



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2009-0036587
(43) 공개일자 2009년04월14일

(51) Int. Cl.

A61K 31/4196 (2006.01) A61P 31/10 (2006.01)

A61K 31/4412 (2006.01) A61K 31/7048 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-7002793

(22) 출원일자 2009년02월11일

심사청구일자 없음

번역문제출일자 2009년02월11일

(86) 국제출원번호 PCT/US2007/016065

국제출원일자 2007년07월13일

(87) 국제공개번호 WO 2008/008537

국제공개일자 2008년01월17일

(30) 우선권주장

60/831,099 2006년07월13일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(71) 출원인

로스 엔젤레스 바이오메디칼 리서치 인스티튜트
엡 하버-유씨엘에이 메디칼 센터

미국, 캘리포니아 90250-2064, 토렌스, 웨스트 카
손 스트리트 1124

(72) 발명자

이브라힘 아쉬라프 에스

미국 캘리포니아주 90638 라 미라다 앤도라 드라
이브 8192

스펠버그 브래드 제이

미국 캘리포니아주 90275 란초 팔로스 베르데스
아베니다 셀레스티얼 30140

에드워즈 잔 이

미국 캘리포니아주 90274 팔로스 베르데스 비아
라 셀바 3708

(74) 대리인

김성기, 김진희

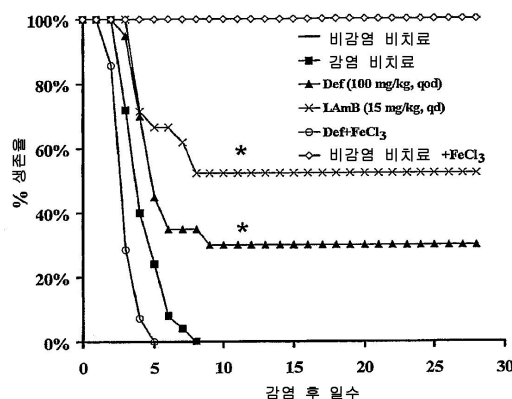
전체 청구항 수 : 총 44 항

(54) 털곰팡이증 및 다른 진균병의 치료를 위한 조성물 및 방법

(57) 요약

본 발명은 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 포함하는 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 철 킬레이트 화합물인 데페리프론 또는 데페라시록스를 포함할 수 있다. 조성물에 포함된 항균제는 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 또는 에키노칸딘 항균제를 포함할 수 있다. 본 발명은 또한 진균병의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 상기 방법은 진균병의 중증도를 감소시키기 위해 충분한 시간 동안 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함하는데, 상기 철 킬레이트 화합물은 상기 진균병과 관련된 비철포획체 또는 비이종철포획체를 포함한다. 본 발명에 의해 제공되는 진균병의 치료 또는 예방 방법은 또한 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 진균병의 발병 전에 1 이상의 철 킬레이트 화합물, 또는 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 예방 투여하는 것을 포함하는 방법이 본 발명에 의해 더 제공된다.

대표도 - 도1



(30) 우선권주장

60/897,620 2007년01월26일 미국(US)

60/904,075 2007년02월27일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

1 이상의 철 킬레이트 화합물 또는 이의 약학적 허용염, 및 1 이상의 항균제 또는 이의 약학적 허용염을 포함하는 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 철 킬레이트 화합물은 데페리프론 또는 데페라시록스를 포함하는 것인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항균제는 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 또는 에키노칸딘(echinocandin) 항균제를 포함하는 것인 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 폴리엔 항균제는 암포테리신 B 테옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B, 암포테리신 B 지질 착물 또는 암포텍(amphotec)에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 아졸 항균제는 포사코나졸, 보리코아졸(voricoazole), 플루코나졸 또는 이트라코나졸에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 에키노칸딘 항균제는 카스포핀진(caspofungin) 아세테이트 또는 미카핀진(micafungin)에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, 2 이상의 철 킬레이트 화합물을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 2 이상의 철 킬레이트 화합물은 데페리프론 및 데페라시록스를 포함하는 것인 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 2 이상의 항균제를 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 상기 2 이상의 항균제는 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 또는 에키노칸딘 항균제에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 항균제는 암포테리신 B 테옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B, 암포테리신 B 지질 착물, 암포텍, 포사코나졸, 보리코아졸, 플루코나졸, 이트라코나졸, 카스포핀진 아세테이트 또는 미카핀진에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 치료 유효량의 상기 철 킬레이트 화합물, 상기 항균제 또는 양쪽을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 약학적으로 허용 가능한 매질을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 14

진균병(fungal condition)의 중증도를 감소시키기에 충분한 시간 동안 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 진균병의 치료 또는 예방 방법으로서, 상기 철 킬레이트 화합물은 상기 진균병과 관련된 비철포획체(non-siderophore) 또는 비이종철포획체(non-xenosiderophore)를 포함하는 방법.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 진균병은 접합균증, 아스페르길루스증, 효모균증, 칸디다증, 히스토플라스마증, 콕시디오이데스진균증, 파라콕시디오이데스진균증(paracoccidiomycosis), 말피부사상균증[히알로히포미코세스(hyalohyphomycoses)], 분아균증, 페니실리오시스(penicilliosis) 또는 스포로트릭스증을 포함하는 것인 방법.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 접합균증은 털곰팡이증을 더 포함하는 것인 방법.

청구항 17

제16항에 있어서, 상기 털곰팡이증은 코대뇌 털곰팡이증, 폐 털곰팡이증, 위장관 털곰팡이증, 파종성 털곰팡이증, 뼈 털곰팡이증(bone mucormycosis), 종격 털곰팡이증(mediastinum mucormycosis), 기관 털곰팡이증(trachea mucormycosis), 신장 털곰팡이증, 복막 털곰팡이증, 상대정맥 털곰팡이증 또는 외이도 털곰팡이증을 포함하는 것인 방법.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 털곰팡이증은 조균목(order Mucorales)에 속하는 감염체와 관련되어 있는 것인 방법.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 조균목에 속하는 감염체는 리조푸스 오리제(*Rhizopus oryzae*)[리조푸스 아리주스(*Rhizopus arrhizus*)], 리조푸스 미크로스포루스 변종 리조포디포르미스(*Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis*), 압시디아 코림비페라(*Absidia corymbifera*), 아포피소미세스 엘레간스(*Apophysomyces elegans*), 털곰팡이 종, 리조무코르 푸실루스(*Rhizomucor pusillus*) 및 컨닝하멜라 에스피피(*Cunninghamella* spp)[컨닝하멜라세에 과(*Cunninghamellaceae* family)]로 구성된 리조푸스 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 칸디다증은 칸디다 알비칸스, 칸디다 크루세이, 칸디다 트로피칼리스, 칸디다 글라브라타 및 칸디다 파라프실로시스로 구성된 칸디다 중에서 선택되는 감염체와 관련되어 있는 것인 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 아스페르길루스증은 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*), 아스페르길루스 플라부스, 아스페르길루스 테레우스(*Aspergillus terreus*), 아스페르길루스 니둘란스(*Aspergillus nidulans*) 및 아스페르길루스 클라바투스(*Aspergillus clavatus*)로 구성된 아스페르길루스 중에서 선택되는 감염체와 관련되어 있는 것인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 철 킬레이트 화합물은 데페리프론 또는 데페라시록스를 포함하는 것인 방법.

청구항 23

제22항에 있어서, 2 이상의 철 킬레이트 화합물을 더 포함하며, 여기서 각각의 철 킬레이트 화합물은 상기 진균병과 관련된 비철포획체 또는 비이종철포획체를 포함하는 것인 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 2 이상의 철 킬레이트 화합물은 데페리프론 및 데페라시록스를 포함하는 것인 방법.

청구항 25

제14항에 있어서, 상기 예방은 상기 진균병의 발병 전에 상기 1 이상의 철 킬레이트 화합물의 예방 투여를 포함하는 것인 방법.

청구항 26

진균병의 중증도를 감소시키기에 충분한 시간 동안 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 진균병의 치료 또는 예방 방법으로서, 상기 철 킬레이트 화합물은 상기 진균병과 관련된 비철포획체 또는 비이종철포획체를 포함하는 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 진균병은 접합균증, 아스페르길루스증, 효모균증, 칸디다증, 히스토플라스마증, 콕시디오이데스진균증, 파라콕시디오이데스진균증, 말피부사상균증(히알로히포미코세스), 분아균증, 페니실리오시스 또는 스포로트릭스증을 포함하는 것인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 접합균증은 털곰팡이증을 더 포함하는 것인 방법.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 털곰팡이증은 코대뇌 털곰팡이증, 폐 털곰팡이증, 위장관 털곰팡이증, 파종성 털곰팡이증, 뼈 털곰팡이증, 종격 털곰팡이증, 기관 털곰팡이증, 신장 털곰팡이증, 복막 털곰팡이증, 상대정맥 털곰팡이증 또는 외이도 털곰팡이증을 포함하는 것인 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 털곰팡이증은 조균목에 속하는 감염체와 관련되어 있는 것인 방법.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 조균목에 속하는 감염체는 리조푸스 오리제(리조푸스 아리주스), 리조푸스 미크로스포르스 변종 리조포디포르미스, 압시디아 코럼비페라, 아포피소미세스 엘레간스, 털곰팡이 종, 리조무코르 푸실루스 및 컨닝하멜라 에스피피(컨닝하멜라세에 과)로 구성된 리조푸스 중에서 선택되는 것인 방법.

청구항 32

제27항에 있어서, 상기 칸디다증은 칸디다 알비칸스, 칸디다 크루세이, 칸디다 트로피칼리스, 칸디다 글라브라타 및 칸디다 파라프실로시스로 구성된 칸디다 종에서 선택되는 감염체와 관련되어 있는 것인 방법.

청구항 33

제27항에 있어서, 상기 아스페르길루스증은 아스페르길루스 푸미가투스, 아스페르길루스 플라부스, 아스페르길루스 테레우스, 아스페르길루스 니들란스 및 아스페르길루스 클라바투스로 구성된 아스페르길루스 종에서 선택되는 감염체와 관련되어 있는 것인 방법.

청구항 34

제26항에 있어서, 상기 철 킬레이트 화합물은 데페리프론 또는 데페라시록스를 포함하는 것인 방법.

청구항 35

제26항에 있어서, 상기 항균제는 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 또는 에키노칸딘 항균제를 포함하는 것인 방법.

청구항 36

제35항에 있어서, 상기 폴리엔 항균제는 암포테리신 B 테옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B, 암포테리신 B 지질 착물 또는 암포텍에서 선택되는 것인 방법.

청구항 37

제35항에 있어서, 상기 아졸 항균제는 포사코나졸, 보리코아졸, 플루코나졸 또는 이트라코나졸에서 선택되는 것인 방법.

청구항 38

제35항에 있어서, 상기 에키노칸딘 항균제는 카스포핀진 아세테이트 또는 미카핀진에서 선택되는 것인 방법.

청구항 39

제26항에 있어서, 2 이상의 철 킬레이트 화합물을 더 포함하며, 여기서 각각의 철 킬레이트 화합물은 상기 진균병과 관련된 비철포획제 또는 비이종철포획제를 포함하는 것인 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 2 이상의 철 킬레이트 화합물은 테페리프론 및 테페라시록스를 포함하는 것인 방법.

청구항 41

제26항에 있어서, 2 이상의 항균제를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 2 이상의 항균제는 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 또는 에키노칸딘 항균제에서 선택되는 것인 방법.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 항균제는 암포테리신 B 테옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B, 암포테리신 B 지질 착물, 암포텍, 포사코나졸, 보리코아졸, 플루코나졸, 이트라코나졸, 카스포핀진 아세테이트 또는 미카핀진에서 선택되는 것인 방법.

청구항 44

제26항에 있어서, 상기 예방은 상기 진균병의 발병 전에 상기 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제의 예방 투여를 포함하는 것인 방법.

명세서

기술분야

<1> 본 발명은 일반적으로 감염병의 치료, 더욱 상세하게는 기회 진균병의 효과적인 치료에 관한 것이다.

배경기술

<2> 털곰팡이증은 접합진균강, 조균목(order Mucorales)의 진균에 의해 생기는 생명을 위협하는 감염이다. 조균목에 속하는 진균은 6개 과로 분류되는데, 이들 모두는 털곰팡이증을 일으킬 수 있다[문헌(Ibrahim et al. Zygomycosis, p. 241-251, In W. E. Dismukes, P. G. Pappas, and J. D. Sobel (ed.), Clinical Mycology, Oxford University Press, New York (2003); Kwon-Chung, K. J., and J. E. Bennett, mucormycosis, p. 524-559, Medical Mycology, Lea & Febiger, Philadelphia (1992), and Ribes et al. Zygomycetes in Human Disease, Clin Microbiol Rev 13:236-301 (2000)]. 그러나, 털곰팡이과, 상세하게는 리조푸스 오리재(*Rhizopus oryzae*)[리조푸스 아리주스(*Rhizopus arrhizus*)] 중에 속하는 진균은 아주 가장 흔한 감염의 원인이다[문헌(Ribes et al., supra)]. 킨닝하멜라세아 과(*Cunninghamellaceae* family) 내 킨닝하멜라 에스피피(*Cunninghamella* spp)로의 감염으로 인한 털곰팡이증의 케이스 증가도 보고되었다[문헌(Cohen-Abbo et al., Clinical Infectious Diseases 17:173-77 (1993); Kontoyianis et al., Clinical Infectious Diseases

18:925-28 (1994); Kwon-Chung et al., American Journal of Clinical Pathology 64:544-48 (1975), and Ventura et al., Cancer 58:1534-36 (1986)]. 조균목의 나머지 4개 과는 질환의 원인이 되는 경우가 적다[문헌(Bearer et al., Journal of Clinical Microbiology 32:1823-24 (1994); Kamalam and Thambiah, Sabouraudia 18:19-20 (1980); Kemna et al., Journal of Clinical Microbiology 32:843-45 (1994); Lye et al., Pathology 28:364-65 (1996), and Ribes et al., (supra))].

<3> 털곰팡이증의 인자는 면역 기능 저하 숙주에 거의 균일하게 영향을 미치는 기회 병원체이다[문헌(Spellberg et al., Clin. Microbiol. Rev. 18:556-69 (2005))]. 당뇨병 케톤산증을 앓고 있는 환자는 특히 털곰팡이증에 걸릴 가능성이 크며, 다른 진균에 의해 생기는 감염보다 더욱 흔히 이 감염을 발달시킨다. 대조적으로, 호중구 감소증 및 코르티코스테로이드 요법을 비롯하여 환자가 털곰팡이증을 발달시키기 쉽게 하는 다른 면역 기능 저하 조건의 측면에서, 털곰팡이증은 칸디다 및 아스페르길루스 에스피피(*Aspergillus spp*)에 의해 생기는 것들과 같은 다른 기회 진균 감염보다 덜 흔하다. 전체적으로, 최근의 연구에 기초한 연구는 털곰팡이증의 발생율이 연간 천만명당 1.7 케이스라고 추정했는데, 이는 미국에서 연간 약 500 케이스가 된다[문헌(Rees et al., Clinical Infectious Diseases 27:1138-47 (1998))]. 그럼에도 불구하고, 동종 골수 이식을 받는 환자와 같은 위험이 더 높은 환자에서, 털곰팡이증의 유병율은 2 내지 3% 높은 것으로 기재되었다[문헌(Maertens et al., Bone Marrow Transplantation 24:307-12 (1999); Marty et al., N Engl J Med 350:950-52 (2004))]. 또한, 최근의 검토는 지난 20년에 걸쳐 털곰팡이증의 발생율에 현저한 증가가 있음을 발견하였다[문헌(Gleissner et al., Leuk Lymphoma 45:1351-60 (2004))]. 주요 줄기 세포 이식 센터에 의해서 유사한 증가가 보고되었다. 예컨대, 보고는 지난 20 년에 걸쳐 털곰팡이증의 발생율이 2 배 이상 높아졌다고 기재하였다[문헌(Marr et al., Clin Infect Dis 34:909-17 (2002); Kontoyianis et al., Clin Infect Dis 30:851-56 (2000))]. 미국의 노화 인구에서 당뇨병, 암 및 장기 이식의 유병율이 증가한다면, 털곰팡이증의 발생율의 증가는 가까운 장래에 계속 줄지 않을 것으로 예상된다.

<4> 침습성(invasive) 털곰팡이증에 대한 이용 가능한 요법은 잠재적인 소인성 요인인 감염된 영역의 긴급하고 널리 보급된 수술 데브리망(surgical debridement) 및 보조 항균 요법을 변화시키려는 시도를 포함한다[문헌(Edwards, J., Jr., Zygomycosis, p. 1192-1199. In P. Hoepfich and M. Jordan (ed.), Infectious Disease, 4th ed. J.B. Lippincott Co., Philadelphia (1989); Ibrahim et al., (2003), supra; Kwon-Chung and Bennett, supra; Sugar, A. M., Agent of Mucormycosis and Related Species, p. 2311-2321. In G. Mandell, J. Bennett, and R. Dolin (ed.), Principles and Practices of Infectious Diseases, 4th ed. Churchill Livingstone, New York (1995))]. 암포테리신 B(AmB)는 침습성 털곰팡이증의 치료에 대해 승인받은 유일한 항균제이다(Id.). 진균은 AmB에 비교적 내성이 있기 때문에, 고용량이 필요하고, 이로 인해 종종 신독성 및 다른 역효과가 초래된다[문헌(Sugar, supra)]. 또한, 감염된 병터를 수술로 제거(예컨대 코대뇌 털곰팡이증을 앓는 환자에서의 눈의 절제)하지 않을 경우, 항균 요법만으로는 거의 치료 불가능하다[문헌(Edwards, J. (1989), supra; Ibrahim et al., (2003), supra)]. 수술 데브리망을 고용량 AmB와 조합하는 경우라도, 털곰팡이증과 관련된 사망률은 50%를 초과한다[문헌(Sugar, supra)]. 과중성 질환을 앓는 환자에서, 사망율은 100%에 이른다[문헌(Husain et al., Clin Infect Dis 37:221-29 (2003))]. 이 받아들이기 어려울 정도로 높은 사망률 및 매우 소모적인 수술 요법의 심각한 이환율로 인해, 침습성 털곰팡이증을 치료 및 예방하기 위한 새로운 전략을 개발하는 것이 긴급해졌다.

<5> AmB의 신독성은 개입의 하역금 AmB보다 신독성이 더 적고 더 장기간 동안 더 고용량으로 투여할 수 있는 AmB 지질 제제의 사용을 채택하게 하였다[문헌(Ibrahim et al.5 (2003), supra)]. 털곰팡이증을 앓는 환자에 대한 몇 개의 케이스 보고는 15 mg/kg/d 이하의 암포테리신 지질 제제를 이용한 성공적인 치료를 문서로 증명하였다[문헌(Cagatay et al., BMC Infect Dis 1:22 (2001); Ericsson et al., Clinical Infectious Diseases 16:585-56 (1993); Walsh et al., Antimicrob Agents Chemother 45:3487-96 (2001))]. 그럼에도 불구하고, 암포테리신 지질 제제로 치료한 환자의 사망률은 여전히 높아서, 이 치명적인 질환에 대한 새로운 치료제가 필요하다.

<6> 철은 성장 및 발병력을 위해 실질적으로 모든 미생물 병원체에 필요하다[문헌(Howard, D. H., Clin Microbiol Rev 12:394-404 (1999))]. 포유 동물 숙주에서, 매우 적은 혈청 철이 유기체에 가용적인데, 이는 이것이 트랜스페린과 같은 담체 단백질에 상당히 잘 결합하기 때문이다[문헌(Artis et al., Diabetes 31 :1109-14. (1982))]. 혈청 철의 분리는 특히 리조푸스 오리제에 대한 주요한 숙주 방어 기전이다[문헌(Artis et al., supra)]. 유기체는 혈청 내에서 잘 성장하지 않으며, 외인성 철을 첨가시 이 성장 억제제가 역전된다[문헌(Artis et al., supra; Boelaert et al., Journal of Clinical Investigation 91:1979-86 (1993))].

<7> 가용 혈청 철의 수준이 높은 환자는 리조푸스 오리재 및 다른 접합진균에 의한 감염에 특히 걸리기 쉽지만, 칸디다 또는 아스페르길루스와 같은 다른 병원성 진균에는 더 적은 정도로 감염되기 쉽다[문헌(Ibrahim et al., (2003), supra; Sugar, supra)]. 예컨대, 철 킬레이터인 데페록사민으로 치료한 환자는 침습성 털곰팡이증의 발병률이 현저하게 증가하는데, 이는 이 환자에서의 > 80%의 사망률과 관련되어 있다[문헌(Boelaert et al., Kidney International 45:667-71 (1994))]. 데페록사민은 인간 숙주에 대해 철 킬레이터로서 작용하지만, 리조푸스 오리재에 대한 이의 영향은 정 반대인 것으로 보인다. 데페록사민은 진균에 이미 비가용적인 철을 제공하는 철포획체로서 작용함으로써 환자가 리조푸스 감염에 걸리기 쉽게 한다[문헌(Boelaert et al., (1993), supra)]. 리조푸스는 데페록사민 내재화 없이 감소된 철의 세포내 수송에 의해 철-데페록사민 착물로부터 철을 얻는다[문헌(de Locht et al., Biochemical Pharmacology 47:1843-50 (1994))]. 이 수송은 고친화도 철 투과 효소에 의해 매개되는 것 같다. 따라서, 증가된 가용 혈청 철은 털곰팡이증 발병 기전의 위험 인자이다. 그러나, 철 킬레이트 화합물은 병원체에 대한 철포획체로서 작용할 수 있어서, 일반적으로 요법 치료에는 적용할 수 없다.

<8> 따라서, 털곰팡이증 발병 기전의 위험을 감소시킬 수 있으며 효과적인 요법 치료를 제공하는 화합물 및 방법이 필요하다. 본 발명은 이 필요를 충족시키고, 관련된 이점도 제공한다.

발명의 상세한 설명

<9> 발명의 개요

<10> 본 발명은 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 포함하는 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 철 킬레이트 화합물인 데페리프론 또는 데페라시록스를 포함할 수 있다. 조성물에 포함되는 항균제는 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 또는 에키노칸딘(echinocandin) 항균제를 포함할 수 있다. 본 발명은 또한 진균병(fungal condition)의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 상기 방법은 진균병의 중증도를 감소시키기에 충분한 시간 동안 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함하는데, 상기 철 킬레이트 화합물은 상기 진균병과 관련된 비철포획체(non-siderophore) 또는 비이종철 포획체(non-xenosiderophore)를 포함한다. 본 발명에 의해 제공되는 진균병의 치료 또는 예방 방법은 또한 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 진균병의 발병 전에 1 이상의 철 킬레이트 화합물, 또는 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 예방 투여하는 것을 포함하는 방법이 본 발명에 의해 더 제공된다.

실시예

<89> 실시예 I

<90> 진균병의 중증도 감소를 위한 철 킬레이트화 요법

<91> 이 실시예는 데페리프론 및 Exjade™이 털곰팡이증의 발병 기전을 감소시킬 수 있음을 보여주는 예비 연구를 설명한다.

<92> 데페록사민 또는 유리 철(free iron)이 리조푸스로 감염된 동물의 생존을 악화시키지만 칸디다 알비칸스로 감염된 동물의 생존은 더 적은 정도로 악화시킴을 동물 모델이 증명하였는데, 이는 리조푸스 병원성에 대한 철의 독특한 필요성을 분명히 나타낸다[문헌(Abe et al., Mycopathologia 110:87-91 (1990); Boelaert et al., (1993), supra; Boelaert et al., (1994), supra; Van Cutsem and Boelaert, Kidney International 36:1061-68 (1989))]. 추가로, 혈청 중 데페록사민으로부터의 방사성 표지 철 섭취의 시험관내 연구는, 리조푸스가 아스페르길루스 푸미가투스 및 칸디다 알비칸스가 각각 축적하는 것보다 80 배 및 40 배 더 많은 양의 철을 축적함을 보여주었다[문헌(Boelaert et al., (1993), supra)]. 이러한 리조푸스에 의한 철 섭취 증가는 혈청 내 이의 성장과 직접 관련되어 있다[문헌(Boelaert et al., (1993), supra)]. 혈청 내 성장 증가는 혈관을 통해 직접 침투하여 성장하는(이는 사망 동안 혈전증 및 조직 괴사에 대한 성향이 생기게 함) 접합진균의 특별한 친화도를 설명할 수 있다[문헌(Edwards, (1989), supra; Ibrahim et al., (2003), supra; Ventura et al., supra)].

<93> 상기 설명한 바와 같이, 당뇨병 케톤산증을 앓는 환자는 또한 코대뇌 털곰팡이증을 발달시킬 위험이 높다. 이들 환자는 또한 아마도 산증의 존재 하에 철을 결합 단백질로부터 방출하는 것으로 인해, 가용 혈청 철 수준이 높다[문헌(Artis et al., supra)]. 당뇨병 케톤산증을 앓는 환자로부터 수집한 혈청은 산성 pH(7.3 내지 6.88)의 존재 하에 그러나 알칼리성 pH(7.78 내지 8.38)의 부재 하에 리조푸스 오리재의 성장을 지원하였다. 산성 pH에서 리조푸스 오리재 성장을 지원하지 않는 혈청은 진균 성장을 지원한 혈청보다 가용 철이 적다. 또한, 외인성

철을 혈청에 첨가하면 리조푸스 오리체가 pH > 7.4가 아닌 산성 조건에서 잘 성장할 수 있다. 마지막으로, 모의 산증 조건은 정상적인 지원자로부터 수집한 혈청의 철 결합능을 감소시키는데, 이는 산증이 일시적으로 트랜스페린의 철 결합능을 중단시킴을 시사한다. 따라서, 당뇨병 케톤증을 앓는 환자가 털곰팡이증에 걸릴 가능성이 증가하는 것은 아마도 당뇨병 케톤산증 동안 가용 혈청 철이 적어도 부분적으로 증가하기 때문인 것 같다.

<94> 털곰팡이증의 발병 기전에서 철 대사의 역할로 인해 보조 항진균 요법으로서를 비롯하여 항진균 요법에 효과적인 철 킬레이터를 사용할 가능성이 생긴다. 데페록사민과 대조적으로, 다른 철 킬레이터는 유기체가 철을 흡수하지 못하게 하고, 철의 존재 하에 이의 시험관내 성장을 지원하지 않는다[예컨대 문헌(Boelaert et al., (1994), supra) 참조]. 또한, 데페록사민은 기니픽에서 파종성 리조푸스 오리체 감염을 악화시키는 반면, 다른 킬레이터 중 하나는 생체내 감염에 영향이 없었고, 다른 킬레이터는 감염된 기니픽보다 평균 생존 시간이 2 배 이상이었다(하기 표 1).

표 1

<95>

리조푸스 오리체로 감염된 기니픽의 생존에 대한 철 킬레이터의 효과	
치료	평균(±SD) 생존 시간(일)
식염수	7.8±1.1
데페록사민	4.8±1.1
데페리프론	16.2±4.0
CP94	8.7±1.0
*p < 0.05 대 식염수 대조	

<96> 본 명세서에 기재된 시험관내 및 생체내 데이터는, 데페리프론이 털곰팡이증 감염을 효과적으로 치료하는 데에 사용될 수 있음을 시사한다. 상기 표 1은 데페리프론이 감염된 동물의 평균 생존 시간을 상당히 증가시키는 예비 연구 결과를 보여준다. 이 예비 연구는, 데페리프론이 리조푸스 오리체에 대해 시험관내 활성이 높으며, 이는 항온 처리 24 시간에서 정적 효과를 나타내지만 48 시간에서는 치사 효과를 나타내는 것임을 추가로 보여 주었다[48 시간 후 양쪽에 대해 6.25 µg/ml의 최소 억제 농도(MIC) 및 최소 살균 농도(MFC)]. 감염된 DKA 마우스에서, 털곰팡이증에 대한 일반적인 요법인 리포숨 암포테리신 B(LAmB) 또는 데페리프론(Def)은 위약에 비해 28 일 생존을 개선시켰다[LAmB에 대해 52% 생존 대 Def에 대해 30% 대 위약에 대해 0%, LAmB 또는 Def 대 위약에 대한 로그 랭크 시험(Log Rank test)에 의해 p < 0.003; LAmB 대 Def에 대해 p=0.15]. Def의 효능은 FeCl₃을 마우스에게 투여함으로써 없어지는데, 이는 Def 매개 보호의 기전이 철 킬레이트화임을 확인시켜 준다(도 1). 이 나중 제제인 데페리프론은 유럽 및 인도에서 철 킬레이터로서의 임상적 사용에 대해 승인 받았고, 미국에서 철과부하에 대한 동정적 사용 기준에 대해 유용하다.

<97> 다른 철 킬레이터인 Exjade™(노바티스)은 미국에서 철과부하 환자에서의 임상적 사용에 대해 승인 받았다. 이 약물을 당뇨병 케톤산증 마우스 모델을 이용하여 시험관내에서 그리고 동물 모델에서 리조푸스 오리체에 대해 시험하였다. 1, 3, 또는 10 mg/kg 처방에서 치사 용량의 리조푸스 오리체로 감염되고 Exjade™으로 치료한 마우스는 위약으로 치료한 마우스보다 길게 생존했다[로그 랭크 시험에 의한 28 일 생존 일수는 위약에 대해 0% 생존 대 1 mg/kg Exjade®(p=0.03)에 대해 29% 생존 대 3 mg/kg Exjade®(p=0.049)로 치료한 마우스에 대해 40% 생존 대 10 mg/kg Exjade®(p=0.01)로 치료한 마우스에 대해 57% 생존이었음](도 2). 이 연구는, 털곰팡이증의 치료에서의 Exjade™ 사용 효능을 증명한다. 이 연구는 또한 상기 철 킬레이터가 호중구 감소 개체에서 털곰팡이증을 비롯한 다른 진균 감염 뿐 아니라 파종성 칸디다증 및 아스페르길루스증과 같은 다른 감염의 치료에 적용 가능함을 시사한다.

<98> 실시예 II

<99> 털곰팡이증 치료를 위한 철 킬레이트화 요법

<100> 이 실시예는 당뇨병 케톤산증(DKA) 마우스의 털곰팡이증의 치료 또는 호중구 감소 마우스의 털곰팡이증에 대한 예방에서 데페리프론과 리포숨 암포테리신 B(LAmB)의 효능을 비교한 것을 나타낸다.

<101> 리조푸스 오리체는 털곰팡이증의 흔한 원인이다[문헌(Ibrahim et al., (2003), supra)]. 당뇨병 케톤산증과 같이 가용 혈청 철이 상승한 환자는 털곰팡이증 감염을 발달시킬 위험이 크다[문헌(Artis et al., supra)]. 추가로, 데페록사민 철 킬레이트화 요법은 환자가 이들 감염에 걸리기 쉽게 한다. 데페록사민은 이중철포획체로서

작용하여 진균에 미리 비가용 철을 공급한다[문헌(Boelaert et al., (1993) supra)]. 따라서, 숙주로부터 철을 제거하기 위해 진균이 사용할 수 없는 철 킬레이터 사용시 털곰팡이증에 대한 효과를 측정하였다. Def는 철을 제거하기 위해 리조푸스가 사용할 수 없는 철 킬레이터이다[문헌(Boelaert et al., (1994) supra)].

<102> 초기에, 리조푸스 오리재에 대한 테페리프론의 시험관내 활성을 이 연구에서 평가하였다. 간단히, 리조푸스 오리재 99-880을 당뇨병 환자의 뇌 고름집으로부터 분리하였다. 유기체를 3 일 동안 37°C에서 감자 포도당 한천(DPA) 상에서 성장시켰다. 일부 실험에서, 리조푸스 오리재를 1 mM의 아스코르브산 및 페로진의 존재 하에 PDA 상에서 성장시켜 철을 기아시켰다. 포자낭 포자를 0.01% Tween 80을 함유하는 엔도톡신 무함유 PBS에서 수집하고, PBS로 세정한 후, 혈구계로 계수하여 최종 접종물을 제조하였다. 감수성 시험을 위해, 에스피넬-인그로프(Espinel-Ingroff)의 방법에 의해 Def 및 테페록사민에 대한 최소 억제 농도(MIC) 및 최소 살균 농도(MFC)를 측정하였다[문헌(J Clin Microbiol 39:954 (2001))].

<103> 결과를 하기 표 2에 나타냈다. 테페리프론은 항온 처리 24 시간에서 리조푸스 오리재에 대해 정적이었지만(각각 MIC 및 MFC=3.12 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 48 시간에서 치사성을 나타냈다(MIC 및 MFC=6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$). 대조적으로, 리조푸스 오리재에 철을 공급하는 것으로 공지된 테페록사민은 리조푸스 오리재의 성장을 억제하지 않았고(24 또는 48 시간 후 MIC 및 MFC > 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 사실상 육안 검사에 의해 테페록사민을 함유하는 웰 내 성장이 (철 킬레이터를 함유하지 않는) 대조 웰 내 성장보다 양호하였다.

표 2

<104>

리조푸스 오리재에 대한 DEF 및 테페록사민의 MIC90 및 MFC (값은 mg/ml로 표시됨)				
시간(시간)	테페리프론		테페록사민	
	MIC	MFC	MIC	MFC
24	3.12	100	> 100	> 100
48	6.25	6.25	> 100	> 100

<105> 리조푸스 오리재에 대한 시험관내 활성을 확인하고, 본 발명자들은 생체내에서 파종성 리조푸스 오리재 감염을 치료하는 데에 있어서의 테페리프론의 역할을 평가하기 위해 이 DKA 마우스 모델을 이용하였다. 간단히, 생체내 감염을 위해, BALB/c 수컷 마우스($\geq 20\text{g}$)에게 진균 도전 10 일 전에 0.2 ml 시트레이트 완충액 중 210 mg/kg의 스트렙토조토신을 단일 복강내 주입하여 당뇨병을 부여하였다. 스트렙토조토신 치료 7 일 후 모든 마우스에서 당뇨 및 케톤뇨증이 확인되었다. 적절한 접종물의 리조푸스 오리재로 꼬리 정맥을 통해 마우스를 감염시켰다. 접종물을 확인하기 위해, PDA 플레이트 상에서 희석물을 스트리킹(streaking)하고, 실온에서 24 시간의 항온 처리 기간 후 집락을 계수하였다. 1차 효능 종말점은 사망 시점이다. 2차 종말점으로서, 2 ml의 식염수를 함유하는 월-팩 백(Whirl-Pak bag)(Nasco, 미국 위스콘신주 포트 앳킨슨 소재)에 놓여진 기관 위에 피펫을 굴려서 균 질화함으로써 뇌 진균 부하(1차 목표 기관)를 측정하였다. 균질물을 연속적으로 0.85% 식염수에 희석시킨 후, PDA 상에서 정량 배양하였다. 값은 $\log_{10} \text{cfu g}^{-1}$ 조직으로 표시하였다. 마우스와 관련된 모든 절차는 실험 동물 사용 및 보호 위원회로부터 승인받은 후, 동물 주거 및 보호에 대한 국립 건강 위원회 가이드라인에 의해 승인 받았다.

<106> 약물 및 치료 요법에 관해, 5% 포도당 수용액에 희석된 LAmB를 길리드 사이언스로부터 얻고, 이를 꼬리 정맥을 통해 정맥내로 15 mg/kg qd(매일 1 회) 투여하였다. 테페리프론(아포텍스 리서치 인코포레이티드)을 철 무함유수에 용해시키고, 50, 100 또는 200 mg/kg qd 또는 qod(격일)로 복강내 투여하였다. 감염 24 시간 후에 치료를 시작하고, 총 4 개 용량 동안 계속하였다. 대조군은 희석제인 5% 포도당 수용액으로 치료하였다.

<107> 일부 실험에서, 포화 용량의 유리 철을 테페리프론과 함께 투여하여 철 킬레이트화의 효능을 변화시키려 하였다. 테페리프론은 1:3의 철 대 테페리프론의 비로 제2 철(^{3+}Fe)과 분자 착물을 형성하는 것으로 공지되어 있다. 염화철(FeCl_3 , 분자량 162.22 g/mol) 및 테페리프론(분자량 139 g/mol)의 공지된 분자량을 기준으로, 60 mg/kg 용량의 FeCl_3 을 계산하여 18 g 마우스에 상당한 초과량의 ^{3+}Fe 대 100 mg/kg 용량의 테페리프론이 생기도록 하였다: ^{3+}Fe 몰=(0.060 g/kg * 0.018 kg[마우스 체중]/162.22 g/mol)= 6.5×10^{-6} mol 대 테페리프론 몰=(0.1 g/kg * 0.018 kg[마우스 체중]/139 g/mol)= 1.3×10^{-5} mol 비=1:2 몰의 ^{3+}Fe 대 테페리프론(이는 포화 1:3 비를 달성하는 데 필요한 것보다 많음).

- <108> 비모수 로그 랭크 시험을 이용하여 통계학적 분석을 수행하고, 이를 이용하여 마우스의 생존 시간 차이를 측정하였다. 감염된 기관에서의 조직 진균 부하 차이를 다중 비교를 위해 비모수 스틸 시험과 비교하였다. < 0.05 의 P값을 유의적인 것으로 고려하였다.
- <109> 초기에, 제조자로부터의 미공개 관찰을 기초로 한 용량을 이용하여 용량 반응을 수행하였다(qd 또는 qod로 투여된 50, 100 또는 200 mg/kg의 데페리프론). 마우스를 총 4.3×10^3 포자의 리조푸스 오리제로 감염시키고, 감염 24 시간 후 데페리프론 치료를 개시하고, 4 개 용량 동안 계속하였다. 결과를 도 3 및 1에 도시하였는데, 이는 데페리프론이 리조푸스 오리제 감염으로부터 DKA 마우스를 보호함을 시사한다. 100 mg/kg qod의 데페리프론 용량이 위약에 비해 DKA 마우스의 생존을 개선시켰다($P=0.027$, 도 3). 100 mg/kg qd 또는 200 mg/kg qd 또는 qod를 비롯한 더 높은 용량은 생존을 개선시키지 못했고, 50 mg/kg qd 또는 qod 용량도 마찬가지였다.
- <110> 실시예 1에서 상기 설명한 바와 같이, 데페리프론의 효능을 또한 고용량 LAmB를 이용한 털곰팡이증의 일반적인 치료와 비교하였다. qd로 투여된 15 mg/kg 용량의 LAmB를 선택하였는데, 이 용량이 1 mg/kg 암포테리신 B 더욱 시클레이트보다 본 발명자의 DKA 마우스 모델에서 더욱 보호적임을 본 발명자가 증명하였기 때문이다. 또한, 데페리프론의 보호 기전이 철의 킬레이트화임을 확인하기 위해, 데페리프론+포화 용량(60 mg/kg)의 FeCl_3 형태의 유리 철의 효능도 평가하였다. 데페리프론을 동물에게 제공할 때마다 FeCl_3 을 정맥내 투여하였다.
- <111> 100 mg/kg qod의 LAmB 또는 데페리프론은 위약에 비해 28 일 생존을 개선시켰다(도 1, LAmB 또는 데페리프론 대 위약에 대한 로그 랭크 시험에 의해 $P < 0.003$). LAmB로 치료한 마우스 대 데페리프론으로 치료한 마우스의 생존에는 통계적인 차이가 없었다($P=0.15$). 데페리프론의 효능은 염화철의 투여에 의해 완전히 없어졌다(도 1).
- <112> 추가의 연구에서, Def 및 LAmB의 조합을 이용한 실험적인 털곰팡이증의 치료도 평가하였다. 간단히, 마우스(감염 비치료 및 Def에 대해 $n=11$, 및 LAmB 및 Def+LAmB에 대해 $n=6$)를 리조푸스 오리제로 감염시킨 후, 24 시간 후 Def, LAmB 또는 양쪽 약물의 조합으로 총 4 개 용량에 대해 치료하였다. 결과를 도 4에 도시하였는데, 이는 양쪽 치료의 조합을 이용시 효능이 증강됨을 시사한다(*는 감염 비치료 마우스에 비해 $p < 0.005$).
- <113> 유사하게, 리조푸스 오리제로 감염되고 Def, LAmB 또는 양쪽으로 예방된 호중구 감소 마우스의 생존을 측정하였다. 마우스($n=9$)를 -1 일째에 총 4 개 용량에 대해 Def qod, LAmB qd 또는 양쪽으로 치료하였다. 이 결과를 도 5에 도시하는데, 이는 또한 철 킬레이트화와 조합한 항진균 치료의 조합을 이용시 효능 증가를 시사한다(*는 LAmB 또는 LAmB+Def 대 감염 비치료에 대한 $p < 0.05$). 예컨대, 예방성 Def는 위약 치료 마우스에서 22% 생존 대 0% 생존을 가져왔고($p > 0.05$); LAmB 및 LAmB+Def 양쪽은 100% 생존을 가져왔다(양쪽에 대해 $p < 0.05$ 대 위약).
- <114> 뇌가 이 동물 모델에서 1차 목표 기관이기 때문에, 효능의 추가 마커로서, 뇌 진균 부하에 대한 데페리프론 요법의 영향도 평가하였다. 마우스를 3.8×10^3 포자로 감염시킨 후, 2 개 용량의 LAmB(qd) 또는 데페리프론(qod)으로 치료하였다. 상기 연구에서, 대조 마우스는 데페리프론의 제2 용량을 투여하기 전에 죽기 시작하였다. 조직 진균 부하를 측정하기 전에 적어도 데페리프론의 2개 이상의 용량을 테스트할 수 있기 위해, 이 연구에서 데페리프론을 감염 30 분 및 48 시간에 투여한 반면, LAmB를 감염 24 및 48 시간 후에 제공하였다. 감염 약 54 시간 후에 뇌를 수거하였다. 결과를 도 6에 나타냈는데, 이는 양쪽 약물이 위약에 비해 뇌 진균 부하를 감소시켰음을 시사한다($P \leq 0.036$).
- <115> 상기 결과는 Def 철 킬레이트화 요법이 실험적인 마우스 털곰팡이증의 치료에 효과적이고 또한 호중구 감소 환경에서를 비롯하여 예방 효능이 있을 수 있음을 시사한다. 특히, Def는 시험관내에서 리조푸스 오리제의 성장을 억제한 반면, 데페록사민은 억제하지 않았다. Def는 DKA 모델에서 털곰팡이증의 치료에 상당한 효능이 있으며, 이 효능은 LAmB의 고용량 요법에 필적한다. Def의 효능은 아마도 철 킬레이트능으로 인한 것으로 보이는데, 유리 철의 투여가 이의 보호를 변화시켰기 때문이다. Def 예방은 털곰팡이증의 호중구 감소 마우스에서 LAmB의 보호 효과를 길항하는 것으로 보이지 않았다.
- <116> **실시예 III**
- <117> **털곰팡이증의 요법 치료를 위한 데페라시록스 투여**
- <118> 이 실시예는 코대뇌 털곰팡이증을 위한 구제 요법으로서의 철 킬레이트제인 데페라시록스의 용도를 증명한다.
- <119> 데페라시록스(Exjade®)는 신규하고 이 부류 중 제1이며 경구 이용 가능한 철 킬레이터로서, 수혈 의존성 빈혈에서 철과부하 치료에 대해 미국(US) 식품 의약 기구(FDA)로부터 최근에 승인받았다. 이 연구는 최대의 통상적

인 항진균 요법에 실패한, 코대뇌 털곰팡이증을 앓는 환자를 위한 구제 요법으로서의 테페라시록스의 용도를 개시한다.

- <120> 당뇨병 케톤산증을 다뇨증, 다음증, 좌측 눈뒤 통증 및 좌뇌신경(CN) VI 마비와 함께 앓는 40 세 남성을 외부 병원의 응급실에 제공하였다. 머리의 전산화 단층 촬영술(CT) 스캔은 좌측 나비뼈 및 벌집뼈 부비동염만을 나타냈다. 환자는 제1 24 시간 내에 완전한 좌측 눈 근육 마비를 진행시켰다. 코대뇌 털곰팡이증이 의심되었고, 부비동염의 치료를 위해 5 mg/kg/d로 암포테리신 B 지질 착물(ABLC)을 실험적 항생제와 함께 투여하기 시작하였다. 병원 2 일째에, 환자는 내시경 접형벌집뼈(sphenooethmoid) 검사를 받았다. 괴사성 조직 또는 괴사 딱지는 발견되지 않았고, 다수의 생검은 비특정 감염을 나타냈다. 진균 배양물은 음성이었었고, 특정 염료는 유기체를 나타내지 않았다. 박테리아 배양물은 드문 엔테로박터 에어로게네스균만을 성장시켰다.
- <121> 다음 12 일에 걸쳐 환자는 실명을 발달시켰고, 좌측 눈 돌출이 악화되었다. 환자에게 ABLC 투여를 계속하였고, 추가의 수술은 수행하지 않았다. 안와 및 뇌의 일련의 자기 공명 영상(MRI)은 좌측 범코결막염의 진행, 및 좌측 외안근의 비정상 강화를 나타냈다.
- <122> 병원 14 일째에 추가의 관리를 위해 환자를 본 발명자들의 시설로 옮겼다. 도착 직후, 환자는 안구 적출 및 확장성 굴 테브리망(extensive sinus debridement) 및 절제를 이용하여 좌측 안와 내용적출술을 거치게 하였다. 수술중 소견은 외안근의 확장성 주위 괴사와 함께 허혈 안구를 포함하였다. 병리 건본은 조균의 증거를 나타냈고(도 7); 진균 배양물은 음성이었다. 환자에게 15 mg/kg/d로 리포솜 암포테리신 B(LamB) 투여를 시작하고, (폴리엔-에키노칸딘 시너지를 나타내는 공개 마우스 데이터를 기준으로) 70 mg/kg/d로 카스포펄린 투여를 시작하였다. 안와 내용적출술 2 일 후 수행한 머리 CT 스캔은 좌측 해면 굴 혈전증을 나타냈는데; 이 소견은 후속 MRI에서 확인되었다.
- <123> 새로운 신경학적 소견이 없음에도 불구하고, 병원 36 일째의 MRI는 좌측 내부 목동맥에서 천천히 흐르는 좌측 해면 굴 혈전증의 진행, 및 진행성 털곰팡이증과 일치하는 CN V의 새로운 강화를 나타냈다. 항진균 요법을 계속하였다. 병원 71 일째에, 뇌 MRI는 안상 수조(suprasellar cistern)에 새로운 강화를 나타냈고, 처음으로 주위 부종을 갖는 다리뇌의 뇌간 병변을 발달시켰다. 다리뇌의 표면에 병변이 위치하였고, 소정 용량의 암포테리신을 수조내 투입하였지만, 환자는 추가 용량을 거부하였다. 환자는 임상학적으로 그리고 신경학적으로 변화가 없었다. 후속 조영의 안정화로 인해, 환자는 병원 86 일째에 병원을 나가서 주 3 회 외래 환자 LAmB 단일 요법을 계속하였다.
- <124> 환자의 병은 수 개월 동안 임상학적으로 그리고 방사선 촬영적으로 안정한 채로 유지되었다. 병원을 나간지 10 주 후 신부전이 악화되었기 때문에(0.8의 기저선으로부터 Cr 3.5-4.0), LAmB의 용량을 주 2 회 10 mg/kg로 감소시킨 후, 병원을 나간 후 4 개월 동안 주 1 회 하향 조정하였다. 1 개월 후, 반복 MRI는 진행성 질환과 일치하는, 좌측 중소뇌각 및 좌측 쇄뇌교각에서 주위 부종을 갖는 새로운 강화를 나타냈다.
- <125> 마우스에서의 실험적인 철 킬레이터, 테페리프론 뿐 아니라 테페라시록스의 미공개 관찰로부터의 데이터를 기초로 하여, 테페라시록스를 7 일 동안 매일 1000 mg po의 용량으로 (입으로) 투여하였다. LAmB 투여를 계속하였다. 테페라시록스 치료 마지막 날에, 환자는 몸통 전체에 홍반성, 약한 소양성, 융합성 반점 구진 발진을 발달시켰고, 사지는 가능한 약물 발진과 일치하였다. 소양증을 디펜히드라민으로 관리하였다. 다른 역 이벤트는 지지되지 않았다. 테페라시록스 치료 1 주 후 뇌의 반복 MRI는 좌측 소뇌다리의 부종의 해결을 증명하였다. 5 주 후 후속 조영은 새로운 병변이 없음을 증명하였다. 신부전의 악화(Cr ~5.5), 및 반복 조영에 대한 방사선 촬영술 소견의 안정된 환경으로 인해, LAmB 투여를 중지하였다. 초기 진단 10 개월 후, 환자는 증상이 없고 신경학적으로 손상이 없는 상태를 유지하였다.
- <126> 본 명세서에 설명한 환자는 확장 수술 및 수 개월의 항진균 요법에도 불구하고 침습성 털곰팡이증을 확실히 치료하지 못했는데, 이는 환자가 LAmB의 최대 허용 용량으로 치료한 7 개월 후 진행성 털곰팡이증과 일치하는 새로운 방사선 촬영술 소견을 발달시켰기 때문이다. 그러나, 테페라시록스로의 치료 7 일 후, 실질적인 방사선 촬영술 개선이 지지되었다. 테페라시록스를 투여한지 2 개월 후, 모든 항진균 요법을 중지하였다. 환자는 후에 임상학적으로 증상이 없고 방사선 촬영술적으로 안정한 상태를 유지하였고, 질환 진행의 징조가 없었다. 환자는 킬레이터에 원인이 있을 수 있는 부 약물 반응 외에는 테페라시록스를 잘 참았다.
- <127> 진행 털곰팡이증의 경우를 설명하였는데, 적절한 수술로의 현저한 지연 후 뇌간 및 해면 굴이 관련되었고, 구제 요법을 위한 테페라시록스의 사용 후 명백히 성공적인 결과가 있었다. 테페라시록스 치료의 정확한 효과는 동시적인 폴리엔 요법과 약간 혼동된다. 그러나, 환자는 테페라시록스의 첨가 전에 매우 공격적인 폴리엔 요법에 확

실패하였다. 이 경우 희망적인 결과가 나왔지만, 현재의 항진균 요법에도 불구하고 털곰팡이증의 선택 제한 및 털곰팡이증의 예후 부족, 털곰팡이증의 치료에서의 철 킬레이트화의 추가 연구가 보장된다.

<128> 실시예 IV

<129> 시험관내에서의 조균에 대한 테페라시록스의 효과

<130> 이 실시예는 리조푸스 오리제에서 고친화도 철 투과 효소 유전자(rFTR1)의 발현에 대한 테페라시록스의 효과를 증명한다. 이 실시예는 또한 조균의 다수의 임상 단리물의 테페라시록스 감수성을 증명한다.

<131> 하기는 이 실시예 또는 후속 실시예에 기재된 절차에서 이용되는 재료 및 방법을 설명한다.

<132> 리조푸스 오리제 및 배양 조건

<133> 리조푸스 오리제 99-880은 당뇨병 환자의 뇌 고름집으로부터 나온 임상 단리물이다. 리조푸스 오리제 99-892는 임상 폐 단리물이다. 리조푸스 오리제 M16은 화학적인 돌연변이 유발에 의해 리조푸스 오리제 99-880으로부터 생성된 pyrF 영 돌연변이(null mutant)(pyrF는 우라실 합성에 필요한 효소인 오로티딘 5'-포스페이트 디카르복실라아제를 코딩함)이다. 이 돌연변이는 1×10^9 포자 이상을 플레이트링할 때에도 우라실 영양 요구성에 대한 안정한 표현형을 나타냈다. 유기체를 4 일 동안 37°C에서 감자 포도당 한천(PDA)[제제/ℓ; 감자 전분 4 g, 포도당 20 g, 한천 15 g] 상에서 성장시켰다. M16에 대해, PDA를 100 µg/ml 우라실로 보충하였다. 일부 실험에서, 1 mM의 아스코르산 및 페로진의 존재 하에 우라실 없는(CSM-URA) 완전 보충 배지로 보충된 효모 질소 베이스(YNB)(미국 매릴랜드주 스파크스 소재의 디프코/벡톤 디킨슨), (YNB+CSM-URA)[제제/100 ml, 아미노산 없는 1.7 g YNB, 20 g 글루코오스, 0.77 g CSM-URA] 상에서 성장시켜 철을 기아시켰다. 포자낭 포자를 0.01% Tween 80을 함유하는 엔도톡신 무함유 PBS에서 수집하고, PBS로 세정한 후, 혈구계로 계수하여 최종 접종물을 제조하였다.

<134> 리조푸스 오리제(rFTR1)의 고친화도 철 투과 효소 유전자의 발현 분석

<135> 융합성 PDA로부터 취한 리조푸스 오리제 99-880 플러그를 진탕시키면서 37°C에서 감자 포도당 액체 배지에서 밤새 성장시켰다. 균사체를 무균 수집하고, 철 킬레이트화를 시험하기 위한 350 µM 염화철(rFTR1의 발현을 억제함), 350 µM 염화철+2 mM 테페라시록스, 또는 첨가된 테페라시록스를 과포화시키기 위한 2 mM 테페라시록스+6 mM 염화철을 함유하는 새로운 PDB 플라스크로 옮겼다. 플라스크를 진탕하면서 1 시간 동안 37°C에서 항온 처리하였다. 균사체를 여과에 의해 수집하고, 유발 및 유발을 이용하여 액상 질소 중에서 분쇄하였다. 총 RNA를 RLC 완충액과 함께 RNeasy Plabti Mini™(Qiagen®) 키트를 이용하여 추출하였다. 제1 가닥 cDNA를 생성시키기 위해 Superscript™ First-Strand Synthesis System(Invitrogen®)을 이용하여 올리고(dT) 프라이머로 RNA를 역전사시켰다. 생성물을 희석시키고, PCR에 이용하여 리조푸스 오리제 및 18s rDNA 유전자의 FTR1의 발현을 검출하였다. PCT 프라이머의 서열은 하기와 같다: 리조푸스 오리제를 증폭시키기 위한 rFTR1에 대한 센스 프라이머 5'-TCAGAGAAGGACTTGAAGC-3' 및 안티센스 프라이머 5'-TAAGTAGCCGTATTGTTC-3'; 및 18s rDNA 유전자에 대한 센스 프라이머 5'-CATGGTTGAGATTGAAGATAG-3' 및 안티센스 프라이머 5'-AGTCAATGGACGTGGAGTC-3'. PCR 생성물을 0.1 µg/ml 브롬화에티듬을 함유하는 2% 아가로오스 겔 상에서 분리하였다. 양쪽 프라이머 세트는 모두 400 bp 밴드를 증폭시키기 위해 설계되었다.

<136> 녹색 형광 단백질(GFP) 리포터 어세이

<137> rFTR1 ORF의 1.5 kb 절편 업스트림을 하기 프라이머 쌍을 이용하여 PCR 증폭시켰다: 센스 프라이머 5'-GCTCTAGATCAGTCTCAACACCATCAATT-3'; 및 안티센스 프라이머 5'-TGCGCCGTGCTTTTAGTTCTCCTTGA-3'. 구성 발현된 약틴 촉진제를 함유하는 2.1 kb 절편을 또한 PCR 증폭시켜 하기 프라이머 쌍을 이용하는 대조로서 사용하였다: 센스 5'-GCTCTAGATGTTATTATCGATTAGA-3'; 및 안티센스: 5'-TACGCGCCGATACCGAACC GTTATCG-3. 증폭된 절편을 플라스미드 pyr225b(35)의 XbaI 및 EagI 위치에 결찰시켰다. GFP를 pGFPB21-43.31(36)로부터 증폭시키고, 어느 한 쪽 촉진제의 다운스트림을 어느 한 쪽 촉진제의 플라스미드 다운스트림의 EagI-SacI 위치로 클로닝시켰다. 최종적으로, pyrF의 ORF 및 이의 선천 촉진제를 나타내는 2.1 kb 절편을 플라스미드의 SpeI-ClaI 위치로 클로닝시켜 선택 마커로서 작용하게 하였다. rFTR1p 또는 ACT1p에 의해 유도된 GFP를 함유하는 플라스미드를 마이크로프로젝틸 입자 충격기(microprojectile particle bombardment)(Biorad®)를 이용하여 리조푸스 오리제 M16으로 형질전환시켰다. 충격 후 5 내지 7 일 동안 37°C에서 성장시킨 YNB+CSM-URA 플레이트 상에서 형질전환물을 선택하였다. 그 다음, 우라실 없는 최소 배지를 함유하는 플레이트 상에 형질전환물을 통과시키고 37°C에서 플레이트를 항온 처리하여 단리물에 대해 우라실 영양 요구성을 시험하였다. 우라실 음성 플레이트 상에 선택된 정제된 형질전환물을 써던 블롯에 의해 분석하였다.

- <138> rFTR1p 및 ACT1p의 발현을 철 풍부물 배지(즉 YNB+CSM-URA) 또는 철 결핍 조건(즉 2 mM 테페라시록스로 보충된 YNB+CSM-URA)에서 성장시킨 형질전환물에서 연구하였다. 추가로, 테페라시록스의 효과를 변화시키기 위해, 형질전환물을 2 mM 테페라시록스 및 과포화 6 mM 염화철로 보충된 YNB+CSM-URA에서 성장시켰다. 마지막으로, 빈 플라스미드(GFP 없는 pyr225b-pyrF)로 형질전환된 M16을 음성 대조로서 이용하였다. 포자(1×10^4 /ml)를 상기 언급한 배지에서 접종하고, 37°C에서 밤새 항온 처리하였다. 배양물 액적을 슬라이드에 올리고, 488 nm의 여기 파장을 이용하여 Leica DMRXE 공초점 현미경으로 리조푸스 오리제에서의 GFP 발현을 시각화하였다. 추가로, 488 nm에서 방출되는 아르곤 레이저를 구비한 FACSCaliber™(Becton Dickinson®) 기구를 이용하여 형광 방출을 정량화하기 위해 각각의 배양물로부터의 1 ml 샘플을 또한 이용하였다. 포자를 전면 및 측면 스캐터로 게이팅하고, FL1에서 형광성을 측정하였다.
- <139> 감수성 시험
- <140> 철에 대해 기아시킨 리조푸스 오리제 포자를 이용하여 에스피넬-인그로프 방법에 의해 테페라시록스에 대한 최소 억제 농도(MIC) 및 최소 살균 농도(MFC)를 측정하였다[문헌(Espinel-Ingroff, (2001), supra)]. 치사성을 MIC와 MFC 사이의 ≤ 4 배 차이로서 정의하였다.
- <141> 치료 요법
- <142> 테페라시록스(스위스 바젤 소재의 노바티스 파마슈티컬즈)를 0.5% 히드록시프로필셀룰로오스(Klucel)에 현탁시키고, 2 회(qd) 또는 격일로(qod) 1, 3 또는 10 mg/kg으로 경구 섭식에 의해 투여하였다. 감염 24 시간 후에 치료를 시작하였고, 총 5 또는 7 개 용량 동안 계속하였다. 대조군을 희석제, 5% 포도당 수용액 및 0.5% Klucel로 치료하였다. 일부 실험에서, 포화 용량의 유리 철을 테페라시록스와 함께 투여하였다. 테페라시록스는 1:2의 철 대 테페라시록스의 비로 제2 철(^{3+}Fe)과 분자 착물을 형성하는 것으로 공지되어 있다. 염화철(FeCl_3 , 분자량 162.22 g/mol) 및 테페라시록스(분자량 373.4 g/mol)의 공지된 분자량을 기준으로, 2.8 mg/kg 용량의 FeCl_3 을 계산하여 18 g 마우스에 상당한 초과량의 ^{3+}Fe 대 10 mg/kg 용량의 테페라시록스가 생기도록 하였다: ^{3+}Fe 몰 = $(0.0028 \text{ g/kg} * 0.018 \text{ kg}[\text{마우스 체중}]/162.22 \text{ g/mol}) = 3 \times 10^{-7} \text{ mol}$ 대 테페라시록스 몰 = $(0.01 \text{ g/kg} * 0.018 \text{ kg}[\text{마우스 체중}]/373.4 \text{ g/mol}) = 5 \times 10^{-7} \text{ mol}$ 비=1:1.7 몰의 ^{3+}Fe 대 테페라시록스(이는 포화 1:2 비를 달성하는 데 필요한 것보다 많음). 5% 포도당 수용액에 희석된 LAmB를 Gilead Sciences®(미국 캘리포니아주 포스터 시티 소재)로부터 얻고, 이를 4 일 동안 꼬리 정맥을 통해 매일 15 mg/kg(qd)의 용량으로 투여하였다.
- <143> 통계학적 분석
- <144> 비모수 로그 랭크 시험을 이용하여 마우스의 생존 시간 차이를 측정하였다. 조직 진균 부하 차이, 비장 림프구 빈도 및 감염된 기관 내 전체 기관 시토키인을 맨 위트니 U 시험(Mann Whitney U test)에 의해 비교하였다. < 0.05의 P 값이 유의적인 것으로 여겨졌다.
- <145> 철 기아가 털곰팡이증의 가장 흔한 원인인, 리조푸스 오리제 내 고친화도 철 투과 효소 유전자(rFTR1)의 고속 발현을 초래한다는 것은 이미 밝혀졌다[문헌(Fu et al. FEMS Microbiol. Lett. 235:169-176 (2004))]. 따라서, 테페라시록스가 리조푸스 오리제로부터 철을 효과적으로 킬레이트화함을 확인하기 위해, 본 발명자들은 rFTR1의 리조푸스 오리제 발현에 대한 시험관내 테페라시록스 노출의 영향을 정의하였다. 리조푸스 오리제 99-880 포자를 PDB 중에서 밤새 항온 처리하였다. 다음날, 균사체를 350 μM 염화철(철 풍부물), 350 μM 염화철+2 mM 테페라시록스(철 결핍물) 또는 2 mM 테페라시록스+과포화 6 mM 염화철로 보충된 PDB에 옮겼다. RNA를 37°C에서 1 시간 동안 각각의 조건에서 성장시킨 포자로부터 추출하고, RT-PCR을 수행하여 유전자 발현을 평가하였다. rFTR1 유전자는 테페라시록스의 존재 하에 발현되었지만, 염화철로 보충된 매질에서는 또는 테페라시록스+과포화 염화철의 존재 하에서는 발현되지 않았다(도 8a).
- <146> 킬레이트화 조건 하에서의 rFTR1p 발현 및 rFTR1 촉진제 활성을 확인하기 위해, 녹색 형광 단백질(GFP)을 코딩하는 유전자를 rFTR1 촉진제 뒤에서 클로닝하였다(도 8b). 리조푸스 오리제 M16 포자를 rFTR1::GFP 구성물로 형질전환시키거나, 또는 ACT1p::GFP(구성 양성 대조)를 테페라시록스, 테페라시록스+과포화 염화철, 또는 철 풍부 매질(철 풍부물)로 밤새 항온 처리하였다. 도 8c는 성장 조건과 관계 없이 구성 발현된 ACT1 촉진제의 제어 하에서의 GFP와는 대조적으로, rFTR1 촉진제의 제어 하에서의 GFP가 철 킬레이트화 조건(테페라시록스)의 존재 하에서만 발현되거나 활성을 가짐을 나타낸다. 공초점 현미경 검사에 의해 확인되는 바와 같이, 구성 ACT1p::GFP 구성물로 형질전환된 M16은 성장 조건에 관계 없이 형광성이 있었다. 대조적으로, rFTR1p::GFP로 형질전환된

M16은 데페라시록스의 존재 하에서만 형광성이 있었다. 유사하게, 흐름 세포 측정에 의하면, 철 풍부물 조건에서 성장된 비형질전환된 포자 또는 rFTR1p::GFP로 형질전환된 포자의 1% 미만이 형광성이 있었다. 대조적으로, rFTR1p::GFP로 형질전환되고 데페라시록스의 존재 하에 성장된 포자의 43%가 형광성이 있었다. 총체적으로, 이들 데이터는, 데페라시록스가 리조푸스 오리제에서 철 기아 반응을 유도함을 확인시켜 주었다.

본 발명자들은 다음으로 조균의 다수의 임상 단리물의 데페라시록스 감수성을 측정하였다(하기 표 3). 털곰팡이, 비오리제 리조푸스 spp. 및 리조푸스 오리제에 대한 데페라시록스의 MIC_{90S}는 3.12 내지 6.25 µg/ml였다. MFC는 MIC와 유사하였고, 데페라시록스는 단리물의 28/29(97%)에 대해 치사적이었다. 중요하게, 매우 높은 농도의 데페라시록스에서조차 제1 12 시간 내에 약간의 성장이 관찰되었다. 그러나, 진균은 낮은 농도의 데페라시록스에서조차 24 시간 내에 죽었는데, 이는 데페라시록스 치사성이 농도에 의존적이기 보다는 시간에 의존적임을 시사한다. 또한, 이들 단리물에 대한 데페라시록스의 MIC 및 MFC는 FDA 승인을 받은 출발 용량(20 mg/kg/d)으로 투여시 항정 상태에서 약물의 임상학적으로 달성 가능한 피크(~38 µg/ml) 및 혈청 최저치(~17 µg/ml)보다 훨씬 낮다.

이 실시예는, 데페라시록스가 리조푸스 오리제에서 철 기아 반응을 유도하는 것을 증명하는 것 외에, 데페라시록스가 조균과(family Mucorales)의 2개의 상이한 속으로부터의 다수의 임상 단리물에 대해 치사성이 있음을 보여 주었다.

표 3

조균에 대한 데페라시록스 MIC 및 MFC

유기체	24 h			48 h		
	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	진균 치사적?*	MIC (µg/ml)	MFC (µg/ml)	진균 치사적?*
<i>Mucor</i> 97-1083	3.12	3.12	Y	3.12	3.12	Y
<i>Mucor ramosissimus</i> 97-1192	0.78	0.78	Y	0.78	0.78	Y
<i>Mucor</i> sp. 99-932	3.12	3.12	Y	3.12	3.12	Y
<i>Mucor</i> spp. MIC ₉₀ /MFC ₉₀	3.12	3.12	Y	3.12	3.12	Y
<i>R. microsporus</i> ATCC 62417	0.39	0.39	Y	0.39	0.39	Y
<i>Rhizopus</i> sp. 99-1150	6.25	6.25	Y	3.12	3.12	Y
<i>Rhizopus</i> sp. 99-1700	6.25	6.25	Y	1.56	1.56	Y
<i>Rhizopus</i> sp. ATCC 20577	3.12	6.25	Y	3.12	6.25	Y
<i>H. -oryzae Rhizopus</i> MIC ₉₀ /MFC ₉₀	6.25	6.25	Y	3.12	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> 729-02	12.5	12.5	Y	6.25	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> 99-133	6.25	6.25	Y	1.56	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> 99-880	3.12	3.12	Y	3.12	3.12	Y
<i>R. oryzae</i> 99-892	1.56	1.56	Y	1.56	1.56	Y
<i>R. oryzae</i> HUMC 02	12.5	12.5	Y	1.56	1.56	Y
<i>R. oryzae</i> pyr17 pyrG-/-	0.78	0.78	Y	0.78	0.78	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL 10206	3.12	3.12	Y	3.12	3.12	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL 21251	3.12	6.25	Y	6.25	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL 6059	6.15	6.25	Y	1.56	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL11823	3.12	3.12	Y	6.25	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL13142	6.25	6.25	Y	3.12	3.12	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL13440	1.56	12.5	N	1.56	12.5	N
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL13533	1.56	6.25	Y	1.56	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL21396	12.5	12.5	Y	1.56	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> I형 NRRL21409	12.5	1.56	Y	1.56	1.56	Y
<i>R. oryzae</i> II형 NRRL 18148	0.78	0.78	Y	0.78	0.78	Y
<i>R. oryzae</i> II형 NRRL 21446	6.25	12.5	Y	6.25	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> II형 NRRL 21447	6.25	12.5	Y	6.25	6.25	Y
<i>R. oryzae</i> II형 NRRL 21477	1.56	1.56	Y	1.56	1.56	Y
<i>R. oryzae</i> II형 NRRL 21628	0.78	0.78	Y	0.78	0.78	Y
<i>R. oryzae</i> II형 NRRL 21789	0.39	0.39	Y	0.39	0.39	Y
<i>R. oryzae</i> II형 10206	3.12	3.12	Y	3.12	3.12	Y
<i>R. oryzae</i> MIC ₉₀ /MFC ₉₀	12.5	12.5	Y	6.25	6.25	Y

* 치사적 = MFC/MIC ≤ 4(37)

실시예 V

생체내에서 리조푸스 오리제에 대한 데페라시록스의 효능

이 실시예는 조균으로 감염된 마우스의 치료에 있어서의 데페라시록스의 생체내 효능을 증명한다.

- <153> 하기는 이 실시예 또는 후속 실시예에 기재된 절차에서 이용되는 재료 및 방법을 설명한다.
- <154> *마우스 모델*
- <155> 생체내 감염을 위해, BALB/c 수컷 마우스(> 20g)에게 진균 도전 10 일 전에 0.2 ml 시트레이트 완충액 중 210 mg/kg의 스트렙토조토신을 단일 복강내 주입하여 당뇨병을 부여하였다. 스트렙토조토신 치료 7 일 후 모든 마우스에서 당뇨 및 케톤뇨증이 확인되었다. 호중구 감소 마우스 모델을 위해, 마우스를 리조푸스 오리재로의 감염 2 일 전에 200 mg/kg 시클로포스파미드(브리스톨 마이어 스쿼)의 단일 복강내 용량으로 감염시켰다. 이 치료 요법으로 감염 -2 내지 5 일에 온혈구 감소증이 생겼고, 세포 수의 회복은 감염 6 일 후에 시작되었다. 리조푸스 오리재의 적절한 접종물로 꼬리 정맥을 통해 마우스를 감염시켰다. 접종물을 확인하기 위해, 0.1% 트리톤을 함유하는 PDA 플레이트 상에서 희석물을 스트리킹하고, 37°C에서 24 시간의 항온 처리 기간 후 집락을 계수하였다. 1차 효능 종말점은 사망 시점이다. 2차 종말점으로서, 1 ml의 식염수를 함유하는 Whirl-Pak™ 백(Nasco®, 미국 위스콘신주 포트 앳킨슨 소재)에 놓여진 기관 위에 피펫을 굴려서 균질화함으로써 뇌 진균 부하(1차 목표 기관)를 측정하였다. 균질물을 연속적으로 0.85% 식염수에 희석시킨 후, PDA 상에서 정량 배양하였다. 값은 $\log_{10} \text{ cfu g}^{-1}$ 조직으로 표시하였다. 마지막으로, 조직병리학적 분석을 위해, 감염된 기관을 마우스로부터 수집하고, 10% 아연 포르말린에 고정시켰다. 고정된 조직을 파라핀에 침지시키고, 5 mm 부분을 광현미경 검사를 위해 해마톡실린 및 에오신으로 염색시켰다. 마우스와 관련된 모든 절차는 실험 동물 사용 및 보호 위원회로부터 승인받은 후, 동물 주거 및 보호에 대한 국립 건강 위원회 가이드라인에 의해 승인받았다.
- <156> 테페라시록스의 시험관내 활성이 생체내 효과로 변화되는지를 측정하기 위해, 본 발명자들은 당뇨병 케톤산증 마우스에서 본 발명자들의 파종성 털곰팡이증의 마우스 모델을 이용하였다. 당뇨병 케톤산증 마우스를 리조푸스 오리재 99-892의 2.2×10^4 포자로 꼬리 정맥을 통해 감염시켰다. 마우스를 감염 후 일수로부터 시작하여 7 일 동안 매일 2 회(처방) 0.5% 히드록시프로필셀룰로오스(Klucel) 중 1, 3 또는 10 mg/kg 테페라시록스로 경구 섭식에 의해 치료하였다. 음성 대조 마우스를 히드록시프로필셀룰로오스 담체(위약) 또는 테페라시록스+포화 염화철(피하 투여됨)로 치료하였다. 추가의 음성 대조는 염화철로 치료한 비감염 마우스로 구성되어 있었다. 1, 3 또는 10 mg/kg 처방의 테페라시록스는 대조에 비해 생존을 상당히 개선시켰다(도 9a).
- <157> 별개의 실험에서, 테페라시록스는 리조푸스 오리재 99-880 단리물의 제2 임상 단리물에 대해 효과적인 것으로 밝혀졌다. 당뇨병 케톤산증 마우스를 더욱 독성이 있는 리조푸스 오리재 99-880의 1.3×10^3 포자로 꼬리 동맥을 통해 감염시키고, 상기와 같이 7 일 동안 10 mg/kg 처방 또는 위약의 테페라시록스로 치료하였다. 테페라시록스는 위약에 비해 리조푸스 오리재로 감염된 마우스의 사망 시간을 상당히 개선시켰다(도 9b).
- <158> 조직 진균 부하에 대한 테페라시록스의 영향을 측정하기 위해, 당뇨병 케톤산증 마우스를 리조푸스 오리재 99-892의 4.2×10^4 포자로 꼬리 정맥을 통해 감염시켰다. 마우스를 테페라시록스(10 mg/kg 처방), 테페라시록스+포화 염화철 또는 위약으로 치료하였다. 감염 16 시간 후에 치료를 시작하고, 3 일 동안 매일 투여하였다. 신장 및 뇌를 4 일째에 제거하고, 균질화한 후, 정성적으로 배양하였다. 테페라시록스는 위약 또는 테페라시록스+포화 염화철로 치료한 마우스에 비해 뇌 및 신장(1차 목표 기관) 모두의 진균 부하가 10 배 이상 감소하였다(도 10a). 조직병리학에 의해, 테페라시록스로 치료한 마우스의 신장은 (도 10b에서 화살표로 표시한 바와 같이) 눈에 보이는 군사가 없었던 반면, 위약 또는 테페라시록스+포화 염화철로 치료한 마우스의 신장은 광범위하게 필라멘트화된 진균이 있었다. 또한, 포화 철로 치료한 마우스는 감염 위치에 대한 중성구 유입의 스트라이킹이 없었던 반면, 테페라시록스로 치료한 마우스의 신장에는 중성구 유입이 현저하였다(도 10b).
- <159> 테페라시록스의 직접적인 항진균 효과를 증명하는 것 이외에, 이 실시예는 테페라시록스의 보호 효과가 유리 철의 투여에 의해 변화될 수 있음을 증명하는데, 이는 철 킬레이트화를 통해 약물의 보호 기전이 작용함을 확인시켜 준다.
- <160> **실시예 VI**
- <161> **숙주 면역 반응에 대한 철 킬레이트화 및 과잉 철의 효과**
- <162> 이 실시예는 숙주 면역 반응에 대한 테페라시록스 및 테페라시록스+염화철의 효과 사이의 비교를 보여준다.
- <163> 하기는 이 실시예 또는 후속 실시예에 기재된 절차에서 이용되는 재료 및 방법을 설명한다.
- <164> *비장 림프구 빈도 및 전체 기관 시토키인 어세이*

- <165> 본 발명자들이 상기에 설명한 바와 같이 비장 림프구 빈도를 측정하였다[문헌(Spellberg et al., Infect. Immun. 71:5756-5764 (2003))]. 간단하게, 비장 균질물을 70 μ m 필터에 통과시킨 후, 0.15 M 염화암모늄으로 RBC 용해시켰다. 세포를 Cytofix™ 완충액(BD Pharmingen®)으로 고정시키고, Cytoperm™ 완충액(BD Pharmingen)과 함께 투과시킨 후, 10 μ g/ml의 FITC 컨쥬게이트 안티마우스 CD4(클론 RM4-5), PE 컨쥬게이트 안티마우스 IFN- γ (클론 XMG1.2) 또는 동형 대조(클론 R-34), 알로피코시아닌(APC) 컨쥬게이트 안티마우스 IL-4(클론 11B11) 또는 동형 대조(클론 R3-34), 또는 APC 컨쥬게이트 안티마우스 IL-10(클론 JES5-16E3) 또는 동형 대조(클론 A95-1)(모두 비디 파밍겐으로부터의 제품)로 염색시켰다. 별개의 실험에서, 제조자의 추천에 따라 CD4+CD25+foxp3+T-조절 세포의 빈도를 마우스 조절 T 세포 Staining™ 키트(eBioscience®)를 이용하여 측정하였다. 세포 자멸사의 빈도를 Annexin FITC Apoptosis™ 키트(BD Pharmingen®)를 이용하여 측정하였다.
- <166> 세포를 세정하고, 3색 흐름 세포 측정을 제조자의 추천에 따라 FACSCComp™을 이용하여 CaliBRITE™ 구슬(비디 파밍겐)로 보정된 Becton-Dickinson FACScan™ 기구 상에서 수행하였다. 데이터 획득 동안, FITC-안티 CD4 항체 형광 특성에 의해 그리고 전방 및 측면 스캐터를 결합시켜 CD4+ 림프구를 게이팅하였다. 10,000 CD4+ 림프구가 분석될 때까지 각각의 샘플에 대한 데이터를 획득하였다.
- <167> 전체 기관 시토카인 어세이
- <168> 비장 및 신장을 1 ml의 PBS 중에서 균질화시켰다. 균질물을 4℃에서 테이블탑 원심 분리기 상에서 최대 속도로 펠렛화하였다. 제조자의 지시에 따라 Cytometric Bead Array Murine Inflammatory Cytokine™ 키트(비디 파밍겐)를 이용하여 상청액에 대해 시토카인을 분석하였다.
- <169> 포화 염화철 대 철 킬레이트화로 치료한 마우스의 신장에서 보여지는 염증성 세포 유입의 변경으로 인해, 이 실시예에서 본 발명자들은 감염된 마우스에서의 염증성 시토카인 반응 및 Th1/Th2에 대한 데페라시록스 요법의 영향을 측정하였다. 당뇨병 케톤산증 마우스를 상기와 같이 리조푸스 오리재 99-892의 3.1×10^4 포자로 감염시키고, 데페라시록스, 데페라시록스+염화철 또는 위약으로 치료하였다. 감염 4 일째에, 비장 및 신장에 대해 세포 내 및 전체 기관 시토카인 측정을 진행시켰다. 데페라시록스는 포화 염화철 또는 위약으로 치료한 마우스에 비해 Th1 및 Th2 비세포(splenocyte) 빈도 모두가 상당히 증가하였다(도 11a). CD4+IL-10+ 또는 CD4+CD25+foxp3+ 비세포의 빈도는 군 사이에서 그다지 상이하지 않았다(데이터 미제시). 군 사이에서 비세포 세포 자멸사의 차이도 그다지 없었다(데이터 미제시).
- <170> 데페라시록스로 치료한 마우스는 포화 철 또는 위약으로 치료한 마우스보다 정준 염증 매개성 시토카인, TFN 및 IFN- γ 의 비장 수준이 상당히 더 높았다(도 11b). 데페라시록스로 치료한 마우스도 IFN- γ 의 신장 수준이 상당히 높았다(도 11b).
- <171> 이 연구는 당뇨병 케톤산증 마우스에서 데페라시록스가 억제된 염증 반응을 비특이적으로 모의했음을 보여주는 데, Th1 및 Th2 림프구 양쪽의 빈도 뿐 아니라 비장 및 신장 염증성 시토카인 수준이 증가하였다. 또한, 과포화 철 용량의 투여에 의한 킬레이트화의 변화는 감염된 신장에서 나타난 중성구의 수를 감소시켰다.
- <172> 실시예 VII
- <173> **마우스 털곰팡이증의 요법 치료를 위해 리포솜 암포테리신 B와 조합하여 사용되는 데페라시록스(Exjade®)**
- <174> 이 실시예는 털곰팡이증의 치료를 위해 철 킬레이터, 데페라시록스(Exjade®) 및 리포솜 암포테리신 B(LAmB)를 사용하는 조합 요법의 효과를 증명한다.
- <175> 상기 설명한 바와 같이, 임상학적 데이터 및 동물 모델 데이터는, 상승된 가용 혈청 철의 존재로 인해 숙주가 털곰팡이증에 걸리기 쉬움을 시사한다. 상기 실시예에서 예시된 바와 같이, 데페라시록스 철 킬레이트화 요법은 털곰팡이증의 가장 흔한 원인인 리조푸스 오리재로 감염된 당뇨병 케톤산증 마우스의 생존을 개선시키는 것으로 증명되었다. 보조 요법에서의 데페라시록스의 효과를 입증하기 위해, LAmB와 조합된 데페라시록스의 효능을 동물 모델 마우스 털곰팡이증의 치료에 단독으로 사용된 약물과 비교하였다.
- <176> 방법, 동물 절차 및 제제는 상기 설명한 바와 같이 수행 및/또는 제조하였다. 간단하게, 스트랩토조토신으로 유도된 DKA를 갖는 BALB/c 마우스를 리조푸스 오리재의 2.0×10^3 포자로 꼬리 동맥을 통해 감염시켰다. 치료는 다음으로 감염시키고 24 시간 후 개시하였다: (1) 4 개 용량 동안 매일 1 회 제공된 LAmB(15 mg/kg iv); (2) 7 개 용량 동안 매일 2 회 제공된 데페라시록스(10 mg/kg po), 또는 (3) 상기 용량을 이용하는 LAmB 및 데페라시록스 모두. 위약 마우스는 부형제 대조를 받았다. 종말점은 집락 형성 단위(CFU) 및 사망에 이르는 시각이다.

- <177> 상기 연구의 결과를 도 12 및 13에 도시하였다. 도 12는 털곰팡이증의 치료에 있어서 데페라시록스 단독 및 LAmB 단독 요법 뿐 아니라 데페라시록스 및 LAmB 조합 요법에 대한 효능을 도시한다. 결과는, 양쪽 단독 요법이 위약에 비해 생존을 개선시킴을 시사한다(데페라시록스 및 LAmB 각각에 대해 25% 및 28% 생존, 및 위약, $P < 0.003$ 에 대해 0%). 조합 요법은 모든 다른 군에 비해 감염된 DKA 마우스(군당 $n > 16$)의 생존 시간 및 전체적인 생존 모두를 현저히 개선시켰다(조합 요법에 대해 70% 생존, 모든 비교에 대해 로그 랭크 테스트에 의해 $P < 0.008$).
- <178> 목표 기관에 대한 이들 치료의 결과를 도 13에 도시한다. 결과는, 약물 단독 어느 것도 위약에 비해 뇌 CFU(1차 목표 기관)를 감소시킬 수 없음을 시사한다. 그러나, 데페라시록스 및 LAmB 양쪽으로의 조합 요법은 모든 다른 팔($P < 0.04$)에 비해 2 log를 초과하여 뇌 CFU를 감소시켰다. LAmB 및 조합 요법만이 위약으로 치료한 마우스에 비해 신장 CFU(2차 목표 기관)를 감소시킬 수 있었다($P < 0.01$).
- <179> 이 연구는 철 킬레이트화 요법 및 고용량 LAmB가 DKA에서 실험적인 털곰팡이증의 치료에 동일하게 효과적일 수 있음을 시사한다. LAmB 및 데페라시록스로의 조합 요법은 약물 단독보다 더욱 효과적이었다. 이 데이터는 털곰팡이증 감염의 치료에 암포테리신 B의 지질 제제와 함께 보조 요법으로서 데페라시록스와 같은 철 킬레이트화를 이용하는 치료 효능을 추가로 확증한다. 상기 결과는, 조합하여 사용시 철 킬레이터 데페라시록시(Exjade®) 및 리포솜 암포테리신 B는 동물 모델에서 털곰팡이증의 치료에 상승 작용적 효과를 가져옴을 추가로 시사한다.
- <180> **실시예 VIII**
- <181> **호중구 감소 감염 마우스에서의 데페라시록스의 효능**
- <182> 이 실시예는 리조푸스 오리제로 감염된 호중구 감소 마우스의 치료에서의 데페라시록스의 효능을 증명한다.
- <183> 데페라시록스가 호중구 감소증의 환경에 또한 효과적인지를 측정하기 위해, 마우스를 시클로포스파미드로 골수 절제(myeloablation)하였다. 2 일 후, 마우스를 리조푸스 오리제 99-892의 2.7×10^3 포자로 꼬리 정맥을 통해 감염시켰다. 초기 용량 반응 연구는, 당뇨병 케톤산증 모델과는 대조적으로, 본 발명자들이 철 킬레이터인 데페리프론에서 이전에 설명한 바와 같이, 매일보다는 격일로 데페라시록스를 투여하는 것이 최적 결과가 달성됨을 시사하였다(데이터 미제시). 데페라시록스로의 치료(감염 24 시간 후에 시작하여 5 개 용량에 대해 10 mg/kg 2 회 qod)는 위약에 비해 사망 시간을 상당히 개선시켰다(도 14). 대조적으로, 매일 1 회 투여된 데페라시록스는 위약에 비해 사망 시간을 상당히 개선시키지 않았다.
- <184> 이 연구는, 호중구 감소 마우스에서의 데페라시록스의 최대 효능이 당뇨병 케톤산증 마우스 모델에서보다 덜 빈번한 투여를 필요로 하며, 데페라시록스는 호중구 감소 마우스에서보다 당뇨병 케톤산증 마우스에서 약간 더욱 효과적인 것으로 보임을 시사한다.
- <185> **실시예 IX**
- <186> **호중구 감소 마우스에서의 데페라시록스의 특이적 독성의 평가**
- <187> 이 실시예는 데페라시록스 매일 투여로 치료한 호중구 감소 마우스에서의 독성 평가의 결과를 보여준다.
- <188> 하기는 이 실시예에 기재한 절차에 이용된 재료 및 방법을 설명한다.
- <189> **데페라시록스 독성 연구**
- <190> 호중구 감소 마우스에서의 독성을 평가하였다. 상기와 같이 마우스를 호중구 감소시키고, 7 일 동안 매일 또는 격일로 2 회 10 mg/kg로 데페라시록스로 치료하였다. 3개의 상이한 군(즉 위약, 데페라시록스 매일 치료, 및 데페라시록스 격일 치료)으로부터의 마우스를 3 또는 8 일째에 죽이고, 혈액을 수집하고, 평가를 위해 찰스 리버 래버러토리즈에 보냈다. 추가로, 골수 표본을 대퇴골로부터 준비하고, 조직을 수집하고, 아연 완충 포르말린에 보존한 후, 파라핀에 침지하고, 5 μ m로 절개한 후, 헤마톡실린 및 에오신으로 염색하였다. 결과로 나온 슬라이드를 찰스 리버 래버러토리즈에서 공인 수의 병리학자가 검사하였다.
- <191> 호중구 감소 모델에서 데페라시록스 격일 투여가 최적이기 때문에, 본 발명자들은 호중구 감소 마우스에서 데페라시록스 매일 투여에 의해 초래되는 임의의 잠재적인 독성을 확인하려고 하였다. 상기와 같이 시클로포스파미드로 마우스를 호중구 감소시켰지만, 감염되지 않았다. 마우스를 7 일 동안 매일 2 회 데페라시록스 10 mg/kg, 4 개 용량 동안 10 mg/kg 격일 2 회, 또는 위약으로 치료하였다. 3 또는 8 일째에 배뇨말기 출혈을 수행하여 완전한 혈액 수, 혈청 화학 및 간 기능 시험을 측정하였다. 뇌, 심장, 폐, 간, 담낭, 비장, 신장, 위장관(위, 소

장 및 대장 포함) 및 골수(표본 및 코어 모두)를 비롯한 광범위한 리스트의 기관에 대해 조직병리학을 수행하였다. 백색 세포 수, 절대 호중구 수, 혈소판 수, 헤모글로빈 수준, 혈청 화학(크레아티닌, 혈액 요소 질소 또는 전해질 포함) 또는 간 기능 시험(AST, ALT 또는 빌리루빈 포함)에는 어느 시점에서든 3개의 군 사이에 차이가 확인되지 않았다. 조직병리학에 의해, 혈구 생성 과정(hematopoiesis)에서 변경 증거가 없는 것을 비롯하여, 테페라시록스에 기인하는 기관 특이적 독성이 없음이 확인되었다. 특히, 화학 요법에 의한 골수 절제로부터의 회복 지연 또는 악화의 증거도 없었고, 시험실 시험에 의한 신장 또는 간 기능 장애의 증거도 없었으며, 조직병리학적 평가에 의한 특이적 기관 독성도 없었다.

<192> 이 연구는, 독성의 증거가 발견되지 않았으므로, 호중구 감소 마우스에서의 매일 테페라시록스 투여의 활성 감소가 이러한 마우스에서의 테페라시록스의 독성 효과로 인한 것일 수 없음을 증명한다.

<193> 본 출원 전체에서, 다양한 공개물을 괄호 내에 참조로 하였다. 본 발명이 관련된 업계의 사정을 더욱 완전히 설명하기 위해, 이들 공개물의 개시 내용을 본 명세서에서 그 전체를 참고로 인용한다.

<194> 본 발명을 개시된 구체예를 참고로 하여 설명하였지만, 당업자는 상기 상세히 설명한 특정 실시예 및 연구가 단지 본 발명을 예시하는 것임을 용이하게 이해할 것이다. 본 발명의 사상으로부터 벗어나지 않는 한, 다양한 변형이 이루어질 수 있음을 이해해야 한다. 따라서, 본 발명은 하기 청구 범위에 의해서만 한정된다.

도면의 간단한 설명

<11> 도 1은 리조푸스 오리재로 감염된 DKA 마우스의 Def와 철 사이의 관계 및 생존율을 도시한다. 마우스(각각의 치료에서 $n \geq 20$)를 테페리프론(Def) 또는 Def+FeCl₃(60 mg/kg)으로 치료하여 철 킬레이트화의 효과를 역전시켰다. LAmB로 치료한 팔을 대조로서 포함시켰다. 감염 24 시간 후 치료를 개시하였다. *는 감염 비치료 또는 비감염 비치료 +FeCl₃과 비교한 $p < 0.003$ 이다.

<12> 도 2는 Exjade™(테페라시록스)이 리조푸스 오리재로 감염된 당뇨병 케톤산증 마우스의 생존을 개선시킴을 도시한다. 마우스(위약에 대해 $n=6$ 및 Exjade®에 대해 $n=7$)를 리조푸스 오리재 99-892(감염된 환자의 폐로부터 얻은 임상 단리물)의 2.2×10^4 포자로 꼬리 정맥 주입을 통해 감염시켰다. 감염 24 시간 후 마우스를 7 연속일 동안 위약, 1, 3 또는 10 mg/kg의 Exjade® 처방으로 경구 섭식에 의해 치료하였다. *는 위약과 비교한 $p < 0.05$ 이다.

<13> 도 3은 리조푸스 오리재로 감염시키고 Def의 상이한 치료 요법으로 치료한 DKA 마우스의 생존율을 도시한다. 마우스(군당 $n=6$)를 총 4 개 용량에 대해 매일(qd) 또는 격일로(qod) 감염 24 시간 후 50, 100 또는 200 mg/kg으로 Def로 치료하였다. *는 감염 비치료와 비교한 $p < 0.05$ 이다.

<14> 도 4는 Def 및 LAmB의 조합으로 실험적인 털곰팡이증을 치료하는 것을 도시한다. 마우스(비감염 비치료 및 Def에 대해 $n=11$, 및 LAmB 및 Def+LAmB에 대해 $n=6$)를 리조푸스 오리재로 감염시키고, 그 다음 24 시간 후 총 4 개 용량에 대해 Def, LAmB 또는 양쪽 약물의 조합으로 치료하였다. *는 감염 비치료 마우스와 비교한 $p < 0.005$ 이다.

<15> 도 5는 리조푸스 오리재로 감염시키고 Def, LAmB 또는 양쪽으로 예방한 호중구 감소 마우스의 생존율을 도시한다. 마우스($n=9$)를 D-1 일에 총 4 개 용량에 대해 Def qod, LAmB qd 또는 양쪽으로 치료하였다. *는 LAmB 또는 LAmB+Def 대 감염 비치료에 대한 $p < 0.05$ 이다.

<16> 도 6은 테페리프론, LAmB 또는 위약으로 치료한 DKA 마우스($n=6$)의 뇌 리조푸스 오리재 부하(burden)를 도시한다. 마우스를 3.8×10^3 포자로 감염시키고, 어느 한 쪽 약물로 2 개 용량 치료하고 54 시간 후 뇌를 수집하였다. 데이터를 중앙값+사분위 범위로 표시하였다. y축은 어세이의 검출 하한을 반영한다. *는 스틸 시험(imst test)에 의한 다중 비교를 위한 $P < 0.036$ 대 위약이다.

<17> 도 7은 실버 메탄아민으로 염색한 괴사성 코 점막의 균은 영역을 도시하는데, 이는 조균과 일치하는 넓고 리본과 유사한 무격벽 균사를 갖는 진균을 보여준다. 840× 확대.

<18> 도 8은 테페라시록스가 리조푸스 오리재에서 rFTR1 유전자 발현을 유도함을 도시한다. 상세하게는, 도 8a는 철 풍부물(iron-replete), 철 킬레이트화물(테페라시록스) 또는 철 킬레이트화 전환물(염화철로 포화된 테페라시록스) 조건에서 배양한 리조푸스 오리재 균사체로부터 나온 rFTR1 유전자의 RT PCR 검출 발현을 도시한다. 18s rDNA의 발현은 RNA 추출물의 품질을 검증하기 위해 포함시켰다. 도 8b는 리조푸스 오리재 GFP 발현 벡터를 구성

하기 위한 전략을 나타내는 도면을 도시한다. 촉진제는 rFTR1p 또는 Act1p를 나타낸다. 도 8c는 철 풍부물, 테페라시록스 또는 염화철 함유 매질로 포화된 테페라시록스에서 성장시킨 리조푸스 오리재의 (공초점 현미경 검사 및 흐름 세포 측정에 의해 측정된 바의) rFTR1p 또는 Act1p에 의해 유도된 리조푸스 오리재 내 GFP 발현을 도시한다. GFP 발현은 공초점 현미경 검사에 의한 녹색 형광 세포, 및 흐름 세포 측정에 의한 채널 FL1 내 형광 세포의 %(y축)에 의해 밝혀진다.

<19> 도 9a는 리조푸스 오리재 99-892(2.2×10^4)로 감염시키고 상이한 용량의 테페라시록스로 치료한 당뇨병 케톤산증 마우스(군당 $n > 7$)의 생존율을 도시한다. 마우스를 위약(히드록시프로필셀룰로오스 담체), 테페라시록스, 또는 테페라시록스+철(FeCl_3 , 10 mg/kg)로 치료하여 철 킬레이트화의 효과를 역전시켰다. *는 생존에 대한 $P < 0.05$ 이다. 도 9b는 리조푸스 오리재 99-880(평균 접종물 1.3×10^3 포자)로 감염시키고 24 시간 후 7 일 동안 10 mg/kg 테페라시록스 처방으로 치료한 당뇨병 케톤산증 마우스(결과가 유사한 3개의 각각의 실험으로부터 $n=24$)의 생존율을 도시한다. *는 위약과 비교한 $P < 0.003$ 이다.

<20> 도 10a는 리조푸스 오리재 99-892(4.2×10^4 포자)로 감염시키고 위약, 테페라시록스(10 mg/kg 처방), 또는 테페라시록스+철로 치료한 당뇨병 케톤산증 마우스(군당 $n=11$)의 뇌 및 신장 진균 부하를 도시한다. 3 가지를 매일 치료받은 후 4 일째에 기관을 수집하였다. 데이터는 중앙값±사분위 범위로서 표시한다. y축은 어세이의 검출 하한을 반영한다. 도 10b는 도 10a에서 언급한 바와 같이 리조푸스 오리재 99-892로 감염시키고 테페라시록스, 테페라시록스+염화철로 치료한 당뇨병 케톤산증 마우스의 헤마톡실린 및 에오신으로 염색한 신장 부분을 도시한다. 화살표는 조직 내 리조푸스 오리재 군사를 나타낸다. $\times 400$ 확대. *는 위약 또는 테페라시록스+염화철과 비교한 조직 진균 부하에 대한 $P < 0.002$ 이다.

<21> 도 11은, 철 킬레이트화가 철과부하 마우스에 비해 비장 Th1 및 Th2 림프구 빈도를 증가시키고 염증 매개 시토카인의 수준을 증가시킴을 도시한다. 특히, 도 11a는 리조푸스 오리재 99-892의 3.1×10^4 포자로 감염시키고 24 시간 후 위약, 테페라시록스, 또는 테페라시록스+염화철로 치료한 당뇨병 케톤산증 마우스($n=11$)에서의 비장 Th1 및 Th2 림프구 빈도를 도시한다. 도 11b는 죽이고 감염 4 일 후 비장 및 신장을 수집한, 도 11a에서 언급한 동일한 마우스($n=11$)의 Cytometric Bead Array™에 의한 전체 기관 시토카인 분석의 결과를 도시한다. 도 11a 및 11b 양쪽의 데이터를 중앙값±사분위 범위로서 표시한다. *는 위약 또는 테페라시록스+염화철과 비교한 $P < 0.02$ 이다. * *는 테페라시록스+염화철과 비교한 $P < 0.05$, 및 테페라시록스+염화철과 비교한 $P < 0.07$ 이다.

<22> 도 12는 테페라시록스 단독, LAmB 단독 및 테페라시록스와 LAmB 조합에 대한 털곰팡이증에 대한 효능을 도시한다. 도면은 특정하게는 리조푸스 오리재 99-880(평균 접종물 1.5×10^3 포자)로 감염시키고 테페라시록스 단독, LAmB 단독 및 테페라시록스와 LAmB(7 일 동안 10 mg/kg 처방) 및 LAmB(4 일 동안 15 mg/kg) 조합으로 치료한 당뇨병 케톤산증 마우스(결과가 유사한 2개의 각각의 실험으로부터 $n > 16$)의 생존율을 도시한다.

<23> 도 13은 테페라시록스 단독, LAmB 단독 및 테페라시록스와 LAmB 조합에 대한 목표 기관 감염의 감소에서의 효능을 도시한다. 더욱 상세하게는, 도면은 리조푸스 오리재 99-880으로 감염시킨 마우스($n > 7$)의 뇌 및 신장에서 조직 리조푸스 오리재 부하를 도시한다. 이 마우스들에서, 치료는 감염 24 시간 후에 시작하였고, 이는 위약, 테페라시록스(10 mg/kg, 처방), LAmB(15 mg/kg/d) 또는 양쪽 약물의 조합으로 구성되었다. 2 가지를 매일 치료받은 후 3 일째에 기관을 수집하였다. 데이터는 중앙값±사분위 범위로서 표시한다. y축은 어세이의 검출 하한을 반영한다. *는 위약과 비교한 $P < 0.003$ 이다. **는 위약, 테페라시록스 또는 LAmB와 비교한 $P < 0.003$, 및 위약 또는 테페라시록스와 비교한 $P < 0.01$ 이다.

<24> 도 14는 호중구 감소 마우스에서 리조푸스 오리재 감염을 치료하는 데 있어서의 테페라시록스의 효능을 도시한다. 시클로포스파미드로 치료한 마우스(결과가 유사한 2개의 각각의 실험으로부터 $n=19$)를 리조푸스 오리재 99-892의 2.7×10^3 포자로 감염시켰다. 마우스를 감염 24 시간 후에 총 5 개 용량으로 매일(qd) 또는 격일로(qod) 투여되는 위약 또는 테페라시록스(10 mg/kg)로 치료하였다. *는 위약과 비교한 $P = 0.037$ 이다.

<25> 발명의 상세한 설명

<26> 본 발명은 진균병의 중증도를 치료 또는 감소시키기 위한 철 킬레이트 화합물의 용도에 관한 것이다. 철 킬레이트 화합물은 목표 진균병과 관련된 철포획체 또는 이중철포획체 활성이 낮도록 선택한다. 일부 구체예에서, 철 킬레이트 화합물은 목표 진균병과 관련된 철포획체 또는 이중철포획체 활성이 실질적으로 없도록 선택한다. 대조적으로, 진균, 비철포획체 및 비이중철포획체 철 킬레이트 화합물에 이전에는 이용 가능하지 않았던 철을 공

급하며 철포획체 또는 이중철포획체(xenosiderophore)로서 작용하는 철 킬레이터는 이러한 촉진 또는 수송 활성이 부족하다. 따라서, 본 발명의 철 킬레이터는 주위 환경으로부터 철을 제거하는 데에 사용할 수 있다. 항균 요법을 위한 철 킬레이터의 한 가지 이점은 이것이 성장 및/또는 발병력에 대한 다수의 미생물 병원체가 필요로 하는 중요한 광물의 가용성을 감소시킨다는 것이다.

<27> 일구체예에서, 본 발명은 철 킬레이트 화합물 및 항균제를 함유하는 치료 조성물에 관한 것이다. 철 킬레이트 화합물은 데페리프론(1,2 디메틸-3-히드록시피리드-4-1) 또는 데페라시록스(4-[3,5-비스(2-히드록시페닐)-1H-1,2,4-트리아졸-1-일]-벤조산)일 수 있다. 데페리프론 및 데페라시록스 모두는 철과부하 병태의 치료를 위한 치료 환경에 사용되어 왔고, 따라서 진균병의 치료 또는 예방을 위한 철 킬레이트화 요법에 안전하고 효과적이다. 당업계에 공지된 항균제는 본 발명의 철 킬레이터와 배합하기 위해 선택할 수 있다. 배합물은 진균병의 치료 또는 예방에 사용하기에 유리하다.

<28> 다른 구체예에서, 본 발명은 진균병의 치료 또는 예방에 관한 것이다. 상기 방법은 목표 진균 종에 대해 비철포획체 또는 비이중철포획체 철 킬레이트화 활성을 나타내는 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 상기 방법은 또한 철 킬레이터 단독에 비해 증강된 효능을 달성하기 위해 항균제를 공통 투여하는 것을 포함할 수 있다. 철 킬레이트 화합물은 데페리프론, 데페라시록스일 수 있거나, 또는 당업계에 공지된 다른 철 킬레이트 화합물에서 선택될 수 있다. 본 발명의 방법은 요법 또는 예방 치료에 특히 유리한데, 철 킬레이트화가 진균 발병 이전에 대한 중요한 광물을 제거하는 것을 목표로 하기 때문이다.

<29> 본 발명은 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 포함하는 조성물을 제공한다.

<30> 철은 성장, 생활력 및/또는 발병력을 위해 대부분의 진균 시스템이 필요로 한다. 진균은 이 중요한 금속의 충분한 공급을 확보하기 위해 획득, 섭취 및 저장 방법을 위한 다양한 기전을 발달시켜 왔다. 본 발명의 조성물은 진균 병원체를 중화시키기 위해 숙주 환경으로부터 제거하기 위한 이 중요한 광물을 목표로 한다. 본 발명의 조성물은 가용 철을 고갈시키고 진균 병원체에 대한 성장, 생활력 및/또는 발병력을 억제하기 위해 철 킬레이트 화합물을 포함한다.

<31> 본 발명의 조성물은 1 이상의 철 킬레이트 화합물과 1 이상의 항균제의 배합물을 포함한다. 철 킬레이트 화합물 및 항균제 모두를 포함시킴으로써 성장, 생활력 또는 발병력을 위해 진균이 이용하는 2개의 상이한 경로를 목표로 하는 항진균 활성을 조합한다. 2개 이상의 상이한 진균 경로를 목표로 함으로써 진균병의 효과적인 요법 치료가 제공되는데, 이는 양쪽 목표 경로의 병원체 침습의 가능성이 낮기 때문이다.

<32> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "철 킬레이트 화합물" 또는 "철 킬레이터"는 2 이상의 개별 결합 위치 사이에서 철을 결합시켜 킬레이트 고리(들)를 형성시키는 화합물을 의미하고자 한다. 철과 결합 또는 착화된 철 킬레이트 화합물을 본 명세서에서는 철 킬레이트로서 지칭한다. 철 킬레이트 화합물은 2개의 각각의 결합 위치를 이용하여 철을 결합시키는 두자리 물질(bidentate 또는 didentate)일 수 있다. 본 발명의 철 킬레이트 화합물은 또한 철을 3, 4 종 이상의 각각의 결합 위치와 각각 결합시키는 세자리, 네자리 또는 고차 다중 자리 철 킬레이트 화합물일 수 있다. 본 발명의 철 킬레이트 화합물은 예컨대 철 (-II) 상태, 철 (-I) 상태, 철 (0) 상태, 철 (I) 상태, 철 (II) 상태(제1 철), 철 (III) 상태(제2 철), 철 (IV) 상태(제3 철) 및/또는 철 (V)를 비롯한 모든 산화 상태의 철에 결합할 수 있는 킬레이트 화합물을 포함한다. 철 킬레이트화 요법은 철이 독성 효과 또는 역 생리적 활성을 잃도록, 생체 내에서 철과 결합하여 철 킬레이트를 형성하기 위한 철 킬레이터의 용도를 지칭한다. 대안적으로, 킬레이트 철은 감염 유기체에 비가용적이 된다.

<33> 본 발명의 조성물에 유용한 철 킬레이트 화합물은, 결합하여 목표 진균(들)에 의한 철 이용을 방지할 수 있는 임의의 킬레이터 또는 다른 분자를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물에 포함되는 철 킬레이트 화합물의 특정 예로는 예컨대 데페리프론 및 데페라시록스가 있다. 이러한 예시적인 철 킬레이트 화합물이 특히 유용한데, 이는 이들이 진균병과 관련없는 요법 증상에 대해 다양한 국가에서 승인받아서, 인간에 대해 잘 특성화되고 안전하며 비독성이기 때문이다.

<34> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "데페리프론"은 화학식이 1,2 디메틸-3-히드록시피리드-4-1인 철 킬레이트 화합물을 의미하고자 한다. 데페리프론(Def)은 당업계에서는 L1, CP20, Ferriprox 또는 Kelfer로서도 공지되어 있다. 데페리프론은 철 킬레이터의 α-케토히드록시피리딘 부류의 맴버이며, 예컨대 아토폭스 인코포레이티드(캐나다 온타리오주 웨스턴 소재)로부터 상업적으로 구입 가능하다.

<35> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "데페라시록스"는 화학식이 4-[3,5-비스(2-히드록시페닐)-1H-1,2,4-트리아졸-1-일]-벤조산이며 분자량이 373.4 달톤인 철 킬레이트 화합물을 의미하고자 한다. 데페라시록스는 당업계에

Exjade® 또는 ICL 670으로도 공지되어 있으며, N-치환 비스-히드록시페닐-트리아졸로서 지칭되는 세자리 철 킬레이트 부류의 멤버이다. 데페라시록스는 예컨대 Exjade®라는 상표명으로 노바티스 코포레이션(스위스 바젤 소재)으로부터 상업적으로 구입 가능하다. 본 발명에 따르면, 용어 "데페라시록스", "ICL670", "Exjade®"은 활성 성분인 4-[3,5-비스(2-히드록시페닐)-1H-1,2,4-트리아졸-1-일]-벤조산, 예컨대 4-[3,5-비스(2-히드록시페닐)-1H-1,2,4-트리아졸-1-일]-벤조산 또는 이의 약학적 허용염을 지칭하고자 한다. 데페라시록스, 이의 제조 방법 및 이의 용도는 예컨대 미국 특허 제6,465,504호 B1 및 제6,595,750호 B2 및 유럽 특허 제EP0914118호에 개시되어 있다. 4-[3,5-비스(2-히드록시페닐)-1H-1,2,4-트리아졸-1-일]-벤조산 또는 이의 약학적 허용염을 포함하는 약학적 제제는 예컨대 국제 특허 출원 W02004/035026에 개시되어 있다.

<36> 다른 철 킬레이트 화합물도 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다. 이러한 다른 철 킬레이트 화합물은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예컨대 하기에 설명하는 것들과 같은 자연 생성 철포획체 및 이중철포획체 뿐 아니라, 데페리프론 및 데페라시록스와 같은 비자연 생성 화합물을 포함한다.

<37> 비자연 생성 철 킬레이트 화합물의 예로는 데페리프론과 같은 킬레이터의 히드록시피리딘-4-온(HPO) 부류의 멤버, 데페라시록스, 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA) 및 데페록사민과 같은 N-치환 비스-히드록시페닐-트리아졸 부류의 멤버가 있다. 데페리프론, 데페라시록스 및 상기 예시적인 철 킬레이트 화합물 중 임의의 것 뿐 아니라 당업계에 잘 알려진 다른 것이 철 킬레이트 화합물 함유 본 발명의 조성물에 포함될 수 있다.

<38> 철포획체 및 이중철포획체는 예컨대 히드록사메이트 및 폴리카르복실레이트를 포함한다. 히드록사메이트는 N- δ -히드록시오르니틴 부분을 함유하며, 일반적으로 4개의 예시적인 패밀리로 분류된다. 하나의 카테고리는 N- δ -아세틸-L-N- δ -히드록시오르니틴의 디케토피페라진인 로도토룰산(rhodotorulic acid)을 포함한다. 디메럼산(dimerum acid)으로 지칭되는 디히드록사메이트와 같은 유도체가 이 카테고리에 포함된다. 제2 카테고리는 N- δ -아실-N- δ -히드록시-L-오르니틴 부분을 함유하는 코프로젠(coprogen)을 포함한다. 코프로젠은 또한 직선형 구조를 갖는 로도토룰산의 트리히드록사메이트 유도체로 고려될 수 있다. 제3 카테고리는 N- δ -아실-N- δ -히드록시오르니틴의 트리펩티드, 및 글리신, 세린 또는 알라닌의 조합을 함유하는 환형 펩티드로 구성된 페리크롬을 포함한다. 제4의 예시적인 카테고리는 직선형 또는 환형 히드록사메이트일 수 있는, 푸시젠(fusigen)으로도 지칭되는 푸사리닌(fusarinine)을 포함한다. 푸사리닌은 안히드로메발론산(anhydromevalonic acid)에 의한 N-히드록시오르니틴의 N 아실화를 특징으로 하는 화합물이다.

<39> 폴리카르복실레이트는 리조페린(rhizoferrin)으로 지칭되는 시트르산 함유 폴리카르복실레이트로 구성된다. 본자는 디아미노부탄에 연결된 2개의 시트르산 단위를 함유한다. 리조페린은 조균목 및 곤충곰팡이목(order Entomophthorales)에서 관찰되는 접합균문의 멤버에 널리 분포되어 있다. 본 발명의 조성물에서 철 킬레이트 화합물로서 유용한 철포획체의 다른 카테고리는 예컨대 철포획체의 페놀레이트-카테콜레이트 부류인 헤민 및 β -케토알데히드 피토크신을 포함한다.

<40> 본 발명의 조성물에 포함되는 철 킬레이트 화합물의 양은 변경시킬 수 있지만, 일반적으로 치료 유효량, 또는 치료 유효량으로 재구성 또는 희석시킬 수 있는 양일 수 있다. 예컨대, 본 발명의 철 킬레이트 화합물의 유효량은 본 발명의 방법과 관련하여 하기에 추가로 설명한다. 하나의, 일부 또는 모든 철 킬레이트 화합물의 양은 이 예시적인 유효량에 상당하게 본 발명의 조성물에 제제화시킬 수 있다.

<41> 철 킬레이트 화합물은 또한 단기간 또는 장기간 저장을 위해 치료 유효량보다 더 많은 양으로 본 발명의 조성물에 제제화시킬 수 있고, 최종 사용자는 사용 전에 소정 치료 유효량으로 제제를 희석시킬 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 조성물에 포함되는 철 킬레이트 화합물은 동결 건조, 분말 또는 다른 고상 형태로 제조할 수 있고, 최종 사용자는 사용 전에 소정의 치료 유효량으로 건식 제제를 재구성할 수 있다.

<42> 유효량의 구성 성분을 함유하는 제제, 또는 건식 또는 농축 제제는 철 킬레이트 화합물 및 항균제만을 함유하거나, 또는 이들을 임의의 소정의 부형제, 계면활성제, 토니시파이어(tonicifier), 염 또는 완충액과 함께 함유할 수 있다. 희석 또는 재구성은 제제를 소정의 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제로 조정하는 약학적으로 허용 가능한 매질 중에서 수행할 수 있으며, 이는 추가의 부형제, 계면활성제, 토니시파이어, 염 또는 완충액을 포함한다. 약학적 제제는 잘 알려져 있으며, 약학 분야에서 실시한다. 임의의 이러한 잘 알려진 제제 및 약학적 제제 성분을 본 발명의 조성물과 함께 사용하는 데에 적용 가능하다. 약학적 제제, 부형제, 이의 용도, 제제 및 특성은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예컨대 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, supra; Williams et al., Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 5th Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2002); Allen et al., Ansels Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 8th Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2004)]에 기재된 것을 찾을 수 있다. 유사하게,

계면활성제, 이의 용도, 제제 및 특성은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예컨대 문헌(Holmberg et al., *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, supra; *Surfactants: A Practical Handbook*, K. Robert Lange, ed., supra, and Vogel, A.I., *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, supra)에 기재된 것을 찾을 수 있다.

<43> 본 발명의 조성물은 또한 1 이상의 항균제를 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "항균제"는 진균을 파괴하거나 또는 진균 성장, 생활력 및/또는 발병력을 방지하는 제제를 의미하고자 한다. 항균제의 예시적인 카테고리는 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 및 에키노칸딘 항균제를 포함한다. 폴리엔 항균제의 특정 예로는 암포테리신 B 데옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B, 암포테리신 B 지질 착물 및 암포텍(amphotec)이 있다. 아졸 항균제의 특정 예로는 포사코나졸, 보리코아졸(voriconazole), 플루코나졸 및 이트라코나졸이 있다. 에키노칸딘 항균제의 특정 예로는 카스포펄진(caspofungin) 아세테이트 및 미카펄진(micafungin)이 있다. 다수의 다른 항균제가 당업계에 잘 알려져 있으며, 본 명세서에 사용되는 바의 용어의 의미에 포함된다.

<44> 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제의 조합은 목표로 하는 진균병에 따라 선택할 수 있다. 예컨대, 암포테리신 B 지질 착물은 예컨대 접합균증, (털곰팡이증), 아스페르길루스증 및/또는 칸디다증에 대한 양호한 항균제일 수 있으며, 데페리프론 또는 데페라시록스와 같은 철 킬레이트 화합물과 조합할 수 있다. 유사하게, 상기 예시한 항균제 중 하나 또는 당업계에 공지된 다른 하나가 다른 목표 조건에 대해 효과적이거나 또는 치료적으로 바람직할 수 있으며, 이러한 다른 항균제 중 하나를 철 킬레이트 화합물과 조합하여 본 발명의 조성물을 제조할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물은 이의 구성 성분인 철 킬레이트 화합물 및 구성 성분인 항균제 모두에서 탄력적이며, 예컨대 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제의 임의의 모든 조합 및 순서를 단일 제제에 조합 가능하게 한다.

<45> 따라서, 일구체예에서, 본 발명은 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 함유하는 조성물을 제공한다. 철 킬레이트 화합물은 예컨대 데페리프론과 같은 킬레이터의 히드록시피리딘-4-온(HPO) 부류의 멤버, 데페라시록스, 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA) 및 데페록사민과 같은 킬레이터의 N-치환 비스-히드록시페닐-트리아졸 부류의 멤버로 예시되는 상기 설명한 비자연 생성 철 킬레이트 화합물에서 선택될 수 있다. 철 킬레이트 화합물은 또한 예컨대 히드록사메이트, 폴리카르복실레이트, 철포획체의 페놀레이트-카테콜레이트 부류, 헤민 및 β -케토알데히드 피토톡신으로 예시되는 철포획체 및/또는 이중철포획체에서 선택될 수 있다.

<46> 항균제는 예컨대 암포테리신 B 데옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B, 암포테리신 B 지질 착물 또는 암포텍과 같은 폴리엔 항균제에서 선택될 수 있다. 항균제는 또한 예컨대 포사코나졸, 보리코아졸, 플루코나졸 또는 이트라코나졸과 같은 아졸 항균제에서 선택될 수 있다. 항균제는 추가로 예컨대 카스포펄진 아세테이트 또는 미카펄진과 같은 에키노칸딘 항균제에서 선택될 수 있다. 1 이상의 철 킬레이트 화합물로서 하나의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제로서 하나의 항균제를 갖는 예시적인 본 발명의 조성물은 데페라시록스 및 암포테리신 B 지질 착물일 수 있다.

<47> 본 발명의 조성물에 포함되는 철 킬레이트 화합물의 양과 같이, 포함되는 항균제의 양도 변경시킬 수 있지만, 일반적으로 치료 유효량, 또는 치료 유효량으로 재구성 또는 희석시킬 수 있는 양일 수 있다. 예컨대, 본 발명의 항균제의 유효량은 하기에 더 설명하며, 폴리엔 항균제를 참조로 하여 예시한다. 하나의, 일부 또는 모든 항균제의 양은 폴리엔 항균제에 대한 예시적인 유효량에 상당하게, 또는 아졸 항균제 또는 에키노칸딘 항균제와 같은 다른 항균제에 대한 잘 알려진 유효량에 상당하게 본 발명의 조성물에 체제화시킬 수 있다. 유사하게 그리고 본 발명의 조성물에 포함되는 철 킬레이트 화합물과 관련하여 이전에 설명한 바와 같이, 항균제는 또한 단기 또는 장기간 저장을 위해 농축된 형태로 본 발명의 조성물에 체제화시킬 수 있고, 최종 사용자는 사용 전에 소정 치료 유효량으로 제제를 희석시킬 수 있다. 추가로, 본 발명의 조성물에 포함되는 항균제는 동결 건조, 분말 또는 다른 고상 형태로 제조할 수 있고, 최종 사용자는 사용 전에 소정의 치료 유효량으로 건식 제제를 재구성할 수 있다.

<48> 유효량의 구성 성분을 함유하는 건식 또는 농축 제제(들)는 철 킬레이트 화합물 및 항균제만을 함유하거나, 또는 이들을 임의의 소정의 부형제, 계면활성제, 토니시파이어, 염 또는 완충액과 함께 함유할 수 있다. 희석 또는 재구성은 상기 설명한 바와 같이 수행할 수 있으며, 예컨대 문헌(Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, supra; Williams et al., *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, 5th Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2002); Allen et al., *Ansels Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 8th Ed., Lippincott Williams & Wilkins (2004); Holmberg et al., *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*, supra; *Surfactants: A Practical Handbook*, K. Robert Lange, ed., supra, and Vogel, A.I.,

Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, supra]에 예시되어 있다.

- <49> 본 발명의 조성물은 2 이상의 철 킬레이트 화합물을 추가로 함유할 수 있다. 2 이상의 철 킬레이트 화합물을 포함시키면 다수의 진균병을 목표로 할 수 있고 및/또는 조성물의 철 킬레이트 성분에 다양한 범위의 친화도를 갖는 철을 포함시킨다. 철에 대한 상이한 친화도를 갖는 철 킬레이트 화합물을 포함시키는 것은 진균 병원체의 침습을 추가로 예방하는 데에 요법적으로 유리할 수 있다.
- <50> 본 발명의 조성물은 일반적으로 약 1 내지 8 종, 특히 약 2 내지 7 종, 더욱 특히 약 3 내지 6 종, 또는 더더욱 특히 약 4 내지 5 종의 철 킬레이트 화합물을 함유할 수 있다. 이들 범위보다 크거나 또는 이들 범위 사이에 있는 철 킬레이트 화합물도 본 발명의 조성물에 사용할 수 있다. 예컨대, 실질적으로 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 종 이상을 비롯한 임의의 소정 수의 상이한 철 킬레이트 화합물을 함유하는 본 발명의 조성물을 제조할 수 있다.
- <51> 본 발명의 조성물은 2 이상의 항균제를 추가로 함유할 수 있다. 2 이상의 철 킬레이트 화합물을 포함시키는 것과 같이 2 이상의 항균제를 포함시키면, 다수의 진균병을 목표로 할 수 있고 및/또는 성장, 생활력 또는 발병력에 사용되는 상이한 진균 기전을 목표로 한다. 다수의 항균제를 포함시키면 진균 병원체의 침습을 추가로 예방하는 데에 유사하게 치료적으로 유리할 수 있다.
- <52> 유사하게, 본 발명의 조성물은 일반적으로 약 1 내지 8 종, 특히 약 2 내지 7 종, 더욱 특히 약 3 내지 6 종, 또는 더더욱 특히 약 4 내지 5 종의 항균제를 함유할 수 있다. 이들 범위보다 크거나 또는 이들 범위 사이에 있는 항균제도 본 발명의 조성물에 사용할 수 있다. 따라서, 실질적으로 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 종 이상을 비롯한 임의의 소정 수의 상이한 항균제를 함유하는 본 발명의 조성물을 제조할 수 있다.
- <53> 예시적인 조성물은 데페라시록스, 및 암포테리신 B 데옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B5, 암포테리신 B 지질 착물, 암포텍, 포사코나졸, 보리코아졸, 플루코나졸, 이트라코나졸, 카스포핀진 아세테이트 또는 미카핀진 중 임의의 것 중 1 이상을 포함한다. 데페라시록스 및 데페리프론, 및 암포테리신 B 데옥시콜레이트, 리포솜 암포테리신 B, 암포테리신 B 지질 착물, 암포텍, 포사코나졸, 보리코아졸, 플루코나졸, 이트라코나졸, 카스포핀진 아세테이트 또는 미카핀진 중 임의의 것 중 1 이상. 특히 유용한 조성물은 예컨대, 데페라시록스 및/또는 데페리프론, 및 폴리엔 항균제, 아졸 항균제 및 에키노칸딘 항균제에 해당하는 각각의 카테고리에서 선택되는 1, 2 또는 3 종 이상의 항균제를 포함한다. 따라서, 본 발명은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 종 이상의 철 킬레이트 화합물의 임의의 조합과 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12 종 이상의 항균제의 임의의 조합을 제공한다. 다수의 철 킬레이트 화합물 및/또는 다수의 항균제를 함유하는 이러한 조성물을 상기 설명한 바와 같이 제제화할 수 있다.
- <54> 본 발명의 조성물은 또한 약학적으로 허용 가능한 매질을 포함할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바의 용어 "약학적으로 허용 가능한 매질"은, 본 발명의 철 킬레이트 화합물과 혼합된 매질이 인간에게 사용하기에 충분한 순도 및 품질을 가짐을 의미하고자 한다. 약학적으로 허용 가능한 매질은 입자 및 유기체가 실질적으로 오염되지 않은 제제를 포함한다. 따라서, 상기 용어는 본 발명의 철 킬레이트 화합물과 혼화성이 있으며 인간에게 투여시 안전하고 비독성인 매질을 포함하고자 한다. 이러한 약학적으로 허용 가능한 매질은 당업계에 잘 알려져 있다.
- <55> 본 발명은 또한 진균병의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 상기 방법은 진균병의 중증도를 감소시키기에 충분한 시간 동안 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함하는데, 상기 철 킬레이트 화합물은 진균병과 관련된 비철포획체 또는 비이종철포획체를 포함한다.
- <56> 본 발명은 진균병의 중증도를 감소시키기에 충분한 시간 동안 치료 유효량의 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 진균병을 앓거나 또는 앓을 가능성이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함하는 진균병의 치료 또는 예방 방법을 제공하는데, 상기 철 킬레이트 화합물은 진균병과 관련된 비철포획체 또는 비이종철포획체를 포함한다.
- <57> 본 발명의 방법은 철 킬레이트화 요법만을 포함하거나 또는 항진균 요법과 함께 이용되는 철 킬레이트화 요법을 포함한다. 앞의 방법에서, 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 포함하는 제제를 투여한다. 뒤의 방법에서, 1 이상의 철 킬레이트 화합물 및 1 이상의 항균제를 포함하는 제제를 투여한다. 이러한 제제는 본 발명의 조성물에 대해 이전에 설명한 바와 같이 선택 및 제조한다. 따라서, 본 발명의 조성물은 철 킬레이트화 요법에만 사용하기 위한 1 이상의 항균제 없이 제조할 수 있거나, 또는 철 킬레이트화 및 항진균 요법 조합에 사용하기 위한 1 이상의 항균제를 사용하여 제조할 수 있다. 제1의 본 발명의 조성물은 또한 1 이상의 항균제 없이 제조할 수 있고,

제2의 본 발명의 조성물은 철 킬레이트 화합물 없이 제조할 수 있다. 그 다음 제1 및 제2 제제는 동시에, 순차적으로 또는 대안적으로 철 킬레이트화 및 항진균 요법을 조합하여 이용할 수 있다. 따라서, 본 발명의 조성물과 관련하여 이전에 설명한 교시 및 안내는 1 이상의 철 킬레이트 화합물만을 함유하는 제제, 1 이상의 항균제를 함유하는 제제 또는 양쪽을 함유하는 제제의 선택 및 제조에 유사하게 이용할 수 있다.

<58> 본 발명의 방법에 사용하기 위해, 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 함유하는 제제 중 철 킬레이트 화합물, 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 함유하는 제1 또는 제2 제제 및/또는 본 발명의 조성물은 병태를 일으키는 진균병 또는 진균제와 관련된 비철포획체 또는 비이중철포획체를 포함하도록 선택할 수 있다.

<59> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "철포획체"는 유기체에 의한 철 수집을 촉진하는 철 킬레이터를 의미하고자 한다. 예컨대, 철 기아의 조건 하에서, 다수의 진균은 철 결합 및 섭취를 통한 철 수집에서 기능을 하는 철포획체를 합성한다. 철포획체는 일반적으로 저분자량 화합물(예컨대 약 2,000 MW 미만)이며, 세포 섭취 및/또는 철 저장 기능 중 한쪽 또는 양쪽을 나타낼 수 있다. 철포획체는 유기체를 이용하여 합성된다. 유기체 또는 종 특이성과 상관없이 일반적으로 사용되는 용어 "철 킬레이터"에 비해, 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "철포획체"는 철포획체 생성 및 유기체 또는 종의 이용이라는 문맥에서 사용되거나 또는 이와 관련된 철 킬레이터를 지칭한다. 따라서, 철 킬레이트 철포획체는 외부 환경으로부터 철을 결합시키거나 철 수준을 감소시키지만, 이것이 병원체에 의한 철 섭취 및 이용을 촉진하기 때문에, 이는 철포획체 생성 유기체에 의해 생기는 병태를 목표로 하는 철 킬레이트화 요법에 사용될 때 치료 가치가 감소된다. 철포획체 합성 및 용도는 예컨대 문헌[Howard, D.H., Clinical Microbiology Reviews 12:394-404 (1999)]에 개시되어 있다.

<60> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "이중철포획체"는 진균 또는 유기체 사용에 의해 생성되지 않는 철포획체를 의미하고자 한다. 용어 "이중철포획체"는 유기체 또는 종을 사용하는 이중철포획체의 문맥에서 사용되거나 또는 이와 관련된 철 킬레이터를 지칭한다. 철포획체와 유사하게, 이중철포획체는 비사용 유기체에 의해 생기는 병태를 목표로 하는 철 킬레이트화 요법에 사용될 때 치료 가치를 나타낸다. 철포획체 및 이중철포획체 합성 및 용도는 예컨대 문헌[Howard, D.H., FEMS Immunology and Medical Microbiology 40:95-100 (2004)]에 개시되어 있다.

<61> 따라서, 목표 진균병과 관련된 비철포획체 또는 비이중철포획체에 상당하는 철 킬레이트 화합물은 진균병을 일으키는 진균제 의해 생성 또는 이용되지 않는 철포획체, 또는 진균병을 일으키는 진균제에 의해 이용되지 않는 이중철포획체를 지칭한다.

<62> 본 발명의 철 킬레이트 제제, 제1 및 제2 구성 성분 제제를 비롯한 조성물, 및 방법은 중증도의 치료, 감소, 진균병의 예방 및 치료에 적용 가능하다. 본 발명의 철 킬레이트 제제, 조성물 및 방법의 특히 유용한 용도는 진균병의 발병 전의 예방 투여를 포함한다.

<63> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "치료하기" 또는 "치료"는 진균병을 나타내는 임상학적 증상의 개량을 의미하고자 한다. 임상학적 증상의 개량은 예컨대 예비 치료 수준에 비해 또는 진균병을 앓는 개체에 비해 치료한 개체의 진균병의 1 이상의 증상이 감소 또는 저감된 것을 포함한다. 용어 "치료"는 또한 진균병과 관련된 병리적 병태, 만성 합병증 또는 기회 진균 감염의 중증도의 감소를 포함하고자 한다. 이러한 병리적 병태, 만성 합병증 또는 기회 감염은 털곰팡이증을 참고로 하여 하기에 예시한다. 털곰팡이증 및 다른 이러한 병리적 병태, 만성 합병증 및 기회 감염은 또한 예컨대 문헌[Merck Manual, Sixteenth Edition, 1992, and Spellberg et al., Clin. Microbiol. Rev. 18:556-69 (2005)]에 기재된 것을 찾을 수 있다.

<64> 본 발명의 방법에 의해 개량될 수 있는 진균병의 증상은 예컨대 열, 오한, 야간 발한, 식욕 부진, 체중 감소, 권태감, 우울증 및 폐, 피부 또는 다른 병변을 포함한다. 다른 증상 또는 특징적인 소견은 예컨대 원병소로부터의 파종, 급성 또는 아급성 양상(subacute presentation), 진행성 폐렴, 진균혈증, 폐외 파종의 소견, 만성 수막염, 세망 내피계(간, 비장, 골수)에 전신 발생한 진행성 파종성 히스토플라스마증, 및 단일 또는 다중 피부 병변으로서의 분야균증을 포함한다. 진균병을 앓는 개체의 효과적인 치료로 예컨대 치료한 개체에서 이러한 증상 중 1 이상의 증상이 감소될 것이다. 진균병의 다수의 다른 임상학적 증상은 당업계에 잘 알려져 있으며, 또한 본 명세서에 설명한 본 발명의 방법을 이용하여 진균병의 중증도의 개량 또는 감소의 척도로서 이용할 수 있다.

<65> 진균병의 진단은 원인적 진균 형태, 예컨대 가래, 뇨, 혈액, 골수, 또는 감염된 조직으로부터의 견본을 단리함으로써 확인할 수 있다. 예컨대, 진균 감염은 침습 진균의 특이한 형태적 특징을 기초로 하여 고신뢰도로 조직 병리학적으로 진단할 수 있거나, 또는 항원의 확인에 선택적인 면역 조직 화학 등에 의해 진단할 수 있다. 감염

활성의 평가는 또한 특이적인 관련 기관과 관련된 다수의 상이한 부위, 열, 백혈구 수, 임상학적 및 실험 계수 (예컨대 간 기능 시험), 및 면역 혈청 시험으로부터 취한 배양물을 기초로 할 수 있다. 양성 가래 배양물의 임상학적 중요성은 또한 조직 침습의 확인에 의해 보장할 수 있다. 이러한 보장은 아스페르길루스 sp와 같은 환경에서 유병하는 이들 유기체에 또는 칸디다 알비칸스와 같은 공생 유기체에 특히 유리할 수 있다.

<66> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "예방하기" 또는 "예방"은 진균병을 나타내는 임상학적 증상의 예방을 의미하고자 한다. 이러한 예방은 예컨대 병태의 명백한 증상의 발달 전에 또는 병태의 진단 전에 진균(들)에 의한 감염의 위험에 있는 개체에서 정상적인 생리적 지표의 유지를 포함한다. 따라서, 용어 "예방"은 진균병의 발생으로부터 개체를 보호하기 위한 개체의 예방 치료를 포함한다. 개체에 있어서의 진균병의 예방은 또한 진균병의 발달을 억제 또는 정지시키는 것을 포함하고자 한다. 병태의 발달의 억제 또는 정지는 예컨대 상기 설명한 것들 및/또는 당업계에 잘 알려진 것들과 같은 비정상적인 생리적 지표 또는 임상학적 증상의 발생을 억제 또는 정지시키는 것을 포함한다. 따라서, 진균병의 효과적인 예방은 정상적인 체온, 체중, 심리적 상태의 유지 뿐 아니라, 진균병에 걸리기 쉬운 개체에서 상기 설명한 바와 같은 다른 병리적 소견 또는 발병의 부족을 포함할 수 있다. 진균병에 걸리기 쉬운 개체는 예컨대 AIDS, 질소혈증, 당뇨병, 기관지 확장증, 폐기종, TB, 림프종, 백혈병 또는 화상을 앓는 개체, 또는 진균병을 앓을 가능성이 있는 병력을 갖는 개체를 포함한다. 병태의 발달의 억제 또는 정지는 또한 예컨대 1 이상의 병리적 병태, 만성 합병증 또는 진균병과 관련된 기회 감염에 대한 감수성의 진행의 억제 또는 정지를 포함한다.

<67> 본 발명의 방법은 매우 다양한 진균병의 치료 및/또는 예방에 유용하다. 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "진균병"은 진균 감염에 의해 생기는 이상 병태를 의미하고자 한다. 인간 및 동물의 진균 감염 또는 진균증은 예컨대 피부 외층에 영향을 미치는 표면 진균 감염; 입(아구창), 질 및 항문 영역을 비롯한 점막의 진균 감염, 예컨대 칸디다 알비칸스에 의해 생기는 것들을 포함하며, 내부 기관 및 피부의 심층에 영향을 미치는 진균 감염은 종종 심각한 치명적 질환을 초래할 수 있다. 진균 감염은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예컨대 점막진균증, 아스페르길루스증, 효모균증, 칸디다증, 히스토플라스마증, 콕시디오이데스진균증, 파라콕시디오이데스진균증(paracoccidiomycosis), 말피부사상균증[히알로히포미코세스(hyalohyphomycoses)], 분아균증, 페니실리오시스(penicilliosis) 또는 스포로트릭스증을 포함한다. 이들 및 다른 진균 감염은 예컨대 문헌[Merck Manual, Sixteenth Edition, 1992, and in Spellberg et al., Clin. Microbio. Rev. 18:556-69 (2005)]에 기재된 것을 찾을 수 있다. 상기 기재한 예시적인 진균병을 하기에 추가로 설명한다.

<68> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "점막진균증"은 조균목 및 곤충곰팡이목으로 구성된 점막진균강의 진균에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 곤충곰팡이목은 개발 도상국에서 면역 적격 숙주를 상당히 괴롭히는, 엔토모프토타레스 진균증으로서 공지된 피하 및 점막 감염의 원인이다.

<69> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "털곰팡이증"은 조균목의 진균에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 털곰팡이증은 개발 도상국 및 선진 산업국에서 면역 기능 저하 숙주에 거의 균일하게 영향을 미치는, 생명을 위협하는 진균 감염이다. 조균목에 속하는 진균은 6개 과로 분류되는데, 이들 모두는 피부 및 심부 감염을 일으킬 수 있다. 임의의 다른 과보다는 털곰팡이과에 속하는 종이 더욱 자주 털곰팡이증을 앓는 환자로부터 단리된다. 털곰팡이 중에서, 리조푸스 오리제(리조푸스 아리주스)는 감염의 흔한 원인이다. 감염의 유사한 스펙트럼을 초래하는 털곰팡이과의 다른 예시적인 종은 예컨대 리조푸스 미크로스포루스 변종 리조포디포르미스(*Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis*), 압시디아 코림비페라(*Absidia corymbifera*), 아포피소미세스 엘레간스(*Apophysomyces elegans*), 털곰팡이 종, 리조무코르 푸실루스(*Rhizomucor pusillus*) 및 킨닝하멜라 에스피피(킨닝하멜라세에 과)를 포함한다. 털곰팡이증은 당업계에 잘 알려져 있으며, 예컨대 코대뇌 털곰팡이증, 폐 털곰팡이증, 위장관 털곰팡이증, 파종성 털곰팡이증, 뼈 털곰팡이증(bone mucormycosis), 종격 털곰팡이증(mediastinum mucormycosis), 기관 털곰팡이증(trachea mucormycosis), 신장 털곰팡이증, 복막 털곰팡이증, 상대정맥 털곰팡이증 또는 외이도 털곰팡이증을 포함한다.

<70> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "칸디다증"은 칸디다속의 진균에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 칸디다증은 피부, 및 입, 기도 및/또는 질의 점막에서 발생할 수 있을 뿐 아니라, 특히 면역 기능 저하 개체에서는 혈류를 침습할 수 있다. 칸디다증(candidiasis)은 또한 칸디다증(candidosis) 또는 모닐리아증으로서 당업계에 공지되어 있다. 칸디다속의 예시적인 종은 예컨대 칸디다 알비칸스, 칸디다 크루세이, 칸디다 트로피칼리스, 칸디다 글라브라타 및 칸디다 파라프실로시스를 포함한다.

<71> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "아스페르길루스증"은 아스페르길루스속에 의해 생기는 질병의 군을 의미하고자 한다. 증상은 예컨대 열, 감기, 흉통 및/또는 호흡 곤란을 포함한다. 면역계가 약화되거나 폐병을 앓고 있

는 환자는 특히 아스페르길루스증에 걸릴 가능성이 있다. 이 진균병의 예시적인 형태는 천식, 낭성 섬유증 및 부비동염 환자에 영향을 미치는 알러지성 아스페르길루스증; 암 환자, 화학 요법을 받고 있는 환자 및 AIDS 환자에서와 같이 면역이 약화된 환자에서 증가된 발생율을 나타내는 급성 침습성 아스페르길루스증; 신체 전체에 널리 퍼지는 파종성 침습성 아스페르길루스증; 및 귀 및 다른 기관의 염증 및 병변에 특징이 있는 기회 아스페르길루스 감염을 포함한다. 아스페르길루스는 약 200개 진균의 속이다. 침습성 질환을 일으키는 아스페르길루스 종은 예컨대 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*) 및 아스페르길루스 플라부스를 포함한다. 알려진 질환을 일으키는 아스페르길루스 종은 예컨대 아스페르길루스 푸미가투스 및 아스페르길루스 클라바투스(*Aspergillus clavatus*)를 포함한다. 다른 예시적인 아스페르길루스 감염 종은 예컨대 아스페르길루스 테레우스(*Aspergillus terreus*) 및 아스페르길루스 니둘란스(*Aspergillus nidulans*)를 포함한다.

<72> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "효모균증"은 크립토코쿠스속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 하며, 부세부쉬케병(Busse-Buschke disease)으로도 공지된 효모균증은 일반적으로 예컨대 폐, 피부 또는 다른 신체 기관을 비롯한 신체의 임의의 기관에 영향을 미칠 수 있는 전신 감염으로서 나타나지만, 대부분은 종종 뇌 및 수막과 같은 중추 신경계에서 발생한다. 효모균증은 AIDS에 대한 기회 감염이지만, 호지킨병 또는 다른 림프종 또는 사코이드증을 앓고 있는 환자 또는 장기 코르티코스테로이드 요법을 받고 있는 환자도 위험이 증가한다. 증상은 예컨대 흉통, 마른 기침, 복부 팽창, 두통, 흐린 시력 및 착란을 포함한다. 이 진균병의 예시적인 형태는 상처에 발생하는 것과 같은 피부 효모균증, 폐 효모균증 및 크립토코쿠스 수막염을 포함한다. 크립토코쿠스 수막염은 일반적으로 면역 기능 저하 환자에서 관찰되거나 예상되지 않은 폐 감염으로부터의 크립토코쿠스 네오포르만스의 파종에서 생길 수 있다. 크립토코쿠스 가티(*C. gattii*)는 일반적으로 면역 적격 인간에서 감염을 일으킨다. CSF, 가래 및 뇨의 배양물에 의한 크립토코쿠스 항원(캡슐 물질)의 검출은 유용한 진단 방법을 제공한다. 혈액 배양물은 또한 중증 감염에서 양성될 수 있다.

<73> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "히스토플라스마증"은 히스토플라스마 캡슐라툼 포자의 흡입에 의해 생기는 감염병을 비롯하여 히스토플라스마속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 히스토플라스마증은 또한 달링병(Darling's disease)으로 당업계에 공지되어 있다. 병태는 증상이 없을 수 있지만, 또한 급성 폐렴 또는 인플루엔자 유사 질환으로 진행될 수 있으며, 일차적으로 폐에 영향을 미친다. 히스토플라스마증은 또한 신체 내 다른 기관 및 계에 퍼질 수 있다. 진균병의 다른 파종 형태와 같이, 이 파종성 히스토플라스마증은 치명적일 수 있다. 증상은 노출 3 내지 17 일 이내에 발생할 수 있다. 그러나, 비파종 형태에서, 감염된 개체는 명백한 질병 효과를 나타내지 않는 것이 일반적일 수 있다. 급성 호흡 질환은 호흡 증상, 일반적인 질환감, 열, 흉통 및 마른 기침에 특징이 있을 수 있다. 특이한 패턴이 또한 가슴 X선에서 보일 수 있다. 만성 폐병은 결핵과 유사하며, 시간이 경과할수록 악화될 수 있다.

<74> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "콕시디오이데스진균증"은 콕시디오이데스속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 이 용어의 의미에는 특히 포자의 흡입을 통해 생기고 열 및 다양한 호흡 증상을 특징으로 하는 콕시디오이데스 포사다시(*C. posadasii*) 또는 콕시디오이데스 이미티스에 의해 생기는 감염성 호흡 질환이 포함된다. 콕시디오이데스진균증은 또한 콕시디오이데스진균증 및 계곡열로서 당업계에 공지되어 있다. 진신성 콕시디오이데스진균증은 기도에서 예컨대 피부, 뼈 및 중추 신경계로 퍼질 수 있다. 병태의 소견은 증상이 완전히 없는 것로부터 전신 감염 및 사망까지 다양하다. 예컨대, 증상적인 감염(케이스의 약 40%)은 열, 기침, 두통, 발진 및 근육통이 있는 인플루엔자 유사 질환으로서 나타날 수 있다. 일부 환자는 만성 폐 감염 또는 널리 퍼진 파종성 감염(수막, 연조직, 관절 및 뼈에 영향을 미침)을 회복 및 발달시키지 못할 수 있다. 중증 폐병은 예컨대 HIV 감염 환자 및 다른 면역 기능 저하 환자에서 발달할 수 있다.

<75> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "파라콕시디오이데스진균증"은 예컨대 브라질파라콕시디오이데스에 의해 생기는 만성 진균증을 비롯하여 파라콕시디오이데스속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 파라콕시디오이데스진균증은 피부로 확장되는 턱 및 코의 점막의 뚜렷한 괴양성 육아종, 및 전신 림프관염에 의한, 다수의 내부 기관으로의 파종을 갖는 폐의 일차 병변을 특징으로 한다. 파라콕시디오이데스진균증은 또한 파라콕시디오이데스진균증, 알메이다병, 루쯔-스플렌도어-알메이다병(Lutz-Splendore-Almeida disease), 파라콕시디오이데스진균증 및 남아메리카 분아균증을 포함한다.

<76> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "말피부사상균증" 또는 "히알로히포미코세스"는 푸사륨속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 병태를 일으키는 푸사륨 종은 예컨대 푸사륨 솔라니(*F. solani*), 푸사륨 옥시스포럼(*F. oxysporum*) 및 푸사륨 모닐리포름(*F. moniliforme*)을 포함한다. 감염은 각막염, 손발톱진균증 및 종종 복막염 및 연조직염을 포함한다. 파종성 말피부사상균증에 대한 위험 인자는 종종 면역 억제(호중구 감소증, 림프구 감소증, 이식편대숙주병, 코르티코스테로이드), 집락 형성 및 조직 손상을 포함한다. 면역 적격 환자에서, (외

상, 중증 화상 또는 외부 물체에 의해 생기는) 조직 파괴는 말피부사상균증에 대한 위험 인자이다. 임상 양상은 불응성 열(refractory fever), 피부 병변 및 동폐성 감염을 포함한다. 피부 병변은 다수의 환자에서 진단될 수 있으며, 진균혈증보다 약 5 일 앞선다. 과중성 말피부사상균증은 예컨대 혈액 배양 및 상기 및 하기 설명하는 다른 잘 알려진 방법에 의해 진단할 수 있다.

<77> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "분아균증"은 일반적으로 호흡 감염에서 시작하여 일반적으로 폐, 뼈 및 피부에 퍼지는 분아균속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 분아균증은 피부, 점막 또는 내부 기관의 다수의 염증 병변을 특징으로 한다. 블라스토마이세스 데르마티티디스(*Blastomyces dermatitidis*)는 원인이 되는 종을 유발하는 하나의 종이다. 분아균증의 증상은 예컨대 열, 오한, 근육통, 두통 및 마른 기침을 동반하는 인플루엔자 유사 질환; 고열, 오한, 습성 기침 및 흉막 흉통의 증상을 동반하는 박테리아 폐렴 유사 급성 질환; 저등급 열, 습성 기침, 야간 발한 및 체중 감소의 증상을 동반하는 결핵 또는 폐암과 유사한 만성 질환; 열, 숨가쁨, 빠른 호흡, 저산소혈증 및 미만성 폐침윤을 동반하는 AIDS로서 발현되는 고속 진행성 중증 질환; 피부 병변; 골 용균성 병변; 전립샘염 및/또는 신소리를 일으키는 후두 병발을 포함한다.

<78> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "페니실리오시스"는 페니실류속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 예시적인 종은 면역 기능 저하 개체에서 기회 진균 감염의 유발 원인인 페니실류 마르네페이(*penicillium marneffeii*)이다. 임상 견본으로부터 진균을 확인함으로써 진단할 수 있다. 피부 병변, 림프절 및 골수의 생검은 조직병리학 상의 유기체의 존재를 증명할 수 있다. 증상은 예컨대 열, 피부 병변, 빈혈, 전신 림프절병증 및 간 비대를 포함한다.

<79> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "스포로트릭스증"은 스포로트릭스 스킨키(*S. schenckii*) 종을 비롯하여 스포로트릭스속에 의해 생기는 진균병을 의미하고자 한다. 병태는 림프절 및 피부에서의 결절 또는 궤양에 특성이 있는 만성 감염으로서 나타난다.

<80> 예컨대 관절, 폐, 눈 및 비뇨생식계 및 중추신경계의 감염을 비롯한 스포로트릭스증 감염은 혈액을 통해 다른 영역으로 퍼질 수 있다. 일반적으로, 과중성 스포로트릭스증은 AIDS 환자, 암, 화학 요법을 받고 있는 환자, 면역 억제 요법 중인 이식 수용자와 같은 면역 기능 저하 개체에서 생긴다.

<81> 본 명세서에서 사용되는 바의 용어 "유효량" 또는 "치료 유효량"은 개체에게 투여시 진균병의 확산의 정도, 양 또는 속도를 감소시키는 데에 필요한 본 발명의 철 킬레이트 화합물, 항균제, 또는 철 킬레이트 화합물 및 항균제 양쪽의 양을 의미하고자 한다. 따라서, 철 킬레이트 화합물과 관련하여 사용시 유효량은 목표 진균병과 관련된 1 이상의 증상을 개량하기에 충분한 철 킬레이트 화합물의 양을 의미하고자 한다.

<82> 치료적으로 유효하게 하는 데에 필요한 본 발명의 철 킬레이트 화합물, 항균제, 또는 철 킬레이트 화합물 및 항균제 양쪽의 용량은 예컨대 치료할 진균병, 철에 대한 철 킬레이트 화합물의 친화도, 철의 농도 및 과다 수준 뿐 아니라, 개체의 체중 및 병태, 및 전처치 또는 동시 요법에 따라 달라질 수 있다. 방법의 특정 용도에 대해 효과적인 용량으로 고려되는 적절량은 본 명세서에 제공된 안내를 이용하는 당업자가 결정할 수 있다. 예컨대, 하기 설명하는 바의 시험관내 또는 생체내 어세로부터 양을 외삽할 수 있다. 환자의 병태는 요법 과정 내내 모니터링할 필요가 있으며, 투여되는 조성물의 양은 요법의 반응에 따라 조정될 수 있음을 당업자는 인지할 것이다.

<83> 철 킬레이트 화합물의 예시적인 유효량은 예컨대 약 0.3 내지 3.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 범위의 농도를 포함하지만, 0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하만큼 낮은 농도 및 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상만큼 높은 농도를 포함할 수 있다. 투여되는 항균제의 양은 당업자에게 잘 알려져 있으며, 본 명세서에서는 용어 "유효량"의 범위에 포함된다.

<84> 예컨대 테페라시록스의 예비 임상 조사에서, 철과부하 명주 원숭이에서 400 mg/kg/d 이하의 용량에서는 실질적으로 독성이 보이지 않았다[문헌(Nick et al. Adv. Exp. Med. Biol. 509: 185-203 (2002))]. 그러나, 80 mg/kg의 용량에서 비철과부하 명주 원숭이에게 만성 투여한 후 심각한 독성이 보였는데, 이는 비철과부하 숙주가 테페라시록스를 덜 잘 견뎌는 것을 확인시켜 준다(Id.). 그럼에도 불구하고, 비철과부하 명주 원숭이에서조차, 40 mg/kg/d 이하로의 치료 39 주 후 독성이 보이지 않았으며, 아급성 치료 동안(4 주), 65 mg/kg/d 이하의 용량은 부작용 없이 잘 견뎠다. 철과부하 환자의 임상학적 조사에서[문헌(Nisbet-Brown et al. Lancet 361:1597-1602 (2003); Galanello et al. J. Clin. Pharmacol. 43:565-572 (2003); Cappellini et al. Blood 107:3455-3462 (2006))], 12 일 이하 동안 40 mg/kg/d 이하의 용량에서, 그리고 30 mg/kg/d 이하에서 수 개월 내지 수 년에 걸친 만성 투여에서 테페라시록스는 매우 잘 견뎠다.

<85> 일반적으로, 철 킬레이트 화합물은 약 0.01 내지 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 약 0.1 내지 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 약 0.2 내지 6 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 특히

약 0.3 내지 3.0 $\mu\text{g/ml}$, 더욱 특히 약 0.6 내지 2.0 $\mu\text{g/ml}$, 더더욱 특히 약 0.8 내지 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 또는 약 0.9 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 본 발명의 철 킬레이트화 요법 제제, 제1 또는 제2 구성 성분 제제 및/또는 조성물에 포함될 수 있다. 이들 범위 미만, 초과 또는 이들 범위 사이의 철 킬레이트 화합물 농도 및/또는 양을 또한 본 발명의 철 킬레이트화 요법 제제, 제1 또는 제2 구성 성분 제제 및/또는 조성물에 사용할 수 있다. 예컨대, 약 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 미만을 구성하는 1 이상의 철 킬레이트 화합물이 제제 또는 조성물에 포함될 수 있다. 유사하게, 제제 또는 조성물은 특히 저장을 위해 제제화될 때 약 10 $\mu\text{g/ml}$ 를 초과하는 농도의 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 함유할 수 있다. 따라서, 실질적으로 예컨대 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 $\mu\text{g/ml}$ 이상을 비롯한 임의의 소정 농도 또는 양의 1 이상의 철 킬레이트 화합물을 함유하는, 본 발명의 방법에 유용한 제제 또는 조성물을 제조할 수 있다.

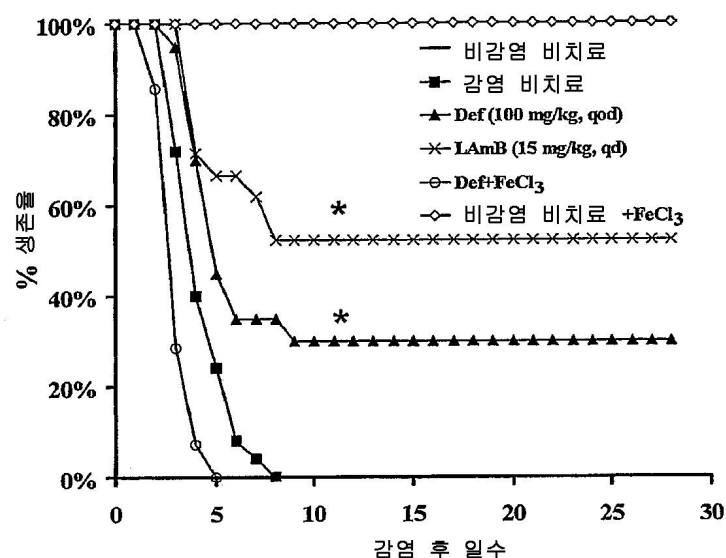
<86> 예시적인 유효량의 항균제는 예컨대 폴리엔 항균제와 관련하여 하기 예시된 것들을 포함한다. 예컨대, 암포테리신 B 데옥시콜레이트는 일반적으로 예컨대 체중의 약 10 mg/kg 미만의 용량으로 투여하며, 정맥 투여에 대해 약 0.25 내지 1.0 mg/kg/d의 비율을 포함할 수 있다. 리포솜 암포테리신 B(L-AMB)는 일반적으로 예컨대 1 내지 5 mg/kg의 용량으로 투여한다. 리포솜 암포테리신 B는 또한 특히 내내 질환에 있어서 15 mg/kg/d만큼 높게 투여할 수 있다. 암포테리신 B 지질 착물(ABLC)은 일반적으로 5 mg/kg의 용량으로 투여하지만, 약 0.5 내지 15 mg/kg 범위일 수 있다. 암포텍은 일반적으로 약 50 내지 100 mg의 단일 용량으로 투여한다. 유사하게, 철 킬레이트 화합물 및 항균제를 사용하는 조합 요법에 대해, 상기한 양은 상향 또는 하향 조정될 수 있는 화합물 및/또는 제제와 함께 또는 둘 중 하나와 함께 또는 양쪽 모두와 함께 투여할 수 있다. 아졸 항균제 및 에키노칸딘 항균제에 대한 유효량은 유사하게 당업계에 잘 알려져 있으며, 일반적으로 상기 범위 내의 용량을 포함한다.

<87> 본 명세서에 교시 및 안내를 제공하였지만, 당업자는 상기 예시한 유효량을 예컨대 다른 활성 성분의 유형 및 양에 대해 조정할 수 있음을 이해할 것이다. 예컨대, 1 이상의 철 킬레이트 화합물의 용량이 상기 예시한 높은 범위에 있는 경우, 필요에 따라 여전히 유효량을 얻으면서 적어도 항균제 중 1 이상의 양을 감소시킬 수 있다. 유사하게, 1 이상의 항균제의 용량이 상기 예시한 높은 범위에 있거나 이보다 높은 경우, 필요에 따라 적어도 철 킬레이트 화합물 중 1 이상의 양을 감소시킬 수 있다. 2 이상의 철 킬레이트 화합물의 용량 및/또는 1 이상의 항균제 중 2 이상의 용량을 또한 서로에 대해 조정할 수 있다. 이러한 조합된 유효량의 모든 다른 조정을 본 발명의 방법에 이용할 수 있다.

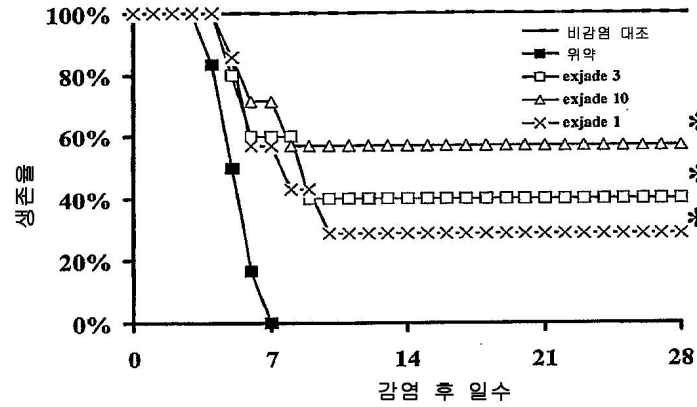
<88> 본 발명의 다양한 구체예의 활동에 실질적으로 영향을 미치지 않는 변형도 본 명세서에 제공된 본 발명의 정의에 포함됨을 이해해야 한다. 따라서, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것으로서, 본 발명을 한정하려 하는 것이 아니다.

도면

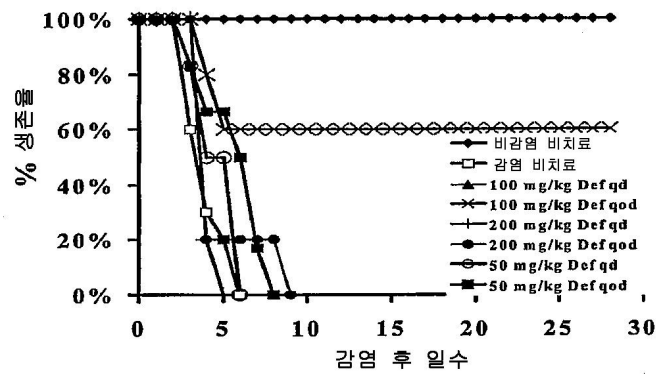
도면1



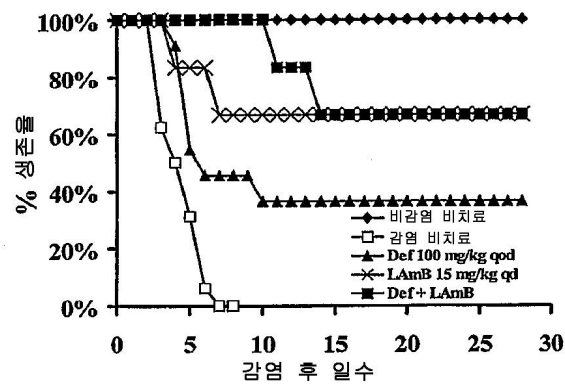
도면2



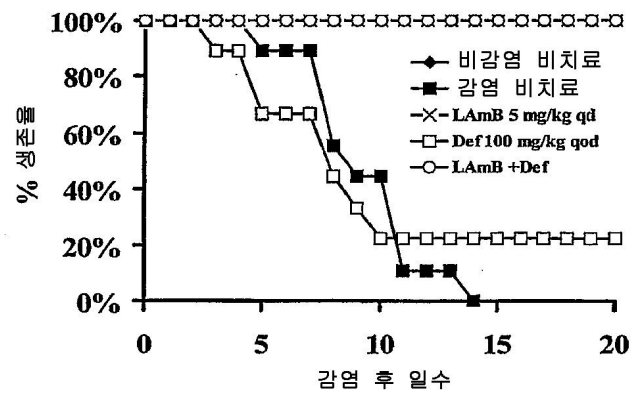
도면3



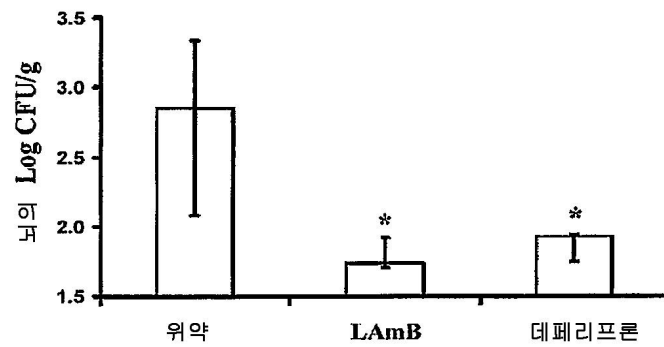
도면4



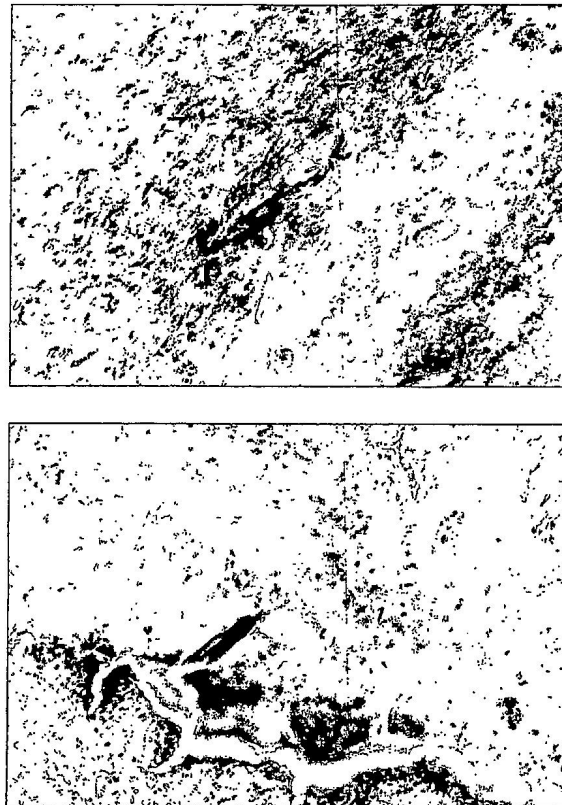
도면5



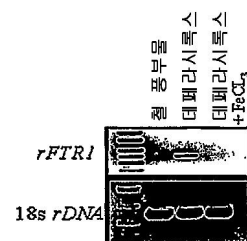
도면6



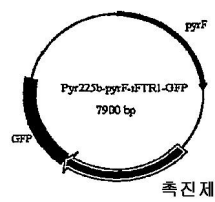
도면7



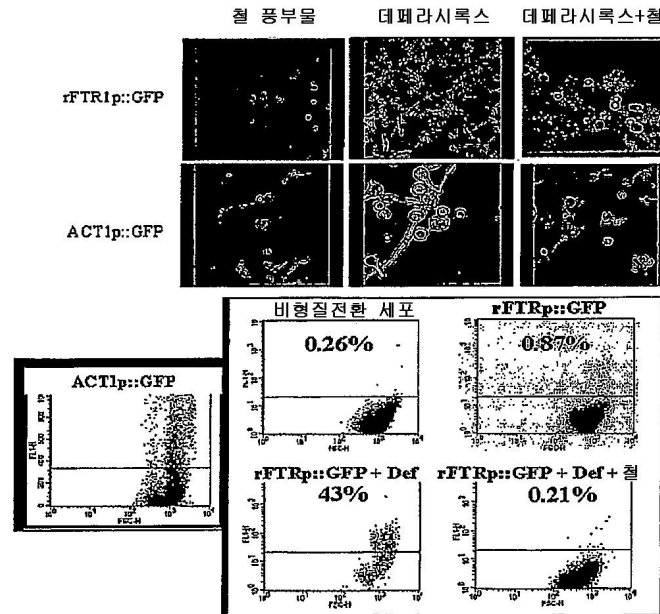
도면8a



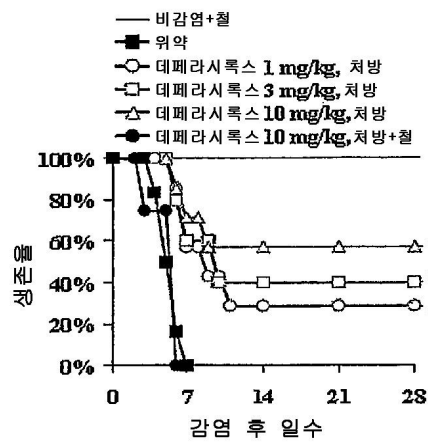
도면8b



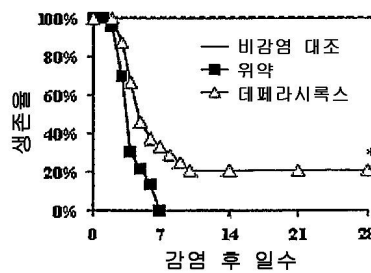
도면8c



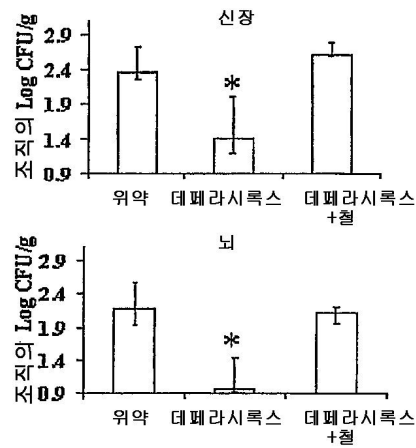
도면9a



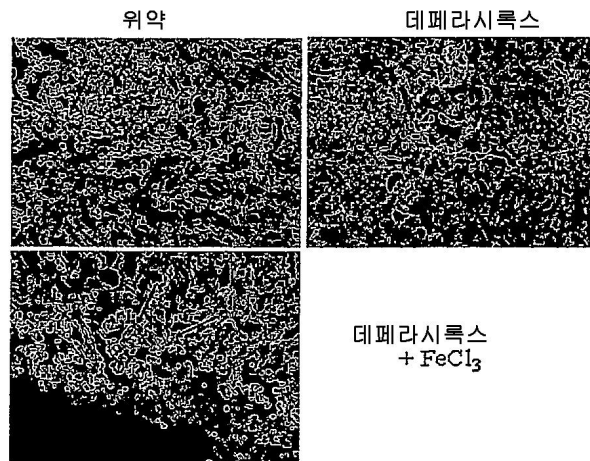
도면9b



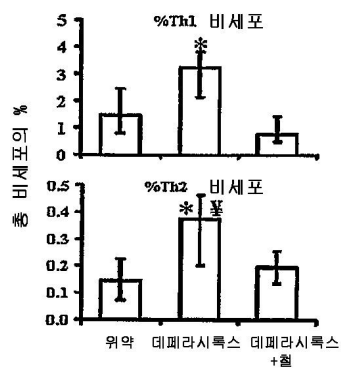
도면10a



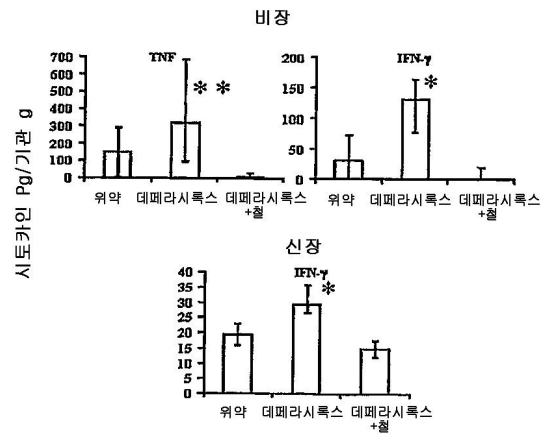
도면10b



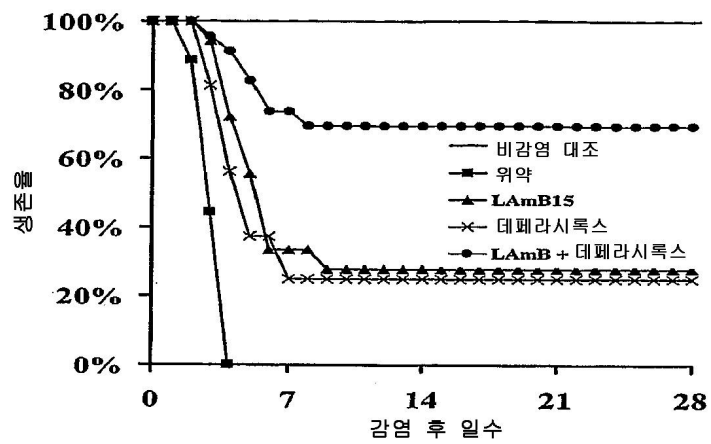
도면11a



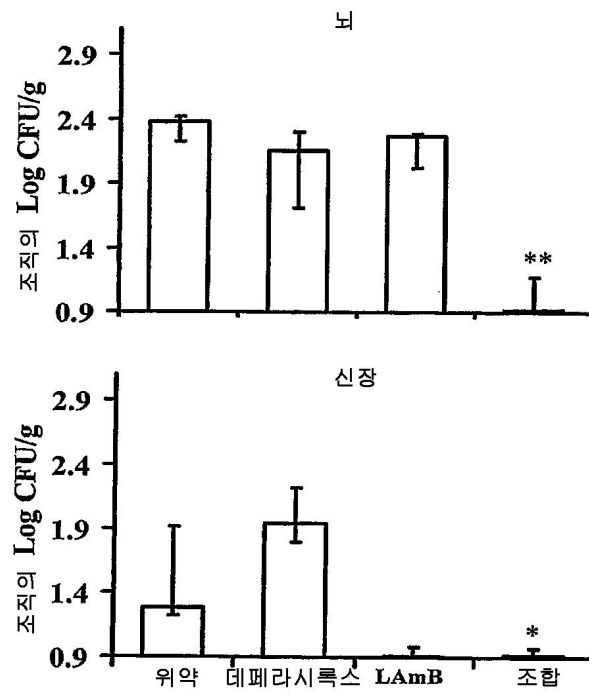
도면11b



도면12



도면13



도면14

