

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2024년 5월 2일 (02.05.2024)

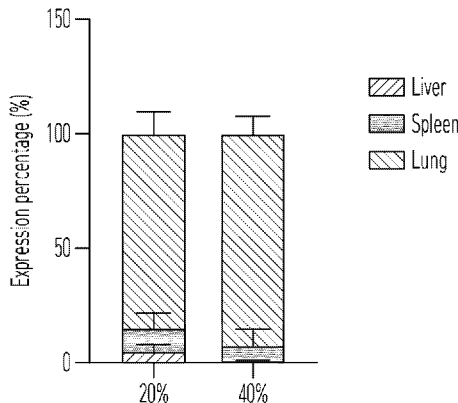


(10) 국제공개번호
WO 2024/091037 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 9/51 (2006.01) A61K 31/7088 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) A61P 11/00 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2023/016792
- (22) 국제출원일: 2023년 10월 26일 (26.10.2023)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2022-0140249 2022년 10월 27일 (27.10.2022)KR
- (71) 출원인: 에스티팜 주식회사 (ST PHARM CO., LTD.)
[KR/KR]; 15086 경기도 시흥시 협력로 231, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 김경진 (KIM, Kyungjin); 06170 서울특별시 강남구 영동대로 520, 7층, Seoul (KR). 양주성 (YANG, Joosung); 15610 경기도 안산시 단원구 해안로 171, Gyeonggi-do (KR). 이혁진 (LEE, Hyukjin); 06557 서울특별시 서초구 방배로37길 26-9, Seoul (KR). 김민정 (KIM, Minjeong); 05119 서울특별시 광진구 광나루로56길, Seoul (KR). 정예희 (JEONG, Michaela); 02531 서울특별시 동대문구 사가정로 122, Seoul (KR). 이경석 (LEE, Gyeongseok); 01437 서울특별시 도봉구 도봉로127길 43-38, 201호, Seoul (KR). 이예지 (LEE, Yeji); 13643 경기도 성남시 수정구 위례순환로 211, 5407동 1203호, Gyeonggi-do (KR). 박정은 (PARK, Jeongeun); 05307 서울특별시 강동구 양재대로131길 16, 201호, Seoul (KR). 정혜인 (JUNG, Hyein); 05090 서울특별시 광진구 뚝섬로34길 9, 201동 1607호, Seoul (KR). 임성은 (IM, Seongeun); 03766 서울특별시 서대문구 이화여대5길 35, 721호, Seoul (KR).
- (74) 대리인: 김경교 등 (KIM, Kyeongkyo et al.); 06194 서울특별시 강남구 테헤란로70길 13, 2층, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 공개:
— 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
— 명세서의 서열목록 부분과 함께 (규칙 5.2(a))

(54) Title: BIODEGRADABLE LIPID NANOPARTICLE DRUG DELIVERY FORMULATION TARGETING LUNGS

(54) 발명의 명칭: 폐를 표적장기로 하는 생분해성 지질나노입자 약물 전달 제형 및 이의 활용



(57) Abstract: The present invention relates to a composition for transpulmonary delivery of drugs and a use thereof. Lipid nanoparticles containing ionizable lipids and cationic lipids of the present invention are specifically delivered to lung tissue and specific cells thereof, have excellent biocompatibility, and can deliver anionic drugs with high efficiency, and thus can be useful in relevant technical fields such as lipid nanoparticle-mediated gene therapy.

(57) 요약서: 본 발명은 약물의 경폐 전달용 조성물 및 이의 용도에 관한 것으로, 본 발명의 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자는 폐 조직 및 이의 특정 세포에 특이적으로 전달되고 생체 친화도가 우수하며, 고효율로 음이온성 약물을 전달할 수 있어 지질나노입자 매개 유전자 치료 등 관련 기술분야에 유용하게 활용될 수 있다.

WO 2024/091037 A1

명세서

발명의 명칭: 폐를 표적장기로 하는 생분해성 지질나노입자 약물 전달 제형 및 이의 활용

기술분야

[1] 본 발명은 특정 구조의 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자를 포함하는, 약물의 경계 전달용 조성물 및 이의 폐 질환의 예방 또는 치료 용도에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] Antisense RNA, mRNA 등의 핵산은 생체 내에서 특정 단백질의 발현을 억제할 수 있는 물질로, 암, 유전병, 감염질환, 자가면역 질환 등의 치료에 중요한 도구로 각광받고 있다 (Novina and Sharp, Nature, 430, 161-164, 2004). 그러나 핵산은 세포 내로 직접 전달이 어렵고, 혈액 내에서 효소에 의해 쉽게 분해되므로 이를 극복하기 위한 연구들이 많이 진행되고 있다.

[4] 약물전달시스템 (DDS; Drug Delivery System)은 약물의 부작용을 줄이고 효능 및 효과를 극대화시켜 필요한 양의 약물을 효율적으로 전달할 수 있도록 설계한 기술이다. 특히, 유전자 치료에 있어서 약물 전달체로는 종래 바이러스 전달체가 효과적임이 입증되었으나, 면역원성 (immunogenicity), 주입된 DNA 크기의 한계 및 대량생산의 어려움과 같은 여러 결점으로 인해 유전자 전달시스템으로서 바이러스의 이용이 제한되고 있다.

[5] 이에, 바이러스성 시스템의 대체 수단으로 핵산을 세포 내로 운반하는 방법으로는 현재까지 양전하 지질 또는 중합체와 섞어 운반하는 방법 (각각, 지질-DNA 접합체 (lipoplex) 및 폴리머-DNA 접합체 (polyplex)라 명명됨)이 주로 사용되고 있다 (Hirko et al., Curr, Med, Chem., 10, 1185-1193, 2003; Merdan et al., Adv. Drug. Deliv.Rev., 54, 715-758, 2002; Spagnou et al., Biochemistry, 43, 13348-13386, 2004). 특히, 지질-DNA 접합체는 핵산과 결합하여 세포 내로 핵산을 잘 전달시켜 세포 수준에서 많이 사용되고 있으나, 생체 내에서는 국부적으로 주사 시 많은 경우 체내에서 염증을 유발시키며 (Filonand and Phillips, Biochim. Biophys/Acta, 1329, 345-356, 1997), 혈관 내 주사 시 주로 1차 통과기관들인 폐, 간, 비장 등과 같은 조직에 축적되는 단점이 있다 (Ren et al., Gene Therapy. 7, 764-768, 2000).

[6]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[7] 본 발명자들은 폐 조직 특이적으로 핵산 등의 음이온성 약물을 효과적으로 전달할 수 있는 전달체를 개발하고자 예의 노력한 결과, 특정한 구조를 갖는 이온

화 가능 지질에 추가로 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자 제형이 우수한 폐 특이적 약물 전달 효능을 가짐을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[8]

과제 해결 수단

[9] 본 발명의 하나의 목적은, 특정 구조를 갖는 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자를 포함하는, 약물의 경피 전달용 조성물을 제공하는 것이다.

[10] 본 발명의 다른 하나의 목적은, 상기 지질나노입자 및 양이온성 약물을 포함하는, 폐 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[11]

발명의 효과

[12] 본 발명의 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자는 폐 조직에 특이적으로 전달되고 생체 친화도가 우수하며, 고효율로 양이온성 약물을 전달할 수 있어 지질나노입자 매개 유전자 치료 등 관련 기술분야에 유용하게 활용될 수 있다.

[13]

도면의 간단한 설명

[14] 도 1은 hEPO mRNA 봉입 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 채혈하여 hEPO 수준을 분석한 결과이다.

[15] 도 2는 hEPO mRNA 봉입 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 혈액내 EPO 단백질 수준 및 MCP-1 수치를 확인한 결과이다.

[16] 도 3은 hEPO mRNA 봉입 244-cis 지질나노입자의 DOTAP 함유 여부에 따른 MCP-1 분비 정도를 확인한 결과이다.

[17] 도 4는 fLuc mRNA가 봉입되고 DOPE를 포함하는 244-cis 지질나노입자의 생체 발광을 확인한 결과이다.

[18] 도 5는 fLuc mRNA가 봉입되고 10 mol%의 DOTAP을 포함하는 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 생체발광을 확인한 결과이다.

[19] 도 6은 fLuc mRNA가 봉입되고 20 mol%의 DOTAP을 포함하는 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 생체발광을 확인한 결과이다.

[20] 도 7은 fLuc mRNA가 봉입되고 40 mol%의 DOTAP을 포함하는 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 생체발광을 확인한 결과이다.

- [21] 도 8은 fLuc mRNA가 봉입되고 60 mol%의 DOTAP을 포함하는 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 생체발광을 확인한 결과이다.
- [22] 도 9는 fLuc mRNA가 봉입된 지질나노입자의 DOTAP을 포함하는 비율에 따른 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 각 장기 별 발광 분포를 확인하여 비교한 결과이다.
- [23] 도 10은 fLuc mRNA가 봉입되고 20 mol%의 포스파티딜콜린을 포함하는 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 생체발광을 확인한 결과이다.
- [24] 도 11은 fLuc mRNA가 봉입되고 40 mol%의 포스파티딜콜린을 포함하는 244-cis 지질나노입자의 생체 내 전달효능을 확인하기 위하여 마우스에 정맥주사한 후 생체발광을 확인한 결과이다.
- [25] 도 12는 Cre mRNA 봉입 244-cis 지질나노입자를 LSL-tdTomato 마우스에 정맥주사 후 폐 세포별 형광발현을 비교한 결과이다.
- [26] 도 13은 Cre mRNA 봉입 244-cis 지질나노입자를 폐 섬유화가 일어난 LSL-tdTomato 마우스에 정맥주사 후 폐 세포별 형광발현을 비교한 결과이다.
- [27] 도 14는 Cre mRNA 봉입 244-cis 지질나노입자를 폐 섬유화가 일어난 LSL-tdTomato 마우스에 정맥주사 후 섬유아세포의 Sca-1⁺ 세포에서의 형광발현을 확인한 결과이다.

[28]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

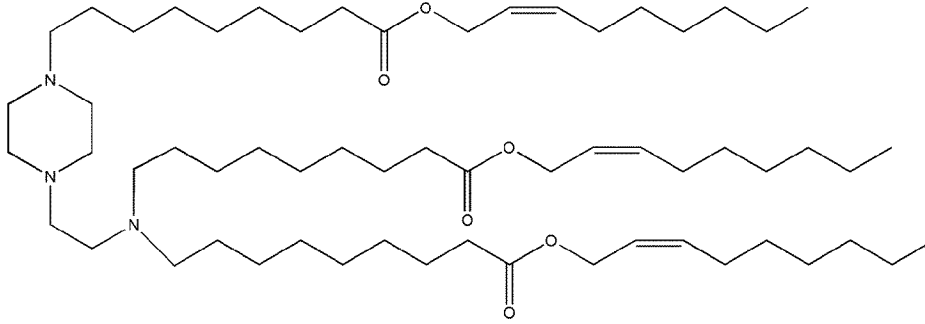
- [29] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 발명에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.

[30]

- [31] 상기 목적을 달성하기 위한 본 발명의 하나의 양태는, 하기 화학식 1로 표시되는 이온화 가능 지질 (ionizable lipid) 및 양이온성 지질 (cationic lipid)을 포함하는 지질나노입자 (Lipid nanoparticle, LNP)를 포함하는, 약물의 경피 전달용 조성물이다.

- [32] [화학식 1]

[33]



[34]

[35]

본 발명에서 "이온화 가능 지질 (ionizable lipid)"은 용이하게 양성자화될 수 있는 아민-함유 지질을 의미하며, 지질 유사체 (lipidoid)로도 명명된다. 상기 이온화 가능 지질은, 주변 pH에 따라 전하상태가 변할 수 있으므로, 음이온성 약물과 정전기적 상호작용을 통하여 상기 약물이 지질나노입자 내에 높은 효율로 봉입되도록 하는 역할을 수행하며, 지질나노입자의 구조를 형성하는데 기여한다. 본 발명의 지질나노입자는 상기 화학식 1의 이온화 가능 지질을 포함하는 것을 하나의 특징으로 한다.

[36]

상기 화학식 1의 이온화 가능 지질은 복수 개의 3차 아민을 갖는 헤드 그룹과 에스터 작용기 및 탄소 이중결합을 포함하는 사슬 꼬리를 갖는 물질로서, 본 발명에서 "244-cis"로 명명된다. 본 발명자들은 국제공개공보 WO2023/136689에서, 244-cis 또는 이와 유사한 구조를 갖는 이온화 가능 지질은 지질나노입자의 일 구성으로 사용될 수 있고, 상기 지질나노입자는 mRNA와 같은 음이온성 약물 전달에 매우 우수한 효과가 있음을 보고한 바 있다. 그러나 본 발명자들은 상기 이온화 가능 지질이 놀랍게도 이와 조합되는 헬퍼 지질 (helper lipid)의 종류에 따라 표적 조직이 달라지며, 특히 양이온성 지질을 헬퍼 지질로 사용하여 지질나노입자를 제조하였을 때 폐 특이적으로 전달되는 것을 확인하였다. 또한, 본 발명의 지질나노입자는 면역원성이 거의 없이 mRNA를 안정적으로 전달하여 표적 부위에서 높은 수준으로 발현되는 것을 확인하였다.

[37]

따라서, 본 발명은 화학식 1로 표시되는 이온화 가능 지질, 즉 244-cis 뿐만 아니라 이와 유사한 구조를 갖는 이온화 가능 지질에도 마찬가지로 적용될 수 있다. 당업자는 화학식 1의 이온화 가능 지질의 범위를 넘어, 예컨대 WO2023/136689에 기재된 다른 유사 구조의 이온화 가능 지질의 경우에도 본 발명에서 확인한 것과 마찬가지로의 효과를 보여줄 수 있음을 충분히 기대할 수 있다. 그러므로, 상기 244-cis와 유사 구조의 이온화 가능 지질 역시 모두 균등 범위로서 본 발명의 범주 내로 포함될 수 있다.

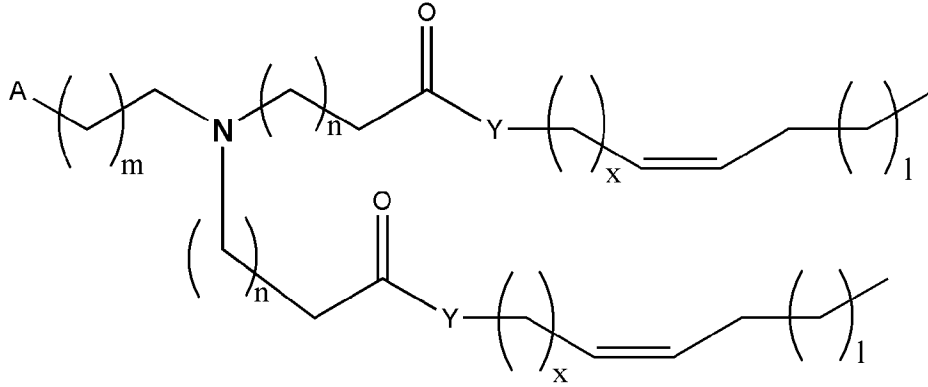
[38]

이에 제한되는 것은 아니나, 본 발명의 이온화 가능 지질은 하기 화학식 2로 표시되는 화합물일 수 있다.

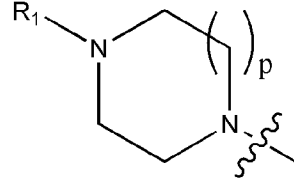
[39]

[화학식 2]

[40]



[41]

여기서, A는 R₁ 이고,

[42]

R₁은 -C₂₋₃알킬-NR₂R₃ 또는 -C₄₋₈알킬-(C=O)-Y-(CH₂)_xCH=CH-C₅₋₆알킬이고,

[43]

R₂ 및 R₃는 각각 독립적으로 -H, -C₁₋₆알킬, 또는 -C₄₋₈알킬-(C=O)-Y-(CH₂)_xCH=CH-C₅₋₆알킬로부터 선택된 어느 하나이고,

[44]

Y는 -O- 또는 -NH-이고,

[45]

m은 1 내지 2의 정수이고,

[46]

n은 3 내지 7의 정수이고,

[47]

x는 1 내지 3의 정수이고,

[48]

l은 3 내지 4의 정수이고, 및

[49]

p는 0 내지 2의 정수이다.

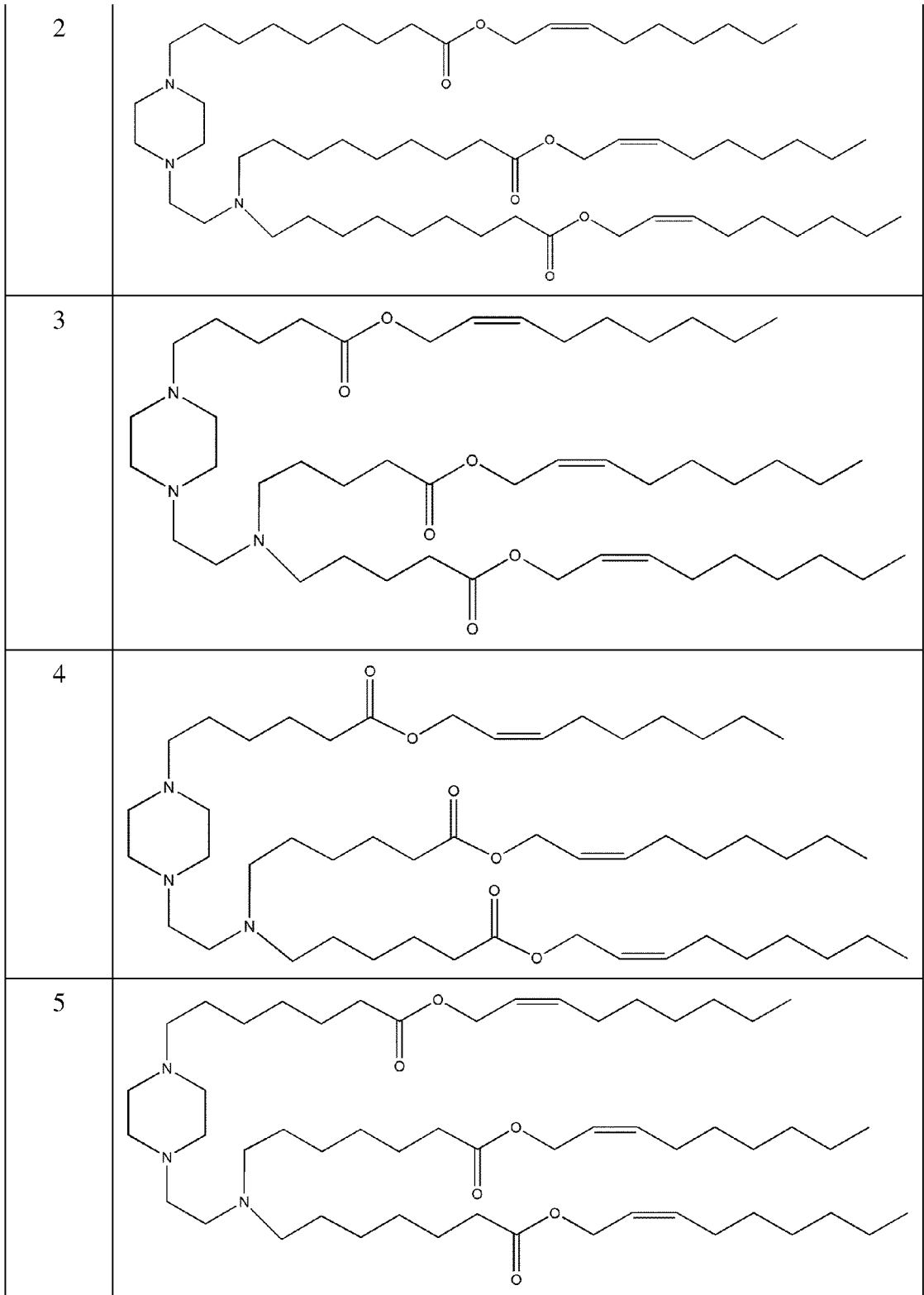
[50]

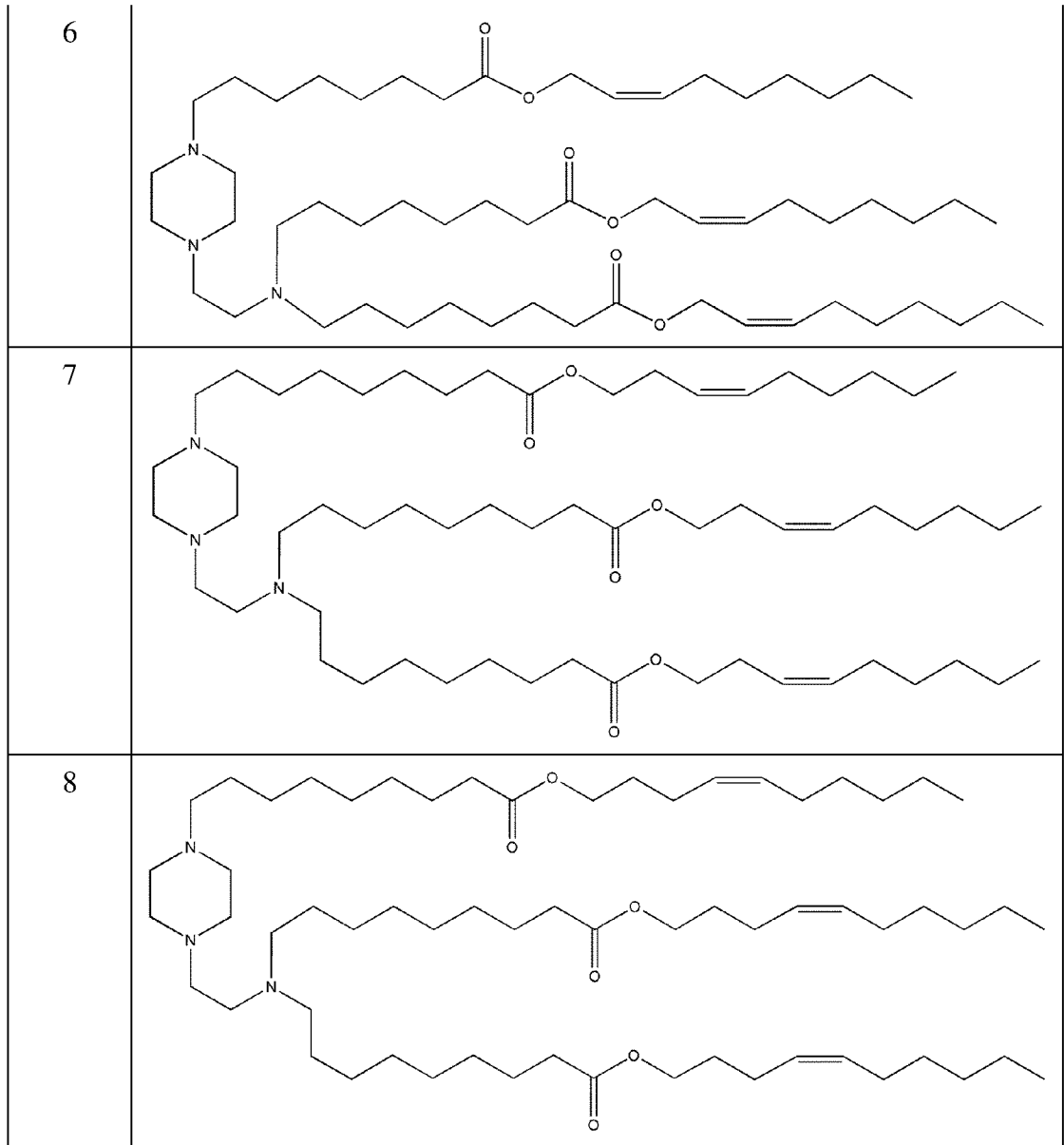
또한, 본 발명의 구체예에 따르면, 상기 화학식 2로 표시되는 화합물은 하기 표 1에 기재된 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것일 수 있다.

[51]

[표1]

화합물	구조
1	





[52]

[53]

본 발명에 있어서, 용어 "알킬"은 다른 기재가 없는 한, 직쇄 또는 분지쇄의 비고리형 포화 탄화수소를 의미한다. 예를 들어, "C₁₋₆알킬"은 탄소원자를 1 내지 6 개 포함하는 알킬을 의미할 수 있다. 본 발명의 알킬 구조에서 단순한 치환기의 부가 등을 한 경우라도, 본 발명의 이온화 가능 지질과 동등한 효과를 가지는 한 모두 균등 범위로 본 발명의 범주에 포함된다.

[54]

본 발명의 지질나노입자는 양이온성 지질 (cationic lipid)을 포함하는 것을 다른 하나의 특징으로 한다. 상기 양이온성 지질은 지질나노입자에서 헬퍼 지질 (helper lipid)에 해당하며 본 발명의 이온화 가능 지질과 함께 음이온성 약물이 폐 특이적으로 전달되도록 하는 역할을 수행한다.

[55]

본 발명에 있어서, 용어 "헬퍼 지질 (helper lipid)"은 지질나노입자 내에서 이온화 가능 지질 및 약물이 상호 작용하여 형성된 코어를 감싸서 보호하는 역할을

수행하며, 타겟 세포의 인지질 이중층과 결합하여 약물의 세포 내 전달 시 세포 막 통과 및 엔도솜 탈출 (endosomal escape)을 용이하게 한다.

- [56] 본 발명에 있어서, "양이온성 지질"은 DOTAP (1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane) 또는 포스파티딜콜린 (phosphatidylcholine)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [57] 본 발명에 있어서, 용어 "포스파티딜콜린 (phosphatidylcholine)"은 인지질의 일종으로 헤드 그룹으로 콜린 (choline)이 포함된 화합물을 말한다. 동물, 식물, 효모, 및 곰팡이류에 널리 존재하며, 레시틴이라고도 한다. 포유동물의 막구성 인지질로서 주로 뇌수, 신경, 혈구, 난황 등에 들어 있다. 식물에서는 대두, 해바라기씨, 밀배아 등에 함유되어 있다. 일반적으로 글리세롤의 1번 위치에는 포화지방산, 2번 위치에는 불포화지방산이 결합되어 있는 것이 많다. 본 발명에서 포스파티딜콜린은 여러 구조의 포스파티딜콜린의 혼합물일 수 있고, 천연물 (예컨대, 난황, 대두 등)에서 분리된 것, 또는 화학적으로 합성된 것일 수 있다.
- [58] 구체적인 하나의 양태로서, 본 발명의 지질나노입자는 DOTAP을 지질나노입자 전체를 기준으로 10 mol% 내지 70 mol%로 포함하는 것일 수 있고, 예를 들어 15 mol% 내지 70 mol%, 20 mol% 내지 70 mol%, 15 mol% 내지 65 mol%, 20 mol% 내지 65 mol%, 20 mol% 내지 60 mol%, 또는 20 mol% 내지 50 mol%일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [59] 다른 구체적인 하나의 양태로서, 본 발명의 지질나노입자는 포스파티딜콜린을 지질나노입자 전체를 기준으로 10 mol% 내지 50 mol%, 15 mol% 내지 45 mol% 또는 20 mol% 내지 60 mol%로 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [60] 본 발명의 구체적인 실시예에서는 244-cis 이온화 가능 지질을 이용하여 지질나노입자를 제조하였을 때, 일반적으로는 거의 대부분 간으로 전달되지만 (도 4), DOTAP이나 포스파티딜콜린과 같은 양이온성 지질을 포함하였을 때에는 폐 특이적으로 전달되어 mRNA가 발현되는 것을 확인하였다 (도 5 내지 도 11). 따라서 본 발명의 화학식 1 (또는 화학식 2)로 표시되는 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자는 폐 조직에 특이적으로 전달되며, 이에 따라 높은 효율로 음이온성 약물을 폐에 특이적으로 전달할 수 있다.
- [61] 본 발명의 지질나노입자는 구조적 지질 또는 PEG-지질을 더 포함할 수 있다.
- [62] 상기 구조적 지질은 지질나노입자 내에서 입자 모양을 유지하고 나노입자의 코어 및 표면에 분산되어 나노입자의 안정성을 향상시키는 역할을 한다. 상기 구조적 지질은 예컨대, 콜레스테롤, 콜레스테놀, 스피나스테롤, 페코스테롤, 시토스테롤, 에르고스테롤, 에르고스테놀, 캄페스테롤, 스티그마스테롤, 브라시카스테롤, 토마티딘, 우르솔산, 알파-토코페롤 또는 이들의 혼합물일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [63] 상기 PEG-지질은 지질과 PEG가 컨쥬게이트된 형태를 지칭하는 것으로, 친수성 중합체인 폴리에틸렌글리콜 중합체가 결합된 지질을 의미한다. 상기 PEG-지

질은 지질나노입자 내에서 나노입자의 혈청 내 입자 안정성에 기여하며, 나노입자 간 응집을 막는 역할을 수행한다. 또한, PEG-지질은 분해효소로부터 핵산을 보호하여 핵산의 체내 안정성을 강화시키며, 나노입자 내 봉입된 약물의 반감기를 증가시킬 수 있다. 상기 PEG-지질은 예컨대, PEG-세라마이드, PEG-DMG, PEG-c-DOMG, PEG-DLPE, PEG-DMPE, PEG-DPPC, PEG-DSPE 또는 이들의 혼합물일 수 있고, 구체적으로 C16-PEG2000 세라마이드이나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [64] 구체적 한의 양태로서, 본 발명의 이온화 가능 지질과 DOTAP, 구조적 지질 및 PEG-지질을 혼합하여 지질나노입자를 제조할 경우, 이온화 가능 지질 : DOTAP : 구조적 지질 : PEG-지질의 몰비는 10 내지 40 : 5 내지 80 : 5 내지 80 : 1 내지 5일 수 있다. 더 구체적으로, 상기 몰비는 20 내지 30 : 10 내지 70 : 10 내지 70 : 1 내지 5일 수 있으며, 더 구체적으로는 20 내지 30 : 15 내지 70 : 15 내지 70 : 1 내지 3일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [65] 다른 구체적 한의 양태로서, 본 발명의 이온화 가능 지질과 포스파티딜콜린, 구조적 지질 및 PEG-지질을 혼합하여 지질나노입자를 제조할 경우, 이온화 가능 지질 : 포스파티딜콜린 : 구조적 지질 : PEG-지질의 몰비는 10 내지 40 : 5 내지 80 : 5 내지 80 : 1 내지 5일 수 있다. 더 구체적으로, 상기 몰비는 20 내지 30 : 10 내지 50 : 30 내지 60 : 1 내지 5일 수 있으며, 더 구체적으로는 20 내지 30 : 20 내지 40 : 30 내지 60 : 1 내지 3일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [66] 본 발명의 지질나노입자는 산성 pH 조건에서 양전하를 나타내므로 음전하를 나타내는 핵산, 약물 등의 치료제와 정전기적 상호작용을 통해 용이하게 약물과의 복합체를 형성하여 높은 효율로 음이온성 약물을 봉입할 수 있으며, 약물의 세포 내 또는 생체 내 약물 전달 조성물로서 사용될 수 있다. 따라서 본 발명의 지질나노입자는 핵산뿐만 아니라 음이온을 띄는 모든 형태의 약물의 전달에 유용하게 사용될 수 있다. 즉, 본 발명의 지질나노입자는 최종적으로 음이온성 약물을 추가로 포함하는 형태 (봉입된 형태)로 제조될 수 있고, 봉입된 음이온성 약물을 폐에 특이적으로 전달할 수 있다.
- [67] 본 발명에서, 용어 "봉입 (encapsulation)"은 전달물질을 둘러싸서 효율적으로 생체 내로 함입시키기 위해 캡슐화하는 것을 말하고, 약물 봉입률 (캡슐화 효율, Encapsulation efficiency)은 제조에 사용된 전체 약물 함량에 대하여 지질나노입자 내에 봉입된 약물의 함량을 의미한다.
- [68] 상기 음이온성 약물은 핵산, 저분자 화합물, 펩타이드, 단백질, 단백질-핵산 구조체 또는 음이온성 생체고분자-약물 접합체 등일 수 있으나, 본 발명의 이온화 가능 지질과 함께 지질나노입자를 형성하여 안정적이고 효율적으로 전달될 수 있는 한 이에 제한되는 것은 아니다.
- [69] 본 발명에서 상기 핵산은 소간섭 리보핵산 (siRNA), 리보솜 리보핵산 (rRNA), 디옥시리보핵산 (DNA), 상보성 디옥시리보핵산 (cDNA), 앵타머 (aptamer), 전령 리보핵산 (mRNA), 운반 리보핵산 (tRNA), sgRNA, 안티센스 올리고뉴클레오티

드, shRNA, miRNA, 리보자임 (ribozyme), PNA, 및 DNAzyme, 또는 이들의 혼합물 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

- [70] 상기 지질나노입자에서 총 지질/핵산의 중량비는 1 내지 30일 수 있으며, 구체적으로 5 내지 27, 보다 구체적으로 10 내지 23일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [71]
- [72] 본 발명의 다른 하나의 양태는, 상기 화학식 1의 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자, 및 음이온성 약물을 유효성분으로 포함하는, 폐 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물이다.
- [73] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 상기 조성물을 이를 필요로 하는 개체에 투여하는 단계를 포함하는, 폐 질환의 치료 방법이다.
- [74] 본 발명의 또 다른 하나의 양태는, 폐 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한 약학적 조성물, 또는 폐 질환의 예방 또는 치료를 위한 상기 조성물의 용도이다.
- [75] 지질나노입자 및 음이온성 약물에 대해서는 상기 설명한 바와 같다.
- [76] 본 발명의 지질나노입자는 핵산 등의 음이온성 약물과 안정된 복합체를 형성하고 낮은 세포독성 및 효과적인 세포 흡수성을 나타내므로, 음이온성 약물을 전달하는데 효과적이다. 또한, 상기 지질나노입자는 투여 시 폐에 특이적으로 전달될 수 있으므로, 폐 질환의 예방 또는 치료에 유용하게 활용될 수 있다.
- [77] 본 발명의 지질나노입자는 폐를 표적으로 하여 약물을 특이적으로 전달할 수 있으며, 본 발명의 목적 상 사용되는 음이온성 약물의 종류, 핵산의 종류, 핵산 서열에 따라 다양한 폐 질환에 대한 예방 또는 치료 효과를 기대할 수 있다. 즉, 본 발명에서 폐 질환의 종류는 제한되지 않는다. 따라서, 상기 폐 질환은 예를 들어, 폐기종, 천식, 폐렴, 결핵, 폐 고혈압, 폐암, 신생아 기관지폐 형성 장애증, 만성 폐쇄성 폐질환, 급성 기관지염, 만성 기관지염, 세기관지염, 기관지 확장증, 과민증, 폐실질 염, 급성 연기 흡입, 열에 의한 폐 손상, 낭포성 섬유증, 허파파리 단백질증, 알파-1-프로테아제 결핍, 폐 염증성 장애, 급성 호흡 곤란 증후군, 급성 폐 손상, 특발성 호흡 곤란 증후군 및 폐 섬유증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있으며, 구체적으로는 폐 섬유증일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [78] 본 발명에서 용어, "치료"는 질병을 갖는 개개인 또는 세포의 천연 과정을 변경시키기 위해 개입하는 것을 지칭하고, 이는 병리 상태가 진행되는 동안 또는 이를 예방하기 위해 수행될 수 있다. 목적하는 치료 효과에는 질병의 발생 또는 재발을 예방하고, 증상을 완화시키며, 질병에 따른 모든 직접 또는 간접적인 병리학적 결과를 저하시키며, 전이를 예방하고, 질병 진행 속도를 감소시키며, 질병 상태를 경감 또는 일시적 완화시키며, 차도시키거나 예후를 개선시키는 것이 포함된다. 특히, 본 발명에서는 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자 및 음이온성 약물을 유효성분으로 포함하는 조성물의 투여로 폐 관련 질환의 경과를 호전시키는 모든 행위를 포함한다. 또한, 용어 "예방"은 상기 지질나노입자의 투여로 질병의 발병을 억제 또는 지연시키는 모든 행위를 말한

다. 본 발명의 지질나노입자가 치료 또는 예방 목적으로 사용될 경우, 개체에 치료학적으로 유효한 양으로 투여된다.

[79] 본 발명에서 사용되는 "치료학적으로 유효한 양"이라는 용어는 음이온성 약물 함유 지질나노입자의 유효한 양을 나타낸다. 구체적으로, "치료학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효 용량 수준은 개체 종류 및 중증도, 연령, 성별, 질병의 종류, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 시판되는 치료제와는 순차적으로 또는 동시에 투여될 수 있다. 그리고 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기 요소를 모두 고려하여 부작용없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물의 투여 용량은 환자의 상태, 연령, 성별 및 합병증 등의 다양한 요인에 따라 전문가에 의해 결정될 수 있다. 본 발명의 조성물의 유효성분은 안전성이 우수하므로, 결정된 투여 용량 이상으로도 사용될 수 있다.

[80] 상기 지질나노입자를 포함하는 조성물은 경구, 근육, 정맥, 동맥, 피하, 복강, 폐, 및 비강 주사 등으로 투여될 수 있으며, 구체적으로 정맥 투여될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[81] 본 발명의 조성물은 투여를 위해서 추가로 약학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 더 포함할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 하나 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다.

[82]

발명의 실시를 위한 형태

[83] 이하, 실시예를 통하여 본 발명의 구성 및 효과를 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.

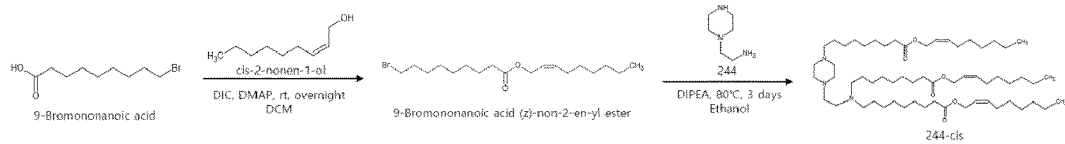
[84]

[85] **실시예 1: 경폐 전달용 지질나노입자의 제조**

[86] 이온화 가능 지질로서 244-cis (WO2023/136689 참조)를 준비하였으며, 하기의 반응식 1에 따라 합성하였다. 본 발명에서 244-cis를 포함하는 지질나노입자는 '244-cis 지질나노입자'로 명명하였다. 대조군으로 SM-102 또는 MC3를 사용하였다.

[87] [반응식 1]

[88]



[89]

이온화 가능 지질, 양이온성 지질 (DOTAP, 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane; DOPE, 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine; 또는 EPC, egg phosphatidylcholine (Avanti, 890704P), 콜레스테롤 (Cholesterol powder, BioReagent, 세포 배양용, $\geq 99\%$, sigma, 한국), 및 C16-PEG2000 세라마이드 (Avanti, 미국)를 에탄올에 26.5 : 10 내지 60 : 12 내지 62 : 1.5의 몰비 (표 2)로 용해시켰다.

[90]

[91]

[표2]

성분	합량 (mol%)			
	26.5	26.5	26.5	26.5
이온화 가능 지질	26.5	26.5	26.5	26.5
양이온성 지질	10	20	40	60
콜레스테롤	62	52	32	12
PEG-지질	1.5	1.5	1.5	1.5

[92]

[93]

이온화 가능 지질, 콜레스테롤, 양이온성 지질, 및 PEG-세라마이드 접합체가 용해된 에탄올 및 핵산 (mRNA)이 용해된 수성상 (아세트이트산 나트륨 또는 시트르산 나트륨)을 1 : 3의 부피비로 12 ml/min의 유속으로 미세유체 혼합 장치 (Benchtop Nanoassemblr; PNI, Canada)를 통해 혼합하여 지질나노입자를 제조하였다. mRNA : 이온화 가능 지질의 중량비는 1 : 20으로 하였다.

[94]

제조된 지질나노입자에서 에탄올 제거 및 체내의 pH와 지질나노입자의 pH를 맞추기 위해서, 3500 MWCO 투석 카세트를 사용하여 16 시간 동안 PBS에 대해 투석하였다.

[95]

[96]

실험 예 1: 244-cis를 포함하는 지질나노입자의 전달 효능 확인

[97]

실험 예 1-1. mRNA 발현 확인

[98]

hEPO mRNA (서열번호 1)가 봉입되고, 244-cis, DOPE (20 mol%), 콜레스테롤 및 PEG-지질을 포함하는 지질나노입자를 mRNA 기준 0.1 mg/kg 용량으로 7 주령 Balb/c 마우스에 정맥 주사하였다. 3, 6, 9, 24 및 48 시간 뒤에 혈액을 채취하여, ELISA (R&D systems, USA)를 사용하여 hEPO 단백질 발현을 확인하였다 (도 1).

[99]

그 결과, 244-cis를 포함하는 지질나노입자는 핵산을 생체 내로 효과적으로 전달하고 발현시켜 혈액 내에서 hEPO가 상당한 수준으로 검출되었다. 244-cis를 포함하는 지질나노입자는 대조군인 MC3 LNP 대비 현저히 높은 수준을 나타내며, SM-102 LNP와 동등한 수준을 나타내었다.

[100]

[101] 실험예 1-2. MCP-1 분비 확인

[102] 상기 실험예 1-1.의 지질나노입자를 mRNA 기준 0.5 mg/kg 용량으로 7주령 Balb/c 마우스에 정맥 주사하고, 3 시간 뒤에 혈액을 채취하였다. ELISA (Invitrogen, USA)를 사용하여 MCP-1 단백질 발현을 확인하였다 (도 2).

[103] 그 결과, 도 2에 나타난 바와 같이, 244-cis를 포함하는 지질나노입자는 SM-102 LNP 및 MC3 LNP와 비교하여 현저히 낮은 MCP-1 발현을 나타내는 것을 확인하였다.

[104]

[105] 실험예 1-3. DOTAP에 의한 MCP-1 분비 확인

[106] 상기 실험예 1-1.의 244-cis 지질나노입자에서 DOPE를 DOTAP으로 교체한 지질나노입자를 mRNA 기준 0.5 mg/kg 용량으로 7 주령 Balb/c 마우스에 정맥 주사하고, 6 시간 뒤에 혈액을 채취하였다. ELISA (Invitrogen, USA)를 사용하여 MCP-1 단백질 발현을 확인하였다 (도 3).

[107] 그 결과, 도 3에 나타난 바와 같이, DOPE를 DOTAP으로 대체하더라도 기존 244-cis 제형의 MCP-1 분비 정도와 통계적으로 유의미한 차이는 보이지 않았다.

[108]

[109] 실험예 2: fLuc mRNA를 이용한 244-cis 지질나노입자의 폐 특이적 전달 확인[110] 실험예 2-1. DOTAP의 폐 전달 효능 확인

[111] fLuciferase mRNA (서열번호 2)가 봉입되고, 244-cis, DOTAP, 콜레스테롤 및 PEG-지질을 포함하는 지질나노입자를 표 2의 함량 별로 제조하고, mRNA 기준 0.2 mg/kg 용량으로 7 주령 C57BL/6 마우스에 정맥 주사하였다. 6 시간 뒤에 루시페린 (luciferin) 0.25 mg/kg을 복강 투여하여 IVIS (PerkinElmer, USA) 장비를 통해 탈체 기관 이미지 (ex vivo organ image)로 생체발광을 확인하였다 (도 4 내지 도 8). 대조군으로 DOPE 함유 지질나노입자를 사용하였다.

[112] 그 결과, 20 mol% DOPE를 포함하는 경우 간에서 높은 발광 강도를 나타내었으나 (도 4), DOPE를 DOTAP으로 대체한 경우 mRNA가 폐로 전달되어 발현되는 것을 확인할 수 있었다 (도 5 내지 도 9). 특히, DOTAP을 20 내지 60 mol%로 포함할 경우 폐 특이적으로 높은 발광 강도를 나타내었다 (도 6 내지 도 9). 이를 통해, 이온화 가능 지질 244-cis는 양이온성 지질로서 DOTAP을 포함하여 지질나노입자를 제조하였을 때 폐 특이적으로 전달된다는 것을 알 수 있었다.

[113]

[114] 실험예 2-2. 포스파티딜콜린의 폐 전달 효능 확인

[115] 244-cis 및 포스파티딜콜린 (EPC)을 함유하는 지질나노입자를 표 2의 함량 별로 제조하고, mRNA 0.1 mg/kg을 7 주령 C57BL/6 마우스에 정맥 주사하였다. 6 시간 뒤에 루시페린 (luciferin) 0.25 mg/kg을 복강 투여하여 IVIS (PerkinElmer, USA) 장비를 통해 탈체 기관 이미지 (ex vivo organ image)로 생체발광을 확인하였다 (도 10 및 도 11).

- [116] 그 결과, DOTAP과 마찬가지로 포스파티딜콜린을 포함하는 244-cis 지질나노입자는 폐 특이적으로 높은 발광 강도를 나타내었다.
- [117]
- [118] **실험예 3: Cre mRNA를 이용한 244-cis 지질나노입자의 폐 세포별 전달 효율 확인**
- [119] 본 발명의 지질나노입자의 폐 세포별 전달 효과를 확인하기 위해, Cre 단백질을 이용하여 Tomato 단백질을 발현하는 LSL-tdTomato 마우스 (The Jackson Laboratory #:007914)를 사용하였다. Cre mRNA (서열번호 3)가 봉입되고, 244-cis, DOTAP (20 mol%), 콜레스테롤 및 PEG-지질을 포함하는 지질나노입자를 mRNA 기준 0.3 mg/kg 용량으로 7 주령 LSL-tdTomato 마우스에 4 일 간격으로 2 번 정맥 주사하였다. 2 차 주사 2 일 후에 폐 조직 세포를 분리하여 유세포 분석 (LSRFortessa, BD)을 이용하여 폐 세포별 (내피 세포, 섬유아세포, 상피 세포, 면역 세포) tdTomato 형광 발현을 확인하였다 (도 12). 내피 세포 염색을 위해 APC 항-마우스 CD31 항체 (BioLegend; 102409), 면역 세포 염색을 위해 FITC 항-마우스 CD45.2 항체 (BioLegend; 109805), 상피 세포 염색을 위해 PE/Cyanine7 항-마우스 CD326 항체 (BioLegend; 118216), 섬유아세포 염색을 위해 PE/Cyanine7 항-마우스 CD140a 항체 (BioLegend; 135911)를 사용하였다.
- [120] 그 결과, 모든 유형의 폐 세포에서 대조군인 MC3 LNP에 비해 압도적으로 높은 발현을 나타내어, 본 발명의 지질나노입자의 우수한 폐 전달 효과를 확인하였다. 세포 유형 별로 보면, 내피 세포에서 80 % 이상의 tdTomato 발현을 확인하였으며, 상피 세포, 면역 세포, 섬유아세포에서 약 20 %의 tdTomato 발현을 확인하였다.
- [121]
- [122] **실험예 4: 폐 섬유화 모델에서 244-cis 지질나노입자의 폐 특이적 전달 확인**
- [123] 질환 모델에서 본 발명의 지질나노입자의 효능을 확인하기 위하여, 블레오마이신 1.8 mg/kg을 처리하여 14 일 후 폐 섬유화가 일어난 7 주령 LSL-tdTomato 마우스를 준비하였다. 상기 실험예 3의 244-cis 지질나노입자를 폐 섬유화가 일어난 7 주령 LSL-tdTomato 마우스에 mRNA 기준 0.3 mg/kg 용량으로, 4 일 간격으로 2 번 정맥 주사하였다. 2 차 주사 2 일 후에 폐 조직 세포를 분리하고 유세포 분석 (LSRFortessa, BD)을 이용하여 폐 세포별 (내피 세포, 섬유아세포, 상피 세포, 면역 세포) tdTomato 형광 발현을 확인하였다 (도 13 및 도 14).
- [124] 세포 유형별 염색을 위해 상기 실험예 3과 같은 조건에 더하여, 섬유아세포 subtype 염색을 위해 Brilliant Violet 421™ 항-마우스 CD90.1 항체 (BioLegend; 202529), 및 FITC 항-마우스 Sca-1 항체 (BioLegend; 122505)를 사용하였다.
- [125] 그 결과, 섬유화 질환을 유발하지 않은 마우스에서와 마찬가지로 본 발명의 지질나노입자는 모든 유형의 폐 세포에서 대조군인 MC3 LNP에 비해 압도적으로 높은 발현을 나타내었다. 또한, 내피 세포에서 80 % 이상의 tdTomato 발현을 나타내었으며, 상피 세포, 면역 세포 및 섬유아세포에서도 약 30 % 수준의

tdTomato 발현을 나타내었다 (도 13). 섬유아세포에서 tdTomato의 발현 수준을 확인하였을 때 MC3 LNP의 경우 거의 발현이 나타나지 않았으나, 244-cis LNP의 경우 특히 Sca-1⁺ 섬유아세포에서 40 % 이상의 tdTomato 발현을 나타내었다 (도 14).

[126] 이는 본 발명의 244-cis LNP가 MC3 LNP와 비교하여 mRNA를 폐 특이적으로 전달하여 발현시킬 수 있고, 특히 폐 섬유화증 모델에서 섬유아세포에 mRNA를 표적 전달할 수 있다는 것을 시사한다.

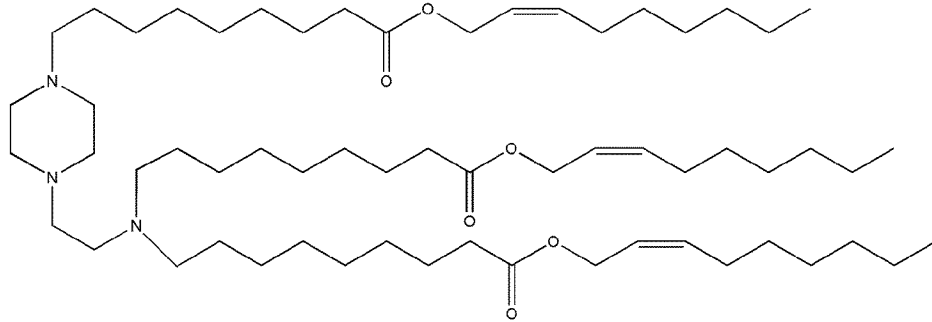
[127]

[128] 이상의 설명으로부터, 본 발명의 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

[청구항 1] 하기 화학식 1의 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자를 포함하는, 약물의 경피 전달용 조성물:

[화학식 1]



[청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 양이온성 지질은 DOTAP (1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane) 또는 포스파티딜콜린 (phosphatidylcholine)인, 약물의 경피 전달용 조성물.

[청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 지질나노입자는 구조적 지질 또는 PEG-지질을 더 포함하는, 약물의 경피 전달용 조성물.

[청구항 4] 제3항에 있어서, 상기 구조적 지질은 콜레스테롤, 콜레스테놀, 스피나스테롤, 페코스테롤, 시토스테롤, 에르고스테롤, 에르고스테놀, 캄페스테롤, 스티그마스테롤, 브라시카스테롤, 토마티딘, 우르솔산 및 알파-토코페롤로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인, 약물의 경피 전달용 조성물.

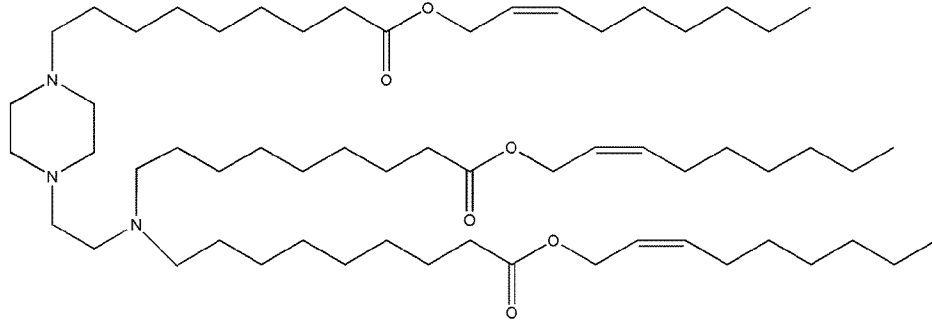
[청구항 5] 제3항에 있어서, 상기 PEG-지질은 PEG-세라마이드, PEG-DMG, PEG-c-DOMG, PEG-DLPE, PEG-DMPE, PEG-DPPC 및 PEG-DSPE로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상인, 약물의 경피 전달용 조성물.

[청구항 6] 제3항에 있어서, 상기 DOTAP은 지질나노입자 전체를 기준으로 10 mol% 내지 70 mol%로 포함되는 것인, 약물의 경피 전달용 조성물.

[청구항 7] 제3항에 있어서, 상기 포스파티딜콜린은 지질나노입자 전체를 기준으로 10 mol% 내지 50 mol%로 포함되는 것인, 약물의 경피 전달용 조성물.

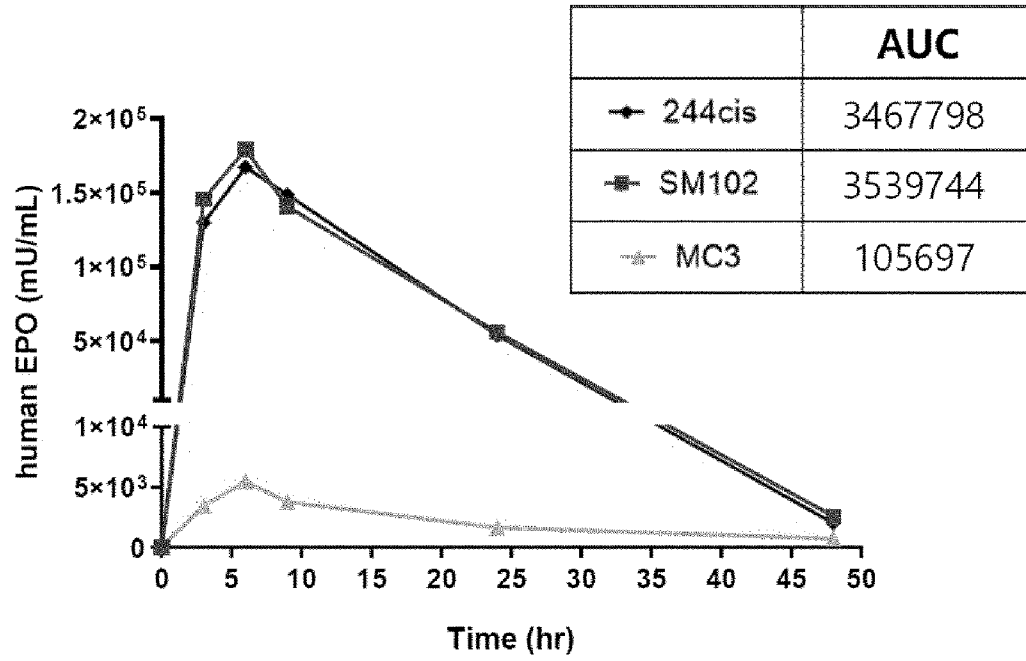
[청구항 8] i) 하기 화학식 1의 이온화 가능 지질 및 양이온성 지질을 포함하는 지질나노입자, 및 ii) 음이온성 약물을 유효성분으로 포함하는, 폐 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물:

[화학식 1]

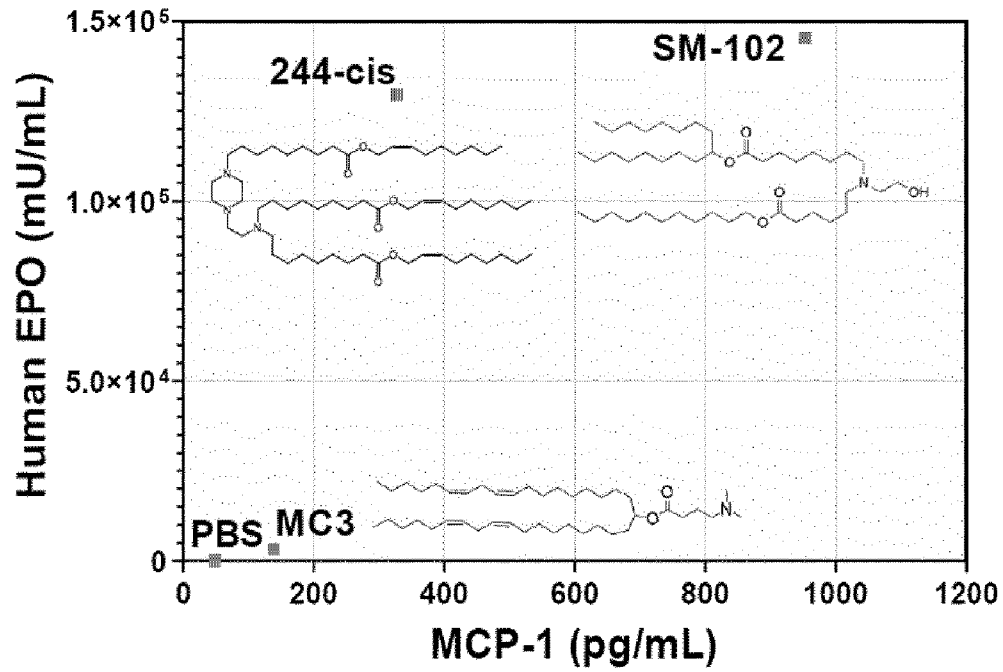


- [청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 양이온성 지질은 DOTAP (1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane) 또는 포스파티딜콜린 (phosphatidylcholine)인, 폐 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 10] 제8항에 있어서, 상기 음이온성 약물은 핵산 약물인, 폐 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 11] 제10항에 있어서, 상기 핵산 약물은 소간섭 리보핵산 (siRNA), 리보솜 리보핵산 (rRNA), 디옥시리보핵산 (DNA), 상보성 디옥시리보핵산 (cDNA), 앵타머 (aptamer), 전령 리보핵산 (mRNA), 운반 리보핵산 (tRNA), sgRNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, shRNA, miRNA, 리보자임 (ribozyme), PNA, 및 DNAzyme로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인, 폐 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.
- [청구항 12] 제8항에 있어서, 상기 폐질환은 폐기종, 천식, 폐렴, 결핵, 폐 고혈압, 폐암, 신생아 기관지폐 형성 장애증, 만성 폐쇄성 폐질환, 급성 기관지염, 만성 기관지염, 세기관지염, 기관지 확장증, 과민증, 폐실질 염, 급성 연기 흡입, 열에 의한 폐 손상, 낭포성 섬유증, 허파파리 단백질증, 알파-1-프로테아제 결핍, 폐 염증성 장애, 급성 호흡 곤란 증후군, 급성 폐 손상, 특발성 호흡 곤란 증후군 및 폐 섬유증으로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인, 폐 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

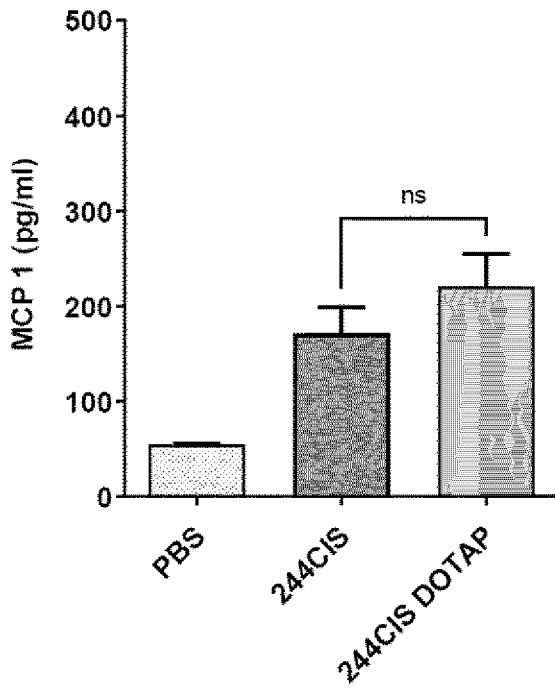
[도1]



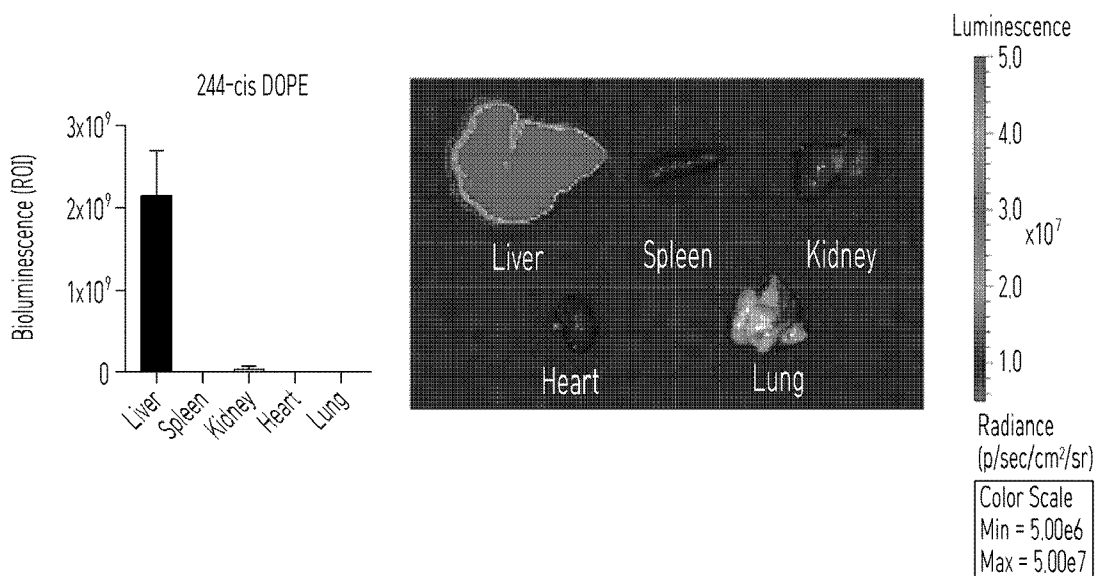
[도2]



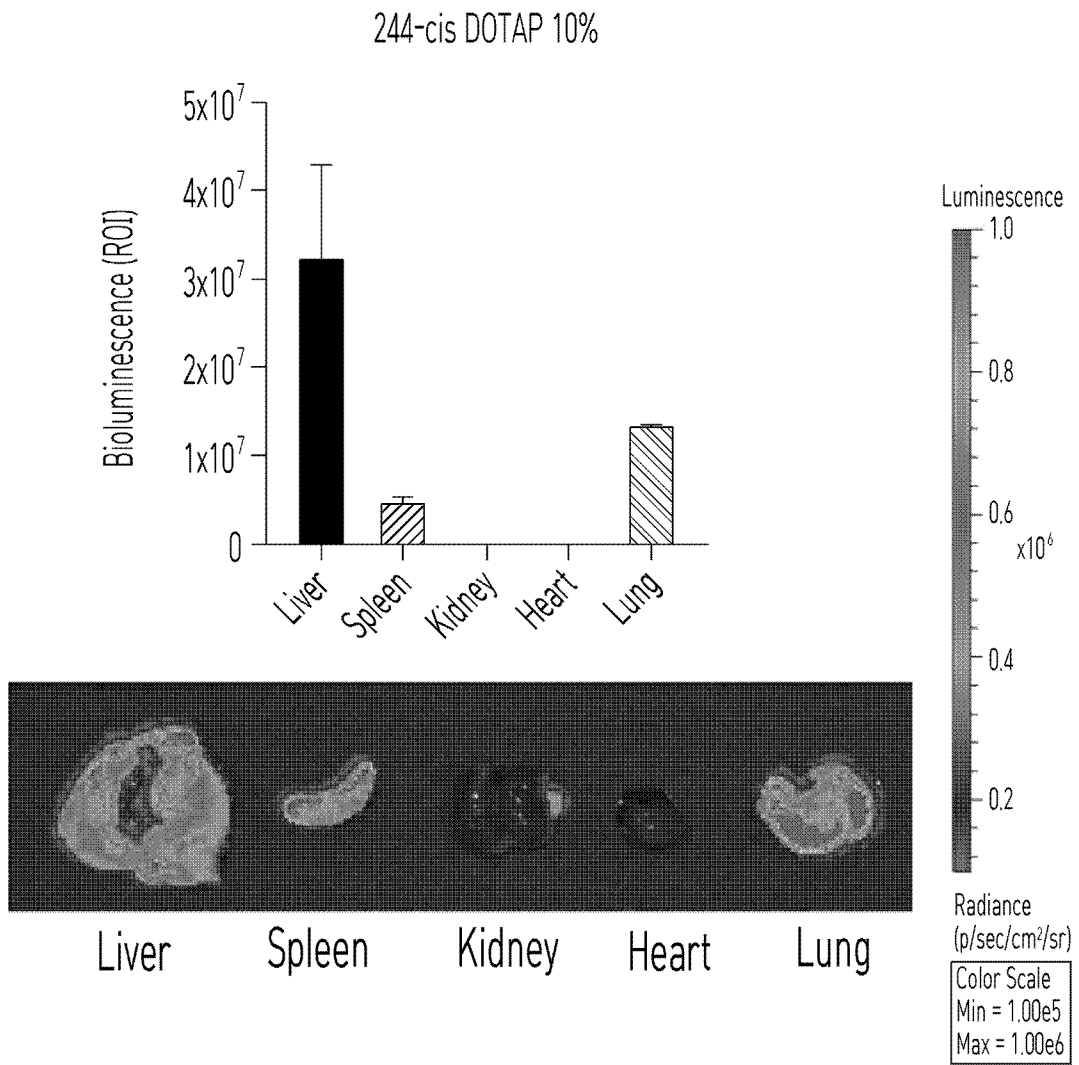
【도 3】



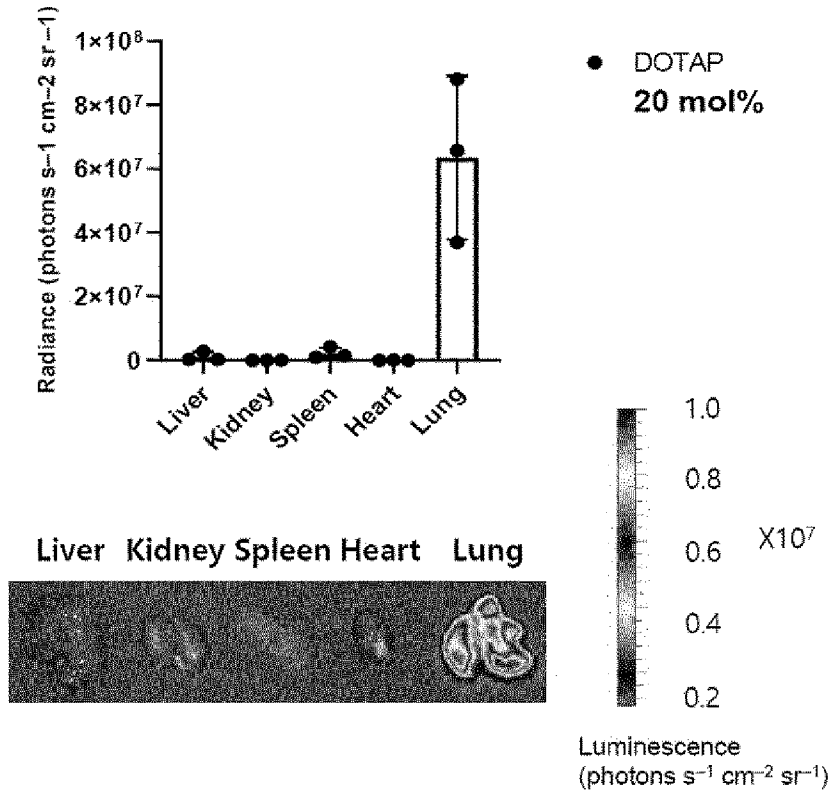
【도 4】



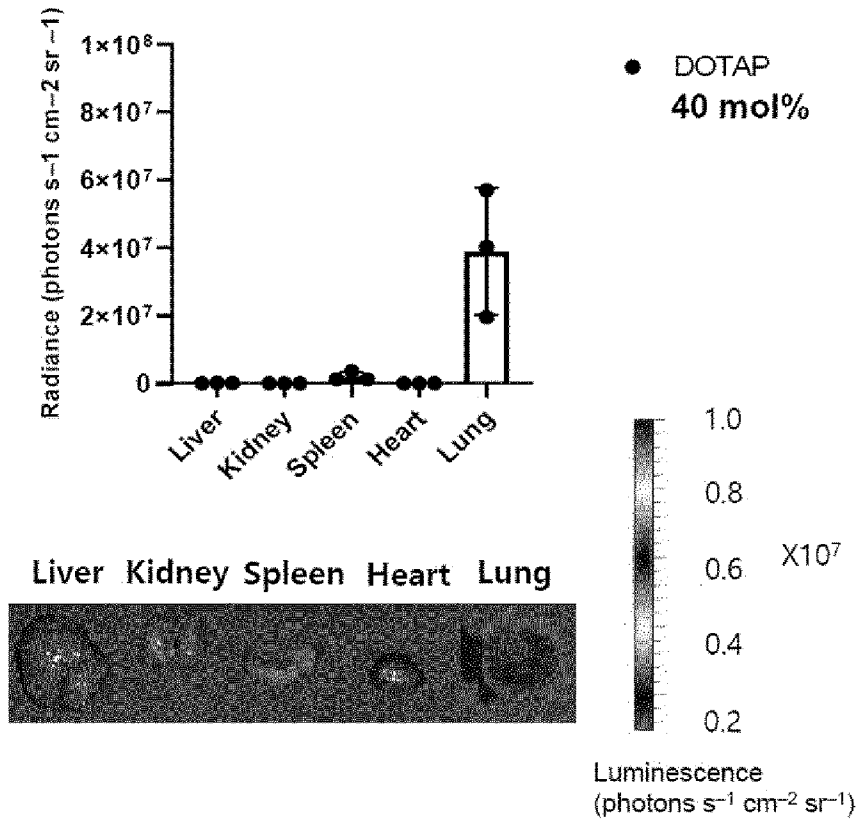
【도 5】



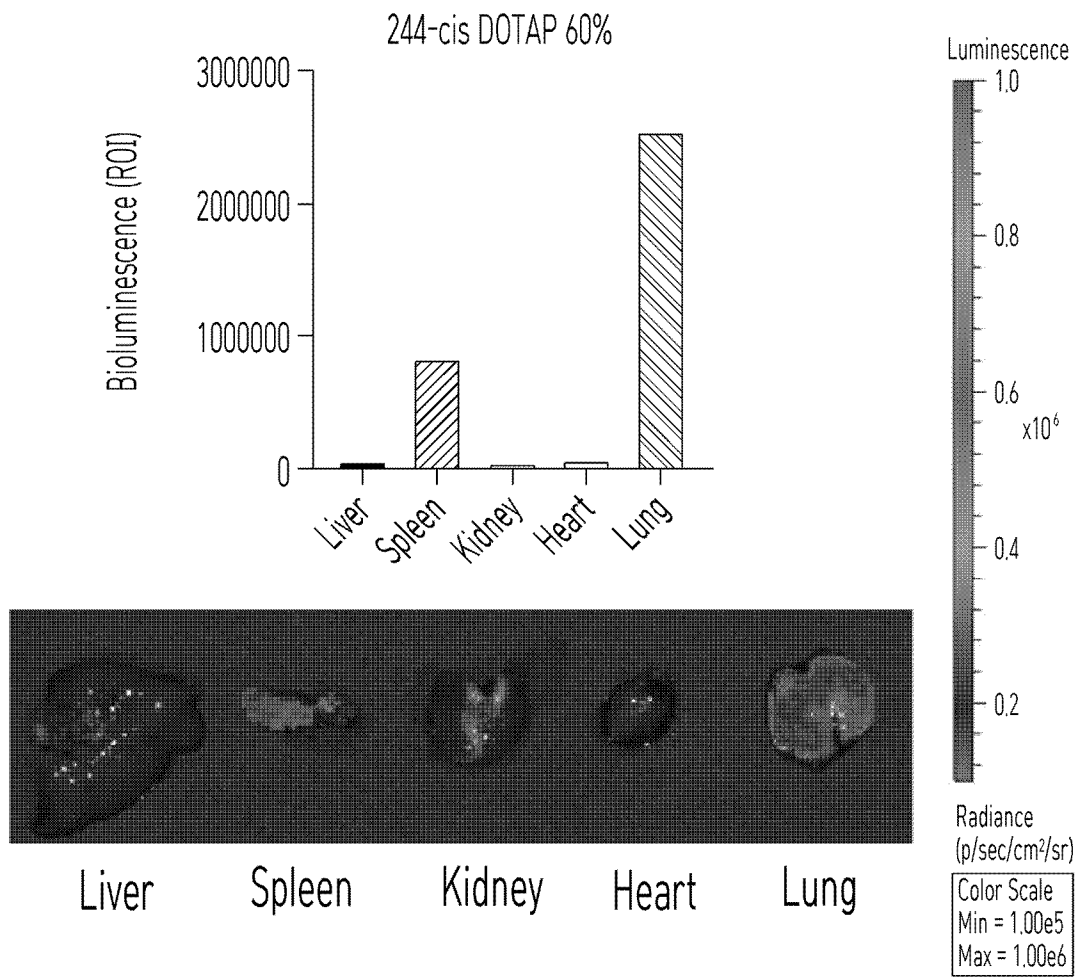
【도 6】



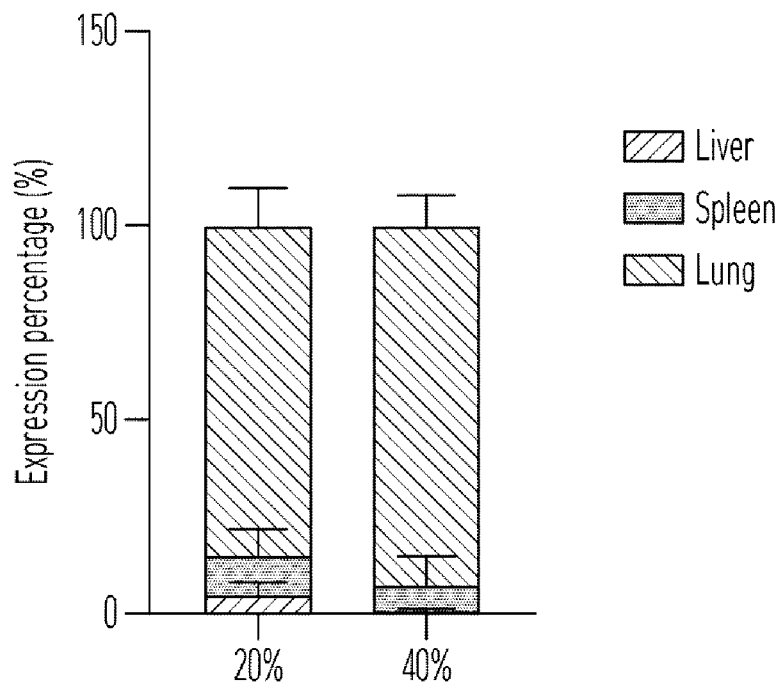
【도 7】



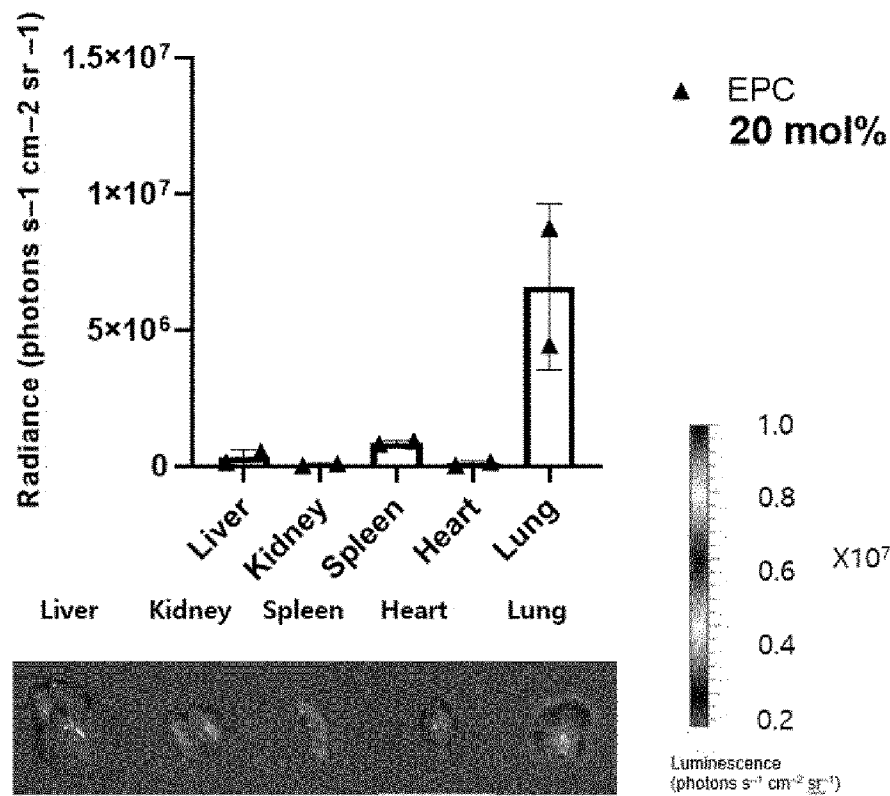
【도 8】



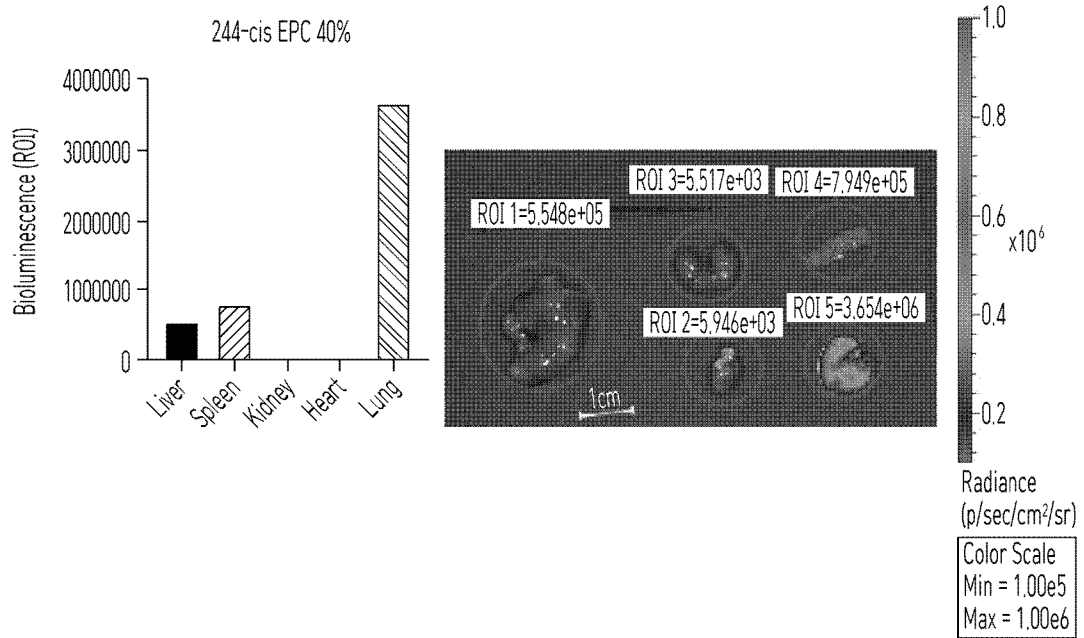
[도9]



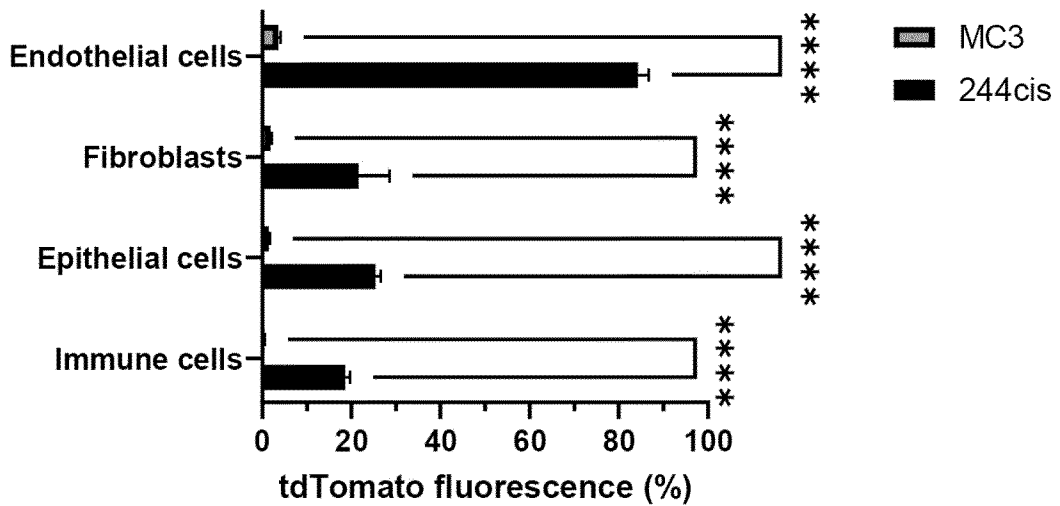
[도10]



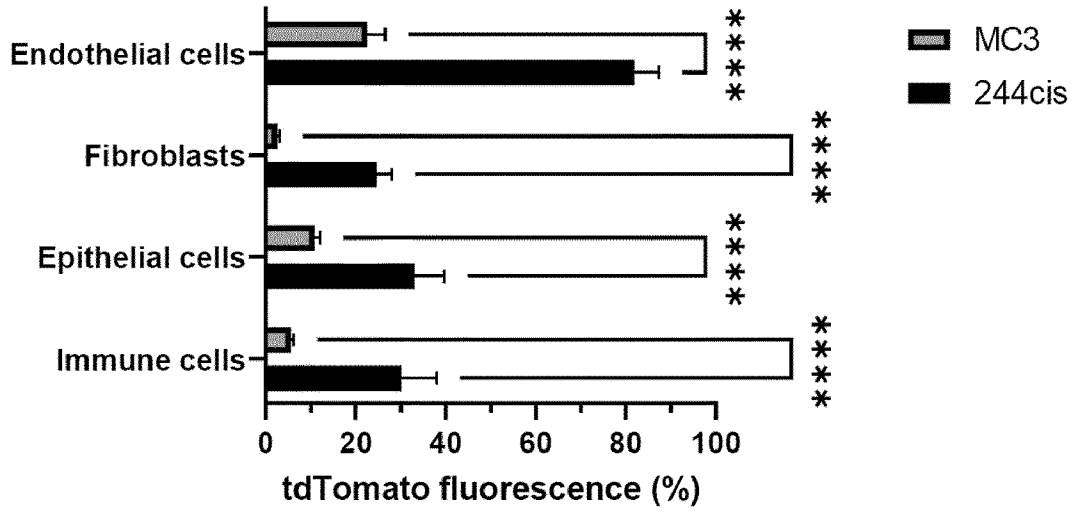
【도 11】



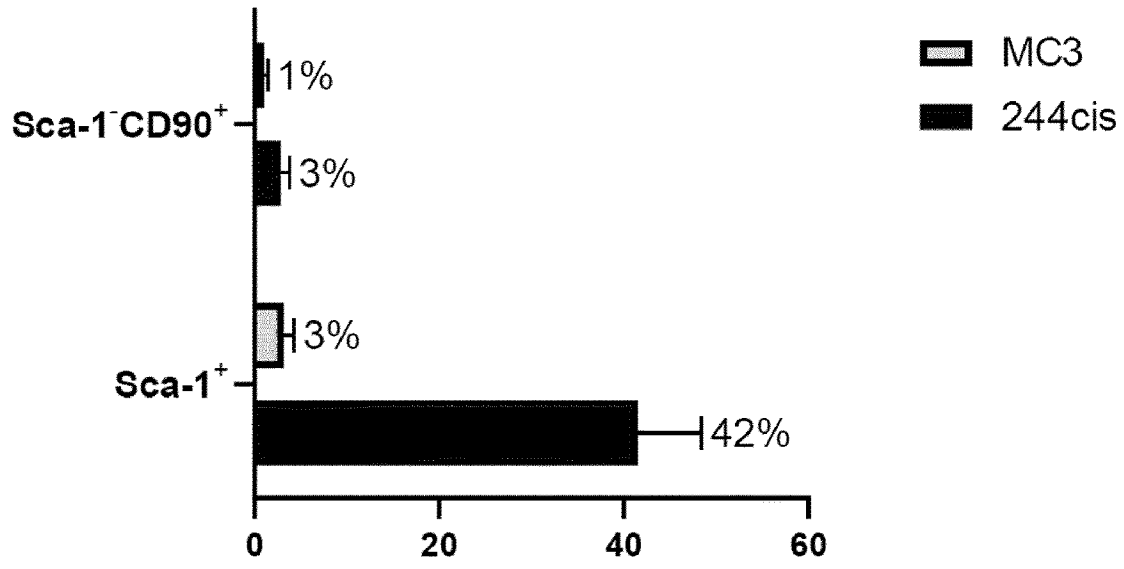
【도 12】



【도 13】



[도 14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2023/016792**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****A61K 9/51(2006.01)i; A61K 9/00(2006.01)i; A61K 48/00(2006.01)i; A61K 31/7088(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 9/51(2006.01); A61K 47/18(2006.01); A61K 9/127(2006.01); A61K 9/14(2006.01); C07C 211/21(2006.01); C07C 229/24(2006.01); C07D 295/04(2006.01); C12N 15/85(2006.01)

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above
Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal), STN (Registry, CAplus) & keywords: 지질(lipid), 약물 전달(drug delivery), 폐(lung)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2019-0093816 A (CUREVAC AG et al.) 26 August 2019. See claims 9, 70 and 75; and paragraphs [0314], [0669], [0672] and [1067].	1-12
A	US 2021-0107861 A1 (ACUITAS THERAPEUTICS, INC.) 15 April 2021 (2021-04-15) See entire document.	1-12
A	US 2014-0308304 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 16 October 2014 (2014-10-16) See entire document.	1-12
A	US 2015-0166462 A1 (SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES, INC.) 18 June 2015 (2015-06-18) See entire document.	1-12
A	ZHOU, K. et al. Modular degradable dendrimers enable small RNAs to extend survival in an aggressive liver cancer model. Proceedings of the national academy of sciences. 2016, vol. 113, no. 3, pp. 520-525. See entire document.	1-12

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

01 February 2024

Date of mailing of the international search report

02 February 2024

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon Building 4, 189 Cheongsaro, Seo-gu, Daejeon 35208

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2023/016792

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO 2023-136689 A1 (ST PHARM CO., LTD.) 20 July 2023 (2023-07-20) See claims 1, 4 (compound 5) and 5-9; and paragraph [0067].	1-7

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed.
 - b. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2023/016792

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
KR	10-2019-0093816	A	26 August 2019	AU	2017-350488	A1	02 May 2019
				AU	2019-350488	A1	02 May 2019
				AU	2022-235588	A1	02 March 2023
				AU	2023-235588	A1	02 March 2023
				AU	350488	B2	23 June 2022
				BR	112019008481	A2	03 March 2020
				BR	19008481	A2	03 March 2020
				CA	3040337	A1	03 May 2018
				CN	110352071	A	18 October 2019
				EP	3532094	A1	04 September 2019
				IL	266194	A	30 June 2019
				IL	266194	B1	01 May 2023
				IL	266194	B2	01 September 2023
				IL	301800	A	01 May 2023
				JP	2020-504764	A	13 February 2020
				JP	2023-109965	A	08 August 2023
				JP	7289265	B2	09 June 2023
				MX	2019004913	A	16 September 2019
				SG	11201903460	QA	30 May 2019
				US	2020-0163878	A1	28 May 2020
US	2021-0251898	A1	19 August 2021				
WO	2018-078053	A1	03 May 2018				
<hr/>							
US	2021-0107861	A1	15 April 2021	AU	2015-280499	A1	09 February 2017
				AU	2015-280499	B2	19 March 2020
				AU	2020-204111	A1	09 July 2020
				AU	2020-204111	B2	11 November 2021
				AU	2022-200794	A1	24 February 2022
				CA	2953341	A1	30 December 2015
				CA	2953341	C	24 January 2023
				CA	3179824	A1	30 December 2015
				CN	106795096	A	31 May 2017
				CN	106795096	B	29 May 2020
				CN	111454165	A	28 July 2020
				EP	3160938	A1	03 May 2017
				EP	3160938	B1	16 September 2020
				EP	3766916	A1	20 January 2021
				EP	3766916	B1	28 September 2022
				EP	4148083	A1	15 March 2023
				ES	2834556	T3	17 June 2021
				ES	2931832	T3	03 January 2023
				HR	P20221536	T1	17 February 2023
				HU	E060907	T2	28 April 2023
				IL	260772	B	29 October 2020
				IL	277448	A	30 November 2020
				IL	277448	B	01 February 2022
				IL	289934	A	01 March 2022
				IL	289934	B	01 December 2022
				IL	289934	B2	01 April 2023
				IL	298516	A	01 January 2023
JP	2017-522376	A	10 August 2017				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2023/016792

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
				JP 2019-218403 A	26 December 2019
				JP 2022-008909 A	14 January 2022
				JP 2023-055841 A	18 April 2023
				JP 6594421 B2	23 October 2019
				JP 6957573 B2	02 November 2021
				JP 7221353 B2	13 February 2023
				LT 3766916 T	10 January 2023
				PL 3766916 T3	27 February 2023
				PT 3766916 T	28 November 2022
				RS 63848 B1	31 January 2023
				SI 3766916 T1	31 January 2023
				US 10106490 B2	23 October 2018
				US 10723692 B2	28 July 2020
				US 11634379 B2	25 April 2023
				US 2015-0376115 A1	31 December 2015
				US 2017-0083367 A1	05 October 2017
				US 2017-0157268 A1	08 June 2017
				US 2019-0070697 A1	05 September 2019
				US 9737619 B2	22 August 2017
				US 9738593 B2	22 August 2017
				WO 2015-199952 A1	30 December 2015
US	2014-0308304	A1	16 October 2014	WO 2013-086373 A1	13 June 2013
US	2015-0166462	A1	18 June 2015	AU 2013-237873 A1	09 October 2014
				AU 2013-237873 B2	14 December 2017
				AU 2018-201766 A1	05 April 2018
				AU 2018-201766 B2	14 November 2019
				BR 112014024131 A2	25 July 2017
				CA 2868034 A1	03 October 2013
				CA 2868034 C	27 July 2021
				CN 104334161 A	04 February 2015
				DK 2830595 T3	02 December 2019
				EP 2830595 A1	04 February 2015
				EP 2830595 B1	16 October 2019
				EP 3620447 A1	11 March 2020
				EP 3620447 B1	17 February 2021
				ES 2762873 T3	26 May 2020
				ES 2868174 T3	21 October 2021
				HK 1206645 A1	15 January 2016
				JP 2015-519301 A	09 July 2015
				JP 2018-095653 A	21 June 2018
				JP 2019-214617 A	19 December 2019
				JP 6283655 B2	21 February 2018
				JP 6585202 B2	02 October 2019
				JP 6873200 B2	19 May 2021
				US 10065919 B2	04 September 2018
				US 10766852 B2	08 September 2020
				US 2017-0240501 A1	24 August 2017
				US 2018-0362443 A1	20 December 2018
				US 2019-0185410 A1	20 June 2019
				US 2021-0009503 A1	14 January 2021

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No. PCT/KR2023/016792

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		US 9546128 B2	17 January 2017
		WO 2013-149140 A1	03 October 2013
WO 2023-136689 A1	20 July 2023	None	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) A61K 9/51(2006.01)i; A61K 9/00(2006.01)i; A61K 48/00(2006.01)i; A61K 31/7088(2006.01)i; A61P 11/00(2006.01)i		
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) A61K 9/51(2006.01); A61K 47/18(2006.01); A61K 9/127(2006.01); A61K 9/14(2006.01); C07C 211/21(2006.01); C07C 229/24(2006.01); C07D 295/04(2006.01); C12N 15/85(2006.01) 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템), STN(Registry, CAplus) & 키워드: 지질(lipid), 약물전달(drug delivery), 폐(lung)		
C. 관련 문헌		
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	KR 10-2019-0093816 A (큐어백 아게 등) 2019.08.26 청구항 9, 70, 75; 단락 [0314], [0669], [0672], [1067]	1-12
A	US 2021-0107861 A1 (ACUITAS THERAPEUTICS, INC.) 2021.04.15 전체 문헌	1-12
A	US 2014-0308304 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 2014.10.16 전체 문헌	1-12
A	US 2015-0166462 A1 (SHIRE HUMAN GENETIC THERAPIES, INC.) 2015.06.18 전체 문헌	1-12
A	ZHOU, K. 등, "Modular degradable dendrimers enable small RNAs to extend survival in an aggressive liver cancer model", Proceedings of the national academy of sciences, 2016, 제113권, 제3호, 페이지 520-525 전체 문헌	1-12
PX	WO 2023-136689 A1 (ST PHARM CO., LTD.) 2023.07.20 청구항 1, 4(화합물 5), 5-9; 단락 [0067]	1-7
<input type="checkbox"/> 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. <input checked="" type="checkbox"/> 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.		
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: "A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 "D" 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌 "E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 "L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 "O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 "P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 "T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 "X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. "Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. "&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌		
국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일	
2024년02월01일(01.02.2024)	2024년02월02일(02.02.2024)	
ISA/KR의 명칭 및 우편주소	심사관	
대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)	허주형	
팩스 번호 +82-42-481-8578	전화번호 +82-42-481-5373	

제1기재란 핵산염기 및/또는 아미노산 서열(첫 번째 용지의 1.c의 계속)

- 1. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열과 관련하여, 국제조사는 다음에 기초하여 수행되었습니다.
 - a. 출원시 국제출원의 일부를 구성하는 서열목록
 - b. 국제조사를 목적으로 국제출원일 이후에 제출된 서열목록(규칙 13의3.1(a))
 - 서열목록이 출원시 국제출원의 개시 범위를 넘지 않는다는 취지의 진술서를 첨부

- 2. 국제출원에 개시된 핵산염기 및/또는 아미노산 서열에 대해, 본 보고서는 WIPO 표준 ST.26을 준수하는 서열목록이 없이 유효한 조사를 할 수 있는 범위에서 작성되었습니다

- 3. 추가 의견:

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2019-0093816 A	2019/08/26	AU 2017-350488 A1	2019/05/02
		AU 2019-350488 A1	2019/05/02
		AU 2022-235588 A1	2023/03/02
		AU 2023-235588 A1	2023/03/02
		AU 350488 B2	2022/06/23
		BR 112019008481 A2	2020/03/03
		BR 19008481 A2	2020/03/03
		CA 3040337 A1	2018/05/03
		CN 110352071 A	2019/10/18
		EP 3532094 A1	2019/09/04
		IL 266194 A	2019/06/30
		IL 266194 B1	2023/05/01
		IL 266194 B2	2023/09/01
		IL 301800 A	2023/05/01
		JP 2020-504764 A	2020/02/13
		JP 2023-109965 A	2023/08/08
		JP 7289265 B2	2023/06/09
		MX 2019004913 A	2019/09/16
		SG 11201903460 QA	2019/05/30
		US 2020-0163878 A1	2020/05/28
US 2021-0251898 A1	2021/08/19		
		WO 2018-078053 A1	2018/05/03
US 2021-0107861 A1	2021/04/15	AU 2015-280499 A1	2017/02/09
		AU 2015-280499 B2	2020/03/19
		AU 2020-204111 A1	2020/07/09
		AU 2020-204111 B2	2021/11/11
		AU 2022-200794 A1	2022/02/24
		CA 2953341 A1	2015/12/30
		CA 2953341 C	2023/01/24
		CA 3179824 A1	2015/12/30
		CN 106795096 A	2017/05/31
		CN 106795096 B	2020/05/29
		CN 111454165 A	2020/07/28
		EP 3160938 A1	2017/05/03
		EP 3160938 B1	2020/09/16
		EP 3766916 A1	2021/01/20
		EP 3766916 B1	2022/09/28
		EP 4148083 A1	2023/03/15
		ES 2834556 T3	2021/06/17
		ES 2931832 T3	2023/01/03
		HR P20221536 T1	2023/02/17
		HU E060907 T2	2023/04/28
		IL 260772 B	2020/10/29
		IL 277448 A	2020/11/30
		IL 277448 B	2022/02/01
		IL 289934 A	2022/03/01
		IL 289934 B	2022/12/01
		IL 289934 B2	2023/04/01
		IL 298516 A	2023/01/01
JP 2017-522376 A	2017/08/10		

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		JP 2019-218403 A	2019/12/26
		JP 2022-008909 A	2022/01/14
		JP 2023-055841 A	2023/04/18
		JP 6594421 B2	2019/10/23
		JP 6957573 B2	2021/11/02
		JP 7221353 B2	2023/02/13
		LT 3766916 T	2023/01/10
		PL 3766916 T3	2023/02/27
		PT 3766916 T	2022/11/28
		RS 63848 B1	2023/01/31
		SI 3766916 T1	2023/01/31
		US 10106490 B2	2018/10/23
		US 10723692 B2	2020/07/28
		US 11634379 B2	2023/04/25
		US 2015-0376115 A1	2015/12/31
		US 2017-0083367 A1	2017/10/05
		US 2017-0157268 A1	2017/06/08
		US 2019-0070697 A1	2019/09/05
		US 9737619 B2	2017/08/22
		US 9738593 B2	2017/08/22
		WO 2015-199952 A1	2015/12/30
US 2014-0308304 A1	2014/10/16	WO 2013-086373 A1	2013/06/13
US 2015-0166462 A1	2015/06/18	AU 2013-237873 A1	2014/10/09
		AU 2013-237873 B2	2017/12/14
		AU 2018-201766 A1	2018/04/05
		AU 2018-201766 B2	2019/11/14
		BR 112014024131 A2	2017/07/25
		CA 2868034 A1	2013/10/03
		CA 2868034 C	2021/07/27
		CN 104334161 A	2015/02/04
		DK 2830595 T3	2019/12/02
		EP 2830595 A1	2015/02/04
		EP 2830595 B1	2019/10/16
		EP 3620447 A1	2020/03/11
		EP 3620447 B1	2021/02/17
		ES 2762873 T3	2020/05/26
		ES 2868174 T3	2021/10/21
		HK 1206645 A1	2016/01/15
		JP 2015-519301 A	2015/07/09
		JP 2018-095653 A	2018/06/21
		JP 2019-214617 A	2019/12/19
		JP 6283655 B2	2018/02/21
		JP 6585202 B2	2019/10/02
		JP 6873200 B2	2021/05/19
		US 10065919 B2	2018/09/04
		US 10766852 B2	2020/09/08
		US 2017-0240501 A1	2017/08/24
		US 2018-0362443 A1	2018/12/20
		US 2019-0185410 A1	2019/06/20
		US 2021-0009503 A1	2021/01/14

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 9546128 B2	2017/01/17
		WO 2013-149140 A1	2013/10/03
----- WO 2023-136689 A1 -----	2023/07/20	없음	