

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl.⁷
A61K 9/16

(11) 공개번호 특2001-0025023
(43) 공개일자 2001년03월26일

(21) 출원번호	10-2000-7012768		
(22) 출원일자	2000년11월14일		
번역문제출일자	2000년11월14일		
(86) 국제출원번호	PCT/US1999/10737	(87) 국제공개번호	WO 1999/59549
(86) 국제출원출원일자	1999년05월14일	(87) 국제공개일자	1999년11월25일
(81) 지정국	AP ARIPO특허 : 가나 감비아 케냐 레소토 말라위 수단 시에라리온 스와질랜드 우간다 짐바브웨 EA 유라시아특허 : 아르메니아 아제르바이잔 벨라루스 키르기즈 카자흐스탄 몰도바 러시아 타지키스탄 투르크메니스탄 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 사이프러스 독일 덴마크 스페인 핀란드 프랑스 영국 그리스 아일랜드 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투갈 스웨덴 OA OAPI특허 : 부르키나파소 베냉 중앙아프리카 콩고 코트디부아르 카메룬 가봉 기네 기네비소 말리 모리타니 니제르 세네갈 차드 토고 국내특허 : 아랍에미리트 알바니아 아르메니아 오스트리아 오스트레일리아 아제르바이잔 보스니아-헤르체고비나 바베이도스 불가리아 브라질 벨라루스 캐나다 스위스 중국 쿠바 체코 독일 덴마크 에스토니아 스페인 핀란드 영국 그레나다 그루지야 가나 감비아 크로아티아 헝가리 인도네시아 이스라엘 인도 아이슬란드 일본 케냐 키르기즈 북한 대한민국 카자흐스탄 세인트루시아 스리랑카 라이베리아 레소토 리투아니아 룩셈부르크 라트비아 몰도바 마다가스카르 마케도니아 몽고 말라위 멕시코 노르웨이 뉴질랜드 폴란드 포르투갈 루마니아 러시아 수단 스웨덴 싱가포르 슬로베니아 슬로바키아 시에라리온 타지키스탄 투르크메니스탄 터어키 트리니다드토바고 우크라이나 우간다 우즈베키스탄 베트남 유고슬라비아 남아프리카 짐바브웨		
(30) 우선권 주장	09/080,832 1998년05월18일 미국(US)		
(71) 출원인	암젠 인코포레이티드 스티븐 엠. 오드레 미국 캘리포니아 91320-1789 사우전드 오크스 원 암젠 센터 드라이브 암젠센터		
(72) 발명자	골든버그메릴시머 미국캘리포니아91360사우전드오크스래드클리프로드3616 구지안화 미국캘리포니아91360사우전드오크스호덴캠프로드#76319		
(74) 대리인	황광현		

심사청구 : 없음

(54) 생분해가능한 서방성 알긴산 겔

요약

본 발명은 생분해가능한 서방성 알긴산 겔 또는 입자를 사용하는 서방성 제제형 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

색인어

알긴산, 겔, 서방성, 친수성 중합체, 다가 금속 이온

명세서

기술분야

본 발명은 생분해가능한 알긴산 겔 비드 및/또는 지속성 겔을 이용한 서방성 제제형 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

배경기술

유전공학 및 세포공학 기술이 발전함에 따라, 치료학적으로 이용하는 의약으로 단백질을 사용하는 데 있어서 재조합 단백질의 이용도 또한 높아졌다. 제약학적 단백질로 치료하는 다수의 질병이나 증상에 있어서, 최상의 치료 효과를 얻기 위해 지속적으로 단백질 수준을 유지하는 것이 필수적이다. 그러나 대부분의 단백질 약물은 일반적으로 그것의 생물학적 반감기가 짧기 때문에 자주 투여해 주어야 한다. 이렇게 반복적으로 주사하게 되면 신체내 약물 수준이 계속 변하게 되어 차이가 생기고, 환자에게 신체적으로나 금전적으로 상당한 부담이 된다. 다수의 증상이 약물의 수준 조절에 대해 민감하게 완화되므로, 장기간 동안 일정하게 방출시킬 수 있도록 의약을 조절 방출시킬 필요가 있다. 이러한 서방성 의약은 환자에게 보다 증진된 예방 효과나 치료 효과 또는 진단 효과를 제공할 뿐 아니라 주사 회수를 줄여 전체적인 비용을 감소시킨다.

인체 또는 동물에 대한 투여시 약물 수준을 유지시키기 위하여 최근에는 기질로서 생분해가능한 중합체를 이용하려는 시도가 있었다. 예를들어, 영국 특허 번호 제 1,388,580 호에는 인슐린을 서서히 방출시키기 위해 히드로겔을 이용하는 것에 관하여 기술하고 있다. 미국 특허 번호 제 4,789,550 호에는 캡슐화된 생세포에 의해 단백질이 수송되도록 폴리리신으로 코팅한 알긴산 미소캡슐을 사용하는 것에 관하여 기술하고 있다. 미국 특허 번호 제 4,744,933 호에는 약물을 서서히 방출시키기 위해 음이온 중합체 또는 양이온 중합체 조성물을 사용하는 시도가 있었으며, 이러한 조성물은 생물학적 활성 조성물을 생산할 수 있는 캡슐화 세포에 대하여 반대 전하를 갖는 이온성 중합체로 둘러싸여 있다. 마찬가지로, 음이온성 또는 양이온성 교차결합 중합체를 여러번 코팅시키는 방법 또한 방출을 조절하는 방법으로 기술되어 있다(미국 특허 번호 제 4,690,682 호 및 제 4,789,516 호 참조). 더불어, 폴리펩티드 조성물이나 그것의 양이온 침전물을 조절 방출시키기 위한 또다른 시도로서 알긴산을 단독으로 사용하거나 다른 생분해가능한 중합체로 코팅하여 사용하는 것에 관하여도 기술되어 있다[PCT WO 96/00081, PCT WO 95/29664 및 PCT WO 96/03116 참조].

그러나, 이러한 방법들은 바람직한 단백질 약물의 서방성 수송을 가능하게 하기에는 불충분하였다. 생체내 조건하에서, 예를들어 폴리락티드 공-글리세리드(poly lactide co-glyceride)와 같은 생분해가능한 특정 중합체를 사용하면 초기에 다량의 약물이 방출되는 것으로 공지되어 있다[Johnson, O. 등의 Nature Med. 2/7 : 795 (1996) 참조]. 더욱이, 서방성 제제 형태로 사용하는 단백질은 변성되기 쉽고 캡슐화제에 노출될 경우 생활성도를 잃을 수 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 제제는 선택한 단백질에 유해한 효과를 가질 수 있는 유기 용매를 사용할 수도 있다. 결국, 알긴산을 단독으로 사용하면 하기와 같고 같이 유효한 치료 결과에 필수적인 바람직한 조절 방출 단백질을 제공하지 못한다.

일반적으로 알긴산은 1, 4-결합- β -D-만누론산 및 α -L-글루론산으로 이루어진, 자연발생적인 음이온성 다당류로 공지되어 있다[Smidsrod, O. 등의 Trends in Biotechnology, 8 : 71 - 78 (1990) ; Aslani, P. 등의 J. Microencapsulation, 13(5) : 601 - 614 (1996) 참조]. 알긴산은 일반적으로 만누론산 70 % 및 글루론산 30 % 내지 만누론산 30 % 및 글루론산 70 % 로 구성될 것이다[Smidsrod, 상기문헌 참조]. 알긴산은 불수용성인 반면에, 나트륨, 칼륨 및 암모늄 등의 일가이온과 함께 형성된 염은 수용성이다[McDowell, R.H., "Properties of Alginate"(London, Alginate Industries Ltd., 4th edition 1977 참조). 다가양이온은 알긴산과 반응하여 자발적으로 겔을 형성하는 것으로 알려져 있다.

알긴산은 식품 첨가제, 접착제, 제약학적 정제 및 상처용 붕대 등에 광범위하게 이용할 수 있다. 알긴산은 단백질 분리 기술에도 이용되어 왔다. 예를들어, Gray, C.J. 등의 in Biotechnology and Bioengineering, 31 : 607 - 612 (1988) 문헌에는 다른 혈청 단백질로부터 인슐린을 분리하기 위해 알긴산아연/칼슘 겔에 인슐린을 포착하는 것에 관하여 기술하고 있다.

알긴산 기질은 약물 수송계로도 잘 알려져 있는데, 예를들어 알긴산 기제 슈잉겔 수송계 및 제약학적 제제에 관하여 기술하고 있는 미국 특허 번호 제 4,695,463 호를 참조하라. 알긴산 비드(alginate beads)는 다음과 같은 여러 단백질의 조절 방출에 사용되어 왔다 : 다가양이온으로 코팅한 양이온-알긴산 비드내 종양 괴사 인자 수용체[Wee, S.F., Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 21 : 730 - 31 (1994) 참조] ; 알긴산 비드로 캡슐화한 형질전환 성장 인자[Puolakkainen, P.A. 등의 Gastroenterology, 107 : 1319 - 1326 (1994) 참조] ; 알긴산칼슘 비드에 포착한 맥관형성 인자[Downs, E.C. 등의 J. of Cellular Physiology, 152 : 422 - 429 (1992)] ; 키토산-알긴산 미소캡슐에 포착한 알부민[Polk, A. 등의 J. Pharmaceutical Sciences, 83(2) : 178 - 185 (1994) 참조] 또는 중합체로 코팅한 키토산-알긴산칼슘 비드[Okhamafe, A.O. 등의 J. Microencapsulation, 13(5) : 497 - 508 (1996)] ; 키토산-알긴산칼슘 비드로 캡슐화한 헤모글로빈[Huguet, M.L. 등의 J. Applied Polymer Science, 51 : 1427 - 1432 (1994), Huguet, M.L. 등의 Process Biochemistry, 31 : 745 - 751 (1996)] ; 및 알긴산-키토산 중심체로 캡슐화한 인터루킨-2[Liu, L.S. 등의 Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 22 : 542 - 543 (1995) 참조].

단백질을 포착하기 위해 알긴산 겔 비드 또는 알긴산/칼슘 겔 비드를 이용한 시스템은 알긴산 비드에서 단백질이 신속하게 방출됨으로 인해 서방성 효과가 부족하게 된다[Liu, L. 등의 J. Control. Rel. 43 : 65 - 74 (1997) 참조]. 이러한 신속한 방출을 피하기 위해 상기 시스템에 다가양이온 중합체 코팅물(예, 폴리리신, 키토산)을 이용하여 단백질 알긴산 비드의 방출을 지연시키려는 시도가 여러차례 있었다. 예를들어, Wheatley, M.A. 등의 J. Applied Polymer Science, 43 : 2123 - 2135 (1991) ; Wee, S.F. 등의 상기문헌 ; Liu, L.S. 등의 상기문헌 ; Wee, S.F. 등의 Controlled Release Society, 22 : 566 - 56 (1995) 및 Lim

등의 상기문헌을 참조하라.

폴리리신과 같은 다가양이온은 음전하를 띤 알긴산 분자와 작용하여 다가전해질 복합체를 형성하는 양전하를 띤 다가전해질이며, 이러한 다가전해질 복합체는 비드막 상에서 확산 장벽으로 작용한다. 다가양이온을 사용함으로써 발생하는 문제는 다음과 같다 : (1) 이러한 제제형은 다가양이온으로 인해 세포독성이 된다[Huguet, M.L. 등의 상기문헌 ; Zimmermann, Ulrich, Electrophoresis, 13 : 269 (1992) ; Bergmann, P. 등의 Clinical Science, 67 : 35 (1984) 참조] ; (2) 다가양이온은 산화되기 쉽다 ; (3) 다가양이온 코팅물로 코팅한 비드는 신체내에서 부식되지 않고 축적되기 쉽다 ; (4) 이러한 제제형은 다가양이온 폴리리신으로 여러차례 코팅하는 등의 복잡한 코팅 과정을 통해 제조된다[Padoi 등의 Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 2 : 216 (1986) 참조] ; (5) 단백질과 다가양이온 간의 이온 상호작용으로 단백질 활성도가 소실되거나 단백질이 불안정해질 수 있다.

Francesco 등의 미국 특허 번호 제 5,336,668 호(및 인용문헌)에는 다른 방법에 의해 제조되고 제약학적 질을 갖는 완전 에스테르화된 알긴산과 부분 에스테르화된 알긴산에 관하여 기술되어 있다. 또한 알긴산 에스테르가 의료수술용의 생분해가능한 가소성 물질이나 다양한 중합체성 물질에 대한 부가제로 사용되는 방법 또는 여러가지 의약 제조에 사용되는 방법을 기술하고 있다. 서방성 제제형 내에 에스테르화된 알긴산을 사용하는 것에 관하여 기술하거나 에스테르화된 알긴산 히드로겔에 관하여 기술한 문헌은 존재하지 않는다.

Nightlinger 등의 Proceed. Inter. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 22 : 738 - 739 (1995)에는 조절 방출 능력을 갖는 에스테르화된 히알루론산(HA) 미소립자에 관하여 기술되어 있다. 이 문헌은 일반적으로 상이한 분해 속도를 갖는 그것의 HA 유도체에 대해 기술하고 있으며 에스테르가 알콜과 HA 부분을 절단하는 방법에 관하여 기술하고 있다. 그러나 HA 골격 자체가 보다 낮은 분자량을 갖도록 중합체 단위를 절단하는 지 여부 또는 그 방법에 관하여 기술된 문헌은 없다.

다당류를 기제로 하는 지속적 수송계가 유용하려면, 이 다당류가 비독성 산물로 생분해되어야 한다. 특정 알긴산 겔계는 약물에 서방성을 부여하는 데에 효과적인 반면 이러한 겔의 지연소실성으로 인해 주사 부위에 "범프(bump)" (또는 결절)가 생성된다. 따라서 약물의 투여량이 적고 주사 회수가 적은 치료방법의 경우에는 큰 문제가 되지 않지만, 약물의 투여량이 높고 주사 회수가 보다 많은 치료방법의 경우에는 이것이 심각한 문제가 된다. 그러므로 주사 부위에서 알긴산 겔의 소실 속도를 증가시키는 방법이 개발되어야 한다.

따라서, 임상학적으로 적용할 수 있고 보다 효과적이며 다양한 서방성을 갖는 제약학적 제제형을 개발해야 할 필요성이 여전히 존재한다. 여러 재조합 단백질이나 천연 단백질은 장기간 일정하게 방출되는 이점을 가지며 이로 인해 보다 효과적인 임상학적 결과가 초래된다.

본 발명은 이러한 진보를 제공한다. 본 발명의 생분해가능한 지속성 알긴산 겔 입자 또는 겔을 이용한 제약학적 조성물은 단백질의 안정성과 유효성을 증진시킴과 동시에 단백질의 생체내 이용효율을 높이고 단백질을 보호하고, 단백질 분해를 감소시킬 뿐 아니라 단백질이 서서히 용해되도록 할 수 있다. 또한, 본 발명의 제약학적 조성물은 유효한 예방적, 치료적 또는 진단적 결과에 있어 재조합 단백질의 조절 방출에 관한 단순하고 신속하며 저렴한 방법을 제공한다.

발명의 요약

본 발명은 단백질을 지속적으로 방출시키기 위한 비변이 알긴산(음이온성 다당류군) 히드로겔을 이용한 연구로서 발전되었다. 이러한 단백질을 함유하는 비변이 알긴산 히드로겔(미국 특허 출원 번호 제 08/857,913 호 및 제 08/912,902 호 참조)은 시간-지연 방식으로 형성되며, 주사기에 물질을 채워 넣음으로써 동일한 주사기에 겔이 남아 있게 된다 ; 이러한 겔은 주사가 가능한 것으로 밝혀졌다. 설치류 모델에 1 회 피하 주사한 후, 단백질이 지속적으로 방출되는 지에 관한 증거가 여러 날에 걸쳐 관찰되었다. 그러나, 상당한 정도의 범프나 결절이 장기간 동안 크기의 변화 없이 주사 부위에 남아 있다. 이 범프는 물로 가득찬 알긴산 히드로겔로 구성되며 범프의 크기는 주사되는 겔 부피와 관계가 있다. 겔 비드는 또한 주사 부위에 남아 있다.

따라서 본 발명은 치료 단백질을 지속적으로 방출시키기 위한 생분해가능하며 생적합성인 신규한 다당류 히드로겔, 예를들어 알긴산 에스테르 히드로겔에 관한 것이다. 놀랍게도, 비변이 알긴산의 겔화 특성, 주사가 가능성 및 서방성 이외에 알긴산 에스테르 히드로겔은 주사 부위에 범프를 생성시키지 않았다. 즉, 알긴산 에스테르 히드로겔은 생분해가능하거나 식용가능하며 주사 부위에 별다른 반응 없이 주변 조직 내로 단계적으로 재흡수된다.

본 발명의 조성물은 단백질과 같은 치료제를 함유하는 히드로겔(물-함유) 기질과 이온성 교차결합되는 알긴산 에스테르 또는 그 유도체를 포함한다.

또한 본 발명은 생분해가능한 서방성 조성물의 제조방법에 관한 것이다.

본 발명은 신체내에서 시간 지연 겔화 액체 혼합물 내에서의 알긴산 에스테르 물질의 용도에 관한 것이다.

본 발명은 또한 알긴산 에스테르 히드로겔이 활성제, 바람직하게는 치료 단백질의 지속적 방출을 위한 비드 형태 또는 미소립자 형태로 존재하는 조성물에 관한 것이다.

본 발명의 한 실시형태에 있어서, 알긴산 에스테르 히드로겔은 환자의 체내 표적 부위에 적용하기 위한 조성물을 제공한다. 이러한 조성물은 다음과 같은 용도로서 유용하다 :

수술 및 외상 후에 조직 유착 형성을 막거나 예방함 ; 조직 공급, 특히 연조직 및 경조직 공급 ; 재흡수가능한 물질로 한정된 공간 보충 ; 조직 성장을 위한 발판 및 창상치치제.

다른 실시형태에 있어서, 알긴산 에스테르 히드로겔은 체내 이식을 위한 장치를 함유하는 활성제를 제공하며, 이러한 활성제는 알긴산 중합체에 결합하거나 그렇지 않을 수 있다.

또다른 실시형태에 있어서, 본 발명의 알긴산 에스테르 히드로겔 조성물은 조성물내 활성제의 생체내 이용효율을 개선시키는 방법을 제공한다.

마지막으로, 본 발명의 알긴산 에스테르 히드로겔 조성물은 환자에게서 일정 기간에 걸쳐 실질적으로 일정한 혈액 수준을 수득하는 방법을 제공한다.

발명의 상세한 설명

조성물

알긴산 및 그의 유도체를 포함하는 친수성 중합체는 본 분야에 잘 알려진 여러 가지의 통상적으로 입수할 수 있는 원이나 천연원 또는 합성원에서 수득할 수 있다. 본원에서 사용한 바와 같이, 친수성 중합체라는 용어는 수용성 중합체 또는 물 흡수에 있어 친화력을 갖는 중합체를 말한다. 친수성 중합체는 본 분야의 숙련자에게 잘 알려져 있다. 이런 친수성 중합체는 다음과 같은 음이온성 다당류를 포함하는 다가 음이온을 포함하나, 이것으로 한정되지는 않는다 : 알긴산, 카르복시메틸 아밀로스, 폴리아크릴산염, 폴리메타아크릴산염, 에틸렌말레산무수물 공중합체(1/2 에스테르), 카르복시메틸 셀룰로스, 덱스트란 술페이트, 헤파린, 카르복시메틸 덱스트란, 카르복시 셀룰로스, 2, 3-디카르복시셀룰로스, 트리카르복시셀룰로스, 카르복시 아라비아고무, 카르복시 카라기난, 펙틴, 카르복시 펙틴, 카르복시 트라가칸트검, 카르복시 크산탄검, 펜토산 폴리술페이트, 카르복시 전분, 카르복시메틸 키틴/키틴산, 커드란, 이노시톨 헥사술페이트, β -시클로덱스트린 술페이트, 히알루론산, 콘드로이틴-6-술페이트, 더마탄 (dermatan) 술페이트, 헤파린 술페이트, 카르복시메틸 전분, 카라기난, 폴리갈락투론에이트, 카르복시 구아검, 폴리포스페이트, 폴리알데히도-탄산, 폴리-1-히드록시-1-술폰에이트-프로펜-2, 코폴리스티렌 말레산, 아가로스, 메조글리칸(mesoglycan), 술포프로필화된 폴리비닐 알콜, 셀룰로스 술페이트, 프로타민 술페이트, 포스포 구아검, 폴리글루탐산, 폴리아스파르트산, 폴리아미노산 또는 그의 유도체나 조합물. 본 분야의 숙련자들은 본 발명의 범주내의 여러가지 다른 친수성 중합체를 인식할 것이다.

마찬가지로, 결합 다가 금속 이온은 본 분야에 잘 알려진, 통상적으로 입수가능한 다양한 원이나 천연원 또는 합성원에서 수득할 수 있다. 특히, 금속 이온은 알루미늄, 바륨, 칼슘, 철, 망간, 마그네슘, 스트론튬 및 아연을 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직한 금속 이온은 칼슘과 아연 또는 그것의 염으로서, 아세트산 아연, 아세트산 칼슘 또는 염산염이다. 수용성 소분자는 또한 황산암모늄, 아세트, 에탄올 및 글리세롤과 같은 것들을 사용할 수 있다.

본 발명에 따른 알긴산의 카르복시기 중 에스테르화 성분으로 사용되는 지방계열 알콜은 예를 들어 최대 34 개의 탄소 원자를 갖는 것으로서, 이것은 포화되거나 불포화된 것이며, 또한 하나 또는 두 개의 히드록시기, 니트릴기 또는 할로겐에 의해 치환되는 카르바마이드나 카르바마이드기 또는 에스테르화된 카르복시기, 히드로카르빌 또는 디히드로카르빌아미노(이하, "히드로카르빌"은 C_nH_{2n+1} 형과 같은 탄화수소의 1 가 라디칼 뿐만 아니라 "알킬렌" - C_nH_2 또는 "알킬리덴" = C_nH_{2n} 과 같은 2 가 라디칼 또는 3 가 라디칼을 의미한다), 에테르 또는 에스테르기, 아세탈 또는 케탈기, 티오-에테르 또는 티오에스테르기와 같이 동일한 것으로부터 유도한 기에 의해 치환되거나, 또는 아미노, 히드록시, 알데히도, 케토, 메르캅토, 카르복시기와 같은 기능상 변이거나 다른 유리기에 의해 치환될 수 있다.

히드로카르빌 라디칼을 함유하는 상기 기에 있어서, 이들은 산소, 질소 및 황과 같은 헤테로 원자인 저급 지방족 라디칼이 바람직하다. 전술한 기능기 중 하나 또는 두 개로 치환된 알콜을 선택한다.

본 발명의 용어 내에서 바람직하게 사용되는 상기 기를 갖는 알콜은 최대 12 개의 탄소원자, 특히 최대 6 개의 탄소 원자를 갖는 것으로서, 상기 언급한 아미노, 에테르, 에스테르, 티오 에테르, 티오에스테르, 아세탈, 최대 4 개의 탄소 원자를 갖는 알킬기를 나타내는 케탈기에 있어서, 또한 에스테르화된 카르복시기 또는 치환된 카르바마이드기에 있어서, 히드로카르빌 라디칼은 동수의 탄소원자를 갖는 알킬이며, 아미노기나 카르바마이드기는 최대 8 개의 탄소원자를 갖는 알킬렌아미노기 또는 알킬렌카르바마이드기일 수 있다. 이들 알콜 중 맨처음 언급한 것은 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 알콜, n-부틸 알콜, 이소부틸, 3 차-부틸 알콜, 아밀, 펜틸, 헥실, 옥틸, 노닐과 같은 포화되고 비치환된 알콜이며, 도데실 알콜 및 n-옥틸이나 n-도데실 알콜과 같은 직쇄를 갖는 상기 모든 알콜이다. 이러한 군의 치환된 알콜 중, 2 가 알콜은 다음과 같이 열거된다 : 에틸렌글리콜, 프로필렌 글리콜 또는 부틸렌 글리콜, 글리세린과 같은 3 가 알콜, 타르트론산 알콜과 같은 알데히도 알콜, 락트산과 같은 카르복시 알콜, 예를들어 알파-옥시프로피온산, 글리콜산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 아미노 알콜, 예를들어 아미노에탄올, 아미노프로판올, n-아미노부탄올 및 그것의 디메틸, 디에틸 아미노기 유도체, 콜린, 피롤리딘일 에탄올, 피페리딘일 에탄올, 피페라진일 에탄올 및 n-프로필 알콜이나 n-부틸 알콜, 모노티오에틸렌글리콜의 해당 유도체 또는 메르캅토기의 에틸 유도체와 같은 그것의 알킬 유도체.

고도로 포화된 지방족 알콜 중에서, 특별히 언급할 만한 가치가 있는 것은 예를들어 세틸 알콜 및 미리스틸 알콜이지만, 본 발명의 목적에 있어서 특히 중요한 것은 시트로넬롤, 제라 니올, 네롤, 네롤리돌, 리날로올, 파르네졸, 피톨과 같은 테르펜류에 대해 친화성을 가지며

정유에 다량 함유되어 있는, 이중 결합을 하나 또는 두 개 갖는 고도로 불포화된 알콜이다. 저도로 불포화된 알콜 중에서 고려할만한 것은 프로파르길 알콜이다.

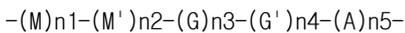
지방족 알콜 중 상기 언급된 모든 것들은 단 하나의 벤젠 잔기를 갖는 것들로서, 지방족 사슬은 최대 4 개의 탄소원자를 가지며 벤젠 잔기는 할로겐 원자 특히, 염소, 브롬 또는 요오드나, 1 내지 3 개의 메틸기 또는 히드록시기로 치환되고, 지방족 사슬은 유리 아미노기 또는 모노메틸기나 디메틸기 중에서 선택한 하나 또는 그 이상의 작용기로 치환되거나 피롤리딘 또는 피페리딘기로 치환될 수 있다. 이러한 알콜 중 벤질 알콜과 페닐 알콜이 특히 바람직하다. 시클로지방족 알콜 또는 지방족 시클로지방족 계열은 모노 또는 폴리시클로 탄화수소로부터 유도되며, 최대 34 개의 탄소원자를 갖는다. 시클로 단핵 탄화수소에서 유도한 알콜 중 특히 언급할만한 것은 5 내지 7 개의 탄소원자를 함유하는 고리를 갖는 최대 12 개의 탄소원자로 이루어진 것으로서, 예를들어 메틸, 에틸, 프로필 또는 이소프로필기와 같은 1 내지 3 개의 저급 알킬기로 치환될 수 있다. 이러한 기의 특정 알콜은 카르보멘톨 멘톨, "테르피네올" 로 공지된 알파 및 감마-테르피네올 1-테르피네올 알콜, 1,4- 및 1,8-테르핀과 같은 p-멘탄에서 유도한 알콜, 시클로헥산올, 시클로헥산디올, 1,2,3-시클로헥산트리올 및 1,3,5-시클로헥산트리올(플로로글루시톨), 이노시톨이다. 축합 고리를 갖는 탄화수소로부터 유도한 알콜은 예를들어 투잔, 피난, 캄프베인기, 특히 투잔올, 사비놀 피놀 수화물, D-보르네올, L-보르네올, D-이소보르네올 및 L-이소보르네올이다.

또한 알긴산과 에폭시-함유 화합물의 에스테르 반응으로 유도된 알콜도 포함된다(예를들어 미국 특허 제 2,463,824 호 및 미국 특허 제 2,426,125 호 참조).

본 발명의 다음이온을 내포하는 완전 에스테르기 및 부분 에스테르기는, 글리코시드 산소가 에스테르의 카르보닐 탄소에 베타 결합될 경우에 일반적으로 산성 다당류이다. 특정 메카니즘과 결부되는 것은 아니지만, 이러한 성분의 배열은 생리학적 조건하에서 발생할 수 있는 베타-제거 메카니즘에 의해 중합체 사슬을 절단할 수 있다.

본 발명의 알긴산 에스테르는 하기 화학식 I 및 유도체(히드록시기가 아세틸화되고 이소시안산과 반응할 경우) 및 제약학적으로 용인가능한 그의 염의 글리코시드 에테르 산소 결합에 의해 결합되는 만누론산 잔기(m-COOH 또는 m-COO 음이온) 및 글루론산 잔기(g-COOH 또는 g-COO 음이온)로 이루어진다 :

화학식 I



여기에서

M 은 만누론산 잔기, m-COOH 또는 m-COO 음이온이고 ;

M' 은 만누론산 에스테르 잔기, m-COOR1 이며 ;

G 는 글루론산 잔기, g-COOH 또는 g-COO 음이온이고 ;

G' 은 글루론산 에스테르 잔기, g-COOR2 이며 ;

A 는 사슬 말단 내에 또는 말단에 결합된 헤테로원자에 의해 치환되고 중단될 수 있는 지방족, 방향족, 아랄리페틱(araliphatic), 알아로매틱(alaromatic), 시클로지방족 라디칼 또는 당, 당 산화 부산물과 같은 비-g 또는 비-m 사슬 단위를 나타내고 ;

n1, n2, n3, n4 및 n5 는 결합 단위의 평균 수를 나타내는 정수이며 ;

R1 및 R2 는 각각 헤테로원자에 의해 치환되고 중단될 수 있는 지방족, 방향족, 아랄리페틱, 알아로매틱, 시클로지방족 라디칼이다.

본 발명의 에스테르에서, R1 = R2 = 지방족이나 알아로매틱이 바람직할 뿐만 아니라 100(n2 + n4)/(n1 + n2 + n3 + n4) 는 1 - 99 mol % 이고, 바람직하게는 5 - 50 mol %, 더욱 바람직하게는 6 - 30 mol %, 더욱더 바람직하게는 6 - 15 mol % 이고 가장 바람직하게는 7 - 12 mol % 이며, 100 n5/(n1 + n2 + n3 + n4 + n5)는 10 mol % 미만인 것이 바람직하다.

본 발명의 부분 에스테르에 있어서, 에스테르화되지 않은 카르복시기는 유리되거나 염화될 것이다. 이러한 염 형성을 위한 염기는 최종적으로 사용되는 산물에 따라 선택한다. 무기 염은 칼륨, 특히 나트륨 및 암모늄과 같은 알칼리 금속으로부터 형성되거나 칼슘 또는 마그네슘이나 알루미늄염과 같은 알칼리 토류 금속으로부터 유도된다.

특히 관심의 대상이 되는 것은 유기 염기, 특히 질소화 염기 및 이로 인해 지방족, 아랄리페틱, 시클로지방족 또는 헤테로시클로 아민을 갖는 염이다. 이러한 암모늄염은 치료학적으로 용인가능한 아민 또는 비독성이지만 치료학적으로는 불활성인 아민으로부터 유도하거나 치료 작용을 갖는 아민으로부터 유도할 수 있다. 첫 번째 형태 중 바람직한 것은 지방족 아민, 예를들어 최대 8 개의 탄소원자로 이루어진 알킬기를 갖는 모노-, 디- 및 트리-알킬아민 또는 지방족 부분에서 동수의 탄소원자를 갖는 아릴알킬아민이며, 이 때 아릴은 1 내지 3 개의 메틸기 또는 할로겐 원자나 히드록시기로 치환될 수 있는 벤젠기를 의미한다. 염 형성을 위한 생물학적으로 불활성인 염기는 질소, 산소 및 황에 의해 형성되는 기로부터 선택한 헤테로원자에 의해 고리가 방해될 수 있는, 4 내지 6 개의 탄소원자로 이루어진 고리를 갖는 모노시클로 알킬렌아민과 같은 고리, 예를들어 피페라진이나 모르폴린일 수 있으며, 아미노에탄올, 에틸렌디아민, 에틸렌디아민, 에페드린 또는 콜린과 같은 아미노 작용기나 히드록시 작용기에 의해 치환될 수 있다.

에스테르화 정도와 형태는 본 분야에 공지된 합성 방법으로 조절할 수 있다. 바람직하게, 알긴산 에스테르는 디메틸 술폰과 같은 비양성자성 유기 용매 내에서 통상적인 알킬화제로 알긴산의 4 차 암모늄염을 처리함으로써 제조한다. 결과적으로 생성되는 에스테르는 에틸 등의 저급 알킬이나 벤질 등의 아릴알킬과 같은 1 가 알킬이나 그것의 혼합물의 에스테르가 바람직하다. 또한 에틸렌 산화물이나 프로필렌 산화물과 같은 화합물을 함유하는 옥시란 또는 에폭시를 갖는 알긴산 반응에 의해 에스테르를 형성할 수도 있다.

또한 부분 에스테르의 4 차 암모늄염, 예를 들어 상기한 수의 탄소 원자를 갖는 테트라알킬암모늄염 및 바람직하게는 4 번째 알킬기가 메틸기와 같이 1 내지 4 개의 탄소원자를 갖는 형태의 염을 형성하는 것이 가능하다.

알긴산의 에스테르화 정도(mol %로 나타냄)는 환자 조직 내에서 겔의 바람직한 소실 속도와 관계가 있다. 이러한 겔의 소실 속도는 일반적으로 겔에서 활성제가 방출되는 속도와 관계가 있으며, 그 기간은 5 년 이하, 통상적으로는 2 내지 270 일, 보다 통상적으로는 2 내지 180 일, 더욱 통상적으로는 2 내지 90 일이다. 에스테르화 정도(DE)는 1 mol % 내지 99 mol %, 바람직하게는 5 mol % 내지 50 mol %, 더욱 바람직하게는 6 mol % 내지 30 mol %, 보다 바람직하게는 6 mol % 내지 15 mol %, 보다 더욱 바람직하게는 7 mol % 내지 12 mol % 이다.

본원에서 사용한 바와 같이, 완충액 또는 완충용액이란 용어는 본 분야에서 알려진 완충용액을 제조하기 위해 무기산, 유기산 또는 그것의 조합물을 사용함을 나타낸다. 본 발명의 범주내에 있는 무기산은 할로겐화수소(예를 들어, 염산), 인산, 질산, 황산을 포함한다. 그밖의 무기산은 본 분야의 숙련자들에게 잘 알려져 있으며 본원에 포함되는 것으로 간주된다. 본 발명의 범주내에 있는 유기산은 지방족 카르복시산 및 방향족산(예를 들어, 포름산, 탄산, 아세트산, 프로피온산, 부티르산, 발레르산, 카프로산, 아크릴산, 말론산, 숙신산, 글루타르산, 아디프산, 말레산, 푸마르산, 글리신 또는 페놀 술폰산)을 포함한다. 그밖의 유기산은 본 분야의 숙련자들에게 잘 알려져 있다.

본원에서 사용한 바와 같이, 생물학적 활성제는 인체나 동물에서 재조합 또는 천연적으로 발생하는 단백질을 말하며, 생물학적 활성제는 소분자와 같은 비-단백질 기체 약물 뿐만 아니라 예방적, 치료학적 또는 진단학적 적용에 유용하다. 생물학적 활성제는 천연적, 합성적, 반합성적이거나 그것의 유도체일 수 있다. 본 발명의 생물학적 활성제는 침전되는 것이어야 한다. 생물학적 활성제의 범위는 광범위한 것으로 여겨진다. 이러한 것들은 호르몬, 시토킨, 조혈 인자, 성장 인자, 항비만 인자, 영양 인자, 항-염증성 인자 및 효소(유용한 생물학적 활성제에 관한 부가적 실시예에 있어 미국 특허 번호 제 4,695,463 호를 참조하라)를 포함하지만 여기에 한정되지는 않는다. 본 분야의 숙련자들은 바람직한 생물학적 활성제를 본 발명의 조성물에 적합하도록 수정할 수 있을 것이다.

그러한 단백질은 다음을 포함하지만 여기에 한정되지는 않는다 : 인터페론(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 5,372,808 호, 제 5,541,293 호, 제 4,897,471 호 및 제 4,695,623 호 참조), 인터루킨(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 5,075,222 호 참조), 에리트로포이에틴(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 4,703,008 호, 제 5,441,868 호, 제 5,618,698 호, 제 5,547,933 호 및 제 5,621,080 호 참조), 과립구-군체 자극 인자(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 4,810,643 호, 제 4,999,291 호, 제 5,581,476 호, 제 5,582,823 호 및 PCT 공개 번호 제 94/17185 호 참조), 간세포 인자(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 PCT 공개 번호 제 91/05795 호, 제 92/17505 호 및 제 95/17206 호 참조) 및 OB 단백질(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 PCT 공개 번호 제 96/40912 호, 제 96/05309 호, 제 97/00128 호, 제 97/01010 호 및 제 97/06816 호 참조). 더욱이, 생물학적 활성제는 다음을 포함하지만 여기에 한정되지는 않는다 : 항-비만 관련 산물, 인슐린, 가스트린, 프로락틴, 부신피질자극호르몬(ACTH), 갑상선자극호르몬(TSH), 황체형성호르몬(LH), 난포자극호르몬(FSH), 태반성 성선자극호르몬(HCG), 모틸린, 인터페론(알파, 베타, 감마), 인터루킨(IL-1 내지 IL-12), 종양 괴사 인자(TNF), 종양 괴사 인자-결합 단백질(TNF-bp), 뇌 유래 신경영양성 인자(BDNF), 신경교세포 유래 신경영양성 인자(GDNF), 신경영양성 인자 3(NT3), 섬유아세포 성장 인자(FGF), 신경영양성 성장 인자(NGF), 오스테오프로테게린(OPG)과 같은 골 성장 인자, 인슐린-유사 성장 인자(IGFs), 대식세포 군체 자극 인자(M-CSF), 과립성백혈구 대식세포 군체 자극 인자(GM-CSF), 거대핵세포 유래 성장 인자(MDGF), 트롬보포이에틴, 혈소판-유래 성장 인자(PDGF), 군체 자극 성장 인자(CSFs), 골 형태형성 단백질(BMP), 초과산화물 디스무타제(SOD), 조직 플라스미노겐 활성제(TPA), 우로키나제, 스트렙토키나제 및 칼리크레인. 본원에서 사용한 단백질이란 용어는 펩티드, 폴리펩티드, 콘센서스(consensus) 분자, 그것의 유사체, 유도체 또는 조합물을 포함한다.

생물학적 활성제의 유도체는 단백질 성분에 하나 또는 그 이상의 화학 성분을 부착하였다. 생물학적 활성제의 화학적 변형은 특정한 환경(예를 들어, 치료용 단백질의 안정성 증가 및 순환 시간, 면역원성 감소)하에서 부가적 이점을 제공하는 것으로 밝혀졌다. 본 분야의 숙련자들은 바람직한 투여량, 순환 시간, 단백질 가수분해에 대한 저항성, 치료적 이용 및 그밖의 고려해야 할 사항에 입각하여 바람직한 화학적 변형을 선택할 것이다.

본원에 사용한 바와 같이, 생분해성은 특정 중합체가 사슬 내에서 보다 적은 수의 단위를 갖도록 절단됨, 즉 보다 적은 분자량 단위로 절단됨을 말한다. 생분해가능한 겔은 사용 환경에서 겔이 소실됨을 말하며 이때 구성 중합체의 분자량 절단에 소실이 수반되고 결과적으로 중합체 사슬 내에서 보다 적은 수의 단위가 존재하게 된다.

복합체

단백질, 유사체 또는 유도체는 결합 구성물에 복합시켜 투여할 수 있다. 그러한 결합 구성물은 단백질, 유사체 또는 유도체의 순환 시간 연장, 또는 생물학적 활성제의 활성도 증가 효과를 나타낸다. 그러한 구성물은 단백질(또는 같은 뜻으로, 펩티드), 유도체, 유사체 또는 조합물일 수 있다. 예를들어, OB 단백질에 적합한 결합 단백질은 OB 단백질 수용체 또는 그것의 일부분(예를들어, 그것의 가요성 부분)이다. 그 외의 결합 단백질은 혈청내의 OB 단백질 또는 그 외의 단백질을 검사하거나 실험을 통해 결합 여부를 스크리닝함으로써 확인할 수 있다. 전형적으로, 그러한 결합은 내인성 OB 단백질 수용체에 결합하려는 OB 단백질, 유사체 또는 유도체의 능력을 저해하지 않거나/않으며 신호 전달에 영향을 미치지 않을 것이다. OB 단백질 이외에, 결합 복합체는 본 발명의 다른 치료용 단백질에도 적용될 것이다. 본 분야의 기술자들은 본 발명에서 사용한 적절한 결합 단백질을 확인할 수 있을 것이다.

또한, 생물학적 활성제를 침전시키기 위해 사용하는 침전제는 본 분야에서 잘 알려진, 통상적으로 입수할 수 있는 다양한 천연원 또는 합성원으로부터 수득할 수 있다. 침전제는 다음을 포함하지만 여기에 제한되지는 않는다 : 다가 금속 이온 또는 그것의 염(예를들어, 아세트산염, 시트르산염, 염산염, 탄산염, 수산화물, 옥살산염, 타르타르산염 또는 그것의 수산화물), 산 또는 수용성 중합체. 특히, 금속 이온은 알루미늄, 바륨, 칼슘, 철, 망간, 마그네슘, 스트론튬 및 아연을 포함하며 이것으로 한정되지는 않는다. 바람직한 금속 이온에는 아연 또는 염화 아세트산염과 같은 염이 있다. 또한 수용성의 소분자 및 염으로는 황산 암모늄, 아세트, 에탄올 및 글리세롤이 사용될 수 있다.

수용성 중합체는 다음을 포함하지만 여기에 한정되지는 않는다 : 폴리에틸렌 글리콜, 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 덱스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥소란(dioxolane), 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산, 덱스트란, 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 단독중합체, 산화 폴리프로필렌/산화 에틸렌 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올, 폴리비닐 숙신산 알콜, 글리세린, 산화 에틸렌, 산화 프로필렌, 폴록사머(poloxamer), 알콕시화 공중합체, 수용성 다가 음이온 또는 그것의 유도체 및 조합물. 수용성 중합체는 어떤 분자량이라도 가능하며 분지되었거나 비분지될 수 있다. 예를들어, 폴리에틸렌 글리콜의 바람직한 분자량은 약 700 Da 내지 약 100 kDa 사이이며, 이 범위의 분자량을 갖는 폴리에틸렌 글리콜은 침전 조작이 용이하고 효능이 좋다.

바람직한 치료용 프로필(예를들어, 바람직한 서방성 존속기간, 생물학적 활성도에 미치는 영향(영향을 미칠 경우에 한함), 조작의 용이성, 항원성의 정도 또는 결핍 및 치료용 단백질 또는 유사체에 관한 바람직한 침전제의 공지된 다른 효과)에 따라 결정되는 다른 크기 및 유형의 침전제를 사용할 수 있다. 본 분야의 숙련자들은 본 발명의 범주내에 속하는 그밖의 침전제를 인식할 수 있을 것이다.

더욱이, 본 발명의 구성물은 생물학적 활성제 및/또는 친수성 중합체를 안정화 시키기 위해 필요한 특별한 부형제를 포함한다. 이 부형제는 완충액에 함유되어 있으며 방부제를 포함할 수 있으나 이것으로 제한되지는 않는다.

제약학적 조성물

본 발명의 서방성 제약학적 조성물은 경구형[예를들어, 캡슐(경질 캡슐 및 연질 캡슐), 고형 제제(과립, 정제, 환제, 구내정이나 함당정제, 카세제, 결정소구, 분말 및 동결건조된 형태), 액상형 제제(현탁액)] 및 비-경구형 제제[예를들어, 근육내, 피하, 경피, 내장, IV(정맥내), IP(복강내), 동맥내, 초내, 피막내, 안와내, 주사가능물질, 폐, 코, 직장 및 자궁 내점막 제제]로 투여된다.

일반적으로, 제약학적으로 용인가능한 희석제, 방부제, 용해제, 유회제, 보조제 및/또는 투여에 필요한 담체의 성질을 갖는 단백질 또는 유도 산물의 유효량을 포함하는, 서방성 제약학적 조성물로서 본 발명은 이해된다(본원에서 참고문헌으로 인용한 PCT 제 97/01331 호 참조). 바람직한 생물학적 활성제를 위한 최적의 제약학적 제제형은 투여경로 및 바람직한 투여량에 의존하여 본 분야의 숙련자에 의해 결정될 것이다. 전형적인 제약학적 조성물은 레밍턴스 파마슈티칼 사이언시즈[Remington's Pharmaceutical Sciences ; 마크 퍼블리싱 캄파니, 18th Ed., Easton, PA, pgs. 1435 - 1712 (1990)]에 나타나 있다.

지속성 겔 제제형의 요변성 특징 때문에, 피하로 투여시에 주사기가 사용된다. 나중에 주사할때는 주사기 안에서 조성물이 겔화 될 수도 있다. 이러한 겔화는 시간-지속성 형태로 수행될 수 있다. 시간은 겔화제 정량의 적절한 조정 및 혼합물내 프로톤 공여체(만일 사용한다면)에 의해 조절된다. 그러한 제제는 주사 후에 체내에서 나중에 다시 겔화하는데 사용하였을 것이다. 본원에서 사용한 요변성이란 용어는 겔 혼합물의 점성이 압력하에서는(주사기 플런저로부터의 압력) 감소하고, 그 때 혼합물은 유동성을 띄고(주사기 바늘을 통과할때), 그런 다음에는 주사된 자리에서 겔로 다시 형성되는 것을 의미하는 것이다.

지속성 겔화의 개념은 또한 서방성 겔 조성물이 주사기에 채워지고 미리 조절된 시간에 주사기에서 겔화되는(예를들어, 채운 후 몇 분에서 여러 시간), 채워진 주사기에도 적용된다. 이것은 이미 겔화된 재료로 채워진 주사기의 문제점을 피한다. 이러한 미리 채워진 주사기는 나중에 환자에게 주사하기 위해 보관이 가능하다.

조성물은 투여시에 필요한 다음을 포함한다 : 다양한 완충 성분(예를들어, 트리스-HCl, 아세트산염), 다양한 pH 및 다양한 이온 세기의 희석제 ; 계면활성제 및 용해제와 같은 첨가제(예를들어, 트윈 80, HCO-60, 폴리소르베이트 80), 항산화제(예를들어, 아스코르브산,

글루타타이온, 메타비셀파이트 나트륨), 특별한 다당류(예를들어, 카르복시메틸셀룰로스, 알긴산 나트륨, 히알루론산 나트륨, 프로타민 황산염, 폴리에틸렌 글리콜), 방부제 (예를들어, 티메르졸, 벤질 알콜, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤) 및 구성 물질(예를들어, 락토스, 만니톨) ; 폴리락트산/폴리글리콜산 중합체 또는 공중합체 등 또는 리포종과 결합된 것과 같은 고분자 화합물의 입자형 제제를 띄는 물질의 결합. 히알루론산은 또한 투여 조성물로 사용될 수 있고, 순환 상태에서 지속되는 기간을 훨씬 더 증진시키는 효과를 가질 수 있다. 더욱이, 본 발명의 서방성 조성물은 또한 오일(예를들어, 참기름, 옥수수 기름, 식물성 기름) 또는 오일과 인지질과의 혼합물(예를들어, 레시틴) 또는 오일 현탁액을 공급하기 위한 연쇄 지방산 트리글리세라이드 배지(예를들어, 미글리올 812)로 분산될 수 있다. 본 발명의 조성물은 또한 수용성 다당류(예를들어, 만니톨, 락토스, 글루코스, 전분), 히알루론산, 글리신, 피브리, 콜라겐 및 무기염류(예를들어, 염화 나트륨)와 같은 분산제로 분산될 수 있다.

게다가, 본 발명의 서방성 조성물의 투여시에는 의료용 분무기, 측정된 투여량 흡입기에만 제한되지 않고, 분말 흡입기, 본 분야의 숙련자들에게 자명한 모든 것을 포함하는 치료 산물의 폐순환을 위해 고안된 기계적 장치들을 사용하도록 연구되었다.

투여 조성물은 본 발명의 단백질 및 유도체의 물리적 상태, 안정성, 생체내 방출 속도 및 생체내 제거 속도를 좌우한다. 본 분야의 숙련자는 적절한 투여 조성물 및/또는 치료 용도, 투여 경로, 투여량 계획, 순환 시간, 단백질 분해 저항성, 단백질 안정성 및 다른 고려 요소들에 따라 사용하는 적절한 기계적 장치들을 선택한다.

이용 방법

치료. 치료학적 용도는 사용된 생물학적 활성제에 달려있다. 본 분야의 숙련자는 본 발명에서 의도하는 치료학적 용도에 맞게 원하는 생물학적 활성제를 쉽게 조절할 수 있을 것이다. 이러한 약제에 대한 치료학적 용도는 본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 하기 공개 문헌에 매우 자세하게 기재되어 있다. 치료학적 용도는 다음과 같은 단백질의 용도를 포함하지만 그것에만 한정되지는 않는다 : 인터페론(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 5,372,808 호, 제 5,541,293 호, 제 4,897,471 호 및 제 4,695,623 호 참조), 인터루킨(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 5,075,222 호 참조), 에리트로포이에틴(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 4,703,008 호, 제 5,441,868 호, 제 5,618,698 호, 제 5,547,933 호 및 제 5,621,080 호 참조), 과립성백혈구-군체 자극 인자(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 미국 특허 번호 제 4,999,291 호, 제 5,581,476 호, 제 5,582,823 호, 제 4,810,643 호 및 PCT 공개 번호 제 94/17185 호 참조), 간세포 인자(본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 PCT 공개 번호 제 91/05795 호, 제 92/17505 호 및 제 95/17206 호 참조) 및 OB 단백질 (본원에서 도면을 포함하여 참고문헌으로 인용한 PCT 공개 번호 제 96/40912 호, 제 96/05309 호, 제 97/00128 호, 제 97/01010 호 및 제 97/06816 호 참조).

또한, 본 발명의 치료학적인 용도는 다음을 포함하지만 그것에만 한정되지는 않는 생물학적 활성제의 용도를 포함한다 : 항-비만 관련 산물, 인슐린, 가스트린, 프로락틴, 부신피질자극호르몬(ACTH), 갑상선자극호르몬 (TSH), 황체형성호르몬(LH), 난포자극호르몬(FSH), 태반성 성선자극호르몬 (HCG), 모틸린, 인터페론(알파, 베타, 감마), 인터루킨(IL-1 내지 IL-12), 종양괴사인자(TNF), 종양괴사인자-결합단백질(TNF-bp), 뇌 유래 신경영양성 인자(BDNF), 신경교세포 유래 신경영양성 인자(GDNF), 신경영양성 인자 3(NT3), 섬유아세포 성장 인자(FGF), 신경영양성 성장 인자(NGF), 오스테오프로테게린(OPG)과 같은 골 성장 인자, 인슐린-유사 성장 인자(IGFs), 대식세포 군체 자극 인자(M-CSF), 과립성백혈구 대식세포 군체 자극 인자(GM-CSF), 거핵구 유래 성장 인자(MDGF), 트롬보포이에틴, 혈소판-유래 성장 인자(PDGF), 군체 자극 인자(CSFs), 골 형태형성 단백질(BMP), 초과산화물 디스무타제(SOD), 조직 플라스미노겐 활성제(TPA), 우로키나제, 스트렙토키나제 및 칼리크레인. 본원에서 사용한 단백질이란 용어는 펩티드, 폴리펩티드, 칸센서스분자 및 그것의 유사체, 유도체 또는 조합물을 포함한다. 또한, 본 발명의 조성물은 치료를 목적으로 하는 생물학적 활성제의 치료 또는 개선을 위한 하나 또는 그 이상의 의약 조제에 사용할 수 있다.

실시예를 통하여, 치료학적 이용(혈액내 산소 첨가반응) 및 골흡수나 골다공증 감소를 체중의 감소없이 얻을 수도 있다.

조합 치료. 본 발명의 조성물 및 방법은 식이 변화 및 운동과 같은 다른 치료와 연합하여 사용할 수 있다. 그 외의 의약에는 당뇨병 치료에 유용한 의약(예를들어, 인슐린 및 잠재적인 아밀린), 콜레스테롤 및 혈압강하제(혈액내 지질 수준을 감소시키는 의약 또는 심혈관계 의약과 같은 것), 활성을 증가시키는 의약(예를들어, 암페타민), 이노제(액상 배설물을 위한 것) 및 식욕억제제와 같은 의약이 있다. 이러한 의약의 투여는 동시에 또는 순차적으로 실시할 수 있다. 게다가 본 발명의 방법은 신체의 종합적인 외관을 변화시키기 위해 계획된 미용외과수술(예를들어, 신체 질량 감소를 위해 계획된 지방흡입이나 레이저 수술 또는 신체 질량의 외관을 증가시키기 위해 계획된 이식수술)과 같은 외과수술 과정과 연합하여 사용할 수 있다. 동맥반과 같은 지방 침착물에 의해 혈관이 차단됨으로써 야기되는 유독 상태를 완화시키기 위해 계획된 바이패스외과수술 또는 그 외의 심장외과수술의 건강상의 이점은 본 발명의 조성물 및 방법의 부수적인 이용을 증가시킬 것이다. 초음파나 레이저 같이 담석을 제거하는 방법 또한 본 발명의 치료방법을 사용하기 전이나 사용 중에 또는 그 후에 사용할 수 있다. 더욱이 본 발명의 방법은 골절, 근육손상 치료나 외과수술 또는 무지방 조직 질량을 증가시킴으로써 개선되는 다른 치료법에 대해 보조적으로 사용할 수 있다.

투여량

본 분야의 숙련자는 투여 및 원하는 치료 효과를 관찰함으로써 효과적인 투여량을 알아낼 수 있다. 서방성 제제의 투여량은 주어진 시간 동안 생체내에서 생물학적 활성제의 유효 농도를 얻기 위해 필요한 양이다. 서방성 제제의 투여량 및 바람직한 투여 빈도는 생물학적 활성제의 유형, 원하는 방출 기간, 대상 질병, 원하는 투여 빈도, 피실험 동물의 종 및 다른 요소들에 따라 변화한다. 본자의 제제형은 1 일 당 약 0.10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 100 mg/kg 사이에서 원하는 치료 효과를 얻는 것이 바람직할 것이다.

효과적인 투여량은 진단학적 방법을 일정 시간 사용하여 결정할 수 있다. 실시예를 통하여, 본 발명은 OB 단백질의 투여량을 규정한다. 예를들어, 혈액내(또는 혈장이나 혈청) OB 단백질의 양을 측정하는 진단은 OB 단백질의 내인성 수치를 결정하기 위해 먼저 사용될 수 있다. 이러한 진단학적 방법은 항체 샌드위치 분석과 같은 항체 분석 형태에서 나타날 수 있다. 내인성 OB 단백질의 양이 초기에 정량되고, 기준선이 결정된다. 내인성 및 외인성 OB 단백질(즉, 자가 생성되거나 투여된 것이 체내에서 발견된 단백질, 유사체 또는 유도체)을 정량하여 결정된 치료학적 투여량은 치료 과정 전반에 걸쳐 지속된다. 예를들어, 초기부터 치료 효과가 보일때까지는 비교적 고 투여량이 필요하지만, 그 이후에는 치료 효과를 지속하기 위한 저 투여량이 사용된다.

재료 및 방법

재료. 알긴산 나트륨 형태의 알긴산은 본 분야에서 잘 알려진 원에서 찾을 수 있다. OB 단백질 및 GCSF는 양전 인코포레이티드로부터 구입한다. 그 외의 화학물질은 본 분야에서 잘 알려진 원에서 얻는다.

알긴산 히드로겔 입자/비드 제조. 단백질 함유 및 비함유 알긴산 히드로겔 입자 및 비드의 제조는 본원에서 참고문헌으로 인용한 공동-계류중인 미국 출원 번호 제 08/842,756 호에 자세히 기술되어 있다.

지속성 겔 제조. 단백질 함유 및 비함유 지속성 알긴산 히드로겔의 제조는 본원에서 각각 참고문헌으로 인용한 공동-계류중인 미국 출원 번호 제 08/857,913 호 및 제 08/912,902 호에 자세히 기술되어 있다.

다음의 실시예들은 발명을 좀 더 완전하게 설명하기 위한 것이지만, 발명의 범위를 한정하려는 의도는 아니다. 더욱이, 상기 명세서 또는 하기 실시예와 관련하여, 본 분야의 숙련자는 대규모 생산을 위하여 필요에 따라 명세서에 변형을 할 수 있을 것이다.

실시예

실시예 1

하기의 실시예는 본 발명에 사용되는 알긴산 에스테르류의 제조를 기술한다.

제조 A : 알긴산 테트라부틸암모늄(TBA).

술폰산 수지(바이오-래드에서 입수, AG MP-50)는 실온에서 배치 방법(batch method)을 사용하여 수산화 테트라부틸암모늄(알드리치에서 입수)으로 처리함으로써 테트라부틸암모늄(TBA) 형태로 전환된다. 800 ml의 증류수에 10 g의 알긴산 나트륨 염이 용해된 용액에 테트라부틸암모늄 염 형태에 용해된 술폰산 수지(바이오-래드에서 입수, AG MP-50) 60 ml를 첨가한다. 혼합물을 0.5 시간 동안 실온에서 교반한다. 여과액에 용해된 알긴산 테트라부틸암모늄을 냉동-건조하여 분리하고(산출량, 16.8 g) ^1H NMR로 확인한다.

제조 B : 부분 에스테르화된 알긴산 에틸 에스테르, 에스테르화의 정도(DE) = 30 mol %.

알긴산 테트라부틸암모늄(6 g, 14.4 mmol TBA 유닛)을 실온에서 500 ml의 디메틸 술폰(DMSO)에 용해시킨다. 그런다음 요오드에탄(알드리치에서 입수, 673 mg, 4.3 mmol)을 첨가한다. 혼합물을 15 시간 동안 30 °C에서 교반한 다음 실온으로 냉각시킨다. TBA를 나트륨 염으로 완전히 전환하기 위하여 이 용액에 20 ml의 물에 2 g의 NaCl이 용해된 용액을 천천히 첨가한다. 15 - 30 분을 교반한 후, 용액을 1500 ml의 아세트산 에틸로 천천히 부어 넣는다. 여과하여 침전물을 수집하고 아세톤/물(8 : 1 v/v)로 세 번 세척하고 아세톤으로 세 번 세척한 다음 진공에서 건조시킨다. 화합물을 증류수(~100 ml)에 재용해시키고 0 °C에서 0.2 % NaHCO_3 를 사용하여 pH를 ~6.5로 조정한다. 그런다음 용액을 4 °C에서 증류수에 대해 밤새 투석하고(MW 컷-오프 8000) 냉동-건조시킨다. 부분적인 에스테르의 산출량은 2.8 g이고 에스테르화의 정도는 30 +/- 1 %이다(^1H NMR, 내부 표준으로 말레이미드를 사용).

제조 C : 완전 에스테르화된 알긴산 에틸 에스테르 및 부분 에스테르화된 알긴산 에틸 에스테르, DE = 100 %, 50 %, 20 %, 10 % 및 5 %.

이 화합물의 제조는 원하는 에스테르화 정도에 도달하기 위해 첨가되는 요오드에탄의 양이 조정되는 것을 제외하고는 제조 B에 기술된 것과 유사하다.

제조 D : 부분 에스테르화된 알긴산 프로필, 헥실, 옥틸 및 도데실 에스테르.

제조방법은 상기 제조 B 및 C에 기술된 것과 유사하지만, 요오드에탄을 각각 1-요오드프로판, 1-요오드헥산, 1-요오드옥탄 또는 1-요오드데칸으로 치환한다.

제조 E : 부분 에스테르화된 알긴산 벤질 에스테르, DE = 30 %.

알긴산 테트라부틸암모늄(2.5 g, 5.99 mmol TBA 유닛)을 실온에서 ~ 200 ml 의 DMSO 에 용해시킨다. 브롬화 벤질(알드리치에서 입수, 307 mg, 1.8 mmol)과 TBA 요오드화물(알드리치에서 입수, 30 mg)을 첨가한다. 혼합물을 30 °C 에서 15 시간 동안 교반한 다음 실온으로 냉각시킨다. TBA 를 나트륨 염으로 완전히 전환하기 위하여 이 용액에 10 ml 의 물에 0.6 g 의 NaCl 이 용해된 용액을 천천히 첨가한다. 15 - 30 분을 교반한 후, 용액을 500 ml 의 아세트산 에틸로 천천히 부어 넣는다. 여과하여 침전물을 수집하고 아세톤/물(8 : 1 v/v)로 세 번 세척하고 아세톤으로 세 번 세척한 다음 진공에서 건조시킨다. 화합물을 증류수(~ 60 ml)에 재용해시키고 0 °C 에서 0.2 % NaHCO₃ 를 사용하여 pH 를 ~ 6.5 로 조정한다. 다음, 4 °C 에서 증류수에 대해 방출 투석한다(MW 컷-오프 8000). 부분적인 에스테르의 산출량은 1.3 g 이고 에스테르화의 정도는 30 +/- 1 % (¹H NMR, 내부 표준으로 말레이미드를 사용).

제조 F : 다른 DE 를 지니는 완전 에스테르화된 알긴산 벤질 에스테르 및 부분 에스테르화된 알긴산 벤질 에스테르.

이 화합물의 제조는 원하는 에스테르화 정도에 도달하기 위해 첨가되는 브롬화 벤질과 TBA 요오드화물의 양이 조정되는 것을 제외하고는 제조 E 에 기술된 것과 유사하다.

실시예 2

하기의 실시예는 알긴산 에틸 에스테르(DE = 15 mol % 및 10 mol %) 겔을 함유하는 단백질 약물(렙틴)의 제조 및 이 겔로부터의 시험관내 서방성 실험을 보여준다.

렙틴(100 mg/ml ; 10 mM 트리스 HCl, pH 8.8 ; 1M NaOH 으로 8.0 - 8.8 로 조정된 pH)과 알긴산 에틸 에스테르(15 mol %, 10 mM 트리스 HCl, pH 8.6)를 얼음 중탕에서 냉각시킨다. 렙틴(0.5 ml)을 6 % 알긴산 에틸 에스테르(0.18 ml)에 첨가하고 혼합물을 10 - 15 분 동안 얼음 중탕에서 교반한다 ; 최종 pH 는 8.6 - 8.8 이다. 이 혼합물에 1M CaCO₃ (16 μl)의 현탁액을 첨가하고, 결과적으로 생성된 현탁액을 잘 혼합한다. 이 현탁액에 0.1 M ZnCl₂ (100 μl) 용액을 교반하며 점적하여 첨가한다 ; 그런다음 물을 1ml 부피를 맞추기 위해 첨가한다. 혼합물을 완전하게 혼합하고 10 - 20 분 동안 얼음 중탕에 둔다. 그런 다음 1.68 M δ-글루코노락톤(알드리치에서 입수, 56 μl) 용액을 이 혼합물에 첨가하여 완전하게 교반한다. 최종 혼합물(50 mg/ml 렙틴, 1 % 알긴산 에틸 에스테르 ; 0.1 ml)을 에펜도르프 튜브의 안쪽에 넣고 4 °C 에서 방출 두어 겔이 되게 한다. 방출 저장 후, pH 7.4 의 10 mM 히스티딘 완충액에서 시험관내 방출 실험을 실시한다. 15 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 캐스트 겔(cast gel)은 최소한의 방출(burst)을 나타내고, 6 일내 60 % 방출을 보이는 매우 일정한 렙틴 방출을 나타낸다. 10 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 캐스트 겔은 최소한의 방출을 나타내고, 6 일내 55 % 방출을 보이는 매우 일정한 렙틴 방출을 나타낸다.

실시예 3

하기의 실시예는 알긴산 핵심 에스테르(DE = 15 mol % 및 10 mol %) 겔을 함유하는 단백질 약물(렙틴)의 제조 및 이 겔로부터의 시험관내 서방성 실험을 보여준다.

본 실시예는 알긴산 에틸 에스테르를 제외하고는 실시예 2 에 기술된 것과 유사한 방법으로 수행된다.

15 mol % 및 10 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 알긴산 핵심 에스테르 겔은 최소한의 방출을 나타내고, 6 일내 50 % 방출을 보이는 서방성을 나타낸다.

실시예 4

하기의 실시예는 알긴산 에틸 에스테르(DE = 15 mol %) 겔을 함유하는 단백질 약물(Zn-렙틴)의 제조 및 이 겔로부터의 시험관내 서방성 실험을 보여준다.

4 % (w/v) 알긴산 에틸 에스테르(15 mol %, 0.75 ml) 용액에 pH 8.0 의 1M 트리스 HCl (7.5 μl), pH 6.8 의 0.5 M PIPES (33 μl) 및 0.1 M ZnCl₂ (8.5 μl)를 첨가한다. 혼합물을 잘 교반한다. 이 용액에 Zn-렙틴 현탁액 (100 mg/ml, 675 μl)을 첨가하고, 혼합물을 완전하게 교반한다. 그런다음 1 M CaCO₃ (24 μl) 현탁액과 1.68 M δ-글루코노락톤(70 μl) 용액을 이 혼합물에 첨가하여 완전하게 교반한다. 최종 혼합물(0.1 ml)을 에펜도르프 튜브의 안쪽에 넣고 4 °C 에서 방출 두어 겔이 되게 한다. 방출 저장 후, pH 7.4 의 10 mM 히스티딘 완충액에서 시험관내 방출 실험을 실시한다. 15 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 알긴산 에틸 에스테르 캐스트 겔은 방출을 거의 나타내지 않고, 4 일내 65 % 방출을 보이는 지속적인 렙틴 방출을 나타낸다.

실시예 5

하기의 실시예는 알긴산 에틸 에스테르(DE = 30 mol %) 겔을 함유하는 단백질 약물(GCSF)의 제조 및 이 겔로부터의 시험관내 서방성 실험을 보여준다.

2.39 % 알긴산 에틸 에스테르(30 mol %, 0.50 ml) 용액에 0.1M 아세트산염 완충액(pH 4.5, 100 μl), GCSF (104 μl, 48.2 mg/ml, pH 3 의 HCl) 및 증류수(246 ml)를 첨가한다. 혼합물을 잘 교반한다. 1M CaHPO₄ (10 μl) 현탁액과 1.68 M δ-글루코노락톤(40 μl) 용액을 이 혼합물에 첨가하여 완전하게 교반한다. 최종 혼합물(0.2 ml)을 에펜도르프 튜브 안쪽에

넣고 4 °C 에서 밤새 두어 겔이 되게 한다. 겔을 밤새 저장 후, pH 7.5 의 10 mM 트리스 완충액에서 시험관내 방출 실험을 실시한다. 30 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 알긴산 에틸 에스테르 캐스트 겔은 5 % 이하의 방출을 나타내고, 1 일내 20 % 방출 및 2 일내 40 % 방출을 보이는 서방성을 나타낸다.

실시에 6

하기의 실시예는 알긴산 벤질 에스테르(DE = 30 mol %) 겔을 함유하는 단백질 약물(GCSF)의 제조 및 이 겔로부터의 시험관내 서방성 실험을 보여준다.

본 실시예는 알긴산 에틸 에스테르 대신 알긴산 벤질 에스테르를 사용하는 것을 제외하고는 실시예 5 에 기술된 것과 유사한 방법으로 수행된다. 알긴산 에스테르 겔을 밤새 저장한다. 30 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 알긴산 벤질 에스테르 겔은 5 % 이하의 방출을 나타내고, 1 일내 40 % 방출 및 2 일내 80 % 방출을 보이는 서방성을 나타낸다.

실시에 7

본 실시예는 알긴산 에틸 에스테르 비드(beads)의 제조를 보여준다.

겔 비드는 100 mM 염화칼슘 용액(증류수 또는 1 M 트리스 HCl pH 7.0 완충액)에 2 % 알긴산 에스테르 용액을 점적하여 첨가함으로써 제조된다. 형성된 비드를 증류수 또는 완충액으로 세척한다. 비드는 30 mol % 또는 50 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 것을 사용하여 제조된다.

실시에 8

본 실시예는 알긴산 에스테르 비드를 함유하는 렙틴의 제조를 보여준다.

비드는 100 mM 염화칼슘 및 25 mM 염화아연 용액에 2 % 알긴산 에틸 에스테르(트리스 HCl, pH 8.7)에 용해된 25 mg/ml 렙틴 용액을 점적하여 첨가함으로써 제조된다. 비드는 30 mol % 의 에스테르화 정도를 지니는 것을 사용하여 제조된다. 비드로 시험관내 지속적인 렙틴 방출 실험을 실시한다.

실시에 9

본 실시예는 생리학적 중성 pH 에서 완충액내 알긴산 에스테르의 분자량 붕괴(breakdown)(또는 분해)를 보여준다.

알긴산 에스테르(1 % 용액)를 인산염 완충액(0.1 M 인산나트륨, pH 6.8) 또는 0.1 M 트리스 완충액(pH 7.0)에 용해시키고 37 °C 에서 항온한다. 분자량 붕괴는 선택된 시간 간격으로 용액내 점성도 감소를 측정함으로써 결정된다. 변성되지 않은 알긴산 나트륨은 점성도가 8 일내 단지 5 % 감소하여 비교적 안정하게 나타난다 ; 그러나 알긴산 에틸 및 벤질 에스테르(DE = 30 mol %)는 동일한 완충액에서 8 일내 점성도가 35 % 로 떨어진다. 또한 알긴산 에스테르의 분해량은 에스테르화 정도에 의존한다. 예를들어, 에스테르화 정도가 낮은(DE = 15 mol %) 에틸 에스테르는 8 일내 점성도가 25 % 로 감소한다. 그러므로 분자량 붕괴는 에스테르화 정도에 직접적으로 관련된다.

실시에 10

본 실시예는 단백질을 함유하지 않는 알긴산 에스테르 히드로겔 및 단백질을 함유하는 알긴산 에스테르 히드로겔의 생체내 분해(또는 점차적인 소실)를 보여준다.

알긴산 에스테르 겔은 실시예 3 에 기술된 것과 유사한 방법으로 제조되지만 최종 혼합물을 주사기내에 넣어 밤새 4 °C 에 두어 주사기내에서 겔이 되게 한다. 그런다음 100 μ l 의 겔을 마우스(찰스 리버에서 입수, 12 주된 암컷, BDF1, 20 g, 그룹 당 5 마리 마우스)의 목 뒷편에 피하 주사하고 주사부위(site)를 그룹의 다른 멤버들에 대해 주기적으로 외과적으로 검사한다.

DE = 30 mol % 를 지니는 알긴산 에틸 에스테르 및 벤질 에스테르를 사용하면, 단일 주사 부위 연구의 결과는 2 주내에 알긴산 에스테르 히드로겔이 사라지는 것을 보여준다. DE = 15 mol % 를 지니는 알긴산 에틸 에스테르 겔을 사용하면, 겔은 30 일 및 61 일에 여전히 존재하지만 크기는 감소한다. DE = 5 mol % 를 지니는 알긴산 에틸 에스테르를 사용하면, 겔은 30 일 및 61 일에 여전히 크기의 감소가 거의 없이 존재한다. 치환되지 않은 알긴산 나트륨을 사용하면, 겔은 61 일 내내 비교적 변화없이 남아있다.

알긴산 에스테르 겔의 소실율은 단백질을 함유하는 것이나 함유하지 않는 것이나 유사하다.

실시에 11

본 실시예는 알긴산 에스테르 히드로겔을 함유하는 렙틴에 대한 랫에서의 체중 감소 및 약물 동력학 데이터를 제공한다.

알긴산 에틸 에스테르 겔은 실시예 4 에 기술된 것과 유사한 방법으로 제조되지만 최종 혼합물을 주사기에 넣어 밤새 4 °C 에 두어 주사기내에서 겔이 되게 한다. 0 mg/kg (대조) 및 100 mg/kg 의 투여량으로 농축과를 랫에게 투여한 다음, 혈액 수준과 체중 감소를 7 일 동안 측정한다.

결과는 다음과 같다 : DE = 5 mol % 를 지니는 알긴산 에틸 에스테르는 3 일 동안 ~ 2000 ng/ml 의 안정된 혈액 수준을 보이다가, 다음의 3 - 4 일 동안에는 2 ~ 3 ng/ml 로 저하된다 ; DE = 15 mol % 를 지니는 알긴산 에틸 에스테르는 2 일 동안 ~ 2000 ng/ml 의 안정된 혈액 수

준을 보이다가, 5 일째에 2 - 3 ng/ml 로 저하된다 ; DE = 30 mol % 를 지니는 알긴산 에스테르는 1 일 동안 ~ 2000 ng/ml 의 혈액 수준을 보이다가, 4 일째에 2 - 3 ng/ml 로 감소한다 ; Zn-렙틴 현탁액의 혈액 수준은 12 시간에서 피크를 보인다음, 6 일째에 1 - 2 ng/ml 로 감소한다. 모든 동물들은 Zn-렙틴의 활성을 나타내는 체중 감소를 보여준다. 또한, 알긴산 에틸 에스테르 겔(DE = 5 mol % 및 15 mol %)에 Zn-렙틴을 혼합한 것은 Zn-렙틴의 곡선 하면적(the area under the curve ; AUC)을 거의 배로 늘리고, 이는 생체내 이용효율의 배가(doubling)를 시사하며 ; 알긴산 에틸 에스테르 겔의 사용은 AUC 에 기초하는 Zn-렙틴과 유사한 생체내 이용효율을 보인다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

다음을 포함하는, 생분해가능하며 지속 효과를 갖는 서방성 겔 조성물 :

- a) 친수성 중합체 ;
- b) 생물학적 활성제 ; 및
- c) 적어도 하나의 결합 다가 금속 이온.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 결합 다가 금속 이온이 결합 및 비결합 다가 금속 이온의 혼합물임을 특징으로 하는 서방성 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 생물학적 활성제 또는 친수성 중합체를 안정화시키는 부형제를 더 포함함을 특징으로 하는 지속 효과를 갖는 서방성 겔.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 결합 다가 금속 이온은 아세트산염, 인산염, 락트산염, 타르타르산염, 시트르산염, 염산염, 탄산염 또는 그것의 수산화물 중에서 선택한 염임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 5

제 4 항에 있어서, 금속 이온은 망간, 스트론튬, 철, 마그네슘, 칼슘, 바륨, 구리, 알루미늄 또는 아연 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 6

제 5 항에 있어서, 금속 이온이 칼슘임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서, 프로톤 공여체가 산원(acid source)에서 유래함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 8

제 7 항에 있어서, 산원은 완충액, 에스테르, 서서히 용해되는 산 또는 락톤 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 9

제 1 항에 있어서, 친수성 중합체가 다가 음이온임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 10

제 1 항에 있어서, 친수성 중합체가 다당류임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 11

제 10 항에 있어서, 다당류가 산성 다당류임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 다당류가 알긴산임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 알긴산이 적어도 30 % 의 굴루론산을 함유함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 14

제 12 항에 있어서, 알긴산이 적어도 중량의 0.05 % 로 함유됨을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제 1 항에 있어서, 생물학적 활성제가 단백질을 함유하고, 조성물은 개선된 생체내 이용효율을

나타냄을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

제 15 항에 있어서, 단백질이 적어도 0.001 mg/ml 함유됨을 특징으로 하는 조성물.

청구항 17

제 15 항에 있어서, 단백질은 조혈 인자, 군체 자극 인자, 항-비만 인자, 성장 인자, 영양 인자 및 항염증성 인자 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 18

제 15 항에 있어서, 단백질은 다음 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물 : 렙틴, G-CSF, SCF, BDNF, GDNF, NT3, GM-CSF, IL-1ra, IL2, TNF-bp, MDGF, OPG, 인터페론, 에리트로포이에틴, KGF, 인슐린 및 그것의 유사체 또는 유도체.

청구항 19

제 1 항에 있어서, 생물학적 활성제가 복합된 생물학적 활성제임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 20

제 19 항에 있어서, 복합된 생물학적 활성제가 침전된 단백질을 특징으로 하는 조성물.

청구항 21

제 20 항에 있어서, 침전된 단백질이 아연 렙틴 침전물임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 22

다음과 같은 단계를 포함하는, 생분해가능하며 지속 효과를 갖는 서방성 겔 조성물의 제조방법 :

- 생물학적 활성제와 용매내의 친수성 중합체를 혼합하여 첫번째 혼합물 형성 ; 및
- 적어도 하나의 결합 다가 금속 이온을 첫번째 혼합물에 혼합하여 두번째 혼합물 형성.

청구항 23

제 22 항에 있어서, c) 결합 다가 금속 이온을 방출할 수 있는 적어도 하나의 프로톤 공여체를 두번째 혼합물에 혼합하는 단계를 더 포함함을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 24

제 22 항에 있어서, 첫번째 혼합물을 프로톤 공여체 또는 결합 다가 금속 이온을 혼합하기 전에 농축함을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 25

제 22 항에 있어서, 결합 다가 금속 이온은 아세트산염, 인산염, 락트산염, 시트르산염, 타르타르산염, 염산염, 탄산염 또는 그것의 수산화물 중에서 선택한 염임을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 26

제 22 항에 있어서, 상기 방법은 생물학적 활성제의 실질적으로 일정한 혈액 수준을 일정 기간 동안 환자에게 제공함을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 27

제 24 항에 있어서, 금속 이온은 망간, 스트론튬, 철, 마그네슘, 칼슘, 바륨, 구리, 알루미늄 또는 아연 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 28

제 26 항에 있어서, 금속 이온이 칼슘임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 29

제 23 항에 있어서, 프로톤 공여체가 산원에서 유래함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 30

제 28 항에 있어서, 서서히 용해되는 산은 완충액, 에스테르, 서서히 용해되는 산 또는 락톤 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 31

제 29 항에 있어서, 산원은 δ -글루코노락톤임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 32

제 22 항에 있어서, 친수성 중합체가 다가 음이온임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 33

제 22 항에 있어서, 친수성 중합체가 다당류임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 34

제 32 항에 있어서, 다당류가 산성 다당류임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 35

제 33 항에 있어서, 다당류가 알긴산임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 36

제 34 항에 있어서, 알긴산이 적어도 30 %의 굴루론산을 함유함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 37

제 34 항에 있어서, 알긴산이 적어도 중량의 0.05 %로 함유됨을 특징으로 하는 조성물.

청구항 38

제 22 항에 있어서, 생물학적 활성제가 단백질을 함유함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 39

제 37 항에 있어서, 단백질이 적어도 0.001 mg/ml 함유됨을 특징으로 하는 조성물.

청구항 40

제 37 항에 있어서, 단백질은 조혈 인자, 군체 자극 인자, 항-비만 인자, 성장 인자, 영양 인자 및 항염증성 인자 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 41

제 37 항에 있어서, 단백질은 다음 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물 : 렙틴, G-CSF, SCF, BDNF, GDNF, NT3, GM-CSF, IL-1ra, IL2, TNF-bp, MDGF, OPG, 인터페론, 에리트로포이에틴, KGF 및 그것의 유사체 또는 유도체.

청구항 42

제 22 항에 있어서, 생물학적 활성제가 복합된 생물학적 활성제임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 43

제 41 항에 있어서, 복합된 생물학적 활성제가 침전된 단백질을 특징으로 하는 조성물.

청구항 44

제 42 항에 있어서, 침전된 단백질이 아연 렙틴 침전물임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 45

제 22 항에 있어서, 서방성 조성물을 분리시키는 단계를 더 포함함을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 46

제 22 항 또는 제 44 항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해 제조한 서방성 산물.

청구항 47

제약학적으로 용인가능한 담체, 희석제 또는 보조제를 포함하고 있는 제 1 항, 제 2 항, 제 3 항 또는 제 45 항의 서방성 조성물을 포함하는 제약학적 제제형.

청구항 48

제 46 항에 있어서, 제제형이 주사기내에 존재함을 특징으로 하는 제약학적 제제형.

청구항 49

제약학적으로 용인가능한 담체, 희석제 또는 보조제를 포함하는 제 1 항, 제 2 항, 제 3 항 또는 제 45 항의 서방성 조성물을 이용하여 질병의 징후를 치료하는 방법.

청구항 50

제약학적으로 용인가능한 담체, 희석제 또는 보조제 및 생물학적 활성제로 렙틴 또는 그것의 유사체나 유도체를 포함하는 제 1 항, 제 2 항, 제 3 항 또는 제 45 항의 서방성 조성물을 이용하여 다음 중에서 선택한 질환을 치료하는 방법 : 과체중, 당뇨병, 혈액내 고지질 수준, 동맥경화증, 동맥플라크, 암석 형성의 감소 또는 예방, 부적절한 무지방 조직 중량,

부적절한 인슐린 감수성 및 발작.

청구항 51

제약학적으로 용인가능한 담체, 희석제 또는 보조제 및 생물학적 활성제로 G-CSF 또는 그것의 유사체나 유도체를 포함하는 제 1 항, 제 2 항, 제 3 항 또는 제 45 항의 서방성 조성물을 이용하여 조혈세포 결핍증, 감염 및 호중구감소증 중에서 선택한 질환을 치료하는 방법.

청구항 52

제약학적으로 용인가능한 담체, 희석제 또는 보조제 및 생물학적 활성제로 IL-1ra 또는 그것의 유사체나 유도체를 포함하는 제 1 항, 제 2 항, 제 3 항 또는 제 45 항의 서방성 조성물을 이용하여 염증을 치료하는 방법.

청구항 53

생분해가능한 겔 미립자 형태이며, 생물학적 활성제가 친수성 중합체내에 공동-침전됨을 특징으로 하는 다음을 포함하는 서방성 조성물 :

- a) 친수성 중합체 ;
- b) 생물학적 활성제 ; 및
- c) 적어도 하나의 침전제.

청구항 54

제 52 항에 있어서, 침전제는 다가 금속 이온 또는 그의 염, 아세트산염, 시트르산염, 염산염, 탄산염 또는 그것의 수산화물 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 55

제 53 항에 있어서, 금속 이온은 망간, 스트론튬, 철, 마그네슘, 칼슘, 바륨, 알루미늄 또는 아연 중에서 선택함을 특징으로 하는 조성물.

청구항 56

제 54 항에 있어서, 침전제는 아연, 칼슘 또는 그것의 조합 중에서 선택한 다가 이온임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 57

제 52 항에 있어서, 친수성 중합체가 다당류임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 58

제 56 항에 있어서, 다당류가 알긴산임을 특징으로 하는 조성물.

청구항 59

다음과 같은 단계를 포함하는, 서방성 조성물의 제조방법 :

- a) 생물학적 활성제와 친수성 중합체를 용매로 용해하여 첫번째 혼합물 형성 ;
- b) 용매내 적어도 하나의 침전제를 용해하여 두번째 혼합물 형성 ;
- c) 첫번째 혼합물에 두번째 혼합물 첨가 ; 및
- d) 생물학적 활성제와 친수성 중합체가 공동-침전하여 공동-침전된 생분해가능한 겔 미립자 형성.

청구항 60

제 58 항에 있어서, 공동-침전된 미립자를 분리시키는 단계를 더 포함함을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 61

제 59 항의 제조방법에 의해 제조한 서방성 산물.

청구항 62

제약학적으로 용인가능한 담체, 희석제 또는 보조제를 포함하는 제 52 항의 제약학적 제제형.

청구항 63

제약학적으로 용인가능한 담체, 희석제 또는 보조제를 포함하는 제 52 항의 서방성 조성물을 이용하여 질병의 징후를 치료하는 방법.