



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년07월11일
 (11) 등록번호 10-0845769
 (24) 등록일자 2008년07월07일

(51) Int. Cl.
A61K 9/16 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2001-7009860
 (22) 출원일자 2001년08월03일
 심사청구일자 2005년02월02일
 번역문제출일자 2001년08월03일
 (65) 공개번호 10-2001-0101994
 (43) 공개일자 2001년11월15일
 (86) 국제출원번호 PCT/GB2000/000349
 국제출원일자 2000년02월03일
 (87) 국제공개번호 WO 2000/45792
 국제공개일자 2000년08월10일
 (30) 우선권주장
 60/118,334 1999년02월03일 미국(US)
 (56) 선행기술조사문헌
 US 5,630,796
 EP 357,401
 전체 청구항 수 : 총 22 항

(73) 특허권자
파우더젝트 리서치 리미티드
 영국, 옥스포드 옥엑스4 4지에이, 더 옥스포드 사
 이언스 파크, 4 로버트 로빈슨 애비뉴
 (72) 발명자
바바라에이치.오코너
 미합중국94555
 캘리포니아주프레몬트둠바톤서클6511
테리리벨코스
 미합중국94555
 캘리포니아주프레몬트둠바톤서클6511
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
이한영

심사관 : 여경숙

(54) 하이드로겔 입자 제제

(57) 요약

본 발명은 활성 물질과 하이드로겔 담체의 결합에 의해 제조된 신규한 조성물을 제공한다. 조성물은 고속경피입자주사 기술에 이용되기에 적합하다. 또한, 본 발명은 신규한 조성물을 제조하는 방법을 제공하며, 약학적으로 활성인 물질을 개체에 투여하는 방법을 추가적으로 제공한다. 이들 방법은 약품, 생약제, 백신, 및 진단제의 전달에 유용하다.

(72) 발명자

스티븐조셉프레스트렐스키

미합중국94555캘리포니아주프렘몬트둠바톤서클6511

유-핀마

미합중국94555캘리포니아주프렘몬트둠바톤서클6511

앤드류머들

영국6이제이옥스옥스7칩튼-

언더워치우드시넬스필드41

로드니하프너

영국4지에이옥스포드옥스4옥스포드사이언스파크로

버트슨애비뉴4

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르키즈스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 탄자니아, 남아프리카

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르키즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우

특허청구의 범위

청구항 1

무바늘 주사기로부터 경피로 전달됨에 의하여 환자를 치료하는데 사용하기 위한, 약학적으로 활성을 갖는 물질이 적재된 평균 크기의 공기역학적 지름(aerodynamic diameter)이 0.1 내지 250 μm 이고, 외피(envelop) 밀도는 0.1 내지 25g/cm³인 분말형 하이드로겔의 입자를 포함하는, 약제 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서,
 상기 입자(particle)의 평균 크기의 공기역학적 지름(aerodynamic diameter)이 10 내지 100 μm 인 것을 특징으로 하는
 약학 조성물.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서,
 상기 입자의 외피(envelop) 밀도는 0.8 내지 1.5g/cm³인 것을 특징으로 하는
 약학 조성물.

청구항 4

제 1항 또는 제 2항에 있어서,
 약학적으로 활성인 물질은 유전자 작제물(gene construct)인 것을 특징으로 하는
 약학 조성물.

청구항 5

제 4항에 있어서,
 상기 유전자 작제물은 프로모터(promoter)와 작동가능하게 연결된, 항원(antigen)을 암호화하는 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는
 약학 조성물.

청구항 6

제 1항 또는 제 2항에 있어서,
 약학적으로 활성인 물질은 항원인 것을 특징으로 하는
 약학 조성물.

청구항 7

제 1항 또는 제 2항에 있어서,
 상기 하이드로겔은 아가로스(agarose) 또는 덱스트란(dextran)인 것을 특징으로 하는
 약학 조성물.

청구항 8

제 7항에 있어서,
 상기 하이드로겔은 아가로스이고, 약제의 입자는 부형제(excipient)로서 덱스트란을 추가로 포함하는 것을
 특징으로 하는

약학 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

하기의 단계를 포함하는, 분말형 약제 조성물을 제조하는 방법:

(a) 미리 형성된 하이드로겔 입자를 제공하는 단계;

(b) 상기 하이드로겔 입자와 약학적으로 활성을 갖는 물질이 회합하여 상기 약학적으로 활성을 갖는 물질이 하이드로겔 입자 내로 함유되도록, 상기 하이드로겔 입자를 약학적으로 활성을 갖는 물질을 포함하는 수용성 조성물과 접촉시키는 단계;

(c) 수용성 조성물로부터 하이드로겔 입자를 분리하여, 일부 또는 전부를 건조시키면서, 상기 활성을 갖는 물질이 최초로 적재된 하이드로겔 입자를 수득하는 단계;

(d) 활성을 갖는 물질이 최초로 적재된 하이드로겔 입자를 상기 약학적으로 활성을 갖는 물질을 포함하는 수용성 조성물과 접촉시킴으로써, 하이드로겔 입자와 추가적인 물질이 회합하여 상기 약학적으로 활성을 갖는 물질이 하이드로겔 입자 내로 함유되는 단계;

(e) 수용성 조성물로부터 단계 (d)에서 형성된 하이드로겔 입자를 분리하여, 일부 또는 전부를 건조시키면서, 상기 활성을 갖는 물질이 2차 적재된 하이드로겔 입자를 수득하는 단계; 및,

(f) 활성을 갖는 물질이 2차 적재된 하이드로겔 입자를 건조함으로써 분말형 약제 조성물을 수득하는 단계.

청구항 14

제 13항에 있어서,

단계 (f)에 앞서, 단계 (e)에서 형성된 2차 적재된 하이드로겔 입자를 상기 약학적으로 활성을 갖는 물질을 포함하는 수용성 조성물과 한번 또는 그 이상의 회수로 접촉시킴으로써, 하이드로겔 입자와 약학적으로 활성을 갖는 물질이 추가로 회합하여 상기 약학적으로 활성을 갖는 물질이 하이드로겔 입자 내로 함유되는 것을 특징으로 하는

분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 15

제 13항에 있어서,

단계 (d)는, 단계 (c)에서 형성된 1차 적재된 하이드로겔 입자를 상기 약학적으로 활성을 갖는 물질을 포함하는 수용성 조성물과 한번 또는 그 이상의 회수로 접촉시킴으로써, 하이드로겔 입자와 약학적으로 활성을 갖는 물질이 추가로 회합하여 상기 약학적으로 활성을 갖는 물질이 하이드로겔 입자 내로 함유되는 단계; 및, 일부 또는 전부를 건조시키면서, 수용성 조성물로부터 하이드로겔 입자를 한번 또는 그 이상의 회수로 분리시킴으로써, 내부에 적재된 상기 활성을 갖는 물질을 가지는 적재된 하이드로겔 입자를 수득하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는

분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 16

제 13항 내지 15항의 어느 한 항에 있어서,
단계 (b)에서 하이드로겔 입자는 수용성 조성물과 건조 상태로 접촉하는 것을 특징으로 하는
분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 17

제 13항 내지 15항의 어느 한 항에 있어서,
단계 (b)에서 하이드로겔 입자는 수용성 조성물과 미리 수화된(pre-hydrated) 상태로 접촉하는 것을 특징으로 하는
분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 18

제 13항 내지 15항의 어느 한 항에 있어서,
상기 하이드로겔 입자는 아가로스, 텍스트란, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리부틸렌테레프탈레이트 입자, 셀룰로오스, 키틴, 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 폴리비닐알코올을 포함하는 것을 특징으로 하는
분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 19

제 13항 내지 15항의 어느 한 항에 있어서,
상기 활성을 갖는 물질은 분말형 약학 조성물 내에 조성물의 0.1 내지 85중량%의 함량으로 존재하는 것을 특징으로 하는
분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 20

제 13항 내지 15항의 어느 한 항에 있어서,
상기 분말형 약학 조성물은 동결-건조(freeze-drying) 단계를 이용하여 형성되는 것을 특징으로 하는
분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 21

제 13항 내지 15항의 어느 한 항에 있어서,
상기 분말형 약학 조성물은 분무-건조(spray-drying) 단계를 이용하여 형성되는 것을 특징으로 하는
분말형 약학 조성물을 제조하는 방법.

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

제 1항 또는 제 2항에 개시된 하이드로겔 입자가 적재된 무바늘 주사기.

청구항 40

제 1항 또는 제 2항에 개시된 봉입된 하이드로겔 입자가 들어있고, 무바늘 주사기 안에 꼭 맞아서, 상기 주사기로부터 상기 입자를 전달하도록 무바늘 주사기를 작동시킬 때 파괴되도록 고안된, 밀폐된 봉인 용기.

청구항 41

제 40항에 있어서,

와셔(washer)-모양 공간으로 열 봉합함으로써 자가 봉입단위체(self-contained sealed unit)를 형성하는 두 개의 파열가능한(rupturable) 폴리머 막을 포함하는 카세트인 것을 특징으로 하는

밀폐된 봉인 용기.

청구항 42

제 40항 또는 제 41항에 있어서,

일회 단위용량 용기(single unit dosage container)인 것을 특징으로 하는

밀폐된 봉인 용기.

청구항 43

제 40항 또는 제 41항에 있어서,

다용량 용기(multidose container)인 것을 특징으로 하는

밀폐된 봉인 용기.

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 전반적으로 미립자성 약제 조성물(pharmaceutical composition)에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 무바늘 주사기 시스템을 이용하는 경피(transdermal) 전달에 적합한 미립자성 약제 조성물 및 전기 조성물을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

<2> 약제 물질(pharmaceutical agent)의 표피로의 전달력 또는 표피를 통과하는 전달(경피 전달)력은 경구 또는 비경구 전달 기술에 비해 많은 장점을 제공한다. 특히, 경피 전달은 전통적인 투여 시스템과는 달리, 경구 전달(예를 들면, 다양한 흡수와 대사 속도, 위장 염증 및/또는 속쓰림, 또는 약품(drug)의 불쾌한 맛) 또는 비경구 전달(예를 들면, 주사의 고통, 처치되는 개체의 감염 위험성, 또는 우연히 쏘인 주사 바늘과 사용한 주사 바늘의 매각에 의해 일어나는 건강 보호 종사자들의 오염 위험성 또는 감염 위험성)과 관련된 많은 문제를 피할 수 있는, 안전하고 편리하며 비침해적인 시스템을 제공한다.

<3> 그러나, 이러한 분명한 장점에도 불구하고, 경피 전달은 본래적인 많은 문제점을 가진다. 피부를 통한 수동적인 전달은 약품을 혈액 또는 림프 시스템으로 진입시키기 위한, 각질층, 다양한 표피, 유두 진피, 모세혈관 벽을 포함하는 구조적으로 다른 다수의 조직을 통한 분자 이동을 필수적으로 수반한다. 그러므로, 경피 전달 시스템은 각 종류의 조직에 나타나는 다양한 내성(resistance)을 극복할 수 있어야만 한다.

<4> 전기에 비추어, 다수의 다른 수동적인 경피 전달법이 발전되어 왔다. 이들 다른 수동적인 경피 전달은 전리 요법(iontophoresis), 전기용출(electroporation), 또는 초음파(ultrasound) 같은 비화학적 모드 뿐만 아니라, 피부 투과성을 증가시키는 피부 침투 강화 물질(skin penetration enhancing agent) 또는 "투과 강화제(permeation enhancer)"의 이용을 포함한다. 그러나, 이들 기술은 종종 피부 염증 또는 피부 감각 같은 그들만의 독특한 부수 효과를 일으킨다. 그러므로, 전통적인 경피 전달 방법에 의해 안전하고 효과적으로 투여될 수 있는 물질의 범위(spectrum)는 여전히 제한되어 있다.

<5> 최근, 피부 또는 경피로 정해진 양의 분말(즉, 약품을 포함하는 고상(solid) 입자)을 분출하는 무바늘 주사기를 이용한 새로운 경피 약물 전달 시스템이 보고되었다. 특히, 벨하우스(Bellhouse) 등의 미국특허번호 5,630,796은 초음속의 가스 순환을 따라 이동할 수 있는 약제 입자를 전달하는 무바늘 주사기를 기술하고 있다. 무바늘 주사기는 분말형 약품 화합물과 조성물을 경피로 전달하기 위해서, 살아있는 세포 내로 유전적 재료(genetic material)를 전달(예를 들면, 유전자 요법)하기 위해, 또한, 피부, 근육, 혈액, 또는 림프로 생약제를 전달하기 위해 이용된다. 또한, 무바늘 주사기는 약품과 생물제제(biologic)를 기관 표면, 고상 종양 및/또

는 외과적 강(surgical cavity, 예를 들면 종양 절제 후의 종양 병상 또는 강)으로 전달하는 외과 수술과 관련되어 이용된다. 이론적으로는, 이러한 장치(device)를 이용하면 고상의 미립자 형태로 제조된 어떤 약제 물질이라도 실제적으로 안전하고 쉽게 전달될 수 있다.

<6> 하이드로겔 조성물은 생약 분야에 잘 알려져 있고, 세포와 조직 배양을 위한 기질, 보철(prosthetic)의 본을 만드는 재료, 상처를 메꾸는 물질, 또는 크기 배제 크로마토그래피 또는 친화성 크로마토그래피의 고체상 재료로서 일반적으로 이용된다. 예를 들면, 변형 및/또는 파생된 비공성(nonporous)의 아가로스 하이드로겔 조성물은 고성능 액체 크로마토그래피와 친화성 크로마토그래피 방법에 이용되어 왔고(참조: Li *et al* (1990) *Preparative Biochem.*20: 107-121), 다공성의 아가로스 하이드로겔 비드(bead)는 소수상호작용(hydrophobic interaction) 크로마토그래피의 지지체(supporter)로서 이용되어 왔다(참조: Gustavsson *et al* (1999) *J. Chromatography*830: 275-284). 약제 분야에 있어서, 하이드로겔 단량체(monomer, 자연적인 또는 합성된)는 일반적으로 약제 조성물(개시자(initiator)와 함께, 때로는 교차 연결된(cross-linking) 물질과 함께)로 첨가되어 중합됨으로써, 하이드로겔 주형(matrix) 내에 객원(guest) 약제를 캡슐화(encapsulation)하게 된다. 이들 기술은 약품을 표적으로 전달하거나 또는 통제가능한 분비 시스템을 위한 미소구체(microsphere) 운반 시스템을 제공할 수 있다. 예를 들면, 교차 연결된 하이드로겔 (Lim *et al* (1980) *Science* 210: 908-910) 또는 항암 물질을 생산하는 암 세포(미국특허번호 5,888,497), 및 생물분해성(biodegradable) 하이드로겔 미소구체가 대부분이 펩타이드와 단백질인 광범위한 약품 조성물을 캡슐화하는데 일반적으로 널리 이용된다(참조: Wang *et al* (1997) *Pharm. Dev. and Technology*2: 135-142). 이러한 응용에서, 특정 하이드로겔 시스템은 객원 세포 또는 약제 물질 (예를 들면, 표적으로의 전달 또는 유지하거나 연장된-분비 약제역학을 제공하기 위한)을 캡슐화하도록 선택된 제제(formulation)에 이용된다.

발명의 상세한 설명

<7> 본 발명은 약학적으로 활성인 물질이 개체, 특히 인간으로 경피 입자 주사되는 하이드로겔 입자와 회합(association)할 수 있다는 발견에 기초하고 있다. 조성물은 약 0.1 내지 250 마이크론의 평균 단면적, 바람직하게는, 약 10 내지 100 마이크론, 즉 10 내지 100 μm 의 공기역학적 지름을 갖는 하이드로겔 입자와의 회합에 적합한 약학적으로 활성인 물질을 함유하는 재료를 포함하는 분말형으로 존재한다.

<8> 조성물은 피부 또는 경피, 예를 들면, 각질층을 가로지르는 또는 경점막의 막(membrane) 내부에 있는 근육 또는 조직으로 그들의 방해 기능을 파괴시키는 조성물을 직접 주사하기에 효과적인 장치와 함께 이용된다. 일반적으로, 이것은 일시적으로 초음속으로 분출되는 헬륨 제트(jet) 내의 입자를 100 내지 3000 m/sec.의 속도로 가속화함으로써 이루어진다. 하이드로겔을 포함하는 약학적인 물질은 약품(즉, 작은 유기 분자), 생약제(즉, 펩타이드, 거대 단백질, 및 올리고뉴클레오티드), 전통적인 백신과 DNA 백신, 및 개체에게 생화학적이고 생리적인 영향을 끼치는 유전자 요법을 포함한다. 그 영향은 처치되는 인간 또는 동물의 질병을 예방 또는 개선하는 것일 수 있다. 본 발명의 장점은 용이한 공정, 활성 물질의 높은 적재량, 및 조성물 내에 고른 크기로 분포하는 입자를 포함한다.

<9> 따라서, 본 발명은 주사에 의해 개체를 치료하기 위한, 하이드로겔을 포함하는 미립자성 약제의 제조에 있어 약학적으로 활성인 물질을 이용하는 방법을 제공한다.

<10> 본 발명은 또한, 주사 투여에 적합한 분말형 약제 조성물을 제조하는 방법을 제공하며, 전기 방법은 다음의 각 단계를 포함한다: (a) 하이드로겔 입자와 약학적으로 활성인 물질을 포함하는 수용성 조성물을 접촉시킴으로써 전기 물질을 입자에 적재하는 단계; (b) 임의로 (optionally), 최소한 부분적인 건조 단계에서, 적재된 하이드로겔 입자를 수용성 조성물로부터 분리하고, 분리된 입자를 전기의 약학적으로 활성인 물질을 포함하는 수용성 조성물과 접촉시킴으로써 전기 물질을 입자에 추가로 적재하는 단계; (c) 단계 (b)를 수행한 다음, 전기 단계를 임의로 한 번 이상 반복하는 단계; (d) 건조 단계에서, 적재된 하이드로겔 입자를 수용성 조성물로부터 분리하는 단계; 및 (e) 분말용 경피주사장치에 적합한 분말형 약제 조성물을 수득하는 단계.

<11> 본 발명의 하나의 실시태양에 따르면, 항원을 암호화하며 발현가능한 유전자 산물이 적재된 하이드로겔을 필수적으로 포함하는 미립자성 약제는 입자 주사에 의해 개체로 전달되는 핵산으로 이용될 수 있으며, 다른 실시태양에 따르면, 미립자성 약제는 입자 주사에 의해 개체로 전달되는 백신으로 이용될 수 있다.

<12> 본 발명의 장점은 약학적으로 활성인 물질을 위한 운반 시스템으로 하이드로겔 입자를 이용함으로써, 전기 물질의 고속입자주사전달성(high-velocity particle injection delivery performance)을 촉진시킬 수 있다는 것이다. 객원 물질의 분비는 전형적으로, 하이드로겔이 수용성 환경으로 전달되었을 때 팽창되는 정도;

결정화된 객원 물질의 용해; 하이드로겔 주형의 교차 연결된 밀도; 하이드로겔 주형으로부터의 활성 물질 확산; 하이드로겔 주형의 분해; 및 그와 유사한 다른 인자(factors)에 의존적일 것이기 때문에, 다수의 전달 프로파일(profile)은 각 객원 물질에 맞추어 쉽게 만들어질 수 있다. 추가적으로, 미리 형성된 하이드로겔 비드에 객원 물질을 적재하는 방법은 고가의 활성 요소를 적재하기에 앞서 하이드로겔 담체의 크기를 미리 분류하는 단계를 포함함으로써, 전형적인 입자 크기 분류 작업에 따른 활성 물질의 손실을 가능한 줄일 수 있다.

<13> 전기 목적들과 다른 목적, 측면, 본 발명의 실시태양과 장점은 당 업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어, 본 명세서에 기술된 바에 의해 용이하게 이해될 수 있는 것이다.

<14> 실시태양의 상세한 설명

<15> 본 발명을 자세히 기술하기 전에, 본 발명이 실시화된 하이드로겔 또는 분말 제제로 특별히 제한되거나, 또는 다양한 매개 변수로 제한되는 것이 아님을 분명히 하고자 한다. 또한, 본문에 사용된 용어 역시 오직 본 발명의 특정한 실시태양을 기술하기 위한 것 일뿐, 그것으로 제한하기 위한 것이 아님을 명백히 한다.

<16> 모든 출판물, 특허, 및 상기 또는 하기의 본문에 인용된 특허 출원은 온전한 상태로 본문에 참고 자료로 개시되었다.

<17> 본 명세서와 부록의 청구항에 사용된 단수 형태 "a", "an", 및 "the"는 범위가 분명히 지정되지 않았다면, 복수의 대상을 포함하고 있다는 것에 주의해 주길 바란다. 그러므로, 예를 들면, "입자(a particle)"는 두 개 이상의 입자의 혼합물을 포함하고, "약제(a pharmaceutical)"는 두 개 이상의 물질의 혼합물을 포함하며, 비슷한 다른 것들 모두 이와 같다.

<18> A. 정의

<19> 특별히 정의되지 않았다면, 본문에 사용된 기술적이고 과학적인 모든 용어들은 본 발명이 속한 분야의 통상의 지식을 가진 자라면 누구라도 공통적으로 이해하는 의미를 가진다. 하기의 용어는 하기와 같이 정의한다.

<20> 본 발명의 기술에서, 하기의 용어가 사용되었고, 하기와 같이 정의한다.

<21> 본문에 사용된 용어 "분말(powder)"이란 무바늘 주사기 장치에 의해 경피로 전달되는 실질적인 고상 입자로 구성된 조성물로 정의한다. 분말로 구성된 입자는 평균 입자 크기, 평균 입자 밀도, 입자 형태(예를 들면, 입자의 공기역학적 모양과 입자 표면의 특성), 및 입자의 침투 에너지(P.E.)를 포함하지만, 그것으로 제한되지는 않는 다수의 매개 변수에 기초하여 특성화될 수 있다.

<22> 본 발명의 분말의 평균 입자 크기는 매우 다양하지만, 일반적으로는 0.1 내지 250 μm , 구체화하면, 10 내지 100 μm , 보다 전형적으로는, 20 내지 70 μm 이다. 분말의 평균 입자 크기는 현미경 기술 (그룹의 통계적인 수치를 측정하기 보다는 직접적이고 개별적으로 입자의 크기를 측정), 가스의 흡수, 투과성 또는 비행 시간 같은 전통적인 기술을 이용하여 평균 크기의 공기역학적 지름(MMAD)으로 측정될 수 있다. 필요하다면, 평균 입자 크기를 확정하기 위해 자동 입자 크기 카운터(automatic particle size counter)를 이용할 수 있다 (예를 들면, Aerosizer Counter, Coulter Counter, HIAC Counter, 또는 Gelman Automatic Particle Counter).

<23> 실제 입자 밀도 또는 "절대 밀도"는 헬륨 피크노메트리(helium pycnometry) 및 그와 유사한 알려진 정량 기술을 이용하여 쉽게 확정할 수 있다. 한편, 외피("탭(tap)") 밀도 측정이 본 발명의 분말 밀도를 검증하기 위해 이용될 수 있다. 본 발명의 분말의 외피 밀도는 일반적으로 0.1 내지 25 g/cm^3 , 바람직하게는, 0.8 내지 1.5 g/cm^3 이다.

<24> 외피 밀도 정보는 불규칙한 크기와 모양을 갖는 물체의 밀도를 특성화하는데 특히 유용하다. 외피 밀도는 물체의 질량을 그것의 부피로 나눈 값으로서, 부피는 물체의 공극(pore)과 작은 강(cavity)을 포함하지만, 격자 사이의 공간(interstitial space)은 배제한다. 왁스 이몰전(wax immersion), 수은 치환(displacement), 수분 흡수, 및 다양한 비중 기술을 포함하는 외피 밀도를 결정하는 다수의 방법은 당 업계에 잘 알려져 있다. 또한, 다수의 적절한 장치, 예를 들면, Micromeritics Instrument Corp의 GeoPyc™ Model 1360은 외피 밀도 결정을 위해 이용가능하다. 절대 밀도 간의 차이와 시료(sample) 약제 조성물의 외피 밀도는 시료의 전체 공극 백분율과 특이적인 공극 부피에 대한 정보를 제공한다.

<25> 입자 형태, 특히 입자의 공기역학적 모양은 기본적인 광학 현미경을 통해 쉽게 검증될 수 있다. 속성

분말(instant powder)로 구성된 입자는 실질적으로 구형 또는 적어도 타원형의 공기역학적 모양을 갖는 것이 좋다. 그러므로, 막대 모양 또는 바늘 모양의 입자가 존재하지 않도록 하기 위해, 입자는 3 이하의 축 비(axis ratio)를 갖는 것이 좋다. 이와 같은 현미경 기술은 또한, 예를 들면, 표면 공백(void)의 양과 넓이 또는 공극의 정도 같은 입자 표면의 특성을 검증하기 위해서도 이용될 수 있다.

<26> 입자의 침투 에너지는 다수의 전통적인 기술, 예를 들면, 금속화된(metallized) 필름 P.E. 조사를 이용하여 확정될 수 있다. 금속화된 필름 재료 (예를 들면, 한쪽 면에 350Å 두께로 알루미늄이 피복된 125 μm의 폴리에스테르 필름)는 무바늘 주사기로부터 초기 속도 약 100 내지 3000 m/sec로 분출되는 분말의 기질(substrate)로서 이용된다. 금속화된 필름은 금속으로 피복된 면이 위로 향하도록 적절한 표면위에 놓여지게 된다.

<27> 분말이 적재된 무바늘 주사기를 필름과 접촉하는 공간에 놓은 다음, 분말을 분출한다. 금속화된 필름 표면에 잔류하는 분말은 적절한 용매로 제거된다. 그런 다음, 침투 에너지가 금속화된 표면을 정밀 검사하는 BioRad Model GS-700 화상 농도계(imaging densitometer)에 의해 검증되고, SCSI 인터페이스, MultiAnalyst 소프트웨어 (BioRad), Matlab 소프트웨어 (Release 5.1, The MathWorks, Inc)를 장착한 컴퓨터가 농도계의 자료를 검증한다. 프로그램은 농도계의 투과율 방법 또는 반사율 방법을 이용하여 만들어진 정밀 조사 결과를 공정하기 위해 이용된다. 분말의 침투 에너지는 같은 크기의 제공된 마니톨 입자 (국제공개번호 WO 97/48485의 방법에 의해, 동결건조, 압축, 연마된 후, 정밀 조사된 마니톨 입자, 본문에 참고 자료로 개시되었다)의 침투 에너지와 같거나 또는 그 이상이다.

<28> "개체"란 용어는 인간과 침팬지, 다른 유인원, 및 원숭이 중 같은 인간이 아닌 영장류를 포함하는 다른 영장류; 소, 양, 돼지, 염소, 및 말 같은 농장 동물; 개와 고양이 같은 애완동물 포유 동물; 생쥐, 쥐, 및 기니아 피그 같은 설치 동물을 포함하는 실험 동물; 닭, 칠면조와 다른 가금(gallinaceous)의 새, 오리, 거위, 및 그와 유사한 등의 사냥감 새와 야생의 새 및 애완동물 새를 포함하는 새를 포함하지만, 그것으로 제한되지는 않는 아문콜테이타(subphylum cordata) 중의 어느 구성원을 의미한다. 이 용어는 특정한 나이를 지정하지 않으며, 그러므로, 성체와 새로 태어난 개체 모두를 포함한다. 전기 척추 동물의 면역 시스템은 모두 비슷하게 작동되기 때문에, 전기의 척추 동물 중 중 어느 것에든 본문에 기술한 방법을 적용할 수 있다.

<29> "경피 전달"이란 용어는 투여의 경피 ("피부를 통해서") 경로와 경점막 경로를 모두 포함한다. 다시 말해, 그것은 피부와 점막 조직을 통과하는 전달이다. *Transdermal Drug Delivery: Developmental Issues and Research Initiatives*, Hadgraft and Guy (eds.), Marcel Dekker, Inc., (1989); *Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications*, Robinson and Lee (eds.), Marcel Dekker, Inc., (1987); 및 *Transdermal Delivery of Drugs*, Vols. 1-3, Kydonieus and Berner (eds.), CRC Press, (1987) 등을 참고하기 바란다.

<30> **B. 일반적인 방법**

<31> 제제는 평균 지름이 약 0.1 내지 250 마이크로미터 (μm), 바람직하게는, 약 10 내지 100 μm인 고상 입자를 포함하여 제공되며, 각 입자는 약학적으로 활성인 물질과 회합된 하이드로겔 구조를 포함하고, 입자 주사에 의해 개체의 경피로 전달되기에 적합하다. 어떤 실시태양에서, 입자의 크기는 평균 지름이 약 20 내지 75 μm 이고, 보다 바람직하게는, 약 40 내지 60 μm이다. 입자의 특성은 전달 장치 내부에서 일어나는 입자의 상호 작용 뿐만 아니라, 무바늘 주사기로부터의 전달 과정에서 일어나는 표적 피부, 조직, 및 점막 표면과의 비행 충격(ballistic impact)을 견디기에 충분하다. 조성물은 대량으로 생산되어 용기로 이동되거나 또는 무바늘 주사기 전달 장치, 즉 무바늘 주사기에 사용하는 단위용량으로 조제되는 분말형이다.

<32> **본 발명에 유용한 하이드로겔**

<33> 본 발명에 유용한 하이드로겔은 그 조성물이 투여되는 개체에게 약학적으로 허용가능해야 하고, 탈수화된 형태로 오랜 시간 동안 안정해야 한다. 하이드로겔은 자연 발생적인 것 (예를 들면, 아가로스와 알지네이트)이거나 또는 합성적으로 제조 또는 변형 (예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜, PEG)된 것일 수 있다. 하이드로겔은 수분 상태에서 팽창하고, 건조 상태 (또는 수분량의 감소 상태)에서 수축되지만, 물에 용해되지는 않는 삼차원적인 거대분자의 네트워크를 포함하는 재료이다. 팽창, 즉, 물의 흡수는 거대분자의 네트워크에 부착되어 있거나 또는 네트워크 내부에 분산되어 있는 친수성 기능성 그룹이 존재하기 때문에 일어나는 현상이다. 근접한 거대분자 사이의 교차 연결은 하이드로겔을 불용성화시킨다. 교차 연결은 화학적 (즉, 공유) 또는 물리적 (다시말해, 반데르발스 힘, 수소 결합, 이온 힘, 등) 결합에서 기인할 수 있다. 폴리머 산업에 이용되는 재료는 건조 상태의 "크세로겔"과 수화 상태의 "하이드로겔" 처럼 본 발명에 유용한 거대분자 재료를 분명하게 지정

하는 반면, 본 발명에서 사용되는 용어 "하이드로겔"은 본 특허 출원을 위해서, 수화된 또는 탈수화된 모든 거대분자 재료를 포함한다. 하이드로겔이 가진 특성의 특별한 가치는 그 재료가 수화되었든 탈수화되었든 간에 전형적인 모양을 유지한다는 데 있다. 그러므로, 하이드로겔이 탈수화된 조건에서 대략 구형의 모양을 가진다면, 수화된 조건에서도 구형을 가질 것이다.

<34> 전형적으로, 약학적으로 활성인 물질을 수용액상으로 분산시킴으로써, 전기 활성 물질은 거대분자 네트워크에서 하이드로겔과 회합한다. 그런 다음, 재료는 건조를 통해 고정되고, 활성 물질은 하이드로겔 안에 구속된다. 활성 물질과 하이드로겔의 회합은 하이드로겔 입자 전체를 통한 균일한 분산과 흡수 또는 하이드로겔 입자의 특정 부분에 한정된 부분적인 분산 결과일 수 있다. 추가적으로 또는 한편, 활성 물질과 하이드로겔의 회합은 두 조성물 사이에 형성된 이온 결합 또는 공유 결합에서 기인할 수 있고, 활성 물질은 주로 하이드로겔 주형 내부에 포함되거나 또는 하이드로겔 구조의 표면과 회합 (예를 들면, 결합으로 연결)할 수 있다. 우선적으로, 활성 물질은 하이드로겔의 거대분자 네트워크로 필수적으로 완전하게 흡수된다. 활성 물질과 하이드로겔의 회합은 하이드로겔 입자가 형성되는 동안 또는 입자의 형성이 완성된 후에 일어난다. 일단 하이드로겔 조성물이 피부 또는 점막 부위로 투여되고 나면, 활성 물질은 다양한 메커니즘 중 하나에 의해 동물 시스템으로 분비된다. 일단 하이드로겔이 수용액 환경에 있게 되면, 거대분자 네트워크는 팽창될 것이고, 따라서, 활성 물질이 분비된다. 그리고/또는, 거대분자 네트워크가 생물분해성을 갖는다면, 그것은 서서히 부식되어 화합물을 분비시킬 것이다. 요컨대, 하이드로겔은 생물분해성을 갖지 않거나 (즉, 수송가능하고 분비가능한) 또는 생물분해성을 가진다 (즉, 부식가능한). 부식가능한 하이드로겔은 일반적으로 (1) 교차 연결 부분에서 부식가능한 또는 (2) 골격(backbone) 부분에서 부식가능한 두 가지 타입이다.

<35> 합성된 하이드로겔은 일반적으로 단량체(monomer) 재료를 중합에 의해, 골격을 형성하고 교차 연결 물질로 골격을 교차 연결함으로써 제조된다. 일반적인 하이드로겔 단량체는 젯산, 글리콜릭 산, 아크릴릭 산, 1-하이드록시에틸 메트아크릴레이트 (HEMA), 에틸 메트아크릴레이트 (EMA), 프로필렌 글리콜 메트아크릴레이트 (PEMA), 아크릴아미드 (AAM), *N*-비닐피롤리돈, 메틸 메트아크릴레이트 (MMA), 글리시딜 메트아크릴레이트 (GDMA), 글리콜 메트아크릴레이트 (GMA), 에틸렌 글리콜, 푸마릭 산, 및 그의 유사체를 포함한다. 일반적인 교차 연결 물질은 테트라에틸렌 글리콜 다이메트아크릴레이트 (TEGDMA)와 *N,N'*-메틸렌비스아크릴아미드를 포함한다.

<36> 합성된 하이드로겔 중 어떤 것은 친수성 비닐 단량체의 자유 라디칼 중합에 의해 생성된다. 개시 단계는 일반적으로 2,2'-아조비스(2-메틸프로판니트릴) 같은 아조-타입의 개시자 또는 벤조일 퍼옥시드 같은 퍼옥시드 개시자를 첨가함으로써 자유 라디칼을 형성하는 단계이다. 자외선 또는 감마 방사선은 반응을 개시할 수 있다. 합성은 비닐 단량체 그룹과의 자유 라디칼 반응에 의해 일어난다. 일반적으로, 반응 혼합액의 일부는 교차 연결의 정도를 제공하는 두 기능을 가진 비닐 화합물로 구성된다. 겔의 친수성은 보통 겔 내부에서 일어난 친수성 비닐 단량체와 소수성 비닐 단량체의 혼성중합(copolymerization)에 의해 조절된다. 즉, 하이드로겔의 투과성은 교차 연결 정도, 겔의 수화 정도, 및 투과에 의해 결정된다.

<37> 중합 혼합액에 이용되는 용매의 양과 종류는 생산된 겔의 질에 상당한 영향을 끼칠 수 있다. 예를 들면, 폴리(하이드록시에틸 메트아크릴레이트) 또는 폴리(HEMA)는 오직 35 내지 40 wt%의 물을 흡수한다. 그러므로, 상당한 양의 물을 포함하는 중합 반응 혼합액으로부터 생성된 폴리(HEMA)는 물로 채워진 공백을 포함하고, 겔보기로는 반투명하거나 불투명하다. 교차 연결은 일반적으로 폴리머의 수분 흡수를 감소시킨다.

<38> 또한, 하이드로겔은 건조 상태에서 제조되어, 물 또는 농축된 활성 물질 수용액과 평형을 유지할 수 있다. 물과의 평형은 내부 압력을 유도하여 하이드로겔 구조를 기계적으로 분열시키기 때문에, 건조 상태에서 교차 연결 정도가 커져 고도의 친수성을 갖게된 하이드로겔이 생성되는 것을 피하기 위해서는 세심한 주의가 필요하다. 하이드로겔의 생성을 조절하는 다른 매개 변수는 중합 온도와 개시자의 농도이다.

<39> 부식가능한 하이드로겔의 실례는 폴리비닐 알코올, 하이드록시에틸 메트아크릴레이트, 폴리아크릴릭 산, 폴리옥시에틸렌, 폴리락틱-코-글리콜릭 산, 및 그의 유사체들로부터 제조된 것을 포함한다. 교차 연결 부분에 가수분해적 불안정성을 가지는 부식가능한 하이드로겔은 *N*-비닐피롤리돈 또는 아크릴아미드와 *N,N'*-메틸렌비스아크릴아미드와의 혼성중합에 의해 생성된 교차-연결된 산물을 포함한다. 골격 부분에 가수분해적 불안정성을 가지는 부식가능한 하이드로겔은 불포화된 이산(diacid, 예를 들면, 푸마릭)과 디올 (예를 들면, 폴리(에틸렌 글리콜))의 축합(condensation) 및 자유 라디칼 반응에서 비닐피롤리돈과의 교차 연결에 의해 생성된다.

<40> 합성된 하이드로겔에 대한 추가의 논의는 Richard Baker의 "Controlled Release of Biologically Active Agents", A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, pp. 101-104 and 1778-183에서 발견

된다. 이 문헌은 참고 자료로 본문에 개시되었다.

- <41> 하이드로겔은 약제적, 생의학적, 및 바이오기술적 응용에는 많이 이용되는 반면, 본 발명이 기술하는 방식으로는 전혀 이용된 바가 없다. 하이드로겔 응용에 대한 논의는 하기의 출판물에서 발견된다.
- <42> BIODEGRADABLE HYDROGELS FOR DRUG DELIVERY BIODEFRADABLE
- <43> HYDROGELS FOR DRUG DELIVERY,
- <44> Kinam Park, Waleed S.W. Shalaby, and Haesun Park (July 1993)
- <45> HYDROGELS: SPECIALTY PLASTICS FOR BIOMEDICAL AND PHARMACEUTICAL APPLICATION
- <46> (Ringbou edition) (July 1990)
- <47> HYDROGELS AND BIODEGRADABLE POLYMERS FOR BIOAPPLICATIONS (ACS SYMPOSIUM SERIES, 627) (June 1996)
- <48> SYMPOSIUM SERIES, 627) (June 1996)
- <49> HYDROGELS IN MEDICINE AND PHARMACY: FUNDAMENTALS
- <50> Nikolaos Peppas
- <51> HYDROGELS IN MEDICINE AND PHARMACY: POLYMERS
- <52> Nikolaos Peppas (Editor) (February 1987)
- <53> HYDROGELS IN MEDICINE AND PHARMACY: PROPERTIES AND APPLICATIONS
- <54> Nikolaos Peppas (Editor) (June 1987)
- <55> 본 발명에 유용한 자연 발생적인 하이드로겔은 식물, 조류(algae), 곰팡이, 효모, 해양 무척추 동물, 및 절지 동물 같은 자연 원천에서 기인하는 다양한 다당류를 포함한다. 대표적인 실례는 아가로스, 텍스트란, 키틴, 셀룰로스에 기초한 화합물, 녹말, 과생된 녹말, 및 그의 유사체들을 포함한다. 이들은 일반적으로 다당류 골격의 주요 부분에 글루코스 단위체(unit)의 반복을 가진다. 아가로스와 텍스트란이 선호된다.
- <56> 아가로스는 자연적으로 젤라틴화된 우무(agar)의 일부분이며, 우무는 *Rhodophyceae*라는 조류의 아가로사이트(agarocyte)에서 추출한 다당류 복합체(complex)이다. 우무를 생산하는 대표적인 속(genus)에는 태평양, 인도양, 및 일본 해에서 발견되는 *Gelidium*, *Gracclaria*, *Accnthopeltis*, *Ceramium*, 및 *Pterocladia*가 있다. 아가로스는 크로마토그래피 수지로서 광범위하게 이용되고, 이러한 것들은 크로마토그래피 컬럼에 광범위하게 이용가능하다. 재료는 10 내지 100 μm 로 철저히 제한된 지름을 가지는 미세한 입자 (비드)로서, 다양한 상표의 다양한 원천으로부터 이용가능하다. 본문의 용어 "비드"는 작고 개별적으로 분리된 하이드로겔 입자를 지시하는 일반적인 생화학적 의미로 사용된다. 본 발명에서 이용하기에 적절한 Bio-Gel A15M 같은 아가로스 비드는 예를 들면, Sigma Chemical Company (St. Louis, MO), Prometic Biosciences, Inc. (Montreal, Quebec, Canada), 및 Bio-Rad Corporation (Hercules, CA)로부터 구입가능하다. 한편, 적절한 아가로스 비드 (예를 들면, 4%, 6%, 8%, 및 그보다 높은 아가로스 w/v 농도, 교차 연결된 또는 비-교차 연결된)는 다수의 알려진 기술을 이용하여 쉽게 형성될 수 있다. 예를 들면, 아가로스 비드는 냉각되어 겔을 형성하기에 앞서 아가로스가 유화되어 있는(emulsified) 따뜻하고 불용성인 용매를 이용하여 (미국특허번호 5,053,332), 얼음처럼 차가운 에테르로 아가로스를 분무함으로써 (Hjerten, S. (1964) *Biochem. Biophys. Acta*79: 393-398), 차가운 미네랄 오일 또는 물로 뜨거운 아가로스 용액을 점적(dropwise addition)함으로써 (미국특허번호 5,053,332), 차가운 소수성 표면 위로 아가로스 용액을 점적함으로써 (미국특허번호 5,053,332), 또는 회전하는 원반 위로 아가로스 용액을 점적함으로써 (미국특허번호 4,978,069) 형성될 수 있다. 본문은 이들 이후의 "무 용매" 형성 방법을 선호한다.
- <57> 텍스트란은 자당 기질이 존재하는 조건에서 성장하는 세균에 의해 생산되고 우세적으로 α -D-(1 \rightarrow 6)으로 연결된 D-글루코스 단위체로 구성된 골격을 포함하는 다당류이다. 텍스트란을 생산하는 여러 생물체(organism) 중 오직 *Leuconostoc mesenteroides*와 *L. dextranicum* (*Lactobacteriaceae*)만이 통상적으로 이용되어 왔다. 큰 분자량의 천연 텍스트란이 선호된다. 모든 텍스트란은 α -D-글루코피라노실 단위체만으로 이루어져 있다. 70,000 mw 이상의 고분자량 텍스트란의 상표는 Dextran 70, Hyskon, Macrodex, Dextran 75, 및 Gentran 75를 포함한다. 텍스트란은 변형되어 예를 들면, 교차 연결된 텍스트란 2-(다이에틸아미노)에틸 2-

[[2-(다이에트아미노)에틸]-다이에틸암모니오]에틸 에테르 클로라이드 하이드로클로라이드 에피콜로하이드린으로 알려진 폴리텍시드를 형성할 수 있다. 이것은 DEAE-Sephadex로 알려진 이온 교환 수지이다.

<58> 키틴은 우세적으로 β-(1→4)-2-아세트아미도-2-데옥시-D-글루코스 (또는 N-아세틸-D-글루코사민으로 명명) 잔기 등의 가지없는(unbranched) 키틴으로 구성된 셀룰로스와 유사한 바이오폴리머이다. 키틴은 곰팡이, 효모, 해양 무척추 동물, 및 절지 동물에서 발견되는 외골격(exoskeleton)의 주요 요소이며, C-2 하이드록시 그룹이 아세트아미도 잔기로 교체된 셀룰로스의 파생물(derivative)로 간주되고 있다. 또한, 키토산으로 알려진 탈아세틸화된 키틴 역시 유용하게 이용된다.

<59> 크로마토그래피에 이용되는 셀룰로스에 기초한 재료 또는 예를 들면, DEAE-셀룰로스 (다이에틸아미노-에틸 셀룰로스)와 ECTEOA-셀룰로스 등의 이온 교환 재료 역시 유용하게 이용된다.

<60> **본 발명에 유용한 약학적으로 활성인 물질**

<61> "약학적으로 활성인 물질"은 생물체로 투여되었을 때 전체 또는 국부적으로 작용하여 바람직한 약학적 및/또는 생리적 효과를 유도하는 물질의 어떤 조성물 또는 어떤 화합물을 포함한다. 그러므로, 그 용어는 전통적으로 약품, 생약제 (펩타이드, 단백질, 및 핵산 같은 분자를 포함), 백신, 및 유전자 요법 (예를 들면, 유전자 작제물)로 간주되는 화합물 또는 화학물질(chemicals)을 포함한다.

<62> 본 발명의 조성물로 유용하게 이용되는 약학적으로 활성인 물질은 시냅스 부위와 신경 전달 물질이 접합(junction)하는 부위에서 작용하는 약품 (콜린 촉진제(cholinergic agonist), 항콜린에스터라아제 물질, 아트로핀, 스코폴라민, 관련된 항무스카린제, 카테콜라민과 교감 신경 흥분제, 및 아드레날린 수용체(receptor)의 길항제(antagonist)); 중추 신경계에서 작용하는 약품; 자가 물질(autocoid) (염증의 약품 치료); 신장 기능과 전해질 대사에 영향을 끼치는 약품; 심혈관에 작용하는 약품; 위장 기능에 영향을 끼치는 약품; 중앙성 질병의 화학요법; 혈액과 혈액 생성 기관에 작용하는 약품; 및 호르몬과 호르몬 길항제를 포함한다. 또한, 조성물로 유용하게 이용되는 물질은 항생제와 항바이러스제 같은 항감염제; 진통제와 진통제의 조합제; 국부 또는 전신 마취제; 식욕 감퇴제; 항관절염제; 항천식제; 항경련제; 항우울제; 항히스타민제; 항염증제; 항최토제; 항편두통제; 항종양제; 항소양제; 정신병 치료제; 해열제; 진경제; 심혈관 제제 (칼슘 통로 차단제, 베타-차단제, 베타-촉진제, 및 항부정맥제를 포함); 혈압강하제; 이뇨제; 혈관확장제; 중추 신경계 자극제; 기침과 감기 제제; 충혈제거제; 진단용제; 호르몬; 골 생성 자극제와 골 흡수저해제; 면역억제제; 근육이완제; 정신흥분제; 진정제; 신경안정제; 단백질, 펩타이드, 및 그것의 단편 (자연 발생적인, 화학적으로 합성된, 또는 재조합적으로 생산된); 및 핵산 분자 (두 개 이상의 뉴클레오티드로 형성된 폴리머, 이중 가닥과 단일 가닥 분자, 초나선(supercoiled) 또는 응축된 분자, 유전자 작제물, 발현 벡터, 플라스미드, 안티센스 분자, 및 그의 유사체들을 포함하는 리보뉴클레오티드 (RNA) 또는 데옥시리보뉴클레오티드 (DNA))를 포함하지만, 그것으로 제한되지는 않는다.

<63> 본 발명에 유용한 약품의 구체적인 실례는 엔지오텐신 전환 효소 (ACE) 저해제, β-락탐 항생제, 및 γ-아미노부티릭 산 (GABA)과 유사한 화합물을 포함한다. ACE의 대표적인 저해제는 Goodman과 Gilman의 8판, pp. 757-762에서 논의되었고, 본문에 참고 자료로 개시되었다. 이들은 퀴나프릴, 라미프릴, 캅토프릴, 벤즈프릴, 포시노프릴, 리시노프릴, 에날라프릴, 및 그 밖의 것과 약학적으로 허용가능한 그것의 대표적인 염을 포함한다. 베타-락탐 항생제는 일반적으로 항생제 구조에 존재하는 베타-락탐 링으로 특성화된 것들이며, Goodman과 Gilman의 8판, pp. 1065-1097에서 논의되었고, 참고 자료로 본문에 개시되었다. 이들은 페니실린 및 아목시실린과 세팔로스포린 같은 페니실린의 파생물을 포함한다. GABA와 유사한 화합물도 Goodman과 Gilman의 책에서 발견된다. 다른 화합물은 칼슘 통로 차단제 (예를 들면, 베라파밀, 니페디핀, 니카디핀, 니모디핀, 및 딜티아젠펜); 테오필린 같은 기관지 확장제; 페닐프로파놀아민 하이드로클로라이드 같은 식욕 억제제; 텍스트로메톨판과 그것의 하이드로브로마이드, 노스카핀, 카베타펜탄 씨트레이트, 및 콜페디아놀 하이드로클로라이드 같은 진해제; 터페나딘, 페니다민 타트레이트, 피릴아민 말리이트, 독실아민 숙시네이트, 및 페닐톨록사민 시트레이트 같은 항히스타민제; 페닐에프린 하이드로클로라이드, 페닐프로파놀아민 하이드로클로라이드, 슈도에페드린 하이드로클로라이드, 클로르페니라민 하이드로클로라이드, 클로르페니라민 말리이트, 에페드린, 페닐에프린, 콜로르페니라민, 피릴아민, 페닐프로파놀아민, 텍스클로르페니라민, 페닐톡사민, 페니다민, 옥시메타졸린, 메트코팔라민, 슈도에페드린, 브롬페니라민, 카비복사민, 및 하이드로클로라이드, 말리이트, 탄네이트와 그의 유사체, β-아드레날린 수용체의 길항제 (프로파놀롤, 나달롤, 티몰롤, 핀돌롤, 아베탈롤, 메토프롤롤, 아테놀롤, 에시울롤, 및 아세부톨롤 같은) 같은 약학적으로 허용가능한 그것의 염 등의 충혈 제거제; 모르핀 같은 마취성 진통제; 메틸페니데이트 하이드로클로라이드 같은 중추 신경계 자극제; 페노티아진, 트리씨클릭 항우울제, 및 MAO

저해제 같은 정신병 치료제 또는 정신작용제; 알프로졸람, 다이아제팜 같은 벤조디아제핀 및 그의 유사체; 및 살리실릭 산, 아스피린, 메틸 살리실레이트, 다이플루니살, 살살레이트, 페닐부타존, 인도메타신, 옥시펜부타존, 아파존, 메페나믹 산, 메클로페나메이트 소듐, 이부프로펜, 나프로센, 나프로센 소듐, 페노프로펜, 케토프로펜, 플루르비프로펜, 피록시삼, 다이클로페낙, 에토도락, 케톨락, 아세클로페낙, 나부메톤, 및 그의 유사체 같은 특정 비-스테로이드성 항염증제 (NSAIDs), (예를 들면, 살리실레이트, 피라졸론, 인도메타신, 숙신산, 페나메이트, 톨메틴, 프로피온산 파생물)을 포함한다.

<64> 본 발명의 방법과 조성물에 유용하게 이용되는 약학적으로 활성인 다른 물질은 세포성 항원-특이적 면역 반응 또는 체액성 항원 반응을 일으키는 항원, 즉 숙주의 면역계를 자극하는 하나 이상의 에피톱을 포함하는 분자이다. 항원은 단백질, 폴리펩타이드, 항원성을 갖는 단백질 단편, 올리고당류, 다당류, 및 그의 유사체를 포함한다. 항원은 알려진 바이러스, 세균, 기생충, 식물, 원생 동물, 또는 곰팡이 중 어느 것에서도 유래될 수 있고, 생물체 전체 또는 세포 벽 성분 같은 그것의 면역성 부분일 수 있으며, 종양에서 유래될 수도 있다. DNA 면역법(immunization)에서와 같은 항원을 발현하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 역시 항원의 범주에 포함된다. 합성된 항원, 예를 들면, 합텐, 폴리에피톱, 측면에 있는 에피톱, 및 재조합체 또는 다른 재조합체 또는 합성적으로 파생된 항원 등도 항원의 범주에 포함된다 (Bergmann *et al* (1993) *Eur. J. Immunol.* 23: 2777-2781; Bergmann *et al* (1996) *J. Immunol.* 157: 3242-3249; Suhrbier, A. (1997) *Immunol. And Cell Biol.* 75: 402-408; Gardner *et al* (1998) 12th World AIDS Conference, Geneva, Switzerland (June 28 - July 3, 1998).

<65> 항원이 본 발명의 하이드로겔과 회합하였을 때, 항원은 "백신 조성물"로 간주될 수 있으며, 백신 조성물은 개체의 몸의 이상이나 질병을 예방 또는 치료하는데 이용되는 항원을 포함하는 모든 약제 조성물을 포함한다. 그 용어는 두 가지의 백신, 즉, 자연과 관련되어 있는 항원을 가진 생물체에서 분리되거나 이탈된 항원을 포함하는 백신 조성물 뿐만 아니라 사멸되었거나, 독성이 약화되었거나, 또는 불활성화된 세균, 바이러스, 기생충, 또는 다른 미생물 전체를 포함하는 백신 조성물을 모두 포함한다. 또한, 백신은 백신의 효능을 보다 향상시키는 사이토카인을 포함할 수 있다.

<66> 본 발명의 바이러스성 백신 조성물은 피코나바이러스 군 (예를 들면, 소아마비 바이러스, 등); 칼리시 바이러스 군; 토가바이러스 군 (예를 들면, 풍진 바이러스, 뎅기열 바이러스, 등); 플라비바이러스 군; 코로나 바이러스 군; 레오바이러스 군; 버나바이러스 군; 라보도바이러스 군 (예를 들면, 광견병 바이러스, 밀(meal) 바이러스, 호흡기 신시티움 바이러스, 등); 오르쏘믹소바이러스 군 (예를 들면, 인플루엔자 바이러스 타입 A, B, 및 C, 등); 번아바이러스 군; 아레나바이러스 군; 레트로바이러스 군 (예를 들면, HTLV-I; HTLV-II; HIV-1; 및 HIV-2); 및 그 밖의 것들에 속하는 원숭이의 면역결핍 바이러스 (SIV) 군의 일원으로부터 유래된 항원 또는 그 일원을 포함하는 항원을 포함하지만, 그것으로 제한되지는 않는다. 추가적으로, 바이러스성 항원은 유두종 바이러스 (예를 들면, HPV); 헤르페스 바이러스; 간염 바이러스 (예를 들면, A형 간염 바이러스 (HAV), B형 간염 바이러스 (HBV), C형 간염 바이러스 (HCV), 델타 D형 간염 바이러스 (HDV), E형 간염 바이러스 (HEV), 및 G형 간염 바이러스 (HGV)); 및 진드기 매개 뇌염 바이러스로부터 유래될 수 있다. 전기 바이러스 및 다른 바이러스에 관한 설명을 원한다면, *Virology*, 3rd Edition (W.K. Joklik ed. 1988); *Fundamental Virology*, 2nd Edition (B.N. Fields and D. M. Knipe, eds. 1991)을 참고하기 바란다. 본 발명의 세균성 백신 조성물은 디프테리아, 콜레라, 결핵, 파상풍, 백일해, 뇌막염, 및 다른 병원성 질병을 일으키는 수막구균 A, B, 및 C, 헤모필러스 인플루엔자 타입 B (HIB), 및 헬리코박터 파이로리를 포함하는 생물체로부터 유래된 항원 또는 그 생물체를 포함하는 항원을 포함하지만, 그것으로 제한되지는 않는다. 구충 백신 조성물의 실례는 말라리아와 라임 병을 일으키는 생물체로부터 유래된 것을 포함한다.

<67> 본 발명에 이용되는 적절한 뉴클레오티드 서열은 약학적으로 관련된 뉴클레오티드 서열 모두를 포함한다. 그러므로, 본 발명은 표적 세포의 게놈으로부터 결핍된 또는 누락된 단백질을 암호하는 하나 이상의 유전자, 또는 바람직한 생물학적 효과 또는 치료적 효과 (예를 들면, 항바이러스 기능)를 가지는 비천연형 단백질을 암호하는 하나 이상의 유전자를 전달하기 위해 이용될 수 있다. 그리고, 본 발명은 면역성을 제공하는 뉴클레오티드 서열, 예를 들면, 개체의 체액성 및/또는 세포성 반응을 유도하는 면역원성(immunogenic) 서열 또는 안티센스 또는 리보자임 기능을 갖는 분자에 상응하는 서열 등을 전달하기 위해 이용될 수 있다.

<68> 전달되기에 적절한 유전자는 감염성 질병, 자가면역, 및 AIDS, 암, 신경학상의 질병, 심혈관 질병, 과콜레스테롤혈증 같은 장애; 다양한 빈혈, 지중해빈혈, 및 혈우병을 포함하는 혈액 장애; 낭성섬유증, 고체병, 아데노신 디아미나아제 결핍증, 기증, 등의 유전적 결함을 포함하는 만성 질병과 전염성 질병을 치료하기 위해

이용되는 것들을 포함한다. 바이러스성 질병과 암을 치료하기 위한 안티센스 요법에서 이용되는 다수의 안티센스 올리고뉴클레오티드 (예를 들면, mRNA의 번역 개시 부위 (AUG 코돈) 주변의 서열과 상보적인 짧은 올리고뉴클레오티드)는 Han *et al* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 4313; Uhlmann *et al* (1990) *Chem. Rev.* 90: 543; Helena *et al* (1990) *Biochem. Biophys. Acta.* 1049: 99; Agarwal *et al* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 7079; 및 Heikkila *et al* (1987) *Nature* 328: 445를 참고하기 바란다. 본 발명에서 이용하는 다수의 적절한 리보자임은 Chec *et al* (1992) *J. Biol. Chem.* 267: 17479와 Goldberg *et al*, 미국특허번호 5,225,347을 참고하기 바란다.

<69> 예를 들면, 고형의 종양, 독성 펩타이드(즉, 리신, 디프테리아 독, 및 코브라 독액 인자 같은 화학요법제)를 암호하는 유전자, p53 같은 종양 억제 유전자, 형질전환된 암유전자(oncogene), 종양 괴사 인자 (tumor necrosis factor, TNF)와 사이토카인 같은 항종양성 펩타이드에 대해 안티센스인 mRNA 서열을 암호하는 유전자, 또는 형질전환된 암유전자를 가진 트랜스도미넌트(transdominant) 네가티브 돌연변이체는 전달된 다음, 종양 부위에서 또는 종양 부위 근처에서 발현된다.

<70> 유사하게, 항바이러스성 및/또는 항세균성 활성을 전시하는 펩타이드 또는 숙주의 면역계를 자극하는 펩타이드를 암호화하는 유전자를 투여할 수 있다. 그러므로, 인터류킨, 인터페론, 및 군락(colony) 자극 인자 같은 다수의 다양한 사이토카인 (또는 그것의 기능성 단편)을 암호하는 유전자가 본 발명과 함께 이용될 것이다. 전기 다수 물질의 유전자 서열은 이미 알려져 있다.

<71> 유전적 장애를 치료하기 위하여, 특정 장애에서 결핍된 유전자에 상응하는 기능성 유전자를 개체에 투여할 수 있다. 따라서, 본 발명은 안티센스 요법에 이용될 수 있다. 예를 들면, 올리고뉴클레오티드의 전달은 특정의 상보적인 서열과 교잡하여 그 서열의 전사 및/또는 번역을 저해한다. 따라서, 특정 질병의 진행에 필요한 단백질을 암호화하는 DNA 또는 RNA를 표적으로 하여, 질병의 진행을 중단시킬 수 있다. 안티센스 요법 및 특정 핵산 표적 서열에 특이적으로 또는 예상적으로 결합하여 질병의 원인이 되는 유전자의 발현을 저해 또는 변화시킬 수 있는 수많은 올리고뉴클레오티드는 Uhlmann *et al* (1990) *Chem. Rev.* 90: 543; Neckers *et al* (1992) *Crit. Rev. Oncogenesis* 3: 175; Simons *et al* (1992) *Nature* 359: 67; Bayever *et al* (1992) *Antisense Res. Dev.* 2: 109; Whitesell *et al* (1991) *Antisense Res. Dev.* 1: 343; Cook *et al* (1991) *Anti-cancer drug Design* 6: 585; Eguchi *et al* (1991) *Annu. Rev. Biochem.* 60: 631 등에 보고되어 있고, 당 업계의 누구라도 이용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 숙주 세포의 표적 서열에 선택적으로 결합할 수 있는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 안티센스 약제로 이용한다.

<72> **고려되는 다른 조성물**

<73> 본 발명의 조성물은 개체의 경피, 전형적으로는 각질층 또는 경점막의 막으로 전달되기에 적합한 크기의 입자를 함유하는 하이드로겔을 포함하는 분말이다. 분말은 일반적으로 유동가능(flowable)하다. 유동가능한 분말을 형성하는 입자 중 평균 크기의 공기역학적 지름은 약 0.1 내지 250 μm, 바람직하게는 20 μm 이상 100 μm 미만, 특히 75 μm 미만이다. 보다 바람직하게는, 입자의 대부분이 약 40 내지 60 μm 범위 내에 있어야만 한다. 분말의 입자는 일반적으로, 0.1 내지 25 g/cm³, 바람직하게는, 0.8 내지 1.5 g/cm³의 외피 밀도를 갖는다. 현미경을 통해서 본 각 입자의 모양은 다양하지만, 구형이 바람직하고, 타원형이나 불규칙한 모양 및/또는 도넛형일 수도 있다. 하이드로겔은 규칙적인 또는 불규칙적인 표면을 갖는 거의 구형에 가까운 입자를 스스로 형성하도록 할 수 있다. 또한, 하이드로겔은 입자 전체 또는 단순히 하이드로겔 입자 표면에서의 흡수에 의해 하이드로겔 입자와 회합된 활성 물질을 포함하는 균일한 밀도의 입자를 스스로 형성하도록 할 수 있다.

<74> 이용가능한 하이드로겔을 선택할 수 있는 범위가 매우 광범위하기 때문에, 주어진 조성물 내에 존재하는 활성 물질의 양은 하이드로겔이 얼마나 많은 양의 물을 흡수할 수 있는냐에 따라서 매우 다양하다. 예를 들면, 고도의 수용성과 활성을 갖는 물질은 흡수성이 낮은 하이드로겔과 회합(낮은 농도를 필요로 하기 때문)하는 반면, 높은 농도를 필요로 하는 활성이 덜한 물질은 흡수성이 보다 높은 하이드로겔과 회합한다. 본 발명의 조성물 내에 존재하는 활성 물질의 양은 약 0.1 내지 80 wt% 및 그보다 많지만, 전형적으로는 약 10 내지 60 wt% 또는 약 20 내지 55 wt% 정도의 약 0.3 내지 70 wt%이다. 실제적인 양은 물질의 활성, 바람직한 투여량, 및 본 명세서를 읽을 수 있는 통상의 지식을 가진 자라면 쉽게 떠올릴 수 있는 다른 변수에 의존적이다.

<75> 본 발명의 하이드로겔 조성물에서, 활성 물질과 약 10 내지 100 μm의 입자 크기를 갖는 수화된 하이드로겔 입자 (예를 들면, 살아있는 조직으로의 전달에 적합하게 수화된)와의 탈회합(disassociation)은 전형적으로 0.1 내지 1.0 초 내에 일어난다. 또한, 경피로 투여된 하이드로겔 입자의 순간적인 수화와 동시에 활성 물질의 분비는 모든 경우에서 즉각적으로 일어난다. 이 사실은 즉각적인 전달 약제역학을 요구하는 경피분말주사

기술에 대해 본 조성물을 이상적으로 만든다. 그러나, 어떤 실시태양에서, 화학적 및/또는 물리적 수분 흡수와 활성적인 용해 속도는 유지된 또는 지연된 분비능을 가진 하이드로겔 조성물을 제공하기 위해 변화될 수 있다.

<76> 따라서, 어떤 조성물에 존재하는 친수성 또는 양성의 물질은 하이드로겔 조성물로 함유되어 건조 입자의 수화율 및/또는 활성 물질의 분비율을 저하시킨다. 비슷한 효과를 갖도록 하이드로겔 입자의 바깥쪽을 코팅 (coating)하기 위해 유사한 기술을 이용할 수 있다. 예를 들면, 친수성 물질은 하이드로겔 입자의 내부 및/또는 외부로 첨가되어 활성 물질이 표적 부위에 존재하는 물에 직접적으로 노출되는 것을 감소시키고, 또한 진행되는 동안의 활성 물질 분해율(예를 들면, 용매와의 접촉에서 기인한)을 감소시킨다. 그러한 물질의 첨가는 입자의 수분 흡수율을 감소시키고, 하이드로겔 담체로부터 활성 물질이 용해되어 나오는 속도를 상당량 감소시킨다. 활성 물질의 하이드로겔로부터의 용해는 두 단계의 과정 (수분 흡수/미립자의 수화와 팽창, 입자로부터 활성 물질의 용해와 확산)으로 이루어지기 때문에, 활성 물질이 분비되는 경로를 차단 또는 방해할 수 있는 두 번의 기회가 생기게 된다.

<77> 본 발명의 하이드로겔 조성물의 용해 역학과 수화를 감소시키는 소수성 물질의 실례에는 지방산과 그것의 약학적으로 허용가능한 염 (예를 들면, 마그네슘 스테아레이트, 스테릭 산, 징크 스테아레이트, 팔리미틱 산, 및 소듐 팔리테이트)이 있다. 다른 적절한 물질에는 양쪽성(amphiphilic) 계면 활성제 (글리세리드, 등) 또는 폴리머 (예를 들면, 폴리락틱 글리콜릭 산(PLGA), 폴리오르쏘 에스테르)가 있다. 녹말 성분 또한 본 목적에 적합한 트리아세틴 같은 세미-혼합성 용매로서, 하이드로겔 입자로 첨가되어 용해를 막는 방어막을 형성한다. 이들 용매는 하이드로겔 구조의 친수성 환경으로는 이동할 수 없는 소수성 물질을 하이드로겔 입자로 적재하는데 이용된다. 그러한 물질을 본 발명의 하이드로겔 입자로 함유시키기 위해 적합한 방법은 소수성 물질이 용해되는 유기 용매 또는 알코올 염기 용액을 이용한다. 건조 상태의 하이드로겔 입자(비드)는 적어도 입자 표면을 완전히 적시기에 충분한 용매와 입자의 비율로 용매에 첨가될 수 있다. 코팅을 보다 확실하게 하기 위해 추가의 용매를 이용할 수 있다. 하이드로겔 입자 표면 또는 내부로 흡수된 소수성 물질의 최종 양은 용매에 존재하는 코팅 물질의 농도, 용매에서의 하이드로겔의 팽창 정도, 및 용매와 하이드로겔의 비율에 의존적이다.

<78> 특정의 다른 실시태양에서, 하이드로겔은 기본적인 화학 작용에 의해 유도되고 객원 활성 물질과 회합하며 입자의 표면 또는 내부에 존재하는 흡인성(attractive) 부위를 가질 수 있다 (예를 들면, 객원 물질과 이온 상호작용 하는 부위). 한편, 객원 활성 물질이 하이드로겔과 화학적으로 결합 (예를 들면, 공유 결합)되어 분비 프로필을 변화시키거나 (약제역학) 또는 하이드로겔 전달 판(platform)과 특정 물질을 회합시키는 하이드로겔-폴리머 콘주게이트(conjugate)가 제공된다. 이러한 관점에서, 다수의 단백질-폴리머 콘주게이트의 화학 작용이 당 업계에 자세히 특성화되었고 (Burnham, N. (1994) *Am. J. Hosp. Pharm.* 51: 210-218), 본 발명의 조성물과 함께 적절히 이용될 수 있다.

<79> 하이드로겔 (폴리머) 입자와 단백질 (및 펩타이드) 객원 물질과의 연결에 있어, 특정의 단백질-폴리머 콘주게이트의 연결이 생물 분해성을 가져서, 반응에 의해 단백질 객원 물질이 하이드로겔로부터 분비되는 것이 좋다. 그러한 생물 분해성이 있는 연결의 한 분류군은 단백질과 폴리머 (하이드로겔) 사이의 화학 결합이 가수 분해적으로 절단되는 특징을 가진다. 단백질과 폴리머 사이의 일반적인 화학 연결은 아미노산 곁 사슬(side chain) (예를 들면, 리신의 ε-아미노 그룹과 단백질의 α-아미노 그룹, 아미드, 티오유레아, 알킬아민, 및 우레탄 연결), 자유 시스테인 잔기의 티올 그룹 (티오에스터 연결), 및 아스파틱 산과 글루탐릭 산의 카복실릭 산 그룹 (아미드와 알킬아민)과의 반응을 포함한다. Duncan *et al.* (1994) *Adv. Polym. Sci.* 57: 53-101과 Brinkley, M. (1992) *Bioconjugate Chem.* 3: 2-13을 참고하기 바란다. 숙시네이트 에스터 (예를 들면, N-하이드록시 숙시니미드)와의 아미드 연결은 잘 알려져 있고, 바람직한 가수 분해적 불안정성을 갖는다 (Lomants *et al.* (1976) *J. Mol. Biol.* 104: 243-248). 숙시네이트 에스터 (예를 들면, 숙시니미딜 숙시네이트)와의 단백질-폴리머 콘주게이트는 생리적 조건에서 분해성이 있다 (Dreborg *et al.* (1990) *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 6: 315-365; Zalipsky *et al.* (1992) *Biotechnol. Appl. Biochem.* 15: 100-114). 게다가, 가역적인 단백질-폴리머 연결을 제공하는 티올 콘주게이트 화학 작용은 생리적인 환원 조건에서 분해성이 있다 (Woghiren *et al.* (1993) *Bioconjugate Chem.* 4: 314-318). 짧은 펩타이드 서열에 의해 폴리머 담체와 단백질 또는 약제를 연결시키는 효소적으로 분해 가능한 연결에 관해서도 기술되어 있다 (Kopecek *et al.* (1981) *Macromol. Chem.* 182: 799-807).

<80> 본 발명의 조성물은 또한, 약학적으로 허용가능한 부형제를 결합체(binder), 담체, 안정제, 길리단트, 항산화제, pH 적정제, 항자극제, 및 그 밖의 것들로 포함한다. "부형제"란, 일반적으로 조성물의 다른 성분과 유독한 상호 작용을 하지 않는 무독성의 삽입 재료를 의미한다. 부형제가 차지하는 비율(proportion)은 부형제

가 제공되는 목적과 부형제의 성질에 따라 다르다. 텍스트란 같은 담체는 입자 무게의 10 내지 75%, 구체적으로는, 20 내지 70%, 또는 30 내지 60%의 적절한 양으로 제공된다.

<81> 펩타이드를 안정시키는 작용을 하는 적절한 담체의 실례는 약제적 등급(grade)의 텍스트로스, 슈크로스, 락토스, 트레할로스, 마니톨, 소르비톨, 이노시톨, 텍스트란 등을 포함한다. 담체는 단당류, 이당류, 또는 슈가 알코올 같은 당류도 될 수 있다. 다른 담체는 녹말, 셀룰로스, 소듐 또는 칼슘 포스페이트, 칼슘 설페이트, 시트릭 산, 타르타릭 산, 글리신, 고분자량의 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 및 그것들의 조합을 포함한다. 극성을 띤 지질 및/또는 세제(detergent)도 포함된다. 담체로 적절한 극성의 지질은 포스파티딜콜린 (레시틴)과 유사체를 포함하지만, 그것으로 제한되지는 않는다. 세제는 전형적으로 비이온성, 음이온성, 양이온성, 또는 양극성 계면 활성제가 될 수 있다. 적절한 계면 활성제의 실례에는 Tergitol[®]과 Triton[®] 계면 활성제 (Union Carbide Chemicals and Plastics, Danbury, CT), 폴리옥시에틸렌소르비탄, 예를 들면, TWEEN[®] 계면 활성제 (Atlas Chemical Industries, Wilmington, DE), 폴리옥시에틸렌 에스테르, 예를 들면, Brij, 약학적으로 허용가능한 지방 산 에스테르, 예를 들면, 라우릴 설페이트와 그것의 염 (SDS) 등이 있다.

<82> 본 발명의 방법을 이용하여 생산된 입자 조성물의 전달 프로필을 원조하기 위해, 피부에 대한 침투 강화제(enhancer)를 유용하게 이용할 수 있다. 본문에 사용되는 "침투 강화제" 또는 "투과 강화제"는 약학적으로 활성인 물질의 피부 투과성을 증가시키기 위함, 즉, 약품이 피부를 통해 침투하여, 혈류로 진입하는 속도를 증가시키기 위함과 관련되어 있다. 강화제 이용에 의해 증가된 투과성은 당 업계에 잘 알려진 확산 세포 기구(diffusion cell apparatus)를 이용하여 동물 또는 인간의 피부를 통과한 활성 물질의 확산 속도를 측정함으로써 결정할 수 있다. 침투 강화제는 경피 전달 특성을 촉진하고 바람직한 치료 효과 또는 예방 효과를 제공한다. 본문에 사용된, 투과 강화제의 "효과적인" 양이란, 피부 투과성을 증가시키는 양을 의미하며, 바람직한 침투 깊이, 투여 속도, 전달되는 활성의 양과 관련된다.

<83> **제조 방법**

<84> 본 발명의 다른 측면은 고속 입자 주사 기술에 의해 개체의 경피로 투여되기에 적합한 분말형 조성물을 제조하는 방법이다. 대체적으로, 공정은 약학적으로 활성인 물질을 하이드로겔에 적재하는 것과 관련되어 있다. 회합된 활성 물질을 가지며, 무바늘 주사기를 이용해 직접적으로 주사되기에 적합한 물리적, 기능적 특성을 가지는 하이드로겔 입자가 형성된다. 하이드로겔 입자가 형성된 다음, 활성 물질이 입자로 첨가되거나 또는 하이드로겔 재료와 활성 물질이 결합됨으로써, *in situ* 형성된 알맞은 크기의 입자로부터 조성물이 생성된다. 우선되는 측면에서, 방법은 하기의 단계를 포함한다.

- <85> - 미리 형성된(pre-formed) 하이드로겔 입자의 혼합물을 제공하는 단계,
- <86> - 하이드로겔 입자를 약학적으로 활성인 물질을 포함하는 수용성 조성물 (예를 들면, 그 안에 용해된 및/또는 현탁된)에 충분한 시간 동안 현탁시킴으로써, 하이드로겔 입자와 전기 물질과 회합(association)하여 전기 물질이 하이드로겔 입자 내로 함유되는 단계 (예를 들면, 하이드로겔이 팽창되고, 활성 물질은 그 안으로 함유된다), 및,
- <87> - 건조 단계에서, 수용성 조성물로부터 하이드로겔 입자를 분리함으로써 (예를 들면, 적절한 건조 방법을 이용하여 현탁액으로부터 물과 다른 용매를 제거), 활성 물질이 함유된 하이드로겔 입자를 포함하며 분말용 경피주사장치에 적합한 분말형 약제 조성물을 수득하는 단계.

<88> 바람직하게는, 분말 내 각 입자는 약 10 내지 100 μm의 MMAD를 갖는다. 적절한 건조 방법으로는 스프레이-건조, 자유-건조, 스프레이-동결 건조, 공기-건조, 진공-건조 등이 있지만, 동결-건조와 스프레이-건조가 선호된다. 특정한 하나의 방법에서, 미리 형성된 하이드로겔 입자는 건조 상태로 수용성의 조성물과 결합하고, 다른 방법에서는 습하고 미리 팽창된 상태로 결합한다.

<89> 본 발명의 하이드로겔 조성물을 제조하는 방법은 최초로 형성된 바람직한 크기의 하이드로겔 비드를 이용하여 이루어진다. 최초로 형성된 하이드로겔 비드란, 활성 물질이 용해된 수용성의 혼합액과 비드를 충분한 시간 동안 접촉시킴으로써, 활성 물질이 회합 (예를 들면, 비드 표면 및/또는 내부로 흡수)된 하이드로겔 비드를 의미한다. 아가로스 비드를 제조하는 방법은 전기에 논의되었고, 당 업계에 알려진 그 외 다른 방법은 다른 하이드로겔 재료를 이용하여 비드를 제조하는데 이용될 수 있다. 건조 상태의 비드는 본 발명의 조성물이 되기에 바람직한 입자 크기를 갖도록 분쇄(comminution)된다.

<90> 우선되는 다른 측면에서, 방법은 하기의 단계를 포함한다:

- <91> - 미리 형성된 하이드로겔 입자의 혼합물을 제공하는 단계;
- <92> - 하이드로겔 입자를 약학적으로 활성인 물질을 포함하는 수용성 조성물에 충분한 시간 동안 현탁시킴으로써, 하이드로겔 입자가 팽창하여 활성인 물질을 함유하는 단계; 및,
- <93> - 건조 단계에서, 수용성 조성물로부터 하이드로겔 입자를 분리함으로써, 활성 물질이 함유된 하이드로겔 입자를 포함하는 분말형 약제 조성물을 수득하는 단계. 방법이 수행되고 나면, 적절한 크기 범위에 있는 미리 형성된 하이드로겔 입자를 선택함으로써, 전기 분말형 조성물에 존재하는 평균 크기의 하이드로겔 입자는 10 내지 100 μm 의 공기역학적 지름을 갖게 된다.
- <94> - 우선되는 추가의 측면에서, 방법은 하기의 단계를 포함한다:
- <95> - 미리 형성된 하이드로겔 입자의 혼합물을 제공하는 단계;
- <96> - 하이드로겔 입자를 약학적으로 활성인 물질을 포함하는 수용성 조성물 (예를 들면, 그 안에 용해된 및/또는 현탁된)과 충분한 시간 동안 접촉시킴으로써, 하이드로겔 입자와 약학적으로 활성인 물질이 회합하여 물질이 하이드로겔 입자 내로 함유되는 단계;
- <97> - 최소한 부분적인 건조 단계에서, 수용성 조성물로부터 하이드로겔 입자를 분리 (예를 들면, 입자로부터 물과 다른 용매를 제거)함으로써 활성 물질이 최초로 적재된 하이드로겔 입자를 수득하는 단계;
- <98> - 활성 물질이 최초로 적재된 하이드로겔 입자를 전기의 수용성 조성물과 충분한 시간 동안 접촉시킴으로써, 하이드로겔 입자와 약학적으로 활성인 물질이 회합하여 전기 물질이 하이드로겔 입자 내로 추가로 함유되는 단계; 및,
- <99> - 최소한 부분적인 건조 단계에서, 수용성 조성물로부터 단계 (d)에서 형성된 하이드로겔 입자를 분리함으로써 활성 물질이 2차 적재된 하이드로겔 입자를 수득하는 단계. 활성 물질이 2차 적재된 하이드로겔 입자는, 활성 물질이 하이드로겔 입자 내부로 바람직한 수준으로 적재될 때까지, 또는 건조 무게에 기초하여 최대의 적재량에 도달할 때까지 최초로 적재된 입자에서와 같은 방식으로 처리된다. 최종의 건조 단계는 완전하게 진행되어 입자주사장치를 이용해 경피로 전달되기에 적합한 분자를 생산하며, 어떤 건조 방법을 이용해도 무방하다. 반복적인 적재 단계 사이의 건조 단계에서, 부분적인 건조 (바람직하게는, 적어도 입자의 부분적인 붕괴)는 아세톤 같은 용매를 이용하거나 또는 공기-건조 방법을 이용하는 것이 효과적일 수 있다. 최종의 건조 단계에서는, 동결-건조와 스프레이-건조가 선호된다.
- <100> - 다른 우선되는 측면에서, 방법은 하기의 단계를 포함한다.
- <101> - 약학적으로 활성인 물질 및 약 0.1 내지 10 wt%의 하이드로겔을 포함하는 수용성의 약학적 제제를 형성하는 단계; 및,
- <102> - 제제를 건조함으로써 평균 크기의 입자의 공기역학적 지름이 10 내지 100 μm 인 입자를 수득하는 단계.
- <103> - 무바늘 주사기 전달 장치에 적합한 입자는 제제 내에 하이드로겔을 포함함으로써 제조된다. 하이드로겔은 최종 제제의 약 0.1 내지 95 wt%를 차지하고, 활성 물질은 약 0.1 내지 85 wt%를 차지한다.
- <104> - 전통적인 입자 형성 기술 중 하나인 *in situ* 입자 형성 기술을 이용하여 하이드로겔 단량체와 객원 물질이 결합된 조성물을 제조하는 다른 방법으로 입자주사에 적합한 입자를 제조할 수 있다. 전통적인 입자 형성 기술은 스프레이-건조, 돌출(extrusion) 삭제와 건조 (스페루니제이션), 입자를 코팅하는 유동 베드(bed), 코아 세르베이션, 수집과 건조, 수화된 과립(granulation)과 제분, 고체 또는 거재 입자의 제분, 비결정질 고체의 침전, 유동 베드 과립, 제분 후의 증발 또는 공기-건조, 스프레이 또는 용해 냉각 또는 프릴링(prilling), 스프레이 동결-건조, 압축 (즉, 펠렛팅과 압제) 등을 포함한다.
- <105> - 제조된 입자는 하기의 방법에 의해 검증될 수 있다.
- <106> - 입자 특성화 방법
- <107> - 무바늘 주사기에 의해 경피로 전달되는 입자의 특성화는 전통적인 약제 산물에 비해 다양한 것들을 요구한다. 대부분의 기준적인 고체 투여량은 쉽게 용해되는 최대의 양이다. 예를 들면, 알약(tablet)의 제조에 있어, 입자의 밀도와 크기 또는 형태는 중요한 역할을 담당하지 않으며, 입자 주사의 모멘텀을 결정하는 중요한 매개 변수인 개별적인 입자 밀도 역시 심각하게 고려되지 않는다. 그러나, 직접적으로 주사되는 미립자성 조성물에 있어서, 개별적인 입자 밀도는 매우 중요하기 때문에, 특성화하는 다중의 방법이 동시에 이용된다. 절대

밀도와 이론적인 밀도의 결정은 전달 및 효능과 관련되어 있다. 팩(pack) 밀도, 전통적인 라이트 탭(light tap) 또는 기계적인 기술, 외피 밀도와 부유 수치의 기울기(gradient) 같은 다양한 기술이 이용가능하다. 한편, BET와 수은 침해 농도계에 의한 기본적인 측정법을 포함하는 개별적인 입자 밀도와 관련된 간접적인 방법 역시 표면적과 공백 부피의 결정에 이용가능하다.

<108> 입자의 또다른 중요한 특성인 입자 크기는 방법론에 의해 상당한 영향을 받는 것으로 알려져 있다. API Aerosizer[®] (Amherst Process Instruments, Hadley, MA)는 초음속의 비행 시간 장치로서, 측정 모드는 강력한 헬륨 제트와 매우 유사하다. 이 기계로부터 획득한 자료는 컴퓨터에 의해 보조되는 화상 분석 기술을 포함하는 광학 현미경으로 확대되어야 한다. 그러한 정보는 비-용매성 현탁 레이저 회절 (non-solvent suspension laser diffraction) 방법, 빛 암폐(obscuration) 기술, 및 Coulter Counter[®] 부피 측정을 통해 획득한 정보와 비교된다. 후자의 기술은 경피입자주사전달에 이용되는 일시적인 고에너지 가속 제트에 의해 통과 (passage)되기 전과 후의 입자를 검증하는 매우 강력한 기술이다. 하기에 기술된 바와 같이, 금속화된 필름 또는 단단한 포말(foam) 표적은 분말 에너지에 대한 정량적인 정보를 제공한다. 입자 주사 방법과 관련된 정량적인 기술은 무바늘 주사기 의한 통과 후 vs 통과 전의 입자 크기 분포 장치 및 입자의 마이크로-경도 (micro-hardness) (즉, 단단한 표면으로 주사되었을 때의 충격 강도)를 측정한다. 다른 기술은 광학 현미경 검경대 (stage) 위의 단일 입자에 대한 힘의 효과를 측정하기 위해 탐침을 이용하는 직접적인 입자 만입 (indentation) 기술 (즉, Nano Indenter II[®] MTS system Corp, Oak Ridge, TN or Micro Hardness Tester[®] Anton Paar GmbH, Graz, Austria)을 포함한다.

<109> 하이드로겔 입자 조성물의 특성을 조사하는 다른 방법은 완전한 두께의 인간 피부와 프렌즈-타입 확산 세포를 이용하는 *in vitro* 피부 침투를 포함하며, 전달을 측정하고 약품의 용해와 이동에 대한 지표(indicator)를 제공한다. 생물학적 표적을 위한 금속화된 필름 에너지 조사와의 유사점은 전달 후 *in vitro* 피부에서의 경피 수분 손실(trans-epidermal water loss, TEWL)을 측정하는 것이다. 입자는 전달 전과 후 뿐만 아니라 전달이 진행되는 동안에도 초기 형태 및/또는 형태 변화를 볼 수 있는 광학 현미경과 전자 현미경(SEM)에 의해 조사된다.

<110> 전형적으로, 고밀도의 입자는 무바늘 주사기 입자 주사에 적합해야 하기 때문에, 입자 제제 및/또는 입자를 수축 (또는 붕괴)시키는 건조 상태가 선호된다. 관습적으로, 최초의 건조 온도보다 낮은 Tg's (glass transition temperature)를 갖는 부형제가 입자를 붕괴시키기 위해 이용되며, 이로 인해 고밀도의 입자가 생성된다. 특정 수분 함량 또는 pH 또는 온도, 및 적절하게 선택된 부형제의 성분을 붕괴시키는 하이드로겔은 고밀도의 입자의 생산을 촉진할 것이다.

<111> **치료**

<112> 본 발명의 다른 측면은 약학적으로 활성인 물질 (약품, 백신, 진단제, 등)을 개체로 전달하는 방법이다. 대체적으로, 방법은 고속의 직접적인 경피 전달에 의해 약학적으로 활성인 물질을 개체로 전달하는 방법으로 기술된다. 보다 자세히 말하자면, 방법은 약학적으로 활성인 물질을 함유하는 하이드로겔을 포함하며, 약 0.1 내지 250 μm , 바람직하게는, 10 내지 100 μm 의 평균 지름을 갖는 고상 입자를 포함하는 약제 조성물의 제조, 전기 입자의 가속화, 및 전기 가속화된 입자를 개체의 표적 표면으로 전달하는 단계를 포함한다.

<113> 전기의 측면을 다르게 기술하자면, 전기 방법은 본 발명의 조성물을 무바늘 주사기를 이용해 투여함으로써 개체의 상태(condition)를 진단, 치료, 또는 예방하는 방법이다. 본문에 사용된 "치료" 또는 "치치"란, 하기 중의 하나를 포함한다: 감염 또는 재감염의 예방; 증상의 완화 또는 제거; 및 병원균의 약화 또는 완전한 제거. 치료는 예방적으로 (감염 전) 또는 치료적으로 (감염 후) 영향을 끼친다.

<114> 조성물은 피부 또는 점막 부위에 있는 선결(predetermined) 지역의 일시적인 헬륨 가스 제트의 에너지를 이용하는 고속전달에 의해 동물의 피부 또는 점막 표적 부위로 전달된다. "선결 지역"이란, 손상받지 않은 본래 그대로의 살아있는 피부 또는 점막 조직 중의 제한된 지역을 의미하며, 일반적으로, 약 0.3 내지 10 cm^2 의 범위에 있다. 그러나, 조성물이 투여되는 표적 조직의 선결 지역은 장치 배열(configuration), 투여량, 및 그 밖의 것들에 의존하여 크게 달라진다. 주사 속도는 일반적으로 100 내지 3,000 m/sec, 구체적으로는, 200 내지 2,000 m/se의 범위에 있다.

<115> 본 발명에 유용한 무바늘 장치에 대한 자세한 기술은 본 발명 이전의 제품에서도 발견된다. 이들 장치는 무바늘 주사기 장치로 언급되었고, 이들 장치 중 대표적인 것에는 진피 PowderJect[®] 무바늘 주사기 장치와

경구 PowderJect[®] 무바늘 주사기 장치 (PowderJect Technologies Limited, Oxford, UK)가 있다. 이들 장치를 이용하여, 치료에 효과적인 양의 약학적으로 활성인 물질을 개체로 전달할 수 있다. 치료에 효과적인 양이란, 바람직한 약학적 효과를 나타내는데 필요한 양을 의미하며, 전달된 물질의 상대적인 활성에 따라 변화되고, 전달된 조성물의 알려진 활성에 기초한 임상 조사를 통해 쉽게 결정할 수 있다. "Physicians Desk Reference"와 "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics"는 효과적인 양을 결정하는데 유용한 정보를 준다.

<116> 입자를 전달하는 무바늘 주사기 장치는 Bellhouse *et al*의 미국특허번호 5,630,796에 최초로 기술되었다 (참고 자료로 본문에 개시). 이용가능한 특이한 장치 배열이 수없이 많이 있지만, 이들 장치는 모두 전형적으로 펜-모양의 기계이다. 꼭대기에서 바닥까지 순서대로 말하자면, 펜-모양의 기계는 가스 실린더, 입자 카세트 또는 팩키지, 및 사일렌서 매체(medium)와 관련되어 있는 초음속의 노즐을 포함한다. 적절한 분말 (본 발명의 경우, 하이드로겔 입자를 포함하는 분말)이 적절한 용기 (예를 들면 두 개의 파열가능한(rupturable) 폴리머 막을 와서(washer)-모양 공간으로 열 봉합함으로써 형성된 카세트)에 담겨진다. 막 재료는 특별 모드의 개방(opening)이 가능하고, 압력에 의해 초음속의 유동을 개시하는 것이 가능한 것으로 선택된다. 장치가 작동을 개시하면, 장치 내의 실린더로부터 확장 챔버(expansion chamber)로 압축된 가스가 분출된다. 분출된 가스는 입자 카세트와 접촉하고, 충분한 압력이 생성되었을 때, 카세트 막이 파열되어 입자를 초음속의 노즐로 분출함으로써 다음 단계의 전달이 진행된다. 노즐은 선결 지역의 표적 표면으로 입자를 전달할 수 있는 특성의 가스 속도와 유동 패턴을 갖도록 설계되었다. 사일렌서는 막 파열에 의한 잡음(noise)을 약화시키기 위해 이용된다.

<117> 입자를 전달하는 두 번째의 무바늘 주사기 장치는 국제공개번호 W0 96/20022에 기술되어 있다. 이 전달 시스템은 압축된 가스 원천의 에너지를 이용하여 분말형 조성물을 가속화시키고 전달한다. 그러나, 이 장치는 입자를 가속화하기 위해 가스 유동을 이용하는 대신 속 웨이브(shock wave)를 이용한다는 점에 미국특허번호 5,630,796의 시스템과는 구별된다. 자세히 설명하자면, 유동적인 돔(dome) 뒤에서 생성된 속에 의한 일시적인 압력이 돔의 뒤쪽(back)을 강타하고, 이로 인해 표적 방향으로 돔의 갑작스런 외반(eversion)이 일어난다. 그리고, 외반에 의해 분말형 조성물이 표적 조직(예를 들면, 경구 부분의 점막 조직)으로 충분한 속도로 발사되게 된다. 분말형 조성물은 돔이 완전하게 외전되는 시점에 분사된다. 그러므로, 돔은 조직과 접촉될 수 없도록, 고압력의 가스 유동을 철저히 포함하고 있어야만 한다. 전달되는 동안에는 가스가 분비되지 않기 때문에, 이 시스템은 고유의 상태를 유지한다. 이 시스템은 보다 민감한 적용 부위, 예를 들면, 침해되기 쉬운 외과 부위로 입자를 전달하기 위해서 이용할 수 있다.

<118> 본 발명의 추가의 측면에서, 하이드로겔 입자가 사용되기에 앞서 팩키지된 일회 단위용량 또는 다용량 용기는 적절한 양의 입자가 들어있는 밀폐된 봉인 용기이다. 입자 조성물은 멸균 제제로 팩키지되었고, 밀폐 봉인된 용기는 그것이 사용되기 전까지는 제제의 무균 상태를 보존할 수 있도록 설계되었다. 필요하다면, 전기에 언급된 무바늘 주사기 시스템에 직접 사용할 수 있도록 용기를 조정할 수 있다.

<119> 본 발명의 분말은 무바늘 주사기를 통해 전달되는 개별의 단위용량으로 팩키지된다. "단위용량"이란, 치료에 효과적인 양의 분말을 의미한다. 단위용량을 포함하는 용기는 일반적으로 무바늘 주사기 장치 안에 꼭 맞도록 제작된다. 용기는 캡슐, 포일 파우치, 새체트(sachet), 카세트, 및 그 밖의 것들이 될 수 있다.

<120> 입자를 포함하는 용기는 조성물의 특성과 관련된 투여 정보를 포함할 수 있다. 또한, 용기는 정부 기관, 예를 들면, Food and Drug Administration에 의해 규정된 형태의 설명서를 포함할 수 있다. 설명서는 제품의 동맹법(Federal law)에 의거하여, 인간으로 투여되는 하이드로겔 조성물의 이용과 판매에 관한 정부 기관의 승인을 포함한다.

<121> 전기에 언급된 무바늘 주사기에 의한 하이드로겔 입자의 전달은 일반적으로 크기가 약 0.1 내지 250 μ m, 바람직하게는, 10 내지 70 μ m 범위에 있는 입자를 이용하여 실용화된다. 약 250 μ m 보다 큰 입자는 표적 표면의 세포에 손상을 줄 수 있으므로 무바늘 주사기의 상위 제한(upper limitation)에 의해 제한된다. 입자가 전달되는 실제 거리는 입자 크기 (예를 들면, 구형의 입자로부터 산출되는 실질적인 입자 지름), 입자 밀도, 입자가 표면과 충돌하는 초기 속도, 표적 피부 조직의 밀도와 운동학의 속도에 따라 변화된다. 이러한 관점에서, 무바늘 주사에 이용되는 최적의 입자 밀도는 일반적으로, 약 0.1 내지 25 g/cm^3 , 바람직하게는, 0.9 내지 1.5 g/cm^3 이고, 주사 속도는 일반적으로 100 내지 3,000 m/sec 범위에 있다. 적절한 가스 압력에서, 10 내지 70 μ m의 평균 지름을 갖는 입자는 노즐을 통해 초음속의 가스 유동에 도달하는 속도까지 가속화될 수 있다.

<122> 필요하다면, 하이드로겔 입자의 적절한 투여량을 미리 적정한 형태의 무바늘 주사기를 생산할 수 있다.

적재된 주사기는 전기에 기술된 바와 같이 추가로 표식(label)될 수 있는 밀폐 봉인 용기에 캡키지된다.

<123> 무바늘 주사기 장치의 실행을 특성화하는 새로운 조사 방법이 다수 개발되거나 또는 변형된 조사 방법으로 확립되었다. 이들 조사 방법은 분말형 조성물의 특성화, 가스 유동과 입자 가속화의 검증, 인위적인 또는 생물학적인 표적과의 충돌 검증, 및 시스템의 완벽한 실행 검증을 위한 것이다. 하기의 조사 방법 모두 또는 그 중 일부를 이용하여 무바늘 주사기 시스템에 대한 본 하이드로겔 조성물의 물리적 적합성과 기능적 적합성을 검증할 수 있다.

<124> 인공적인 필름 표적에 대한 영향력 검증

<125> 분말 주사 시스템의 많은 측면을 측정하는 기능적인 조사는 동시에 "금속화된 필름" 또는 "침투 에너지" (PE) 조사로 지정된다. 그것은 입자가 플라스틱 필름 기질에 의해 지지되는 정밀하고 얇은 금속 층에 주는 손상의 정량적인 검증에 기초한다. 손상은 역학 에너지 및 입자의 다른 특성과 상호 관련되어 있다. 조사로부터의 반응이 높아질 수록 (즉, 필름 손상/파괴가 커질 수록) 장치에서 입자로 전달되는 에너지도 높아진다. 반사(reflectance) 모드 또는 전도(transmission) 모드의 전기적 내성 변화 측정기 또는 화상 농도계는 통제가능하고 재생가능한 조사에서의 장치 실행 또는 제제 실행을 검증하는 신뢰할만한 방법을 제공한다.

<126> 필름 조사-베드는 압력, 투여량, 입자 크기 분포 및 재료 등의 모든 주요한 장치 매개 변수의 입자 전달 변화에 대해 민감하고, 가스에 대해서는 민감하지 않은 것으로 보인다. 약 350Å의 두께로 알루미늄이 피막된 125 μm의 폴리에스테르 지지체가 60 bar 이상에서 작동되는 장치를 조사하기 위해 통상적으로 이용된다.

<127> 공작된 포말 표적에 대한 충격 효과 검증

<128> 무바늘 주사기 장치에 의해 전달되었을 때의 입자 실행을 검증하는 다른 방법은 단단한 폴리메틸이미드 포말에 대한 충격 효과를 측정하는 것이다 (Rohacell 5 IIG, density 53 kg/m³, Rohm Tech Inc., Malden, MA). 본 조사를 위한 실험적 설치(set-up)는 금속화된 필름 조사에서의 경우와 비슷하다. 침투의 깊이는 정밀한 캘리퍼스(calipers)에 의해 측정된다. 각 실험을 위해서, 공정된 마니톨 대조군은 비교 대상이 되고, 장치 압력, 입자 크기 범위, 등의 다른 모든 매개 변수는 일정하게 유지된다. 자료는 본 방법이 입자 크기와 압력의 차이에 민감하다는 사실을 보여준다. 약품의 부형제로 제공된 공정된 마니톨 대조군의 농도는 전임상 실험에서 검증되었고, 그러므로, 포말 투과 조사에서의 상대적인 실행 측정치는 실제적인 *in vivo* 근원을 가진다. 분말은 적절한 실행이 예상되는 실험에서 마니톨과 같은 또는 그보다 높은 투과성을 보여줄 것으로 기대된다. 간단하고 신속한 본 조사는 분말을 평가하는 상대적인 방법과 동일한 가치를 가지며, 단독으로 고려되기를 의도하지 않는다.

<129> 입자 마찰(attrition) 조사

<130> 입자 실행의 추가의 지표는 다양한 후보 조성물이 고속입자주사 기술과 회합하는 힘을 견딜 수 있는지를 조사하는 것이다. 전기의 힘은, 다시 말하자면, 갑작스런 고속 가스 유동과 입자와의 접촉에서 생겨나는 힘, 분말이 무바늘 주사기를 통해 이동하는 동안 입자-입자 간의 충돌에서 생겨나는 힘, 분말이 장치를 통해 이동하는 동안 입자-장치 사이의 충돌에서 생겨나는 힘을 의미한다. 따라서, 초기 조성물과 무바늘 주사기 장치로부터 전달된 후의 조성물 사이의 입자 크기 분포의 변화를 측정하는 간단한 입자 마찰 조사법이 고안되었다.

<131> 조사는 입자 조성물을 전기에 기술된 바와 같이 무바늘 주사기에 적재한 다음, 장치를 특정 성분 (예를 들면, 미네랄 오일, 실리콘 오일, 등)만은 용해되지 않은 담체 유동액을 포함하는 플라스크로 발사함으로써 실시된다. 담체 유동액이 수집되고, 초기 조성물과 발사된 조성물에서의 입자 크기 분포가 적절한 입자 크기 분류 기구, 예를 들면, AccuSizer[®] model 780 Optical Particle Sizer,를 이용하여 측정된다. 장치 작동 후, 평균 지름이 약 50% 이하, 보다 바람직하게는, 약 20% 이하로 감소되었음이 증명된 조성물은 전기에 기술된 무바늘 주사기 시스템에 이용 가능한 것으로 판단된다.

<132> 인간 피부 *in vitro*로의 전달 및 경피 수분 손실

<133> 궁극적인 실제의 이용과 보다 밀접한 관련성을 갖는 조성물 실행 조사를 위해, 후보 입자 조성물은 완전한 두께의 인간 하복부 피부 시료인, 피부판(dermatome)으로 주사될 수 있다. 주사 후에 복제된 피부 시료는 32°C의 물과 생리적 살린 또는 완충액(buffer)을 포함하는 변형된 프랜즈 확산 세포 위에 놓여진다. 계면 활성제 같은 첨가물은 확산 세포 성분과 결합하는 것을 막기 위해 이용된다. 두 가지 종류의 측정으로 피부에서의 제제의 실행을 검증하였다.

<134> 물리적 효과, 즉, 피부의 방어막 기능에 대한 입자 주사의 효과,를 측정하기 위해, 경피 수분 손실 (TEWL)을 측정할 수 있다. 측정은 ~ 12 mm 침니처럼 작용하는 확산 세포의 캡(cap) 꼭대기에 놓여진 평형상태 (약 1 시간)에서 Tewameter TM 210[Ⓢ] (Courage & Khazaka, Koln, Ger)를 이용하여 수행된다. 거대 입자와 높은 주사 압력은 비례적으로 *in vitro* TEWL 수치를 높이고, 이것은 *in vivo* 결과와 상호 관련된 것으로 보인다. 입자 주사의 *in vitro* TEWL 수치는 입자 크기와 헬륨 가스 압력에 따라서 약 7 내지 27 (g/m²h)로 증가된다. 분말을 포함하지 않은 헬륨 주사는 아무런 효과도 나타내지 않았다. *In vivo*에서, 일반적인 크기의 입자에 있어서의 피부 방어막 특성은 TEWL이 한 시간 안에 전처리 수치로 회복됨에 따라 정상으로 재빠르게 회복된다. 53 내지 75 μm의 거대 입자에 있어서, 피부 시료는 한 시간 후에 50%가 회복되었고, 24 시간이 되어서야 완전한 회복되었다.

<135> 인간 피부 *in vitro*로의 전달 및 약품 확산 속도

<136> *in vitro*에서의 제제 실행을 측정하기 위해, 후보 조성물의 활성 (객원) 성분은 선결된 시간 간격마다 프랜즈 세포 수여 용액과의 교체에 의해 수집되어, HPLC 또는 다른 적합한 분석 기술을 이용하여 화학적으로 분석된다. 농도 자료를 통해 전달 프로필을 생성하고 정지 상태(steady state)의 투과 속도를 계산할 수 있다. 본 기술은 제제의 선별을 위해 이용되어, *in vivo* 연구에 앞서, 피부와의 약품 결합, 약품 용해, 각질층에 대한 입자의 투과 효능을 미리 확인할 수 있게 한다.

<137> 이들 및 다른 정량적이고 정성적인 조사는 고속입자주사 장치에 있어서 본 발명의 하이드로겔 입자 조성물이 물리적 및 기능적 적합성을 갖는지를 검증하기 위해 이용된다. 하이드로겔 조성물에 있어, 하기의 특성은 선호되지만, 필수적이지는 않다: 구형의 모양 (예를 들면, 가능한 1에 가까운 측비); 매끄러운 표면; 활성 물질의 고 적재량 (예를 들면, 80% 또는 90% 이상); 입자 마찰 조사 결과, 20% 이하의 감소; 성분의 실제 밀도에 가까운 외피 밀도 (예를 들면, 약 0.8 g/mL 이상); 및, 약 20 내지 50 μm의 MMAD. 조성물은 자유 유동적일 수 있다 (예를 들면, 50% 상대 습도에서 8시간 동안 방치된 후의 자유 유동과 40% 상대 습도에서 24 시간 동안 방치된 후의 자유 유동). 전기의 요소 모두는 전기에 기술된 방법을 이용하여 검증할 수 있고, 하기의 출판물에서 추가로 구체화되었다. Etzler *et al* (19950 *Part. Part. Syst. Charact.* 12: 217; Ghadiri, *et al* (1992) *IFPRI Final Report, FRR16-02 University of Surrey, UK*; Bellhouse *et al* (1997) "Needleless delivery of drugs in dry powder form, using shock waves and supersonic gas flow", Plenary Lecture 6, 21st *International Symposium on Shock Waves, Australia*; and Kwon *et al* (1998) *Pharm. Sci. suppl.*, 1 (1), 103, 본문에 참고 자료로 개시하였다.

실시예

<140> 하기의 실시예는 추가적으로 본 발명을 자세히 설명하기 위한 것일 뿐, 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하고자 함이 아님을 분명히 밝혀둔다.

<141> C. 실험

<142> 하기는 본 발명의 방법을 수행하는 특별한 실시태양의 실시예이다. 실시예는 오직 구체적인 설명을 위하여 제공되었고, 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하고자 함이 아님을 분명히 밝혀둔다.

<143> 정확성(예를 들면, 양, 온도, 등)을 높이기 위해 수많은 노력을 기울였지만, 약간의 실험적 오류와 편차(deviation)는 허용되었다.

<144> 실시예 1

<145> 본 실시예의 목적은 인슐린이 적재된 본 발명의 분말형 아가로스 비드 조성물을 생쥐에 투여한 후의 인슐린 전달의 실행을 평가하고, 동결 건조된 아가로스 비드 인슐린 분말형 제제 대조군을 투여(피하 주사)한 후의 상대적인 인슐린 실행을 비교하는 것이다. 전체적인 접근은 분말형 인슐린 제제 1mg을 진피 PowderJect[Ⓢ] 무바늘 주사기 장치 (PowderJect Technologies, Limited, Oxford, UK)를 이용하여 마취된 쥐에게 투여하는 것이다. 본 발명의 두 가지 아가로스 비드 조성물은 감압 동결건조된 인슐린 분말형 제제 대조군과 비교되었다. 동맥혈 시료는 여러 투여량을 투여한 후에 정기적으로 수집되어 글루코스와 인슐린 농도가 결정되었다. 경피

입자주사 투여 후의 인슐린 약제역학과 글루코스 동역학은 하기의 피하 주사 결과와 비교되었다.

<146> 다공성의 사일렌서 슬리브를 장착한 single phase 1 clinical PowderJect needleless syringe, 12° 코니칼 노즐 (11.7 mm exit bore), 5 mL 가스 여과장치, 및 0.5 mL 럽처 챔버(rupture chamber)가 전체의 실험에서 이용되었다. 가스 드라이버 압력은 60 bar로 일정하게 유지되었다.

<147> **I. 인슐린 제제**

<148> 분말형 아가로스 비드 및 감압 동결건조된 인슐린 제제 대조군은 무바늘 주사기 장치에 의해 투여되었다. 인슐린 용액은 피하 주사를 위해 신선하게 준비되었다.

<149> **A. 감압 동결건조된 제제 대조군**

<150> 부피가 큰(bulking) 부형제로서 모노 및 다이소듐 하이드로젠 포스페이트 (이론적인 pH 7.7) 혼합액 속에 0 µg/mL과 100 µg/mL의 인간 인슐린 (26.9 U/mg, Diosynth BV, 5340 BH Oss, Netherlands)을 포함하는 감압 동결건조된 분말형 제제는 하기와 같이 공정되었다: 분말은 카버 프레스를 이용하여 15,000 lbs./sq. inch for 45 sec. 에서 각각 0.3 내지 0.4 g인 3개의 디스크로 압축되었다. 디스크는 막자와 막자 사발을 이용하여 분쇄되어 미세한 백색 분말로 생성되었다. 약 1g의 분말이 38 µm, 53 µm, 및 75 µm의 세 개의 망에 의해 체질(sieve)되었다 (Fritsch Analysette 28 sonic sieve). 체질 프로그램은 4 분 이상 0 내지 40% 진폭(amplitude)되었고, 5분 동안 40% 진폭, 1 분 이상 40 내지 0% 진폭되었다 (총 운영 시간 10 분). 체질된 분말은 공기가 통하지 않는 폴리프로필렌 병 (Nalgene®)에 담겨져 2 내지 8°C에 보관되었다.

<151> **B. 본 발명의 아가로스 비드 조성물**

<152> 분말형 아가로스 비드 제제는 PowderJect Technologies, Limited.에서 제공하는 돼지 인슐린 (26.9 U/mg, Diosynth BV, 5340 BH Oss, Netherlands)을 이용하여 제조되었다. 두 가지의 제제가 본 연구에 포함되며, 두 제제 모두 약 100 µg/mL의 돼지 인슐린을 포함한다 (표 1). 각 경우에서, 제제는 건조 비드를 100 µg/mL 인슐린 용액에서 수화시키고, 인슐린이 적재된 비드를 건조함으로써 제조되었다.

<153> **표 1 - 본 연구에서 평가된 아가로스 비드 인슐린 제제**

군(batch) 번호	함량 (w/w)
CG 0904	돼지 인슐린 13%, 텍스트란 63%, 아가로스 24%
CG 0920	돼지 인슐린 10%, 아가로스 90%

<155> **C. 피하 투여되는 인슐린 용액**

<156> 포스페이트 완충액 내에 1% w/w의 분말형 인슐린을 포함하는 분말형 제제 10 mg을 2 mL의 보통 플라스크에 담았다. 플라스크는 보통의 살린으로 부피가 조정된 다음, 완전히 용해될때까지 가볍게 혼합되었다. 용액 0.2 mL은 10 µg의 인슐린을 포함한다.

<157> **II. 약품 카세트의 제조**

<158> 분말형 제제 (질 IA와 IB)는 5-데시말-플레이트 저울에서 정확하게 1 mg (±10%)이 정량되어, 20 µm 폴리카보네이트 막을 포함하는 7-조각의 연구용 약품 카세트 (Plasro 2)에 탑재되고, 탑재된 실제 포장 질량이 각 카세트에 기록된 다음, 2 내지 8°C에 저장되어 사용하기 전까지 물리적 이동으로부터 보호되었다. 사용하기 전에는 약품이 탑재된 카세트를 상온에 미리 꺼내둔다.

<159> **III. 조사 동물 준비와 투여량**

<160> 300 g ±10% 무게의 Sprague Dawley 쥐 (Charles River)는 신선하게 준비된 FFM 혼합액 (Hypnovel®),

Hypnorm[Ⓢ], 및 WFI, 1:1:2 v/v/v) 1 mL을 IP 주사함으로써 마취되었다. 쥐의 오른쪽 복부 아래쪽의 중앙으로부터 1 cm 지점의 피부 (약 9 cm²)는 이발기와 고성능의 일회성 안전 면도기를 이용하여 면도되고, 세척한 다음, 면 걸레로 가볍게 두드리며 건조시켰다. 오른쪽 경동맥이 외과적으로 분리되었고, 폴리에틸렌 튜브로 캐놀러된 다음, 캐놀러는 헤파린이 첨가된 살린 (10 U/mL)으로 채워진 주사기와 3 갈래 탭을 통해 연결되었다.

<161> 마취는 FFM 혼합액을 매 45 분마다 또는 필요시마다 0.5 mL씩 i.p. 주사함으로써 유지된다. 직장 온도는 K-Temp[Ⓢ] 직장 탐침과 자동 온도 조절 장치를 이용하여 실험이 진행되는 동안 35 내지 38 °C로 유지되었다.

<162> 쥐는 수술 후, 투여하기 전에 적어도 15분 동안 평형화되었다.

<163> **A. 피하 투여량**

<164> 투여량 (0.2 mL, 절 IC)은 마취된 쥐 여섯 마리의 왼쪽 복부 이하의 피부 주름 아래로 26G 바늘이 달린 1 mL 주사기를 통해 투여되었다.

<165> **B. 진피 입자 주사 (DPJ) 투여량**

<166> 약품 카세트 (절 IB)는 phase 1 needleless syringe (Powderject device, 절 1.1)로 적재되었다. 적재된 장치는 즉시 쥐 복부의 면도된 부위에서 작용된다. 각 제제는 넷 또는 다섯 마리의 쥐에서 검증되었다.

<167> **IV. 혈액 샘플링**

<168> 혈액 시료 (0.4 mL)는 투여 후 동맥 캐놀러를 통해 1 mL 일회용 주사기로 10, 20, 40, 60, 120, 및 240 분 전에 수집되었다. 그리고, 실험이 진행되는 동안 혈액 부피의 감소를 최소화하기 위해, 0.25mL의 살린 (및 약간의 혈액)을 개별의 주사기에 적재하여 즉시 쥐에게 투여하였다.

<169> 혈액 시료는 즉시 헤파린이 첨가된 1.5 mL의 폴리프로필렌으로 옮겨진 다음, 마이크로원심분리기에서 원심분리되었다 (2 분, 9000 rpm). 혈장을 버린 다음, 수집 후 7일 이내에 행해질 다음의 분석을 위해 2 내지 8°C에 보관되었다.

<170> **V. 혈장 시료의 분석**

<171> 각 시료의 인슐린 농도가 방사선면역분석 키트 (Coat-a-Count[Ⓢ] DPC, Los Angeles, CA 90045)를 이용하여 분석되었다. 키트는 제작자의 지시 사항에 따라 하기처럼 변형되어 이용되었다:

<172> 대조군 (0.1, 0.3, 1, 3, 10, 20, 40, 및 80 ng/mL)은 스파이킹 블랭크(spiking blank)되고, 탈인슐린화된 쥐의 혈장을 이용하여 신선하게 제조되었다. 전기 혈장은 제제를 제조할 때 이용된 것과 같은 인슐린 (돼지 또는 인간)의 보관 용액이다 (절 1.2).

<173> 배양은 쥐의 시럼(serum) 성분에서 의해 촉매되는 방사선 분해를 저해하기 위해 2 내지 8°C에서 수행되었다.

<174> 이와 같은 조건에서, 0.3, 5, 및 40 ng/mL의 변이 계수는 각각 12%, 4%, 및 8%이다. 일주일 이상 2 내지 8°C에 보관된 대조군 시료에서는 분해가 관찰되지 않았다.

<175> **VI. 인슐린 제제의 분석**

<176> **인슐린 함량**

<177> 분말형 인슐린 제제는 안정화하는 완충액 내에서 0.1 내지 1 mg/mL의 인슐린 농도로 정확하게 재구성되었다. 이들 용액은 즉시 유리로 된 HPLC 자동샘플장치 바이알로 옮겨진 다음, 분석에 이용될 때까지, 하지만 72 시간을 넘지 않도록 6°C에 보관되었다.

<178> 분석은 Genesis 카트리지 컬럼 (15 em, C18, 4 gm, 300 Å)이 장착된 Hewlett Packard 1100 HPLC 시스템에서 전기에 기술된 방법에 따라 수행되었다 (L. J. Janis *et al* 1996). 인슐린 피크는 분해와 집성 (aggregation) 산물로부터 깨끗하게 분리되었다.

<179> 시료의 인슐린 농도는 0.1 내지 1 mg/mL의 인슐린을 포함하는 신선하게 준비된 인슐린 대조군 용액 (제제에 이용된 것과 동일한 균(batch))으로부터 작제된 기준 곡선의 피크 면적에 의해 계산되었다. 기준 곡선은 선형 ($r^2 > 0.999$)이고, 전기의 결과는 1.5 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도 조건에서, 변이 계수와 정확성은 각각 1.7%와 2.3%이다.

<180> 각 분말형 제제의 분석 함량은 $\mu\text{g/mL}$ 인슐린으로 표현되었다.

<181> **B. 입자 크기 범위 분석**

<182> 각 분말형 제제 시료는 건조 분말 분산 시스템이 장착된 Amherst Process Instruments Aerosizer LD를 이용하여 입자 크기 범위 분포가 분석되었다. 부피 분포 자료는 기하 지름을 통해 분석되었다.

<183> **VII. 약제역학 분석**

<184> 투여 후의 전체 혈장의 인슐린 농도는 각 시간에서 측정된 농도로부터 투여-전 시료 ($t=0$)의 농도를 공제함으로써 계산되었다.

<185> **A. 투여량의 계산 (X_0)**

<186> DPJ를 통해 투여된 인슐린의 양이 개별의 카세트에 적재된 제제 질량 (mg)으로 곱해진 분말형 제제의 분석된 인슐린 함량에 따라 각 쥐에서 계산되었다.

<187> 피하로 투여된 인슐린의 양은 적재된 분말 질량 (mg)으로 곱해지고, 재구성된 부피 (mL)로 나누어진 분말형 인슐린 제제의 분석된 인슐린 함량 (절 IC) ($\mu\text{g/mg}$)에 따라 각 쥐에서 계산된 다음, 0.2 mL로 곱해졌다 (주사에 의해 투여된 부피).

<188> 약제역학적 계산을 위하여, 투여량은 $\mu\text{g/kg}$ 몸무게로 표현되었다.

<189> **B. 혈장 인슐린 농도 vs. 시간 곡선 아래의 면적 계산 (AUC)**

<190> 각 쥐에 대한 전체 AUC는 0 분에서 240 분까지 전체 혈장 인슐린 농도 vs. 시간 프로필로부터 사다리꼴 법칙에 의해 계산되었다.

<191> **C. 상대적인 생체 이용률 계산**

<192> 피하 투여에 적절한 DPJ (BA_{rel}) vs. 인슐린 전달의 생체이용률 (BA_{rel})이 기본적인 방정식에 의해 계산되었다.

<193>
$$BA_{rel} = (Net\ AUC_{DPJ} / X_{0\ DPJ}) / (Net\ AUC_{SC} / X_{0\ SC})$$

<194> **VIII. 결과**

<195> 각 제제의 상대적인 약학적 특성은 표 2에 나타난다. 분석된 인슐린 함량은 명목상의 인슐린 함량에 비해 24% (CG 0904)만큼 변화되었으며, 명목상의 인슐린 함량은 287 내지 421 $\mu\text{g/kg}$ 인슐린 범위의 DPJ를 통한 투여량이다.

<196> **표 2**

<197>

제제	명목상의 인슐린 함량 ($\mu\text{g/mg}$)	분석된 인슐린 함량 ($\mu\text{g/mg}$)	평균 X_0 ($\mu\text{g/kg}$)	입자 크기 분석		
				D_p (μm)	$D_{10}-D_{90}$ (μm)	분말 (<25 μm)
피하 투여량	NA	8.7*	28.3	NA	NA	NA

감압 동결건조된 대조군:						
위약 (플라시보)						
인슐린 10% w/w	0	0	0	NA	NA	NA
아가로스 비드:	100	88.3	287	41	30-57	3.3
CG 0904	130	99	353	55	44-68	0.3
CG 0920	100	122	421	44	30-62	3.6
* - SC 투여량으로 재구성된 분말의 분석된 인슐린 함량 NA - 적용 불가능함						

<198> 각 쥐에 대한 방사선면역분석과 혈장 농도 자료는 본문에 개시하지 않았다. DPJ를 통해 4 가지의 분말형 제제를 투여한 후의 평균적인 전체 혈장 인슐린 농도 vs. 시간 프로파일은 피하 투여와 비교되어 도 1에 보여진다. 위약을 투여한 쥐의 그룹에서, 혈장 인슐린 농도는 실험이 진행되는 동안 일정하게 유지되었다. 이 사실은 실험이 진행되는 동안 마취된 쥐가 생리적인 안정성을 나타낸다는 표식을 제공한다. 평균 시간이란 모든 DPJ 및 피하 그룹이 10 내지 30 분의 범위에서 최대의 혈장 농도 (T_{max})에 도달하는데 걸리는 시간이다 (표 3).

<199> 감압 동결건조된 분말형 제제 대조군을 투여한 후의 평균적인 최대의 혈장 인슐린 농도 (C_{max})는 9.3 ng/mL이며, 이것은 아가로스 제제 CG 0920 (인슐린/아가로스)의 14 ng/mL 및 아가로스 제제 CG 0904 (인슐린/텍스트란/아가로스)의 26 ng/mL과 비교되었다. 모든 실험적인 그룹에서, 혈장 인슐린 농도는 4 시간 내에 기준 수치로 회복되었다.

<200> DPJ를 통해 투여된 인슐린의 전체 AUC 자료와 계산된 평균의 상대적인 생체 이용률 (BA_{rel})은 표 3에서 보여진다. 감압 진공건조된 분말형 제제 대조군은 15.6%의 BA_{rel}을 갖는다. 높은 C_{max}에도 불구하고, 아가로스 제제 CG 0920 (인슐린/아가로스)는 인슐린 전달에서 아무런 향상도 나타내지 않았다. 그러나, 아가로스 제제 CG 0904 (인슐린/텍스트란/아가로스)의 BA_{rel}은 34%로, 대조군에서 관찰된 것보다 두 배 정도 높았다. 이 제제를 이용하여, 변이 계수 (CV)에 의해 측정된 내부-동물 변이성은 피하 투여 후에 관찰된 것과 비교되었다 (19% vs. 24%).

<201> 표 3 - 피하 투여 후의 것과 비교된 DPJ에 의해 전달된 인슐린의 약제역학 매개 변수 (대조군과 아가로스 비드 제제)

<202>

제제/ 경로	X ₀ (µg/kg)	T _{max} (min)	C _{max} (ng/mL)	전체 AUC (ng.min/mL)	BA _{rel} (CV, %)
피하 (n=6)	28.3±2.7	10±0	4.56±1.69	425 ±102	100% (24)
대조군 (DPJ, n=6)	287 ±17	30±0	9.28±1.90	674 ±226	15.6% (34)
CG0904 (DPJ, n=5)	353 ±13	22±11	25.8±4.8	1800±341	34.0% (19)
CG0920 (DPJ, n=5)	429 ±35	18±4	14.0±10.3	675 ±338	10.5% (50)

<203> 모든 자료는 평균±SD로 표현

<204> 본 발명의 아가로스 비드 제제는 전신 순환계로의 인슐린 전달에 효과적인 것으로 보인다. 아가로스는 불용성이고, 제제 질량의 약 90%를 차지하기 때문에, 흡수는 아가로스 제제 CG 0920에서 연장될 것으로 기대되었다. 그러나, 낮은 BA_{rel}과 관찰된 혈장 인슐린 프로파일의 커다란 변이성이 적재된 인슐린의 분비는 변화하기 쉽다는 사실과 일단 제제가 피부로 투여되고 나면 인슐린의 분비가 효과적이지 않다는 사실을 제한함에도 불구하고

하고, 기대하는 결과는 나타나지 않았다.

<205> 초기에, 아가로스 제제 CG 0904와 관련된 인슐린 전달에서의 주목할만한 향상은 커다란 입자 크기에서 기인하는 것으로 사료되었고, 또한, 입자 크기는 증가된 BA와 상호 관련하는 것으로 사료되었었다. 현재, 비드로의 텍스트란 첨가가 건조되는 동안의 균열을 예방하며, 또한 입자 실행을 향상시킨다는 사실이 증명되었다.

실시예 2

<207> 본 실시예는 본 발명의 조성물과 그것의 제조 방법을 지정한다. 특정의 활성 물질 (객원 물질)은 락테이트 디하이드로게나아제 (LDH)이고, 하이드로겔은 아가로스 (Bio-Gel A15M)이다.

<208> 락테이트 디하이드로게나아제 (LDH)는 Sigma Chemicals (L1254; Lot 96H9568)에서 구입하였다. Bio-Gel A15M은 Bio-Rad (Cat. No. 151-1050)에서 20 내지 150 μm의 MMAD를 갖는 분말 형태로 구입하였다. LDH 활성은 종점 열량 측정 분석 (endpoint calorimetric assay) (Sigma No. 500)을 이용하여 측정하였다. 다른 모든 시약은 Fisher Scientific에서 ACS-등급 또는 그 이상의 것으로 구입하였다.

<209> Bio-Gel A15M 수지는 물로 세척하여 방부제를 제거한 다음, 일회용 1 x 10 cm 컬럼으로 최종 컬럼 부피가 약 5 mL이 되도록 주입되었다. 컬럼은 5% (w/v)의 마니톨을 함유하는 pH 6의 소듐 시트레이트 5 mL로 평형화되었다. LDH는 같은 완충액에 2 mg/mL로 용해되었고, 이 중 5 mL을 컬럼에 적용여 완전히 침투시켰다.

<210> 수지는 컬럼으로부터 제거되어 감압 진공건조된 다음, 물에 재현탁되어 컬럼으로 다시 주입되었다. 그런 다음, 5 mL의 완충액으로 컬럼을 용출하였다. 본래의 LDH 용액 또한 감압 동결건조된 다음, 본래 부피의 물에 재용해되었다.

<211> 각 용액의 단백질 농도는 Hewlett-Packard UV-VIS 분광광도계를 이용하여 280 nm에서 측정된 흡광도에 의해 결정되었다. LDH 활성 분석은 NADH 존재에서 피루빅 산이 락틱 산으로 변환하는 사실에 기초한다. 잔류하는 피루빅 산은 1,4-다이니트로페닐하이드레진으로 처리되어 유색 산물을 생성한다. 형성된 색의 흡광도는 LDH 활성에 반비례한다. LDH 특이적 활성은 280 nm에서의 흡광도 ("단백질 농도")를 442 nm에서의 흡광도 ("효소적 활성")로 나누어 계산한다.

<212> 용액을 감압 동결건조하여 수득한 LDH는 초기 물질의 98%에 대한 특이적인 활성을 갖는다. 아가로스 비드로부터 용출된 재료는 초기 물질의 약 40%에 대한 특이적인 활성을 갖는다. 이것은 시험적인 연구이며, 분석 기술을 최적화하지도 않았다. 측정된 시료는 모두 매우 높은 LDH 활성을 가지며, 기준 곡선의 꼭대기에 위치한다. 이것은 효소가 아가로스 비드 내에 적재되어 감압 동결건조되고, 활성을 가진 상태로 수득된다는 사실을 필수적으로 보여준다.

실시예 3

<214> 두 가지의 칼시토닌 제제: 칼시토닌/트레할로스/마니톨 (8/52/마니톨, q.s.a.d. ±3%의 폴리(N-이소프로필아크릴아미드))은 20%의 전체 고체 농도를 갖는 하이드로겔 모델로서 이용된다. 액상 제제 (10 mL)는 초음속 분무 시스템 (주파수 60kHz)을 이용하여 액체 질소 트레이로 분무되었다. 결과로 생성된 얼음 방울(ice drop)/액체 질소 혼합액은 -50℃로 예냉된 동결 건조기에 적용되었다. 건조기는 1 시간 내에 -25℃로 보온된 후, 최소 0.1 mbar까지 낮아진 압력 상태에서 한 시간 동안 -25℃를 유지하였다. 최초의 건조는 변화되는 온도 프로필 (30 시간을 통해 -25℃에서 0℃까지 증가)에서 계속된다. 최초의 건조의 마지막에서, 온도는 한 시간 내에 20℃로 증가되고, 두 번째 건조가 진행되는 별도의 20 시간 동안 20℃를 유지한다. 건조 후, 같은 시료 질량을 갖는 두 가지 분말형 제제의 부피가 비교되어 제제를 함유하는 하이드로겔이 더 작은 부피를 갖는다는 사실, 즉 고도의 입자 밀도를 갖는다는 사실을 보여주었다.

실시예 4

<216> 객원 물질이 텍스트란 비드 (본 발명의 조성물에 존재하는 하이드로겔 담체 입자로서 제공)로 적재되는 정도와 수용성 환경에서 적재된 활성 물질이 하이드로겔로부터 추출되는 정도를 검증하기 위해, 하기의 연구가 수행되었다.

<217> 황산화되고, 4% w/v 교차 연결된 텍스트란 비드는 Sigma (나훔, St. Louis MO, Catalogue No. D-5650, Lot No. 111H9575)에서 구입하였다. 인슐린은 Akzo Novel (SIPP584)vLysozyme에서 구입한 다음, 1.5% 아세트산 용액에 용해시켜서 적재 용액을 만들었다. 적재 용액의 농도는 10.10 mg/mL이다. 적재 용액 중 4.199g을 수화된 텍스트란 비드 4.155g으로 첨가하여 현탁액을 만든 다음, 잘 혼합한 후, 상온에서 1 시간 동안 평형화하였다. 적재 공정 후, 비드를 적재 용액으로부터 분리하였고, 적재 용액에서 단백질 농도가 분석되었다. 그런 다음, 비드를 동결 건조하였다.

<218> 건조된 비드는 수용성의 추출 용액으로 첨가되었고, 추출 용액에서 단백질 농도가 분석되었다.

<219> 추출 용액 뿐만 아니라 초기 용액과 잔류된 적재 용액에서의 인슐린 농도가 BioRad (Richmond, CA) UV detector를 이용하여 결정되었다. 기준 곡선 (UV 흡광도 vs. 인슐린 농도)은 4.41 내지 10.10 mg/mL 범위에서 다양한 농도의 인슐린 용액에서 UV 흡광도를 측정함으로써 생성되었다. 다양한 용액의 인슐린 농도는 기준 곡선의 외삽법에 의해 결정되었다.

<220> 연구의 결과, 초기 적재 용액은 42.4 mg의 인슐린을 포함하는 반면, 텍스트란 비드와 1시간 동안 평형화된 후의 적재 용액은 3.2 mg의 인슐린을 포함하는 것으로 발견되었다. 적재된 비드를 감압 동결 건조하여 25%의 적재된 인슐린 백분율, 결과적으로 92%의 적재 효율이 계산되었다. 추출 용액은 31 mg의 인슐린을 포함하며, 적재된 텍스트란 비드로부터의 79% 회복 백분율을 제공한다.

<221> **실시예 5**

<222> 하이드로겔 담체 입자로 부가적인 단백질 객원 물질을 함유시키는 본 발명의 다중-적재 방법의 이용성을 증명하기 위하여, 하기의 연구가 수행되었다.

<223> 4% 아가로스 비드 (XC Corporation, Lot# XB219)와 8% 아가로스 비드 (XC Corporation, Lot# XB138)는 하이드로겔 담체 시스템으로 이용하기 위해 구입하였다. 돼지 인슐린 (Akzo Nobel, Lot SIPP 584)은 객원 물질로서 이용되었다. 아가로스 비드는 밤새도록 감압 동결건조하여 (VirTis Sentry™ Model 3+ES 동결 건조 기구를 이용), 건조된 아가로스 비드를 수득하였다. 건조된 비드는 포화된 돼지 인슐린 용액 (1% 아세트산 용액에 25 mg/mL을 포함)과 결합되어 재수화되고, 현탁액은 평형화되었다. 그런 다음, 적재된 입자를 적재 용액으로부터 분리하고, 적재된 (재수화된) 비드를 건조하기 위해 48 시간 동안 감압 동결건조하였다. 이것으로 최초의 적재가 완결되었다. 그런 다음, 건조된 최초의 비드를 이용해 전기의 기술을 반복함으로써, 2차 적재를 완결하였다 (적재# 2). 건조된 2차 비드는 같은 방법으로 적재 용액에 첨가되고, 적재# 3 내지 5가 되도록 실험을 반복한다. 각 적재 반복으로부터의 비드는 추출 용액으로 첨가되고, 최초(#1)와 2차(#2 내지 #5) 적재의 인슐린 함량이 역상 HPLC (Shimadzu VP HPLC)을 통해 결정된다. 비처리된 비드 (#0) 또한 HPLC를 통해 분석되어 음성 대조군으로 이용되었다.

<224> 4% 비드의 연구 결과를 하기의 표 4와 도 2에 나타내었다. 8% 비드의 연구 결과는 하기의 표 5와 도 3에 나타내었다. 이론적인 계산으로 얻은 단일 적재 단계를 통해 적재된 인슐린의 최대 %는 4% 아가로스 비드의 경우 37.5%이고, 8% 아가로스 비드의 경우 22.3%이다.

<225> **표 4**

적재 #	적재된 인슐린 %	대조군 (Std. Dev.)	% CV
0	0	0	0
1	36.32	0.2	0.5
2	49.24	1.2	2.4
3	59.15	0.6	1.1
4	63.28	2.4	3.8
5	68.65	0.6	0.9

표 5

적재 #	적재된 인슐린 %	대조군 (Std. Dev.)	% CV
0	0	0	0
1	23.08	0.1	0.5
2	49.65	0.3	0.7
3	52.08	0.7	1.3
4	56.61	0.4	0.6
5	64.42	1.1	1.7

<229> 이들 결과에 의해 보여지는 것과 같이, 본 발명의 다중 (반복적인) 적재 방법은 건조 중량에 기초하여 입자 당 최대량의 약품을 적재하는 적절한 방법을 제공한다.

<230> 모든 출판물과 본 명세서에서 언급한 특허 출원은 개별적인 출판물 또는 특허 출원이 특이적으로 그리고 개별적으로 참고 자료로 개시되었음을 나타낸 것과 같은 정도로 본문에 참고 자료로 개시하였다.

<231> 이상에서 완전하게 기술된 본 발명에 있어서, 부록된 청구항의 의미 또는 영역을 크게 다르게 하지 않는 많은 변화와 수정이 가능할 것이라는 건 당 업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.

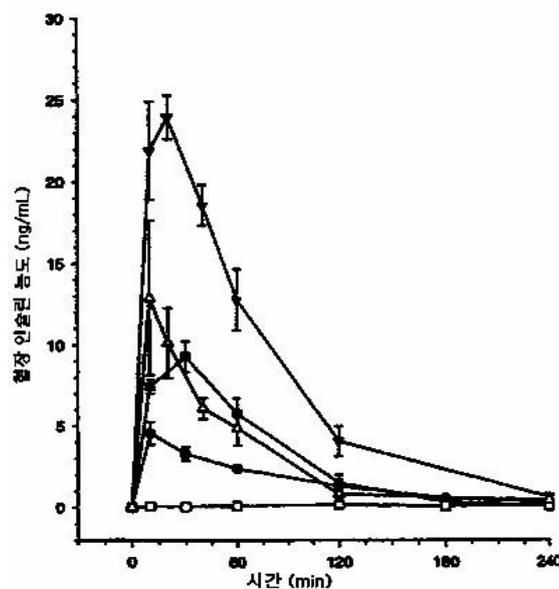
도면의 간단한 설명

<138> 도 1은 감압 동결건조된 대조군(standard) 제제 (■, 287 µg/kg), 아가로스 비드 제제 CG0904 (▼, 353 µg/kg), 아가로스 비드 제제 CG 0920 (△, 421 µg/kg), 및 위약(placebo) 제제 (? , 0 µg/kg)를 진피에 입자 주사(DPJ) 투여한 후에 결과로서 나타나는, 실시예 1에서 수득한 평균값(±S.E.)의 혈장 인슐린 농도 대 (vs) 시간 프로필을 나타낸다. 피하 인슐린 투여 (●, 28.3 µg/kg)는 비교를 위해 나타내었다.

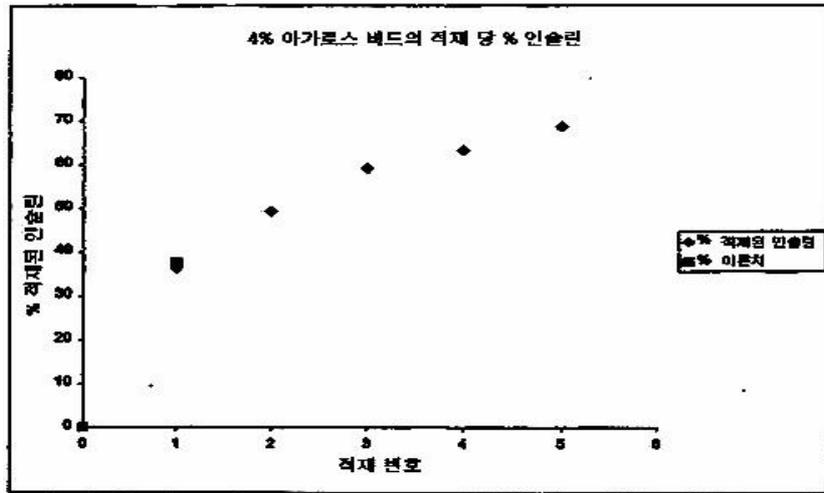
<139> 도 2와 도 3은 실시예 5의 4% 아가로스 비드와 8% 아가로스 비드에 적재된 인슐린의 백분율 (◆)을 나타낸다. 이론적으로 가능한 적재 백분율 (■) 또한 나타내었다.

도면

도면1



도면2



도면3

