한 치료적 적용에 사용하기 위한 방사성핵종을 포함할 수 있다. 예를 들면, 오제(Auger) 전자의 방출체, 예컨대 <sup>111</sup>In은 킬레이트, 예컨대 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA) 또는 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산 (DOTA)과 함께 조합될 수 있으며, 치료를 위하여 사용하고자 하는 표적 전달 조성물, 예컨대 리포좀에 포함될 수 있다. 기타 적절한 방사성핵종 및/또는 방사성핵종-킬레이트 조합은 베타 방사성핵종 (<sup>177</sup>Lu, <sup>153</sup>Sm, <sup>88/90</sup>Y)과 DOTA, <sup>64</sup>Cu-TETA, <sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-IDA; <sup>188/186</sup>Re(CO)트리아민 (시클리 또는 선형), <sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-Enpy2 및 <sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-DTPA를 들 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0078] 상기 기재한 바와 같이, 본 발명에 사용되는 치료제는 예컨대 나노담체에 매립, 캡슐화 또는 결박되는 다양한

방식으로 나노담체와 회합될 수 있다. 치료제의 로딩은 예를 들면 문헌[de Villiers, M. M. et al., Eds., *Nanotechnology in Drug Delivery*, Springer (2009)]; [Gregoriadis, G., Ed., *Liposome Technology: Entrapment of drugs and other materials into liposomes*, CRC Press (2006)]에 개시된 바와 같이 당업계에 공지된 다양한 방식으로 실시될 수 있다. 실시양태의 군에서, 1종 이상의 치료제를 리포좀에 로딩시킬 수 있다. 리포좀의 로딩은 예를 들면 능동 또는 수동 방식으로 실시할 수 있다. 예를 들면, 치료제가 리포좀에 캡슐화되도록 치료제는 용액 중의 리포좀의 자가-어셈블리 공정 동안 포함될 수 있다. 특정 실시양태에서, 치료제는 또한 리포좀 이중층 중에 또는 다층 리포좀의 다수 층들내에 매립될 수 있다. 대안의 실시양태에서, 치료제는 리포좀에 능동 로딩될 수 있다. 예를 들면, 리포좀은 이중층 막이 치료제를 함유하는 용액에 투과성을 갖게 되어 치료제가 리포좀의 내부 부피로 유입되도록 하는 조건, 예컨대 전기천공에 노출될 수 있다.

#### [0079] 진단제

본 발명에 사용된 진단제는 예를 들면 문헌[Armstrong et al., *Diagnostic Imaging*, 5<sup>th</sup> Ed., Blackwell Publishing (2004)]; [Torchilin, V. P., Ed., *Targeted Delivery of Imaging Agents*, CRC Press (1995)]; [Vallabhajosula, S., *Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*, Springer (2009)]에서 제공된 바와 같이 당분야에서 공지된 임의의 진단제를 포함할 수 있다. 진단제는 작용제가 감마-방출, 방사능, 에코발생, 광학, 형광, 흡수성, 자기 또는 단층촬영술 신호를 비롯한(이에 한정되지 않음) 검출 가능한 신호를 제공 및/또는 향상시키는 것을 포함하는 다양한 방식으로 검출될 수 있다. 진단제를 영상화시키는 기법의 비제한적인 예로는 신호 광자 방출 전산화 단층촬영법 (SPECT), 자기 공명 영상화 (MRI), 광학 영상화, 양전자 방출 단층촬영법 (PET), 전산화 단층촬영법 (CT), X-선 영상화, 감마선 영상화 등을 들 수 있다.

[0081] 일부 실시양태에서, 진단제는 예를 들면 각종 진단 영상화 기법에 사용하고자 하는 금속 이온에 결합되는 킬레이트제를 포함할 수 있다. 킬레이트제의 비제한적인 예로는 에틸렌디아민테트라아세트산 (EDTA), [4-(1,4,8,11-테트라아자시클로테트라테크-1-일)메틸]벤조산 (CPA), 시클로헥산디아민테트라아세트산 (CDTA), 에틸렌비스(옥시에틸렌니트릴로)테트라아세트산 (EGTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA), 시트르산, 히드록시에틸 에틸렌디아민 트리아세트산 (HEDTA), 이미노디아세트산 (IDA), 트리에틸렌 테트라아민 혼화아세트산 (TTHA), 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라(메틸렌 포스폰산) (DOTP), 1,4,8,11-테트라아자시클로도데칸-1,4,8,11-테트라아세트산 (TETA), 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-1,4,7,10-테트라아세트산 (DOTA) 및 그의 유도체가 포함된다.

[0082] 방사성동위원소는 본원에 기재된 일부 진단제에 혼입될 수 있으며, 감마선, 양전자, 베타 및 알파 입자 및 X-선을 방출하는 방사성핵종을 포함할 수 있다. 적절한 방사성핵종의 비제한적인 예로는 <sup>225</sup>AC, <sup>72</sup>As, <sup>211</sup>At, <sup>11</sup>B, <sup>128</sup>Ba, <sup>212</sup>Bi, <sup>75</sup>Br, <sup>77</sup>Br, <sup>14</sup>C, <sup>109</sup>Cd, <sup>62</sup>Cu, <sup>64</sup>Cu, <sup>67</sup>Cu, <sup>18</sup>F, <sup>67</sup>Ga, <sup>68</sup>Ga, <sup>3</sup>H, <sup>123</sup>I, <sup>125</sup>I, <sup>130</sup>I, <sup>131</sup>I, <sup>111</sup>In, <sup>177</sup>Lu, <sup>13</sup>N, <sup>15</sup>O, <sup>32</sup>P, <sup>33</sup>P, <sup>212</sup>Pb, <sup>103</sup>Pd, <sup>186</sup>Re, <sup>188</sup>Re, <sup>47</sup>Sc, <sup>153</sup>Sm, <sup>89</sup>Sr, <sup>99m</sup>Tc, <sup>88</sup>Y 및 <sup>90</sup>Y가 포함된다. 특정 실시양태에서, 방사능제로는 <sup>111</sup>In-DTPA, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-DTPA, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-ENPy2, <sup>62/64/67</sup>Cu-TETA, <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-IDA 및 <sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-트리아민(시클릭 또는 선형)이 포함된다. 기타 실시양태에서, 작용제로는 DOTA 및 그의 <sup>111</sup>In, <sup>177</sup>Lu, <sup>153</sup>Sm, <sup>88/90</sup>Y, <sup>62/64/67</sup>Cu 또는 <sup>67/68</sup>Ga와의 다양한 유사체를 들 수 있다. 일부 실시양태에서, 리포좀은 예를 들면 문헌[Phillips et al., *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 1(1): 69-83 (2008)]; [Torchilin, V.P. & Weissig, V., Eds. *Liposomes 2nd Ed.*: Oxford Univ. Press (2003)]; [Elbayoumi, T.A. & Torchilin, V.P., *Eur. J. Nucl. Mol. Imaging*, 33:1196-1205 (2006)]; [Mougin-Degraef, M. et al., *Int'l J. Pharmaceutics* 344:110-117 (2007)]에서 제공된 바와 같이 킬레이트에 부착된 지질, 예컨대 DTPA-지질의 혼입에 의하여 방사성표지될 수 있다.

[0083] 기타 실시양태에서, 진단제로는 광학제, 예컨대 형광제, 인광제, 화학발광제를 들 수 있다. 다수의 작용제(예를 들면 염료, 프로브, 라벨 또는 지시약)가 당업계에 공지되어 있으며, 본 발명에 사용될 수 있다. (예를 들면 문헌[Invitrogen, *The Handbook-A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies*, Tenth Edition (2005)] 참조). 형광제로는 각종 유기 및/또는 무기 소분자 또는 각종 형광 단백질 및 그의 유도체를 들 수 있다. 예를 들면, 형광제의 비제한적인 예로는 시아닌, 프탈로시아닌, 포르피린, 인도시아닌, 로다민, 페녹사진, 페닐크산텐, 페노티아진, 페노셀레나진, 플루오레세인, 벤조포르피린, 스쿠아라인, 디페롤로 피리미돈, 테트라센, 퀴놀린, 피라진, 코린, 크로코碇, 아크리돈, 페난트리딘, 로다민, 아크리딘, 안트라퀴논, 칼코게노페릴륨 유사체, 클로린, 나프탈로시아닌, 메틴 염료, 인돌레늄 염료, 아조 화합물, 아줄렌, 아자아줄렌, 트리

페닐 메탄 염료, 인돌, 벤조인돌, 인도카르보시아닌, 벤조인도카르보시아닌 및, 4,4-디플루오로-4-보라-3a,4a-디아자-s-인다센의 일반 구조를 갖는 보디피(BODIPY)<sup>TM</sup> 유도체, 및/또는 이들 중 어느 것의 콘쥬게이트 및/또는 유도체를 들 수 있다. 사용 가능한 기타 작용제의 비제한적인 예로는 플루오레세인, 플루오레세인-폴리아스파르트산 콘쥬게이트, 플루오레세인-폴리글루탐산 콘쥬게이트, 플루오레세인-폴리아르기닌 콘쥬게이트, 인도시아닌 그린, 인도시아닌-도데카아스파르트산 콘쥬게이트, 인도시아닌-폴리아스파르트산 콘쥬게이트, 이소술판 블루, 인돌 디술포네이트, 벤조인돌 디술포네이트, 비스(에틸카르복시메틸)인도시아닌, 비스(펜틸카르복시메틸)인도시아닌, 폴리히드록시인돌 술포네이트, 폴리히드록시벤조인돌 술포네이트, 경질 헤테로원자 인돌 술포네이트, 인도시아닌비스프로파노산, 인도시아닌비스헥사노산, 3,6-디시아노-2,5-[(N,N,N',N'-테트라카이스(카르복시메틸)아미노]파라진, 3,6-[(N,N,N',N'-테트라카이스(2-히드록시에틸)아미노]파라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-아자테디노)파라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-모르폴리노)파라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-피페라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-티오모르폴리노)파라진-2,5-디카르복실산, 3,6-비스(N-티오모르폴리노)파라진-2,5-디카르복실산 S-옥시드, 2,5-디시아노-3,6-비스(N-티오모르폴리노)파라진 S,S-디옥시드, 인도카르보시아닌테트라술포네이트, 클로로인도카르보시아닌 및 3,6-디아미노파라진-2,5-디카르복실산을 들 수 있다.

[0084] 당업자는 사용된 특정 광학제가 여기에 사용된 파장, 피부 조직 아래의 깊이 및 일반적으로 당업계에 공지된 기타 요인에 따라 달라질 수 있다는 것을 이해할 것이다. 예를 들면, 광학제를 위한 최적의 흡수 또는 여기 최대치는 사용된 광학제에 따라 변경될 수 있으나, 일반적으로 본 발명의 광학제는 전자기스펙트럼의 자외선(UV), 가시광 또는 적외선(IR) 범위내에서 광을 흡수 또는 광에 의하여 여기될 것이다. 영상화의 경우, 근-IR에서 흡수 및 방출되는 염료 (약 700-900 nm, 예를 들면 인도시아닌)가 바람직하다. 내시경 방법을 사용한 국소 가시화의 경우, 가시 범위내에서 흡수하는 임의의 염료가 적절하다.

[0085] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법에 사용된 비-이온화 방사선은 파장 약 350 nm 내지 약 1,200 nm 범위일 수 있다. 하나의 예시의 실시양태에서, 형광체는 전자기 스펙트럼의 가시 부분의 청색 범위에서의 파장 (약 430 nm 내지 약 500 nm)을 갖는 광에 의하여 여기될 수 있으며, 전자기 스펙트럼의 가시 부분에서의 녹색 범위에서의 파장 (약 520 nm 내지 약 565 nm)에서 방출된다. 예를 들면, 플루오레세인 염료는 약 488 nm의 파장을 갖는 광으로 여기될 수 있으며, 약 520 nm의 방출 파장을 가질 수 있다. 또 다른 예로서, 3,6-디아미노파라진-2,5-디카르복실산은 약 470 nm의 파장을 갖는 광으로 여기될 수 있으며, 약 532 nm의 파장에서 형광을 방출한다. 또 다른 실시양태에서, 광학제의 여기 및 방출 파장은 전자기 스펙트럼의 근-적외선 범위내에 포함될 수 있다. 예를 들면, 인도시아닌 염료, 예컨대 인도시아닌 그린은 약 780 nm의 파장을 갖는 광으로 여기될 수 있으며, 약 830 nm의 발광 파장을 갖는다.

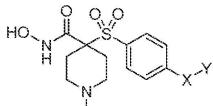
[0086] 또 다른 실시양태에서, 진단제의 비제한적인 예로는 요오드계 X-선 조영제, 초상자성 산화철 (SPIO), 가돌리늄 또는 망간의 착물 등을 비롯한 당업계에서 일반적으로 공지되어 있는 자기 공명 (MR) 및 X-선 조영제를 들 수 있다. (예를 들면 문헌[Armstrong *et al.*, *Diagnostic Imaging*, 5<sup>th</sup> Ed., Blackwell Publishing (2004)] 참조). 일부 실시양태에서, 진단제로는 자기 공명 (MR) 영상화제를 들 수 있다. 자기 공명제의 비제한적인 예로는 상자성제, 초상자성제 등을 들 수 있다. 상자성제의 비제한적인 예로는 가도펜테트산, 가도테르산, 가도디아미드, 가돌리늄, 가도테리돌, 만가포디피르, 가도베르세타미드, 시트르산철 암모늄, 가도벤산, 가도부트롤 또는 가도크세트산을 들 수 있다. 초상자성제의 비제한적인 예로는 초상자성 산화철 및 페리스텐을 들 수 있다. 특정 실시양태에서, 진단제로는 예를 들면 문헌[H.S Thomsen, R.N. Muller and R.F. Mattrey, Eds., *Trends in Contrast Media*, (Berlin: Springer-Verlag, 1999)]; [P. Dawson, D. Cosgrove and R. Grainger, Eds., *Textbook of Contrast Media* (ISIS Medical Media 1999)]; [Torchilin, V. P., *Curr. Pharm. Biotech.* 1:183-215 (2000)]; [Bogdanov, A.A. *et al.*, *Adv. Drug Del. Rev.* 37:279-293 (1999)]; [Sachse, A. *et al.*, *Investigative Radiology* 32(1):44-50 (1997)]에서 제공된 바와 같은 X-선 조영제를 포함할 수 있다. X-선 조영제의 비제한적인 예로는 이오파미돌, 이오메프롤, 이오헥솔, 이오펜톨, 이오프로미드, 이오시미드, 이오베르솔, 이오토롤란, 이오타술, 이오덕사놀, 이오데시몰, 이오글루카미드, 이오글루니드, 이오굴라미드, 이오사르콜, 이옥실란, 이오파미론, 미트리자미드, 이오비트리돌 및 이오시메놀을 들 수 있다. 특정 실시양태에서, X-선 조영제로는 이오파미돌, 이오메프롤, 이오프로미드, 이오헥솔, 이오펜톨, 이오베르솔, 이오비트리돌, 이오덕사놀, 이오토롤란 및 이오시메놀을 들 수 있다.

[0087] 상기 기재된 치료제와 유사하게, 진단제는 예를 들면 나노담체에 매립, 캡슐화 또는 결박되는 것을 비롯한 다양한 방식으로 나노담체와 회합될 수 있다. 유사하게, 진단제의 로딩은 예를 들면 문헌[de Villiers, M. M. *et al.*, Eds., *Nanotechnology in Drug Delivery*, Springer (2009)]; [Gregoriadis, G., Ed., *Liposome Technology: Entrapment of drugs and other materials into liposomes*, CRC Press (2006)]에 개시된 바와 같

이 당업계에 공지된 다양한 방식을 통하여 실시될 수 있다.

**[0088] 표적제**

본 발명의 표적 전달 조성물은 또한  $\text{MMP}^i$ , 표적제를 포함한다. 일반적으로,  $\text{MMP}^i$ 는 임의의 기질 금속단백분해효소 억제제를 지칭한다. 특정 실시양태에서,  $\text{MMP}^i$ 는 하기 화학식을 갖는 억제제이다:



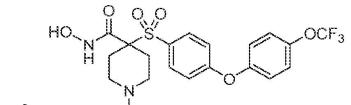
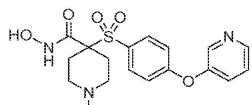
**[0090]**

(상기 화학식에서,

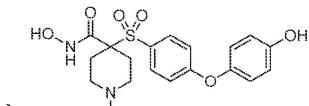
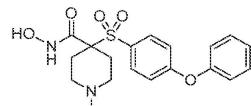
X는 O 및 S로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이고;

Y는 피리딜 및 폐닐로 이루어진 군으로부터 선택된 구성원이며, 상기 폐닐은 OH, OCH<sub>3</sub>, OCF<sub>3</sub> 및 CH<sub>3</sub>로 임의로 치환되며;

파상선은 (LPEG)로의 부착 지점을 나타냄).



**[0095]** 특정한 구체적인 실시양태에서,  $\text{MMP}^i$ 는 및 로부터 선택된다.



**[0096]** 특정한 구체적인 실시양태에서,  $\text{MMP}^i$ 는 및 로부터 선택된다.

**[0097] B. 나노담체를 포함하는 표적 전달 조성물의 개개의 성분**

또다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 표적 전달 조성물의 개개의 성분을 제공한다. 특히, 본 발명은 화학식 A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>를 갖는 콘쥬게이트를 포함하며, 여기서 A는 부착 성분이고; (LPEG)는 상기 기재된 바와 같은 결합기이고; MMP<sup>i</sup>는 MMP 억제제이다.

**[0099]** 당업자는 표적 전달 조성물의 성분들이 상기 기재된 구체적인 실시양태 각각을 유사하게 포함한다는 것을 이해할 것이다.

**[0100] IV. 표적 전달 조성물 및 성분의 제조 방법**

**[0101] A. 나노담체를 포함하는 표적 전달 조성물**

본 발명의 표적 전달 조성물은 다양한 방식으로 제조될 수 있다. 하나의 측면에서, 본 발명의 표적 전달 조성물은 나노담체를 화학식 A-(LPEG)-MMP<sup>i</sup>를 갖는 콘쥬게이트에 부착시켜 제조될 수 있으며, 여기서 A는 콘쥬게이트를 나노담체에 부착시키기 위한 부착 성분이며; (LPEG)는 결합기이고; MMP<sup>i</sup>는 MMP 억제제이다. 나노담체는 로딩된 나노담체 (예를 들면 치료제 또는 진단제가 혼입됨) 또는 로딩되지 않은 나노담체로서 콘쥬게이트와 접촉될 수 있다.

**[0103] 나노담체**

나노담체는 당업계에서 일반적으로 공지된 다양한 방식으로 제조될 수 있으며, 그러한 나노담체의 제조 방법은 목적하는 특정한 나노담체에 따라 좌우될 수 있다. 당업계에서 입수 가능한 임의의 측정 기법을 사용하여 표적 전달 조성물 및 나노담체의 성질을 측정할 수 있다. 예를 들면, 동적 광 산란, X-선 광전자 현미경법, 분말 X-선 회절, 주사 전자 현미경법 (SEM), 투과 전자 현미경법 (TEM) 및 원자력 현미경법 (AFM)을 비롯한 기법을 사용하여 나노담체 및/또는 표적 전달 조성물의 평균 크기 및 분산도를 구할 수 있다.

[0105]

본 발명의 표적 전달 조성물에 사용된 리포좀은 당업계에서 일반적으로 공지된 다양한 기법을 사용하여 제조될 수 있다. (예를 들면 문헌[Williams, A.P., *Liposomes: A Practical Approach*, 2<sup>nd</sup> Edition, Oxford Univ. Press (2003)]; [Lasic, D.D., *Liposomes in Gene Delivery*, CRC Press LLC (1997)] 참조). 예를 들면, 리포좀은 예컨대 압출, 진탕, 초음파 처리, 역상 증발, 수용액 중에서 자가-어셈블리, 전극에 기초한 형성 기법, 미세유체 유도 형성 기법 등을 비롯한 기법(이에 한정되지 않음)에 의하여 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서는, 대형 단층 소포 (LUV) 및/또는 소형 단층 소포 (SUV)를 포함할 수 있는 다층 및/또는 단층인 리포좀을 제조하는 방법이 사용될 수 있다. 용액 중의 리포좀의 자가-어셈블리와 유사하게, 양쪽성 분자가 미셀을 형성하기에 충분한 용액 상태로 용해시 미셀을 형성하도록 미셀은 당업계에서 일반적으로 공지된 기법을 사용하여 제조될 수 있다. 지질-피복된 버블 및 지단백질이 또한 당업계에 공지된 방법을 사용하여 구성될 수 있다. (예를 들면 문헌[Farook, U., *J. R. Soc. Interface*, 6(32): 271-277 (2009)]; [Lacko *et al.*, *Lipoprotein Nanocarriers as Delivery Vehicles for Anti-Cancer in Nanotechnology for Cancer Therapy*, CRC Press (2007)] 참조).

[0106]

본 발명에 사용될 수 있는 중합체 나노담체의 제조 방법은 당업계에서 일반적으로 공지되어 있다. (예를 들면 문헌[Sigmund, W. *et al.*, Eds., *Particulate Systems in Nano- and Biotechnologies*, CRC Press LLC (2009)]; [Karnik *et al.*, *Nano Lett.*, 8(9): 2906-2912 (2008)] 참조). 예를 들면, 블록 공중합체는 블록 공중합체가 용액 중에서 자가-어셈블리되어 폴리머좀 및/또는 블록 공중합체 미셀을 형성할 수 있도록 당업계에 공지된 합성 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 나오줌이 당업계에 공지되어 있으며, 다양한 기법 및 조성물을 사용하여 제조될 수 있다. 문헌[Baillie A.J. *et al.*, *J. Pharm. Pharmacol.*, 38:502-505 (1988)]. 자기 및/또는 금속성 입자는 당업계에 공지된 임의의 방법, 예컨대 공침, 열 분해 및 미세유화를 사용하여 구성될 수 있다. (또한, 문헌[Nagarajan, R. & Hatton, T.A., Eds., *Nanocarriers Synthesis, Stabilization, Passivation and Functionalization*, Oxford Univ. Press (2008)] 참조). 금 입자 및 그의 유도체는 당업계에서 일반적으로 공지된 다양한 기법, 예컨대 투르케비치(Turkevich) 방법, 브루스트(Brust) 방법, 페로트(Perrault) 방법 또는 초음파분해를 사용하여 제조될 수 있다(또한, 문헌[Grzelczak *et al.*, *Chem. Soc. Rev.*, 37: 1783-1791 (2008)] 참조). 일부 실시양태에서, 부착 성분은 형-금 결박 화학을 통하여 부착될 수 있다. 양자점 또는 반도체 나노결정은 당업계에 공지된 임의의 방법, 예컨대 콜로이드성 합성 기법을 사용하여 합성될 수 있다.

[0107]

#### 나노담체에 부착시키기 위한 콘쥬게이트

[0108]

본원에 기재된 바와 같은 화학식 A-[(EG)(P)]<sub>n</sub>-MMP<sup>i</sup>을 갖는 콘쥬게이트는 다양한 기법을 사용하여 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 전체 콘쥬게이트는 당업계에 공지된 올리고뉴클레오티드 합성기내에서 합성될 수 있다. 특정 실시양태에서, [(EG)(P)]<sub>n</sub>, 예컨대 (HEGp)<sub>n</sub>의 혼입은 보다 효과적인 혼입을 위하여 변형된 합성 사이클을 사용하여 실시될 수 있다. 특히, 증가된 아미다이트 등가물 및 연장된 세정 사이클은 본 발명의 콘쥬게이트에서 결합기로서 복수의 [(EG)(P)] 유닛을 혼입할 수 있다. 특정 실시양태에서, 이어서 부착 성분, 예컨대 콜레스테롤 또는 콜레스테롤 유도체 (예를 들면 콜레스테롤-테트라에틸렌 글리콜)가 표준 또는 변형된 합성 사이클을 사용하여 첨가될 수 있으며, 이는 효과적인 혼입을 보장하기 위하여 커플링 리사이클 단계를 배가하는 것을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 콘쥬게이트는 고체상 접근법, 예컨대 실리카계 또는 폴리스티렌계 지지체를 사용하여 합성될 수 있다.

[0109]

기타 실시양태에서, [(EG)(P)]<sub>n</sub> 결합기는 당업계에 공지된 통상의 화학을 사용하여 부착 성분, 예컨대 콜레스테롤 유도체 (콜레스테롤-테트라에틸렌 글리콜)에 부착될 수 있다. [(EG)(P)]<sub>n</sub> 결합기는 상기 기재된 방법을 사용하여 합성될 수 있다. 그 다음, 결합기 및 부착 성분은 콘쥬게이트, A-[(EG)(P)]<sub>n</sub>의 부분을 형성하기에 충분한 조건하에서 혼합 및 반응시킬 수 있다. 그 후, 표적체, MMP<sup>i</sup>는 [(EG)(P)]<sub>n</sub> 결합기의 다른 말단에 부착될 수 있다. 대안으로, 표적체를 우선 [(EG)(P)]<sub>n</sub> 결합기에 부착시킨 후, 부착 성분을 부착시킬 수 있다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 본 발명의 표적체는 특정한 MMP<sup>i</sup> 성분의 특징에 좌우될 수 있는 다양한 방식에 의하여 [(EG)(P)]<sub>n</sub> 결합기에 부착될 수 있다.

[0110]

#### V. 표적 전달 조성물의 투여 방법

[0111]

본원에 기재된 바와 같이, 본 발명의 표적 전달 조성물 및 방법은 대상체와 관련된 임의의 질환, 장애 및/또는

병태의 치료 및/또는 진단에 사용될 수 있다. 하나의 실시양태에서, 본 발명의 방법은 대상체에게 나노담체를 포함하는 본 발명의 표적 전달 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 치료제 또는 진단제는 암 병태를 치료 또는 진단하기에 충분한, 대상체에서의 암 병태의 치료 또는 진단 방법을 포함한다. 특정 실시양태에서, 암 병태는 본 발명의 표적 전달 조성물의 표적제에 의하여 표적화되는 수용체를 (예를 들면 세포 표면 상에서 또는 혈관계 내에서) 충분하게 발현시키는 암을 포함할 수 있다.

[0112] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 대상체에게 나노담체를 포함하는 표적 전달 조성물을 투여하고 상기 대상체를 영상화하여 진단제를 검출하는 것을 포함하며, 상기 나노담체는 진단제를 포함하는, 표적 치료적 요법에 대한 대상체의 적합성을 결정하는 방법을 포함한다.

#### 투여

[0114] 일부 실시양태에서, 본 발명은 표적 전달 조성물 및 생리학적 (즉, 제약상) 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 본원에서 사용한 바와 같이, 용어 "담체"는 약물, 예컨대 치료제에 대한 희석제 또는 비허클로서 사용되는 통상적으로 불활성인 물질을 지칭한다. 또한, 이러한 용어는 조성물에 응집성을 부여하는 통상적으로 불활성인 물질을 포함한다. 통상적으로 생리학상 허용되는 담체는 액체 형태로 존재한다. 액체 담체의 예로는 생리 염수, 인산염 완충액, 정상 완충 염수(135-150 mM NaCl), 물, 완충수, 0.4% 염수, 0.3% 글리신, 향상된 안정성을 제공하기 위한 당단백질 (예를 들면 알부민, 지단백질, 글로불린 등) 등을 들 수 있다. 생리학상 허용되는 담체는 부분적으로, 투여되는 특정 조성물에 의하여서뿐 아니라, 조성물을 투여하는데 사용되는 특정한 방법에 의하여 결정되므로, 본 발명의 제약 조성물의 다양한 적절한 제제가 존재한다(예를 들면 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>th</sup> ed., 1989] 참조).

[0115] 본 발명의 조성물은 통상의 공지된 멸균 기법에 의하여 멸균될 수 있거나 또는 멸균 조건하에서 제조될 수 있다. 사용을 위하여 수용액을 포장할 수 있거나 또는 멸균 상태하에서 여과하고, 동결건조시킬 수 있으며, 동결건조된 제제는 투여전 멸균 수용액과 함께 혼합한다. 조성물은 근사치 생리적 조건을 얻는데 요구되는 바와 같은 제약상 허용되는 보조 물질, 예컨대 pH 조절제 및 완충제, 장성 조절제, 습윤제 등, 예를 들면 아세트산나트륨, 락트산나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 소르비탄 모노라우레이트 및 트리에탄올아민 올레아이트를 함유할 수 있다. 조성물을 안정화시키기 위하여 당, 예컨대 동결건조된 표적 전달 조성물을 위한 안정화제 등이 또한 포함될 수 있다.

[0116] 선택된 표적 전달 조성물은 단독으로 또는 기타 적절한 성분과 조합하여 흡입에 의하여 투여하고자 하는 에어로졸 제제 (즉, 이들은 "분무화" 가능함)로 제조될 수 있다. 에어로졸 제제는 가압 허용되는 추진제, 예컨대 디클로로디플루오로메탄, 프로판, 질소 등에 배치될 수 있다.

[0117] 직장 투여를 위한 적절한 제제의 예로는 좌제 베이스와 함께 포장된 표적 전달 조성물의 유효량을 포함하는 좌제를 들 수 있다. 적절한 좌제 베이스는 천연 또는 합성 트리글리세리드 또는 파라핀 탄화수소를 포함한다. 게다가, 예를 들면, 액체 트리글리세리드, 폴리에틸렌 글리콜 및 파라핀 탄화수소를 비롯한 베이스와 함께 선택한 표적 전달 조성물의 조합을 함유하는 젤라틴 직장 캡슐을 사용할 수 있다.

[0118] 예컨대 관절내(관절 내에서), 정맥내, 근육내, 종양내, 피내, 복강내 및 피하 경로에 의한 비경구 투여에 적절한 제제는 제제가 의도하는 수용체의 혈액과 등장성이 되도록 하는 용질, 정균제, 완충제 및 산화방지제를 함유할 수 있는 수성 및 비-수성의 등장성 멸균 주사 용액 및, 혼탁제, 가용화제, 중점제, 안정화제 및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 혼탁액을 포함한다. 주사 용액 및 혼탁액은 또한 멸균 분말, 과립 및 정제로부터 제조될 수 있다. 본 발명의 실시에서, 조성물은 예를 들면 정맥내 주입, 국소, 복강내, 방광내 또는 경막내에 의하여 투여될 수 있다. 비경구 투여 및 정맥내 투여가 바람직한 투여 방법이다. 표적 전달 조성물의 제제는 단일-투여 또는 복수-투여 밀폐 용기, 예컨대 앰풀 및 바이알로 제공될 수 있다.

[0119] 제약 제제는 단일 투여 형태인 것이 바람직하다. 그러한 형태에서 제제는 적정량의 활성 성분, 예를 들면 표적 전달 조성물을 함유하는 단위 투여량으로 분할된다. 단위 투여 형태는 포장된 제제일 수 있으며, 포장은 개별 적 양의 제제를 함유한다. 조성물은 필요할 경우 또한 기타 적합성 치료제를 함유할 수 있다.

[0120] 암의 치료를 위한 치료적 사용에서, 본 발명의 제약 조성물에 사용되는 치료제 및/또는 진단제를 포함하는 표적 전달 조성물은 1일 약 0.001 mg/kg 내지 약 1,000 mg/kg의 초기 투여량으로 투여될 수 있다. 약 0.01 mg/kg 내지 약 500 mg/kg 또는 약 0.1 mg/kg 내지 약 200 mg/kg, 또는 약 1 mg/kg 내지 약 100 mg/kg, 또는 약 10 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 1일 투여량 범위를 사용할 수 있다. 그러나, 투여량은 환자, 치료하고자 하는 병태의 경중도 및 사용되는 표적 전달 조성물의 요건에 따라 변경될 수 있다. 예를 들면, 투여량은 특정 환자에서 진

단된 암의 유형 및 단계를 고려하여 실험에 의하여 결정될 수 있다. 본 발명의 문맥에서 환자에게 투여된 투여량은 시간 경과에 따라 환자에서의 이로운 치료적 반응에 영향을 미치기에 충분하여야만 한다. 투여량의 크기는 또한 특정 환자에서 특정 표적 전달 조성물의 투여를 수반하는 임의의 불리한 부작용의 존재, 성질 및 정도에 의하여 결정될 것이다. 특정 상황에 대하여 적절한 투여량을 결정하는 것은 주치의의 기술 범위내에 포함된다. 일반적으로, 치료는 표적 전달 조성물의 최적 투여량 미만인 더 작은 투여량으로 시작된다. 그 후, 그러한 상황하에서 최적의 효과가 달성될 때까지 소량의 증분으로 투여량을 증가시킨다. 편의상, 필요할 경우 1일 총 투여량을 분할하고, 1일 동안 일부분씩 투여할 수 있다.

**[0121]** 일부 실시양태에서, 본 발명의 표적 전달 조성물은 질환, 장애 및/또는 병태를 진단하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적 전달 조성물은 대상체에서 암 병태, 예컨대 폐암, 유방암, 췌장암, 전립선암, 자궁경부암, 난소암, 결장암, 간암, 식도암 등을 진단하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 질환 상태의 진단 방법은 대상체의 체내에서 종양을 물리적으로 검출 및/또는 위치를 찾아내기 위하여 표적 전달 조성물을 사용하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들면, 종양은 본 발명의 표적 전달 조성물의 표적제에 의하여 표적되는 수용체를 (예를 들면 세포 표면 상에서 또는 혈관내에서) 충분하게 발현시키는 암에 관련될 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적 전달 조성물은 또한 암을 제외한 질환, 예컨대 증식성 질환, 심혈관 질환, 위장관 질환, 비뇨생식 질환, 신경계 질환, 근골격계 질환, 혈액작용성 질환, 염증성 질환, 자가면역 질환, 류마티스 관절염 등을 진단하는데 사용될 수 있다.

**[0122]** 본원에 개시된 바와 같이, 본 발명의 표적 전달 조성물은 고유한 검출 가능한 성질을 갖는 진단제를 포함할 수 있다. 대상체에서 진단제의 검출에서, 표적 전달 조성물 또는, 일부가 표적 전달 조성물인 입자 군집을 대상체에게 투여할 수 있다. 그 후, 진단제를 영상화하기 위한 기법, 예컨대 신호 광자 방출 전산화 단층촬영법 (SPECT), 자기 공명 영상화 (MRI), 광학 영상화, 양전자 방출 단층촬영법 (PET), 전산화 단층촬영법 (CT), X-선 영상화, 감마선 영상화 등을 사용하여 대상체를 영상화할 수 있다. 본원에 기재된 임의의 영상화 기법은 기타 영상화 기법과 병용 사용할 수 있다. 일부 실시양태에서, 입자에서의 영상화를 위한 방사성동위원소의 혼입은 대상체에서 표적 전달 조성물의 생체내 추적을 허용한다. 예를 들면, 표적 전달 조성물의 생체분포 및/또는 제거를 측정 및 임의로 사용하여 환자의 치료를 변경시킬 수 있다. 예를 들면, 환자의 치료 및/또는 진단을 최적화하는 데에는 어느 정도의 표적 전달 조성물을 필요로 할 수 있다.

#### 표적 전달

**[0124]** 특정 실시양태에서, 본 발명의 표적 전달 조성물은 대상체에게 전달되어 표적 방식으로 치료제 또는 진단제를 방출할 수 있다. 예를 들면, 표적 전달 조성물은 대상체내의 표적에 전달된 후, 표적 전달 조성물, 예컨대 나노담체에 매립, 캡슐화 또는 결박된 치료제가 표적 부근에서 용액 조건을 기반으로 전달될 수 있다. 용액 조건, 예컨대 pH, 염 농도 등은 표적의 부근에서의 영역에 치료제를 장시간 또는 단시간에 걸쳐 방출을 촉발시킬 수 있다. 대안으로, 효소는 치료제 또는 진단제를 표적 전달 조성물로부터 절단하여 방출을 개시할 수 있다. 일부 실시양태에서, 표적 전달 조성물은 세포내이입에 의하여 세포의 내부 영역으로 전달되고, 가능하게는 차후에 세포, 예컨대 리소좀의 내부 구획내에서 분해될 수 있다. 당업자는 치료제 또는 진단제의 표적 전달이 당업계에서 일반적으로 공지된 다양한 방법을 사용하여 실시될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

#### 키트

**[0126]** 본 발명은 또한 질환 상태를 치료 및/또는 진단하기 위하여 표적 전달 조성물을 대상체에게 투여하기 위한 키트를 제공한다. 그러한 키트는 통상적으로 질환 상태, 예컨대 암 병태를 치료 및/또는 진단시키는데 필요한 2종 이상의 성분을 포함한다. 성분은 본 발명의 표적 전달 조성물, 시약, 용기 및/또는 기기를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 키트내의 용기는 사용전 방사능표지되는 방사성의약품을 포함하는 표적 전달 조성물을 함유 할 수 있다. 키트는 표적 전달 조성물을 투여하는데 필요한 임의의 반응 성분 또는 완충제를 더 포함할 수 있다. 게다가, 표적 전달 조성물은 동결건조된 형태로 존재할 수 있으며, 그 후 투여 전 재구성될 수 있다.

**[0127]** 특정 실시양태에서, 본 발명의 키트는 환자의 질환 상태를 치료 및/또는 진단하기 위하여 사용된 1종 이상의 성분을 포함할 수 있는 포장 어셈블리를 포함할 수 있다. 예를 들면, 포장 어셈블리는 본원에 기재된 바와 같은 표적 전달 조성물 중 1종 이상을 수용하는 용기를 포함할 수 있다. 별도의 용기는 환자에게 투여 전 표적 전달 조성물과 혼합될 수 있는 기타 부형제 또는 작용제를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 의사는 특정 환자에게 필요한 치료 또는 진단에 따라 특정 성분 및/또는 포장 어셈블리를 선택 및 매치할 수 있다.

**[0128]** 본원에 기재된 실시양태는 단지 예시를 위한 것이며, 이에 비추어 다양한 변경예 또는 수정예가 당업자에게 시

사될 것이며 그리고 본원의 정신 및 영역 및 첨부된 특허청구범위의 범위내에 포함되는 것으로 이해하여야 한다. 본원에 인용된 모든 문헌, 특허 및 특허 출원은 모든 목적을 위하여 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0129] VI. 실시예

[0130] 약어: mL, 밀리리터; HOBT, 히드록시벤조트리아졸; LCMS, 액체 크로마토그래피 질량 스펙트럼; DMF, 디메틸포름아미드; DMSO, 디메틸 솔록시드; EA, 에틸 아세테이트; H, 헥산; rt, 상온; h, 시간(들); TLC, 박층 크로마토그래피; TEA, 트리에틸아민; HRMS, 고해상 질량 스펙트럼; Boc, tert-부틸옥시카르보닐.

[0131] 실시예 1

[0132] 표적 전달 조성물의 제조를 위한 MMP-표적 콘쥬게이트의 합성

[0133] 단계 1: 1-tert-부틸 4-에틸 4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-1,4-디카르복실레이트의 제조

[0134] 1-tert-부틸 4-에틸 4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-1,4-디카르복실레이트는 도 2에 의하여 제조하였다. 자기 교반 바아 (테플론(Teflon) 피복됨) 및 응축기가 장착된 등근 바닥 플라스크 (100 mL)에 DMF (50 mL) 중의 1.5 g p-플루오로-솔폰, 0.5 g (1.5 eq.) 3-히드록시 파리딘 및 1.76 g (1.5 eq.) 탄산세슘을 가하였다. 반응을 90°C로 18 시간 동안 가열하였다. 2 시간 후 LCMS는 4.4 분에서 원하는 생성물 및 4.8 분에서 출발 물질 솔폰을 나타낸다. 휘발물을 제거하고, 잔류물을 에틸 아세테이트 및 포화 수성 중탄산나트륨 사이에 분배시켰다. 유기층을 10% 수성 시트르산, 수성 중탄산나트륨, 염수로 세정하고, 무수 황산나트륨으로 건조시켰다. TLC (실리카)는 원 스폭(one spot) (40% 에틸 아세테이트:헥산)을 나타낸다. 에틸 아세테이트를 제거하고, 생성된 호박색 반 고체를 전공 건조시켜 1.72 g의 생성물을 호박색 발포체로서 얻었다. <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)은 원하는 생성물과 일치한다. 이러한 중간체는 추가로 정제하지 않고 다음 단계에서 사용하였다.

[0135] 단계 2. 1-(tert-부톡시카르보닐)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-4-카르복실산의 제조

[0136] 1-(tert-부톡시카르보닐)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-4-카르복실산은 도 3에 의하여 제조하였다. 250 mL 등근 바닥 플라스크에 16 mL 에탄올 및 4 mL 물 중의 1.7 g 에틸 에스테르 (단계 1로부터), 0.78 g (4 eq.) 수산화칼륨을 넣었다. 반응 혼합물을 90°C로 가열하였다. 1 시간 후 LCMS는 반응이 완료된 것을 나타내었다. 혼합물을 에틸 아세테이트 및 10% 수성 KHSO<sub>4</sub>-염수 사이에 분배하였다. 황색 유기상을 분리, 건조, 여과 및 농축시켰다. 잔류물을 밤새 전공 건조시켜 1.32 g 회백색 발포체를 생성하고, 이를 추가로 정제하지 않고 사용하였다.

[0137] 단계 3: tert-부틸 4-(벤질옥시카르바모일)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-1-카르복실레이트의 제조

[0138] tert-부틸 4-(벤질옥시카르바모일)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-1-카르복실레이트는 도 4에 의하여 제조하였다. 자기 교반 바아가 장착된 100 mL 등근 바닥 플라스크에 15 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 중의 1.32 g 산, 0.66 g (1.2 eq.) EDC, 0.58 (1.5 eq.) HOBT 및 0.58 g (2 eq.) TEA를 넣었다. 0.55 g (1.2 eq.)의 아민 HCl 염을 첨가할 때, 이를 10 분 동안 교반하였다. 반응물을 RT에서 교반하였다. 2 시간 후 LCMS는 약간의 출발 물질 및, 약 1:1의 생성물 및 활성 에스테르 혼합물을 나타낸다. 또다른 1 eq.의 아민-HCl 염을 반응 혼합물에 첨가하였다. LCMS는 미량의 산 및 대부분의 생성물을 나타낸다. HOBT 에스테르는 관찰되지 않았다. 반응물을 고체로 농축시키고, 에틸 아세테이트 및 수성 중탄산나트륨 사이에 분배시켰다. 유기물을 10% 수성 KHSO<sub>4</sub>, 염수로 세정하고, 건조시켰다. TLC (실리카, 1:1 에틸 아세테이트:헥산)는 원 스폭 (R<sub>f</sub>=약 0.4 및 초기에 일부 물질)을 나타낸다. 생성된 에틸 아세테이트 용액을 농축시키고(약 10 mL), 실리카 걸의 플러그를 통하여 여과하였다. 실리카를 에틸 아세테이트로 세정하고, 합한 유기물을 농축시키고, 전공 건조시켜 1.29 g (80%)의 회백색 발포체를 얻었다.

[0139] 단계 4. N-(벤질옥시)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-4-카르복스아미드의 제조

[0140] N-(벤질옥시)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-4-카르복스아미드는 도 5에 의하여 제조하였다. 100 mL 등근 바닥 플라스크에 단계 3에서 제조된 Boc 보호된 아민 1.3 g 및 4 N HCl-디옥산 (10 mL)을 넣고, 혼합물을 20 분 동안 교반하였다. 20 분 후 LCMS는 출발 물질을 나타내지 않는다. 반응 혼합물을 전공하에서 농축시키고, 밤새 전공 건조시켜 N-(벤질옥시)-4-(4-(파리딘-3-일옥시)페닐솔포닐)파페리딘-4-카르복스아미드 (1.3 g 비스 HCl 염)를 얻고, 이를 추가로 정제하지 않고 사용하였다.

[0141] 단계 5: N-(벤질옥시)-4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-4-카르복스아미드의 PEG 1000 페페리딘 아미도 아민 유도체의 제조

[0142] N-(벤질옥시)-4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-4-카르복스아미드의 PEG 1000 페페리딘 아미도 아민 유도체는 도 6에 의하여 제조하였다. 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 5 mL 디클로로메탄 중의 1.16 g (1.0 eq.) PEG 산 모노 Boc 아민, 0.25 g (1.2 eq.) EDC, 0.2 g (1.5 eq.) HOEt 및 0.09 g (1.0 eq.) TEA를 넣었다. 0.5 g (1.0 eq.)의 아민 및 0.28 g (3.0 eq.)의 추가의 TEA를 7 mL 디클로로메탄 중에 첨가하고, 반응물을 아르곤하에서 10 분 동안 교반한 후, RT에서 밤새 교반하였다. 반응물을 85 mL CHCl<sub>3</sub>로 희석하고, 15 mL 탈이온 수, 25 mL 5% 수성 시트르산으로 세정한 후, 25 mL 수성 중탄산나트륨-25 mL 염수의 혼합물로 세정하였다. 유기층은 계속 담황색이었으며, 건조시키고(황산나트륨, 무수), 진공하에서 농축시켰다. TLC (20% MeOH-CHCl<sub>3</sub>)는 R<sub>f</sub>=0.4를 나타내지만, 보다 중요한 점은 초기에 UV 가시광 없이 뚜렷한 원 스폷을 나타냈다. 농축 후, 생성물을 진공 건조시켜 1.7 g을 얻었다. LC-HRMS(실측치) M+H=1695.8782 g/mol; M+NH<sub>4</sub>=1712.9046 g/mol. HRMS(이론치) M+H=1695.8775 g/mol; M+NH<sub>4</sub>=1712.9040 g/mol. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)은 목적 생성물과 일치하였다.

[0143] 단계 6:

[0144] N-(벤질옥시)-4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-4-카르복스아미드의 PEG 1000 페페리딘 아미도 아민 유도체의 탈보호는 도 7에 의하여 실시하였다. 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 15 mL 4 N HCl-디옥산 중의 1.66 g의 Boc 화합물을 넣고, 30 분 동안 회전 증발기에서 텁블링시켰다. 반응물을 오일로 농축시킨 후, 맑은 짙은 황색 시럽으로 진공 건조시켰다. 탈-BOC 아민을 얻었으며(1.68 g의 비스-HCl 염), 추가로 정제하지 않고 사용하였다. LC-HRMS 및 염화물 함유량에 대하여 물질을 처리하였다. Cl 함유량은 4%로 측정되었으며, 이는 2 eq. HCl와 일치하였다.

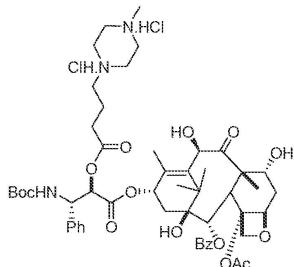
[0145] 단계 7:

[0146] N-(벤질옥시)-4-(4-(페리딘-3-일옥시)페닐술포닐)페페리딘-4-카르복스아미드의 PEG 1000 페페리딘 아미도 아민 유도체로의 DSPE-PEG 5000의 공액은 도 8에 의하여 실시하였다. 50 mL 둥근 바닥 플라스크에 8 mL 염화메틸렌 중의 단계 6에서 제조된 60 mg (1.0 eq.) 아민 및 15 mg (4 eq.) 트리에틸아민을 넣었다. DSPE-PEG 5000의 NHS 에스테르 (220 mg, 1.0 eq.)를 첨가하고, 반응물을 RT에서 2 1/2 시간 동안 교반하고, 샘플을 LCMS에 의하여 분석하였다. 반응물을 맑은 오일로 농축시켰다. 이를 아세토니트릴:물 중에 다시 용해시키고, 냉동시키고, 밤새 동결건조시켜 약 260 mg의 미정제 백색 발포물을 얻고, 이를 추가로 정제하지 않고 사용하였다. LC-HRMS: M/2-2H(실측치)=3780.2141 LC-HRMS M/2-2H(이론치)=3780.2244.

[0147] 단계 8:

[0148] 단계 8에서 얻은 DSPE-PEG-MMP<sup>i</sup> 중간체의 N-벤질옥시-4-카르복스아미드 모이어티로부터 벤질 기의 분해를 도 9에 의하여 실시하였다. 단계 7에서 제조된 325 mg 동결건조된 벤질 에스테르를 함유하는 자기 교반 바이어 장착된 200 mL 둥근 바닥 플라스크에 15 mL 메탄올을 넣었다. 습윤 10% Pd-C 촉매 (75 mg, 태구싸(Degussa))를 첨가하고, 반응 혼합물을 아르곤으로 10 분 동안 퍼징 처리한 후, 교반 중인 용액에 수소를 서서히 버블링시켰다. 반응을 1 시간 20 분 동안 진행시킨 후, MS에 의하여 분석하였다. LCMS는 생성물로의 부분 전환을 나타냈다. 반응 혼합물을 셀라이트(Celite)<sup>®</sup>를 통하여 여과하고, 가온한 메탄올 (40 mL)로 세정하였다. 생성된 용액을 미사용 촉매 (75 mg)로 처리하고, 추가의 90 분 동안 수소화시켰다. LCMS는 출발 물질을 나타내지 않았다. 반응 혼합물을 아르곤으로 퍼징 처리하고, 셀라이트를 통하여 여과한 후, 종이 깔때기를 통하여 부어서 약간의 혼탁성을 제거하고, 여과액을 진공하에서 농축시켜 맑은 오일을 얻었다. 이를 물/아세토니트릴 중에 용해시키고, 냉동시키고, 2 일 동안 동결건조시켰다. 목적하는 DSPE-PEG-MMP<sup>i</sup> 생성물은 무수 백색 분말 (230 mg)로서 얻었다. LC-HRMS 결과에 대하여 도 1을 참고한다.

[0149] 실시예 2

[0150] MMP<sup>i</sup> 표적 리포좀 TD-1의 제조 절차

TD-1

[0151] 세포독성 전구-약물을 함유하는 MMP<sup>i</sup> 표적 리포좀의 형성을 위한 대표적인 절차는 하기 실시예에 제공한다.

[0152] pH 5.5의 10 mM 수성 아세트산나트륨/300 mM 수크로스의 용액 (90 mL)을 함유하는 3목, 500 mL 등근 바닥 플라스크에 TD-1 (189 mg, 0.181 mmol)을 첨가하였다. 완전 용해시, 균질한 용액을 pH 5.50로 조절하였다. 독립적으로, 예비형성된 리포좀 (DSPC:콜레스테롤 (55:45))의 미리 제조된 용액의 부피를 측정하고, pH 5.5의 10 mM 수성 아세트산나트륨/300 mM 수크로스에서 100 mL로 희석하였다. 불균질 용액의 pH는 pH 5.5로 조절하였다. TD-1 용액을 리포좀 용액에 신속하게 첨가하면서 용액 모두를 65°C로 온화하게 가열하였다. 합한 혼합물을 65°C에서 15 분 동안 유지한 후, 55°C로 냉각시켰다. 한편, 리포이드(Lipoid)로부터 얻은 DSPE-PEG(2000) (138 mg, 0.049 mmol) 및 콘쥬게이트 1 (상기 실시예 참조, 5 mg, 0.553 μmol)을 pH 5.5의 10 mM 아세테이트/300 mM 수크로스의 용액 (5 mL) 중에 용해시켰다. TD-1/리포좀 혼합물이 55°C에 도달하면, pH를 측정하고 (pH 5.98), 입자 크기 (강도 및 부피)를 얻고 (Z.Ave.=109.4 nm), 리포이드/콘쥬게이트 1 표적의 균질액을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 55°C에서 30 분 동안 가열한 후, 실온으로 냉각되도록 하였다. pH를 측정하고 (pH 5.89), 입자 크기 (강도 및 부피)를 구하였다 (Z.Ave.=117.0). 이러한 리포좀 용액을 60 mL로 농축시킨 후, pH 6.5의 염수 중의 20 mM 히스타민 1.8 L에 대하여 정용여과하였다 (최소 1.5x 농축 부피). 생성된 용액을 14 mL로 농축시켰다 (분석을 위하여 최종 2 mL의 침투액을 수집함). pH를 측정하고 (pH 6.42), 입자 크기 (강도 및 부피)를 얻고 (Z.Ave.=118.9), 표적 MMP<sup>i</sup> 리간드의 존재는 rphplc 분석에 의하여 리포좀 입자당 100 MMP<sup>i</sup> 리간드 분자보다 큰 것으로 확인하였다.

[0153] 샘플 (1.0 mL)을 TD-1 분석, MMP<sup>i</sup> 표적 분석, 도세탁셀 면적율(%), DSPC, 콜레스테롤, DSPE-PEG(2000) 및 리소-DSPC 분석에 대하여 실시하였다.

제제	300 mM 수크로스 중의 10 mM 아세테이트 pH 5.5
pH	6.42
입도	118.90
부피 (mL)	34.00
면적율(%), TD-1	98.03
%-BOC, RRT 0.41	0.00
%-BOC, RRT 0.43	0.00
%-ORO RRT 0.89	0.00
%-ORO RRT 0.91	0.00
%-ORO RRT 0.95	0.00
%7-에파 M3528, RRT 1.11	1.03
도세탁셀, RRT 1.44	0.95
전구약물 (mg/mL)	3.34
표적 (μg/mL)	262.00
Chol (중량%)	26.9
DSPC (중량%)	58.3
DSPE-PEG2000 (중량%)	9.6
리소-DSPC (중량%)	5.2
TD1/지질	0.157

[0155]

[0156] 실시예 3

[0157] MMP<sup>i</sup>-표적 리포좀 옥살리플라틴의 제조

[0158]

단계 1.

1-벤질 4-((4-페녹시페닐)술포닐)페페리딘-1,4-디카르복실레이트는 도 10에 도시된 바와 같이 합성하였다. 자기 교반 바아가 장착된 100 mL RBF에 1.1 g (2.67 mmol) 4-메틸 4-((4-페녹시페닐)술포닐)페페리딘-4-카르복실레이트, 0.73 g (2.94 mmol) Cbz-OSu, 0.8 g (8.01 mmol) 트리에틸아민을 넣었다. 1 시간 후 LCMS 는  $M+H=510$  g/mol과의 반응이 완료된 것을 나타냈다. 반응물을 EA 및 포화 수성 중탄산나트륨 사이에 분배시켰다. 유기물을 10 수성  $KHSO_4$ 로 세정하고, 건조시키고, 진한 시럽으로 농축시키고, 이는 고 진공 건조시 백색 건조 발포체로 변하였다. 생성물을 밤새 건조시켜 1.29 g (95% 수율)의 Cbz 에스테르를 얻고, 이를 단계 2에 사용하였다.

[0160]

단계 2.

1-((벤질옥시)카르보닐)-4-((4-페녹시페닐)술포닐)페페리딘-4-카르복실산은 도 11에 도시된 바와 같이 합성하였다. 250 mL RBF에 30 mL 에탄올/7.5 mL 물 중의 1.75 g의 1-벤질 4-메틸 4-((4-페녹시페닐)술포닐)페페리딘-1,4-디카르복실레이트 (3.39 mmol), 0.57 g (10.16 mmol) 수산화칼륨을 넣었다. 반응 혼합물을 50°C에서 LCMS로 모니터링하면서 교반하였다. LCMS 분석은 1 시간 후 약 80%의 전환율을 나타냈으며, 2 시간 후 약 90% 전환율을 나타냈으며, 미량의 불순물이 나타났다. 용액을 1/4 부피로 농축시키고, EA 및 10% 수성 시트르산 사이에 분배시켰다. 유기물을 염수로 세정하고, 건조시키고, 진공하에서 농축시켰다. 생성물을 밤새 진공 건조시켜 1.6 g (95% 수율)의 백색 고체를 얻고, 이를 단계 3에서 사용하였다.

[0162]

단계 3.

벤질 4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)카르바모일)페페리딘-1-카르복실레이트는 도 12에 도시된 바와 같이 합성하였다. 자기 교반 바아가 장착된 200 mL RBF에 30 mL DMF 중의 1.48 g (2.99 mmol) 1-((벤질옥시)카르보닐)-4-((4-페녹시페닐)술포닐)페페리딘-4-카르복실산, 0.49 g (4.18 mmol) OTHP-헵드록실아민, 0.8 g (4.18 mmol) EDC, 0.64 g (4.18 mmol) HOBT 및 1.25 mL (8.96 mmol) 트리에틸아민을 넣었다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응물을 진공하에서 농축시키고, EA 및 포화 수성 중탄산나트륨 사이에 분배시켰다. 유기물을 10% 수성 시트르산, 염수로 세정하고, 건조시키고, 진공하에서 농축시켰다. 이 물질을 밤새 진공 건조시켜 1.50 g (85%)의 무수 백색 발포체를 얻었다. 샘플을 직접 주입 MS에 의하여 분석하였으며, 일부 미량의 불순물과 함께 >90% 생성물이 나타났다. HRMS(이온차)  $M+H=595.2108$  g/mol. HRMS (실측치)  $M+H=595.2109$  g/mol.

[0164]

단계 4.

4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)카르바모일)페페리딘은 도 13에 도시된 바와 같이 합성하였다. 자기 교반 바아가 장착된 200 mL RBF에 45 mL 메탄올 중의 1.5 g의 벤질 4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)카르바모일)페페리딘-1-카르복실레이트 화합물 및 100 mg 습윤 데구싸 5% 탄소상 팔라듐을 넣었다. 반응 혼합물을 아르곤으로 5 분 동안 펴징하였다. 그 후, 수소를 용액에 1 시간 동안 버블링시켰다. 이 시점에서 MS 분석(직접 주입)은 반응이 완료되었다는 것을 나타냈다. 미정제물을 셀라이트를 통하여 여과하고, 셀라이트를 40 mL 추가의 메탄올로 세정하였다. 메탄올 용액을 진공하에서 농축시켜 1.2 g의 백색 고체를 얻고, 이를 4 시간 동안 진공 건조시켜 1.1 g 생성물을 얻고, 이를 단계 5에 사용하였다. HRMS(실측치)  $M+H=451.1737$  g/mol.

[0166]

단계 5.

벤질 tert-부틸 ((5S)-6-옥소-6-(4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)카르바모일)페페리딘-1-일)헥산-1,5-디일)디카르바메이트는 도 14에 도시한 바와 같이 합성하였다. 자기 교반 바아가 장착된 50 mL RBF에 10 mL 무수 DMF 중의 330 mg (0.72 mmol) 4-((4-페녹시페닐)술포닐)-4-(((테트라하이드로-2H-피란-2-일)옥시)카르바모일)페페리딘, 286 mg (0.75 mmol) 산, 172 mg (0.9 mmol) EDC, 165 mg (1.1 mmol) HOBT 및 218 mg (2.15 mmol) 트리에틸아민을 넣었다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. DMF를 제거하고, 반응 잔류물을 EA 및 포화 수성 중탄산나트륨 사이에 분배시켰다. 유기물을 염수로 세정하고, 건조시키고, 농축시키고, 진공 건조시켜 585 mg (97% 수율) 미정제 백색 발포체를 얻었으며, 이를 단계 7에 사용하였다. HRMS(이온차)  $M+Na=845.3402$  g/mol. HRMS(실측치)  $M+H=845.3406$  g/mol.

[0168]

단계 6.

[0169]

tert-부틸 ((2S)-6-아미노-1-옥소-1-(4-((4-페녹시페닐)슬포닐)-4-(((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르바모일)페페리딘-1-일)헥산-2-일)카르바메이트는 도 15에 도시된 바와 같이 합성하였다. 100 mL RBF에 45 mL 메탄올 중의 단계 6으로부터의 585 mg의 미정제물, 88 mg 5% 습윤 탄소상 팔라듐 (데구싸)을 넣었다. 반응 혼합물을 아르곤으로 약 5 분 동안 퍼징한 후, 수소를 용액에 서서히 버블링시켰다. 1 시간 후 LCMS 분석은 M+H=689 g/mol의 생성물로의 약 50-60%의 전환율을 나타냈다. LCMS 분석은 3 시간 후 약 75% 전환율 그리고 4 시간 후 약 90% 전환율을 나타냈다. 혼합물을 추가의 1 시간 동안 반응하도록 하였다. 5 분 아르곤 퍼징한 후, 반응 혼합물을 셀라이트로 여과하였다. 반응물을 농축시키고, 휘발물을 디클로로메탄과 함께 2회 방출시키고, 백색 밸포체/고체를 밤새 진공 건조시켜 492 mg (87%) 백색 고체를 얻었다.

[0170]

단계 7.

[0171]

보호된 4-((4-페녹시페닐)슬포닐)-4-(((테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)카르바모일)페페리딘-PEG5000-DSPE 콘쥬게이트는 도 16에 도시한 바와 같이 합성하였다. 자기 교반 바아가 장착된 25 mL RBF에 200 mg DSPE-PEG5000-GS 활성 에스테르 (0.03 mmol), 19 mg (0.027 mmol) 아민 및 12 mg (0.12 mmol) 트리에틸아민을 넣었다. 반응을 밤새 아르곤하에서 교반하였다. 생성물을 농축시키고, 밤새 진공 건조시켰다. 13 분에 걸쳐 20-100%의 30 mL/min 구배를 사용하여 C8 컬럼에서 RPHPLC 정제를 실시하였다. 용매는 초기에 1:1 아세토니트릴: 이소프로판올 20%/아세토니트릴 5%과 함께 물 중의 25 mM 아세트산암모늄 80%이었다. 생성물 함유 분획을 합하고, 농축시켜 유기물을 제거하고, 나머지를 동결건조시켜 93.5 mg (46% 수율) 백색 분말을 얻었다.

[0172]

단계 8.

[0173]

N-히드록시-4-((4-페녹시페닐)슬포닐)페페리딘-4-카르복스아미드-PEG5000-DSPE 콘쥬게이트 (콘쥬게이트 2)는 도 17에 도시한 바와 같이 합성하였다. 100 mL RBF에 1 mL TFA 및 0.1 mL 트리에틸실란 중의 93 mg을 넣었다. 반응을 60 분 동안 텀블링시켰다. 샘플을 LCMS에 의하여 분석하였으며, 이는 원하는 생성물의 형성만을 나타냈다. 10 mL 물을 침가하고, 수성 NH<sub>4</sub>OH를 사용하여 pH가 7.1이 되게 하였다. 이를 냉동시키고, 밤새 동결건조시켰다. 과량의 NH<sub>4</sub>TFA를 제거하기 위해, 미정제물을 20 mL 밀리포어(Millipore) 물 중에 용해시키고, 용액을 3500 MW 피어스 슬라이드-A-라이저(Pierce Slide-A-Lyzer) 카세트에 넣고, 밀리포어 물이 채워진 1 L 비이커내에서 밤새 교반하였다. 그 다음 12 시간 동안 물을 2회 더 교체하였다. 생성된 수성 투석액을 냉동시키고, 밤새 동결건조시켜 약 83 mg의 건조 분말을 얻었다. 생성물에 대한 고 해상 질량 스펙트럼을 도 18에 도시한다.

[0174]

리포좀의 제조

[0175]

콘쥬게이트 2를 DI H<sub>2</sub>O 중에 용해시켜 1.0 mg/mL 또는 2.0 mg/mL 용액을 생성하였다. 그 후, 포스파티딜콜린에 기초한 옥살리플라틴-함유 리포좀 제제(1.0 mg/mL의 리포좀에서)에 첨가하고, 생성된 혼합물을 37°C에서 8 시간 동안 교반하였다. 미정제 물질을 SEC-HPLC에 의하여 분석하였다. 유리 MMP<sup>i</sup> 및 유리 옥사플리플라틴을 제거하기 위하여, 미정제 제제를 스펙트럼 필터 모듈(Spectrum Filter Module) P/N: P-DI-500E-100-01N (1 L 밀리포어 물로 미리 세정함)에 통과시키고, 900 mL (10배 부피)의 완충액(20 mM 아세트산나트륨을 갖는 300 mM 수크로스, 새로 제조함)으로 세정하였다. 이는 통상적으로 2 일에 걸쳐 완성하였다. 완충액 및 제제를 냉장고에서 밤새 두었다. 스펙트럼 필터 모듈을 0.1 N NaOH로 행군 후 밤새 보관하였다. 정제 후, 제제를 원하는 옥살리플라틴 농도로 농축시켰다. 최종 샘플을 SEC-HPLC로 분석하였다. (10 μL의 샘플을 90 μL의 PBS (1:9 희석)로 희석하고, 5 μL를 주입하였다). 입자 크기는 말번 세타사이저(Malvern Zetasizer)로 측정하였다. Pt를 ICP-MS에 의하여 정량화하면서 지질을 HPLC에 의하여 분석하였다. "유리" Pt는 30 KDa 아미콘(Amicon) 원심분리 필터로부터 얻은 여과액의 ICP-MS에 의하여 (9000 rpm, 10 분 동안 상온에서) 측정하였다. 삽입한 표적 리간드의 양은 검정 곡선을 사용한 HPLC 방법에 의하여 측정하였다. 리포좀은 100 nm의 평균 입자 크기를 가졌으며, 입자당 54개의 리간드 (콘쥬게이트 2)를 포함하였다.

[0176]

실시예 4

[0177]

BxPC3 이종이식 종양을 갖는 누드 마우스에서의 MMP<sup>i</sup>-리포좀의 효능

[0178]

실시예 3에서 제조한 MMP<sup>i</sup>-표적 리포좀 옥살리플라틴을 BxPC3 체장 종양을 갖는 마우스에게 투여하였다.

[0179]

암컷Hsd: 무흉선 누드-Foxn1 nu/nu 마우스 (~20 g)에게 ( $2.5 \times 10^6$ ) BxPC3 세포를 오른쪽 옆구리에 피하 이식하

였다. 투여군당 마우스 10마리를 사용하였다. 8개의 투여군은 염수, 옥살리플라틴, 22 mg/kg, 44 mg/kg 및 66 mg/kg의 베이스 옥살리플라틴-함유 리포좀, 및 31 mg/kg, 62 mg/kg 및 94 mg/kg의 해당 MMP<sup>i</sup>-리포좀을 포함하였다.

[0180] 종양이 150  $\text{mm}^3$ 의 중앙 크기에 도달하면, 동물을 군으로 무작위로 나누고, 군 중에서 종양 부피로 정규화하였다. 종양이 없는 동물은 이 실험에 포함시키지 않았다. 테스트 물품을 정맥내로 1회 투여하였다.

[0181] 1주당 3회 캘리퍼를 사용하여 종양 길이 및 폭을 측정하고, 수학식: 종양 부피 ( $\text{mm}^3$ )=길이\*폭 $^2$ \*0.5로부터 부피를 계산하였다. 1주당 1회 동물의 체중을 측정하였다. 종양 부피는 중앙값으로 나타내며, 시간 함수로서 플롯하였다. 2,000  $\text{mm}^3$ 를 넘는 과도한 크기로 실험에서 제외된 임의의 동물은 그 값을 차후의 플롯에서 2,000  $\text{mm}^3$ 로서 진행하였다. 종양 부피는 또한 평균값으로 나타냈으며, 시간 함수로서 플롯하였다 (남은 동물이 50% 미만인 군은 진행하지 않았다). 성장 곡선 사이의 관찰된 차이의 통계적 유의성을 일원 분산 분석(One-Way ANOVA)에 의하여 평가한 후, 유의한 경우 사후 검증 테스트(posthoc test)를 실시하였다.

[0182] 표적 리포좀으로 치치한 마우스에 대한 평균 종양 부피 및 생존율을 비표적 옥살리플라틴 리포좀 및 엘록사틴 (비-리포좀 옥살리플라틴)을 투여한 마우스 및 대조군 마우스에 대한 평균 종양 부피 및 생존율과 비교하였다. 리포좀 옥살리플라틴의 투여는 엘록사틴보다 종양 부피가 더 작았으며, MMP<sup>i</sup>-표적 리포좀 옥살리플라틴의 투여는 필적하는 투여량의 비표적 리포좀 옥살리플라틴에 비하여 종양 부피가 더 작았다 (도 19a. 평균 종양 부피는 테스트 물품의 단일 정맥내 주사후 측정하였다. 모든 투여량은 옥살리플라틴 몰 당량으로 제시한다. 수치는 군당 5-10 마리의 마우스에 대한 평균 $\pm$ SEM이다). 도 19b는 옥살리플라틴을 함유하는 MMP14 수용체 표적 리포좀 (표적 리포좀), 옥살리플라틴, 엘록사틴 또는 염수를 함유하는 비-표적 리포좀의 단일 정맥내 주사 후 BxPC-3 인간 췌장 이종이식을 지닌 마우스의 생존율(%)을 나타내는 카플란-마이어(Kaplan-Meier) 플롯을 도시한다. 모든 투여량은 옥살리플라틴 몰 당량으로 제시한다. 각각의 군은 종양을 지닌 10 마리의 마우스 암컷으로 출발하였다. 대조군 및 엘록사틴 군으로부터의 체중 변화에서의 유의한 차이는 대부분의 투여량 레벨에서 표적 및 비표적 리포좀에 대하여 관찰되지 않았다 (도 20a; 수치는 군당 5-10 마리의 마우스에 대한 평균 $\pm$ SEM이다).

#### 실시예 5

##### MMP14 과발현 HT-1080 이종이식 종양을 지닌 누드 마우스에서의 MMP<sup>i</sup>-리포좀의 효능

[0185] 실시예 3에서 제조한 MMP<sup>i</sup>-표적 리포좀 옥살리플라틴을 MMP14를 과발현하는 인간 섭유육종 HT1080 종양을 지닌 누드 마우스에게 투여하였다.

[0186] 암컷Hsd: 무흉선 누드-Foxn1 nu/nu 마우스 (25 g)에게 ( $5 \times 10^6$ ) HT1080/MMP14 종양 세포를 옆구리에 피하 이식하였다. 투여군당 마우스 10마리를 사용하였다. 6개의 투여군은 염수, 옥살리플라틴, 15 mg/kg 및 30 mg/kg의 베이스 옥살리플라틴-함유 리포좀, 및 15 mg/kg 및 30 mg/kg의 해당 MMP<sup>i</sup>-리포좀을 포함하였다.

[0187] 종양이 150  $\text{mm}^3$ 의 중앙 크기에 도달하면, 동물을 군으로 무작위로 나누고, 군 중에서 종양 부피로 정규화하였다. 종양이 없는 동물은 이 실험에 포함시키지 않았다. 테스트 물품을 정맥내로 1회 투여하였다.

[0188] 1주당 3회로 캘리퍼를 사용하여 종양 길이 및 폭을 측정하고, 수학식: 종양 부피 ( $\text{mm}^3$ )=길이\*폭 $^2$ \*0.5로부터 부피를 계산하였다. 동물을 모니터하고, 1주당 2회 동물의 체중을 측정하였다. 종양 부피는 중앙값으로 나타내며, 시간 함수로서 플롯하였다. 2,000  $\text{mm}^3$ 를 넘는 과도한 크기로 실험에서 제외된 임의의 동물은 그 값을 차후의 플롯에서 2,000  $\text{mm}^3$ 로서 진행하였다. 종양 부피는 또한 평균값으로 나타냈으며, 시간 함수로서 플롯하였다 (남은 동물이 50% 미만인 군은 진행하지 않았다). 성장 곡선 사이의 관찰된 차이의 통계적 유의성을 일원 분산 분석에 의하여 평가한 후, 유의한 경우 사후 검증 테스트를 실시하였다.

[0189] 표적 리포좀으로 치치한 마우스에 대한 평균 종양 부피 및 생존율을 비표적 옥살리플라틴 리포좀 및 엘록사틴 (비-리포좀 옥살리플라틴)을 투여한 마우스 및 대조군 마우스에 대한 평균 종양 부피 및 생존율과 비교하였다. 리포좀 옥살리플라틴의 투여는 엘록사틴보다 종양 부피가 더 작았으며, 30 mg/kg의 투여량에서의 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴의 투여는 동일한 투여량에서의 비표적 리포좀 옥살리플라틴에 비하여 종양 부피가 더 작았다 (도 21a). 30 mg/kg의 투여량에서의 MMP-표적 리포좀 옥살리플라틴의 투여는 모든 시험군의 최고 생존율(%)을 유도하였다(도 21b).

#### 실시예 6

MMP<sup>i</sup>-표적 리포좀 제제에 의한 MMP 억제

실시예 3에서 제조한 MMP<sup>i</sup>-표적 리포좀 옥살리플라틴 샘플의 활성은 금속단백분해효소 MMP2 및 MMP14에 대하여 테스트하였다.

분석 완충액 (50 mM 트리스, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 150 mM NaCl, 0.05% (v/v) Brij-35, pH 7.5) 중의 1 mM APMA (p-아미노페닐머큐르 아세테이트)로 37°C에서 1 시간 동안 배양하여 rhMMP-2 (100 µg/ml)를 활성화시켰다. 활성화된 rhMMP-2는 분석 완충액 중에서 248 ng/ml로 희석하였다. MMP 기질 (Mca-Lys-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH<sub>2</sub>)을 분석 완충액 중에서 25 µM로 희석하였다. 표적 리포좀 제제를 함유하는 5× 테스트 샘플 25 µl 및 248 ng/ml 활성화된 rhMMP-2 50 µl를 96 웰 흑색면이 있는 플레이트에 첨가하였다. 50 µl의 25 µM 기질을 첨가하여 효소 반응을 시작하고, 혼탁 측정 ( $\lambda_{ex}=320$  nm;  $\lambda_{em}=405$  nm)을 동적 모드로 5 분 동안 기록하였다.

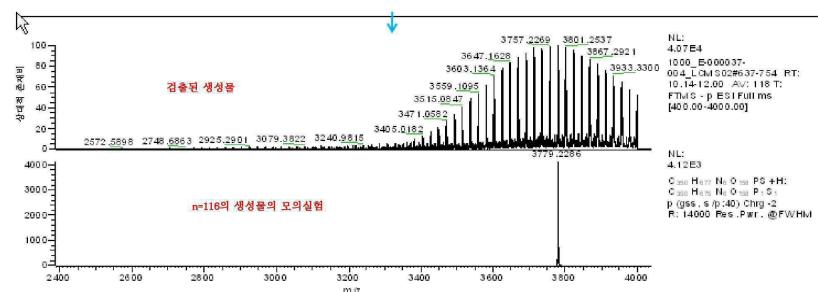
활성화 완충액 (50 mM 트리스, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.05% (v/v) Br i j-35, pH 9.0) 중의 0.86  $\mu$ g/ml rhFurin으로 37°C에서 1 시간 동안 배양하여 rhMMP-14 (40  $\mu$ g/ml)를 활성화시켰다. 활성화된 rhMMP-14를 분석 완충액 (50 mM 트리스, 3 mM CaCl<sub>2</sub>, 1  $\mu$ M ZnCl<sub>2</sub>, pH 8.5) 중에서 1.24  $\mu$ g/ml로 희석하였다. MMP 기질 (Mc a-Lys-Pro-Leu-Gly-Leu-Dpa-Ala-Arg-NH<sub>2</sub>)을 분석 완충액 중에서 20  $\mu$ M로 희석하였다. 표적 리포좀 제제를 함유하는 5× 테스트 샘플 25  $\mu$ l 및 1.24  $\mu$ g/ml 활성화 rhMMP-14 50  $\mu$ l를 96 웰 흑색면이 있는 플레이트에 첨가하였다. 50  $\mu$ l의 20  $\mu$ M 기질을 첨가하여 효소 반응을 시작하고, 형광 측정 ( $\lambda_{ex}$ =320 nm;  $\lambda_{em}$ =405 nm)을 동적 모드로 5 분 동안 기록하였다.

MMP2 및 MMP14에 대하여 각각 12.7 nm 및 3.9 nm의 IC<sub>50</sub> 값이 관찰되었다 (도 22a 및 도 22b).

상기는 예시를 위하여 그리고 명백성 및 이해를 위한 예로서 구체적으로 기재하기는 하나, 당업자는 일부 수정 예 및 변경예가 첨부된 특허청구범위의 범주내에서 실시될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 게다가, 본원에 제 공된 각각의 문현은 각각의 문현이 개별적으로 참조로 포함되는 것과 동일한 정도로 그 전문이 참조로 포함된다.

## 도면

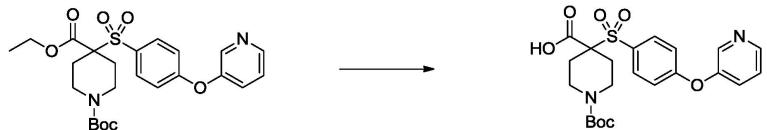
## 도면1



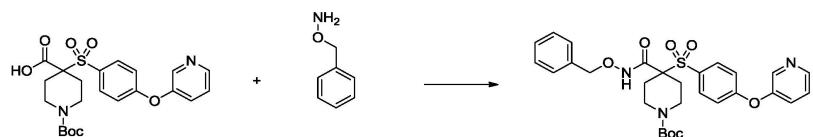
## 도면2



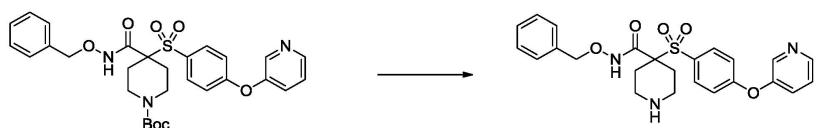
### 도면3



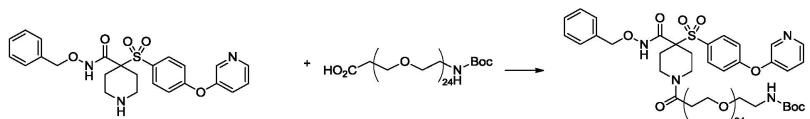
## 도면4



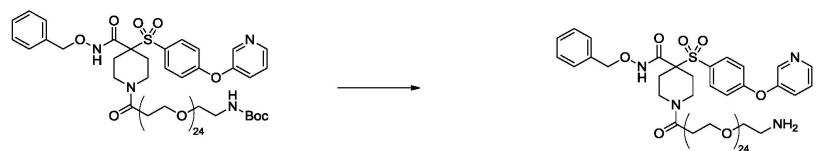
## 도면5



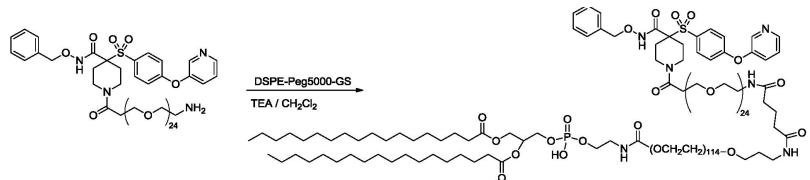
## 도면6



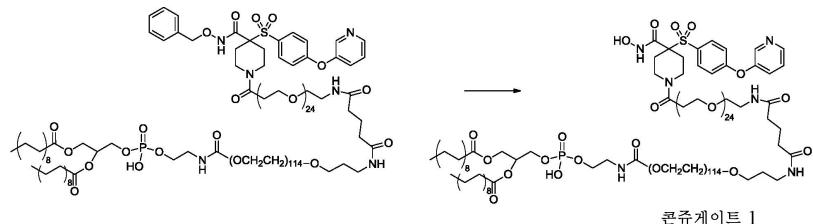
## 도면7



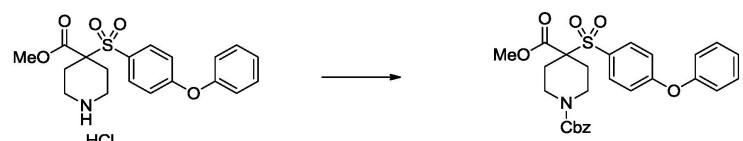
## 도면8



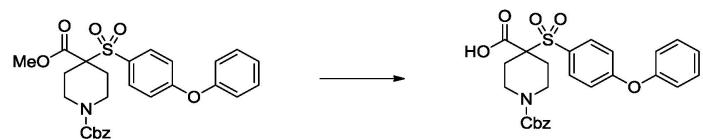
## 도면9



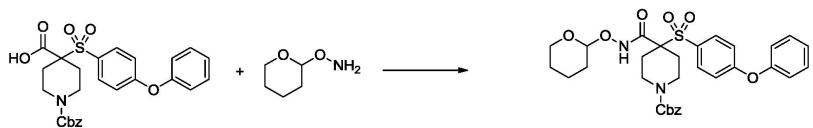
## 도면10



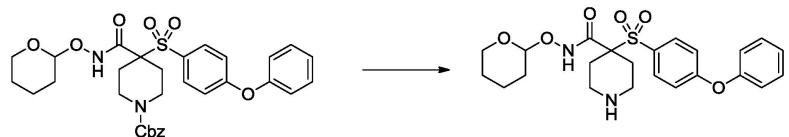
## 도면11



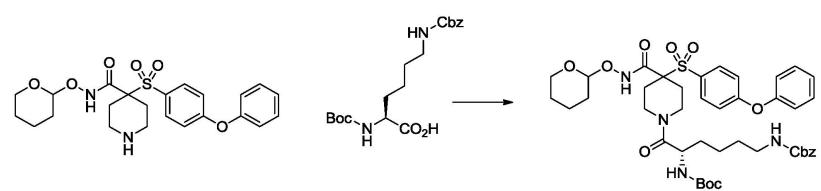
## 도면12



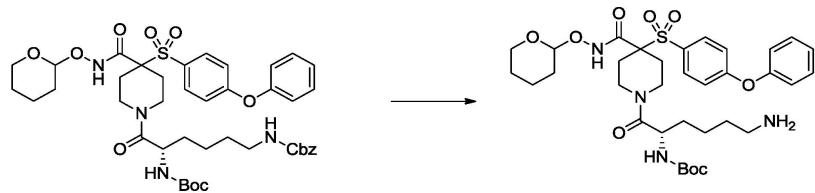
## 도면13



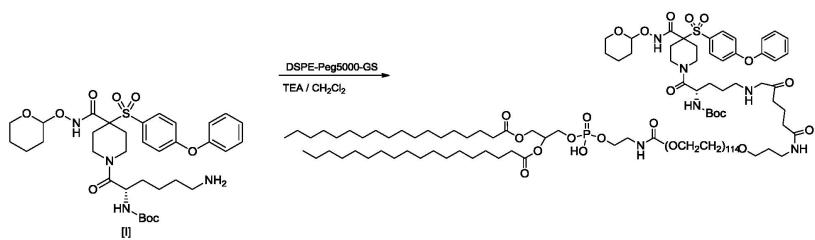
## 도면14



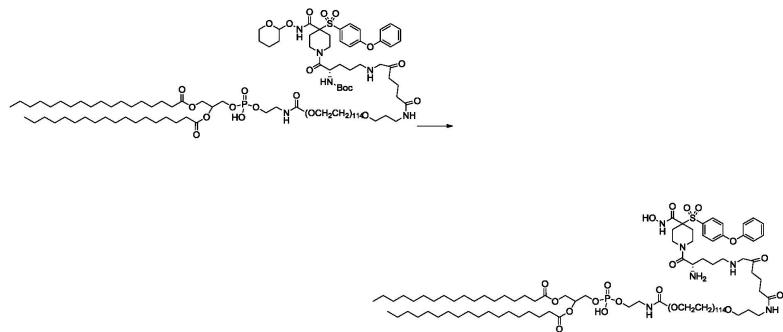
## 도면15



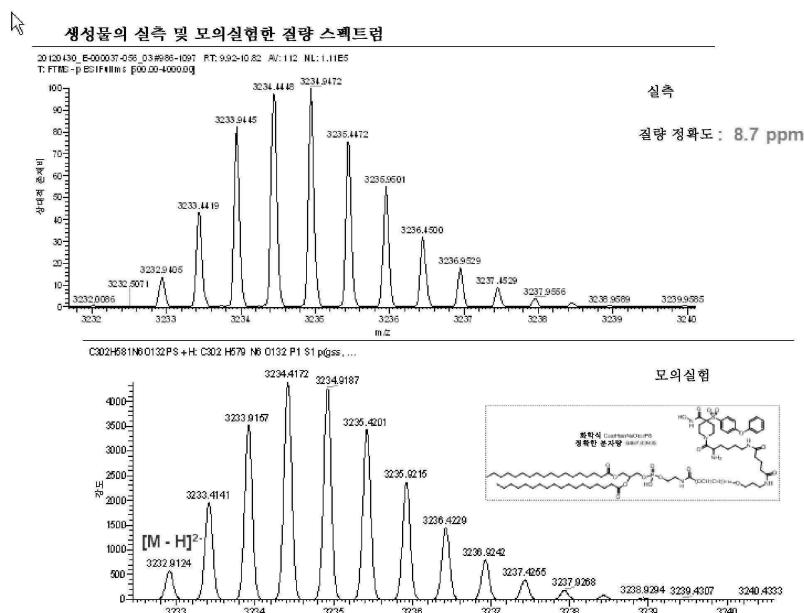
## 도면16



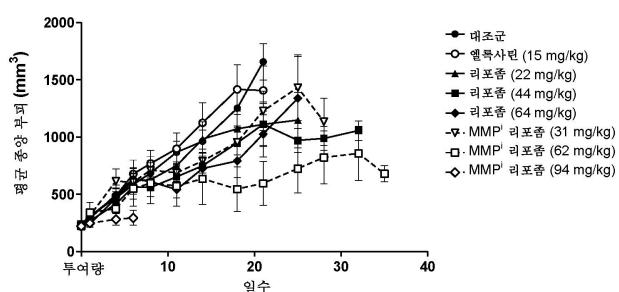
## 도면17



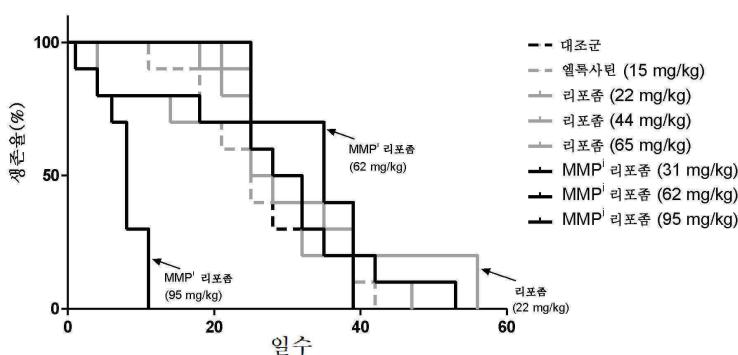
## 도면18



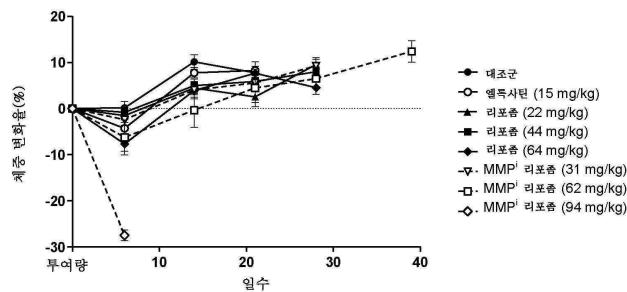
## 도면19a



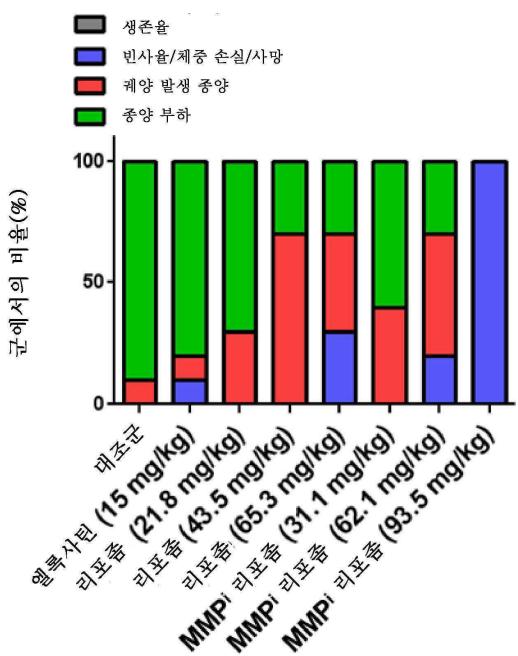
## 도면19b



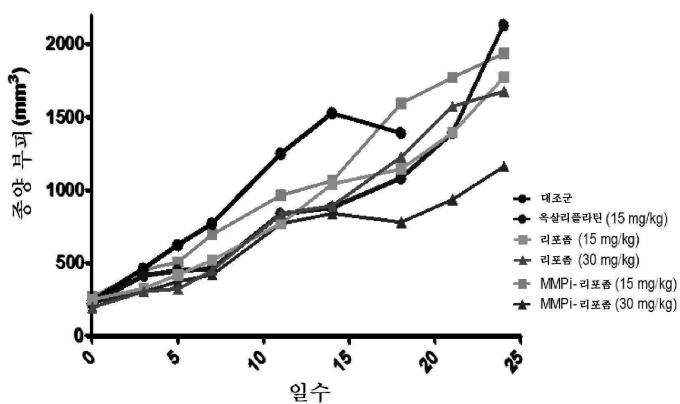
도면20a



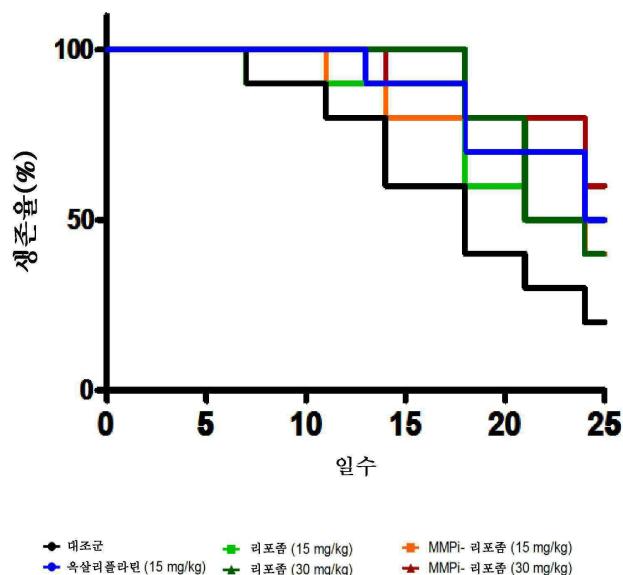
도면20b



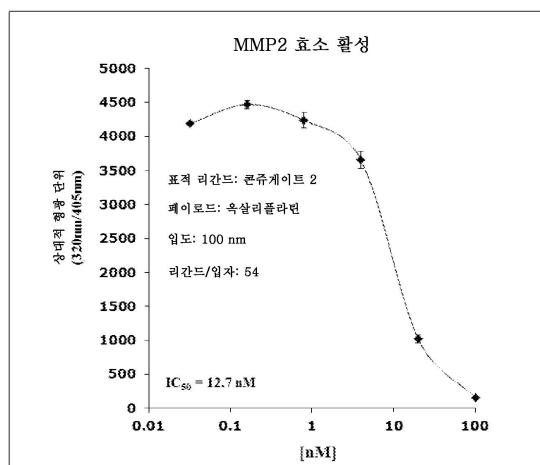
도면21a



도면21b



도면22a



## 도면22b

