



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0016199
(43) 공개일자 2022년02월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/16 (2006.01) **A61K 38/46** (2006.01)
A61K 47/38 (2006.01) **A61K 9/50** (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) **C12N 9/16** (2006.01)

(52) CPC특허분류
A61K 9/1623 (2013.01)
A61K 38/465 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7043142
(22) 출원일자(국제) 2020년06월03일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년12월29일
(86) 국제출원번호 PCT/US2020/035814
(87) 국제공개번호 WO 2020/247421
국제공개일자 2020년12월10일
(30) 우선권주장
62/856,309 2019년06월03일 미국(US)

(71) 출원인
신세텍 바이오로지스, 인코퍼레이티드
미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬
센터 드라이브 9605

(72) 발명자
칼레코 마이클
미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬
센터 드라이브 9605 신세텍 바이오로지스, 인코퍼
레이티드 내
스테이플턴 레이
미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬
센터 드라이브 9605 신세텍 바이오로지스, 인코퍼
레이티드 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인아주

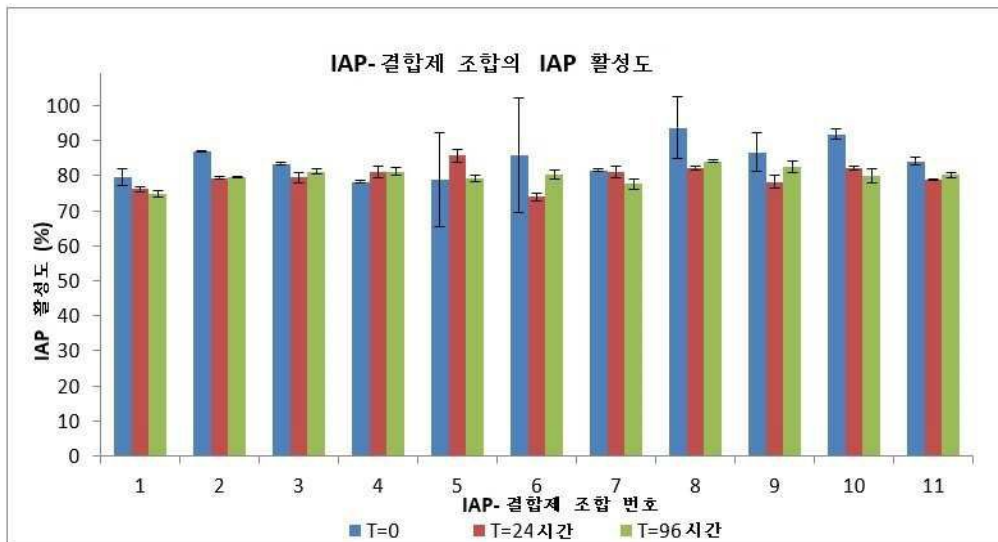
전체 청구항 수 : 총 40 항

(54) 발명의 명칭 알칼리성 포스파타제 제형 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 부분적으로 알칼리성 포스파타제를 포함하는 제형에 관한 것이다. 특히, 장에서 실질적인 양의 알칼리성 포스파타제를 방출하는, 알칼리성 포스파타제를 포함하는 변형 방출형 제형이 제공된다. 알칼리성 포스파타제 제형의 치료 용도가 또한 제공된다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

A61K 47/38 (2013.01)
A61K 9/1652 (2013.01)
A61K 9/1676 (2013.01)
A61K 9/5026 (2013.01)
A61K 9/5078 (2013.01)
A61P 1/00 (2018.01)
C12N 9/16 (2013.01)
C12Y 201/03001 (2013.01)

(72) 발명자

브리스톨 앤드류

미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬 센터 드라이브 9605 신세텍 바이오횰직스, 인코퍼레이티드 내

휴버트 스티븐

미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬 센터 드라이브 9605 신세텍 바이오횰직스, 인코퍼레이티드 내

프레이리 크리스티나

영국 옥스퍼드 오엑스14 4알지 애빙턴 111 이노베이션 드라이브 앵튜이트 (포터스 바) 리미티드 내

명세서

청구범위

청구항 1

GI관에서 실질적인 양의 포스파타제(AP)-기반 작용제를 방출하는 AP-기반 작용제(AP-based agent)를 포함하는 적어도 하나의 변형 방출형(modified-release) 펠릿을 포함하는 변형 방출형 제형으로서,

각각의 변형 방출형 펠릿은,

약 1 내지 10중량%의 AP-기반 작용제;

약 75 내지 95중량%의 수크로스 구체;

약 5 내지 15중량%의 하이드록시프로필셀룰로스; 및

약 0.5 내지 2중량%의 완충제염

을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 각각의 변형 방출형 펠릿은,

약 5중량%의 AP-기반 작용제;

약 85중량%의 수크로스 구체;

약 9중량%의 하이드록시프로필셀룰로스; 및

약 1중량%의 완충제염

을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 3

제1항에 있어서, 각각의 변형 방출형 펠릿은,

약 4.7중량%의 AP-기반 작용제;

약 84.9중량%의 수크로스 구체;

약 9.3중량%의 하이드록시프로필셀룰로스; 및

약 1.2중량%의 완충제염

을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 약 20 내지 40%의 장용 중합체 중량 증가, 선택적으로 약 30%의 장용 중합체 중량 증가를 갖는 단일층 장용 코팅을 더 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 약 20 내지 40%의 장용 중합체 중량 증가를 갖는 장용 코팅 층 및 약 5 내지 15%의 하이드록시프로필셀룰로스 중량 증가를 갖는 장용 코팅 층, 선택적으로 약 30%의 장용 중합체 중량 증가를 갖는 장용 코팅 층 및 약 7%의 하이드록시프로필셀룰로스 중량 증가를 갖는 장용 코팅 층을 더 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 6

GI관에서 실질적인 양의 AP-기반 작용제를 방출하는 캡슐에 함유된 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하는

변형 방출형 제형으로서,
상기 변형 방출형 제형은,
약 5 내지 15중량%의 AP-기반 작용제;
약 30 내지 40중량%의 수크로스 구체;
약 15 내지 25중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
약 2 내지 4중량%의 완충제염; 및
약 25 내지 35중량%의 장용 중합체
를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 변형 방출형 제형은,
약 10중량%의 AP-기반 작용제;
약 38중량%의 수크로스 구체;
약 19중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
약 2중량%의 완충제염; 및
약 26중량%의 장용 중합체
를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 8

제6항에 있어서, 상기 변형 방출형 제형은,
약 9.7중량%의 AP-기반 작용제;
약 37.7중량%의 수크로스 구체;
약 19.4중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
약 2.4중량%의 완충제염; 및
약 26.3중량%의 장용 중합체
를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 캡슐은 약 25mg 또는 5mg의 AP-기반 작용제를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 10

GI관에서 실질적인 양의 AP-기반 작용제를 방출하는 캡슐에 함유된 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하는 변형 방출형 제형으로서,
상기 변형 방출형 제형은,
약 5 내지 15중량%의 AP-기반 작용제;
약 35 내지 45중량%의 수크로스 구체;
약 15 내지 25중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
약 0.1 내지 1중량%의 완충제염; 및

약 20 내지 30중량%의 장용 중합체를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 11

제10에 있어서, 상기 변형 방출형 제형은,
 약 10중량%의 AP-기반 작용제;
 약 39중량%의 수크로스 구체;
 약 20중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
 약 0.5중량%의 완충제염; 및
 약 26중량%의 장용 중합체를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 12

제10에 있어서, 상기 변형 방출형 제형은,
 약 10.0중량%의 AP-기반 작용제;
 약 38.9중량%의 수크로스 구체;
 약 20.0중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
 약 0.3중량%의 완충제염; 및
 약 26.3중량%의 장용 중합체를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 캡슐은 약 15mg 또는 5mg의 AP-기반 작용제를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 14

제6항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 약 1 내지 10%의 HTP-20을 더 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 15

제6항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 캡슐은 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 16

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 2 내지 8°C에서 적어도 1개월, 3개월, 6개월 또는 12개월 동안 저장되는 경우 약 적어도 80%의 IAP 활성도를 유지하는, 변형 방출형 제형.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AP-기반 작용제는 서열번호 1 내지 17 및 39 중 어느 하나와 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 AP-기반 작용제는 서열번호 39와 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AP-기반 작용제는 소장에서 실질적으로 방출되는, 변형 방출형 제형.

청구항 20

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 AP-기반 작용제는 대장에서 실질적으로 방출되는, 변형 방출형 제형.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 코어 입자 및 상기 코어 입자 위의 베이스 코트를 포함하되, 상기 베이스 코트는 상기 AP-기반 작용제를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 코어 입자는 수크로스를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 제형은 복수의 코어 입자를 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 코어 입자 크기는 약 1mm 내지 약 1.3mm 직경인, 변형 방출형 제형.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 위액에서 실질적으로 안정적인 변형 방출형 코팅을 더 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 장내 세균총에 존재하는 미생물 효소에 의해서 분해되는 변형 방출형 코팅을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 pH-의존적인 용해도를 갖는 변형 방출형 코팅을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 시간-의존적 침식 프로파일을 갖는 변형 방출형 코팅을 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 상기 제형은 추가 치료제를 더 포함하는, 변형 방출형 제형.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 완충제염은 Tris 염기, 염화마그네슘, 황산마그네슘, 염화아연 및 황산아연으로부터 선택되는, 변형 방출형 제형.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 장용 중합체는 EUDRAGIT L30 D-55, FS 30D, L 100-55, L 100, L 12,5, L 12,5 P, RL 30 D, RL P0, RL 100, RL 12,5, RS 30 D, RS P0, RS 100, RS 12,5, NE 30 D, NE

40 D, NM 30 D, S 100, S 12,5 및 S 12,5 P로부터 선택되는, 변형 방출형 제형.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 장용 중합체는 EUDRAGIT L 30 D-55(폴리(메타크릴산-에틸 아크릴레이트 공중합체) 1:1)인, 변형 방출형 제형.

청구항 33

방사선-유도 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법으로서,

상기 대상체에게 제1항 내지 제32항 중 어느 한 항의 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 방사선-유도 장애는 암에 대한 방사선 요법으로 인한 전장염(enterocolitis), 방사선-유도 장병증, 대장염 및 직장염으로부터 선택되는, 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 35

제33항 또는 제34항에 있어서, 상기 방사선-유도 장애는 장 독성을 포함하는, 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 36

제33항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방사선-유도 장애는 점막성 위축, 동맥 경화증 및 진행성 장막 섬유증 중 하나 이상을 포함하는, 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 37

제33항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방사선은 이온화 방사선을 포함하되, 선택적으로 상기 방사선은 X선, 감마선 및 하전 입자 중 하나 이상을 포함하는, 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 38

제33항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방사선-유도 장애는 방사선요법의 부작용인, 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 방사선요법은 선택적으로는 분할된(fractionated), 약 20Gy 또는 약 30Gy 또는 약 40Gy 또는 약 50Gy 또는 약 60Gy 또는 약 70Gy 또는 약 80Gy 또는 약 90Gy 또는 약 100Gy의 선량을 포함하는, 방사선-유도 장애를 치료하거나 예방하는 방법.

청구항 40

GI관에서 실질적인 양의 AP-기반 작용제를 방출하는 AP-기반 작용제를 포함하는 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하는 변형 방출형 제형으로서,

각각의 변형 방출형 펠릿은,

약 5중량%의 AP-기반 작용제로서, 상기 AP-기반 작용제는 서열번호 39와 적어도 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 상기 AP-기반 작용제;

약 85중량%의 수크로스 구체;

약 9중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;

약 1중량%의 완충제염; 및

약 30%의 장용 중합체 중량 증가를 갖는 단일층 장용 코팅으로서, 상기 장용 중합체는 EUDRAGIT L 30 D-55(폴리

(메타크릴산 - 에틸 아크릴레이트 공중합체) 1:1인, 상기 단일층 장용 코팅을 포함하는, 변형 방출형 제형.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 부분적으로 알칼리성 포스파타제를 포함하는 제형 및 이의 용도를 제공한다.

[0002] 관련 출원에 대한 상호참조

[0003] 본 출원은 미국 가출원 제62/856,309호(출원일: 2019년 6월 3일)의 이익을 주장하며, 이 기초출원의 전문은 본 명세서에 참조에 의해 포함된다.

[0004] 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 설명

[0005] 본 명세서와 함께 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 내용은 이의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다: 서열목록의 컴퓨터 판독 가능한 형식 사본(파일명: "SYN-044PC_ST25.txt"; 데이터 작성일: 2020년 6월 2일; 파일 크기: 78,381바이트).

배경 기술

[0006] 알칼리성 포스파타제는 포스페이트 에스터의 가수분해를 촉매하는 이량체 금속효소이고, 생리 pH 및 더 높은 pH에서 다양한 표적 기질을 탈인산화시킨다. 알칼리성 포스파타제(AP)는 진핵생물 유기체(예를 들어, 이. 콜라이(E. coli) 및 포유동물)뿐만 아니라 원핵생물에서 발견된다. 포유동물 AP는 소화관 항상성, 점막 장벽 기능, 공생 박테리아의 축진 및 병원체로부터의 방어에서 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있다. 포유동물 AP는 지질 다당류(LPS, 톨-유사 수용체-4(toll-like receptor-4: TLR4) 효능제), 플라젤린(flagellin)(TLR5 효능제) 및 CpG DNA(TLR9 효능제)를 일차적으로 표적으로 함으로써 이들의 특성을 발휘한다. AP는 또한 좋은 박테리아의 성장 및 미생물총 불균형(dysbiosis) 반전을 촉진하는, 장 내강 뉴클레오타이드 트라이포스페이트(NTP, 예를 들어, ATP, GTP 등)를 분해한다.

[0007] 위장관(gastrointestinal: GI) 장애를 위한 치료는 GI관의 건강한 기능을 보존하는 데 있어서 매개자로서 마이크로비옴의 역할을 점점 더 살펴보고 있다. 이와 같이, 좋은 박테리아의 성장을 촉진하고, 미생물총 불균형을 반전시키는 데 있어서의 알칼리성 포스파타제(AP)의 역할은 GI 장애를 위한 치료 선택의 발전에서 중요하며 성장하는 연구 분야이다. 따라서, AP는 예를 들어, 다양한 위장관(GI) 장애의 치료를 위한 마이크로비옴 보존제로서 임상적으로 사용될 수 있다.

[0008] 그러나, AP를 포함하는 단백질 생물의약품(biologics)을 제형화하는 것은 약물의 투여 경로와 관련하여 고려해야 하는 다양한 고려사항을 고려할 때 특히 도전적인 작업이다. 추가로, 충분한 용해/방출 프로파일을 나타내어 GI관에 대한 표적화된 방출을 허용하는 약물-층 변형 방출형 제형을 제공하는 것은 단백질 생물의약품의 복잡한 본성으로 인해서 도전적일 수 있다.

[0009] 따라서, 치료적 개입에 사용하기 위한 신규한 알칼리성 포스파타제 제형에 대한 필요가 남아있다.

발명의 내용

[0010] 따라서, 본 발명은 알칼리성 포스파타제(AP)-기반 작용제 및/또는 추가 치료제를 포함하는 변형 방출형 제형을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 제형은 GI 관에서 실질적인 양의 AP-기반 작용제(AP-based agent)를 방출한다. 일 실시형태에서, 제형은 적어도 하나의 코어 입자 및 코어 입자 위로 베이스 코트를 포함하되, 베이스 코트는 AP-기반 작용제를 포함한다. 다른 실시형태에서, 제형은 적어도 하나의 코어 입자를 포함하되, AP-기반 작용제는 코어 입자 내에서 캡슐화된다. 다양한 실시형태에서, 제형은 코어 입자 위에 배치된 지연 방출형 코팅과 같은 변형 방출형 코팅을 포함한다. 일부 실시형태에서, 지연 방출형 코팅은 위액에서 실질적으로 안정적이다. 일부 실시형태에서, 지연 방출형 코팅은 장액에서 실질적으로 안정적이다. 실시형태에서, 지연 방출형 코팅은 EUDRAGIT 화합물을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 제형은 수크로스 펠릿의 형태일 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿은 복수의 코어 입자를 포함한다.

[0011] 이들 AP-기반 작용제는 GI 관 내 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실(씨. 디피실; *C. difficile*)-연관 질환 또는 다른 항생제-유도 유해 효과의 예방 또는 치료를 포함하는 다수의 요법에서의 용도가 발견된다. 본 발명의 AP-

기반 작용제는 또한 대사 장애, 신경 장애, 셀리악병, 낭포성 섬유증, 방사선 장병증, 패혈증 및 HIV-매개 장내 미생물총 불균형을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 마이크로비옴-연관 장애에 관련된 요법에서 용도가 발견된다.

[0012] 예를 들어, AP-기반 작용제는 환자가 항생제 요법을 받게 하는 한편, 마이크로비옴에 부정적으로 영향을 미치는 과량의 항생제로부터 초래될 수 있는 질환에 대해 보호하는 용도가 발견된다. 이러한 용도는 항생제의 전신 효용을 방해하지 않는다. 오히려, 이론에 얽매이코자 함은 아니지만, AP-기반 작용제는 본 명세서에 기재된 다양한 질환 상태에 관련된 미생물총의 붕괴를 방지한다.

도면의 간단한 설명

- [0013] **도 1**은 본 명세서에 기재된 제형에 존재하는 알칼리성 포스파타제-기반 작용제에 관한 서열을 도시한 도면.
- 도 2**는 IAP-결합제 평가에서 96시간에 걸친 IAP 활성도를 도시한 도면. 히스토그램의 각각의 세트에서, 다양한 시간-지점이 제시되며, 여기서 가장 왼쪽의 막대는 0시간을 나타내고; 중간 막대는 24시간을 나타내고; 가장 오른쪽의 막대는 96시간을 나타낸다.
- 도 3**은 IAP-부형제 평가에서 16일에 걸친 IAP 활성도를 도시한 도면. 히스토그램의 각각의 세트에서, 다양한 시간-지점이 제시되며, 가장 왼쪽의 막대에서부터 가장 오른쪽의 막대까지, 각각의 막대는 0시간, 24시간, 48시간, 6일 및 16일을 나타낸다.
- 도 4**는 하나의 코팅된 펠릿(펠릿 상에 코팅된 30% EUDRAGIT L30 D-55)의 SEM 사진.
- 도 5**는 하나의 코팅된 펠릿(펠릿 상에 코팅된 30% EUDRAGIT L30 D-55)의 단면의 SEM 사진.
- 도 6**은 UV 분석에 의해서 공복 상태 모의 위액(fasted state simulated gastric fluid: FaSSGF)/공복 상태 모의 장액(fasted state simulated intestinal fluid: FaSSIF) 또는 FaSSIF 단독을 함유한 용해 장치에서 코팅된 IAP 펠릿의 2개의 제형으로부터의 방출 백분율을 도시한 도면.
- 도 7**은 효소 검정에 의해서 FaSSGF/FaSSIF 또는 FaSSIF 단독에서 코팅된 펠릿의 활성도 백분율을 도시한 도면.
- 도 8**은 선형 추세선의 식에 기초한 다양한 시간 지점에서 샘플 농도를 계산하기 위해서 생성된 보정 곡선을 도시한 도면. "SYN-020"은 IAP(즉, 서열번호 39)와 동의어이다.
- 도 9**는 1개월 후 코팅된 펠릿 캡슐의 용해 시험을 사용한 안정성 결과를 도시한 도면.
- 도 10**은 코팅된 펠릿이 약 1년 동안 저장되었던 용해 시험의 결과를 도시한 도면.
- 도 11A 내지 도 11H**는 비-GMP SYN-020 5mg 및 15mg 캡슐 투여량의 분석 결과를 도시한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 다양한 양상에서, 본 발명은 알칼리성 포스파타제(AP)-기반 작용제 및/또는 추가 치료제를 포함하는 변형 방출형 제형을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 제형은 GI 관에서 실질적인 양의 AP-기반 작용제를 방출한다. 일 실시형태에서, 제형은 적어도 하나의 코어 입자 및 코어 입자 위로 베이스 코트를 포함하되, 베이스 코트는 AP-기반 작용제를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 제형은 코어 입자 위에 배치된 지연 방출형 코팅과 같은 변형 방출형 코팅을 포함한다. 일부 실시형태에서, 지연 방출형 코팅은 위액에서 실질적으로 안정적이다. 실시형태에서, 지연 방출형 코팅은 EUDRAGIT 화합물을 포함한다.

[0015] 알칼리성-포스파타제-기반 작용제

[0016] 본 발명은 부분적으로 하나 이상의 알칼리성 포스파타제-기반 작용제(AP-기반 작용제)의 약제학적 조성물, 제형 및 용도에 관한 것이다. 본 발명에 사용될 수 있는 예시적인 AP-기반 작용제는 장 알칼리성 포스파타제(IAP; 예를 들어, 인간 IAP, 송아지 IAP 또는 소 IAP, 닭 IAP, 염소 IAP), 소장 알칼리성 포스파타제(bIAP), 제조합 소장 알칼리성 포스파타제(rbIAP), 태반 알칼리성 포스파타제(PLAP), 태반-유사 알칼리성 포스파타제, 생식 세포 알칼리성 포스파타제(GCAP), 조직 비-특이적 알칼리성 포스파타제(TNAP; 이것은 주로 간, 신장 및 뼈에서 발견됨), 뼈 알칼리성 포스파타제, 간 알칼리성 포스파타제, 신장 알칼리 포스파타제, 박테리아 알칼리성 포스파타제, 진균 알칼리성 포스파타제, 새우 알칼리성 포스파타제, 변형된 IAP, 제조합 IAP 또는 알칼리성 포스파타제 활성을 포함하는 임의의 폴리펩타이드를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

- [0017] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 장 알칼리성 포스파타제(IAP), 태반 알칼리성 포스파타제(PLAP), 생식 세포 알칼리성 포스파타제(GCAP), 및 조직 비-특이적 알칼리성 포스파타제(TNAP)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 포유동물 알칼리성 포스파타제의 사용을 고려한다.
- [0018] IAP
- [0019] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 IAP이다. IAP는 근위 소장에서 생성되고, 글리코실 포스파티딜이노시톨(GPI) 고정부를 통해 장세포에 결합된다. 일부 IAP는 세포에 의해 배출된 소포와 함께 장 내강으로 방출되고, 포스포리파제를 통해 세포에서 제거된 용해성 단백질로 방출된다. 그런 다음 효소는 소장 및 대장을 통과하여 일부 활성 효소가 대변에서 검출될 수 있다. 일 실시형태에서, IAP는 인간 IAP(hIAP)이다. 일 실시형태에서, IAP는 소 IAP(bIAP)로도 공지된 송아지 IAP(cIAP)이다. 예를 들어, bIAP의 다수의 아이소자임이 존재하며, bIAP II 및 IV가 bIAP I보다 더 높은 특이적 활성을 갖는다. 실시형태에서, IAP는 cIAP 또는 bIAP 아이소자임(예를 들어, bIAP I, II 및 IV) 중 어느 하나이다. 일 실시형태에서, IAP는 bIAP II이다. 또 다른 실시형태에서, IAP는 bIAP IV이다.
- [0020] IAP 변이체
- [0021] IAP의 정의에는 IAP 변이체가 또한 포함된다. IAP 변이체는 모체 야생형 서열과 비교하여 적어도 하나 이상의 아미노산 변형, 일반적으로 아미노산 치환을 갖는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 IAP는 본 명세서에 개시된 서열 중 어느 하나와 적어도 약 60%(예를 들어 약 60% 또는 약 61% 또는 약 62% 또는 약 63% 또는 약 64% 또는 약 65% 또는 약 66% 또는 약 67% 또는 약 68% 또는 약 69% 또는 약 70% 또는 약 71% 또는 약 72% 또는 약 73% 또는 약 74% 또는 약 75% 또는 약 76% 또는 약 77% 또는 약 78% 또는 약 79% 또는 약 80% 또는 약 81% 또는 약 82% 또는 약 83% 또는 약 84% 또는 약 85% 또는 약 86% 또는 약 87% 또는 약 88% 또는 약 89% 또는 약 90% 또는 약 91% 또는 약 92% 또는 약 93% 또는 약 94% 또는 약 95% 또는 약 96% 또는 약 97% 또는 약 98% 또는 약 99%) 서열 동일성을 갖는 아미노 서열을 포함한다. 또한, IAP 변이체는 본 명세서에 기재된 바와 같이 측정되는 경우, 이의 생화학적 활성 대부분 또는 모두를 보유한다.
- [0022] 포유동물의 알칼리성 포스파타제는 GPI 고정 단백질이다. 이들은 신호 펩타이드를 가지며, 분비 경로로 번역된다. 소포체(ER) 내에서, 단백질은 글리코실화되고, 폴딩된다. 표면에서 겔보기에 접근할 수 없는 단일 유리 시스테인뿐만 아니라 2개의 이황화 결합이 존재한다. 후기 ER에서, 카복시 말단이 제거되고, GPI 고정부가 추가된다. 따라서 GPI 고정은 알칼리성 포스파타제의 카복시 말단에서 발생하는 과정이다. 고정부 부위에 정지 코돈을 포함하면 생물학적으로 활성인 단백질(아마도 동종이량체)의 분비가 가능하다. 공통 서열은 존재하지 않지만, 카복시 말단은 오메가, 오메가 +1 및 오메가 +2라고 하는 3개의 아미노산을 포함하며, 이 뒤에는 친수성 아미노산의 짧은 스트레치, 그 다음 소수성 아미노산의 스트레치가 뒤따른다. 이론에 얽매이지 않음은 아니지만, 소수성은 ER 막에 카복시 말단을 매립하는 데 중요하다고 여겨진다. 여기서, 효소 반응은 카복시 말단을 GPI 고정부로 대체한다.
- [0023] 인간 태반 알칼리성 포스파타제(hPLAP) 내에서, GPI 고정부는 DAAH인 서열 내의 아스파테이트에 부착된다. 유사하게, hIAP, bIAP II 및 bIAP IV가 또한 이러한 DAAH 서열이 보존되어, 잠재적으로 GPI 고정부 부위로서 작용한다. hPLAP를 사용한 돌연변이 연구는, GPI 고정을 방지하여 세포내 체류가 발생한다. 또한, 고정부 부위 주위 또는 소수성 도메인 내의 돌연변이는 1) 고정부 부착을 방지하여 세포내 체류로 이어지거나, 2) 고정부 부착을 차단하지 않는다. 이론에 얽매이지 않음은 아니지만, 소수성 도메인은 GPI 고정부 부착에 대한 신호로 작용하는 것으로 여겨진다. 소수성 도메인의 절두 또는 제거는 분비로 이어진다. 마지막으로, 소수성 도메인 내에 단일 돌연변이가 존재하여, hPLAP 내에서, 소수성 도메인이 손상되지 않은 단백질의 분비를 가능하게 한다.
- [0024] 다른 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 단백질에서 분비되고; 즉, 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 고정된 GPI가 아니며, 세포내 체류가 아닌 분비로 이어진다. 이것은 몇몇 방식으로 달성될 수 있다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 GPI 고정부 부위가 결합될 수 있고, 예를 들어, DAAH 부위가 제거되어, 분비로 이어진다. 대안적으로, 이것이 일부 실시형태에서 달성될 수 있고, AP-기반 작용제는 GPI 고정부 부위 직전에 삽입되는 정지 코돈을 포함한다. 일 실시형태에서, AP-기반 작용제는 DAAH 공통 부위에서(예를 들어, hIAP 및 bIAP IV의 아미노산 503 또는 bIAP II의 아미노산 506에서)에서 아스파테이트 뒤에 정지 코돈을 포함한다. 도 1은 정지 코돈을 갖는 hIAP(서열번호 4), 정지 코돈을 갖는 bIAP II(서열번호 5) 및 정지 코돈을 갖는 bIAP IV(서열번호 6)를 도시한다. 일 실시형태에서, AP-기반 작용제는 bIAP IV이고, 도 1(서열번호 7)에 도시된 바와 같은 분비된 PLAP 작제물을 모방하기 위해서 아미노산 508 뒤에 정지 코돈을 포함한다.

- [0025] 인간 IAP
- [0026] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 hIAP이다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 도 1에 도시된 바와 같은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는 hIAP, 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 변이체이되, 단 hIAP 변이체는 본 명세서에 개략된 바와 같은 검정을 사용하여 야생형 효소와 비교할 때 적어도 80, 85, 90, 95, 98 또는 100%의 포스파타제 활성도를 보유해야 한다.
- [0027] hIAP의 정의에는 본 발명에서 특정 용도가 발견된 아미노산 치환을 갖는 아미노산 변형이 포함된다. 예를 들어, 이론에 얽매이지 않음은 아니지만, AP-기반 작용제의 카복시 말단(예를 들어, 서열번호 1의 500번 위치)에서 시스테인이 단백질 폴딩을 방해할 수 있는 것으로 여겨진다. 따라서, 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 (예를 들어, 서열번호 1의 500번 위치에) 시스테인의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 시스테인은 임의의 아미노산으로 대체되지만, 글리신이 일부 실시형태에서 특정 용도가 발견된다. 추가로, C-말단 시스테인이 또한 결실될 수 있다.
- [0028] 당업자가 인식할 바와 같이, 추가 아미노산 변형이 본 명세서에 논의된 바와 같이 hIAP에서 만들어질 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 정지 코돈이 DAAH 공통 부위에서(예를 들어, hIAP의 아미노산 503에서) 아스파테이트 뒤에 삽입될 수 있다. 도 1은 삽입된 정지 코돈을 갖는 hIAP(서열번호 4)를 도시한다.
- [0029] 소 IAP
- [0030] 일부 실시형태에서, IAP는 소 IAP(bIAP)이다.
- [0031] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 소 IAP II(bIAP II) 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 변이체이되, 단 bIAP 변이체는 본 명세서에 개략된 바와 같은 검정을 사용하여 적어도 80, 85, 90, 95, 98 또는 100%의 포스파타제 활성도를 보유해야 한다. 일 실시형태에서, bIAP II는 bIAP I의 카복시 말단 및 신호 펩타이드를 포함한다. 일 실시형태에서, bIAP II는 248번 위치에 아스파테이트를 포함한다(bIAP IV와 유사). 일 실시형태에서, bIAP II는 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다. 도 1은 248D를 갖는 BIAP II를 도시한다 - 서열번호 2. 신호 펩타이드 및 480 이후의 서열은 bIAP I로부터 유래된다.
- [0032] bIAP II의 정의에는 본 명세서에 기재된 바와 같은 아미노산 변이체가 또한 포함된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 정지 코돈이 DAAH 공통 부위에서(예를 들어, bIAP II의 아미노산 506에서) 아스파테이트 뒤에 삽입될 수 있다. 도 1은 삽입된 정지 코돈을 갖는 bIAP II(서열번호 5)를 도시한다.
- [0033] 다양한 실시형태에서, bIAP II는 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0034] 정지 코돈을 갖고 리더 서열을 갖지 않는 BIAP II(SYN-020)(서열번호 39):
- ```
LIPAEENPAFWNRQAAQALDVAKKLQPIQTAAKNVILFLGDGMGVPTVTATRILKQGMNGKLGPEPLAMDQFP
YVALSKTYNVDRQVPDSAGTATAYLCGVKGNRYRTIGVSAARYNQCNTRGNEVTSVINRAKAGKAVGVVTTT
RVQHASPAGAYAHTVNRNWYSADLPADAQKNGCQDIAAQLVYNMIDVILGGGRMYMFPPEGTPDPEYPDDAS
VNGVRKDKQNLVQEWQAKHQGAQYVWNRALLQAADSSVTHLMGLFEPADMKYNVQQDHTKDPPLAEMTE
AALQVLSRNPGRGFYLFVEGGRIDHGHHDGKAYMALTEIMFDNAIAKANELTSELDLTLVLTADHSHVFSFGGYTL
RGTSIFGLAPGKALDSKSYTSILYGNPGYALGGGSRPDVNGSTSEEPSYRQQAAVPLASETHGGEDVAVFARG
PQAHLVHGVQEETFVAHIMAFAGCVPEYTD CNLPAPATATSIDP
```
- [0035]
- [0036] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 bIAP IV 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 변이체이되, 단 bIAP IV 변이체는 본 명세서에 개략된 바와 같은 검정을 사용하여 적어도 80, 85, 90, 95, 98 또는 100%의 포스파타제 활성도를 보유해야 한다. 일 실시형태에서, bIAP IV는 도 1에 도시된 바와 같은 서열번호 3의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0037] bIAP IV의 정의에는 본 명세서에 기재된 바와 같은 아미노산 변이체가 또한 포함된다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 정지 코돈이 DAAH 공통 부위에서(예를 들어, bIAP IV의 아미노산 503에서) 아스파테이트 뒤에 삽입될 수 있다. 도 1은 삽입된 정지 코돈을 갖는 bIAP IV(서열번호 6)를 도시한다. 일 실시형태에서, AP-기반 작용제는 bIAP IV이고, 도 1(서열번호 7)에 도시된 바와 같은 분비된 PLAP 작제물을 모방하기 위해서 아미노산 508 뒤에 정지 코돈을 포함한다.
- [0038] 박테리아 AP
- [0039] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 박테리아 알칼리성 포스파타제의 사용을 고려한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 바실러스 섭틸리스(*Bacillus subtilis*)로부터 유래된다. 바실러스 섭틸리스는 토양과 인

간의 GI관에서 발견되는 그람-양성 박테리아이다. 바실러스 셉틸리스는 환경과 적절하게 폴딩된 인간의 GI관에 높은 수준의 단백질을 분비한다. 이론에 얽매이지 않음은 아니지만, GI관에서 바실러스 셉틸리스 분비 단백질은 일반적인 GI 프로테아제에 의한 분해에 저항성이 있을 수 있다고 여겨진다. 바실러스 셉틸리스는 높은 수준의 알칼리성 포스파타제 다중유전자(multigene) 패밀리를 발현한다. 이들 아이소자임 중에서, 알칼리성 포스파타제 IV는 비. 셉틸리스에서 전체 알칼리성 포스파타제 발현 및 활성의 대부분을 담당한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 바실러스 리케니포르미스(*Bacillus licheniformis*)로부터 유래된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 에셰리키아 콜라이(*Escherichia coli*)로부터 유래된다.

[0040] 따라서, 예시적인 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 바실러스 셉틸리스의 알칼리성 포스파타제 IV로부터 유래된다. 일 실시형태에서, 박테리아 알칼리성 포스파타제는 도 1에 도시된 바와 같은 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열, 예컨대, 바실러스 셉틸리스 JH642 알칼리성 포스파타제 IV, 성숙 단백질 뉴클레오타이드 서열 - 서열번호 16; 및 바실러스 셉틸리스 JH642 알칼리성 포스파타제 IV, 성숙 단백질 아미노산 서열 - 서열번호 17 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 변이체(hIAP 변이체가 본 명세서에 개략된 바와 같은 검정을 사용하여 적어도 80, 85, 90, 95, 98 또는 100%의 포스파타제 활성도를 보유하는 한)를 가질 수 있다.

[0041] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 촉매 활성도를 변경하는 하나 이상의 돌연변이를 갖는 박테리아 알칼리성 포스파타제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 박테리아 알칼리성 포스파타제는 촉매 활성이 포유동물의 알칼리성 포스파타제와 유사하거나 더 높도록 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서, 박테리아 알칼리성 포스파타제는 탈인산화 프로파일을 변경하는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 박테리아 알칼리성 포스파타제는 포유동물 알칼리성 포스파타제와 유사한 탈인산화 프로파일을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 박테리아 알칼리성 포스파타제는 더 높은 pH에서 활성을 변경하는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 박테리아 알칼리 포스파타제는 더 높은 pH에서 포유동물 알칼리 포스파타제와 유사한 활성을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 박테리아 알칼리성 포스파타제는 금속 요건을 변경하는 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 박테리아 알칼리성 포스파타제는 포유동물 알칼리성 포스파타제와 유사한 금속 요건(예를 들어, Mg)을 나타낸다.

[0042] 예를 들어, 특정 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 바실러스 셉틸리스 JH642 알칼리성 포스파타제 IV로부터 유래되고, 101, 328, A330 및 374번 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 갖는다. 예를 들어, AP-기반 작용제는 D101A, W328H, A330N 및 G374C 돌연변이 중 하나 이상을 포함할 수 있다.

[0043] 융합 단백질

[0044] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 선택적으로 링커를 포함하는, IAP 도메인의 N- 또는 C-말단에 첨가된 단백질 도메인인, "융합 파트너"에 융합된 알칼리성 포스파타제를 포함한다. 일부 실시형태에서, 알칼리성 포스파타제는 단백질 폴딩 및/또는 단백질 정제 및/또는 단백질 이량체화 및/또는 단백질 안정성을 촉진하는 단백질 도메인에 융합된다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제 융합 단백질은 연장된 혈청 반감기를 갖는다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 Fc 융합 단백질이다.

[0045] 일 실시형태에서, 알칼리성 포스파타제는 면역글로불린 Fc 도메인 및/또는 힌지 영역에 융합된다. 일 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 IgG의 힌지 영역 및/또는 Fc 도메인에 융합된 알칼리성 포스파타제를 포함한다.

[0046] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 IgG의 Fc 도메인에 융합된다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 돌연변이가 혈청 반감기 및 수명을 증가시키기 위해서 IgG 기능의 Fc 도메인 내에 존재한다. 일부 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인은 카바트(Kabat)에서와 같은 EU 인덱스에 따라서 넘버링된 아미노산 잔기 251 내지 256, 285 내지 290, 308 내지 314, 385 내지 389 및 428 내지 436에 하나 이상의 돌연변이를 포함한다(문헌[Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Public Health Service, National Institutes of Health, Washington, DC]). 일부 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인의 아미노산 치환 중 적어도 하나는 아미노산 잔기 252, 254, 256, 309, 311, 433 또는 434에 존재한다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 252에서의 아미노산 치환은 티로신, 페닐알라닌, 트립토판 또는 트레오닌으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 254에서의 아미노산 치환은 트레오닌으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 256에서의 아미노산 치환은 세린, 아르기닌, 글루타민, 글루탐산, 아스파르트산 또는 트레오닌으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 309의 아미노산 치환은 프롤린으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 311의 아미노산 치환은 세린으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 385의 아미노산 치환은 아르기닌, 아스파르트산, 세린, 트레오닌, 히스티딘, 리신, 알라닌 또는 글리신으로의 치환이다. 일

실시형태에서, 아미노산 잔기 386에서의 아미노산 치환은 트레오닌, 프롤린, 아스파르트산, 세린, 리신, 아르기닌, 아이소류신 또는 메티오닌으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 387의 아미노산 치환은 아르기닌, 프롤린, 히스티딘, 세린, 트레오닌 또는 알라닌으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 389의 아미노산 치환은 프롤린, 세린 또는 아스파라긴으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 433의 아미노산 치환은 아르기닌, 세린, 아이소류신, 프롤린 또는 글루타민으로의 치환이다. 일 실시형태에서, 아미노산 잔기 434의 아미노산 치환은 히스티딘, 페닐알라닌 또는 티로신으로의 치환이다.

[0047] 일부 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인은 하나 이상의 돌연변이아미노산 잔기 252, 254, 256, 433, 434 또는 436에서 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인은 삼중 M252Y/S254T/T256E 돌연변이 또는 YTE 돌연변이를 포함한다. 또 다른 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인은 삼중 H433K/N434F/Y436H 돌연변이 또는 KFH 돌연변이를 포함한다. 추가 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인은 조합하여 YTE 및 KFH 돌연변이를 포함한다. IgG의 Fc 도메인 내의 추가적인 예시적인 돌연변이는 예를 들어, 전체 내용이 참조에 의해 포함된 문헌[Robbie, et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (2013), 57(12):6147-6153, Dall'Acqua et al., *JBC* (2006), 281(33):23514-24, Dall'Acqua et al., *Journal of Immunology* (2002), 169:5171-80] 및 미국 특허 제7,083,784호에 기재되어 있다. 다양한 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인 내의 하나 이상의 돌연변이는 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 친화도를 증가시킨다. 일부 실시형태에서, IgG의 Fc 도메인 내의 하나 이상의 돌연변이는 약 6.0, 약 6.1, 약 6.2, 약 6.3, 약 6.4 또는 약 6.5의 pH에서 FcRn에 대한 친화도를 증가시킨다.

[0048] 다양한 실시형태에서, 알칼리성 포스파타제는 PEG, XTENylation(예를 들어, rPEG로서), 폴리시알산(POLYXEN), 알부민, 엘라스틴-유사 단백질, 엘라스틴 유사 단백질(ELP), PAS, HAP, GLK, CTP 및 트랜스페린 중 하나 이상에 융합된다. 다양한 실시형태에서, 알칼리성 포스파타제는 전체 내용이 참조에 의해 포함된 문헌[BioDrugs (2015) 29:215-239]에 기재된 작용제 중 하나 이상에 융합된다.

[0049] 링커

[0050] 일 실시형태에서, 알칼리성 포스파타제는 GPI 고정부 부위에 대한 링커를 통해 단백질 도메인(예를 들어, 면역 글로불린 Fc 도메인)에 융합된다. 예를 들어, 알칼리성 포스파타제는 GPI 고정부 서열에서 아스파테이트를 통해 단백질 도메인에 융합될 수 있다. 본 발명은 다양한 링커 서열의 사용을 고려한다. 다양한 실시형태에서, 링커는 예를 들어, 전체 내용이 참조에 의해 포함된 문헌[Chichili et al., (2013), *Protein Sci.* 22(2):153-167, Chen et al., (2013), *Adv Drug Deliv Rev.* 65(10):1357-1369]에 기재된 바와 같은 자연 발생 멀티-도메인 단백질로부터 유래되거나 또는 경험적 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커는 링커 설계 데이터 베이스 및 컴퓨터 프로그램, 예컨대, 전체 내용이 참조에 의해 포함된 문헌[Chen et al., (2013), *Adv Drug Deliv Rev.* 65(10):1357-1369 및 Crasto et al., (2000), *Protein Eng.* 13(5):309-312]에 기재된 것을 사용하여 설계될 수 있다. 다양한 실시형태에서, 링커는 작용성일 수 있다. 예를 들어, 비제한적으로, 링커는 본 발명의 AP-기반 작용제의 폴딩 및/또는 안정성을 개선시키고/시키거나 발현을 개선시키고/시키거나 약동학을 개선시키고/시키거나 생물활성을 개선시키는 기능을 할 수 있다. 또 다른 예에서, 링커는 AP-기반 작용제를 특정 세포 유형 또는 위치에 표적화하는 기능을 할 수 있다.

[0051] 일부 실시형태에서, 링커는 폴리펩타이드이다. 일부 실시형태에서, 링커는 약 100개 미만의 아미노산 길이이다. 예를 들어, 링커는 약 100, 약 95, 약 90, 약 85, 약 80, 약 75, 약 70, 약 65, 약 60, 약 55, 약 50, 약 45, 약 40, 약 35, 약 30, 약 25, 약 20, 약 19, 약 18, 약 17, 약 16, 약 15, 약 14, 약 13, 약 12, 약 11, 약 10, 약 9, 약 8, 약 7, 약 6, 약 5, 약 4, 약 3 또는 약 2개 미만의 아미노산 길이일 수 있다. 일부 실시형태에서, 링커는 유연성이다. 또 다른 실시형태에서, 링커는 강성이다.

[0052] 다양한 실시형태에서, 링커는 실질적으로 글리신 및 세린 잔기(예를 들어 약 30% 또는 약 40% 또는 약 50% 또는 약 60% 또는 약 70% 또는 약 80% 또는 약 90% 또는 약 95% 또는 약 97%의 글리신 및 세린)를 포함한다. 일 실시형태에서, 링커 서열은 GGSGSGGGSGGGGS(서열번호 18)이다. 추가의 예시적인 링커는 서열 LE, GGGGS(서열번호 19), (GGGS)n(n=2 내지 4)(서열번호 20 내지 22), (Gly)8(서열번호 23), (Gly)6(서열번호 24), (EAAAK)n(n=1 내지 3)(서열번호 25 내지 27), A(EAAAK)nA(n=2 내지 5)(서열번호 28 내지 31), AEAAKEAAKA 서열번호 32), A(EAAAK)4ALEA(EAAAK)4A(서열번호 33), PAPAP(서열번호 34), KESGSVSSEQLAQRSLD(서열번호 35), EGKSSGSGSESKST(서열번호 36), GSAGSAAGSGEF(서열번호 37) 및 (XP)n(X는 임의의 아미노산, 예를 들어, Ala, Lys 또는 Glu를 지정함)을 갖는 링커를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 링커는 항체(예를 들어, IgG, IgA, IgD 및 IgE(서브클래스(예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 및 IgA1 및 IgA2) 포함))의 힌지 영역이다. 일부 실시형태에서, 링커는 합성 링커, 예컨대, PEG이다.

- [0053] 본 발명의 예시적인 Fc 융합 작제물은 Fc 융합부를 갖는 BIAP II(서열번호 8)(Fc 도메인은 밑줄로 표시); 및 Fc 융합부를 갖는 BIAP IV(서열번호 9) (Fc 도메인은 밑줄로 표시)를 포함하는, 도 1에 도시된 것을 포함한다.
- [0054] 전구효소 융합
- [0055] 본 발명은 전구효소 기능을 위해 C-말단 융합부를 추가로 제공한다. 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 포유동물 알칼리성 포스파타제는 또한 불활성 전구효소로서 생성될 수 있는 것으로 여겨진다. 이는 알칼리성 포스파타제가 ATP를 탈인산화시켜, ER에서의 활성이 주요 에너지원의 ER을 배출시킬 수 있기 때문이다. 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 저해 기능은 GPI 고정부 첨가 시 완화된 카복시 말단에 위치한다고 여겨진다. 대안적으로 폴딩 또는 금속(Zn 또는 Mg) 포함과 같은 다른 활성이 활성을 제어할 수 있다.
- [0056] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 전구효소이다. 일 실시형태에서, 전구효소의 활성은 카복시 말단에 의해 억제된다. 일 실시형태에서, 카복시 말단의 프로테아제 제거는 알칼리성 포스파타제의 효소 활성을 재활성화한다. 일 실시형태에서, 전구효소는 카복시 말단이 없는 효소보다 더 효율적으로 분비된다.
- [0057] 사카로마이세스 알칼리성 포스파타제인 Pho8은 불활성 전구효소로서 생성된다. 이것은 GPI 고정되어 있지 않지만, 아미노 말단이 리소좀에서 세포질로 연장되어 있는 막관통 단백질이다. 리소좀 내에서, 효소 PEP4는 카복시 말단을 절단하여 효소를 활성화한다.
- [0058] 일부 실시형태에서, 전구효소의 생성을 위해서, 알칼리성 포스파타제의 천연 카복시 말단은 hPLAP로부터의 유사한 서열로 대체된다. 일부 실시형태에서, 카복시 말단의 절단 없이 단백질 분비를 촉진하기 위해 소수성 카복시 테일에 돌연변이가 만들어진다. 예시적인 실시형태에서, 단일 점 돌연변이, 예컨대, 류신의 예를 들어, 아르기닌으로의 치환이 소수성 카복시 말단에서 생성되어 (예를 들어, ALLPLLAGTL이 예를 들어, ALLPLRAGTL로 변환됨) 카복시 말단의 제거 없이 효소의 분비를 초래한다.
- [0059] 일 실시형태에서, AP-기반 작용제는 카복시 말단의 후속 제거를 허용하는 특정 효소 절단 부위를 포함하도록 변경된다. 일 실시형태에서, AP-기반 작용제는 프로테아제 절단 부위를 포함한다. 예시적인 프로테아제 절단 부위는 푸린, 리노바이러스 16 3C 프로테아제, 인자 Xa 프로테아제, 트립신, 키모트립신, 엘라스타제, 펩신, 파파인 셉틸리신, 써모리신, V-8 프로테아제, 서브막실라리스 프로테아제, 클로스트리파인, 트롬빈, 콜라게나제 및 임의의 다른 엔도프로테아제를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 대안적인 실시형태에서, AP-기반 작용제는 GI 관에 존재하는 소화 효소에 의해 인식되는 절단 부위를 포함한다. 이러한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 GI 관에서 후속적으로 활성화되는 전구약물로서 투여될 수 있다.
- [0060] 예시적인 실시형태에서, 전구효소는 도 1에 도시된 서열을 갖는 bIAP IV, 예컨대, hPLAP 카복시 말단 및 (...LEVLFQGP...에) 미가공 분비 RV3C 절단을 위한 돌연변이를 갖는 BIAP IV(서열번호 10); 및 hPLAP 카복시 말단 및 (...IEGR...에) 미가공 분비 및 FXa 절단을 위한 돌연변이를 갖는 BIAP IV(서열번호 11)의 전구효소이다.
- [0061] 발현 변이체
- [0062] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 숙주 세포로부터 효율적으로 발현 및 분비된다. 일 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 숙주 세포에서 효율적으로 전사된다. 또 다른 실시형태에서, AP-기반 작용제는 숙주 세포에서 향상된 RNA 안정성 및/또는 수송을 나타낸다. 또 다른 실시형태에서, AP-기반 작용제는 숙주 세포로 효율적으로 번역된다. 또 다른 실시형태에서, AP-기반 작용제는 향상된 단백질 안정성을 나타낸다.
- [0063] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 숙주 세포에서 효율적으로 발현된다. 일 실시형태에서, AP-기반 작용제를 암호화하는 DNA 작제물의 Kozak 서열이 최적화된다. Kozak 서열은 리보솜이 번역을 시작하도록 지시하는 ATG 시작 코돈에 축적한 뉴클레오타이드 서열이다. Kozak 서열의 설계에는 유연성이 있지만, 하나의 정규(canonical) 서열은 GCCGCCACCATGG(서열번호 38)이다. -3번 위치의 푸린 및 +4번 위치의 G는 번역 개시에 대한 가장 중요한 염기이다. hIAP, bIAP II 및 bIAP IV의 경우, 제2 아미노산, 즉, 개시제 메티오닌 다음의 아미노산은 글루타민이다. 글루타민에 대한 코돈은 모두 첫 번째 위치에 C를 갖는다. 따라서, 그들의 Kozak 서열은 모두 ATGC 서열을 갖는다. 따라서, 다양한 실시형태에서 ATGC 서열이 ATGG로 변경된다. 이것은 두 번째 아미노산을 글리신, 알라닌, 발린, 아스파테이트 또는 글루탐산으로 변경함으로써 달성할 수 있으며, 이들 모두의 코돈은 첫 번째 위치에 G를 갖는다. 이러한 아미노산은 신호 펩타이드 기능과 호환될 수 있다. 대안적인 실시형태에서, 전체 신호 펩타이드가 정규 Kozak 서열을 갖는 펩타이드로 치환되고, 면역글로불린과 같은 고도로 발현되는 단백질로부터 유래된다.

- [0064] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제의 신호 펩타이드는 결실 및/또는 치환될 수 있다. 예를 들어, 신호 펩타이드는 단백질 발현을 보장하기 위해 결실, 돌연변이 및/또는 (예를 들어, 다른 신호 펩타이드로) 치환될 수 있다.
- [0065] 일부 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제를 암호화하는 DNA 작제물은 미번역 DNA 서열을 포함한다. 이러한 서열은 IAP 단백질에 대해 이중성일 수 있거나 천연 제1 및/또는 제2 인트론 및/또는 천연 3'UTR을 포함하는 IAP 단백질에 천연일 수 있는 인트론을 포함한다. 이론에 얽매이지 않음은 아니지만, 이들 서열의 포함은 mRNA를 안정화시킴으로써 단백질 발현을 향상시키는 것으로 여겨진다. 따라서, 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제를 암호화하는 DNA 작제물은 5'UTR 및/또는 3'UTR을 포함한다. 도 1에는 제1 인트론 및 3'UTR을 갖는 예시적인 IAP DNA 서열, 예컨대, 천연 제1 인트론(볼드체와 밑줄로 나타냄)을 갖는 hIAP - 서열번호 12; 천연 3' UTR(볼드체와 밑줄로 나타냄)을 갖는 hIAP - 서열번호 13; bIAP I로부터의 제1 인트론(볼드체와 밑줄로 나타냄)을 갖는 bIAP IV - 서열번호 14; 및 bIAP I로부터의 3' UTR(볼드체와 밑줄로 나타냄)을 갖는 bIAP IV - 서열번호 15가 제공된다.
- [0066] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 본 명세서에 개시된 서열 중 어느 하나와 적어도 약 60%(예를 들어 약 60% 또는 약 61% 또는 약 62% 또는 약 63% 또는 약 64% 또는 약 65% 또는 약 66% 또는 약 67% 또는 약 68% 또는 약 69% 또는 약 70% 또는 약 71% 또는 약 72% 또는 약 73% 또는 약 74% 또는 약 75% 또는 약 76% 또는 약 77% 또는 약 78% 또는 약 79% 또는 약 80% 또는 약 81% 또는 약 82% 또는 약 83% 또는 약 84% 또는 약 85% 또는 약 86% 또는 약 87% 또는 약 88% 또는 약 89% 또는 약 90% 또는 약 91% 또는 약 92% 또는 약 93% 또는 약 94% 또는 약 95% 또는 약 96% 또는 약 97% 또는 약 98% 또는 약 99%) 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다.
- [0067] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 본 명세서에 기재된 단백질 서열 중 어느 하나에 비해서 하나 이상의 아미노산 돌연변이를 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 돌연변이는 치환, 삽입, 결실 및 절두로부터 독립적으로 선택될 수 있다.
- [0068] 다양한 실시형태에서, 치환은 또한 비-분류 아미노산(예를 들어, 셀레노시스테인, 파이로리신, N-폼일메티오닌, β-알라닌, GABA 및 δ-아미노레불린산, 4-아미노벤조산(PABA), 통상적인 아미노산의 D-이성질체, 2,4-다이아미노부티르산, α-아미노 아이소부티르산, 4-아미노부티르산, Abu, 2-아미노 부티르산, γ-Abu, ε-Ahx, 6-아미노헥산산, Aib, 2-아미노 아이소부티르산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르류신, 노르발린, 하이드록시프롤린, 사르코스메, 시트룰린, 호모시트룰린, 시스테산, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, β-알라닌, 플루오로-아미노산, 디자이너 아미노산, 예컨대, β 메틸 아미노산, C α -메틸 아미노산, N α -메틸 아미노산, 및 일반적으로 아미노산 유사체)을 포함할 수 있다.
- [0069] 목적하는 특성을 갖는 작용제를 선택하기 위해 본 발명의 AP-기반 작용제에 돌연변이가 만들어질 수 있다. 예를 들어, 돌연변이는 향상된 촉매 활성 또는 단백질 안정성을 갖는 AP-기반 작용제를 생성하도록 만들어질 수 있다. 다양한 실시형태에서, 유도 진화가 본 발명의 AP-기반 작용제를 생성하기 위해 이용될 수 있다. 예를 들어, 실수 유발(error-prone) PCR 및 DNA 서플링을 사용하여 향상된 활성을 부여하는 박테리아 알칼리성 포스포타제의 돌연변이를 식별할 수 있다.
- [0070] 변형 방출형 제형 및 투여 형태
- [0071] AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 변형 방출형 제형은 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 당업자는 본 제형이 목적으로 하는 용도 및 투여 경로에 적절한 임의의 적합한 형태일 수 있다는 것을 인식할 것이다.
- [0072] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 코어 입자, 코어 입자 위의 베이스 코트를 포함하고, 여기서 베이스 코트는 AP-기반 작용제를 포함한다. 추가 실시형태에서, 코어 입자는 수크로스를 포함한다. 일부 실시형태에서, 베이스 코트의 AP-기반 작용제는 코어 입자 내에 캡슐화되고, 복수의 코어 입자를 포함할 수 있다.
- [0073] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 복수의 장용 코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 이러한 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체), AP-기반 작용제, 예를 들어, IAP 또는 변이체가 상부에 분사된 수크로스 구체, 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)), 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55), 코팅 효율을 개선시키고 가공 시간을 단축시키는 첨가제인 HTP-20(예를 들어, PLASACRYL HTP 20) 및 완충제염(예를 들어, Tris 염기, 염화마그네슘, 황산마그네슘, 염

화아연 또는 황산아연)을 포함한다.

- [0074] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 위액 및/또는 장액에서 안정적이고, 장내 세균총에 존재하는 미생물 효소에 의해서 분해되는 변형 방출형 코팅을 포함한다. 추가 실시형태에서, 변형 방출형 코팅 용해도는 pH-의존적이다. 추가 실시형태에서, 변형 방출형 코팅은 시간-의존적 침식 프로파일을 갖는다.
- [0075] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하고, 각각의 변형 방출형 펠릿은 약 1 내지 10중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 포함한다. 예를 들어, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)는 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9% 또는 약 10중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 75 내지 95중량%의 수크로스 구체를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 75%, 약 76%, 약 77%, 약 78%, 약 79%, 약 80%, 약 81%, 약 82%, 약 83%, 약 84%, 약 85%, 약 86%, 약 87%, 약 88%, 약 89%, 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94% 또는 약 95중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 5 내지 15중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)를 포함한다. 예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스는 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14% 또는 약 15중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.5 내지 2중량%의 완충제염을 포함한다. 완충제염은 Tris 염기, 염화마그네슘 및 황산아연으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 완충제염은 약 0.5%, 약 0.6%, 약 0.7%, 약 0.8%, 약 0.9%, 약 1.0%, 약 1.1%, 약 1.2%, 약 1.3%, 약 1.4%, 약 1.5%, 약 1.6%, 약 1.7%, 약 1.8%, 약 1.9% 또는 약 2.0중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 20 내지 40%, 약 25 내지 40%, 약 25 내지 35%, 약 30 내지 40% 또는 약 35 내지 40%의 장용 중합체 중량 증가를 포함하는 단일층 장용 코팅을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 20 내지 40%, 약 25 내지 40%, 약 25 내지 35%, 약 30 내지 40% 또는 약 35 내지 40%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55) 중량 증가 및 약 5 내지 15%, 약 5 내지 10%, 약 7 내지 15%, 약 7 내지 10%, 약 10 내지 15%, 약 6 내지 9% 또는 약 7 내지 8%의 하이드록시프로필셀룰로스 중량 증가를 포함하는 이중층 장용 코팅을 포함한다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 중량은 모든 성분의 총 중량을 지칭한다.
- [0076] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하고, 각각의 변형 방출형 펠릿은 약 5중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 85중량%의 수크로스 구체; 약 9중량%의 하이드록시프로필셀룰로스; 및 약 1중량%의 완충제염을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 20 내지 40%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55) 중량 증가를 포함하는 단일층 장용 코팅 또는 약 30%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55) 중량 증가 및 약 7%의 하이드록시프로필셀룰로스 중량 증가를 포함하는 이중층 장용 코팅을 포함한다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 중량은 모든 성분의 총 중량을 지칭한다.
- [0077] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하고, 각각의 변형 방출형 펠릿은 약 4.7중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 84.9중량%의 수크로스 구체; 약 9.3중량%의 하이드록시프로필셀룰로스; 및 약 1.2중량%의 완충제염을 포함한다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 20 내지 40%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L 30 D-55) 중량 증가를 포함하는 단일층 장용 코팅 또는 약 30%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L 30 D-55) 중량 증가 및 약 7%의 하이드록시프로필셀룰로스 중량 증가를 포함하는 이중층 장용 코팅을 포함한다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 중량은 모든 성분의 총 중량을 지칭한다.
- [0078] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 25mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하고, 각각의 변형 방출형 펠릿은 약 1 내지 15중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 포함한다. 예를 들어, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)는 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 12%, 약 13%, 약 14% 또는 약 15중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 30 내지 55중량%의 수크로스 구체를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34%, 약 35%, 약 36%, 약 37%, 약 38%, 약 39%, 약 40%, 약 41%, 약 42%, 약 43%, 약 44%, 약 45%, 약 46%, 약 47%, 약 48%, 약 49%, 약 50%, 약 51%, 약 52%, 약 53%, 약 54% 또는 약 55중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 5 내지 25중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)를 포함한다. 예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스는 약 5%, 약 6%,

약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19%, 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24% 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 20 내지 35중량%의 EUDRAGIT L30 D-55를 포함한다. 예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55는 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24%, 약 25%, 약 26%, 약 27%, 약 28%, 약 29%, 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34% 또는 약 35중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.5 내지 11중량%의 HTP-20을 포함한다. 예를 들어, HTP-20은 약 0.5%, 약 1.0%, 약 1.5%, 약 2.0%, 약 2.5%, 약 3.0%, 약 3.5%, 약 4.0%, 약 4.5%, 약 5.0%, 약 5.5%, 약 6.0%, 약 6.5%, 약 7.0%, 약 7.5%, 약 8.0%, 약 8.5%, 약 9.0%, 약 9.5%, 약 10.0%, 약 10.5% 또는 약 11.0중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.5 내지 2.5중량%의 완충제염을 포함한다. 완충제염은 Tris 염기, 염화마그네슘, 황산마그네슘, 염화아연 및 황산아연으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 완충제염은 약 0.5%, 약 0.6%, 약 0.7%, 약 0.8%, 약 0.9%, 약 1.0%, 약 1.1%, 약 1.2%, 약 1.3%, 약 1.4%, 약 1.5%, 1.6%, 약 1.7%, 약 1.8%, 약 1.9%, 약 2.0%, 약 2.1%, 약 2.2%, 약 2.3%, 약 2.4% 또는 약 2.5중량%로 존재할 수 있다.

[0079] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 25mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 10중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 38중량%의 수크로스 구체; 약 19중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 2중량%의 완충제염; 및 약 26중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55)를 포함한다.

[0080] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 25mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 9.7중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 37.7중량%의 수크로스 구체; 약 19.4중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 2.4중량%의 완충제염; 및 약 26.3중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L 30 D-55)를 포함한다.

[0081] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 5mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하고, 각각의 변형 방출형 펠릿은 약 1 내지 15중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 포함한다. 예를 들어, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)는 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 12%, 약 13%, 약 14% 또는 약 15중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 30 내지 55중량%의 수크로스 구체를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34%, 약 35%, 약 36%, 약 37%, 약 38%, 약 39%, 40%, 약 41%, 약 42%, 약 43%, 약 44%, 약 45%, 약 46%, 약 47%, 약 48%, 약 49%, 약 50%, 약 51%, 약 52%, 약 53%, 약 54% 또는 약 55중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 5 내지 25중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)를 포함한다. 예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스는 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19%, 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24% 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 20 내지 35중량%의 EUDRAGIT L30 D-55를 포함한다. 예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55는 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24%, 약 25%, 약 26%, 약 27%, 약 28%, 약 29%, 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34% 또는 약 35중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.5 내지 11중량%의 HTP-20을 포함한다. 예를 들어, HTP-20은 약 0.5%, 약 1.0%, 약 1.5%, 약 2.0%, 약 2.5%, 약 3.0%, 약 3.5%, 약 4.0%, 약 4.5%, 약 5.0%, 약 5.5%, 약 6.0%, 약 6.5%, 약 7.0%, 약 7.5%, 약 8.0%, 약 8.5%, 약 9.0%, 약 9.5%, 약 10.0%, 약 10.5% 또는 약 11.0중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.5 내지 2.5중량%의 완충제염을 포함한다. 완충제염은 Tris 염기, 염화마그네슘, 황산마그네슘, 염화아연 및 황산아연으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 완충제염은 약 0.5%, 약 0.6%, 약 0.7%, 약 0.8%, 약 0.9%, 약 1.0%, 약 1.1%, 약 1.2%, 약 1.3%, 약 1.4%, 약 1.5%, 1.6%, 약 1.7%, 약 1.8%, 약 1.9%, 약 2.0%, 약 2.1%, 약 2.2%, 약 2.3%, 약 2.4% 또는 약 2.5중량%로 존재할 수 있다.

[0082] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 5mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다

른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 9.7중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 37.7중량%의 수크로스 구체; 약 19.4중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 2.4중량%의 완충제염; 및 약 26.3중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L 30 D-55)를 포함한다.

[0083] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 5mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 9.7중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 37.7중량%의 수크로스 구체; 약 19.4중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 2.4중량%의 완충제염; 및 약 26.3중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L 30 D-55)를 포함한다.

[0084] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 15mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하고, 각각의 변형 방출형 펠릿은 약 1 내지 15중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 포함한다. 예를 들어, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)는 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 12%, 약 13%, 약 14% 또는 약 15중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 30 내지 55중량%의 수크로스 구체를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34%, 약 35%, 약 36%, 약 37%, 약 38%, 약 39%, 약 40%, 약 41%, 약 42%, 약 43%, 약 44%, 약 45%, 약 46%, 약 47%, 약 48%, 약 49%, 약 50%, 약 51%, 약 52%, 약 53%, 약 54% 또는 약 55중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 5 내지 25중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)를 포함한다. 예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스는 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19%, 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24% 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 20 내지 35중량%의 EUDRAGIT L30 D-55를 포함한다. 예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55는 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24%, 약 25%, 약 26%, 약 27%, 약 28%, 약 29%, 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34% 또는 약 35중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.5 내지 11중량%의 HTP-20을 포함한다. 예를 들어, HTP-20은 약 0.5%, 약 1.0%, 약 1.5%, 약 2.0%, 약 2.5%, 약 3.0%, 약 3.5%, 약 4.0%, 약 4.5%, 약 5.0%, 약 5.5%, 약 6.0%, 약 6.5%, 약 7.0%, 약 7.5%, 약 8.0%, 약 8.5%, 약 9.0%, 약 9.5%, 약 10.0%, 약 10.5% 또는 약 11.0중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.1 내지 2.5중량%의 완충제염을 포함한다. 완충제염은 Tris 염기, 염화마그네슘, 황산마그네슘, 염화아연 및 황산아연으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 완충제염은 약 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 약 0.6%, 약 0.7%, 약 0.8%, 약 0.9%, 약 1.0%, 약 1.1%, 약 1.2%, 약 1.3%, 약 1.4%, 약 1.5%, 1.6%, 약 1.7%, 약 1.8%, 약 1.9%, 약 2.0%, 약 2.1%, 약 2.2%, 약 2.3%, 약 2.4% 또는 약 2.5중량%로 존재할 수 있다.

[0085] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 15mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 10중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 39중량%의 수크로스 구체; 약 20중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 0.5중량%의 완충제염; 및 약 26중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55)를 포함한다.

[0086] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 15mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 10.0중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 38.9중량%의 수크로스 구체; 약 20.0중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 0.3중량%의 완충제염; 및 약 26.3중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L 30 D-55)를 포함한다.

[0087] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 5mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다

른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 적어도 하나의 변형 방출형 펠릿을 포함하고, 각각의 변형 방출형 펠릿은 약 1 내지 15중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 포함한다. 예를 들어, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)는 약 1%, 약 2%, 약 3%, 약 4%, 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 12%, 약 13%, 약 14% 또는 약 15중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 30 내지 55중량%의 수크로스 구체를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34%, 약 35%, 약 36%, 약 37%, 약 38%, 약 39%, 40%, 약 41%, 약 42%, 약 43%, 약 44%, 약 45%, 약 46%, 약 47%, 약 48%, 약 49%, 약 50%, 약 51%, 약 52%, 약 53%, 약 54% 또는 약 55중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 5 내지 25중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)를 포함한다. 예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스는 약 5%, 약 6%, 약 7%, 약 8%, 약 9%, 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19%, 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24% 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 20 내지 35중량%의 EUDRAGIT L30 D-55를 포함한다. 예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55는 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24%, 약 25%, 약 26%, 약 27%, 약 28%, 약 29%, 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34% 또는 약 35중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.5 내지 11중량%의 HTP-20을 포함한다. 예를 들어, HTP-20은 약 0.5%, 약 1.0%, 약 1.5%, 약 2.0%, 약 2.5%, 약 3.0%, 약 3.5%, 약 4.0%, 약 4.5%, 약 5.0%, 약 5.5%, 약 6.0%, 약 6.5%, 약 7.0%, 약 7.5%, 약 8.0%, 약 8.5%, 약 9.0%, 약 9.5%, 약 10.0%, 약 10.5% 또는 약 11.0중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠릿(또는 각각의 개별 펠릿)은 약 0.1 내지 2.5중량%의 완충제염을 포함한다. 완충제염은 Tris 염기, 염화마그네슘, 황산마그네슘, 염화아연 및 황산아연으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 완충제염은 약 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 약 0.6%, 약 0.7%, 약 0.8%, 약 0.9%, 약 1.0%, 약 1.1%, 약 1.2%, 약 1.3%, 약 1.4%, 약 1.5%, 1.6%, 약 1.7%, 약 1.8%, 약 1.9%, 약 2.0%, 약 2.1%, 약 2.2%, 약 2.3%, 약 2.4% 또는 약 2.5 중량%로 존재할 수 있다.

[0088] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 5mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 10중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 39중량%의 수크로스 구체; 약 20중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 0.5중량%의 완충제염; 및 약 26중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55)를 포함한다.

[0089] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 5mg의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 포함하는 캡슐 (예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 AP-기반 작용제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 10.0중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체); 약 38.9중량%의 수크로스 구체; 약 20.0중량%의 하이드록시프로필셀룰로스(HPC); 약 0.3중량%의 완충제염; 및 약 26.3중량%의 장용 중합체(예를 들어, EUDRAGIT L 30 D-55)를 포함한다.

[0090] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 변형 방출형 제형의 투여는 경구, 정맥내 및 비경구 중 임의의 하나이다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 작용제)를 포함하는 변형 방출형 제형의 투여는, 예를 들어, 전신으로 투여된 항생제에 의한 개입을 방지하기 위해 정맥내가 아니다. 다른 실시형태에서, 투여 경로, 예를 들어: 경구, 진피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외, 설하, 대뇌내, 질내, 경피, 직장내, 흡입에 의해 또는 국소로, 특히 귀, 코, 눈 또는 피부를 포함한다.

[0091] 일부 실시형태에서, 본 발명의 임의의 제형은 약 0.8mm 내지 약 2.0mm, 약 0.9mm 내지 약 1.9mm, 약 1mm 내지 약 1.8mm, 약 1.1mm 내지 약 1.7mm, 약 1.2mm 내지 약 1.6mm, 약 1.3mm 내지 약 1.5mm, 약 1mm 내지 약 1.3mm, 약 1mm 내지 약 1.4mm, 약 1mm 내지 약 1.5mm, 약 1mm 내지 약 1.6mm, 약 1mm 내지 약 1.7mm, 약 1mm 내지 약 1.9mm 약 1mm 내지 약 2.0mm 직경의 크기를 갖는 코어 입자를 포함한다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 0.8mm, 약 0.9mm, 약 1mm, 약 1.1mm, 약 1.2mm, 약 1.3mm, 약 1.4mm, 약 1.5mm, 약 1.6mm, 약 1.7mm, 약 1.8mm, 약 1.9mm 또는 약 2.0mm 직경의 크기를 갖는 코어 입자를 포함한다.

[0092] 본 명세서에 기재된 바와 같은 AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 임의의 변형 방출형 제형

은 보조 인자(cofactor)(예를 들어, CaCl<sub>2</sub> 또는 CoCl<sub>2</sub>)를 함유하지 않을 수 있다.

- [0093] 본 명세서에 기재한 바와 같은 AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 변형 방출형 제형은 경구로 투여될 수 있다. 이러한 본 발명의 제형은 또한 임의의 다른 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 정맥내 주입 또는 볼러스 주사에 의해, 상피 또는 점막 내벽(예를 들어, 경구 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 추가적인 치료제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국소일 수 있다.
- [0094] 경구 사용을 위한 적합한 투여 형태는, 예를 들어, 고체 투여 형태, 예컨대 정제, 분산성 분말, 과립 및 캡슐을 포함한다. 일 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 캡슐 형태이다. 다른 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 정제 형태이다. 또 다른 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 연질-젤 캡슐의 형태이다. 추가 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐의 형태이다.
- [0095] 일부 투여 형태에서, 본 명세서에 기재된 작용제는 적어도 하나의 비활성, 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체, 예컨대, 시트르산나트륨, 인산이칼슘 등, 및/또는 a) 충전제 또는 증량제, 예컨대, 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨, 규산, 미정질 셀룰로스, 및 베이커스 스페셜 당(Bakers Special Sugar) 등, b) 결합제, 예컨대, 카복시메틸셀룰로스, 알긴산염, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스, 아카시아, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스(HPC), 및 하이드록시메틸 셀룰로스 등, c) 습윤제, 예컨대, 글리세롤 등, d) 붕해제, 예컨대, 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염, 탄산나트륨, 가교 중합체, 예컨대, 크로스포비돈(가교된 폴리비닐피롤리돈), 크로스카멜로스 나트륨(가교된 카복시메틸셀룰로스나트륨), 글리콜산나트륨 전분 등, e) 용액 완염제, 예컨대, 파라핀 등, f) 흡수 촉진제, 예컨대, 4차 암모늄 화합물 등, g) 습윤제, 예를 들어, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트 등, h) 흡수제, 예컨대, 카올린 및 벤토나이트 점토 등, i) 윤활제, 예컨대, 텔크, 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 라우릴황산나트륨, 글리세릴베헤네이트 등, j) 향산화제, 및 이러한 부형제의 혼합물과 혼합된다. 당업자는 특정 부형제가 경구 투여 형태에서 2가지 이상의 기능을 가질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 경구 투여 형태의 경우에, 예를 들어, 캡슐 또는 정제, 투여 형태는 또한 완충제를 포함할 수 있다.
- [0096] 변형 방출형 제형은 추가적으로 표면 활성제를 포함할 수 있다. 본 발명에서 사용하는 데 적합한 표면 활성제는 임의의 약제학적으로 허용 가능한, 비독성 계면활성제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명의 조성물에서 적합한 계면활성제의 부류는 폴리에톡실화 지방산, PEG-지방산 다이에스터, PEG-지방산 모노- 및 다이-에스터 혼합물, 폴리에틸렌 글리콜 글리세롤 지방산 에스터, 알코올-오일 에스터 교환 생성물, 폴리글리세르화 지방산, 프로필렌 글리콜 지방산 에스터, 프로필렌 글리콜 에스터-글리세롤 에스터, 모노- 및 다이글리세라이드의 혼합물, 스테롤 및 스테롤 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 솔비탄 지방산 에스터, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에터, 당 에스터, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페놀, 폴리옥시에틸렌-오일옥시프로필렌 블록 공중합체, 솔비탄 지방산 에스터, 저급 알코올 지방산 에스터, 이온성 계면활성제, 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 라우릴황산나트륨, 폴리솔베이트 20, 폴리솔베이트 40, 폴리솔베이트 60, 폴리솔베이트 80 및 트라이에틸시트레이트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 1종 이상의 계면활성제를 포함할 수 있다.
- [0097] 변형 방출형 제형은 또한 목적으로 하는 기계적 특성, 예컨대 가요성 및 경도를 얻기 위해 약제학적으로 허용 가능한 가소제를 함유할 수 있다. 이러한 가소제는 트리아세틴, 시트르산 에스터, 트라이에틸시트레이트, 프탈산 에스터, 다이부틸 세바케이트, 세틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리솔베이트 또는 다른 가소제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0098] 변형 방출형 제형은 또한 1종 이상의 적용 용매를 포함할 수 있다. 예를 들어, 지연-방출 코팅 조성물을 적용하기 위해 사용될 수 있는 일부 더 통상적인 용매는 아이소프로필 알코올, 아세톤, 염화메틸렌 등을 포함한다.
- [0099] 변형 방출형 제형은 또한 1종 이상의 알칼리성 물질을 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물에서 사용하기에 적합한 알칼리성 물질은 인산, 탄산, 시트르산과 같은 산의 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 알루미늄염 및 기타 알루미늄/마그네슘 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가로, 알칼리성 물질은 제산제 물질, 예컨대, 수산화알루미늄, 수산화칼슘, 수산화마그네슘 및 산화마그네슘으로부터 선택될 수 있다.
- [0100] 고체 경구 투여 형태는, 예를 들어 1종 이상의 적합한 부형제와 함께 본 발명의 작용제의 과립(예를 들어, 습식 또는 건식 과립)에 의해 제조될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 작용제는 통상적인 방법, 예컨대 유동층 또는 팬 코팅을 이용하여 비활성 코어(예를 들어, 네파레일(nonpareil)/당 구체, 예컨대 수크로스 구체 또는 실리카 구체) 상에 적층될 수 있거나, 또는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 활성 화합물-함유 펠릿으로 성형되고 과

립화될 수 있다. 실시형태에서, AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)는 수크로스 구체 상에 분무 코팅된다. 이어서, 이러한 펠릿은 통상적인 방법을 이용하여 정제 또는 캡슐에 혼입될 수 있다.

- [0101] 활성제에 추가로 현탁액은 현탁제, 예를 들어, 에톡실화된 아이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 솔비톨 및 솔비탄 에스터, 미정질 셀룰로스, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 한천-한천, 트래거캔스 등 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다.
- [0102] 비활성 희석제뿐만 아니라, 경구 조성물은 또한 감미제, 향미제 및 방향제와 같은 보조제를 포함할 수 있다.
- [0103] 비경구 투여(예를 들어, 정맥내, 근육내, 복강내, 피하 및 관절내 주사 및 주입)에 적합한 제형은, 예를 들어, 용액, 현탁액, 분산물, 에멀션 등을 포함한다. 그들은 또한 사용 직전에 멸균 주사용 매질 중에서 용해 또는 현탁될 수 있는 멸균 고체 조성물(예를 들어, 동결건조 조성물)의 형태로 제조될 수 있다. 그들은, 예를 들어, 당 업계에 공지된 현탁제 또는 분산제를 함유할 수 있다.
- [0104] AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 제형은 단위 투여 형태로 편리하게 제공될 수 있고, 약학 분야에 잘 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방법은 일반적으로 치료제를 담체와 회합시키는 단계를 포함하는데, 이는 1종 이상의 부속 성분을 구성한다. 전형적으로, 제형은 액체 담체, 미세하게 분할된 고체 담체, 또는 둘 다와 균일하게 그리고 직접적으로 회합되게 하고, 이어서, 필요하다면, 목적으로 하는 제형의 투여 형태로 생성물을 성형함으로써(예를 들어, 습식 또는 건식 과립, 분말 배합물 등, 다음에 당업계에 공지된 통상적인 방법을 이용하여 정제화) 제조된다.
- [0105] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 GI 관에 선택적으로 다른 추가적인 치료제와 함께 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 효과적이고, 또한 지연된 실질적인 전달을 제공하기 위한 하나 이상의 변형 방출형 코팅, 예컨대 지연-방출 코팅을 이용할 수 있다.
- [0106] 일 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 산성 환경에서 실질적으로 안정하고 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 실질적으로 불안정한 장용 작용제를 포함한다. 일 실시형태에서, 지연 방출형 코팅은 위액 및/또는 장액에서 안정적인 장용 작용제를 함유한다. 장용 작용제는, 예를 들어, 메타크릴산 공중합체, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 하이드록시프로필메틸 셀룰로스 프탈레이트, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트, 카복시메틸에틸셀룰로스 및 EUDRAGIT-유형 중합체(폴리(메타크릴산, 메틸메타크릴레이트), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 석시네이트, 셀룰로스 아세테이트 트라이멜리테이트, 셀락 또는 기타 적합한 장용 코팅 중합체의 용액 또는 분산물로부터 선택될 수 있다. EUDRAGIT-유형 중합체는, 예를 들어, EUDRAGIT FS 30D, L 30 D-55, L 100-55, L 100, L 12,5, L 12,5 P, RL 30 D, RL PO, RL 100, RL 12,5, RS 30 D, RS PO, RS 100, RS 12,5, NE 30 D, NE 40 D, NM 30 D, S 100, S 12,5, 및 S 12,5 P를 포함한다. 유사한 중합체는 KOLLICOAT MAE 30 DP 및 KOLLICOAT MAE 100 P를 포함한다. 일부 실시형태에서, EUDRAGIT FS 30D, L 30 D-55, L 100-55, L 100, L 12,5, L 12,5 P RL 30 D, RL PO, RL 100, RL 12,5, RS 30 D, RS PO, RS 100, RS 12,5, NE 30 D, NE 40 D, NM 30 D, S 100, S 12,5 S 12,5 P, KOLLICOAT MAE 30 DP 및 KOLLICOAT MAE 100 P 중 하나 이상이 사용된다. 다양한 실시형태에서, 장용 작용제는 앞서 언급한 용액 또는 분산물의 조합물일 수 있다. 일 실시형태에서, 지연 방출형 코팅은 장용 작용제 EUDRAGIT L 30 D-55(폴리(메타크릴산-에틸 아크릴레이트 공중합체) 1:1)를 포함한다.
- [0107] 특정 실시형태에서, 1종 이상의 코팅 시스템 첨가제는 장용 작용제와 함께 사용된다. 예를 들어, 1종 이상의 PLASACRYL 첨가제는 부착방지제 코팅 첨가제로서 사용될 수 있다. 예시적인 PLASACRYL 첨가제는 PLASACRYL HTP20 및 PLASACRYL T20을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, PLASACRYLHTP20은 EUDRAGIT L 30 D-55 코팅과 제형화된다. 또 다른 실시형태에서, PLASACRYLT20은 EUDRAGIT FS 30 D 코팅과 제형화된다.
- [0108] 다른 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 pH 및/또는 용액 중의 효소 존재와 상관없이 수용액 중에 있을 때 시간의 함수로서 분해될 수 있다. 이러한 코팅은 수 불용성 중합체를 포함할 수 있다. 따라서 수용액 중에서 그의 용해도는 pH와 독립적이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "pH 독립적"은 중합체의 물 투과성 및 약제학적 성분을 방출하는 그의 능력이 pH의 함수가 아니고/아니거나 pH에 대해 단지 매우 약간 의존적이라는 것을 의미한다. 이러한 코팅은, 예를 들어, 지속 방출 제형을 제조하기 위해 사용될 수 있다. 적합한 수 불용성 중합체는 용액의 pH와 독립적으로 수성 매질, 예를 들어, 물 중에서 실질적으로 불용성인 약제학적으로 허용 가능한 비독성 중합체를 포함한다. 적합한 중합체는 셀룰로스 에터, 셀룰로스 에스터 또는 셀룰로스 에터-에스터, 즉, 셀룰로스 골격 상의 하이드록실기 중 일부는 알킬기로 치환되고, 일부는 알칸오일기로 변형되는 셀룰로스 유도체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예는 에틸 셀룰로스, 아세틸 셀룰로스, 나이트로셀룰로스 등을 포함한다.

불용성 중합체의 다른 예는 래커 및 아크릴 및/또는 메타크릴 에스터 중합체, 저급 4차 암모늄 함량을 갖는 아크릴레이트 또는 메타크릴레이트의 중합체 또는 공중합체, 또는 이들의 혼합물 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 불용성 중합체의 다른 예는 EUDRAGIT RS, EUDRAGIT RL 및 EUDRAGIT NE를 포함한다. 본 발명에서 유용한 불용성 중합체는 폴리비닐 에스터, 폴리비닐 아세탈, 폴리아크릴산 에스터, 부타다이엔 스타이렌 공중합체 등을 포함한다. 일 실시형태에서, 결장 전달은 서서히 부식하는 왁스 플러그(예를 들어, 다양한 PEGs, 예를 들어, PEG6000을 포함함)의 사용에 의해 달성된다.

[0109] 추가 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 장내 세균층에 존재하는 미생물 효소에 의해 분해될 수 있다. 일 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 소장 내에 존재하는 박테리아에 의해 분해될 수 있다. 다른 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 대장 내에 존재하는 박테리아에 의해 분해될 수 있다.

[0110] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 1종 이상의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체), 및 코팅된 코어 입자 위로 배치된 지연-방출 코팅을 포함하는 베이스 코트를 갖는 코어 입자를 포함하는 제형을 제공한다. 지연-방출 코팅은 산성 환경 및/또는 위액에서 실질적으로 안정하고/하거나 거의 중성 내지 알칼리성 환경 및/또는 장액에서 실질적으로 불안정하여 코팅된 코어 입자를 장액에 노출시킬 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명의 코팅된 펠릿은 FaSSGF에서 AP-기반 작용제를 실질적으로 방출하지 않지만, FaSSIF에서 AP-기반 작용제를 실질적으로 방출한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 코팅된 펠릿은 약 20분, 약 40분, 약 1시간, 약 80분, 약 100분, 약 2시간, 약 140분, 약 160분, 약 3시간, 약 200분, 약 220분 또는 약 4시간에 자극된 위액 및/또는 장액에서 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90% 또는 적어도 약 95%의 AP-기반 작용제를 방출한다.

[0111] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제를 포함하는 본 발명의 코팅된 펠릿은 적어도 약 3일, 적어도 약 9일, 적어도 약 12일, 적어도 약 15일, 적어도 약 20일, 적어도 약 23일, 적어도 약 27일, 적어도 약 1개월, 적어도 약 2개월, 적어도 약 3개월, 적어도 약 4개월, 적어도 약 5개월, 적어도 약 6개월, 적어도 약 7개월, 적어도 약 8개월, 적어도 약 9개월, 적어도 약 10개월, 적어도 약 11개월, 적어도 약 1년, 적어도 약 1.5년, 적어도 약 2년 동안의 저장 시에 안정적이다. 일부 실시형태에서, 펠릿은 건조조건(desiccation) 하에서 2 내지 8°C에서 저장된다. 추가 실시형태에서, AP-기반 작용제를 포함하는 본 발명의 코팅된 펠릿은 저장 기간에 걸쳐서 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90% 또는 적어도 약 95%의 활성도를 유지한다.

[0112] 하나 이상의 AP-기반 작용제를 포함하는 베이스 코트는 1종 이상의 추가적인 치료제를 포함할 수 있다. 선택적으로 복수의 베이스 코트는 AP-기반 작용제 및/또는 추가적인 치료제를 함유할 수 있는 각각의 코어에 적용될 수 있다. 실시형태에서, 코어 입자는 수크로스를 포함한다. 제형은 당업계에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)는 불활성 코어(예를 들어, 수크로스 코어 또는 수크로스 구체) 상에 분무될 수 있고, 장용 층(예를 들어, EUDRAGIT L30 D-55)으로 분무 건조되어 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)-함유 펠릿을 형성할 수 있다.

[0113] 선택적으로, 코어 입자는 1종 이상의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및/또는 1종 이상의 추가적인 치료제를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 1회 이상의 용량의 AP-기반 작용제는 코어 입자에서, 예를 들어, 마이크로스피어의 형태로 캡슐화될 수 있다. 예를 들어, AP-기반 작용제는 중합체(예를 들어, 라텍스)와 조합될 수 있고, 이어서, 수크로스 코어를 이용하지 않고 미립자, 마이크로-캡슐화된 효소 제제로 형성된다. 이렇게 형성된 마이크로스피어는 선택적으로 지연-방출 코팅으로 뒤덮일 수 있다.

[0114] 효소를 봉입할 수 있는 미립자(예컨대, 마이크로스피어, 응집물, 기타)를 생성하기 위한 다양한 접근은 공지되어 있다. 그들은 전형적으로 적어도 2개의 상을 수반하는데, 하나는 효소를 함유하고, 하나는 미립자의 골격을 형성하는 중합체를 함유한다. 제3 성분의 첨가에 의해 중합체가 그의 용매 상으로부터 분리되는 코아세르베이션, 또는 내부 수성상이 단백질을 함유하고, 중간 유기상이 중합체를 함유하며, 외부 수성상이 마이크로스피어를 형성하기 위해 용매가 제거될 수 있을 때까지 w/o/w 이중 에멀션을 지지하는 안정제인 다중 상 에멀션, 예컨대 수중유중수(w/o/w) 에멀션이 가장 통상적이다. 대안적으로, AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및 안정화 부형제(예를 들어, 트레할로스, 만니톨, 트윈(Tween) 80, 폴리비닐 알코올)은 조합되고, 수용액으로부터 분무되고, 수집된다. 이어서, 입자는

중합체 및 방출 변형 화합물을 함유하는 무수, 수 혼화성 유기 용매 중에서 현탁되고, 현탁액은 입자를 분산시키기 위해 초음파 처리된다. 추가적인 접근은 수성상을 사용하지만, 유기 용매는 사용하지 않는다. 구체적으로, 효소, 완충제 성분, 중합체 라텍스 및 안정화 및 방출-변형 부형제가 수 중에서 용해/분산된다. 수성 분산물은 분무 건조되어, 라텍스의 융합 및 융합된 라텍스의 입자 내 단백질 및 부형제의 혼입을 야기한다. 방출 변형제가 산성 조건에서 불용성이지만, 더 높은 pH(예컨대, 카복실산)에서 불용성일 때, 기질로부터의 방출은 위 환경에서 저해된다.

[0115] 일부 실시형태에서, 코팅된 코어 입자에 대한 지연-방출 코팅을 적용하기 전에, 입자는 선택적으로, 예를 들어, pH-완충 화합물과 같은 알칼리성 화합물을 포함하는 약제학적 부형제를 포함하는 하나 이상의 별개의 층으로 뒤덮일 수 있다. 분리층은 본질적으로 지연-방출 코팅으로부터 코팅된 코어 입자를 분리시킨다.

[0116] 분리층은 코팅 장비, 예컨대 코팅팬, 코팅 과립기에 의해 또는 코팅 공정을 위해 물 및/또는 유기 용매를 이용하는 유동층 장치에서 전형적으로 사용되는 코팅 또는 적층 절차에 의해 코팅된 코어 입자에 적용될 수 있다. 대안으로서, 분리층은 분말 코팅 기법을 이용함으로써 코어 물질에 적용될 수 있다. 분리층에 대한 물질은 단독으로 또는 혼합물로 약제학적으로 허용 가능한 화합물, 예를 들어, 당, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 아세테이트, 하이드록시프로필 셀룰로스, 메틸-셀룰로스, 에틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 나트륨 및 기타이다. 첨가제, 예컨대 가스제, 착색제, 안료, 충전제, 부착방지제 및 대전 방지제, 예컨대 스테아르산마그네슘, 이산화티타늄, 탭크 및 기타 첨가제가 또한 분리층에 포함될 수 있다.

[0117] 일부 실시형태에서, 지연-방출 코팅을 지니는 코팅 입자는 추가로 오버코트층으로 뒤덮일 수 있다. 오버코트 층은 다른 코팅 조성물에 대해 기재한 바와 같이 적용될 수 있다. 오버코트 물질은 단독으로 또는 혼합물로 약제학적으로 허용 가능한 화합물, 예컨대 당, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 아세테이트, 하이드록시프로필 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 에틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 나트륨 등이다. 오버코트 물질은 지연-방출 코팅으로 코팅된 입자의 잠재적 응집을 방지하거나, 지연-방출 코팅을 압축 공정 동안 균열로부터 보호하거나 또는 정제화 공정을 향상시킬 수 있다.

[0118] 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 AP-기반 작용제로부터 방출된 복수의 AP-기반 작용제-함유 펠릿(예를 들어, IAP(또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)-함유 펠릿)으로 충전된 캡슐이다. 실시형태에서, 캡슐은 젤라틴 캡슐, 예컨대 경질 젤라틴 캡슐이다. 다른 실시형태에서, 캡슐은 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐이다. 예를 들어, 제형은 다중 펠릿을 포함하는 캡슐 형태일 수 있다. 예를 들어, 제형은 캡슐, 예를 들어, AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 함유하는 다중 작용 코팅 펠릿을 포함하는 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐의 형태일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 각각의 펠릿이 특정 지점 또는 위치에서 방출되도록 설계된 펠릿의 조합물이 이용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, 펠릿(예를 들어, 작용-코팅 펠릿)은 위를 통해 변하지 않은 채로 통과하고, 이어서, 장의 하나 이상의 영역 내로 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출하도록 설계된다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제-함유 펠릿은 상이한 장 pH 값에서 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체)를 방출하기 위해 작용 코팅될 수 있다.

[0119] 본 발명은 또한 위장관을 따라서 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 다회 용량을 방출하는 변형 방출형 제형을 제공한다. 이러한 실시형태에서, 이러한 제형의 전반적인 프로파일은, 예를 들어, 다중 입자 유형 또는 다중층을 이용함으로써 조절될 수 있다. 일 실시형태에서, AP-기반 작용제의 제1 용량은, 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상) 또는 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)에서의 방출을 위해 제형화될 수 있는 반면, 제2 용량은, 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상) 또는 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)의 상이한 영역에서 지연 방출을 위해 제형화된다. 대안적으로, 다회 용량은 장을 따라서 상이한 위치에서 방출된다. 예를 들어, 일 실시형태에서, AP-기반 작용제의 제1 용량은, 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상)에서 방출을 위해 제형화될 수 있는 반면, 제2 용량은, 예를 들어, 소장의 다른 부분(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상)에서 지연 방출을 위해 제형화된다. 다른 실시형태에서, AP-기반 작용제의 제1 용량은, 예를 들어, 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)에서 방출을 위해 제형화될 수 있는 반면, 제2 용량은, 예를 들어, 대장의 다른 부분(예를 들어, 맹장,

결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)에서 지연 방출을 위해 제형화된다.

[0120] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 작용제는 약제학적으로 허용 가능한 염, 즉, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등 없이 인간 및 다른 동물의 조직과 접촉하여 사용하는데 적합하고, 합리적인 유해/유익비에 비례하는 해당 염의 형태일 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 염은 당업계에 잘 공지되어 있다. 염은 치료제의 최종 단위 및 정제 동안 인시추로, 또는 유리 염기 작용기를 적합한 산과 또는 유리 산 작용기를 적절한 알칼리성 모이어티와 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 대표적인 산 부가 염은 아세트산염, 아디핀산염, 알긴산염, 아스코르브산염, 아스파르트산염, 벤젠설포산염, 벤조산염, 중황산염, 붕산염, 부티르산염, 캄페산염, 캄페설포산염, 시트르산염, 사이클로펜탄프로피온산염, 다이글루콘산염, 도데실황산염, 에탄설포산염, 푸마르산염, 글루코헵톤산염, 글리세로인산염, 헤미황산염, 헵톤산염, 헥산산염, 브롬화수소산염, 염산염, 요오드화수소산염, 2-하이드록시에탄설포산염, 락토바이온산, 락트산염, 라우린산염, 라우릴황산염, 말산염, 말레산염, 말론산염, 메탄설포산염, 2-나프탈렌설포산염, 니코틴산염, 질산염, 올레산염, 옥살산염, 팔미트산염, 파모산염, 펙틴산염, 과황산염, 3-페닐프로피온산염, 인산염, 피크르산염, 피발산염, 프로피온산염, 스테아르산염, 석신산염, 황산염, 타르타르산염, 티오시안산염, 툴루엔설포산염, 운데칸산염, 발레르산염 등을 포함한다. 대표적인 알칼리 또는 알칼리도금속염은 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등뿐만 아니라 비독성 암모늄, 4차 암모늄, 및 아민 양이온(암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 다이메틸아민, 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 에틸아민 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않음)을 포함한다.

[0121] 다양한 실시형태에서, 본 제형은 다수의 이점을 제공한다. 예를 들어, 본 발명자들은 그 자체가 도전적인 단백질(즉, AP-기반 작용제)을 성공적으로 제형화하였다. 이는 본 제형이 다양한 실시형태에서 약물을 방출하는 GI 관 환경에 의해 추가로 컴파운딩된다. 추가로, 다양한 실시형태에서, 본 제형은 다양한 항생제의 유해 효과로부터 GI 관에서, 예를 들어, 소장에서 양호한 보호 범위를 허용하기 위해 충분히 느린 GI 관 방출을 제공한다(더 느린 방출에 비례하는 AP-기반 작용제 반감기의 증가에 의해 강조되는 이점). 더 나아가, 본 발명의 펠릿의 약물 물질 층을 HPC로 코팅함으로써, EUDRAGIT과 대조적으로, 예를 들어, 본 제형은 제형 내 EUDRAGIT의 양을 최소화하고, 따라서 가능한 용량-제한 독성 및 제조 문제를 완화시킨다.

[0122] 변형 방출형 프로파일

[0123] 일 양상에서, 본 발명은 적어도 하나의 알칼리성 포스파타제(AP)-기반 작용제를 포함하는 변형 방출형 제형을 제공하되, 제형은 GI 관의 하나 이상의 영역 내로 실질적인 양의 AP-기반 작용제를 방출한다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제, 및 이의 변이체(예를 들어, 상기 기재된 바와 같음)이다. 예를 들어, 제형은 위 다음에 그리고 GI 관의 하나 이상의 영역 내로 적어도 약 60%의 AP-기반 작용제, 예를 들어, IAP를 방출할 수 있다.

[0124] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 즉시 방출(예를 들어, 섭취 시)용으로 설계된다. 다양한 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 장기간의 시간에 걸쳐 신체(예를 들어, GI 관) 내 활성 성분(들)의 지속 방출 프로파일, 즉, 서방출을 가질 수 있다. 다양한 실시형태에서, 변형 방출형 제형은, 오히려 조성물이 위장관에서 하부에 있을 때까지 활성 성분(들) 방출의 지연은; 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상) 또는 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분 및 직장 중 하나 이상)에서 방출을 위해, 지연 방출 프로파일을 가질 수 있고, 즉, 섭취 시 활성 성분(들)을 즉시 방출하지 않는다. 예를 들어, 조성물은 소장 또는 대장에 도달될 때까지 활성 성분(들)의 방출을 지연시키기 위해 장용 코팅될 수 있다. 일부 실시형태에서, 대변 중에서 본 제형의 활성 성분(들)의 실질적인 양은 없다.

[0125] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 위 다음에 장의 하나 이상의 영역 내로 적어도 60%의 AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 본 명세서에 기재된 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형 방출형 제형은 장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다.

[0126] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 소장에서 적어도 60%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형 방출형 제형은 소



세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형 방출형 제형은 상행 결장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다.

[0133] 일 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 횡행 결장에서 적어도 60%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형 방출형 제형은 횡행 결장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다.

[0134] 일 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 하행 결장에서 적어도 60%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형 방출형 제형은 하행 결장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다.

[0135] 일 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출형 제형은 S상 결장에서 적어도 60%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형 방출형 제형은 S상 결장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다.

[0136] 다양한 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 위에서 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 실질적으로 방출하지 않는다.

[0137] 특정 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 특정 pH에서 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 산성 환경에서 실질적으로 안정하고, 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 실질적으로 불안정하다(예를 들어, 빠르게 용해하거나 또는 물리적으로 불안정하다). 일부 실시형태에서, 안정성은 실질적으로 방출되지 않음을 나타내는 반면, 불안정성은 실질적으로 방출됨을 나타낸다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 pH 약 7.0 이하, 또는 약 6.5 이하, 또는 약 6.0 이하, 또는 약 5.5 이하, 또는 약 5.0 이하, 또는 약 4.5 이하, 또는 약 4.0 이하, 또는 약 3.5 이하, 또는 약 3.0 이하, 또는 약 2.5 이하, 또는 약 2.0 이하, 또는 약 1.5 이하, 또는 약 1.0 이하에서 실질적으로 안정하다. 일부 실시형태에서, 본 제형은 더 낮은 pH 영역에서 안정하고, 따라서, 예를 들어, 위에서 실질적으로 방출되지 않는다. 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 약 1 내지 약 4 또는 더 낮은 pH에서 실질적으로 안정하고, 더 큰 pH 값에서 실질적으로 불안정하다. 이들 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 위에서 실질적으로 방출되지 않는다. 이들 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상) 및/또는 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장, 및 S상 결장 중 하나 이상)에서 실질적으로 방출된다. 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 pH 약 4 내지 약 5 또는 그 이하에서 실질적으로 안정하고, 결과적으로 더 큰 pH 값에서 실질적으로 불안정하며, 따라서 위 및/또는 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상)에서 실질적으로 방출되지 않는다. 이들 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장 및 S상 결장 중 하나 이상)에

서 실질적으로 방출된다. 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 인용된 pH 값은, 예를 들어, 음식 상태이든 식후 상태이든 대장체의 상태를 설명하기 위해 당업계에 공지된 바와 같이 조절될 수 있다.

- [0138] 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 위액에서 실질적으로 안정하고, 장액에서 실질적으로 불안정하며, 따라서 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상) 및/또는 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장 및 S상 결장 중 하나 이상)에서 실질적으로 방출된다.
- [0139] 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 위액에서 안정적이거나, 산성 환경에서 안정적이다. 이들 변형 방출형 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 4 내지 약 5 이하인 위액, 또는 pH가 약 4 내지 약 5 이하인 인공 위액 중에서 변형 방출형 제형 중의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 약 30중량% 이하를 방출한다. 본 발명의 변형 방출형 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 4 내지 5 이하인 위액 또는 pH가 4 내지 5 이하인 인공 위액 중의 변형 방출형 제형에서 약 0중량% 내지 약 30중량%, 약 0중량% 내지 약 25중량%, 약 0중량% 내지 약 20중량%, 약 0중량% 내지 약 15중량%, 약 0중량% 내지 약 10중량%, 약 5중량% 내지 약 30중량%, 약 5중량% 내지 약 25중량%, 약 5중량% 내지 약 20중량%, 약 5중량% 내지 약 15중량%, 약 5중량% 내지 약 10중량%의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 방출할 수 있다. 본 발명의 변형 방출형 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 5 이하인 위액, 또는 pH가 5 이하인 인공 위액 중의 변형 방출형 제형에서 약 1중량%, 약 2중량%, 약 3중량%, 약 4중량%, 약 5중량%, 약 6중량%, 약 7중량%, 약 8중량%, 약 9중량%, 또는 약 10중량%의 총 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 방출할 수 있다.
- [0140] 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 장액 중에서 불안정하다. 이들 변형 방출형 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 장액 또는 인공 장액 중의 변형 방출형 제형에서 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 약 70중량% 이상을 방출한다. 일부 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 불안정하다. 이들 변형 방출형 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 약 4 내지 5 이상인 장액 또는 pH가 약 4 내지 5 이상인 인공 장액 중의 변형 방출형 제형에서 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 약 70중량% 이상을 방출한다. 거의 중성 또는 알칼리성 환경에서 불안정한 변형 방출형 제형은 약 5분 내지 약 90분, 또는 약 10분 내지 약 90분, 또는 약 15분 내지 약 90분, 또는 약 20분 내지 약 90분, 또는 약 25분 내지 약 90분, 또는 약 30분 내지 약 90분, 또는 약 5분 내지 약 60분, 또는 약 10분 내지 약 60분, 또는 약 15분 내지 약 60분, 또는 약 20분 내지 약 60분, 또는 약 25분 내지 약 90분, 또는 약 30분 내지 약 60분에 pH가 약 5 초과인 유체(예를 들어, pH가 약 5 내지 약 14, 약 6 내지 약 14, 약 7 내지 약 14, 약 8 내지 약 14, 약 9 내지 약 14, 약 10 내지 약 14, 또는 약 11 내지 약 14임) 중의 변형 방출형 제형에서 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 70중량% 이상을 방출할 수 있다.
- [0141] 인공 위액 및 인공 장액의 예는 2005 약전 23NF/28USP 2858페이지 시험 용액 중에 및/또는 당업자에게 공지된 다른 인공 위액 및 인공 장액, 예를 들어, 효소 없이 제조한 인공 위액 및/또는 장액에 개시된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0142] 일 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 본질적으로 무손상으로 남아있을 수 있거나, 또는 위액에서 본질적으로 불용성일 수 있다. 변형 방출형 제형은 pH 의존적인 하나 이상의 지연-방출 코팅을 포함할 수 있다. pH 의존적인 지연 방출 코팅은 산성 환경(pH가 약 5 이하)에서 실질적으로 안정하고, 거의 중성 내지 알칼리성 환경(pH가 약 5 초과)에서 실질적으로 불안정하다. 예를 들어, 지연-방출 코팅은 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상) 및/또는 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장 및 S상 결장 중 하나 이상)에서 발견되는 것과 같이 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 본질적으로 붕괴되거나 또는 용해될 수 있다.
- [0143] 대안적으로, 변형 방출형 제형의 안정성은 효소-의존적일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 효소-의존적인 하나 이상의 지연-방출 코팅을 포함할 수 있다. 효소-의존적인 지연 방출 코팅은 특정 효소를 함유하지 않는 유체에서 실질적으로 안정하고, 효소를 함유하는 유체에서 실질적으로 불안정할 것이다. 지연-방출 코팅은 적절한 효소를 함유하는 유체 중에서 본질적으로 붕괴되거나 또는 용해될 것이다. 효소-의존적 제어는, 예를 들어, 갈락토만난과 같은 장 내 효소에 대한 노출 시에만 활성 성분을 방출하는 물질을 이용함으로써 초래

될 수 있다. 또한, 변형 방출형 제형의 안정성은 장내 세균총에 존재하는 미생물 효소의 존재 하의 효소 안정성에 의존적일 수 있다.

[0144] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제(예를 들어, IAP 또는 이의 변이체)를 포함하는 변형 방출형 제형은 유미층에서 실질적으로 안정하다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 투여로부터 약 10, 또는 9, 또는 8, 또는 7, 또는 6, 또는 5, 또는 4, 또는 3, 또는 2, 또는 1시간에 AP-기반 작용제 활성도의 약 50% 또는 약 40%, 또는 약 30%, 또는 약 20%, 또는 약 10% 미만의 상실이 있다.

[0145] 일부 실시형태에서, 이중 펄스 제형이 제공된다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 장을 따라서 상이한 위치에서, 상이한 시간에 및/또는 상이한 pH에서 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 다회 용량을 방출하는 변형 방출형 제형을 제공한다. 예시적 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 제1 용량의 AP-기반 작용제 및 제2 용량의 AP-기반 작용제를 포함하되, 제1 용량 및 제2 용량은 장을 따라서 상이한 위치에서, 상이한 시간에 및/또는 상이한 pH에서 방출된다. 예를 들어, 제1 용량은 십이지장에서 방출되고, 제2 용량은 회장에서 방출된다. 다른 예에서, 제1 용량은 공장에서 방출되고, 제2 용량은 회장에서 방출된다. 다른 실시형태에서, 제1 용량은 소장(예를 들어, 십이지장)을 따라가는 위치에서 방출되는 반면, 제2 용량은 대장(예를 들어, 상행 결장)을 따라서 방출된다. 다양한 실시형태에서, 변형 방출형 제형은 장을 따라서 상이한 위치에서, 상이한 시간에 및/또는 상이한 pH에서 적어도 1 용량, 적어도 2 용량, 적어도 3 용량, 적어도 4 용량, 적어도 5 용량, 적어도 6 용량, 적어도 7 용량 또는 적어도 8용량의 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)를 방출할 수 있다. 추가로, 본 명세서의 이중 펄스 설명은 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체) 및 추가적인 치료제를 방출하는 변형 방출형 제형에 적용한다.

[0146] 투여 및 투여량

[0147] 본 발명에 따라 투여될 AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 실제 용량은, 예를 들어, 특정 투약 형태 및 투여 방식에 따라 다르다는 것이 인식될 것이다. AP-기반 작용제의 작용을 변형시킬 수 있는 다수 인자(예를 들어, 체중, 성별, 식이요법, 투여시간, 투여 경로, 배설 속도, 대상체의 병태, 약물 조합, 유전적 성향 및 반응 민감성)가 당업자에 의해 고려될 수 있다. 투여는 최대 허용 용량 내에서 연속적으로 또는 1회 이상의 별도의 용량으로 수행될 수 있다. 주어진 상황의 병태에 대한 최적의 투여 속도는 통상적인 투여량 투여 시험을 이용하여 당업자에 의해 확인될 수 있다.

[0148] AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 개별 용량은, 예를 들어, 약 0.01mg 내지 약 1,000mg, 약 0.01mg 내지 약 950mg, 약 0.01mg 내지 약 900mg, 약 0.01mg 내지 약 850mg, 약 0.01mg 내지 약 800mg, 약 0.01mg 내지 약 750mg, 약 0.01mg 내지 약 700mg, 약 0.01mg 내지 약 650mg, 약 0.01mg 내지 약 600mg, 약 0.01mg 내지 약 550mg, 약 0.01mg 내지 약 500mg, 약 0.01mg 내지 약 450mg, 약 0.01mg 내지 약 400mg, 약 0.01mg 내지 약 350mg, 약 0.01mg 내지 약 300mg, 약 0.01mg 내지 약 250mg, 약 0.01mg 내지 약 200mg, 약 0.01mg 내지 약 150mg, 약 0.01mg 내지 약 100mg, 약 0.1mg 내지 약 90mg, 약 0.1mg 내지 약 80mg, 약 0.1mg 내지 약 70mg, 약 0.1mg 내지 약 60mg, 약 0.1mg 내지 약 50mg, 약 0.1mg 내지 약 40mg의 활성 성분, 약 0.1mg 내지 약 30mg, 약 0.1mg 내지 약 20mg, 약 0.1mg 내지 약 10mg, 약 0.1mg 내지 약 5mg, 약 0.1mg 내지 약 3mg, 약 0.1mg 내지 약 1mg/단위 투여 형태, 또는 약 5mg 내지 약 80mg/단위 투여 형태를 함유하는 단위 투여 형태(예를 들어, 정제 또는 캡슐)로 투여될 수 있다. 예를 들어, 단위 투여 형태는 약 0.01mg, 약 0.02mg, 약 0.03mg, 약 0.04mg, 약 0.05mg, 약 0.06mg, 약 0.07mg, 약 0.08mg, 약 0.09mg, 약 0.1mg, 약 0.2mg, 약 0.3mg, 약 0.4mg, 약 0.5mg, 약 0.6mg, 약 0.7mg, 약 0.8mg, 약 0.9mg, 약 1mg, 약 2mg, 약 3mg, 약 4mg, 약 5mg, 약 6mg, 약 7mg, 약 8mg, 약 9mg 약 10mg, 약 15mg, 약 20mg, 약 25mg, 약 30mg, 약 35mg, 약 40mg, 약 45mg, 약 50mg, 약 55mg, 약 60mg, 약 65mg, 약 70mg, 약 75mg, 약 80mg, 약 85mg, 약 90mg, 약 95mg, 약 100mg, 약 150mg, 약 200mg, 약 250mg, 약 300mg, 약 350mg, 약 400mg, 약 450mg, 약 500mg, 약 550mg, 약 600mg, 약 650mg, 약 700mg, 약 750mg, 약 800mg, 약 850mg, 약 900mg, 약 950mg, 또는 약 1,000mg (그 사이의 모든 값과 범위를 포함함)일 수 있다. 실시형태에서, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 개별 용량은 25mg의 AP-기반 작용제를 함유하는 단위 투여 형태로 투여된다. 또 다른 실시형태에서, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 개별 용량은 50mg의 AP-기반 작용제를 함유하는 단위 투여 형태로 투여된다. 추가 실시형태에서, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 개별 용량은 75mg의 AP-기반 작용제를 함유하는 단위 투여 형태로 투여된다.

[0149] 일 실시형태에서, AP-기반 작용제는 1일에 약 0.01mg 내지 약 100mg의 양으로, 1일에 약 0.01mg 내지 약 1,000mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 950mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 900mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 850mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 800mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 750mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 700mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 650mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 600mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 550mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 500mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 450mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 400mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 350mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 300mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 250mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 200mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 150mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 100mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 95mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 90mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 85mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 80mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 75mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 70mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 65mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 60mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 55mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 50mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 45mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 40mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 35mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 30mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 25mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 20mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 15mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 10mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 5mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 3mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 1mg, 또는 1일에 약 5mg 내지 약 80mg의 양으로 투여된다.

[0150] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 1일에 약 0.01mg, 약 0.02mg, 약 0.03mg, 약 0.04mg, 약 0.05mg, 약 0.06mg, 약 0.07mg, 약 0.08mg, 약 0.09mg, 약 0.1mg, 약 0.2mg, 약 0.3mg, 약 0.4mg, 약 0.5mg, 약 0.6mg, 약 0.7mg, 약 0.8mg, 약 0.9mg, 약 1mg, 약 2mg, 약 3mg, 약 4mg, 약 5mg, 약 6mg, 약 7mg, 약 8mg, 약 9mg, 약 10mg, 약 15mg, 약 20mg, 약 25mg, 약 30mg, 약 35mg, 약 40mg, 약 45mg, 약 50mg, 약 55mg, 약 60mg, 약 65mg, 약 70mg, 약 75mg, 약 80mg, 약 85mg, 약 90mg, 약 95mg, 약 100mg, 약 150mg, 약 200mg, 약 250mg, 약 300mg, 약 350mg, 약 400mg, 약 450mg, 약 500mg, 약 550mg, 약 600mg, 약 650mg, 약 700mg, 약 750mg, 약 800mg, 약 850mg, 약 900mg, 약 950mg, 또는 약 1,000mg(그 사이의 모든 값 및 범위를 포함함)의 용량으로 투여된다.

[0151] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 IAP 또는 다른 AP-기반 작용제 및 이의 변이체)의 적합한 투여량은 대상체의 약 0.01mg/kg 내지 약 100mg/kg 체중, 예를 들어, 약 0.01mg/kg, 약 0.02mg/kg, 약 0.03mg/kg, 약 0.04mg/kg, 약 0.05mg/kg, 약 0.06mg/kg, 약 0.07mg/kg, 약 0.08mg/kg, 약 0.09mg/kg, 약 0.1mg/kg, 약 0.2mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 0.4mg/kg, 약 0.5mg/kg, 약 0.6mg/kg, 약 0.7mg/kg, 약 0.8mg/kg, 약 0.9mg/kg, 약 1mg/kg, 약 1.1mg/kg, 약 1.2mg/kg, 약 1.3mg/kg, 약 1.4mg/kg, 약 1.5mg/kg, 약 1.6mg/kg, 약 1.7mg/kg, 약 1.8mg/kg, 약 1.9mg/kg, 약 2mg/kg, 약 3mg/kg, 약 4mg/kg, 약 5mg/kg, 약 6mg/kg, 약 7mg/kg, 약 8mg/kg, 약 9mg/kg, 약 10mg/kg, 약 15mg/kg, 약 20mg/kg, 약 25mg/kg, 약 30mg/kg, 약 35mg/kg, 약 40mg/kg, 약 45mg/kg, 약 50mg/kg, 약 55mg/kg, 약 60mg/kg, 약 65mg/kg, 약 70mg/kg, 약 75mg/kg, 약 80mg/kg, 약 85mg/kg, 약 90mg/kg, 약 95mg/kg, 또는 약 100mg/kg 체중(그 사이의 모든 값 및 범위를 포함함)의 범위이다. 다른 실시형태에서, AP-기반 작용제의 적합한 투여량은 약 0.01mg/kg 내지 약 10mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.01mg/kg 내지 약 9mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.01mg/kg 내지 약 8mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.01mg/kg 내지 약 7mg/kg 체중, 0.01mg/kg 내지 약 6mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 5mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 4mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 3mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 2mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 1.5mg/kg 체중의 범위에서, 또는 약 0.05mg/kg 내지 약 1mg/kg 체중의 범위이다.

[0152] 본 발명의 특정 실시형태에 따르면, AP-기반 작용제는, 예를 들어, 1일당 약 1회, 약 2일마다, 약 3일마다, 1주당 약 1회, 2주마다 약 1회, 1개월마다 약 1회, 2개월마다 약 1회, 3개월마다 약 1회, 6개월마다 약 1회, 또는 1년마다 약 1회 투여될 수 있다. 특정 실시형태에서, AP-기반 작용제는 1일 1회 초과, 예를 들어, 약 2회, 약 3회, 약 4회, 약 5회, 약 6회, 약 7회, 약 8회, 약 9회, 또는 약 10회로 투여될 수 있다.

[0153] 추가적인 치료제 및 병용 요법 또는 공동 제형화

[0154] AP-기반 작용제를 포함하는 본 발명의 조성물 및 제형의 투여는 추가적인 치료제와 조합될 수 있다. 추가적인 치료제 및 본 조성물/제형의 공동 투여는 동시이거나 또는 순차적일 수 있다. 추가적인 본 발명의 조성물/제형은 추가적인 치료제(예를 들어, 공동 제형화를 통해)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제는 단일 제형으로 조합될 수 있다. 대안적으로, 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제는 별도로 제형화될 수 있다.

[0155] 일 실시형태에서, 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제는 대상체에게 동시에 투여된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "동시에"는, 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제가 약 60분 이하, 예컨대, 약 30분 이하, 약 20분 이하, 약 10분 이하, 약 5분 이하, 또는 약 1분 이하의 시간 간격을 두고 투여된다는 것을 의미한다. 추가적인

치료제 및 AP-기반 작용제의 투여는 단일 제형(예를 들어, 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제를 포함하는 제형)의 또는 별개의 제형(예를 들어, 추가적인 치료제를 포함하는 제1 제형 및 AP-기반 작용제를 포함하는 제2 제형)의 동시 투여에 의해 이루어질 수 있다.

[0156] 추가 실시형태에서, 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제는 대상체에게 동시에 투여되지만, 각각의 투여 형태로부터의 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제(또는 공동 제형화된 경우 단일 단위 투여 형태)의 방출은 순차적으로 일어날 수 있다.

[0157] 공동 투여는, 그들의 투여 시간이 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제의 약학적 활성이 제시간에 중복되도록 한다면 추적적인 치료제와 AP-기반 작용제가 동시에 투여될 필요는 없다. 예를 들어, 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "순차적으로"는 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제가 약 60분 초과와 시간 간격을 두고 투여된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 추가적인 치료제와 AP-기반 작용제의 순차적 투여 사이의 시간은 약 60분 초과, 약 2시간 초과, 약 5시간 초과, 약 10시간 초과, 약 1일 초과, 약 2일 초과, 약 3일 초과, 또는 약 1주 초과와 간격일 수 있다. 최적의 투여 시간은 투여 중인 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제의 대사 속도, 배설 및/또는 약력학적 활성에 의존할 것이다. 추가적인 치료제 또는 AP-기반 작용제 중 어느 하나가 먼저 투여될 수 있다.

[0158] 공동 투여는 또한 동일한 투여 경로에 의해 대상체에게 투여될 추가적인 치료제 및 AP-기반 작용제가 필요하지 않다. 오히려, 각각의 치료제는 임의의 적절한 경로에 의해, 예를 들어, 비경구로 또는 경구로 투여될 수 있다.

[0159] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 항-박테리아제이며, 이것은 세팔로스포린 항생제(세팔렉신, 세푸록심, 세파드록실, 세파졸린, 세팔로틴, 세파클로르, 세파만돌, 세폭시틴, 세프로질 및 세프트비프롤); 플루오로퀴놀론 항생제(시프로, 레바퀴, 플록신, 테킨, 아벨록스 및 노플록스); 테트라사이클린 항생제(테트라사이클린, 미노사이클린, 옥시테트라사이클린 및 독시사이클린); 페니실린 항생제(아목시실린, 암피실린, 페니실린 V, 다이클록사실린, 카베니실린, 반코마이신 및 메티실린); 모노박탐 항생제(아르트레오남); 및 카바페넴 항생제(에타페넴, 도리페넴, 이미페넴/실라스타틴 및 메로페넴)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 항박테리아제는 페니실린, 세팔로스포린, 모노박탐 및 카바페넴 항생제 중 어느 하나일 수 있다.

[0160] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는, 예를 들어, CDI 치료에서 사용되는 보조 요법이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 메트로니다졸(예를 들어, FLAGYL), 피닥소마이신(예를 들어, DIFICID), 또는 반코마이신(예를 들어, VANCOCIN), 리팍시민, 차콜계 결합제/흡착제(예를 들어, DAV132), 분변 박테리아 요법, 프로바이오틱 요법(예를 들어, 문헌[Intnat 'I J Inf Dis, 16 (11): e786] 참조, 이의 전문은 본 명세서에 참고로 포함됨)이며, 예시적인 프로바이오틱은 사카로마이세스 보울라디(*Saccharomyces boulardii*); 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*) GG; 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) 299v; 클로스트리듐 부티리쿰(*Clostridium butyricum*) M588; 클로스트리디오이테스 디피실 VP20621(이전에 클로스트리듐 디피실이라고 알려진 비-독소발생 클로스트리듐 디피실 균주); 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 애시도필루스(*Lactobacillus acidophilus*)의 조합물(Bio-

K

+

CL1285); 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 불가리쿠스, 스트렙토코커스 씨모필루스(악티멜(Actimel))의 조합물; 락토바실러스 애시도필루스, 비피도박테리움 비피둠(*Bifidobacterium bifidum*)(플로라젠3)의 조합물; 락토바실러스 애시도필루스, 락토바실러스 불가리쿠스 델브루에키 아종(*Lactobacillus bulgaricus delbrueckii* subsp.) 불가리쿠스, 락토바실러스 불가리쿠스 카제이, 락토바실러스 불가리쿠스 플란타룸(*Lactobacillus bulgaricus plantarum*), 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 비피도박테리움 인판티스(*Bifidobacterium infans*), 비피도박테리움 브레브(*Bifidobacterium breve*), 스트렙토코커스 살리바리우스(*Streptococcus salivarius*) 아종 씨모필루스(*thermophilus*)(VSL#3)) 및 항체의 조합물 또는 다른 생물학적 요법(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 문헌[N Engl J Med. 2010;362(3):197]에 기재된 바와 같은 클로스트리듐 디피실 독소 A 및 B에 대한 단클론성 항체; 중화 결합 단백질, 예를 들어, 전문이 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 공개 제2013/0058962호

에 열거된 서열번호 중 하나 이상(예를 들어, 서열번호 59, 60, 95, 67, 68, 및 87 중 하나 이상)과 관련된 다량체로서 정렬됨); 또는 클로스트리듐 디피실 2성분 독소와 관련된 임의의 중화 결합 단백질을 포함한다.

- [0161] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 지사제이다. 본 발명에서 사용하는 데 적합한 지사제는 DPP-IV 저해제, 천연 오피오이드, 예컨대 아편의 톱크, 진통제, 및 코데인, 합성 오피오이드, 예컨대 다이페녹실레이트, 다이페녹신 및 로페라마이드, 비스무트 서브살리실레이트, 란레오타이드, 바프레오타이드 및 옥트레오타이드, 모틸론 길항제, 셀레콕싹과 같은 COX2 저해제, 글루타민, 탈리도마이드 및 전통적 지사제 치료, 예컨대 카올린, 껍틴, 베르베린 및 무스카린제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0162] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 항염증제, 예컨대 스테로이드성 항염증제 또는 비스테로이드성 항염증제 (NSAIDS)이다. 스테로이드, 특히 부신 피질 스테로이드 및 그들의 합성 유사체는 당업계에 잘 공지되어 있다. 본 발명에서 유용한 코티코스테로이드의 예는 제한 없이 하이드록실트라이암시놀론, 알파-메틸 텍사메타손, 베타-메틸 베타텍사메타손, 베클로텍사메타손 다이프로피오네이트, 베타텍사메타손 벤조에이트, 베타텍사메타손 다이프로피오네이트, 베타텍사메타손 발레레이트, 클로베타솔 발레레이트, 데소나이드, 데속시텍사메타손, 텍사메타손, 다이플로라손 다이아세테이트, 다이플루코르톨론 발레레이트, 플루아드레놀론, 플루클로롤론 아세토나이드, 플루텍사메타손 피발레이트, 플루오시놀론 아세토나이드, 플루오시노나이드, 플루코르틴 부틸에스터, 플루오코르톨론, 플루프레드니텐(플루프레드닐리텐) 아세테이트, 플루란드레놀론, 할시노나이드, 하이드로코티손 아세테이트, 하이드로코티손 부티레이트, 메틸프레드니솔론, 트라이암시놀론 아세토나이드, 코티손, 코르토독손, 플루세토나이드, 플루드로코티손, 다이플루오로손 다이아세테이트, 플루란드레놀론 아세토나이드, 메드리손, 암시나펠, 암시나파이드, 베타텍사메타손 및 그의 에스터의 균형상태, 클로로프레드니손, 클로코르테론, 클레스시놀론, 다이클로리손, 다이플루프레드네이트, 플루클로로나이드, 플루니솔라이드, 플루오로메탈론, 플루페롤론, 플루프레드니솔론, 하이드로코티손, 메프레드니손, 파라텍사메타손, 프레드니솔론, 프레드니손, 베클로텍사메타손 다이프로피오네이트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명에서 사용될 수 있는 (NSAIDS)는 살리실산, 아세틸 살리실산, 메틸 살리실레이트, 글리콜 살리실레이트, 살리실라마이드, 벤질-2,5-다이아세톡시벤조산, 이부프로펜, 풀린단, 나프록센, 케토프로펜, 에토페나메이트, 페닐부타존 및 인도메타신을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가적인 항염증제는, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함 된 미국 특허 제4,537,776호에 기재되어 있다.
- [0163] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 진통제일 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법에서 유용한 진통제는 몰핀, 코데인, 헤로인, 메타돈 및 관련된 화합물, 테바인, 오르피아빈 및 그들의 유도체, 부프레노르핀, 피페리딘, 몰피난, 벤조몰판, 테트라하이드로아이소퀴놀린, 티암부탄, 벤질아민, 킬리딘, 비미놀, 네포판, 캡사이신 (8-메틸-N-바닐릴-6E-노넨아마이드), "합성" 캡사이신(N-바닐릴노나마이드), 및 관련 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0164] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 아바카비어, 아시클로비어, 아데포비어, 암프레나비어, 아타자나비어, 시도포비어, 다루나비어, 텔라비어딘, 디다노신, 도코사놀, 에파비렌즈, 엘비테그라비어, 엠트리시타빈, 엔푸비어타이드, 에트라비린, 팜시클로비어 및 포스카네트를 포함하지만 이들로 제한되지 않는 항바이러스제이다.
- [0165] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 염증성 장 질환의 치료에 유용한 작용제일 수 있다. 예를 들어, 이러한 작용제는 대장염(예를 들어, 궤양성 대장염) 및 크론병의 치료를 위해서 사용될 수 있고, 이러한 작용제는 베돌리주맙(ENTYVIO), 토파시티닙(XELJANZ), DIMS 0150(KAPPAPROCT), 골리무맙(SIMPONI), 아달리무맙(HUMIRA) 및 다른 항-TNF 요법을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0166] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 셀리악병의 치료에 유용한 작용제일 수 있다. 예시적인 작용제는 AVX-176(아박시아 바이오로지스(Avaxia Biologics)), Actobiotics(악토제닉스사(ActoGeniX)), CALY-002(칼립소 바이오테크사(Calypso biotech)), HLA-DQ2 길항제, HLA-DQ2/DQ8 길항제, tTG 저해제, 예컨대, ERW1041E(글락소스미쓰클라인사(GlaxoSmithKline)) 및 ZED-101/ZED-1227(제디라사(Zedira)), 라라조타이드 아세테이트(알바 쉐라퓨틱스사(Alba Therapeutics)), 라티글루테나제(Latiglutenase)(알빈 파마슈티컬즈사(Alvine Pharmaceuticals)), BL-7010(바이오라인Rx사(BioLineRx)) 및 NexVax-2(이뮤산티사(mmmunsanT))를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0167] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 낭포성 섬유증의 치료에 유용한 작용제일 수 있다. 예시적인 작용제는 이바카프토어(KALYDECO; 버텍스사(Vertex)), 루마카프토어/이바카프토어(Orkambi; 버텍스사), VX-152(버텍스사), VX-440(버텍스사), VX-371(버텍스사), 산화질소, 글리세롤 페닐부티레이트, 리오시구아트(바이엘사(Bayer)), 재조합 AIPI(그리폴스사(Grifols, SA)), 시스템아민 IR, JBT-101(코버스 파마슈티컬즈사(Corbus

Pharmaceuticals)), N-91115(니발리스 쉐라퓨틱스사) 및 반코마이신을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0168] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 비만의 치료에 유용한 작용제이다. 예시적인 작용제는 오르리스타트, 로카세린, 펜터민-토피라메이트, 날트렉손-부프로피온, 시부트라민, 리모나반트, 엑세나타이드, 프람린타이드, 펜터민, 벤즈페타민, 디에틸프로피온, 펜다이메트라진, 부프로피온 및 메트포민을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 다양한 실시형태에서, 추가적인 작용제는 오를리스타트, 글루코만난 및 구아검과 같은 식품의 특정 영양소를 신체가 흡수하는 능력을 방해하는 작용제이다. 식욕을 억제하는 작용제도 추가적인 작용제 중 하나이고, 예를 들어, 카테콜아민 및 이의 유도체(예컨대, 펜터민 및 기타 암페타민계 약물), 다양한 항우울제 및 기분 안정화제(예를 들어, 부프로피온 및 토피라메이트), 식욕 부진제(예를 들어, 텍세드린, 디곡신)이 있다. 신체의 대사를 증가시키는 작용제도 추가적인 작용제 중 하나이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 작용제는 식욕 억제제, 신경전달물질 재흡수 저해제, 도파민 효능제, 세로토닌 효능제, GABA성 신호전달 조절제, 항경련제, 항우울제, 모노아민 옥시다제 저해제, 물질 P(NK1) 수용체 길항제, 멜라노코르틴 수용체 효능제 및 길항제, 리파제 저해제, 지방 흡수 저해제, 에너지 섭취 또는 대사 조절제, 칸나비노이드 수용체 조절제, 중독 치료제, 대사 증후군 치료제, 피옥시즘 증식제 활성화 수용체(PPAR) 조절제; 및 다이펩티딜 펩티다제 4(DPP-4) 길항제로부터 선택될 수 있다. 일부 실시형태에서, 추가적인 작용제는 암페타민, 벤조다이아제핀, 설포닐 유레아, 메글리티나이드, 티아졸리딘다이온, 바이구아나이드, 베타-차단제, ACE 저해제, 이노제, 질산염, 칼슘 채널 차단제, 펜리민, 시부트라민, 로카세린, 세틸리스타트, 리모나반트, 타라나반트, 토피라메이트, 가바펜틴, 발프로에이트, 비가바트린, 부프로피온, 티아가빈, 세르트랄린, 플루옥세틴, 트라조돈, 조니사마이드, 메틸페니데이트, 바레니클린, 날트렉손, 디에틸프로피온, 펜다이메트라진, 레파글리나이드, 나테글리나이드, 글리메피라이드, 피오글리타존, 로지글리타존, 리라글루타이드 및 시타글립틴으로부터 선택될 수 있다.

[0169] 일 실시형태에서, 추가적인 치료제는 당뇨병 전증, 당뇨병, II형 당뇨병, 인슐린 저항성, 포도당 불내성 또는 고혈당증의 치료를 위한 작용제이다. 약물의 예는 알파-글리코시다제 저해제, 아밀린 유사체, 다이펩티딜 펩티다제-4 저해제, GLP1 효능제, 메글리티나이드, 설포닐유레아, 바이구아나이드, 티아졸리딘다이온(TZD) 및 인슐린을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이러한 작용제의 추가 예는 브로모크립틴 및 Welchol을 포함한다. 알파-글루코시다제 저해제의 예는 아카보스 및 미글리톨을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 아밀린 유사체의 예는 프람린타이드이다. 다이펩티딜 펩티다제-4 저해제의 예는 삭사글립틴, 시타글립틴, 빌다글립틴, 리나글립틴 및 아글로글립틴을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. GLP1 효능제의 예는 리라글루타이드, 엑세나타이드, 엑세타타이드 연장 방출형을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 메글리티나이드의 예는 나테글리타이드 및 레파글리나이드를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 설포닐유레아의 예는 클로르프로파마이드, 글리메피라이드, 글리피자이드, 글리부라이드, 톨라자마이드 및 톨부타마이드를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 바이구아나이드의 예는 메트포민, 리오메트(Riomet), 글루코파지(Glucophage), 글루코파지 XR, 글루메차(Glumetza)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 티아졸리딘다이온의 예는 로지글리타존 및 피오글리타존을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 인슐린의 예는 아스파트(Aspart), 데테미어(Detemir), 글라긴(Glargine), 글루리신(Glulisine) 및 리스프로(Lispro)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 조합 약물의 예는 글리피자이드/메트포민, 글리부라이드/메트포민, 피오글리타존/글리메피라이드, 피오글리타존/메트포민, 레파글리나이드/메트포민, 로지글리타존/글리메피라이드, 로지글리타존/메트포민, 삭사글립틴/메트포민, 시타글립틴/심바스타틴, 시타글립틴/메트포민, 리나글립틴/메트포민, 아글로글립틴/메트포민 및 아글로글립틴/피오글리타존을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

[0170] 치료 방법

[0171] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 암을 위한 방사선 요법으로 인한 전장염, 방사선-유도 장병증, 대장염, 및/또는 직장염을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 방사선-유도 장애의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 방사선-유도 장병증은 점막성 위축, 동맥 경화증 및 진행성 장막 섬유증을 특징으로 한다. 장애의 증상은 영양소 흡수 장애, 장 통과 변경, 운동 장애 및 장 내용물의 비정상적인 추진을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 급성 방사선-유도 장병증은 방사선 노출 후 처음 1개월, 처음 2개월 또는 처음 3개월 이내에 일어난다. 일부 실시형태에서, 지연된 방사선 장병증 증상은 만성이며, 방사선 노출 후 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11 또는 적어도 12개월까지 존재하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에서, 지연된 방사선 장병증 증상은 방사선 노출 후 약 3, 약 4, 약 5, 약 6, 약 7, 약 8, 약 9, 약 10, 약 11 또는 약 12개월까지 존재하지 않을 수 있다. 일부 실시형태에서, 지연된 방사선 장병증 증상은 방사선 노출 후 약 1년, 약 2년, 약 3년, 약 4년 또는 약 5년까지 존재하지 않을 수 있다.

[0172] 일부 실시형태에서, 본 발명은 방사선요법을 포함하지만 이들로 제한되지 않는, 방사선에 노출된 대상체에게

AP-기반 작용제의 치료 및/또는 투여를 제공한다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 암 방사선에 대한 노출 이전에, 예를 들어, 치료의 일부로서의 방사선요법 이전에 일어난다. 특정 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 방사선 노출 시간에 일어난다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 방사선 노출 직후 뿐만 아니라 방사선 노출 시간에 일어난다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 방사선 노출 직후에 일어난다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 방사선 노출 후 장기간 계속될 뿐만 아니라 방사선 노출 시간에 일어난다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 방사선에 대한 노출 후 장기간 동안 계속된다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 지연된 방사선 장병증의 개시 시에 일어난다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 방사선에 노출된 적이 있거나 방사선에 노출될 대상체에게 AP-기반 작용제의 치료 및/또는 투여를 제공하며, 여기서 AP-기반 작용제의 투여는 방사선에 대한 노출 후 적어도 1년, 적어도 1.5년, 적어도 2년, 적어도 2.5년, 적어도 3년, 적어도 3.5년, 4년, 적어도 4.5년, 적어도 5년, 적어도 5.5년, 적어도 6년, 적어도 6.5년 또는 적어도 7년 동안 일어난다.

- [0173] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 방사선-관련 질환 또는 장애, 예를 들어, 비제한적으로 방사선요법 또는 ARS의 부작용을 앓고 있는 대상체의 치료 및/또는 이에 대한 투여를 제공한다.
- [0174] 일부 실시형태에서, 본 발명은 방사선 장염을 앓고 있는 대상체의 예방, 치료 및/또는 이에 대한 투여를 제공한다. 예를 들어, 대상체는 급성 또는 만성 방사선 장염을 앓고 있을 수 있다. 방사선 장염의 증상은 메스꺼움, 구토, 위경련, 화장실을 자주 사용하고 싶은 충동, 묽은 설사, 직장 점액 분비물, 직장 통증, 직장 출혈, 체중 감소 및 파동-유사 복통을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0175] 일부 실시형태에서, 본 발명은 AP-기반 작용제를 포함하는, 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방사선-관련 질환 또는 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 방사선-관련 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 방법에 관한 것이다. 예를 들어, 비제한적으로, 제형의 AP-기반 작용제는 IAP이며, 이것은 경구로 투여될 수 있다.
- [0176] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 지연된 방사선 장병증 및/또는 장 독성을 앓고 있는 대상체의 치료 및/또는 이에 대한 투여를 제공한다. 일부 실시형태에서, 지연된 방사선 장병증은 방사선요법 완료 적어도 3개월 후에 일어난다. 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 암을 치료하는 방사선 요법이다. 다양한 실시형태에서, 대상체는 암 환자이다. 일 실시형태에서, 방사선 요법은 골반, 복부 또는 하부 신체에서 종양에 안내된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 본 발명의 치료는 방사선 요법을 포함하지만 이에 제한되지 않는 암 치료를 방해하지 않는다.
- [0177] 다양한 실시형태에서, 방사선은 이온화 방사선을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 방사선은 X선, 감마선 및 하전 입자이다.
- [0178] 다양한 실시형태에서, 방사선 노출은 약 2Gy 또는 약 2.5Gy 또는 약 3Gy 또는 약 3.5Gy 또는 약 4Gy 또는 약 4.5Gy 또는 약 5Gy 또는 약 10Gy, 약 20Gy 또는 약 30Gy 또는 약 40Gy 또는 약 50Gy 또는 약 60Gy 또는 약 70Gy 또는 약 80Gy 또는 약 90Gy 또는 약 100Gy의 선량이다.
- [0179] 다양한 실시형태에서, 방사선 노출은 국소적이거나 전신이다.
- [0180] 일부 실시형태에서, 본 발명은 경구로 투여될 수 있는 AP-기반 작용제, 선택적으로 IAP를 포함하는, 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방사선-관련 질환 또는 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 방사선-관련 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 방법에 관한 것이며, 여기서 방사선-관련 질환 또는 장애는 방사선요법의 부작용의 결과이다.
- [0181] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 예를 들어, 방사선 노출(방사선요법 포함) 및/또는 화학요법의 부작용 또는 결과인 장내 마이크로비옴의 다양성 감소의 예방 또는 감소에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 방사선 노출(방사선요법 포함) 및/또는 화학요법 후 대상체의 장내 마이크로비옴을 복구하고/하거나 재증식시키는 것에 관한 것이다.
- [0182] 일부 실시형태에서, 방사선요법은 1차 요법 또는 보조 요법(예를 들어, 화학요법 사용)으로서 암 치료의 일부일 수 있다. 일부 실시형태에서, 방사선요법은 수술 후 종양 재발을 예방하기 위해서 그리고/또는 원발성 악성 종양을 제거하기 위해서 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, 대상체는 암 환자이다.
- [0183] 일부 실시형태에서, 방사선요법은 듀피트렌병(Dupuytren's disease), 레더호스병(Ledderhose disease)을 위한 치료의 일부일 수 있거나 또는 수술 후 치료의 일부일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 대상체는 듀피트렌병, 레더호스 질환을 앓고 있거나 또는 최근에 수술을 받았다.

- [0184] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 방사선요법의 부작용(급성 부작용, 장기간 부작용 또는 누적 부작용 포함)을 감소시키거나 제거한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 방사선요법의 국소 또는 전신 부작용을 감소시키거나 제거한다. 다양한 실시형태에서, 방사선요법의 부작용은 피로, 메스꺼움 및 구토, 상피 표면에 대한 손상(예를 들어, 비제한적으로, 습성 박리), 입, 목 및 위 염증, 장 불편함(예를 들어, 비제한적으로, 통증, 설사 및 메스꺼움), 부종, 불임, 섬유증, 탈모, 건조증(예를 들어, 비제한적으로, 구강 건조(입마름증) 및 안구 건조증(눈마름증) 및 거드랑이 및 질 점막 건조), 림프부종, 심장 질환, 인지 저하, 방사선 장병증(예를 들어, 비제한적으로, 위축, 섬유증 및 혈관 변화(이것은 회장 침범으로 인해 흔히 발견되는 흡수 장애, 설사, 지방변 및 담즙산 설사 및 비타민 B12 흡수 장애가 동반된 출혈을 초래할 수 있음) 중 하나 이상이다. 골반 방사선 질환은 방사선 직장염, 출혈 발생, 설사 및 긴급성 및 방사선 방광염을 포함한다.
- [0185] 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 골반 방사선요법이다. 이러한 실시형태에서, 경구로 투여될 수 있는 AP-기반 작용제, 선택적으로 IAP를 포함하는 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형은 본 명세서에 기재된 바와 같은 GI-관련 부작용을 감소시키거나 제거한다. 이러한 실시형태에서, 경구로 투여될 수 있는 AP-기반 작용제, 선택적으로 IAP는 본 명세서에 기재된 바와 같은 하반신-관련 부작용을 감소시키거나 제거한다.
- [0186] 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 골반 방사선요법이고, 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형은 방사선 장병증, 위축, 섬유증 및 혈관 변화, 흡수 장애, 설사, 지방변, 담즙산 설사를 동반한 출혈, 흡수 장애(예를 들어, 비타민 흡수 장애, 예를 들어, 비타민 B12 흡수 장애) 중 하나 이상을 감소시키거나 제거한다. 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 골반 방사선요법이고, 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형은 설사 및 긴급성 및 방사선 방광염을 감소시키거나 제거한다.
- [0187] 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 외부-빔 방사선 요법, 근접치료(brachytherapy) 및 전신 방사선 요법 중 하나 이상으로서 전달된다.
- [0188] 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 3차원 등각 방사선 요법(3-dimensional conformal radiation therapy: 3D-CRT), 강도 변조 방사선 요법(intensity-modulated radiation therapy: IMRT, 예를 들어, RAPIDARC), 이미지-가이드 방사선 요법(image-guided radiation therapy: IGRT), 전자기-가이드 방사선 요법(예를 들어, CALYPSO) 토모쉴라피, 정위 방사선수술(stereotactic radiosurgery: SRS), 정위 신체방사선 요법(SBRT, 예를 들어, CYBERKNIFE, GAMMAKNIFE, X-KNIFE, CLINAC), 수술 중 방사선 요법(IORT) 및 양성자 요법으로부터 선택된 외부-빔 방사선 요법이다.
- [0189] 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 간질(interstitial) 근접치료, 강내(intracavitary) 근접치료, 공막외(episcleral) 근접치료로부터 선택된 근접치료이다.
- [0190] 다양한 실시형태에서, 방사선 요법은 방사성 아이오딘 및 방사성 생물학적 제제로부터 선택되는 전신 방사선 요법이다. 예를 들어, 방사선요법은 방사성 아이오딘(131I), 이브리투모맵 티옥세탄(ZEVALIN), 토시투모맵 및 아이오딘 I 131 토시투모맵(BEXXAR), 사마륨-153-렉시드로남(QUADRAMET) 및 스트론튬-89 클로라이드(METASTRON) 일 수 있다.
- [0191] 다양한 실시형태에서, 방사선요법은 선택적으로 분할된(fractionated) 약 20Gy 또는 약 30Gy 또는 약 40Gy 또는 약 50Gy 또는 약 60Gy 또는 약 70Gy 또는 약 80Gy 또는 약 90Gy 또는 약 100Gy의 선량을 포함한다.
- [0192] 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 방사선-관련 질환 또는 장애의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 방사선-관련 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 방법에 관한 것이며, 여기서 사선-관련 질환 또는 장애는 급성 방사선 증후군이다.
- [0193] 일부 실시형태에서, ARS는 위장 증후군; 조혈 증후군; 신경혈관 증후군; 아포토시스-매개 조직 손상(여기서 아포토시스는 선택적으로 세포 스트레스에 기인함); 및 이온화 방사선 유도 아포토시스 조직 손상 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, 고선량의 방사선(예를 들어, 이온화 방사선)은 약 5 내지 약 30Gy 또는 약 10 내지 약 25Gy 또는 약 15 내지 약 20Gy이고, 선택적으로, RES 3의 단위 방사선 노출 상태 분류에 충분하다. 다양한 실시형태에서, 고선량의 방사선은 방사선 재해의 결과이고/이거나 치료될 인간 환자는 군사 작전 또는 오염된 지역에서의 최초 대응 작전; 핵폭발; 임계 사고; 방사선요법 사고; 테러 공격; 우주 여행으로부터의 노출; 방사성 폐기물의 노출; 오픈 소스 방사선에 대한 노출; 및 원자로 오작동 중 하나 이상의 결과로서 고선량의 방사선에 노출된 적이 있거나 이에 노출될 위험이 있다.
- [0194] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 ARS와 같은 방사선-관련 장애의 치료 또는 예방을 제공한다.

다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 치료는 인간 환자의 노출된 집단의 이환율 또는 사망률을 감소시키고/시키거나 ARS의 증상으로부터의 회복을 가속화한다. ARS는 종종 개인의 방사선 민감도, 방사선 유형 및 흡수된 방사선량에 따라 달라질 수 있는 일련의 단계적 증상으로 나타난다. 일반적으로, 이론에 얽매이고자 함은 아니지만, 방사선량이 증가함에 따라 증상의 정도가 증가하고, 각각의 단계의 기간이 단축될 것이다. ARS는 전구기(N-V-D기라고도 함), 잠복기 및 현성 질병의 3단계로 나눌 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형은 이들 3개 단계 중 어느 하나에서 인간 환자에게 투여될 수 있다 (즉, AP-기반 작용제는 전구기에 인간 환자에게 투여될 수 있거나, AP-기반 작용제는 잠복기에 인간 환자에게 투여될 수 있거나, AP-기반 작용제는 현성 질병기에 인간 환자에게 투여될 수 있다).

- [0195] 전구기에서는 종종 메스꺼움, 구토 및 권태감이 비교적 신속하게 발병한다. 고선량 방사선 피폭이 발생했거나 발생할 가능성이 있거나 이를 피할 수 없는 상황에서는 그라니세트론(KYTRIL), 온단세트론(ZOFTRAN) 및 텍사메타손을 포함하거나 포함하지 않는 5-HT3 차단제와 같은 항구토제(예를 들어, 경구 예방적 항구토제)의 사용이 지시될 수 있다. 따라서, 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 항구토제를 제공받을 때 인간 환자에게 투여될 수 있거나, AP-기반 작용제는 항구토제와 조합하여 인간 환자에게 투여될 수 있다. 예를 들어, AP-기반 작용제는 하기 항구토 요법에 추가될 수도 있다: 온단세트론: 초기에 0.15mg/kg IV; 연속 IV 용량 선택은 다음 24시간 동안 8mg, 그 다음 1mg/h로 이루어진다. 경구 용량은 필요에 따라 8시간마다 8mg 또는 그라니세트론(경구 투여 형태): 용량은 일반적으로 초기에 1mg이고, 첫 투여 후 12시간 후 반복. 대안적으로 2mg을 1회 복용할 수 있다. IV 용량은 체중을 기준으로 한다: 전형적으로 10µg/kg 체중(4.5µg/lb).
- [0196] 잠복기 기간에, 인간 환자는 비교적 무증상일 수 있다. 이 단계의 길이는 용량에 따라 달라진다. 잠복기는 조혈 증후군의 골수 억제 이전에 가장 길며, 약 2주 내지 6주 사이에서 달라질 수 있다. 잠복기는 위장 증후군 이전에 다소 짧으며, 수일 내지 일주까지 지속된다. 그것은 신경혈관 증후군 이전의 모든 것 중 가장 짧고, 몇 시간만 지속된다. 이 시간은 가변적이며 다른 질환 또는 부상의 존재에 의해 변형될 수 있다. 현성 질병은 손상된 주요 장기 시스템(골수, 장, 신경혈관)과 관련된 임상 증상과 함께 나타난다.
- [0197] 일부 실시형태에서, 본 발명은 방사선에 대한 노출의 영향을 완화하거나 이로부터 세포를 보호하는 것에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 AP-기반 작용제를 투여하는 것을 포함하는 방사선으로부터 인간 환자를 완화 및/또는 보호하는 방법에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 방사선은 이온화 방사선이다. 일부 실시형태에서, 이온화 방사선은 위장관 증후군 또는 조혈 증후군을 유발하기에 충분하다.
- [0198] 일부 실시형태에서, ARS는 위장 증후군; 조혈 증후군; 신경혈관 증후군; 아포토시스-매개 조직 손상(여기서 아포토시스는 선택적으로 세포 스트레스에 기인함); 및 이온화 방사선 유도 아포토시스 조직 손상 중 하나 이상을 포함한다.
- [0199] 조혈 증후군(골수 증후군이라고도 함)은 조혈 세포 이의 그의 전구 세포의 손실을 특징으로 하여 혈액 및 림프계를 재생하는 것을 불가능하게 한다. 이 증후군은 종종 혈액 세포 수의 감소, 즉 재생 불량성 빈혈로 표시된다. 이것은 적은 양의 백혈구로 인한 감염(예를 들어, 기회 감염), 혈소판 부족으로 인한 출혈, 순환계 중의 적은 적혈구 수로 인한 빈혈을 초래할 수 있다. 이러한 변화는 전신 급성 용량을 제공받은 후 혈액 검사로 검출될 수 있다. 폭탄 폭발로 인한 기존의 외상 및 화상은 조혈 증후군으로 인한 상처 치유 불량으로 인해 복잡해지고 사망률이 증가한다. 감염(예를 들어, 면역억제의 결과), 출혈 및/또는 빈혈의 결과로 사망할 수 있다. 조혈 증후군은 일반적으로 더 낮은 선량의 방사선에서 우세하며, GI 증후군보다 더 지연된 사망을 초래한다.
- [0200] 위장관 증후군은 장 상피, 주로 소장에서 대량의 세포 사멸에 의해 야기되고, 이어서 장 벽의 붕괴 및 세균혈증 및 패혈증이 이어진다. 이러한 형태의 방사선 손상의 증상은 메스꺼움, 구토, 식욕 저하, 흡수 능력 손실, 벗겨진 부위의 출혈 및 복통을 포함한다. 위장관 증후군의 예시적인 전신 효과는 영양실조, 탈수, 신부전, 빈혈, 패혈증 등을 포함한다. 치료 없이(예를 들어, 골수 이식 포함)는, 사망이 일반적이다(예를 들어, 장내 박테리아 감염을 통해). 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 골수 이식과 조합하여 사용될 수 있다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 GI 증후군의 1종 이상의 저해제 및/또는 본 명세서에 기재된 임의의 추가적인 작용제와 조합하여 사용될 수 있다.
- [0201] 신경혈관 증후군은 수분 내지 수시간 내에 발생하고 구토가 없는 현기증, 두통 또는 의식 수준 감소와 같은 신경 증상을 나타낸다. 추가 증상은 극심한 긴장 및 혼란; 심한 메스꺼움, 구토 및 물 설사; 의식 소실; 및 피부의 불타는 감각을 포함한다. 신경혈관 증후군은 일반적으로 치명적이다.
- [0202] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 방사선 유발성 장 섬유증의 치료 및/또는 예방을 제공한다.

다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 방사선-유도 장 섬유증의 치료 및/또는 예방을 제공한다. 일부 실시형태에서, 방사선-유도 장 섬유증은 장 염증, 장 섬유증, 동맥 경화증, 만성 궤양, 점막하 비대, 강화된 섬유모세포 및 평활근 세포 증식 및 콜라겐 및 기타 세포외 기질 성분의 과도한 침착 중 하나 이상을 포함한다.

[0203] 일부 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 AP-기반 작용제를 투여하는 것을 포함하는, 방사선 조사에 대한 노출 후 사망 위험을 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 방사선은 잠재적으로 치명적이며, 선택적으로 방사선 재해의 결과로 발생한다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 방사선 노출 후 24시간 이내에 투여된다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 방사선 노출 후 48시간 이내에 투여된다.

[0204] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제 변형 방출형 제형은 방사선보호제(예를 들어, 항산화제(예를 들어, 아미포스틴 및 비타민 E), 사이토카인(예를 들어, 줄기세포 인자)) 등을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 본 명세서에 기재된 임의의 추가적인 작용제와 조합하여 투여된다. 이온화 방사선으로부터의 정상 세포의 손상 및 사멸은 노출된 세포에 대한 직접적인 방사선-유도 손상 및 자살 사멸 또는 아포토시스를 초래하는 방사선-유도 스트레스에 대한 활성 유전적으로 프로그램된 세포 반응의 조합이다. 아포토시스는 여러 방사선에 민감한 기관(예를 들어, 조혈 및 면역계, 소화관 상피 등)에서 발생하는 대규모 세포 손실에 중요한 역할을 하며, 이의 실패는 유기체의 일반적인 방사선 민감도를 결정한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제를 이를 필요로 하는 인간 환자에게 투여하면 세포에서 아포토시스가 억제된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 방사선 치료의 손상 효과로부터 건강한 세포를 보호하기 위해 인간 환자에게 투여된다.

[0205] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 방사선 조사에 대한 노출 후 아포토시스를 감소시키는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 방사선 조사 후 조혈 세포의 아포토시스를 감소시키는 방법을 제공한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 방사선 조사 후 위장관 세포의 아포토시스를 감소시키는 방법을 제공한다.

[0206] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 줄기세포를 자극하고 보호한다. 예를 들어, 본 발명 및 조성물은 다양한 조혈 전구 세포를 포함하는 조혈 줄기세포를 자극하고 보호할 수 있다. 또 다른 예에서, 본 발명 및 조성물은 창자염(intestinal crypt) 줄기 세포와 같은 위장관 줄기 세포를 자극하고 보호할 수 있다. 일부 실시형태에서, 줄기 세포는 증식 및 재생하도록 자극될 수 있다. 따라서, 본 발명은 환자에서 조혈 줄기 세포 또는 위장관 줄기 세포와 같은 줄기 세포의 수를 확장하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 조혈 전구 세포 또는 위장관 전구 세포가 확장된다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 줄기 세포 또는 전구 세포를 세포 사멸(예를 들어, 아포토시스 또는 괴사)로부터 보호하는 방법 및 조성물을 제공한다.

[0207] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 방사선 조사 후 조혈 및 GI 시스템의 회복을 상당히 향상시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법 및 조성물은 방사선 조사 후 골수 회복을 향상시킨다. 또 다른 예에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 GI 염(GI crypt)의 재생을 향상시킨다.

[0208] 이온화 방사선(IR)에 대한 노출은 단기 또는 장기일 수 있고/있거나 단일 또는 다중 투여로 경험될 수 있고/있거나 전신 또는 국지적으로 적용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 명세서에 추가로 기재된 바와 같이 전신 방사선 조사의 단일 고선량(때로는 방사성 동위원소에 의한 장기간 중독이 뒤따름)에 대한 노출을 수반할 수 있는 핵 사고 또는 군사 공격에 관한 것이다. 이것은 예를 들어, 예를 들어, 숙주 혈액 전구체로부터 조혈 기관을 "청소"하여 기증자의 골수를 위한 조혈 기관을 준비할 필요가 있을 때 골수 이식을 위해 환자를 전처리하는 경우에도 마찬가지이다. 암 치료는 전신 방사선 조사(예를 들어, 방사선요법 사고)로 적용되는 경우 치사 선량을 크게 초과하는 다중 선량의 국소 방사선 조사를 포함할 수 있다. 중독 또는 방사성 동위원소로 치료하면 표적 장기(예를 들어, 125I 흡입의 경우 갑상선)가 방사선에 장기간 국소 노출된다. 추가로, 생물학적 영향의 심각도가 크게 다른 많은 물리적 형태의 이온화 방사선이 존재한다.

[0209] 분자 및 세포 수준에서, 방사선 입자는 DNA, 단백질, 세포막 및 다른 거대분자 구조에서 파손 및 가교를 생성할 수 있다. 이온화 방사선은 또한 자유 라디칼과 및 활성 산소종(ROS)을 발생시킴으로써 세포 성분에 2차 손상을 유도한다. 다중 수선 시스템은 DNA의 무결성과 및 충실도를 복원하는 여러 DNA 수선 경로, 자유 라디칼 및 ROS를 포획하고 산화된 단백질 및 지질을 감소시키는 항산화 화합물질 및 효소와 같은 이러한 손상에 대응한다. 세포 면역관문 시스템은 DNA 결함을 검출하고, 손상이 수선되거나 세포가 성장 정지 또는 세포 예정사(아포토시스)에 도달할 때까지 세포 주기 진행을 지연시킨다.

[0210] 방사선은 저선량의 약한 돌연변이 및 발암성 효과에서 고선량에 의한 거의 즉각적인 사멸에 이르기까지 포유동물 유기체에 손상을 일으킬 수 있다. 유기체의 전반적인 방사선 감도는 조혈계, 생식계 및 높은 세포 회전율을 갖는 다양한 상피를 포함하는 몇몇 민감한 조직에서 발달된 병리학적 변경에 의해 결정된다.

- [0211] 사망에 이르는 감마선 조사의 급성 병리학적 결과는 상이한 선량에 대해서 상이하고, 각각의 특정 선량에 대한 유기체 감도 역치를 정의하는 특정 기관의 기능 부전에 의해 결정될 수 있다. 따라서, 낮은 선량에서의 치사율은 골수 무형성으로 인해 발생하는 반면, 중간 선량은 위장관(GI) 증후군을 유도함으로써 더 빨리 사망하게 한다. 매우 높은 선량의 방사선은 신경 변성을 유발하는 거의 즉각적인 사망을 유발할 수 있다. 방사선의 급성 독성 기간 동안 살아남은 유기체는 방사선 조사 후 수개월 및 수년 내에 노출된 장기(예를 들어, 신장, 간 또는 폐)에서 발생하는 방사선 유발 발암 및 섬유증을 포함하는 장기간 원격 결과로 고통받을 수 있다. 세포 DNA는 직접적 및 간접적(예를 들어, 자유 라디칼-기반) 기전에 의해 다양한 유형의 DNA 손상(유전 독성 스트레스)을 유발하는 IR의 주요 표적이다. 모든 유기체는 방사선-손상된 DNA를 효과적으로 복구할 수 있는 DNA 수선 시스템을 유지하고; DNA 수선 과정에서의 오류는 돌연변이로 이어질 수 있다.
- [0212] AP-기반 작용제는 세포 수준 및 유기체 전체에서 강력한 생존 촉진(pro-survival) 활성을 갖는다. 초치사(super-lethal) 선량의 방사선에 응답하여, AP-기반 작용제는 급성 방사선 노출로 인한 주요 사망 원인인 위장관 및 조혈 증후군을 모두 저해할 수 있다. 이러한 특성의 결과로서, AP-기반 작용제는 자연 방사선 사건 및 원자력 사고의 영향을 치료하는 데 사용될 수 있다. 또한, AP-기반 작용제는 다른 방사선보호제와 조합하여 사용할 수 있기 때문에, 이온화 방사선에 대한 보호 규모를 극적으로 증가시킬 수 있다.
- [0213] AP-기반 작용제는 예를 들어, 현재 이용 가능한 조치(차폐 및 기존 생물보호제의 적용)에 의해 달성 가능한 수준을 초과하게 인간 유기체의 방사선저항을 증가시킴으로써 용인 가능한 방사선량의 범위를 확장하기 위한 방사선보호제로 사용될 수 있고, 예를 들어, 원자력 사고 또는 대규모 태양 입자 사건의 경우 승무원 생존 가능성을 극적으로 증가시킬 수 있다.
- [0214] AP-기반 작용제는 DNA 및 다른 세포 구조의 손상에 반응하여 방사선-유도 세포 예정사 또는 아포토시스를 저해할 수 있다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 세포 수준에서 손상을 처리하지 않을 수 있고 돌연변이를 예방하지 않을 수 있다. 자유 라디칼 및 반응성 산소종(ROS)은 돌연변이 및 기타 세포내 손상의 주요 원인이다. 항산화제 및 자유 라디칼 포획제가 자유 라디칼에 의한 손상을 예방하는 데 효과적이다.
- [0215] 추가로, 일부 실시형태에서, 본 발명은 피부 방사선 증후군(CRS), 즉, 방사선 노출의 피부 증상(예를 들어, 발적(선택적으로 가려움증과 관련됨), 수포, 궤양, 탈모, 피지선 및 땀샘 손상, 위축, 섬유증, 피부 색소침착 감소 또는 증가, 노출된 조직의 궤양 또는 괴사, 2개월 후 진피 혈관계의 붕괴 및 습성 박리, 노출된 피부의 전체 두께의 손실 초래의 예방 또는 치료에 관한 것이다.
- [0216] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제의 투여는 방사선 조사 후 환자에서 상처, 패혈증 합병증 및 미생물 감염의 발병률을 감소시킨다.
- [0217] 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간 환자는 백혈구 감소증 및/또는 호중구 감소증(예를 들어, 절대 호중구 수치(ANC)<100개 세포/ $\mu\text{l}$ )을 경험한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 약 24 내지 약 48시간 내에 약 50%의 림프구 수치 감소를 나타내는 인간 환자에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 인간 환자의 림프구 수치는 약 1000개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 900개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 800개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 700개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 600개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 500개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 400개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 300개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 200개 세포/ $\mu\text{l}$  또는 약 100개 세포/ $\mu\text{l}$ (예를 들어, 약 24 내지 약 48시간 이내) 미만이다. 일부 실시형태에서, 환자의 림프구 프로파일은 앤드류스 림프구 노모그램(문헌[Andrews GA, Auxier JA, Lushbaugh CC. The Importance of Dosimetry to the Medical Management of Persons Exposed to High Levels of Radiation. In Personal Dosimetry for Radiation Accidents. Vienna: International Atomic Energy Agency; 1965] 참고, 이의 내용은 본 명세서에 참조에 의해 포함됨)에 의해서 평가된다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 약 24 내지 약 48시간 내에 약 50%의 혈소판 수치 감소를 나타내는 인간 환자에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 인간 환자는 혈소판 감소증, 빈혈 및/또는 호중구 감소증을 경험한다. 혈소판 감소증은 혈소판 수치가 50,000/ $\mu\text{l}$  미만인 경우로 정의된다. 예를 들어, 혈소판 감소증은 1등급 혈소판 감소증(즉, 혈소판 수치 75,000 내지 150,000/ $\mu\text{l}$ ), 2등급(즉, 혈소판 수치 50,000 내지 75,000/ $\mu\text{l}$  미만), 3등급(혈소판 수치 25,000 내지 50,000/ $\mu\text{l}$  미만) 또는 4등급(즉, 혈소판 수치 25,000/ $\mu\text{l}$  미만)을 특징으로 할 수 있다. 빈혈은 남성에서는 헤모글로빈 함량 13 내지 14g/dl 미만이고, 여성에서는 헤모글로빈 함량 12 내지 13g/dl인 것으로 진단될 수 있다. 예를 들어, 빈혈은 헤모글로빈 수준에 기초하여 다양한 등급으로 나뉜다: 0등급(정상 한계 내, 12g/dl 이상); 1등급(약함, 11.9 내지 10g/dl); 2등급(보통, 9.9 내지 8g/dl); 3등급(심각한/중증, 7.9 내지 6.5g/dl); 및 4등급(생명을 위협함, 6.5g/dl 미만). 호중구 감소증은 절대 호중구 수치(ANC)가 1,500개 세포/ $\text{mm}^3$  미만인 것으로 정의될 수 있다. 예를 들어, 호중구 감소증은 1등급(ANC 1,500/ $\text{mm}^3$  이하 내지 2,000/ $\text{mm}^3$  초과), 2등급(ANC 1,000/ $\text{mm}^3$  이하 내지

1,500/mm<sup>3</sup> 초과), 3등급(ANC 500/mm<sup>3</sup> 이하 내지 1,000/mm<sup>3</sup> 초과) 또는 4등급(ANC 500/mm<sup>3</sup> 미만)으로 등급 매겨진다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 조성물은 방사선 조사 후 환자에서 혈소판 감소증, 빈혈 및/또는 호중구 감소증의 기간 및 중증도를 감소시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법 및 조성물은 방사선 조사 후 환자에서 4등급의 혈소판 감소증, 빈혈 및/또는 호중구 감소증의 기간 및 중증도를 감소시킨다.

- [0218] 다양한 실시형태에서, 고선량의 방사선은 전신 선량을 지칭한다. 다양한 실시형태에서, 고선량의 방사선은 균일하지 않을 수 있다. 다양한 실시형태에서, ARS는 고선량의 방사선의 결과이다. 다양한 실시형태에서, 고선량의 방사선은 약 2Gy 또는 약 2.5Gy 또는 약 3Gy 또는 약 3.5Gy 또는 약 4Gy 또는 약 4.5Gy 또는 약 5Gy 또는 약 10Gy 또는 약 15Gy 또는 약 20Gy 또는 약 25Gy 또는 약 30Gy이다. 다양한 실시형태에서, 고선량의 방사선은 약 5 내지 약 30Gy 또는 약 10 내지 25Gy 또는 약 15 내지 20Gy이다. 일부 실시형태에서, 고선량의 방사선은 물리적 선량 측정 및/또는 생물학적 선량 측정(예를 들어, 다중 매개변수 선량 평가), 세포 생성(예를 들어, 혈액 샘플에 대한 염색체 분석(비제한적인 예의 방식으로, 이십 분석 포함)에 의해서 평가된다.
- [0219] 다양한 실시형태에서, 전신 방사선량은 준치사(2Gy 미만), 잠재적으로 치사(2 내지 10Gy) 및 전치사(supralethal)(10Gy 초과)으로 분할될 수 있다.
- [0220] 주어진 단위의 방사선 노출 상태(RES)는 정상 배경 방사선을 초과하는 작업 노출을 기반으로 한다. 그것은 단위 수준 선량계에 기초하여 평균이도록 설계된다. 다양한 실시형태에서, 고선량의 방사선은 RES 3의 단위 방사선 노출 상태의 분류에 충분하다.
- [0221] 다양한 실시형태에서, 방사선은 이온화 방사선(예를 들어, 알파 입자, 베타 입자, 감마선 및 중성자 중 하나 이상)이다. 다양한 실시형태에서, 방사선이 원자와 상호작용할 때, 에너지가 침착되어 이온화(전자 여기)가 생성된다. 이러한 이온화는 직접 및 간접 작용에 의해 세포 내의 특정 중요한 분자 또는 구조를 손상시킬 수 있다. 방사선은 세포에서 특히 민감한 원자나 분자를 직접 공격할 수 있다. 이로 인한 손상은 회복될 수 없고; 이 세포는 죽거나 기능 이상을 유발한다. 방사선은 또한 신체의 물 분자와 상호작용하여 간접적으로 세포를 손상시킬 수 있다. 물에 축적된 에너지는 불안정적이고 독성이 있는 과산화물 분자를 생성하고; 이들은 민감한 분자를 손상시키고, 세포 내 구조에 영향을 미친다.
- [0222] 일부 실시형태에서, 방사선은 다음 방사성 물질 중 하나 이상에 의해 유발될 수 있다: 아메리슘(예를 들어, <sup>241</sup>Am), 세슘(예를 들어, <sup>137</sup>Cs), 코발트(예를 들어, <sup>60</sup>Co), 우라늄(예를 들어, 감손 우라늄), 아이오딘(예를 들어, <sup>131</sup>I, <sup>132</sup>I, <sup>134</sup>I, <sup>135</sup>I), 인(예를 들어, <sup>32</sup>P), 플루토늄(예를 들어, <sup>238</sup>Pu, <sup>239</sup>Pu), 라듐(예를 들어, <sup>226</sup>Ra), 스트론튬(예를 들어, <sup>90</sup>Sr), 삼중수소(예를 들어, <sup>3</sup>H) 및 우라늄(예를 들어, <sup>235</sup>U, <sup>238</sup>U, <sup>239</sup>U).
- [0223] 다양한 실시형태에서, 고선량의 방사선은 방사선 재해의 결과이다. 다양한 실시형태에서, 인간 환자는 군사 작전 또는 오염된 지역에서의 최초 대응 작전; 핵폭발; 임계 사고; 방사선오염 사고; 테러 공격; 우주 여행으로부터의 노출; 방사성 폐기물의 노출; 오픈 소스 방사선에 대한 노출; 및 원자로 오작동 중 하나 이상의 결과일 수 있는 고선량의 방사선에 노출된 적이 있거나 이에 노출될 위험이 있다.
- [0224] 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 화학요법 치료의 부작용의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다.
- [0225] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 화학요법 치료의 부작용을 앓고 있는 대상체의 치료 및/또는 이에 대한 투여를 제공한다.
- [0226] 일부 실시형태에서, 화학요법 치료의 부작용은 탈모, 골수억제, 신장 독성, 체중 감소, 통증, 구역, 구토, 설사, 변비, 빈혈, 영양실조, 모발 손실, 저림, 미각 변화, 식욕 부진, 앓은 또는 부스러지는 모발, 구내염, 기억력 저하, 출혈, 심장독성, 간독성, 귀독성 및 화학요법 후 인지 장애로부터 선택된다.
- [0227] 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 화학요법 치료 효과의 개선을 필요로 하는 대상체에서 화학요법 치료의 효과를 개선시킴으로써 암을 치료하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형은 본 명세서에 기재된 화학요법 치료에 대한 보조제로서 작용한다. 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형은 항암 효과를 개선하고/하거나 본 명세서에 기재된 임의의 화학요법 치료의 치료 범위를 증가시킨다. 다양한 실시형태에서, 대상체에게 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형을 투여하는 것은 암의 치료를 방해하지 않는다.
- [0228] 특정 양상에서, 본 발명은 추가로 대상체의 노쇠를 개선 또는 감소 및/또는 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 노쇠 치료 또는 예방을 원하거나 필요로 하는 대상체를 식별하는 단계 및 대상체에게 본 명

세서에 기재된 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형을 투여하는 단계를 포함한다.

- [0229] 노화는 시간이 지남에 따라 진행되는 포유동물 유기체의 점진적인 전신 병리학적 변형이다. 그것은 다발성 장기 및 조직 기능의 다중 결핍의 축적, 죽상 동맥 경화증, 당뇨병, 폐 섬유증, 실명, 치매, 신장 기능 장애, 골관절염 및 저등급 만성 무균 염증뿐만 아니라 본 명세서에서 고려되는 기타 연령-관련 질환 및 장애를 비롯한 연령-관련 만성 질환 또는 장애의 발달로 이어지는 재생 능력 감소와 연관된다. 이러한 병태는 종종 허약함, 인지 장애 및 부동성을 포함한 노인 증후군의 점진적인 발달과 일치한다. 노화는 자연스럽게 피할 수 없는 과정이다. 노화의 근본적인 원인은 여전히 논란의 여지가 있지만; 노화의 두 가지 특징이 일반적으로 보편적인 것으로 받아들여지고 있다: DNA 손상의 증가 및 전신성 무균 만성 염증의 발달(둘 다 연령-관련 병리의 주요 기여자로 간주됨).
- [0230] 일부 실시형태에서, 본 발명은 대상체의 PFI 점수의 감소에 의해 측정된 바와 같이 대상체에서 노쇠를 개선 또는 감소 및/또는 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 대상체에서 노쇠를 개선 또는 감소 및/또는 치료 또는 예방하기 위한 본 발명의 방법 및 조성물은 시간 경과에 따라 PFI 점수를 유지하여 본 발명의 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형이 투여되지 않은 대상체보다 점수가 더 느린 속도로 증가되도록 하는 것을 포함한다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 환자의 PFI 점수는 시간이 경과에 따라서 거의 동일하게 유지된다. 추가 실시형태에서, 본 발명의 방법은 자연 노화 및/또는 가속화된 노화(예를 들어, 암 또는 암 치료에 의해 유도된 가속화된 노화)와 관련된 세포 노화 및 면역노화의 감소를 제공한다.
- [0231] 또 다른 양상에서, 본 발명은 대상체에서 연령-관련 질환 또는 장애를 치료하거나 예방하는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 연령-관련 질환의 치료 또는 예방을 원하거나 필요로 하는 대상체를 식별하는 단계 및 상기 대상체에게 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형을 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시형태에서, 연령-관련 질환 또는 장애는 증가된 세포 노화 또는 면역노화를 특징으로 한다.
- [0232] 일부 실시형태에서, 연령-관련 질환 또는 장애는 가속된 노화, 심혈관 질환, 뇌혈관 질환, 말초 혈관 질환, 심장 확장기 기능장애, 양성 전립선 비대, 대동맥류, 폐기종, 죽상동맥경화증, 당뇨병, 폐 섬유증, 실명, 치매, 알츠하이머 병, 신장 기능 장애, 골관절염, 저급 만성 무균 염증, 추간관 탈출증, 허약, 탈모, 청력 상실, 시력 상실, 근육 피로, 피부 질환, 피부 모반, 주름진 피부, 색소 침착, 흉터, 켈로이드, 주사비, 백반증, 심상성 어린선, 피부근염, 광선각화증 및 근육감소증으로부터 선택된다.
- [0233] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 가속된 노화를 치료하거나 예방하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 가속된 노화는 허친슨-길포드 조로증 증후군(Hutchinson-Gilford progeria syndrome: HGPS), 베르너 증후군(Werner syndrome: WS), 블룸 증후군(Bloom syndrome: BS), 로스문트-툼슨 증후군(Rothmund-Thomson syndrome: RTS), 코카인 증후군(Cockayne syndrome: CS), 색소성 건피증(xeroderma pigmentosum: XP), 선모충 이영양증(trichothiodystrophy: TTD), 복합 색소성 건피증-코케인 증후군(pigmentosum-Cockayne syndrome: XP-CS) 또는 제한성 피부병증(restrictive dermopathy: RD)을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 프로게로이드 증후군(Progeroid syndrome) 또는 이의 증상이다. 이러한 질환 또는 장애 중 하나를 가진 대상체는 전형적으로 장수(즉, 수명)가 감소하였다.
- [0234] 추가 실시형태에서, 가속된 노화는 암 또는 암 치료에 의해 유도된다. 예를 들어, 자연 노화 과정에서 축적을 유도하는 암 치료는 방사선요법, 호르몬, 티로신 키나제 저해제, 안트라사이클린, 알킬화제, 토포아이스머라제 저해제, 대사물질/세포독성 약물, BRAF 저해제, 항중양 항생제, 아이소퀴놀롤린 알칼로이드, Bcl-2 저해제, 조혈 세포 이식(HCT), 텔로머라제 저해제, 뉴클레오사이드 유사체 역전사효소 저해제, DNA 가교제, 리보뉴클레오타이드 리덕타제 저해제, 미세소관 저해제 및 miRNA로 이루어진 하나 이상의 요법으로부터 선택된다고 본 발명에서 고려된다.
- [0235] 일부 실시형태에서, 대상체가 가속화된 노화를 유도할 수 있는 치료를 제공받는 임의의 암이 고려된다. 일 실시형태에서, 대상체가 치료를 받는 암은 혈액암이다. 또한, 일부 실시형태에서, 대상체는 유아기에 암 치료를 받았다.
- [0236] 일부 실시형태에서, 노쇠는 주요 생리학적 기능의 결핍 축적, 재생 능력의 감소, 상처 치유 장애 및 노화-관련 질환의 위험 증가를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 노쇠는 자연 노화 또는 가속된 노화와 관련이 있다. 노쇠는 당뇨병자에게 공지된 임의의 수의 지표 또는 시험에 따라 측정될 수 있다. 예를 들어, 이러한 지표 중 하나인 생리학적 노쇠 지수(Physiological Frailty Index: PFI)는 악력, 수축기 혈압, 이완기 혈압, 혈류량, 혈액 호중구 수, 혈액 호중구 백분율, 혈액 단핵구 수, 혈액 단핵구 비율, 림프구 수, 적혈구 수, 헤모글로빈

수준, 헤마토크릿 수준, 평균 미립자 부피, 평균 미립자 헤모글로빈 수준, 평균 미립자 헤모글로빈 농도 및 각 질세포-유래 사이토카인 수준으로부터 선택된 하나 이상의 매개변수의 측정치를 포함한다. 임의의 하나의 개체에서 기준 표준으로부터의 편차는 결론으로 알려져 있으며, 개체의 전체 평균 PFI 점수는 측정된 총 매개변수 수에 대한 결론의 비율이다.

[0237] 노쇠는 스트레스 요인에 대한 취약성 및 스트레스를 견디는 능력 감소로 나타날 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Buchner and Wagner 1992 Clin Geriatr Med. 1992 Feb;8(1):1-17]의 개시내용은 이의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 포함된다. 노쇠는 항상성 기전의 복잡성(예를 들어, 상호연결성 및/또는 피드백 또는 피드포워드)의 손실로 나타날 수 있다. 예를 들어, 문헌[Lipsitz 2002 J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2002 Mar;57(3):B115-25]의 개시내용은 이의 전문이 참조에 의해 본 명세서에 포함된다. 노쇠는 또한 전문이 참조에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Bortz 2002, J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2002 May;57(5):M283-8]에 기재된 바와 같이, 유기체를 통한 에너지 흐름의 사용 중지 및/또는 감소로 나타날 수 있다. 노쇠는 또한 전문이 참조에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Ferrucci 2005 J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 60, 56]에 기재된 바와 같이 항상성 조절장애로 나타날 수 있다.

[0238] 인간 및 동물에서 노화-관련 결론 및 노쇠 측정의 정량적 평가를 위한 여러 포괄적인 접근법이 존재한다. 개별 유기체는 건강 상태 및 노화 속도가 이질적이다. 이러한 이질성을 설명하기 위해서, 본 연구에서 고려된 총 결론 수에 대한 개인에게 존재하는 결론의 비율인 노쇠 지수(Frailty Index, FI)가 숫자 점수로 도입되었다. FI의 변화는 개인의 노화 속도를 특징으로 한다. 유사한 접근 방식이 실험 동물에 적용되었다. 노쇠 지수는 "생물학적 연령" 및 삶의 질 저하를 나타내는 전반적인 건강 쇠퇴 정도의 신뢰할 수 있고 널리 받아들여지는 척도로 간주된다.

[0239] 특정 양상 및 실시형태에서, 본 명세서에서 제공되는 방법은 대상체에서 노쇠를 개선 및/또는 치료 또는 예방하고/하거나 노쇠 지수를 감소시키는 방법을 포함한다. 노쇠는 당업계에 공지된 임의의 많은 방법으로 평가될 수 있다. 예를 들어, 노쇠 및 노쇠를 평가/색인하는 방법은 모두 참조에 의해 포함된 문헌[Hubbard, et al., Ageing, published electronically November, 2008 page 115-118; Cesari, et al., Age and Ageing, 43:10-12, 2014; 및 Mohler et al., Experimental Gerontology, 54:6-13, 2014]에 기재되어 있다.

[0240] 다양한 실시형태에서, 노쇠 지수는 본 명세서에 참조에 의해 포함된 미국 특허 출원 공개 제2015/0285823호에 기재된 바와 같이 계산된다. 예를 들어, 노쇠 지수의 결정에 대한 설명이 제공된다. 노쇠 지수는 생활 연령(chronological age)이 생물학적 나이를 항상 반영하는 것은 아니라는 개념을 다루기 위해 같은 생활 연령의 유기체에 대한 허약함 범위에 대한 적합성을 평가하기 위해 개발되었다. 16개 항목 매개변수(체중, 악력, 혈압, 온혈구 수치, 사이토카인 수준 분석 포함)에 기초하여, FI는 측정된 총 결론 수의 비율로 계산되며, 0(결손 없음=적합) 내지 1(모두 결론 존재=노쇠)의 FI의 점수가 배정된다. 따라서 FI가 높을수록 유기체의 건강이 좋지 않음을 나타낸다. 이와 관련하여 FI는 동일한 생활 연령의 "노쇠" 범위 유기체에 대한 "적합"을 평가하기 위한 유용한 도구로 제공된다.

[0241] 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 문헌[Antoch et al. Aging. 2017; 9: 1-12](전문이 참조에 의해 본 명세서에 포함됨)에 기재된 바와 같이, 생리학적 노쇠 지수(Physiological Frailty Index: PFI)에 따라서 측정되는 경우 대상체에서 노쇠를 감소시키거나 예방한다. 예를 들어, 젊은 참조 대상체를 참조하여 개별 대상체에 대해 PFI를 결정할 수 있다. 각각의 대상체에 대해서, 다양한 매개변수가 측정된다. 이러한 매개변수는 연령, 체중, 악력 및 이완기 혈압을 포함한 비침습적 측정을 포함한다. 백혈구 수치, 호중구 수치, 호중구 백분율, 림프구 백분율, 단핵구 백분율, 호산구 백분율, 적혈구 수치, 헤모글로빈 수준, 헤마토크릿 수준, 평균 미립자 부피, 평균 미립자 헤모글로빈 수준, 평균 미립자 헤모글로빈 농도, 혈소판 수치 및 평균 혈소판 부피를 포함하는 추가적인 혈액 화학 측정치가 또한 결정될 수 있다. 각각의 매개변수에 대해서, 평균값과 표준편차가 계산된다. 임의의 단일 매개변수의 평균값과 1 초과의 표준 편차(STDEV)가 다른 대상체는 참조군에서 제외된다. 고연령의 대상체에 대해 측정된 각각의 매개변수의 값을 참조군에 대한 상응하는 값과 비교하여, 점수를 배정한다. 1 STDEV 미만인 다른 값은 0점으로 배정된다(결손 없음, 참조군 범위 내). 1 STDEV가 다른 값은 0.25(최소 적자)로 점수 매겨진다(최소 결론). 참조군의 해당 값과 2 STDEV만큼 다른 값은 0.5로 점수 매겨지고, 3 STDEV가 다른 값은 0.75로 점수 매겨진다. 값이 3 STDEV 초과인 경우, 그것은 1(극도의 결론)로 점수 매겨진다. 표현된 개별 대상체의 결론 수는 측정된 매개변수의 총수의 비율로 계산되며, 생리학적 노쇠 지수(PFI)로 지칭된다.

[0242] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 PFI에 의해 측정된 바와 같이 대상체의 노쇠를 감소 또는 개선 및/또는 치료 또는 예방한다. 예를 들어, 노쇠를 감소 또는 개선 및/또는 치료 또는 예방하기 위해 AP-기반 작용제 변형

방출형 제형을 대상체에게 투여하면 PFI 점수가 감소될 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체의 PFI 점수는 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 적어도 100%만큼 감소된다. 일부 실시형태에서, 대상체의 PFI 점수는 약 25% 내지 75%, 약 25% 내지 50% 또는 약 50% 내지 75% 감소된다. 추가 실시형태에서, 대상체의 PFI 점수는 0.9, 0.85, 0.8, 0.75, 0.7, 0.65, 0.6, 0.55, 0.5, 0.45, 0.4, 0.35, 0.3, 0.25, 0.2, 0.15, 0.1 또는 0.5 이하까지 감소된다.

[0243] 또한, 결손의 누적으로서의 노쇠는 전문이 참조에 의해 포함된 문헌[Rockwood et al., J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2007 Jul;62(7):722-727]에 기재된 바와 같은 록우드 노쇠 지수에 의해 측정될 수 있다. 실시형태에서, 본 발명의 방법은 록우드 노쇠 지수에 의해 평가된 바와 같이 노쇠를 감소시키거나 예방한다.

[0244] 다중 생리학적 시스템에 걸친 누적 감소로 인한 감소된 보유의 생물학적 증후군(biologic syndrome of decreased reserve)으로서의 노쇠는 전문이 참조에 의해 포함된 문헌[Fried et al., J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2001 Mar;56(3):M146-56]에 기재된 바와 같이 프리드 노쇠 점수에 의해서 측정될 수 있다. 프리드 노쇠 점수는 다양한 매개변수, 예컨대, 10파운드 초과와 체중 감소; 약력 강도와 관련된 약점; 자가-보고 피로; 15피트의 보행 속도; 및 주당 신체 활동량(Kcal)을 측정하는 신체적 노쇠 표현형(PFP)을 포함한다. 프리드 노쇠 점수는 0(노쇠 아님), 1 내지 2(중간 노쇠), 3 이상(노쇠)의 점수를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 프리드 노쇠 점수에 의해 측정된 바와 같이 대상체의 노쇠를 감소 또는 개선 및/또는 치료 또는 예방한다. 예를 들어, 노쇠를 감소 또는 개선 및/또는 치료 또는 예방하기 위해 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하면 프리드 노쇠 점수가 3에서 2로, 3에서 1로, 3에서 0으로, 2에서 1로, 2에서 0으로 또는 1에서 0으로 감소될 수 있다. 추가로, 일부 실시형태에서, 노쇠를 감소 또는 개선 및/또는 치료 또는 예방하기 위해 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하면 대상체의 프리드 노쇠 점수가 증가되지 않을 수 있다.

[0245] 노쇠는 전문이 참조에 의해 포함된 문헌[Abelle Van Kan et al., J Am Med Dir Assoc. 2008Feb;9(2):71-2.doi: 10.1016/j.jamda.2007.11.005]에 기재된 바와 같은 FRAIL 척도에 의해서 또한 측정될 수 있다. FRAIL 척도에서 측정되는 파라미터는 지속적인 피로감; 저항(단일 계단을 오를 수 있는 능력); 보행(한 블록을 걷는 능력); 5개 초과와 질병; 및 5% 이상의 체중 감소를 포함한다. FRAIL 척도는 0(노쇠 아님), 1 내지 2(중간 노쇠), 3 이상(노쇠)의 점수를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 FRAIL 척도 점수에 의해 측정된 바와 같이 대상체에서 노쇠를 감소 또는 개선시킨다. 예를 들어, 노쇠를 감소 또는 개선하기 위해 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하면 FRAIL 척도 점수가 3에서 2로, 3에서 1로, 3에서 0으로, 2에서 1로, 2에서 0으로 또는 1에서 0으로 감소될 수 있다. 추가로, 일부 실시형태에서, 노쇠를 감소 또는 개선 및/또는 치료 또는 예방하기 위해 AP-기반 작용제 변형 방출형 제형을 대상체에게 투여하면 대상체의 FRAIL 척도 점수가 증가되지 않을 수 있다.

[0246] 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 바와 같은 방법은 적어도 하나의 허용되는 노쇠 측정치를 사용하여 노쇠 지수를 개선시키거나(또는 감소시키거나), 노쇠를 지연시키거나 이의 감소를 둔화시킨다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 바와 같은 방법은 노쇠 지수(FI), 생리학적 노쇠 지수(PFI), 프리드 노쇠 점수, 락우드 노쇠 지수, FRAIL 척도 및 변형된 노쇠 지수로부터 선택된 적어도 하나의 허용되는 노쇠 측정치를 사용하여 노쇠 지수를 개선시키거나(또는 감소시키거나), 노쇠를 지연시키거나 이의 감소를 둔화시킨다.

[0247] 일부 실시형태에서, 노쇠는 낮은 체지방량(lean mass), 쇠약, 피로, 낮은 에너지 소비 및/또는 느린 보행 속도를 포함한다. 실시형태에서, 본 발명의 방법은 낮은 체지방량, 쇠약, 피로, 낮은 에너지 소비 및/또는 느린 보행 속도 중 하나 이상을 감소시키거나, 이의 개시 또는 발병을 예방한다.

[0248] 이론에 얽매이지 않으나, AP-기반 작용제(예를 들어, IAP)를 포함하는 AP-기반 작용제는 예를 들어, 장 방어에 참여하고, 항염증 기능을 매개하고, 정상적인 장내 미생물상 프로파일을 유지하고, 점막 장벽 무결성을 유지하고, 소화 및 영양소(지방) 흡수를 조절하는 것을 포함하는 다수의 위장관 및 전신 과정에서 중요한 역할을 한다. 따라서, 본 발명은 면역 기능, 대사 기능 및 신경 기능을 조절하기 위한 광범위한 치료 적용에서 AP-기반 작용제의 용도를 제공한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 마이크로비움-관련 장애, GI 미생물총 불균형, GI 염증, 대장염(예를 들어, 궤양성 대장염), 대사 질환(예를 들어, 대사 증후군, 비만 및 당뇨병), 신경 질환(예를 들어, 다발성 경화증 및 척수 손상), 낭포성 섬유증, 폐혈증 및 신부전의 치료를 제공한다.

[0249] 다양한 양상에서, 본 발명은 AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 약제학적 조성물의 유효량을

대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 대상체의 위장관 마이크로비움을 조절하고 보호하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 공생 박테리아의 수 및 위장관 마이크로비움의 조성을 증가시키거나 보존하기 위해서 본 발명의 AP-기반 작용제를 투여함으로써 위장관 세균총(flora)의 감소된 수준 및/또는 기능을 갖는 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 병원성 박테리아에 의한 감염을 치료하고/하거나 위장관에서 병원성 박테리아의 성장을 저해하거나 이의 수를 감소시키는 것에 관한 것이다.

[0250] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 마이크로비움-매개 장애를 치료하거나 예방하는 것을 포함한다. 예시적인 마이크로비움-매개 장애는 예를 들어, 전문이 본 명세서에 참조에 의해 포함된 국제 공개 제WO 2014/121298호의 표 3에서 발견되는 것을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 예를 들어, 기재된 방법은 공생 박테리아의 감소된 수준 및/또는 위장관 세균총의 기능과 연관된 증상, 예를 들어, 항생제-연관 설사(AAD), 클로스트리디오이데스 디피실-연관 질환(CDAD), 염증성 장애, 후천성 면역결핍 증후군(AIDS), 예컨대, HIV-매개 장내 미생물총 불균형 및 GI 장벽 기능이상, 갑상선기능저하증 및 비만을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0251] 다양한 양상에서, 본 발명은 GI관에서 항생제-유도 유해 효과를 치료하고/하거나 씨. 디피실 감염(CDI) 및/또는 씨. 디피실-연관 질환의 예방 또는 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 예방 또는 치료하는 데 사용하기 위한 본 발명의 AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 이론에 얽매이지 않으나, 본 발명의 AP-기반 작용제는 뉴클레오사이드 트라이포스페이트 탈인산화를 매개하는데, 이것은 병원성 박테리아보다 공생 박테리아의 성장을 촉진하고 항생제-유도 미생물총 불균형으로부터의 회복을 촉진한다. 따라서, 본 발명의 AP-기반 작용제로의 치료는 클로스트리디오이데스 디피실 감염 및 장용 그람 음성 병원균으로부터 보호하는 가능성을 갖는다. 다양한 실시형태에서, 항생제-유도 유해 효과 및/또는 CDI 또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환은 항생제-관련 설사, 클로스트리듐 디피실 설사 (CDD), 클로스트리듐 디피실 장염 증 질환, 대장염, 가막성 대장염, 발열, 복통, 탈수 및 전해질 장애, 거대결장, 복막염 및 결장의 천공 및/또는 파열 중 하나 이상이다.

[0252] 다양한 실시형태에서, 대상체는 마이크로비움-매개 장애에 대한 특정 위험에 있는 대상체, 예컨대, 비제한적 예로서 항생제에 의한 치료를 받고 있거나 또는 항생제에 의한 치료를 최근에 받은 대상체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예를 들어, 대상체는 과거 약 30일 정도 동안 항생제를 취할 수 있고/있거나 (예를 들어, 만성 질환으로부터) 쇠약해진 면역계를 갖고/갖거나 여성이고/이거나 노인(예를 들어, 약 65세 이상)이고/이거나 속쓰림 또는 위산 장애(예를 들어, 프레바시드(PREVAID), 타가메트(TAGAMET), 프리로섹(PRILOSEC) 또는 넥시움(NEXIUM) 및 관련 약물과 같은 작용제를 이용)에 대한 치료를 받고 있고/있거나(또는 받은) 최근에 중환자실을 포함하는 병원에 있었거나, 또는 양로원에 살고 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 원내 감염 및/또는 2차 응급 감염(emergent infection) 및/또는 병원 획득 감염(hospital acquired infection: HAI)을 치료 또는 예방한다.

[0253] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, GI관에서 항생제-유도 유해 효과를 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 AP-기반 작용제(및/또는 추가적인 치료제)를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, GI관에서 항생제-유도 유해 효과를 예방하는 방법을 제공한다.

[0254] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 항생제-유도 손상으로부터 장 마이크로비움을 보호한다. 일 실시형태에서, AP-기반 작용제는 세팔로스포린-유도 손상으로부터 장 마이크로비움을 보호한다. 일부 실시형태에서, the 본 발명의 AP-기반 작용제는 세프트리악손(CRO)-유도 손상으로부터 장 마이크로비움을 보호한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 설사, 구역, 구토, 미각장애, 대장염 및 가막성 대장염 질환 및/또는 증상을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 항생제-연관 유해 효과를 치료하거나 또는 예방한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 항생제-연관 설사(AAD)를 치료하거나 예방한다.

[0255] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 병원성 박테리아에 의한 감염을 치료하고/하거나 위장관에서 병원성 박테리아의 성장을 저해하거나 이의 수를 감소시키기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 환자의 장 내의 다양한 대장균(약성 및/또는 항생제 내성인 대장균형을 포함)의 과성장을 완화시키거나 또는 방지하는 조성물 및 방법을 제공한다. 예시적인 대장균형은 시트로박터(Citrobacter), 엔테로박터(Enterobacter), 하프니아(Hafnia), 켈브시엘라(Kelbsiella) 및 에셰리키아(Escherichia)를 포함한다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물은 내성 유기체에 의한 2차 감염을 방지하거나 또는 감소시킨다. 일 실시형태에서, 병원성 박테리아는 엔테로박테리아, 예컨대, 살모넬라이다.

[0256] 일부 실시형태에서, 본 발명은 소화관 레지스톰(resistome)의 확장을 예방한다. 소화관 레지스톰은 인간 소화관

미생물총에 의해서 숨겨져 있을 수 있는 항생제 내성 유전자의 저장소를 지칭한다. 이러한 항생제 내성 유전자는 공중 보건에 대한 주요 위협을 구성하는 박테리아 병원체 사이에 항생제 내성을 부여한다. 박테리아는 기증자 균주로부터 내성 유전자의 동원 및 전달에 의해 항생제 내성 유전자를 획득할 수 있다. 다양한 실시형태에서, 예방 방법은 위장관에서 항생제 내성 박테리아의 수를 감소시켜 소화관 레지스톰의 확장을 감소시킨다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 항생제 내성 박테리아의 성장을 완화하거나 예방하여 소화관 레지스톰의 확장을 예방하거나 감소시킨다.

[0257] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 AP-기반 작용제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 씨. 디피실 감염(CDI) 및/또는 씨. 디피실-연관 질환을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 AP-기반 작용제를 이를 필요로 하는 대상체(비제한적인 예에 의해서, 항생제가 투여 중이거나 투여될 환자)에게 투여하는 것을 포함하는 씨. 디피실 감염(CDI) 및/또는 씨. 디피실-연관 질환을 예방하는 방법을 제공한다.

[0258] 일부 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 AP-기반 작용제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 씨. 디피실 감염(CDI) 및/또는 씨. 디피실-연관 질환을 예방하는 방법에 관한 것이며, 여기서 대상체는 주요 항생제를 사용한 요법이 진행 중이다. "주요 항생제"는 환자에게 투여되고, CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환을 초래할 수 있는 항생제를 지칭한다. 이들은 가장 흔하게는 CDI 및/또는 씨. 디피실-연관 질환 질환을 야기하는 항생제(플루오로퀴놀론, 세팔로스포린, 클린다마이신 및 페니실린)를 포함한다.

[0259] 다양한 실시형태에서, CDI 및/또는 씨. 디피실-연관 질환 질환은 초기 개시 또는 다시 재발생/재발(예를 들어, 계속된 또는 재개된 항생제 요법에 기인함)과 관련하여 치료 또는 예방된다. 예를 들어, CDI를 이전에 앓은 적이 있는 환자에서, AP-기반 작용제는 재발의 첫 번째 증상 시 투여될 수 있다. 비제한적 예로서, 재발 증상은 경증의 경우에, 1일에 약 5 내지 약 10회의 수성 변통, 상당한 발열 없음, 및 단지 경증의 경련성 복통을 포함하는 반면, 혈액 검사는 백혈구 수가 약 15,000개까지 약하게 상승됨을 나타낼 수 있고(정상 수준은 약 10,000개까지임), 중증의 경우에, 1일 당 약 10회 초과 물변, 구역, 구토, 고열(예를 들어, 약 102 내지 104° F), 직장 출혈, 중증의 복통(예를 들어, 압통 있음), 복부팽만, 및 높은 백혈구 수(예를 들어, 약 15,000 내지 약 40,000개)를 나타낸다.

[0260] 초기 개시 또는 재발생/재발과 상관없이, CDI 및/또는 씨. 디피실-연관 질환은 본 명세서에 기재된 임의의 증상(예를 들어, 2일 이상 동안 하루에 약 3회 이상의 물 설사, 배에서의 경증 내지 악화된 경련 및 통증, 발열, 대변의 혈액 또는 농, 구역, 탈수, 식욕상실, 체중감소 등)을 통해 진단될 수 있다. 초기 개시 또는 재발생/재발과 상관없이, CDI 및/또는 씨. 디피실-연관 질환은 또한 효소 면역분석(예를 들어, 클로스트리듐 디피실 유기체에 의해 생성되는 클로스트리듐 디피실 독소 A 또는 B 항원 및/또는 글루타민 탈수소효소(GDH)를 검출하기 위함), 중합효소 연쇄 반응(예를 들어, 클로스트리듐 디피실 독소 A 또는 B 유전자 또는 이의 일부(예를 들어, *tcdA* 또는 *tcdB*)를 검출하기 위함, ILLUMIGENE LAMP 검정 포함함), 세포독성 검정을 통해 진단될 수 있다. 예를 들어, 임의의 다음의 시험을 사용할 수 있다: 머리디언 이뮤노카드(Meridian ImmunoCard) 독소 A/B; 왓폴 독소 A/B 퀵 체크(Quik Chek); 왓폴 클로스트리듐 디피실 퀵 체크 컴플리트(Wampole C. diff Quik Chek Complete); 레멜 엑스펙트(Remel Xpect) 클로스트리디오이데스 디피실(이전에 클로스트리듐 디피실)이라고도 알려짐 독소 A/B; 머리디언 프리미어 독소(Meridian Premier Toxins) A/B; 워폴 클로스트리듐 디피실 독소 A/B II; 레멜 프로스펙트 독소(Remel Prospect Toxin) A/B EIA; 비오메리우스 비다스(Biomerieux Vidas) 클로스트리듐 디피실 독소 A&B; BD 게놈 클로스트리듐 디피실; 프로데세 프로가스트로 CD(Prodesse Progestro CD); 및 세펠드 엑스퍼트 씨. 디피실(Cepheid Xpert C. difficile). 다양한 실시형태에서, 임상 샘플은 환자 대변 샘플이다. 또한 결장의 이미지를 제공하는 신축성 S상결장 검사법 "스코프" 검사 및/또는 복부 X-선 및/또는 컴퓨터 단일층촬영(CT) 스캔은 환자를 평가하는 데 사용될 수 있다(예를 들어, 결장벽에 부착된 특징적인 크립같은 백색 또는 황색 플라크를 찾음). 추가로, (예를 들어, GI 관의 임의의 영역의) 생검은 잠재적 CDI 및/또는 씨. 디피실-연관 질환 환자를 평가하는 데 사용될 수 있다.

[0261] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 초기 및/또는 보조 요법이 대상체에게 투여되는 것을 포함한다. 초기 및/또는 보조 요법은, 예를 들어, 마이크로비움-매개 장애 또는 질환을 치료하기 위해 이러한 장애 또는 질환의 검출 시 사용되는 요법을 나타낸다. 실시형태에서, 초기 및/또는 보조 요법은 CDI 및/또는 씨. 디피실-연관 질환을 치료하기 위해 이러한 질환의 검출 시 사용되는 요법을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 초기 및/또는 보조 요법은 메트로니다졸, 반코마이신, 피탁소마이신, 리팍시민, 차콜계 결합제/흡착제, 분변 박테리아요법, 프로바이오틱 요법, 및 항체 요법 중 하나 이상이다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 임의의 이들 초기 및/또는 보조 요법(공동 투여 또는 순차적 투여를 포함)에 대한 보조제로서 알칼리성

포스파타제의 용도를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 초기 및/또는 보조제 요법을 받는 대상체에게 본 명세서에 기재된 AP-기반 작용제를 투여하는 것을 포함한다.

- [0262] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제는 위장관의 증가된 점막 투과성을 앓고 있는 대상체에게 투여된다. 일부 실시형태에서, 위장관의 증가된 점막 투과성은 장의 감소된 관류 또는 허혈의 결과이다. 허혈 또는 혈류에 의한 산소 공급 부족은 예를 들어 심부전, 선천성 심장 질환, 울혈성 심부전, 관상 심장 질환, 허혈성 심장 질환, 부상, 외상 또는 수술로 인해 발생할 수 있다.
- [0263] 일부 실시형태에서, 위장관의 증가된 점막 투과성은 자가면역 및 염증성 장 질환(IBD), 예를 들어, 셀리악병, 크론병 및 대장염(예를 들어, 궤양성 대장염)과 관련되거나 이에 의해 야기된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 AP-기반 작용제를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 자가면역 및 염증성 장 질환(IBD), 예를 들어, 셀리악병, 크론병 및 대장염(예를 들어, 궤양성 대장염)을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 염증성 장 질환(IBD)은 대장 및 일부 경우에는 소장의 염증 상태의 군이다. IBD의 주요 형태는 크론병 및 궤양성 대장염(UC)이다. IBD는 또한 교원성 대장염, 림프구성 대장염, 허혈성 대장염, 전환 대장염, 베체트 증후군, 감염성 대장염 및 불확정 대장염을 포함한다.
- [0264] 일부 실시형태에서, 본 발명은 셀리악병을 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 셀리악병과 연관된 위장 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 셀리악병은 글루텐 섭취가 소장 손상을 유발하는 유전적 소인이 있는 사람들에게 발생할 수 있는 자가면역 장애이다. 셀리악병이 있는 개인은 장 투과성이 증가하여 글루텐 분해 산물(셀리악병의 유발 항원)이 소화관-연관 림프 조직에 도달하여, 염증성 사이토카인 방출 및 T 세포 동원을 포함한 염증성 반응을 시작한다. 셀리악병은 소장 용모가 위축되고 흡수 장애, 설사, 복통, 팽만감, 피로, 메스꺼움과 같은 다양한 증상이 초래할 수 있는 소장 점막의 만성 염증을 특징으로 한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 GI 증상, 복부 증상, 및 비-GI 증상을 포함하는 셀리악병의 하나 이상의 증상을 효과적으로 치료한다.
- [0265] 셀리악병의 하나 이상의 증상의 개선을 측정하는 방법은 장 투과성의 실험적 바이오마커인 락툴로스 대 만니톨(LAMA) 비율의 평가(문헌[Kelly et al., (2012) Aliment Pharmacol Ther 2013; 37: 252-262], 전체 개시내용이 참조에 의해 본 명세서에 포함됨); 항-트랜스글루타미나제 항체 수준의 측정; 및 셀리악병 환자 보고 결과(Celiac Disease Patient Reported Outcome: CeD PRO), 위장 증상 평정 척도(Gastrointestinal Symptom Rating Scale: GSRS), 셀리악병 위장 증상 평정 척도(Celiac Disease Gastrointestinal Symptom Rating Scale: CeD GSRS), 브리스톨 대변 형태 척도(Bristol Stool Form Scale: BSFS), 일반 웰빙 설문지(General Well-Being Questionnaire), 약식 12 건강 조사 버전 2(Short Form 12 Health Survey Version 2: SF12V2), 셀리악병 삶의 질 설문지(Celiac Disease Quality of Life Questionnaire: CeD-QoL), 및 예를 들어, 전체 개시내용이 참조에 의해 본 명세서에 포함된 국제 공개 제WO/2015/154010호에 개시된 바와 같은 질환 활동의 임상적 글로벌 평가(Clinician Global Assessment of Disease Activity: CGA)를 포함할 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 셀리악병의 치료 방법은 이러한 측정 중 하나 이상에 의해 평가되는 치료 효과를 제공한다.
- [0266] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 셀리악병을 치료하고, 대상체가 실질적인 증상 없이 글루텐을 식이에 도입하도록 한다.
- [0267] 다양한 실시형태에서, 위장관의 증가된 점막 투과성은 암, AIDS, 심부전 및/또는 만성 폐쇄성 폐질환(COPD) 중 하나 이상과 관련된 악액질과 같은 악액질과 관련되거나 이에 의해 야기된다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 증가된 장 투과성 및/또는 악액질과 연관된 장내 미생물총 불균형을 치료하거나 예방한다.
- [0268] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 악액질 또는 소모 증후군을 치료 또는 예방한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 체중 감소, 근육 위축, 피로, 쇠약 및 식욕 상실 중 하나 이상을 감소, 제거 또는 예방한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 영양학적으로 되돌릴 수 없는 체질량 감소 및 지방 조직 축적 감소 중 하나 이상을 감소, 제거 또는 예방한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 근감소증을 치료하거나 예방한다.
- [0269] 일부 실시형태에서, 본 발명에 의해 치료되는 악액질은 암, HIV 또는 AIDS, 셀리악병, 만성 폐쇄성 폐 질환, 다발성 경화증, 류마티스 관절염, 울혈성 심부전, 결핵, 가족성 아밀로이드 다발신경병증, 수은 중독(아크로디니아) 및 호르몬 결핍 중 하나 이상을 앓고 있는 환자에서 발견된다.
- [0270] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 AP-기반 작용제를 사용한 본 발명의 악액질의 치료 또는 예방은  $\beta$ -하이드록시  $\beta$ -메틸부티레이트(HMB), 다양한 프로게스틴(예를 들어, 메게스트롤 아세테이트), 동화작용-안드로겐 스테로이드(예를 들어, 옥산드롤론), 탈리도마이드 및 사이토카인 길항제, 칸나비노이드, 오메가-3 지방산(예를 들어,

에이코사펜타엔산(EPA)), 비-스테로이드성 소염제, 위장운동촉진제(prokinetics), 그렐린 및 그렐린 수용체 효능제, MT-102와 같은 동화작용 이화 변환제, 선택적 안드로젠 수용체 조절제, 사이프로헵타딘 및 히드라진 중 하나 이상과 조합하여 또는 이를 사용하여 치료를 받는 환자에서 사용된다.

[0271] 일부 실시형태에서, 위장관의 증가된 점막 투과성은 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)과 관련되거나 이에 의해 야기된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 후천성 면역결핍 증후군(AIDS)과 관련된 위장 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 위장 장애는 인간 면역 결핍 바이러스 1(HIV-1) 또는 인간 면역 결핍 바이러스 2(HIV-2)-연관 AIDS 환자에서 가장 흔한 불만 중 하나이다. HIV 질환의 위장관 증상은 설사, 연하 곤란(dysphagia), 삼킴통증(odynophagia), 메스꺼움, 구토, 체중 감소, 복통, 항문직장 질환, 황달, 간비대, 위장관 출혈 및 위장관 종양(예를 들어, 카포시 육종 및 비호지킨 림프종)을 포함한다.

[0272] 진행성 HIV 감염은 종종 GI 관 손상, 미생물 전위, 염증, 및 질환의 AIDS로의 진행을 유도하는 면역 활성화를 초래한다. "HIV 장병증"이라는 용어는 소화관-매개 면역 기능장애와 관련된 점막 구조 및 기능의 변화를 설명하고, 확인된 감염 원인이 없는 만성 설사의 임상 증후군을 나타내는 데 사용되었다. 만성 설사에 더하여, HIV 장병증은 종종 장 점막에 대한 HIV의 직접 또는 간접 효과로 인한 것으로 생각되는 이상인 GI 염증 증가, 장 투과성 증가, 담즙산 및 비타민 B12 흡수 장애를 특징으로 한다(문헌[Brenchley JM, Douek DC. Mucosal Immunol 2008;1 :23-30]). 임상 결과는 지방 및 탄수화물 흡수 감소, 소장 통과 시간 감소 경향 및 공장 위축을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV 장병증의 증상 효과를 효과적으로 치료한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV 감염의 AIDS로의 진행을 예방, 지연 또는 역전시킨다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 AIDS의 사망으로의 진행을 예방하거나 지연시킨다.

[0273] 추가로, 대상체가 감염되는 HIV-1 하위유형은 AIDS로의 진행 속도의 인자일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV-1 하위유형 C, D, 및 G에 감염된 환자를 효과적으로 치료한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV-1 하위유형 A에 감염된 환자를 효과적으로 치료한다.

[0274] 일부 실시형태에서, 본 발명은 HIV 감염 및/또는 AIDS와 관련된 다양한 GI 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 다양한 실시형태에서 HIV, HIV 감염 대상체에게 투여된 항생제 및/또는 HIV 감염 대상체에게 투여되는 약물에 의해 야기될 수 있는 HIV-매개 장내 미생물총 불균형 및 GI 장벽 기능장애를 치료하는 방법을 제공한다. 예를 들어, HIV 감염 대상체는 1종 이상의 뉴클레오사이드 유사체, 예컨대, 데옥시시타노신 유사체(예를 들어, 디다노신, 비다라빈), 아데노신 유사체(예를 들어, BCX4430), 데옥시시티딘 유사체(예를 들어, 시타라빈, 엠트리시타빈, 라미부딘, 잘시타빈), 구아노신 및 데옥시구아노신 유사체(예를 들어, 아바카비어, 아시클로비어, 엔테카비어), 티미딘 및 데옥시티미딘 유사체(예를 들어, 스타부딘, 텔비부딘, 지도부딘) 및 데옥시우리딘 유사체(예를 들어, 이독수리딘, 트리플루리딘)를 복용할 수 있다. 일부 실시형태에서, HIV 감염 대상체는 고효성 항레트로바이러스 요법(HAART) 요법의 하나 이상의 약물을 복용할 수 있다. 예시적인 HAART 약물은 진입 저해제 또는 융합 저해제(예를 들어, 마라비록, 엔푸비어타이드), 뉴클레오사이드 역전사효소 저해제(NRTI) 및 뉴클레오타이드 역전사효소 저해제(NtRTI), 예컨대, 본 명세서에 기재된 뉴클레오사이드 및 뉴클레오타이드 유사체, 비-뉴클레오사이드 역전사효소 저해제(예를 들어, 네비라핀, 에파비렌즈, 에트라비린, 릴피비린), 인테그라제 저해제(예를 들어, 랄테그라비어) 및 프로테아제 저해제(예를 들어, 로피나비어, 인디나비어, 넬피나비어, 암프레나비어, 리토나비어, 다루나비어, 아타자나비어)를 포함한다.

[0275] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV 감염 대상체 및/또는 AIDS 대상체에서 국소 염증을 감소시키고, GI 미생물총의 구성을 변경하고, 순환계로부터 미생물 전위 산물의 제거를 향상시키고, 장세포 장벽을 복구한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV 감염 대상체 및/또는 AIDS를 갖는 대상체에서 GI관 손상 및 장내 미생물총 불균형을 감소시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법은 HIV 감염 대상체 또는 AIDS에 걸린 대상체에서 관찰된 GI 미생물총의 변화를 역전시킬 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법에 의해 역전될 수 있는 GI 미생물총의 이러한 변화는 증가된 기회병원성 공생미생물(pathobiont), 예컨대, 스타필로코커스 종, 슈도모나스 종, 전염증성 가능성이 있는 엔테로박테리아케아 패밀리 구성원뿐만 아니라 트립토판을 키누레닌 유도체로 이화작용하는 장병원성 박테리아(슈도모나스, 잔토모나스, 바실러스 및 버크홀데리아 종 포함)를 특징으로 하는 변경된 미생물총을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV 감염 대상체 및/또는 AIDS를 갖는 대상체에서 GI 장벽 기능장애를 감소시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법은 HIV 감염 대상 및/또는 AIDS를 갖는 대상체에서 증가된 장 투과성(예를 들어, 장누수 증후군)을 역전시킬 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV 감염 대상체 및/또는 AIDS를 갖는 대상체에서 전신 순환계로의 미생물 전위 및 미생물 산물 및 염증 매개체(예를 들어, LP S)의 전위를 감소시킨다. 이러한 방법에서 대상체의 혈장에서 LPS, EndoCAb, sCD14 및 I-FABP의 수준이 감소될 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 HIV 감염 대상체 및/또는 AIDS를 갖는 대상체에서 면역 활성화 및

염증(예를 들어, 국부 및 전신 면역 활성화 및 염증)을 감소시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법은 소화관-연관 림프 조직(GALT)의 염증을 감소시키고 CD4+ 세포 및 Th17 세포의 수를 증가시킬 수 있다. 본 발명의 방법은 세포독성 T 세포의 방출뿐만 아니라 염증성 점막 사이토카인 및 인터페론- $\alpha$ , 종양 괴사 인자- $\alpha$ , CRP, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL4, IL-6 및 IL-13와 같은 마커의 생성을 추가로 저해할 수 있다.

[0276] 일부 실시형태에서, 본 발명은 낭포성 섬유증(CF) 환자에서 미생물총 불균형 및 위장 기능장애를 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 유전 질환 낭포성 섬유증(CF)은 상피 세포 이온 및 수분 투과성을 조절하는 CF 막관통 전도도 조절기(CFTR)의 돌연변이와 관련이 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 CFTR 유전자에서 하나 이상의 돌연변이에 대해 동형접합성인 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 CFTR 유전자의 하나 이상의 돌연변이에 대해 이형접합성이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CFTR 돌연변이는 넌센스 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CFTR 돌연변이는 게이팅 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CFTR 돌연변이는 단백질 가공 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CFTR 돌연변이는 전도도 돌연변이이다. 일부 실시형태에서, 하나 이상의 CFTR 돌연변이는 번역 돌연변이이다. CFTR 돌연변이의 예는 F508del, G542X, G85E, R334W, Y122X, G551D, R117H, A455E, S549R, R553X, V520F, R1162X, R347H, N1203K, S549N, R347P, R560T, G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549R, S1255X, Add9T, Y1092X, M1191K, W 1282X, 3659delC, 394delTT, 3905insT, 1078delT, delta 1507, 3876delA, 2184delA, 2307insA, 711+1G>T, 1717-1G>A, 2789+5G>A, 1898+5G>T, 3120+1G>A, 621+1G>T, 3849+10kbC>T, 1898+1G>A, 2183 AA>G 및/또는 5/7/9T를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 본 명세서에 개시된 CFTR 돌연변이 중 하나 이상을 갖는 CF 환자를 치료하는 데 사용된다. 일 실시형태에서, 환자는 하기 CFTR 돌연변이 중 하나 이상을 갖는다: G551D, G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1251N, S1255P, S549N, S549R 및/또는 R117H. 일 실시형태에서, 환자는 F508del 돌연변이를 갖는다. CFTR 돌연변이에 대한 환자의 유전자형을 스크리닝하는 방법은 공지되어 있으며, 예를 들어 양방향 서열결정과 같은 DNA 서열결정에 의해 수행될 수 있다.

[0277] CF 환자는 종종 위장(GI) 점막 표면에서 만성 호흡기 감염 및 기능장애를 포함하는 증상을 나타내며, 이는 실질적인 이환율 및 사망률을 초래한다. CF의 초기 징후 중 하나는 심각하고 반복적인 장폐색과 영양 흡수 장애를 포함하는 GI 기능 장애이며, 이는 성장 장애를 초래한다. CF 환자는 또한 분변 미생물총에서 이. 콜라이의 과잉 및 비피도박테리움 종의 상대적 풍부도의 감소와 같은 GI 미생물총 불균형을 나타낸다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 CF 환자에서 하나 이상의 GI-관련 증상을 효과적으로 치료한다.

[0278] GI관 기능의 변화 및/또는 개선을 측정하는 방법은 다음을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다: 상피 및 점막의 직접 검사를 위한 내시경; 구조적 변화 및/또는 면역 바이오마커의 직접적인 평가를 위한 조직학적 평가 및/또는 조직 조달; 비흡수성 당을 사용한 투과성 및 LPS 수준 평가를 위한 소변 검사; 염증 및/또는 미생물총 변화 평가를 위한 대변 검사(예를 들어, PCR); 및/또는 CD4+ 세포 수치, Th17 세포 수치 및/또는 LPS 수준을 포함한 특정 마커의 평가를 위한 혈액 검사.

[0279] 일부 실시형태에서, 본 발명은 갑상선기능저하증과 연관된 위장 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 갑상선기능저하증은 갑상선이 충분한 갑상선 호르몬(티록신 또는 T4)을 생성하지 못하는 상태이다. 종종 갑상선기능저하증은 소화관의 작용을 느리게 하여 변비를 유발하거나 소화관의 움직임이 완전히 멈출 수 있다. 본 발명의 방법은 갑상선기능저하증과 관련된 하나 이상의 위장 증상을 완화할 수 있다.

[0280] 일부 실시형태에서, 본 발명은 괴사성 전장염(NEC)을 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[0281] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 NEC의 예방 또는 치료를 위한 소아 대상체에 관한 것이다. 다양한 실시형태에서, 소아 대상체는 약 1일 내지 약 1주령, 약 1주 내지 약 1개월령, 약 1개월 내지 약 12개월령, 약 12개월 내지 약 18개월령, 약 18 내지 약 36개월령, 약 1 내지 약 5세, 약 5 내지 약 10세, 약 10 내지 약 15세 또는 약 15 내지 약 18세이다. 일부 실시형태에서, 소아 대상체는 약 1일, 약 2일, 약 3일, 약 4일, 약 5일, 약 6일, 약 1주, 약 2주, 약 3주, 약 4주, 약 1개월, 약 2개월, 약 3개월, 약 4개월, 약 5개월, 약 6개월, 약 7개월, 약 8개월, 약 9개월, 약 10개월, 약 11개월 또는 약 12개월령의 유아이다. 다양한 실시형태에서, 소아 대상체는 분유 및/또는 우유를 먹고 있다. 다양한 실시형태에서, 소아 대상체는 항생제에 의한 치료를 받고 있거나, 또는 항생제에 의한 치료를 최근에 받았다.

[0282] 다양한 실시형태에서, 소아 대상체는 미숙아이다. 일부 실시형태에서, 미숙아는 재태 연령 37주 미만에 태어난다. 일부 실시형태에서, 미숙아는 재태 연령 약 21주, 약 22주, 약 23주, 약 24주, 약 25주, 약 26주, 약 27주, 약 28주, 약 29주, 약 30주, 약 31주, 약 32주, 약 33주, 약 34주, 약 35주, 약 36주 또는 약 37주에 태어난다. 다른 실시형태에서, 소아 대상체는 만삭 유아, 예를 들어, 재태 연령 약 37주 이후에 태어난 유아

다. 일부 실시형태에서, 소아 대상체는 태아기 질식, 쇼크, 패혈증, 또는 선천성 심장 질환 중 하나 이상을 나타낼 수 있다. 다양한 실시형태에서, 소아 대상체는 저체중 출생이다. 다양한 실시형태에서, 소아 대상체의 체중은 약 5파운드, 약 4파운드, 약 3파운드 또는 약 2파운드 미만이다.

[0283] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 NEC의 예방 또는 치료를 위한 임산부에 관한 것이다. 다양한 실시형태에서, 임산부는 항생제에 의한 치료를 받고 있거나, 또는 항생제에 의한 치료를 최근에 받았다.

[0284] NEC의 존재 및 중증도는 하기와 같이 문헌[Bell et al., J. Ped. Surg., 15:569 (1980)]의 병기결정 시스템을 사용하여 분류된다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 이들 병기 중 임의의 병기의 질환을 치료한다.

- I기
  - 전신 증상 - 체온 불안정, 혼수, 무호흡, 서맥
  - 위장관 증상 - 섭식 불량, 프리게비지(pregavage)
  - (NEC 의심) 잔류물 증가, 구토(담즙성 또는 잠혈 양성인 시험일 수 있음), 경미한 복부 팽창, 대변의 잠혈(균열 없음).
  - 비특이적 또는 정상적인 방사선 징후
  
- II기
  - 상기 징후 및 증상에 더해 지속적인 잠복성 또는 심한 위장 출혈, 현저한 복부 팽창
  - 장폐색증을 동반한 상당한 장 팽창, 소장 분리(장벽 또는 복막액의 부종), 변하지 않거나 지속되는 "경직된" 장 루프, 장폐렴, 문맥 정맥 가스를 나타내는 복부 방사선 사진
  - (NEC 확정)
  - (NEC) • 검사실 변화(혈소판 감소증, 대사성 산증)
  
- III기
  - 상기 징후 및 증상에 더하여 활력 징후의 악화, 패혈성 쇼크의 증거 또는 현저한 위장 출혈, 저혈압, 현저한 복부 팽창, 복막염
  - (진행성 NEC) • II기에 대한 목록에 포함된 소견 이외에 기흉을 나타내는 복부 방사선 사진
  - 추가 검사실 변화(대사 및 호흡성 산증, 파종성 혈관내 응고)

[0285] .

[0286] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 GI 증상, 복부 증상, 및 비-GI 증상을 비롯한 당업계에 공지된 증상뿐만 아니라 상기에 기재된 임의의 증상을 포함하는 NEC의 하나 이상의 증상을 효과적으로 치료한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 대상체, 예컨대, 소아 대상체에서 NEC의 발달을 효과적으로 예방한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 대상체, 예컨대, 소아 대상체에서 NEC의 진행을, 예를 들어, I기에서 II기로 또는 II기에서 III기로 진행하는 것을 효과적으로 예방한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 대상체, 예컨대, 소아 대상체에서 NEC의 퇴행을, 예를 들어 III기에서 II기 또는 I기에서 완치로 또는 II기에서 I기 또는 완치로 퇴행하는 것을 효과적으로 초래한다.

[0287] 장내 미생물총 불균형은 NEC의 발달과 연관되며 질환의 임의의 임상적 증거 이전에 대상체에서 검출될 수 있다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 치료된 대상체의 장관에서 정상적인 미생물총을 효과적으로 회복시킨다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 장관에서 정상적인 미생물총을 유지한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 대상체의 장 미생물총의 건강한 균형(예를 들어, 건강한 비율 및/또는 건강한

분포)을 유지한다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 방법은 GI관에서 하나 이상의 병원성 미생물의 과증식을 치료하거나 예방한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 방법은 장관에서 클로스트리듐 부티리쿰(*Clostridium butyricum*) 및/또는 클로스트리듐 퍼프린젠스(*Clostridium perfringens*)의 수준을 효과적으로 감소시킨다.

[0288] NEC의 하나 이상의 증상의 개선을 측정하는 방법은 X선 및 초음파촬영과 같은 진단 영상 양식을 포함한다. GI관 기능의 변화 및/또는 개선을 측정하는 방법은 다음을 포함할 수 있지만 이들로 제한되지 않는다: 상피 및 접막의 직접 검사를 위한 내시경 또는 대장내시경; 구조적 변화 및/또는 면역 바이오마커의 직접적인 평가를 위한 조직학적 평가 및/또는 조직 조달; 염증 및/또는 미생물총 변화 평가를 위한 대변 검사(예를 들어, PCR); 및/또는 특정 마커의 평가를 위한 혈액 검사.

[0289] 일부 실시형태에서, 본 발명은 대사 증후군, 당뇨병, 고혈압, 심혈관 질환, 비알코올성 지방간 및 기타 대사 질환을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 대사 증후군은 트라이글리세라이드 상승, 저밀도 지단백질 상승, 고밀도 지단백질 감소, 지단백질 지수 감소, 공복 혈당 수준 상승, 공복 인슐린 상승, 섭취 후 감소된 글루코스 제거 감소, 인슐린 저항성, 내당능 장애, 비만 및 이들의 조합과 관련이 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법은 대사 증후군이 있고, 복부 비만(예를 들어, 허리 둘레가 남성의 경우 40인치 이상 또는 여성의 경우 35인치 이상), 150mg/dl 이상의 혈중 트라이글리세라이드 수준, 남성의 경우 40mg/dl 미만 또는 여성의 경우 50mg/dl 미만의 HDL, 130mmHg 이상의 수축기 혈압 또는 85mmHg 이상의 이완기 혈압 및/또는 100mg/dl 이상의 공복 혈당을 갖는 대상체를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본 발명의 방법을 사용하여 치료될 수 있는 추가적인 대사 질환은 US2013/0251701, US2011/0206654, 및 US2004/0115185에 기술된 것을 포함하며, 이들의 전체 내용은 본 명세서에 참조에 의해 포함된다.

[0290] 일 실시형태에서, 대사 질환은 비만이다. 항생제에 대한 조기 노출(예를 들어, 생후 약 2년 이내)은 마이크로비옴을 파괴하고, 결국 질환으로 이어질 수 있다. 전문가 참조에 의해 본 명세서에 포함된 문헌[Bailey, et al. JAMA Pediatr. 168(11), Nov 2014]에는 항생제에 대한 조기 노출이 비만과 어떻게 관련되는지가 기재되어 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 어린이의 마이크로비옴을 보호하고 비만과 같은 질환을 예방한다. 또한, 박테리아 분열인 퍼미쿠테스(Firmicutes)와 박테로이데테스(Bacteroidetes) 사이의 비율 변화는 비만인 사람들에게서 종종 관찰된다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명은 본 발명의 AP 작용제를 투여함으로써 비만을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 예를 들어 박테로이데테스, 프로테오박테리아(Proteobacteria) 및 퍼미쿠테스와 같은 장관 내 박테리아의 정상적인 다양성을 유지함으로써 비만을 치료 또는 예방한다. 또한, AP-기반 작용제는 위장관에서 지방 흡수에 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 다양한 실시형태에서, 본 발명은 GI 지방 흡수를 제한함으로써 비만을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 체중 감소를 유도하거나 체중 증가를 예방하는 데 효과적이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 소화 시스템의 수술을 받은 적이 있을 수 있거나 받을 것이거나; 약 80 내지 100파운드 초과와 과체중일 수 있거나; BMI가 약 35kg/m<sup>2</sup> 초과이거나; 또는 비만과 관련된 건강 문제가 있다. 일부 실시형태에서, 대상체는 고지혈증 및 고지질단백혈증을 비롯한 이상지질혈증을 가질 수 있다.

[0291] 또 다른 실시형태에서, 대사 질환은 당뇨병이다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 당뇨병(1형 또는 2형) 및/또는 포도당 불내성의 치료에 관한 것이다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 당뇨병(1형 또는 2형) 및/또는 포도당 불내성의 예방에 관한 것이다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 당뇨병(1형 또는 2형) 및/또는 포도당 불내성으로 인한 합병증의 감소에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 당뇨병, 인슐린 저항성, 당뇨병 전증, 공복 혈당 장애(IFG) 및 내당능 장애(IGT) 중 하나 이상의 위험이 있는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0292] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 AP-기반 작용제를 사용한 1형 당뇨병의 치료에 관한 것이다. 소아 당뇨병 또는 인슐린 의존성 당뇨병으로 알려졌던 1형 당뇨병은 췌장에서 인슐린이 거의 생성되지 않거나 전혀 생성되지 않는 만성 질환이다. 치료는 종종 신체의 정상적인 인슐린 분비 패턴을 모방하려는 집중 인슐린 요법을 통해 이루어지며, 종종 기저 및 볼러스 인슐린 적용 범위를 포함한다. 예를 들어, 한 가지 일반적인 요법은 속효성(rapid acting) 인슐린(예를 들어, 아스파트, 글루리신, 리스프로 포함)과 함께 지속형 인슐린(예를 들어, 글라진/데터미어 포함)을 식전 또는 식후에 그리고 고혈당을 교정하기 위해서 필요할 때(예를 들어, 혈당 측정기로 모니터링) 1일 1회 또는 2회 투여하는 것이다. 식전 또는 식후에 또는 고혈당을 교정하기 위해 필요할 때 투여되는 용량은 볼러스 투여로 지칭될 수 있다. 또 다른 일반적인 요법은 예를 들어, 속효성 인슐린(본 명세서에 기재되고 예를 들어, 아스파트, 글루리신, 리스프로 포함)의 인슐린 펌프(또는 연속 피하 인슐린 주입 장치(CSII))를 통한, 연속 투여를 포함하는 투여를 포함한다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 인슐린이 환자에게 효과적인 요법을 제공하지 않는 경우를 포함하여 다양한 요법에서 사용되는 임의의 인슐린을 대체할 수 있으며, AP-

기반 작용제는 프로그래밍이 필요한 인슐린 펌프와 관련하여 하루 중일 다양한 용량으로 투여되어야 하는 다양한 형태의 인슐린에 비해 자가 투여가 더 용이할 수 있다. 또한, AP-기반 작용제는 예를 들어, 새벽 현상(dawn phenomenon)과 같은 당뇨병 환자 투여의 일반적인 좌절을 상쇄할 수 있다. 대안적으로, AP-기반 작용제는 예를 들어, 환자의 요법을 정상화하고 혈당 "강하"(예를 들어 저혈당증, 예를 들어 약 70mg/dl 미만의 혈당) 및 많은 환자가 앓고 있는 "스파이크"(예를 들어, 고혈당증, 예를 들어, 약 200mg/dl 초과 혈당)를 회피하기 위해서 본 명세서에 기재된 1형 당뇨병 치료제 중 임의의 것에 대한 보조제로서 사용될 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 예를 들어, 떨림, 불안, 신경과민, 심계항진, 빈맥, 창백, 추위, 불쾌감, 동공 확장(산동), 배고픔, 지루함, 메스꺼움, 구토, 복부 불편감, 두통, 비정상적인 정신 상태, 판단력 장애, 비특이적 불쾌감, 감각 이상, 부정적, 과민성, 호전성, 전투성, 분노, 성격 변화, 감정 불안정, 피로, 허약, 무관심, 혼수, 공상, 수면, 혼돈, 기억 상실, 번덕스러움(lightheadedness) 또는 현기증, 섬망, 노력불, "유리 같은" 모양, 흐린 시력, 복시, 시야의 섬광, 자동 기능, 말하기 어려움, 불분명한 발음, 운동 실조, 협동 운동 실조, 초점 또는 일반 운동 결핍, 마비, 편마비, 감각이상, 두통, 혼미, 혼수, 비정상적인 호흡, 전신 또는 국소 발작, 기억 상실, CNS 손상(예를 들어, 인지 장애), 기억상실 및 사망을 포함하는 저혈당증과 연관된 증상을 치료하거나 예방할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 예를 들어, 다식증, 다갈증, 다뇨증, 흐린 시력, 피로, 체중 감소, 불량한 상처 치유, 구강 건조, 건조 또는 가려운 피부, 발 또는 발 뒤꿈치의 따끔 거림, 발기 부전, 재발성 감염, 외이염(예를 들어, 수영하는 사람의 귀), 심장 부정맥, 혼미, 혼수 상태 및 발작을 포함하는 고혈당증과 연관된 증상을 치료하거나 예방할 수 있다. 다양한 요법에서, 1형 당뇨병 환자는 인슐린 요법을 보충하기 위해 추가적인 작용제를 제공받을 수 있다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제가 이러한 방식으로 사용된다. AP-기반 작용제는 인슐린 요법만으로 1형 당뇨병을 관리하는 데 어려움을 겪는 환자에게 추가적인 치료 이점을 제공할 수 있다. 일부 실시형태에서, 인슐린 요법만으로 1형 당뇨병을 관리하기 위해 고군분투하는 환자는 본 명세서에 기재된 바와 같이 불량한 혈당 조절을 갖는다.

[0293] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 환자의 혈당 수준을 약 10mM 미만, 예를 들어, 약 4mm 내지 약 7mm으로 감소시키는 데 사용된다.

[0294] 일부 양상에서, 본 발명은 유효량의 AP-기반 작용제를 투여하는 것을 포함하는, 1형 또는 2형 당뇨병을 치료하는 방법을 제공한다.

[0295] AP-기반 작용제가 당뇨병을 예방하고/하거나 당뇨병진증 상태를 치료하는 것을 포함하는 다수의 실시형태에서, 환자가 다음 중 하나 이상을 특징으로 하는 경우 환자는 당뇨병의 위험이 있다: 신체적으로 비활동적; 당뇨병이 있는 부모 또는 형제자매가 있음; 아프리카계 미국인, 알래스카 원주민, 아메리칸 인디언, 아시아계 미국인, 히스패닉/라틴계 또는 태평양 제도계 미국인으로부터 선택된 당뇨병 발병률이 높은 것과 관련된 가족 배경이 있음; 체중이 9파운드 초과인 아기를 낳음; 임신성 당뇨병 진단을 받음; 약 140/90mmHg 이상의 고혈압을 가짐; 고혈압 치료 중임; 약 35mg/dl 미만의 HDL 콜레스테롤 수준 및/또는 약 250mg/dl 초과 트라이글리세라이드 수준이 있음; 다낭성 난소 증후군(PCOS)이 있음; 심혈관 질환이 있음.

[0296] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 입원의 맥락에서 당뇨병을 치료하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 당뇨병성 혼수 상태에 있는 환자에게 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 환자는 중증 당뇨병성 저혈당증, 진행성 당뇨병성 케톤산증(예를 들어, 의식불명을 초래하기에 충분하게 진행됨, 기여 인자는 고혈당증, 탈수, 쇼크 및 탈진 중 하나 이상을 포함할 수 있음), 고삼투압성 비케톤성 혼수(예를 들어, 고혈당증 및 탈수 중 하나 이상이 기여 요인임)를 갖는 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 글루코스, 글루카곤, 인슐린, 유체(예를 들어, 칼륨 및/또는 기타 전해질이 포함된 식염수) 중 하나 이상을 투여하는 것을 포함하는, 당뇨병성 혼수의 표준 치료 요법과 관련하여 사용될 수 있으며, 이것은 선택적으로 정맥내 투여된다. 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 이러한 치료 요법에서 인슐린을 대체할 수 있고, 선택적으로 경구 투여된다.

[0297] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 임신성 당뇨병의 위험이 증가된 임산부를 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 임산부는 임신 24주 경부터 임신성 당뇨병이 발병하며, 치료하지 않고 방치할 경우 임신성 당뇨병은 조산 및 사산을 유발할 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 임산부에서 임신성 당뇨병을 예방 및/또는 치료하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 또한 GI 염증과 같은 염증의 위험이 증가된 임산부를 치료하는데 이용될 수 있다. 일부 실시형태에서, 본 방법은 임산부의 염증을 감소시킨다.

[0298] 또한, 당뇨병에 관한 다양한 실시형태에서, 환자는 하나 이상의 추가적인 작용제를 제공받고 있거나 추가적인 작용제와 공동-투여될 수 있다. 예시적인 추가적인 작용제는 인슐린 또는 임의의 항당뇨병제(예를 들어, 인슐린

분비 촉진제, 예를 들어, 바이구아나이드, 설포닐유레아 또는 메글리티나이드, α-글루코시다제의 저해제, 티아졸리딘다이온 등)를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 치료 방법은 1종 이상의 추가적인 작용제 및/또는 비-인슐린 당뇨병 작용제를 제공받는 환자에게 AP-기반 작용제를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 추가적인 작용제는 설포닐유레아(예를 들어, DYMELOS(아세트헥사마이드), DIABINESE(클로로프로파마이드), ORINASE(톨부타마이드) 및 TOLINASE(톨라자마이드), GLUCOTROL(글리피자이드), GLUCOTROL XL(연장 방출형), DIABETA(글리부라이드), MICRONASE(글리부라이드), GLYNASE PRESTAB(글리부라이드) 및 AMARYL(글리메피라이드)); 바이구아나이드(예를 들어, 메트포민(GLUCOPHAGE, GLUCOPHAGE XR, RIOMET, FORTAMET 및 GLUMETZA)); 티아졸리딘다이온(예를 들어, ACTOS(피오글리타존) 및 AVANDIA(로지글리타존); 알파-글루코시다제 저해제(예를 들어, PRECOSE(아카보스) 및 GLYSET(미글리톨); 메글리티나이드(예를 들어, PRANDIN(레파글리나이드) 및 STARLIX(나테글리나이드)); 다이캡티딜 펩티다제 IV(DPP-IV) 저해제(예를 들어, JANUVIA(시타글립틴), NESINA(아글로글립틴), ONGLYZA(삭사글립틴) 및 TRADJENTA(리나글립틴)); 소듐-글루코스 공동수송인자 2(Sodium-glucose co-transporter 2: SGLT2) 저해제(예를 들어, INVOKANA(카나글리플로진)); 및 병용 환제(예를 들어, GLUCOVANCE, 이것은 글리부라이드(설포닐유레아)와 메트포민을 조합함, METAGLIP, 이것은 글리피자이드(설포닐유레아)와 메트포민을 조합함, 및 AVANDAMET, 이것은 하나의 환제 내에 메트포민과 로지글리타존 둘 다를 사용함(AVANDIA), KAZANO(아글로글립틴 및 메트포민) 및 OSENI(아글로글립틴과 피오글리타존) 중 1종 이상을 포함한다.

[0299] 다른 추가적인 작용제는 메트포민 경구, ACTOS 경구, BYETTA 피하, JANUVIA 경구, WELCHOL 경구, JANUMET 경구, 글리피자이드 경구, 글리메피라이드 경구, GLUCOPHAGE 경구, LANTUS 피하, 글리부라이드 경구, ONGLYZA 경구, AMARYL 경구, LANTUS SOLOSTAR 피하, BYDUREON 피하, LEVEMIR FLEXPEN 피하, ACTOPLUS MET 경구, GLUMETZA 경구, TRADJENTA 경구, 브로모크립틴 경구, KOMBIGLYZE XR 경구, INVOKANA 경구, PRANDIN 경구, LEVEMIR 피하, PARLODEL 경구, 피오글리타존 경구, NOVOLOG 피하, NOVOLOG FLEXPEN 피하, VICTOZA 2-PAK 피하, HUMALOG 피하, STARLIX 경구, FORTAMET 경구, GLUCOVANCE 경구, GLUCOPHAGE XR 경구, NOVOLOG Mix 70-30 FLEXPEN 피하, 글리부라이드-메트포민 경구, 아카보스 경구, SYMLINPEN 60 피하, GLUCOTROL XL 경구, NOVOLIN R inj, GLUCOTROL 경구, DUETACT 경구, 시타글립틴 경구, SYMLINPEN 120 피하, HUMALOG KWIKPEN 피하, JANUMET XR 경구, 글리피자이드-메트포민 경구, CYCLOSET 경구, HUMALOG MIX 75-25 피하, 나테글리나이드 경구, HUMALOG Mix 75-25 KWIKPEN 피하, HUMULIN 70/30 피하, PRECOSE 경구, APIDRA 피하, Humulin R inj, Jentaduet 경구, Victoza 3-Pak 피하, Novolin 70/30 피하, NOVOLIN N 피하, 인슐린 데테미어 피하, 글리부라이드 미분 경구, GLYNASE 경구, HUMULIN N 피하, 인슐린 글라긴 피하, RIOMET 경구, 피오글리타존-메트포민 경구, APIDRA SOLOSTAR 피하, 인슐린 리스프로 피하, GLYSET 경구, HUMULIN 70/30 Pen 피하, 콜레세벨람 경구, 시타글립틴-메트포민 경구, DIABETA 경구, 인슐린 레글러 인간 inj, HUMULIN N Pen 피하, 엑세나타이드 피하, HUMALOG Mix 50-50 KWIKPEN 피하, 리라글루타이드 피하, KAZANO 경구, 레파글리나이드 경구, 클로프로파마이드 경구, 인슐린 아스파트 피하, NOVOLOG Mix 70-30 피하, HUMALOG Mix 50-50 피하, 삭사글립틴 경구, ACTOPLUS Met XR 경구, 미글리톨 경구, NPH 인슐린 인간 재조합 피하, 인슐린 NPH 및 레글러 인간 피하, 톨라자마이드 경구, 미페프리스톤 경구, 인슐린 아스파트 프로탐-인슐린 아스파트 피하, 레파글리나이드-메트포민 경구, 삭사글립틴-메트포민 경구, 리나글립틴-메트포민 경구, NESINA 경구, OSENI 경구, 톨부타마이드 경구, 인슐린 리스프로 프로타민 및 리스프로 피하, 프람린타이드 피하, 인슐린 글루리신 피하, 피오글리타존-글리메피라이드 경구, PRANDIMET 경구, NOVOLOG PenFill 피하, 리나글립틴 경구, 엑세나타이드 미소구체 피하, KORLYM 경구, 아글로글립틴 경구, 아글로글립틴-피오글리타존 경구, 아글로글립틴-메트포민 경구 및 카나글리플로진 경구를 포함한다.

[0300] 다른 추가적인 작용제는 리스프로(HUMALOG); 아스파트(NOVOLOG); 글루리신(APIDRA); 레글러(NOVOLIN R 또는 HUMULIN R); NPH(NOVOLIN N 또는 HUMULIN N); 글라긴(LANTUS); 데테미어(LEVEMIR); HUMULIN 또는 NOVOLIN 70/30; 및 NOVOLOG Mix 70/30 HUMALOG Mix 75/25 또는 50/50을 포함한다.

[0301] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 다양한 신경퇴행성 질환을 치료하거나 예방하는 데 사용된다. 일부 실시형태에서, 신경퇴행성 질환은 다발성 경화증(MS; 양성 다발성 경화증, 재발-완화성 다발성 경화증(RRMS), 이차 진행성 다발성 경화증(SPMS), 진행성 재발성 다발성 경화증(PRMS) 및 원발성 진행성 다발성 경화증(PPMS)을 포함하지만 이들로 제한되지 않음), 알츠하이머병(조기 발병 알츠하이머병, 후기 발병 알츠하이머병 및 가족성 알츠하이머병(FAD)을 포함하지만 이들로 제한되지 않음), 파킨슨병 및 파킨슨병증(특발성 파킨슨병, 혈관성 파킨슨병, 약물 유발 파킨슨병, 루이소체 동반 치매, 유전성 파킨슨병, 소아 파킨슨병을 포함하지만 이들로 제한되지 않음), 헌팅턴병 및 근위축성 측삭 경화증(ALS, 산발성 ALS, 가족성 ALS, 서태평양 ALS, 청소년 ALS, 히라마야병을 포

함하지만 이들로 제한되지 않음)으로부터 선택된다.

- [0302] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 척수 손상 및/또는 척수 손상과 연관된 미생물총 불균형을 치료하는 데 사용된다. 척수 손상은 장 투과성과 소화관으로부터 박테리아의 전위를 증가시키는 것으로 밝혀져 있다. 이러한 변화는 소화관-연관 림프 조직(GALT)의 면역 세포 활성화 및 장내 마이크로비옴의 변화와 관련이 있다. 척수 손상과 관련된 장내 미생물총 불균형은 운동 회복을 손상시키고 신경 병변 병리 및 척수내 염증을 악화시키는 것과 관련이 있다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 척수 손상과 관련된 박테리아 전위 및 장내 세균 불균형을 예방 및/또는 치료한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 신경보호를 부여하고/하거나 척수 손상 후 운동 회복을 개선한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 GALT에서 항염증성 면역 표현형을 유도한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 척수 손상과 관련된 신경학적 병변 및 척수내 염증을 감소시킨다.
- [0303] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 외상성 뇌 손상(TBI) 및 이의 증상을 치료하는 데 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 예를 들어, 두개골 또는 척수에 작용하는 물리적 힘에 의해서 유발되는 뇌 또는 척수에 대한 외상과 관련된 다양한 병태, 허혈, 뇌졸중, 호흡 정지, 심정지, 뇌혈전증 또는 색전증, AIDS로 인한 신경학적 문제, 뇌출혈, 뇌척수염, 수두증, 수술 후 사근, 뇌 감염 및 뇌진탕 또는 상승된 두개내압을 치료하기 위해 사용될 수 있다.
- [0304] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 외력에 의해 유발된 뇌 기능의 변경, 또는 뇌 병리의 다른 증거를 치료하기 위해 사용될 수 있다.
- [0305] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 다양한 방법에 의해 분류된 바와 같은 TBI를 치료하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 임상 중증도(예를 들어, Glasgow Coma Scale(GSC), 문헌[Teasdale & Jennett(1974) Lancet, 2, 81-84] 참고, 소생술 후 환자의 운동, 음성 및 눈 뜨는 반응을 관찰하는 15점 척도 참조)가 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 GSC에 의해 정의된 경증, 중등도 또는 중증 두부 손상을 치료하는 데 사용될 수 있다. 또한, TBI는 예를 들어, 해부학적 및 생리학적인 관점에서 치료가 필요한 이상에 대한 평가를 기반으로 하는 TBI의 병리 기반 분류를 사용하여 분류될 수 있다. TBI를 설명하는 데 사용되는 가장 일반적인 병리-생리학적인 모델은 손상이 1차적인 손상인지 또는 2차적인 손상을 평가하는 것이다. 일반적으로 1차적인 손상은 초기의 즉각적인 부상으로 인한 것이고, 피할 수 없는 것으로 인정된다. 2차적인 손상은 예컨대, 저산소증, 고혈압 또는 고탄산혈증과 같이 피할 수 있는 후속 손상을 지칭한다. 컴퓨터 단일층 촬영(CT) 또는 자기 공명 영상(MRI)뿐만 아니라 뇌파도(EEG) 및 두개내압(ICP)과 같은 추가 TBI를 평가할 수 있다.
- [0306] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 뇌졸중을 치료하거나 예방하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 치료될 뇌졸중은 허혈성 또는 출혈성일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 출혈성 뇌졸중은 24시간을 초과하여 지속되거나 24시간 이내에 사망에 의해 중단되는 뇌혈관 원인의 신경학적 결손이다. 출혈성 뇌졸중은 실질내 출혈 또는 뇌실내 출혈로 인한 뇌출혈(뇌내 출혈)일 수 있다. 출혈성 뇌졸중은 지주막하 출혈일 수 있다. 다양한 실시형태에서, 뇌졸중은 예를 들어, Oxford Community Stroke Project 분류(OCSP, 즉 전체 전방 순환 경색(total anterior circulation infarct: TACI), 부분 전방 순환 경색(partial anterior circulation infarct: PACI), 열공 경색(lacunar infarct: LACI) 또는 후방 순환 경색(posterior circulation infarct: POCI)로 분류됨) 또는 TOAST(급성 뇌졸중 치료의 Org 10172의 시험(Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment)) 분류(즉, 뇌졸중은 (1) 큰 동맥의 죽상동맥경화증으로 인한 혈전증 또는 색전증, (2) 심장에서 기원한 색전증, (3) 작은 혈관의 완전한 폐쇄, (4) 기타 확인된 원인, (5) 확인되지 않은 원인(두 가지 가능한 원인, 확인된 원인 없음 또는 불완전한 조사))에 의해서 분류되는 경우 허혈성이다.
- [0307] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 패혈증을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 패혈증은 감염으로 인한 전신 염증성 상태를 특징으로 한다. 패혈증은 혈액 또는 조직에 다양한 고름-형성 및 기타 병원성 유기체 또는 독소의 존재를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 발명은 패혈증(septicemia, blood poisoning), 균혈증, 바이러스혈증 및/또는 진균혈증을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 패혈증과 연관된 다양한 말단 기관 병리, 예컨대, 저혈압, 급성 세뇨관 괴사(ATN) 및 급성 호흡 곤란 증후군(ARDS)을 치료한다.
- [0308] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 신부전, 예컨대, 급성 신부전(ARF)을 치료하거나 예방하는 방법을 제공한다. 급성 신부전은 혈청 크레아티닌 수준의 증가를 초래하는 신장 기능의 급성 상실을 포함한다. 급성 신부전에서 사구체 여과율은 수일에서 수주에 걸쳐 감소한다. 결과적으로, 질소 폐기물의 배설이 감소하고, 체액과 전해질 균형이 유지되지 않을 수 있다. 급성 신부전 환자는 종종 무증상이며, 병태는 관찰된 혈중 요소 질소(BUN) 및 혈청 크레아티닌 수준 상승으로 진단된다. 혈청 크레아티닌 수준이 1일당 dl당 적어도 0.5mg 증가하고 소변 배

출량이 1일당 400ml 미만(땀노)인 경우 완전한 신기능 정지가 존재한다. 본 명세서에 기재된 AP-기반 작용제는 신부전의 치료뿐만 아니라 신장 기능이 적어도 부분적으로 손상되거나 감소된 신장 사례를 개선하기 위해 사용될 수 있다.

- [0309] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 울혈성 심부전을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 울혈성 심부전의 하나 이상의 증상, 예컨대, 숨가쁨, 피로감, 및 다리 부종을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 이전의 심근경색증(심장마비), 고혈압, 심방세동, 판막성 심장 질환, 과도한 알코올 섭취, 감염 및 원인 미상의 심근병증을 포함하는 관상 동맥 질환에 의해 유발된 울혈성 심부전을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 클래스 I 울혈성 심부전을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 클래스 II 울혈성 심부전을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 클래스 III 울혈성 심부전을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 클래스 IV 울혈성 심부전을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다.
- [0310] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 근통성 뇌척수염(myalgic encephalomyelitis: ME) 및 보다 최근에는 전신적 활동 불능병(systemic exertion intolerance disease: SEID)을 포함하는 만성 피로 증후군을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 피로, 기억력 또는 집중력 상실, 인후염, 목 또는 겨드랑이의 림프절 비대, 설명되지 않는 근육통, 관절통, 두통, 상쾌하지 않은 수면 및 육체적 또는 정신적 운동 후 24시간 초과 동안 지속되는 극심한 피로를 포함하는 만성 피로 증후군의 하나 이상의 증상을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다.
- [0311] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 췌장염을 치료하거나 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, 췌장염은 경증 급성 췌장염이다. 다양한 실시형태에서, 췌장염은 예를 들어, 기관 부전, 괴사, 감염된 괴사, 가낭종 및 농양과 관련된 중증 췌장염이다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 췌장염의 하나 이상의 증상, 예컨대, 등으로 방사될 수 있는 상복부 또는 모호한 복통, 정상치의 상한치의 약 3배를 초과하는 혈청 아밀라제 또는 리파제 수준 및 특징적인 변화가 있는 영상 검사(예를 들어, CT, MRI, 복부 초음파 또는 내시경 초음파)를 치료하거나 예방하기 위해 사용될 수 있다.
- [0312] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 담석, 에탄올 소비, 외상, 스테로이드 소비, 불거리 감염, 자가면역 질환, 전갈 쏘임, 고지혈증, 저체온증, 부갑상샘기능항진증, 내시경 역행성 담췌관조영술 및 특정 약물(예를 들어, 아자티오프린, 발프로산) 사용과 같은 하나 이상의 위험 인자를 갖는 대상체에서 췌장염을 치료 또는 예방하기 위해 사용될 수 있다.
- [0313] 췌장염 발작의 중증도를 예측하기 위해 몇몇 점수 시스템이 사용된다. 예는 APACHE II, Ranson, BISAP 및 Glasgow를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 췌장염은 변형된 글래스고 기준(Modified Glasgow criteria) 하의 다음 중 적어도 3가지에 의해 정의된다:  $pO_2 < 60 \text{ mmHg}$  또는  $7.9 \text{ kPa}$ ; 연령  $> 55$ ; 호중구 백혈구  $> 15$ ; 칼슘  $< 2 \text{ mmol/l}$ ; 신장 요소  $> 16 \text{ mmol/l}$ ; 효소 락테이트 데하이드로게나제(LDH)  $> 600 \text{ iu/l}$  아스파테이트 트랜스아미나제(AST)  $> 200 \text{ iu/l}$ ; 알부민  $< 32 \text{ g/l}$ ; 및 당 글루코스  $> 10 \text{ mmol/l}$ .
- [0314] 일부 실시형태에서, AP-기반 작용제는 aGVHD 및/또는 VRE 집락화 및/또는 감염을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 알로-HCT 수여자에 대한 IV 베타-락탐 항생제의 투여와 연관된 합병증의 발생률 및/또는 중증도를 감소시키는 방법에서 사용된다.
- [0315] 특별한 실시형태에서, 본 발명은 VRE 집락화 및/또는 감염을 예방하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 VRE 집락화 및/또는 감염과 연관된 소화관 균집봉괴를 예방한다.
- [0316] 일부 양상에서, 본 발명의 베타-락타마제 작용제를 투여하는 것을 포함하는 이식 수여자에서 VRE 집락화 및/또는 감염을 예방하는 방법이 제공된다.
- [0317] 특별한 실시형태에서, 본 발명은 aGVHD의 발생률 및/또는 중증도를 감소시키기 위한 조성물 및 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, aGVHD의 발달 위험이 있는 대상체는 이식 수여자이다. 추가 실시형태에서, 대상체는 알로-HCT의 수여자이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 골수 세포, 말초 혈액 세포 및 뱃줄 세포 중 하나 이상의 수여자이다. 다양한 실시형태에서, aGVHD 발달 위험이 있는 대상체는 IV 베타-락탐 항생제가 투여 중이거나 투여된 적이 있다.
- [0318] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 aGVHD와 연관된 소화관 균집봉괴를 예방한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 aGVHD와 연관된 소화관 미생물총 다양성 및/또는 장내 미생물총 불균형의 손실을 예방한다. 예를

들어, 본 발명의 방법은 aGVHD와 연관된 임의의 주어진 박테리아 균주(예를 들어, 엔테로코커스)의 단일우세화를 조절 및/또는 감소시키기 위한 조성물의 투여를 고려한다. 본 발명의 추가 실시형태는 이식을 겪은 대상체에서 마이크로비옴 다양성의 감소를 예방하기 위한 조성물 및 방법을 제공한다.

- [0319] 일부 양상에서, 본 발명의 베타-락타마제 작용제를 투여하는 것을 포함하는 이식 수여자에서 aGVHD의 발생률 및/또는 중증도를 감소시키는 방법이 제공된다. 예를 들어, aGVHD의 중증도를 감소시키는 것은 aGVHD의 가장 중증 형태로 분류된 IV보다 낮은 등급을 부여받은 대상체를 포함할 수 있다.
- [0320] 실시형태에서, 본 발명의 방법은 이식 수여자에서 aGVHD의 발생률 및/또는 중증도를 감소시키는 것에 관한 것이다. 실시형태에서, 이식 수여자는 암 환자, 예를 들어, 방사선 또는 화학요법을 제공받은 적이 있거나 제공받고 있고, 그 다음 알로-HCT를 제공받은 환자이다. 실시형태에서, 이식 수여자는 혈액 또는 골수암을 갖는다. 실시형태에서, 이식 수여자는 조혈 줄기세포 이식편의 수여자이다. 특정 실시형태에서, 암은 백혈병, 림프종, 골수종 및 골수이형성으로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 암은 골육종, 유잉 종양(Ewing tumor), 척색종(chordomas) 및 연골육종(chondrosarcomas)으로부터 선택된다.
- [0321] aGVHD는 세포 또는 조직이 외래임을 수여자의 면역계가 인식함으로써 공여자로부터 수여자에게 이식된 세포 또는 조직이 손상되는 것이다. 따라서, 클래스 I MHC가 신체의 더 많은 세포 상에 존재하기 때문에, 가장 일치하는 클래스 I MHC 프로필, 그 다음 가장 일치하는 클래스 II MHC 프로필을 갖는 사람으로부터의 세포 및 조직을 이식하는 것이 가장 바람직하다. 따라서, 대부분의 이식 수용자에서 aGVHD는 일치하지 않는 클래스 II MHC 분자 및 다른 다형성 단백질(부조직적합성 항원)에 대한 면역계의 활성화로 인한 것이다.
- [0322] 혈액암 및 골수암을 치료하기 위한 한 가지 선택은 예를 들어, 방사선 또는 화학요법을 통해 기존 혈액 및 골수 세포를 죽이고, 동종이계 조혈 줄기세포 이식(알로-HCT)이라고 지칭되는 건강한 공여자로부터의 유사한 세포를 이식하는 것이다.
- [0323] 실시형태에서, 본 발명의 방법은 GVHD의 급성 및 만성 형태에 관한 것이다. 전형적인 이 질환(aGVHD)의 급성 또는 전격성 형태는 전형적으로 이식 후 처음 100일 이내에 관찰되며, 연관된 이환율 및 사망률로 인해 이식의 효과에 대한 주요 도전이다. 이식편대숙주병의 만성 형태(cGVHD)는 전통적으로 100일 후에 발생한다. 중등도 내지 중증의 cGVHD 사례의 출현은 장기 생존에 부정적인 영향을 미친다. 골수 이식 후, 이식편에 존재하는 T 세포는 오염 물질로서 또는 의도적으로 숙주에 도입되어, 숙주 조직을 항원적으로 외래인 것으로 인식한 후 이식 수여자의 조직을 공격한다. T 세포는 TNF 알파 및 인터페론-감마(IFN  $\gamma$ )를 포함하여, 과량의 사이토카인을 생산한다. cGVHD의 조직 손상은 주로 섬유증으로 인한 것이다. 광범위한 숙주 항원이 이식편대숙주병을 개시할 수 있으며, 이들 중에는 인간 백혈구 항원(HLA)이 있다. 그러나 GVHD는 HLA-동일 형제 자매가 공여자인 경우에도 발생할 수 있다. aGVHD는 간, 피부, 점막, GI관에 대한 선택적 손상을 특징으로 한다. aGVHD의 조직 손상은 주로 아포토시스로 인한 것이다. aGVHD 중증도는 병변/발진(피부), 설사 부피(GI), 및 혈청 빌리루빈 수준(간)의 양 및 유형에 기초하여 I(경증)에서 IV(매우 중증)의 척도로 등급이 매겨진다. cGVHD는 aGVHD보다 훨씬 더 넓은 조직 분포를 특징으로 한다. 피부 및 폐는 GI관, 간, 눈, 근골격계 및 조혈계와 함께 cGVHD의 주요 표적 기관으로 간주된다. aGVHD의 초급성 및 급속하게 치명적인 형태는 전형적으로 심각한 HLA 불일치 또는 부적절한 GVHD 예방으로 인해서, 동종이계 HCT의 처음 2주 이내에 발생할 수 있다. cGVHD와 연관된 위험 인자는 전형적으로 이전 aGVHD를 조정된 후에도 변하지 않는데, 이는 cGVHD가 단순히 이전 aGVHD의 진화가 아님을 시사한다.
- [0324] 실시형태에서, 본 발명의 방법은 aGVHD의 발생률 및/또는 중증도를 감소시키는 것에 관한 것이다. 실시형태에서, 본 발명의 IV 베타-락탐 항생제로 치료되고 aGVHD의 하나 이상의 위험 인자, 예컨대, HLA "불일치" 또는 관련되지 않은 공여자, 고령의 환자, 여성 공여자 대 남성 수여자, 컨디션닝 요법 또는 컨디션닝 요법 중 전신 조사의 강도 및 공여자 림프구 주입을 갖는 환자에게 베타-락타마제의 투여를 예상한다. 본 발명의 방법은 aGVHD 증상, 예컨대, 피부 발진, 위장(GI)관 장애 및 간 증상의 발생률 및/또는 중증도를 감소시킨다.
- [0325] 실시형태에서, 본 발명의 방법은 빌링엄 기준(Billingham Criteria) 중 하나 이상에 의해 정의된 GVHD에 관한 것이다: 1) 생존 가능하고 기능적인 면역 세포와 함께, 면역적격 이식편의 투여; 2) 수여자가 면역학적으로 조직 비적합성임; 및 3) 수여자가 면역손상되어, 이식된 세포를 파괴하거나 비활성화할 수 없음.
- [0326] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 알레르기를 치료하거나 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 아토피성 알레르기 또는 IgE 매개 알레르기를 치료하거나 예방하기 위해 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 꽃가루 알레르기, 털 알레르기, 집먼지 진드기 알레르기, 곤충독 알레르기, 외인성 천식 및 많은 유형의 식품 알레르기 중 하나 이상을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다.

다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 아나필락시스, 약물 과민증, 피부 알레르기, 습진, 알레르기 비염, 두드러기, 아토피 피부염, 안구 건조 질환, 알레르기원 접촉 알레르기, 식품 과민증, 알레르기 결막염, 곤충 독 알레르기, 기관지 천식, 알레르기 천식, 내인성 천식, 직업성 천식, 아토피 천식, 급성 호흡 곤란 증후군(acute respiratory distress syndrome: ARDS) 및 만성 폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease: COPD) 중 하나 이상을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다.

[0327] 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 비제한적으로 알레르기 천식을 포함하는 천식을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 면역글로불린 E 자극, 기도 과민성, 비만 세포 침윤, 폐 호산구 증가증 및 폐 내의 대안적으로 활성화된 대식세포의 축적을 감소시키는 데 사용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, AP-기반 작용제는 재발성 천명 및 간헐적 기류 제한(air flow limitation) 중 하나 이상을 치료하거나 예방하는 데 사용될 수 있다.

[0328] 일부 실시형태에서, 용어 "환자" 및 "대상체"는 상호 호환적으로 사용된다. 일부 실시형태에서, 대상체 및/또는 동물은 포유동물, 예를 들어, 인간, 마우스, 래트, 기니피그, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 토끼, 양 또는 비-인간 영장류, 예컨대, 원숭이, 침팬지 또는 개코원숭이이다. 다른 실시형태에서, 대상체 및/또는 동물은 비포유동물, 예를 들어, 제브라피시이다.

[0329] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 인간 대상체의 치료에서 유용하다. 일부 실시형태에서, 인간은 소아 인간이다. 다른 실시형태에서, 인간은 성인 인간이다. 다른 실시형태에서, 인간은 노인 인간이다. 다른 실시형태에서, 인간은 환자로서 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, 인간은 여성이다. 일부 실시형태에서, 인간은 남성이다.

[0330] 특정 실시형태에서, 인간은 연령이 약 1 내지 약 18개월령, 약 18 내지 약 36개월령, 약 1 내지 약 5세, 약 5 내지 약 10세, 약 10 내지 약 15세, 약 15 내지 약 20세, 약 20 내지 약 25세, 약 25 내지 약 30세, 약 30 내지 약 35세, 약 35 내지 약 40세, 약 40 내지 약 45세, 약 45 내지 약 50세, 약 50 내지 약 55세, 약 55 내지 약 60세, 약 60 내지 약 65세, 약 65 내지 약 70세, 약 70 내지 약 75세, 약 75 내지 약 80세, 약 80 내지 약 85세, 약 85 내지 약 90세, 약 90 내지 약 95세 또는 약 95 내지 약 100세 범위이다.

[0331] 키트

[0332] 본 발명은 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형의 투여를 단순화할 수 있는 키트를 제공한다. 키트는 본 명세서에 기재된 변형 방출형 제형 중 적어도 하나를 포함하는 물질 또는 성분의 집합체이다. 키트에서 구성된 성분의 정확한 특성은 그의 의도된 목적에 의존한다. 일 실시형태에서, 키트는 인간 대상체를 치료하는 목적을 위해 구성된다.

[0333] 사용을 위한 설명서가 키트에 포함될 수 있다. 사용을 위한 설명서는 전형적으로 목적으로 하는 결과에 영향을 미치기 위해, 예컨대 본 명세서에 기재된 장애를 치료하기 위해 키트의 구성성분을 이용하는 데 사용될 기법을 설명하는 실재하는 표현을 포함한다. 선택적으로, 키트는 또한 다른 유용한 구성성분, 예컨대, 희석제, 완충제, 약제학적으로 허용 가능한 담체, 주사기, 카테터, 도포기, 피펫 또는 측정 도구, 붕대 재료 또는 당업자에 의해 용이하게 인식될 다른 유용한 용품을 수용한다.

[0334] 키트에서 조립되는 물질 및 구성성분은 작업성 및 효용을 보존하는 임의의 편리하고 적합한 방법으로 실행자의 저장소에 제공될 수 있다. 예를 들어, 구성성분은 실온, 냉장 또는 냉동 온도로 제공될 수 있다. 구성성분은 전형적으로 적합한 패키징 물질 내에 수용된다. 다양한 실시형태에서, 패키징 물질은 바람직하게는 멸균, 무 오염 물질 환경을 제공하기 위해 잘 공지된 방법에 의해 구성된다. 패키징 물질은 키트 및/또는 그의 구성성분의 내용물 및/또는 목적을 나타내는 라벨을 가질 수 있다.

[0335] 정의

[0336] 본 명세서에서 사용하는 바와 같은, 단수의 용어는 하나 초과를 의미할 수 있다.

[0337] 추가로, 용어 "약"은 기준 수치 표시와 관련하여 사용할 때, 기준 수치 표시+또는 - 해당 기준 수치 표시의 10% 까지를 의미한다. 예를 들어, 용어 "약 50%"는 45% 내지 55%의 범위를 아우른다.

[0338] 의학적 용도와 관련하여 사용될 때 "유효량"은 관심 대상 장애의 측정가능한 치료, 예방 또는 관심 대상 장애 비율의 감소를 제공하는 데 유효한 양이다.

[0339] 본 명세서에서 사용하는 바와 같은, 활성 및/또는 효과의 관독이 작용제 또는 자극의 존재 하에서 이러한 조절

이 없을 때에 비해 상당한 양만큼, 예컨대, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 이상만큼(적어도 약 100%를 포함) 감소된다면, 그것은 "감소된다". 당업자에 의해 이해될 바와 같이, 일부 실시형태에서, 활성은 감소되고, 일부 하류 관독은 감소될 것이지만, 나머지는 증가할 수 있다.

[0340] 대조적으로, 활성 및/또는 효과의 관독이 작용제 또는 자극의 존재 하에서 이러한 조절이 없을 때에 비해 상당한 양만큼, 예를 들어 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 이상(적어도 약 100% 이상을 포함), 적어도 약 2-배, 적어도 약 3-배, 적어도 약 4-배, 적어도 약 5 내지 배, 적어도 약 6-배, 적어도 약 7-배, 적어도 약 8-배, 적어도 약 9-배, 적어도 약 10-배, 적어도 약 50-배, 적어도 약 100-배만큼 증가된다면, 활성은 "증가된다".

[0341] 본 명세서에 지칭되는 바와 같은, 모든 조성 백분율은 달리 특정되지 않는 한, 총 조성물의 중량에 의한 것이다. 본 명세서에서 사용하는 바와 같이, 단어 "포함하다" 및 그의 변형은 목록에서 항목의 열거가 이 기술의 조성물 및 방법에서 또한 유용할 수 있는 다른 유사 항목을 제외하지 않도록, 비제한적인 것으로 의도된다. 유사하게, 용어 "할 수 있다" 및 "할 수도 있다" 및 그들의 변형은 실시형태가 특정 구성요소 또는 특징을 포함할 수 있거나 또는 포함할 수도 있고 해당 구성요소 또는 특징을 포함하지 않는 본 기술의 다른 실시형태를 제외하지 않도록 비제한적인 것으로 의도된다.

[0342] 포함하는(including), 함유하는 또는 갖는과 같은 용어의 동의어로서 개방형 용어 "포함하는(comprising)"은 본 발명을 기재하고 청구하기 위해 본 명세서에서 사용하며, 본 발명, 또는 이의 실시형태는 대안의 용어, 예컨대, "이루어진" 또는 "본질적으로 이루어진"을 이용하여 대안적으로 기재될 수 있다.

[0343] 본 명세서에서 사용하는 바와 같이, 단어 "바람직한" 및 "바람직하게"는 특정 상황 하에서 특정 이점을 얻는 기법의 실시형태를 지칭한다. 그러나, 동일한 또는 다른 상황 하에서 다른 실시형태가 또한 바람직할 수 있다. 더 나아가, 하나 이상의 바람직한 실시형태의 열거는 다른 실시형태가 유용하지 않으며, 기술 범주로부터 다른 실시형태를 제외하는 것으로 의도되지 않는다는 것을 암시하지 않는다.

[0344] 치료제를 달성하는 데 필요한 본 명세서에 기재된 조성물의 양은 특정 목적을 위한 통상적인 절차에 따라 경험적으로 결정될 수 있다. 일반적으로, 치료적 목적으로 치료제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 베타-락타마제 및/또는 추가적인 치료제)를 투여하기 위해, 치료제는 약학적 유효 용량으로 제공된다. "약학적 유효량", "약학적 유효 용량", "치료적 유효량" 또는 "유효량"은 특히 장애 또는 질환을 치료하기 위해 목적으로 하는 결과를 달성할 수 있는 요망되는 생리적 효과 또는 양을 생성하는 데 충분한 양을 지칭한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 유효량은, 예를 들어, 장애 또는 질환의 증상 개발을 지연시키고, 장애 또는 질환의 증상 과정을 변형시키며(예를 들어, 질환의 증상 진행을 늦추고), 장애 또는 질환의 하나 이상의 증상 또는 징후를 감소 또는 제거하고, 장애 또는 질환의 증상을 반전시키는 데 충분한 양을 포함한다. 개선이 실현되는지의 여부와 상관없이, 치료적 이점은 또한 근본적인 질환 또는 장애의 진행을 멈추게 하거나 또는 늦추는 것을 포함한다.

[0345] 유효량, 독성 및 치료적 효능은, 예를 들어 LD50(집단의 약 50%까지의 치사 용량) 및 ED50(집단의 약 50%에서 치료적으로 유효한 용량)을 결정하기 위해 세포 배양, 조직 샘플, 조직 파쇄액 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 투여량은 사용된 투여 형태 및 이용되는 투여 경로에 따라 다를 수 있다. 독성과 치료적 효과 사이의 용량비는 치료 지수이고, LD50/ED50 비로서 표현될 수 있다. 일부 실시형태에서, 큰 치료 지수를 나타내는 조성물 및 방법이 바람직하다. 치료적 유효 용량은, 예를 들어, 세포 배양 분석을 포함하는 시험관내 분석으로부터 초기에 추정될 수 있다. 또한, 용량은 세포 배양물에서 또는 적합한 동물 모델에서 결정된 바와 같은 IC50을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하기 위해 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 혈장 중의 기재된 조성물 수준은, 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다. 임의의 특정 투여량의 효과는 적합한 생체분석에 의해 모니터링될 수 있다. 투여량은 의사에 의해 결정되고, 필요하다면 치료 관찰된 치료 효과에 적합하도록 조절될 수 있다.

[0346] 특정 실시형태에서, 효과는 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 50%, 적어도 약 70%, 또는 적어도 약 90%의 정량화 가능한 변화를 초래할 것이다. 일부 실시형태에서, 효과는 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 50%, 약 70%, 또는 심지어 약 90% 이상의 정량화 가능한 변화를 초래할 수 있다. 개선이 실현되는지의 여부와 상관없이, 치료적 이점은 또한 근본적인 질환 또는 장애의 진행을 멈추게 하거나 또는 늦추는 것을 포함한다.

- [0347] 본 명세서에서 사용하는 바와 같이, "치료 방법"은 본 명세서에 기재된 질환 또는 장애를 치료하기 위한 조성물 및/또는 본 명세서에 기재된 질환 또는 장애를 치료하기 위한 의약의 제조에서의 용도 및/또는 용도들을 위한 조성물에 동일하게 적용 가능하다.
- [0348] **실시에**
- [0349] 실시예 1: IAP 지연 방출형 장용-코팅된 펠릿
- [0350] IAP 적층 수크로스 코어의 2개의 배치를 3.45% w/w(제1 배치) 및 4.65% w/w(제2 배치)의 효소 로드로 제조하였다. 적층을 위해 사용된 IAP 용액과 비교할 때 적층 후 IAP 활성이 유지되었다. IAP 용액은 시그마 표준품에 대해 약 70%의 활성을 나타낸 반면 약물 적층 코어는 시그마 표준품에 대해 60%를 나타냈다.
- [0351] 활성 검정에 의해 IAP의 안정성을 평가하기 위해 약물 적층 코어 배치 1을 연구하였다. 코어를 실리카 건조제의 존재 및 부재 하에 냉장 조건 하에 저장하였고, IAP 활성은 두 조건 모두에서 8주의 기간 동안 안정적으로 유지되는 것을 발견하였다. 그 다음, 약물 적층 코어 배치 2를 30% EUDRAGIT L30D-55 중량 증가(단일층) 또는 내부 격리 층으로서 7% HPC 중량 증가에 이어 30% EUDRAGIT L30D-55로 코팅하였다. 코팅된 제형 둘 다는 2시간 동안 공복 상태 모의 위액(FaSSGF)에서 내산성을 나타내었고, 용해 시험 종료 시 효소 활성의 손실 없이 공복 상태 모의 장액(FaSSIF)에서 매우 유사한 용해 프로파일을 나타내었다.
- [0352] 코팅된 펠릿을 실리카 존재 하에 냉장 조건 하에 저장하였고, 6개월 후에 효소 활성이 감소하지 않았는데, 이는 HPC(결합제) 및 코팅층(산성 중합체 EUDRAGIT L30D-55)이 6개월 동안 효소 활성에 영향을 갖지 않았다는 것을 시사한다.
- [0353] 종합하면, 약물 적층 펠릿 제형은 얻은 용해 프로파일 및 펠릿의 우수한 유동성으로 인해 IAP를 제형화하는 유망한 옵션이다. 또 다른 장점은 하나의 제형에 기초하여 다양한 효소 강도를 얻을 수 있는 유연성이다. 또한 동일한 유동층 코팅기에서 적층 및 장용 코팅을 수행할 수 있기 때문에 간단한 방법을 제공한다.
- [0354] 실시예 2: 부형제-IAP 상용성의 평가
- [0355] IAP 활성도에 대한 결합제의 효과를 결정하기 위해 IAP를 잠재적 결합제의 선택과 조합하였다. 수크로스 또는 락토스의 존재 하에서 IAP와의 상용성에 대해 시험된 결합제는 인큐베이션 96시간 후에 IAP 활성도를 유의하게 변화시키지 않았고, 표 1 및 도 2에 나타낸 바와 같이 초기 IAP 용액 단독(IAP-결합제 조합 #11)과 유사한 활성도 %를 나타내었다.

표 1

IAP-결합제 조합 번호 및 조성.

| IAP-결합제 조합<br>번호 | 조성        |                    |                   |           |
|------------------|-----------|--------------------|-------------------|-----------|
|                  | IAP       | 11.0mg/mL 의<br>결합제 | 당                 | 염         |
| 1                | 5.50mg/mL | -                  | 수크로스<br>5.50mg/mL | 1.25mg/mL |
| 2                |           | HPC                |                   |           |
| 3                |           | PEG4000            |                   |           |
| 4                |           | PEG8000            |                   |           |
| 5                |           | Kollicoat IR       |                   |           |
| 6                |           | -                  | 락토스<br>5.50mg/mL  |           |
| 7                |           | HPC                |                   |           |
| 8                |           | PEG4000            |                   |           |
| 9                |           | PEG8000            |                   |           |
| 10               |           | Kollicoat IR       |                   |           |
| 11               |           | -                  | -                 |           |

[0356]

[0357]

표 1 및 도 2에 나타난 바와 같이, 대부분의 조합은 t=0 시간에서의 초기 값과 비교할 때 효소 활성도의 유의한 변화를 초래하지 않았다. 이 결과는, 현재 시험 조건 하에서 시험된 부형제 중 어느 것의 존재 하에서도 IAP 활성도의 손실이 관찰되지 않았기 때문에, 비상용성 문제가 확인되지 않았음을 나타내었다. 이 결과는, 결합제로 HPC를 사용하는 약물 적층 코어가 IAP 활성도를 손상시키지 않을 것이며, 이것이 추가 연구를 위해 선택된 제안된 조합임을 시사하였다.

[0358]

IAP와의 상용성에 대해 시험된 보조 인자를 표 2 및 도 3에 나타낸다. 보조 인자는 현재 시험 조건 하에서 IAP 활성을 유의하게 증가시키지 않는 것을 발견하였다.

표 2

IAP-부형제 조합번호 및 조성.

| IAP-부형제 조합 번호 | IAP       | HPC                         | 수크로스      | 보조인자 | 염         |
|---------------|-----------|-----------------------------|-----------|------|-----------|
| 1             | 5.50mg/mL | -                           | -         | -    | 1.25mg/mL |
| 2             |           | 11.0mg/mL                   | -         | -    |           |
| 3             |           |                             | 5.50mg/mL | -    |           |
| 4             |           | -                           |           | -    |           |
| 5             |           | CoCl <sub>2</sub> (2.75 mM) |           |      |           |
| 6             |           | CoCl <sub>2</sub> (5.5 mM)  |           |      |           |
| 7             |           | CaCl <sub>2</sub> (2.75 mM) |           |      |           |
| 8             |           | CaCl <sub>2</sub> (5.5 mM)  |           |      |           |

[0359]

[0360]

표 2 및 도 3에 나타낸 바와 같이, 어떠한 보조 인자도 존재하지 않는 처음 4개의 조합(#1 내지 #4)은 보조 인자를 함유하는 4개의 조합(#5 내지 #8)과 비교할 때 IAP 활성도에서 감소 경향을 나타내지 않았다. IAP-결합제 상용성 연구(도 2에 제공된 결과)와 유사하게, IAP-보조 인자 상용성 연구의 결과는 IAP 활성이 HPC, 수크로스 또는 이들 둘의 조합의 존재 하에서 손상되지 않을 것임을 확인해 주었다. 제형에 보조 인자를 첨가하는 것은 상이한 시점에 걸쳐 IAP 활성도를 유의하게 증가시키지 않았다. 따라서, 보조 인자 함유 제형을 추가로 조사하지 않았다. IAP 완충액은 1.0mM MgCl<sub>2</sub> 및 0.1mM ZnCl<sub>2</sub>를 함유한다. 본 실험에서 시험된 추가 금속 이온(CoCl<sub>2</sub> 및 CaCl<sub>2</sub>)은 IAP-결합제 혼합물의 효소 활성을 변경하지 않았다.

[0361]

부형제/IAP 혼합물 용액을 37°C에서 인큐베이션시켰고, 따라서 인큐베이션 온도로 인해, 수성 매질은 시간에 따라 증발되었고 용액 부피의 명백한 손실이 관찰되었다. 이는 최종 시점에서 조합 #2에서 효소 활성도의 증가를 초래하였다. 최종 시점에서 조합 #4, #5, #7 및 #8에서 효소 활성의 감소는 검정 가변성과 관련될 수 있다.

[0362]

실시예 3: 제1 코어 배취의 안정성 시험

[0363]

IAP 용액은 pH 7.5에서 20mM Tris, 0.1mM ZnSO<sub>4</sub> 및 1mM MgCl<sub>2</sub> 완충액 중의 10.1mg/ml IAP(장 알칼리성 포스파타제)로서 동결되어 공급되었고, 약물 적층에 사용되었다. 최종 약물 적층 용액을 제조하기 위해서, 1.12g의 HPC(Klucel EF)를 느린 자석 교반(200RPM 미만) 하에 49.5ml IAP 용액에 첨가하였다. 후속 용액을 Caleva 미니 코팅기/건조기에서 600/710µm Suglets 6.00g에 분무 적층하였다.

[0364]

IAP-HPC 용액을 11.5m/s의 유입 공기 속도 및 10.5Hz의 챔버 교반 속도와 함께 0.8bar의 분무화 공기 압력에서 분무하였다. 분무 공정 온도는 초기 30 내지 45분 동안 45°C였고, 그 다음 40°C로 낮췄다. 이는 코팅 공정의 초기 단계 동안, 온도가 코어 표면의 수용액을 빠르게 건조시키기에 충분하지 않으면 Suglets이 쉽게 응집되기 때문이었다. 코팅 공정이 진행됨에 따라, 코어는 코팅의 얇은 층을 보유하는데, 이것은 코어를 보호하고, 응집 가능성을 감소시켜, 결과적으로 공정 온도가 낮아졌다.

[0365]

약물 적층 코어를 1시간 분무 후마다 30분 동안 35°C에서 건조시키고, 코팅이 완료되면 약물 적층 코어를 추가로 40°C에서 1시간 동안 건조시킨 후 실제 중량 증가를 확인하였다.

[0366]

약물 적층 코어(AP0361/24/1)는 각각 87.92/3.45/7.77/0.87% w/w에서 Suglets/IAP/HPC/염(IAP 용액으로부터)으로 구성되었다. 이러한 코어 배취는 준비 오류로 인해 의도한 1:2 w/w 비율이 아니라 1:2.25 w/w로 IAP/HPC 비율이 약간 상이하였다. 코어를 약물 적층 공정이 완료된 후 실리카 건조제 백을 포함하는 밀폐된 유리 바이알에 2 내지 8°C에서 저장하였다.

[0367]

생성된 코어를 약물 적층 후 처음 12일 동안 2 내지 8°C에서 건조조건 하에 밀폐된 바이알 내에서 유지시켰다. 비-건조조건 조건의 효과를 연구하기 위해서, 초기 건조 12일 후 내용물의 절반을 유리 바이알에서 꺼내고, 실리카 자루 없이 2 내지 8°C에 저장하였다. 표 3에 나타난 바와 같이, 이러한 약물 적층 코어의 단기 안정성 연구에서 시간 경과에 따라 효소 활성 결과를 측정하였다.

**표 3**

**건조조건/비-건조조건 조건 하에서 냉장고 내의 약물 적층 코어의 IAP 활성화도**

| 냉장고 내 저장 일수 | 활성도 %         |        |
|-------------|---------------|--------|
| -           | 72.1 (IAP 용액) |        |
| 3           | 71.3 (건조조건)   |        |
| 12          | 45.2 (건조조건)   |        |
| 12일로부터      | 건조조건          | 비-건조조건 |
| 27          | 74.7          | 68.3   |
| 35          | 73.1          | 73.4   |
| 42          | 63.6          | 65.4   |
| 54          | 61.5          | 55.4   |

[0368]

[0369]

시간 경과에 따라서 IAP 활성화도 %의 일부 변동이 관찰되었지만; 이들은 검정 방법의 가변성과 관련될 수 있다. 표 3의 결과에 기초하여, 비-건조조건 조건은 건조조건 조건과 비교할 때 IAP 활성을 유의하게 감소시키지 않았다고 결론지었다.

[0370]

효소 활성화도 시험을 위해서, 코어를 다이에탄올아민 완충액에 용해시켰다. 구체적으로, IAP 활성화도 검정 방법을 수행하였다. 다이에탄올아민(Sigma D8885)을 사용하여 정제수 중의 140mg/ml 용액을 제조하고, 다이에탄올아민의 pH를 37°C에서 5M HCl로 9.8로 조정하였다. pH 조정된 용액을 정제수를 사용하여 105mg/ml의 최종 다이에탄올아민 농도로 희석하였다. 마지막으로, 500µl/l의 1M 염화마그네슘 용액(Sigma M1028)을 용액에 첨가하였다. 다이에탄올아민을 새로 제조하였고, 직사광선으로부터 보호하였다.

[0371]

IAP 효소 표준 용액은 19.4mg/ml의 스톡 용액(농도는 Sigma로부터의 다른 로트마다 다를 수 있음)을 1.00mg/ml까지 다이에탄올아민 완충액(92µl 다이에탄올아민 완충액 중의 5µl) 중에 희석시켜 제조하였다. 효소 용액을 추가 희석 전에 얼음에서 유지시켰다. 이러한 정제된 장 알칼리성 포스파타제(Sigma #P0114)를 대조군으로 사용하여 검정된 샘플의 활성도를 시험하였다.

[0372]

모든 샘플을 Sigma 표준품 및 IAP 용액을 포함하는 96-웰 플레이트에 로딩하고, 다이에탄올아민 완충액을 사용하여 이론상 5ng/ml 용액으로 희석시켰다.

[0373]

pNPP를 5mM 용액에 대해 1.86mg/ml 검정 완충액에서 재구성하였고(Abcam ab146203), pNPP 용액은 얼음 위에서 12시간 동안 안정적이었다.

[0374]

이어서, 동역학 검정을 수행하였다. 플레이트 판독기(DYNEX #MRX TC II)에서, 80µl 표준품 및 샘플을 96웰 플레이트의 웰에 첨가하였다. 모든 효소 반응을 이중 웰로 수행하였다. 나중에 샘플에 첨가하기 위해서 충분한 5mM pNPP 용액을 각각의 빈 웰에 첨가하고, 플레이트를 37°C에서 5분 동안 인큐베이션시켰다. 다중채널 피펫을 사용하여 표준품 또는 샘플을 함유하는 각각의 웰에 예열된 5mM pNPP 용액 50µl를 신속하게 첨가하였다. 이 첨가 동안, 기포의 형성을 방지하였다. 반응 순서를 시작하고, 37°C에서 수행하였다. 추가 10분의 초기 지연 및 2초의 초기 진탕 단계 후, 비색 출력(효소 포스파타제 활성도를 통한 pNPP NPP 탈인산화)을 405nm에서 광학 밀도(OD) 증가의 함수로 5분에 걸쳐 20초마다 측정하였다. 효소를 함유하지 않은 블랭크 웰을 동일한 플레이트에서 병렬로 실행하였다.

[0375]

동역학 검정은 이 시간 기간에 걸쳐 효소 동역학의 판독값을 제공하였고, 그 기율기를 IAP Sigma 표준품으로부터 생성된 기율기와 비교하기 위해 사용하였다(샘플의 활성화도 % = 샘플의 기율기/Sigma 표준품의 기율기 \* 100%; 샘플의 기율기 및 Sigma 표준품의 기율기에서 블랭크의 기율기를 차감하였음).

[0376]

실시예 4: 제2 코어 배치의 장용 코팅 및 용해 시험

- [0377] 제2 배취의 약물 적층 코어를 코팅 시험을 위해 제조하고, 제1 코어 배취와 동일한 장비 매개변수에 따라 제조하였다(실시예 3). 제2 코어 배취는 84.9/4.7/9.3/1.2% w/w의 Suglets/IAP/HPC/염(IAP 용액으로부터)으로 구성되었다. 0.948g의 HPC(Klucel EF)를 사용하여 이것을 1:2 w/w의 IAP:HPC 비율로 느린 자석 교반(200RPM 미만) 하에 47.0ml IAP 용액에 첨가함으로써 약물 적층 용액을 제조하였다.
- [0378] 두 가지 유형의 코팅을 약물 적층 코어의 제2 배취에 적용하였는데, 이것은 EUDRAGIT L30D-55(단일 장용층)의 30% 중량 증가 또는 HPC의 7% 중량 증가 층, 그 다음 EUDRAGIT L30D-55(서브코트가 있는 장용층)의 30% 중합체 중량 증가의 외부 층이었다. 제형을 표 4에 열거한다.

**표 4**

**장용 코팅을 갖는 제2 약물 적층 코어 배취의 제형의 조성.**

| 성분                     | 단일층  | 이중층  |
|------------------------|------|------|
|                        | 총 %  | 총 %  |
| 수크로스 코어 ("Suglet")     | 84.9 | 84.9 |
| 하이드록시프로필셀룰로스           | 9.3  | 9.3  |
| 염                      | 1.2  | 1.2  |
| IAP (SYN-020)          | 4.7  | 4.7  |
| EUDRAGIT L30D-55 중량 증가 | 30   | 30   |
| HPC 서브코트 중량 증가         | 0    | 7    |

- [0379]
- [0380] 약물 적층 코어(배취 2)에 1:2 w/w 고체 비율 및 IAP의 4.65% 중량 증가의 최종 조성의 IAP/HPC 층, 그 다음 단일층 코팅(EUDRAGIT L30D-55의 30% 중량 증가) 또는 이중층 코팅(HPC의 7% 중량 증가 + EUDRAGIT L30D-55의 30% 중량 증가)를 적층하였다. 단일층 코팅된 펠릿의 직경은 도 4의 SEM 영상에 표시된 대로 약 800 $\mu$ m였다. 도 4는 하나의 코팅된 펠릿(제2 펠릿 배취 상에 코팅된 30% EUDRAGIT L30D-55)의 SEM 사진을 도시한다.
- [0381] 제2 배취로부터의 펠릿의 단면을 또한 도 5에 도시하며, 여기서 수크로스 코어, IAP/HPC 층 및 L30D-55 코팅층이 명확하게 구별될 수 있다. IAP/HPC 층의 두께는 약 20 $\mu$ m였고, EUDRAGIT L30D-55 코팅층의 두께는 약 40 $\mu$ m(중합체 제조업체인 에보닉사(Evonik)에서 권장하는 두께)였다. 도 5는 하나의 코팅된 펠릿(제2 펠릿 배취 상에 코팅된 30% L30D-55)의 단면의 SEM 사진을 도시한다.
- [0382] 이들 코팅된 펠릿의 용해 거동을 연구하였다. 각각의 용해 용기의 펠릿의 양은 1.14g의 단일층 코팅된 펠릿 및 1.22g의 이중층 코팅된 펠릿이었고, 이것은 두 제형에 대해서 40mg의 IAP 양에 해당한다. 각각의 용해 시험에서, 1개의 정제를 60ml 바이알의 20ml FaSSIF pH 1.6에서 37 $^{\circ}$ C 및 2시간 동안 가열기/진탕기에서 200RPM 오비탈 진탕으로 인큐베이션시켰다. 초기 2시간 후, 이중 농도의 FaSSIF 20ml를 첨가하고, 1M NaOH를 사용하여 pH를 5.5 또는 5.8로 조정하였다. 추가 45분 후, pH를 추가로 6.5 또는 6.8로 조정하고, 추가 2 내지 3시간 동안 용해 시험을 진행하였다.
- [0383] 코팅된 펠릿을 pH 1.6에서 2시간 동안 FaSSGF에서 시험한 다음, FaSSIF를 첨가하여 45분 동안 pH 5.8에 도달하게 하고, 이어서 추가 3시간 동안 pH 6.8로 증가시켰다. 비교를 위해서 FaSSIF 단독(45분 동안 pH 5.8, 그 다음 3시간 동안 pH 6.8)에서 코팅된 펠릿의 용해 시험을 또한 수행하였다.
- [0384] UV 단백질 방출 프로파일을 도 6에 도시한다. FaSSIF 단독에서 용해 동안 IAP의 방출%를 각각 단일층 및 이중층 코팅에 대해서 "x" 및 "삼각형" 프로파일로서 나타낸다. FaSSGF 및 FaSSIF 용해 동안 IAP의 방출%를 각각 단일층 및 이중층 코팅에 대해서 적색 및 청색 프로파일로 나타낸다.
- [0385] 이 프로파일은, UV 분석에 의해 FaSSGF에서 IAP 방출이 검출되지 않았기 때문에 코팅된 펠릿이 낮은 pH에서 장용으로(enterically) 보호되었음을 나타내었다. 또한, 단일 단계 접근법과 이중 단계 접근법 사이의 용해 프로파일은 매우 유사하였는데, 펠릿이 pH 5.8 FaSSIF에 노출된 직후에 방출이 일어나기 시작하였고, pH 5.8에서 45분 후, pH가 pH 6.8로 조정되었을 때 용해 속도가 증가하였다. pH 6.8에서 추가 3시간 후에 완전한 방출이 달성되었다.

- [0386] 효소 활성 프로파일을 도 7에 도시한다. FaSSIF 단독에서 용해 동안 IAP의 활성도 %를 각각 단일층 및 이중층 코팅에 대해서 "x" 및 "삼각형" 프로파일로서 나타낸다. FaSSGF 및 FaSSIF 용해 동안 IAP의 활성도 %를 각각 단일층 및 이중층 코팅에 대해서 적색 및 청색 프로파일로 나타낸다.
- [0387] 효소 활성 프로파일은 도 6의 UV에 의한 IAP 방출%와 동일한 경향을 따랐다. 두 용해 시험의 종료점에서 검출된 최대 효소 활성도는 약 45% 내지 55%였는데, 이것은 출발 물질과 동일한 수준이었다(약물 적층 코어의 약 50%). 이 결과는 적용된 코팅이 낮은 pH에서 장용으로 보호되고, 코팅 중합체의 존재 하에서 효소 활성이 감소되지 않았음을 나타내었다. 단일 및 이중 코팅 적층 코어에 의해 생성된 용해 프로파일의 유사성으로 인해서, 하부 코트 HPC는 산성 코팅 중합체로부터 효소를 격리하고 보호하는 데 필요하지 않다고 결론 내었다.
- [0388] 펠릿을 FaSSIF 단독에 노출시킴으로써 달성된 활성도 %는 FaSSGF/FaSSIF에 노출된 것과 유사하였는데, 이는 코팅된 펠릿의 IAP가 FaSSGF pH 1.6에 의해 영향을 받거나 변성되지 않았다는 것을 나타내었다. 이는, 동일한 수준의 효소 활성도가 얻어졌기 때문에 충분한 장용 코팅 두께가 적용되었다는 것을 확인해 주었다.
- [0389] 본 연구는, 30% 중합체 중량 증가 EUDRAGIT L30D-55 수성 분산액을 갖는 적층 코어의 장용 코팅이 최대 2시간 동안 FaSSGF에서 내산성을 제공하였고 FaSSIF에서 4시간에 걸쳐 IAP의 지속 방출을 제공하였다는 것을 나타내었다. 7% HPC 격리층의 존재는 용해 프로파일을 변경하지 않았고 효소 활성도에도 영향을 미치지 않았다. 따라서, 격리 하부층은 필요하지 않은 것으로 판단되었다.
- [0390] 실시예 5: 펠릿 내의 IAP 활성도의 안정성 평가
- [0391] 비코팅된/코팅된 약물 적층 코어를 안정성 평가를 위해 최대 12개월 동안 실리카 건조제 백을 함유하는 밀폐된 유리 바이알 내에 2 내지 8°C에 두었다. 코어를 다이에탄올아민 완충액에 용해시키고, IAP 활성도를 분석하여 0, 1, 3 및 6개월에 이들 코어에 대한 효소 활성도를 모니터링하였다.
- [0392] 비코팅된 펠릿 및 코팅된 펠릿을 둘 다 건조조건 하에 냉장 온도에서 저장하였다. 최대 6개월의 기간 동안 효소 활성도를 측정하였고 그 결과를 표 5에 나타낸다.

**표 5**

**건조조건 하에서 2 내지 8°C 에서 저장된 경우 비코팅된/코팅된 약물 적층 펠릿의 IAP 활성도의 안정성**

| 샘플                                 | 저장 기간      |            |            |           |
|------------------------------------|------------|------------|------------|-----------|
|                                    | 0          | 1개월        | 3개월        | 6개월       |
|                                    | 활성도 % 평균   |            |            |           |
| <b>비코팅된 펠릿</b>                     | 56.69±4.23 | 52.37±1.81 | 58.45±0.97 | 63.2±1.73 |
| <b>7%HPC+30%L30D-55<br/>코팅된 펠릿</b> | 48.77±2.90 | 46.93±0.39 | 57.94±5.35 | 56.1±0.67 |
| <b>30%L30D-55<br/>코팅된 펠릿</b>       | 48.80±0.17 | 49.50±0.97 | 58.47±2.66 | 58.3±4.65 |

- [0393]
- [0394] 이 결과는, 비코팅된 코어 및 코팅된 펠릿의 효소 활성도가 건조조건 하에 냉장 온도에서 6개월 저장 동안 동일한 수준으로 유지되었음을 나타낸다.
- [0395] 실시예 6: 25mg 및 5mg IAP 펠릿 캡슐의 안정성 평가
- [0396] 크기 2 HPMC 투명 캡슐에 코팅된 IAP 펠릿을 채웠는데, 이는 9.7% w/w 약물 로드(UV 분광계로 분석) 및 Sigma 표준품에 비해 78.1%(DYNEX 마이크로플레이트 판독기로 분석) 효소 활성도를 나타낸다. 90개의 캡슐은 25mg의 IAP를 함유하였고, 90개의 캡슐은 5mg의 IAP를 함유하였다. 펠릿은 600/710µm Suglets(컬러콘사(Colorcon)) 위에 IAP/HPC(1/2 w/w)를 적층한 다음 EUDRAGIT L30D-55(에보닉사) 코팅을 적층함으로써 제조하였다.

표 6

5mg 및 25mg 의 IAP 를 함유한 캡슐의 조성

| 성분               | 5mg 캡슐 |       | 25mg 캡슐 |       |
|------------------|--------|-------|---------|-------|
|                  | mg     | 총 %   | mg      | 총 %   |
| 수크로스 코어          | 19.5   | 37.7  | 97.3    | 37.7  |
| 하이드록시프로필셀룰로스     | 10.0   | 19.4  | 50.0    | 19.4  |
| 염                | 1.3    | 2.4   | 6.3     | 2.4   |
| IAP (SYN-020)    | 5.0    | 9.7   | 25.0    | 9.7   |
| EUDRAGIT L30D-55 | 13.5   | 26.3  | 67.7    | 26.3  |
| HTP-20           | 2.3    | 4.5   | 11.5    | 4.5   |
| 소계               | 51.6   | 100.0 | 257.7   | 100.0 |
| HPMC 캡슐 #2       | 60.0   | -     | 60.0    | -     |
| 총                | 111.6  | -     | 317.7   | -     |

[0397]

[0398]

냉장고에서 1년 저장 기간 동안 펠릿 캡슐의 안정성 및 활성도 백분율을 하기 표 7에 제시한다.

표 7

1년의 기간 동안 펠릿 캡슐 활성도.

| 2 내지 8°C 에서 저장 기간 | 활성도 %(IAP 표준품 대비) |
|-------------------|-------------------|
| 0 (제조일)           | 93.0              |
| 1개월               | 93.8              |
| 3개월               | 87.3              |
| 6개월               | 83.4              |
| 12개월              | 79.7              |

[0399]

[0400]

본 발명자들은 놀랍게도 IAP 펠릿 캡슐이 1년의 기간 동안 2 내지 8°C에서 저장되는 경우 적어도 약 80%의 IAP 활성도를 유지하였다는 것을 발견하였다.

[0401]

이어서, 시험관내 용해 시험을 수행하였다. 대략 450mg의 코팅된 펠릿을 60ml 유리 바이알 내의 25ml FaSSGF(pH 1.6, 37°C)에서 인큐베이션시키고, 바이알을 가열기/진탕기에서 200RPM 오비탈 진탕 속도로 약하게 진탕하였다. 60분과 120분에, 매질 1ml를 10µm 캐놀라 필터를 통해 배출시키고, UV 분석을 위해 0.2µm를 통해 여과하였다. 추가 활성도 분석을 위해 50µl의 여과된 용액을 동결시켰다. 그 후 용액을 바이알에 다시 넣었다.

[0402]

FaSSGF 중에서 초기 2시간 인큐베이션 후, 25ml의 FaSSIF를 바이알에 첨가하여 pH 5.8을 얻었다. 샘플을 15분마다 채취하였다. 45분 후, pH를 6.8로 조정하고, 15분마다 샘플을 채취하였다. 샘플링 접근법은 상기 단락에 기재된 것과 동일하였다.

[0403]

여과된 샘플을 280nm 및 320nm에서 UV 분광계로 분석하였고, 흡수 값은 A280-A320과 동일하였다. 샘플 흡수 값에서 블랭크 매질로부터의 흡수를 추가로 차감하여, 후속 값을 방출% 계산에 사용하였다. 먼저 도 8과 같이 보정 곡선을 생성하였다. 각각의 시점에서 샘플 농도는 선형 추세선의 방정식에 기초하여 계산하였다.

[0404]

용해 시험의 결과를 도 9에 도시한다. 코팅된 펠릿은 방출이 검출되지 않았기 때문에 2시간 동안 FaSSGF에 저장성이었다. 60분 및 120분(T=0, 적색선)에서 방출%는 대략 1%였다. 또한, 펠릿은 용해 시험 종료 시 전체 활성도가 회복되었으며, 이는 초기 인큐베이션 동안 산이 코팅 막을 통해 침투하지 않았음을 나타낸다. IAP 방출은 pH 5.8에서 FaSSIF 중에서 처음 45분 동안 느렸는데, 그 이유는 그 pH가 EUDRAGIT L30D-55의 용해 역치인 5.5에

근접하였기 때문이었다. pH를 6.8로 조정하면, 코팅 막이 빠르게 용해되기 시작하고 IAP 방출이 급격히 증가하였다.

[0405] 도 10은 코팅된 펠릿이 약 1년 동안 저장되었던 용해 시험의 결과를 도시한다. 코팅된 펠릿은 방출이 검출되지 않았기 때문에 2시간 동안 FaSSGF에 저항성이었다. 60분 및 120분(T=0, 적색선)에서 방출%는 대략 1%였다. 또한, 펠릿은 용해 시험 종료 시 전체 활성도가 회복되었으며, 이는 초기 인큐베이션 동안 산이 코팅 막을 통해 침투하지 않았음을 나타낸다. IAP 방출은 pH 5.8에서 FaSSIF 중에서 처음 45분 동안 느렸는데, 그 이유는 그 pH가 EUDRAGIT L30D-55의 용해 역치인 5.5에 근접하였기 때문이었다. pH를 6.8로 조정하면, 코팅 막이 빠르게 용해되기 시작하고 IAP 방출이 급격히 증가하였다.

[0406] 비-GMP SYN-020 펠릿; 비-GMP SYN-020 펠릿(HPD514-A-001); 비-GMP SYN-020 캡슐(5mg); 비-GMP SYN-020 캡슐(15mg); 및 GMP SYN-020 펠릿을 포함하는 별개의 IAP 배취에서 다양한 시험을 수행하였다. SYN-020 지연 방출형 캡슐, 15mg 및 5mg 캡슐, SYN-020 위약 펠릿의 조성 및 다양한 시험 결과를 하기 표 8 및 표 9에 나타낸다.

**표 8**

**SYN-020 지연 방출형 캡슐, 15mg 및 5mg 캡슐의 조성.**

| 성분                | 15mg 캡슐      |              | 5mg 캡슐      |              |
|-------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
|                   | mg           | 총 %          | mg          | 총 %          |
| 수크로스 구체           | 58.35        | 38.9         | 19.45       | 38.9         |
| 하이드록시프로필셀룰로스      | 30.00        | 20.0         | 10.00       | 20.0         |
| SYN-020           | 15.00        | 10.0         | 5.00        | 10.0         |
| 완충제염              | 0.45         | 0.3          | 0.15        | 0.3          |
| EUDRAGIT L30 D-55 | 39.45        | 26.3         | 13.15       | 26.3         |
| HTP-20            | 6.75         | 4.5          | 2.25        | 4.5          |
| 소계                | <b>150.0</b> | <b>100.0</b> | <b>50.0</b> | <b>100.0</b> |
| 경질 HPMC 캡슐 #3     | 48.0         |              | 48.0        |              |
| 총                 | <b>198.0</b> |              | <b>98.0</b> |              |

[0407]

[0408] HTP-20은 점착방지, 가소제 및 안정화제 기능을 제공하는 글리세롤 모노스테아레이트, 폴리솔베이트-80 및 트라이에틸 시트레이트의 사전 혼합 제형이다.

표 9

SYN-020 IAP 코팅된 펠릿 및 캡슐에 대한 배취 분석

| 배취 정보                       | 비-GMP SYN-020 펠릿, AP0361                                              | 비-GMP SYN-020 펠릿 | 비-GMP SYN-020 캡슐, 15mg                                                                   | GMP SYN-020 펠릿 | GMP SYN-020 캡슐, 15mg                                                                         |
|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 시험 방법                       | 결과                                                                    | 결과               | 결과                                                                                       | 결과             | 결과                                                                                           |
| 외관                          |                                                                       |                  |                                                                                          |                |                                                                                              |
| 캡슐 색상                       | 투명함                                                                   | 해당 없음            | 투명함, 크기 3                                                                                | 해당 없음          | 백색, 불투명함, 크기 3                                                                               |
| 캡슐 내용물 색상                   | 연한 황색                                                                 | 약간 황색 펠릿         | 측정하지 않음                                                                                  | 해당 없음          | 약간 황색 펠릿                                                                                     |
| 유동성                         | 측정하지 않음                                                               | 자유 유동            |                                                                                          |                | 자유 유동                                                                                        |
| 입자 크기 분포                    | 측정하지 않음                                                               | 98%              | 해당 없음                                                                                    | 100%           | 해당 없음                                                                                        |
| pNPP/IAP 검정에 의한 효소 활성도      | SYN-020 용액 대비 93.0%                                                   | 616 단위/mg        | 측정하지 않음                                                                                  | 612 단위/mg      | 측정하지 않음                                                                                      |
| A280nm에 의한 단백질 함량           | 9.7%                                                                  | 10%              | 측정하지 않음                                                                                  | 9.9%           | 측정하지 않음                                                                                      |
| pNPP/IAP 검정에 의한 내용물 균일성     | 해당 없음                                                                 | 측정하지 않음          | 681 단위/mg, 준수                                                                            | 측정하지 않음        | 614 단위/mg, 준수                                                                                |
| RP-HPLC에 의한 시험관내 용해 검출      | 0.1N HCl에서 2시간에 0%;<br>pH 6.8에서 1시간에 94%;<br>0.75시간에 87%;<br>2시간에 95% | 측정하지 않음          | 0.1N HCl에서 2시간에 0%;<br>pH 6.8에서 1시간에 82%;<br>0.25, 0.5, 0.75 및 1.25시간에 47, 84%, 93%, 86% | 해당 없음          | 0.1N HCl에서 2시간에 1% 미만;<br>pH 6.8에서 1시간에 88%;<br>0.25, 0.5, 0.75 및 1.25시간에 53%, 87%, 88%, 91% |
| 물 함량, Karl Fischer 방법에 의한 함 | 측정하지 않음                                                               | 3%               | 3%                                                                                       | 해당 없음          | 2%                                                                                           |

[0409]

| 배위 정보                                                         | 비-GMP SYN-020 펠릿, AP0361 | 비-GMP SYN-020 펠릿         | 비-GMP SYN-020 캡슐, 15mg | GMP SYN-020 펠릿 | GMPSYN-020 캡슐, 15mg          |
|---------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|----------------|------------------------------|
| RP-HPLC 순도                                                    | 측정하지 않음                  | 85.1% 주 피크               | 측정하지 않음                | 측정하지 않음        | 79% 주 피크                     |
| 아이덴티티                                                         |                          | 참조 표준품과 대등한 주 피크 RRT     | 측정하지 않음                |                | 주 피크는 참조 표준품의 ±10% RRT를 공용리함 |
| 미생물 수치<br>총 호기성<br>미생물 수치<br>총 효모 및<br>곰팡이 수치<br>에세리키아<br>플라이 | 측정하지 않음                  | 10 미만<br><br>10 미만<br>없음 | 측정하지 않음                | 측정하지 않음        | 0<br><br>0<br>없음             |

[0410]

[0411]

도 11A 내지 도 11H는 비-GMP SYN-020 5mg 및 15mg 캡슐 투여량의 추가적인 분석 결과를 도시한다. 특정 활성도, 순도, 물 함량 및 용해와 같은 파라미터를 포함하는, 투여 농도 및 안정성에 관한 결과를 6개월 내내 분석하였다.

[0412]

**균등본**

[0413]

본 발명은 이의 구체적 실시형태와 관련하여 기재되었지만, 이는 추가로 변형될 수 있고, 본 출원은 일반적으로 본 발명의 원칙을 따르고 본 발명이 속하는 기술 분야 내에서 공지된 또는 관습적인 실행에 속하며, 본 명세서에서 앞서 제시한 필수 특징에 적용될 수 있고 첨부하는 청구범위의 범주에 따르는, 본 개시내용으로부터의 변경을 포함하는 임의의 변화, 용도 또는 적용을 아우르는 것으로 의도된다는 것이 이해될 것이다.

[0414]

당업자는 단지 일상적인 실험을 이용하여 본 명세서에 구체적으로 기재된 특정 실시형태에 대한 수많은 균등물을 인식하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 다음의 청구범위의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0415]

**참고문헌에 의한 포함**

[0416]

본 명세서에 언급된 모든 특허 및 간행물은 그들의 전문이 본 명세서에 참고에 의해 포함된다.

[0417]

본 명세서에 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 전에 단지 그의 개시내용에 대해 제공된다. 본 명세서의 어떤 것도 본 발명은 선행 발명이라는 이유로 이러한 간행물에 앞서는 자격이 부여되지 않는다는 용인으로서 해석되어서는 안 된다.

[0418]

본 명세서에서 사용하는 바와 같은 모든 표제는 단순히 조직화를 위한 것이며, 임의의 방식으로 본 개시내용을 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 임의의 개개 부분의 내용은 모든 부분에 동일하게 적용될 수 있다.

도면

도면1a

HIAP - 서열번호 1

1 mqqpwvllll glrlqlslgv ipaeenpaf wnrqaaald aakklqpiqk vaknlilflg  
 61 dglgvptvta trilkqkng klqpetplam drfpylalsk tynvdrqvpd saatataylc  
 121 gvkanftiqg lsaarfnqc ntrgnevis vmnrakqagk svgvtttrv qhaspagtya  
 181 htvnmwysd admpasarqc gcqdiatqli snmdidvilg ggrkymfpmg tpdpeypada  
 241 sqngirlgk nlvqewlakh qgawyvwrt elmqasldqs vthlmglfep gdtkyeihrd  
 301 ptldpslmem teaarlrsr nprgfyfve ggridhghhe gvayqaltea vmfddaiera  
 361 gqitseedtl tlvtadhshv fsfgytlrg ssifglapsk aqds kaytsi lyngpgyvf  
 421 nsgvrpdvne sesgspdyqq qaavplsset hggedvavfa rgpqahlvhg vqeqsfvahv  
 481 mafaaclepy tacdlappac tdaahpvaa slpllagtil lgasaap

248D 를 갖는 BIAP II - 서열번호 2. 신호 펄타이드 및 480 이후의 서열은 BIAP I로부터 유래된다.

1 mqqacvllll glhlqlslgl ipaeenpaf wnrqaaald vakklqpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgvptvta trilkqmqng klqpetplam dqfpyvalsk tynvdrqvpd sagtataylc  
 121 gvkgnrtig vsaaarynqc ntrgnevts vinrakkagk avgvtttrv qhaspagaya  
 181 htvnmwysd adlpadaqkn gcqdiaaqlv ynmdidvilg ggrmymfpeg tpdpeypdda  
 241 svngvrkdkr nlvqewqakh qgaqyvwrt allqaaddss vthlmglfep admkynvqqd  
 301 htcdptlaem teaalqvlrs nprgfyfve ggridhghhd gkaymaltea imfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilvtadhshv fsfgytlrg tsifglapkg aldsksytsi lyngpgyal  
 421 gggsrpdvng stseepsyrq qaavplaset hggedvavfa rgpqahlvhg vqeeftvahi  
 481 mafagcvepy tdcnlpatat atsipdaahl aasppplall agamllllap tly

BIAP IV - 서열번호 3

1 mqwacvllll glwlqlsltf ipaeedpaf wnrqaaald vakklqpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgvptvta trilkqmqng klqpetplam dqfpyvalsk tynvdrqvpd sagtataylc  
 121 gvkgnrtig vsaaarynqc ntrgnevts vmnrakkagk svgvtttrv qhaspagaya  
 181 htvnmwysd adlpadaqty gcqdiatqlv nmdidvilg ggrmymfpeg tpdpeypdyv  
 241 nqtgvrkdkr nlvqewqakh qgaqyvwrt ellqaandps vthlmglfep admkynvqqd  
 301 ptkdptleem teaalqvlrs npqgyfve ggridhghhe gkaymaltdt vmfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilatadhshv fsfgytlrg tsifglapsk asdnksytsi lyngpgyvl  
 421 ggglrpdvnd sisedpsyrq qaavplsset hggedvavfa rgpqahlvhg vqeeftvahv  
 481 mafagcvepy tdcnlpapsq lsaahlaas ppsllalaga mllllapaly

도면 1b

정치 코돈을 갖는 HIAP(서열번호 4)

1 mqqpwvllll glrlqlslgv ipaeenpaf wnrqaaeald aakklqpiqk vaknlilflg  
 61 dglgyptvta trilkqkng klqpetplam drfpylalsk tynvdrqvdp saatataylc  
 121 gvkanfqtig lsaarfnqc ntrgnevis vmnrakqagk svgvtttrv qhaspagtya  
 181 htvnrnwysd admpasarqe gcqdiatqli snmdidvilg ggrkymfpmg tpdpeypada  
 241 sqngirlgdk nlvqewlakh qgawyvwrt elmqasldqs vthlmglfep gdtkyeihrd  
 301 ptldpslmem teaalrlsr nprgfy lfve ggridhghhe gvayqalte vmfddaiera  
 361 gqitseedtl tlvtadhshv fsfggytlrg ssifglapsk aqds kaytsi lyngpgyvf  
 421 nsgvrpdvne sesgspdyqq qaavplsset hgedvavfa rgpqahlvhg vqeqsfvahv  
 481 mafaaclepy tacdlappag ttd

정치 코돈을 갖는 BIAP II(서열번호 5)

1 mqqacvllll glhlqlslgl ipaeenpaf wnrqaaqald vakklqpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgyptvta trilkqmqng klqpetplam dqfpyvalsk tynvdrqvdp sagtataylc  
 121 gvkgnryrtig vsaarynqc ntrgnevts vinrakkagk avgvtttrv qhaspagaya  
 181 htvnrnwysd adlpadaqkn gcqdiaaqlv ynmddidvilg ggrmymfpeg tpdpeypdda  
 241 svngvrkdkq nlvqewqakh qgaqyvwrt allqaaddss vthlmglfep admkynvqqd  
 301 htkdptlaem teaalqvlsr nprgfy lfve ggridhghhd gkaymaltea imfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilvtadhshv fsfggytlrg tsifglapgk aldsksytsi lyngpgyal  
 421 gggsrpdvng stseepsyrq qaavplaset hgedvavfa rgpqahlvhg vqeetfvahi  
 481 mafagcvepy tdcnlpapat atsipd

정치 코돈을 갖는 BIAP IV(서열번호 6)

1 mqwacvllll glwlqlsltf ipaeedpaf wnrqaaqald vakklqpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgyptvta trilkqmqng klqpetplam dqfpyvalsk tynvdrqvdp sagtataylc  
 121 gvkgnyktig vsaarynqc nttsgnevts vmnrakkagk svgvttstrv qhaspagaya  
 181 htvnrnwysd adlpadaqty gcqdiatqlv nmddidvilg ggrmymfpeg tpdpeypydv  
 241 nqtgvrkdkr nlvqewqakh qgaqyvwrt ellqaandps vthlmglfep admkynvqqd  
 301 ptkdptlecm teaalqvlsr npqgfy lfve ggridhghhe gkaymaltdt vmfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilatadhshv fsfggytlrg tsifglapsk asdnksytsi lyngpgyvl  
 421 ggglrpdvnd sisedpsyrq qaavplsses hgedvavfa rgpqahlvhg vqeetfvahv  
 481 mafagcvepy tdcnlpapsg lsd

도면1c

아미노산 508 이후에 정치 코돈을 갖는 BIAP IV (서열번호 7)

1 mqwacvllll glwlqlsltf ipaeedpaf wnrqaaqald vakklqpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgyptvta trllkgqmng klqpetplam dqfpyvalsk tynvdrqvpd sagtataylc  
 121 gvkgnnyktig vsaaarynqc nttsgnevts vmnrakkagk svgvvttsrv qhaspagaya  
 181 htvnrnwysd adlpadaqty gcqdiatqlv nmmdidvilg ggrnymfpeg tpdpeypydv  
 241 nqtgvrkdcr nlvqewqakh qgaqyvwnrt ellqaandps vthlmglfep admkynvqqd  
 301 ptkdppteem teaalqvlsr npqgyflve ggridhghhe gkaymaltdt vmfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilatadhshv fsfgytllrg tsifglapks asdnksytsi lyngpgyvl  
 421 ggglrpdvnd sisedpsyrq qaavplsses hgeddvavfa rgpqahlvhg vqeetfvahv  
 481 mafagcvepy tdenlpapsg lsaahla

Fc 융합부를 갖는 BIAP II (서열번호 8) - Fc 도메인을 밑줄로 나타낸다.

1 mqgacvllll ghllqlslgl ipaeenpaf wnrqaaqald vakklqpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgyptvta trllkgqmng klqpetplam dqfpyvalsk tynvdrqvpd sagtataylc  
 121 gvkgnnyrtig vsaaarynqc ntrrgnevts vinrakkagk avgvvttrv qhaspagaya  
 181 htvnrnwysd adlpadaqkn gcqdiaaqlv ynmmdidvilg ggrnymfpeg tpdpeypdda  
 241 svngvrkdqk nlvqewqakh qgaqyvwnrt allqaaddss vthlmglfep admkynvqqd  
 301 htkdptlaem teaalqvlsr nprgyflve ggridhghhd gkaymaltea imfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilvtadhshv fsfgytllrg tsifglapkg aldsksytsi lyngpgyal  
 421 gggsrpdvng stseepsyrq qaavplaset hgeddvavfa rgpqahlvhg vqeetfvahi  
 481 mafagcvepy tdenlpapat atsipdGGSGGSGGGGSGGGSEPKSCDKTHTCPPAPE  
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPOV KFNWYVDGVQVHNAKTKPRE  
QQYNSTYRVVSVLTVLHQNW LDGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPOVYTLPP  
SREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGOPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVD  
KSRWQOGN VFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK

Fc 융합부를 갖는 BIAP IV(서열번호 9) - Fc 도메인을 밑줄로 나타낸다.

1 mqwacvllll glwlqlsltf ipaeedpaf wnrqaaqald vakklqpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgyptvta trllkgqmng klqpetplam dqfpyvalsk tynvdrqvpd sagtataylc  
 121 gvkgnnyktig vsaaarynqc nttsgnevts vmnrakkagk svgvvttsrv qhaspagaya  
 181 htvnrnwysd adlpadaqty gcqdiatqlv nmmdidvilg ggrnymfpeg tpdpeypydv  
 241 nqtgvrkdcr nlvqewqakh qgaqyvwnrt ellqaandps vthlmglfep admkynvqqd  
 301 ptkdppteem teaalqvlsr npqgyflve ggridhghhe gkaymaltdt vmfdnaiaka

도면1d

361 neltseldtl ilatadhshv fsfggytlrg tsifglapsk asdnksytsi lyngpgyvl  
 421 ggglrpdvnd sisedpsyrq qaavplsses hggedvavfa rgpqahlvhg vqeetfvahv  
 481 mafagcvepy tdcnlpapsq lsdGGSGGGSGGGGGSEPKSCDKTHTCPPCPAPE  
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPOV KFNWYVDGVOVHNAKTKPRE  
QQYNSTYRVVSVLTVLHQNW LDKGEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGOPREPOVYTLPP  
SREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDSGFFLYSKLTVD  
KSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK

hPLAP 카복시 말단 및 (...LEVLFQGP...에) 미가공 분비 및 RV3C 절단을 위한 돌연변이를 갖는  
 BIAP IV: 서열번호 10

1 mqwacvlill glwlqlstf ipaeedpaf wnrqaaqald vakklpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgyptvta trllkgqmng klgpctplam dqfpyvalsk tynvdrqvpd sagtataylc  
 121 gvkgnykting vsaaarynqc nttsgnevtv vmnrakkagk svgvvttsrv qhaspagaya  
 181 htvnrnwysd adlpadaqty gcqdiatqlv nmmdidvilg ggrmymfpeg tpdpeypydv  
 241 nqtgvrkdcr nlvqewqakh qgaqvwnrt ellqaandps vthlmglfep admkynvqqd  
 301 ptkdptleem teaalqvlr npqgfyfve ggridhghhe gkaymalttd vmfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilatadhshv fsfggytlrg tsifglapsk asdnksytsi lyngpgyvl  
 421 ggglrpdvnd sisedpsyrq qaavplsses hggedvavfa rgpqahlvhg vqeetfvahv  
 481 mafagcvepy tdcnlevifg gpappagtttd aahpgrsvvp allpragtl lletatap

hPLAP 카복시 말단 및 (...IEGR...에) 미가공 분비 및 FXa 절단을 위한 돌연변이를 갖는 BIAP  
 IV: 서열번호 11

1 mqwacvlill glwlqlstf ipaeedpaf wnrqaaqald vakklpiqt aaknvilflg  
 61 dgmgyptvta trllkgqmng klgpctplam dqfpyvalsk tynvdrqvpd sagtataylc  
 121 gvkgnykting vsaaarynqc nttsgnevtv vmnrakkagk svgvvttsrv qhaspagaya  
 181 htvnrnwysd adlpadaqty gcqdiatqlv nmmdidvilg ggrmymfpeg tpdpeypydv  
 241 nqtgvrkdcr nlvqewqakh qgaqvwnrt ellqaandps vthlmglfep admkynvqqd  
 301 ptkdptleem teaalqvlr npqgfyfve ggridhghhe gkaymalttd vmfdnaiaka  
 361 neltseldtl ilatadhshv fsfggytlrg tsifglapsk asdnksytsi lyngpgyvl  
 421 ggglrpdvnd sisedpsyrq qaavplsses hggedvavfa rgpqahlvhg vqeetfvahv  
 481 mafagcvepy tdcnlappag tdaahpieg rsvvpallpl ragtlillet atap

도면 1e

천연 제 1 인트론(볼드체와 밑줄로 표시됨)을 갖는 hIAP- 서열번호 12

ATGCAGGGGGCCCTGGGTGCTGCTGCTGCTGGGCCTGAGGCTACAGCTCTCCCTGGGCGTC  
**ATCCCAGGTAATGAGGCTCCCCAAGCTGTTCCACACAGGGCACCCCCCAGCCA**  
**GGTGACCTGATCTCTACTCTCCCCCTGGCCAGCT**GAGGAGGAGAACCCGGCCTTCTG  
 GAACCGCCAGGCAGCTGAGGCCCTGGATGCTGCCAAGAAGCTGCAGCCATCCAGAAGG  
 TCGCCAAGAACCTATCCTCTTCTGGGCGATGGGTTGGGGGTGCCACGGTGACAGCCA  
 CCAGGATCCTAAAGGGGCAGAAGAATGGCAAACCTGGGGCCTGAGACGCCCTGGCCATG  
 GACCGCTTCCCATACTGGCTCTGTCCAAGACATACAATGTGGACAGACAGGTGCCAGA  
 CAGCGCAGCCACAGCCACGGCTACCTGTGCGGGGTCAAGGCCAACTCCAGACCATCG  
 GCTTGAGTGCAGCCGCCCGCTTTAACCAAGTGCAACACGACACGCGCAATGAGGTCATC  
 TCCGTGATGAACCGGGCCAAGCAAGCAGGAAAGTCAGTAGGAGTGGTGACCACCACACG  
 GGTGCAGCACGCCCTGCCAGCCGGCACCTACGCACACACAGTGAACCGCAACTGGTACT  
 CAGATGCTGACATGCCTGCCTCAGCCGCCAGGAGGGGTGCCAGGACATCGCCACTCAG  
 CTCATCTCCAACATGGACATTGACGTGATCCTTGGCGGAGCCGCAAGTACATGTTTCCC  
 ATGGGGACCCCAGACCCTGAGTACCCAGCTGATGCCAGCCAGAATGGAATCAGGCTGGA  
 CGGGAAGAACCTGGTGCAGGAATGGCTGGCAAAGCACCAGGGTGCCTGGTATGTGTGGA  
 ACCGACTGAGCTCATGTTCCAGCGTCCCTGGACCAGTCTGTGACCCATCTCATGGGCCTCT  
 TTGAGCCCGGAGACACGAAATATGAGATCCACCAGACCCACACTGGACCCCTCCCTG  
 ATGGAGATGACAGAGGCTGCCCTGCGCCTGCTGAGCAGGAACCCCCGCGGCTTCTACCT  
 CTTTGTGGAGGGCGGCCGATCGACCATGGTCATCATGAGGGTGTGGCTTACCAGGCACT  
 CACTGAGCGGTTCATGTTCCAGCAGCCATTGAGAGGGCGGGCCAGCTACCAGCGAGG  
 AGGACACGCTGACCCTCGTCAACCGCTGACCCTCCCATGTCTTCTCTTTGGTGGCTACA  
 CCTTGGCAGGGAGCTCCATCTTCGGGTTGGCCCCAGCAAGGCTCAGGACAGCAAAGCC  
 TACACGTCCATCCTGTACGGCAATGGCCCCGGGTACGTGTTCAACTCAGGCGTGCCACCA  
 GACGTGAATGAGAGCGAGAGCGGGAGCCCCGATTACCAGCAGCAGGCGGCGGTGCCCT  
 GTCTCCGAGACCCACGGAGGCAGAGACGTGGCGGTGTTTGCAGCGCGGCCCGCAGGCGC  
 ACCTGGTGCATGGTGTGCAGGAGCAGAGCTTCGTAGCGCATGTGATGGCCTTCGCTGCT  
 GTCTGGAGCCCTACACGGCCTGCGACCTGGCGCCTCCCGCTGCACCACCGACGCCGCGC  
 ACCCAGTTGCCGCGTGCCTGCCACTGCTGGCCGGGACCCTGCTGCTGCTGGGGGCGTCCG  
 CTGCTCCCTGA

천연 3' UTR (볼드체와 밑줄로 나타냄)을 갖는 hIAP- 서열번호 13

ATGCAGGGGGCCCTGGGTGCTGCTGCTGCTGGGCCTGAGGCTACAGCTCTCCCTGGGCGTC  
 ATCCCAGCTGAGGAGGAGAACCCGGCCTTCTGGAACCGCCAGGCAGCTGAGGCCCTGGA  
 TGCTGCCAAGAAGCTGCAGCCCATCCAGAAGGTCGCCAAGAACCTCATCCTCTTCTGGG  
 CGATGGGTTGGGGGTGCCACGGTGACAGCCACCAGGATCCTAAAGGGGCAGAAGAATG  
 GCAAACCTGGGGCCTGAGACGCCCTGGCCATGGACCGCTTCCCATACTGGCTCTGTCCA  
 AGACATAAATGTGGACAGACAGGTGCCAGACAGCGCAGCCACAGCCACGGCCTACCTG  
 TGCGGGTCAAGGCCAACTTCCAGACCATCGGCTTGAGTGCAGCCGCCCGCTTTAACCCAG  
 TGCAACACGACACGCGGCAATGAGGTCATCTCCGTGATGAACCGGGCCAAGCAAGCAGG  
 AAAGTCAGTAGGAGTGGTGACCACCACACGGGTGCAGCACGCTCGCCAGCCGGCACCT  
 ACGCACACACAGTGAACCGCAACTGGTACTCAGATGCTGACATGCCTGACCTCAGCCCGC  
 CAGGAGGGGTGCCAGGACATCGCCACTCAGCTCATCTCCAACATGGACATTGACGTGAT  
 CCTTGGCGGAGGCCGCAAGTACATGTTTCCCATGGGGACCCAGACCCTGAGTACCCAG  
 CTGATGCCAGCCAGAATGGAATCAGGCTGGACGGGAAGAACCTGGTGCAGGAATGGCTG  
 GCAAAGCACCAGGGTGCCTGGTATGTGTGGAACCGCACTGAGCTCATGCAGGCGTCCCT  
 GGACCAGTCTGTGACCATCTCATGGGCCTC

도면1f

TTTGAGCCCGGAGACACGAAATATGAGATCCACCGAGACCCACACTGGACCCCTCCCT  
 GATGGAGATGACAGAGGCTGCCCTGCGCCTGCTGAGCAGGAACCCCGCGGCTTCTACC  
 TCTTTGTGGAGGGCGCCGCATCGACCATGGTCATCATGAGGGTGTGGCTTACCAGGCAC  
 TCACTGAGGGCGGTCATGTTTCGACGACGCCATTGAGAGGGGCGGGCCAGCTCACCAGCGAG  
 GAGGACACGCTGACCCTCGTCACCGCTGACCACTCCCATGTCTTCTCCTTTGGTGGCTAC  
 ACCTTGCGAGGGGAGCTCCATCTTCGGGTTGGCCCCAGCAAGGGTCAGGACAGCAAAGC  
 CTACACGTCCATCTGTACGGCAATGGCCCGGGCTACGTGTTCAACTCAGGCGTGCAGCC  
 AGACGTGAATGAGAGCGAGAGCGGGAGCCCGATTACCAGCAGCAGGCGGCGGTGCC  
 CTGTGCTCCGAGACCCACGGAGGCGAAGACGTGGCGGTGTTTGCAGCGGCCCCGAGGC  
 GCACCTGGTGCATGGTGTGCAGGAGCAGAGCTTCGTAGCGCATGTCATGGCCTTCGCTGC  
 CTGTCTGGAGCCCTACACGGCCTGCGACCTGGCGCCTCCCGCTGCACCACCGACGCCGC  
 GCACCCAGTTGCCGCTCGCTGCCACTGCTGGCCGGGACCCTGCTGCTGCTGGGGGCGTC  
 CGCTGCTCCCTGA**TTTACTAAAACCTTGAATAAAATTGTAAAAACATCAGTTTGAAGG**  
**CCTGACTCTCAGGGTAGTCTTTTTTAATTCTGGGTTTT**

bIAP I로부터의 제 1 인트론(볼드체와 밑줄로 표시)을 갖는 bIAP IV - 서열번호 14

ATGCAGTGGGCCTGTGTGCTGCTGCTGCTGGGCCTGTGGCTACAGCTCTCCCTCACCTTC  
 ATCCCAGG**TAATCAGGCGGCTCCAGCAGCCCTACTCACAGGGGCGGCTTAGGC**  
**TGACCTGACCAACACTCTCCCTTGGGCAG**CTGAGGAGGAAGACCCCGCCTTCTGGAA  
 CCGCCAGGCAGCCAGGCCCTTGATGTAGCCAAGAAGTTGCAGCCGATCCAGACAGCTG  
 CCAAGAATGTCATCTCTTCTTGGGGGATGGGATGGGGGTGCCTACGGTGACAGCCACTC  
 GGATCCTAAAGGGGCAGATGAATGGTAAGCTGGGACCTGAGACACCCCTGGCCATGGAC  
 CAGTTCCCATACGTGGCTCTGTCC AAGACATAACAACGTGGACAGACAGGTGCCAGACAG  
 CGCAGGCACTGCCACTGCCTACCTGTGTGGGGTCAAGGGCAACTACAAAACCATTGGTG  
 TAAGTGCAGCCGCCCGCTACAACCAGTGC AACACAACAAGTGGCAATGAGGTACGTCT  
 TGTGATGAACCGGGCAAGAAAGCAGGAAAGTCAGTGGGAGTGGTGACCACCTCCAGGG  
 TGCAGCATGCCTCCAGCCGGTGCTTATGCACACACGGTGAACCGAAACTGGTACTCAG  
 ATGCCGACCTGCCTGCCGATGCACAGACGTATGGCTGCCAGGACATCGCCACACAACCTG  
 GTCAACAACATGGATATTGACGTGATCTGGGTGGAGGCCGAATGTACATGTTTCTGAG  
 GGGACCCCGGATCCTGAATACCCATACGATGTC AATCAGACTGGAGTCCGGAAGGACAA  
 GCGGAATCTGGTGCAGGAGTGGCAGGCCAAGCACCAGGGAGCCAGTATGTGTGGAACC  
 GCACGGAGCTCCTTCAGGCAGCCAATGACCCCAAGTGAACACACCTCATGGGCCTCTTG  
 AGCCGGCAGACATGAAGTATAATGTTTCAGCAAGACCCACCAAGGACCCGACCCTGGAG  
 GAGATGACGGAGGGCGGCCCTGCAAGTGTGAGCAGGAACCCCAAGGGCTTCTACCTCTT  
 CGTGGAGGGAGGCCGATTGACCACGGTCACCATGAAGGC AAAAGCTTATATGGCACTGA  
 CTGATACAGTCATGTTTGACAATGCCATCGCCAAGGCTAACGAGTCACTAGCGAACTGG  
 ACACGCTGATCCTTGCCACTGCAGACCACTCCCATGTCTTCTCTTTTGGTGGCTACACACT  
 GCGTGGGACCTCATTTCGGTCTGGCCCCAGCAAGGCCTCAGACAACAAGTCTACAC  
 CTCCATCCTCTATGGCAATGGCCCTGGCTACGTGCTTGGTGGGGGCTTAAGGCCCGATGT  
 TAATGACAGCATAAGCGAGGACCCCTCGTACCGGCAGCAGGCGGCCGTGCCCTGTCTA  
 GTGAGTCCCACGGGGGCGAGGACGTGGCGGTGTTTCGCGCAGGCCCGCAGGCGCACCTG  
 GTGCACGGCGTGCAGGAGGAGACCTTCGTGGCGCACGTCATGGCCTTTGCGGGCTGCGT  
 GGAGCCCTACACCGACTGCAATCTGCCGGCCCCCTCTGGCCTCTCCGACGCCGCGCACCT  
 GCGGCCAGCCCGCTTCGCTGGCGCTGCTGGCCGGGGCGATGCTGCTGCTGCTGGCGCC  
 TGCCCTGTACTGA

**도면 1g**

bIAP I로부터의 3' UTR(볼드체와 밑줄로 표시)을 갖는 bIAP IV - 서열번호 15

ATGCAGTGGGCCTGTGTGCTGCTGCTGCTGGGCCTGTGGCTACAGCTCTCCCTCACCTTC  
 ATCCCAGCTGAGGAGGAAGACCCCGCCTTCTGGAACCGCCAGGCAGCCCAGGCCCTTGA  
 TGTAGCCAAGAAGTTGCAGCCGATCCAGACAGCTGCCAAGAATGTCATCCTCTTCTTGGG  
 GGATGGGATGGGGGTGCCTACGGTGACAGCCACTCGGATCCTAAAGGGGCAGATGAATG  
 GTAAGCTGGGACCTGAGACACCCCTGGCCATGGACCAGTTCCCATACGTGGCTCTGTCCA  
 AGACATAACAACGTGGACAGACAGGTGCCAGACAGCGCAGGCAGTCCACTGCCTACCTG  
 TGTGGGGTCAAGGGCAACTACAAAACATTGGTGTAAAGTGCAGCCGCCGCTACAACCA  
 GTGCAACACAACAAGTGGCAATGAGGTACAGTCTGTGATGAACCGGGCCAAGAAAGCAG  
 GAAAGTCAGTGGGAGTGGTGACCACCTCCAGGGTGACAGCATGCCTCCCAGCCGGTGT  
 TATGCACACACGGTGAACCGAACTGGTACTCAGATGCCGACCTGCCTGCCGATGCACA  
 GACGTATGGCTGCCAGACATCGCCACACAACCTGGTCAACAACATGGATATTGACGTGA  
 TCCTGGGTGGAGGCCGAATGTACATGTTTCTGAGGGGACCCCGGATCCTGAATACCCAT  
 ACGATGTCAATCAGACTGGAGTCCGGAAGGACAAGCGGAATCTGGTGCAGGAGTGGCAG  
 GCCAAGACAGGGAGGCCAGTATGTGTGGAACCGCACGGAGCTCCTTCAGGCAGCCAA  
 TGACCCCACTGTAACACACTCATGGCCTCTTTGAGCCGGCAGACATGAAGTATAATGT  
 TCAGCAAGACCCCAACAGGACCCGACCCTGGAGGAGATGACGGAGGGGCCCTGCAA  
 GTGCTGAGCAGGAACCCCAAGGCTTCTACCTCTTCGTGGAGGGAGCCGCATTGACCA  
 CGGTACCATGAAGGCAAAGCTTATATGGCACTGACTGATACAGTCATGTTTGACAAATG  
 CATCGCAAGGCTAACGAGCTCACTAGCGAACTGGACAGCTGATCCTTGGCACTGCAG  
 ACCACTCCCATGTCTTCTCTTTGGTGGCTACACACTGCGTGGGACCTCCATTTTCGGTCT  
 GGCCCCAGCAAGGCCTCAGACAACAAGTCTACACCTCCATCCTCTATGGCAATGGCCC  
 TGGCTACGTGCTTGGTGGGGGCTTAAAGCCCGATGTTAATGACAGCATAAGCGAGGACC  
 CCTCGTACCGGCAGCAGGCGGCCGTGCCCTGTCTAGTGAGTCCCACGGGGGCGAGGAC  
 GTGGCGGTGTTCCGCGAGGCCCGCAGGCGCACCTGGTGCACGGCGTGCAGGAGGAGAC  
 CTTCTGTGGCGCACGTATGGCCTTTGCGGGCTGCGTGGAGCCCTACACCGACTGCAATCT  
 GCCGGCCCCCTCTGGCCTCTCCGACCGCGCACCTGGCGGCCAGCCCGCCTTCGCTGGC  
 GCTGTGGCCGGGGCGATGCTGCTGCTGCTGGCGCCTGCCTGTACTG**AGGGGACCCGG**  
**GGTGGGGACACAGGCCCCCTCCCTGGGAGGCAGGAAGCAGCTCTCAAATAA**  
**ACTGTTCTAAGTATGATACAGGAGTGATACATGTGTGAAGAGAAGCCCTTAGGTGG**  
**GGGCACAGAGTGTCTGGGTGAGGGGGGTGAGGTCACATCAGGAGGTTAGGGAGG**  
**GGTTGATGAAGGGTGAACCTTGAGCAAAGACCAAAGGCAACTCAGAAGGACAGTG**  
**GTGCAGGACTGGGTGTGGTCAGCAGGGGGACTGGTTGGGGATCC**

바실러스 셉틸리스 JH642 알칼리성 포스파타제 IV, 성숙 단백질 뉴클레오타이드 서열 -  
 서열번호 16

AAAAACAAGACAAAAGCTGAGATCAGAAATGTCATTGTGATGATAGGCGACGGCATGG  
 GGACGCCTTACATAAGAGCCTACCGTTCCATGAAAAATAACGGTGACACACCGAATAAC  
 CCGAAGTTAACAGAATTTGACCGGAACCTGACAGGCATGATGATGACGCATCCGGATGA  
 CCTGACTATAATATTACAGATTCAGCAGCAGCCGGAACAGCATTAGCGACAGGCGTTA  
 AGACATATAACAATGCAATTTGGCGTCGATAAAAAACGGAAAAAAGTGAATCTGTACTT  
 GAAGAGGCCAAACAGCAAGGCAAGTCAACAGGGCTTGTGCGCACGTCTGAAATTAACCA  
 CGCCACTCCAGCCGATATGGCGCCCAATGAATCACGGAAAAACATGGACCAAAATCG  
 CCAACAGCTATATGGATGACAAGATAAAAAGGCAACATAAAATAGACGTGCTGCTCGGC  
 GCGGAAAAATCTTATTTAAACCGAAGAACAGAACTTGACAAAGGAATTCAAACAAGC  
 CGGCTACAGCTATGTGACAATAACAAGCATTGAAAAAATAAAGATCAGCAGGTGC  
 TCGGGCTTTTCGAGATGGAGGGCTTCTAAAGCGCTCGACCGTGCAGTAAAACACCG  
 TCTCTCAAAGACATGACGGTTTCAG

도면1h

CAATTGATCGCCTGAACCAAAATAAAAAAGGATTTTTCTTGATGGTCGAAGGGAGCCAG  
 ATTGACTGGGCGGCCCATGACAATGATACAGTAGGAGCCATGAGCGAGGTTAAAGATTT  
 TGAACAGGCCTATAAAGCCGCGATTGAATTTGCGAAAAAAGACAAACATACACTTGTGA  
 TTGCAACTGCTGACCATAACAACCGCGGCTTACCATTGGCGCAAACGGGGAAAAAGAAT  
 TGGCACGCAGAACCGATTCTCTCCGCTAAGAAAACACCTGAATTCATGGCCAAAAAAT  
 CAGGAAGGCAGCCGTTAAAGATGTCTCGCCCGCTATGCCAATCTGAAAGTCACATC  
 TGAAGAAATCAAAAAGCGTTGAAGCAGCTGCACAGGCTGACAAAAAGCAAAGGGGCCTCC  
 AAAGCCATCATCAAGATTTTAATACCCGCTCCAACAGCGGATGGACGAGTACCGATCAT  
 ACCGGCGAAGAAAGTACCGGTATACGCGTACGGCCCCGAAAAGAAAAATCCGCGGATT  
 GATTAACAATACGGACCAGGCAAAACATCATATTTAAGATTTTAAAACTGGAAAA

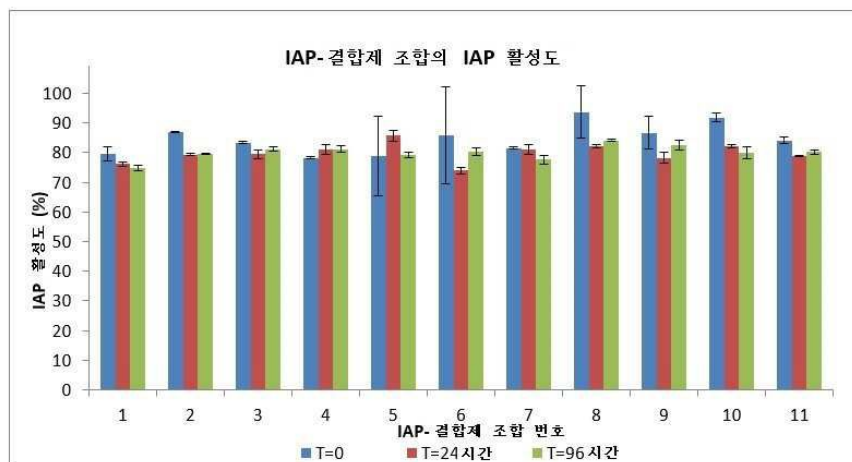
바실러스 첵틸리스 JH642 알칼리성 포스파타제 IV, 성숙 단백질 아미노산 서열 - 서열번호 17

KKQDKAEIRNVIVMIGDGMGTPYIRAYRSMKNNGDTPNPKLTFDRNLTGMMMTHPDDP  
 DYNITDSAAAGTALATGVKTYNNAIGVDKNGKVKVSVLEEAKQQGKSTGLVATSEINHATP  
 AAYGAHNESRKNMDQIANASYMDDKIKGKHKIDVLLGGGKSYFNRKRNRLTKFEKQAGYSY  
 VTTKQALKKNKDQQVLGLFADGGLAKALDRDSTPSLKDMTVSAIDRLNQNKKGFFLMVE  
 GSQIDWAAHDNDTVGAMSEVKDFEQAYKAAIEFAKKDKHTLVIATADHTTGGFTIGANGEK  
 NWHAEPILSAKKTPEFMAKKISEGKPKVDLARYANLKVTSEEIKSVEAAAQADKSKGASK  
 AIKIFNTRNSGWTSTDHTGEEVPVYAYGPGKEKFRGLINNTDQANIIFKILKTGK

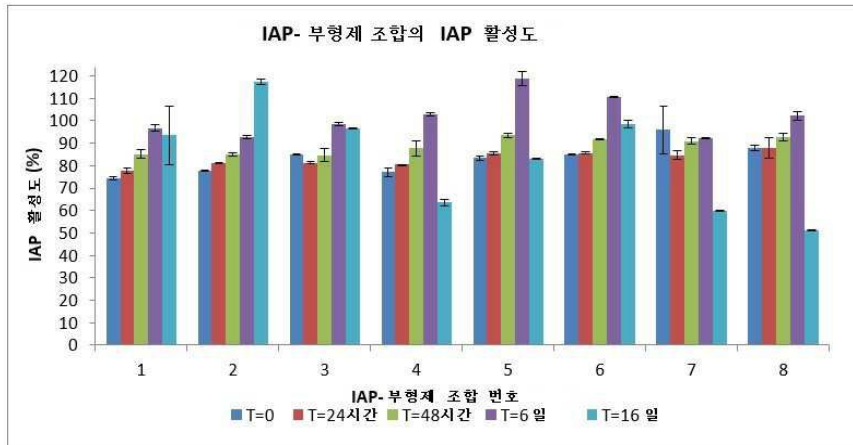
정지 코돈을 갖고 리더 서열을 갖지 않는 BIAP II(SYN-020) - 서열번호 39

LIPAEENPAFWNRQAAQALDVAKKLQPIQTAAKNVILFLGDGMGVPTVTATRILKGQMNG  
 KLGPEPLAMDQFPYVALSKTYNVDRQVPDSAGTATAYLCGVKGNRYRTIGVSAARYNQ  
 NTRGNEVTSVINRAKKAGKAVGVVTTTRVQHASPAGAYAHTVNRNWYSDADLPADAQK  
 NGCQDIAAQLVYNMIDIDVILGGGRMYMFPEGTPDPEYDDASVNGVRKDKQNLVQEWQAK  
 HQGAQYVWNRTALLQAADDSSVTHLMGLFEPADMKYNVQQDHTKDPTLAEMTEAALQVL  
 SRNPRGFYLFVEGGRIDHGHHDGKAYMALTEAIMFDNAIAKANELTSSELDLILVTADHSHV  
 FSGGGYTLRGTSTIFGLAPGKALDSKSYTSILYGNPGPYALGGSRPVDVNGSTSEEPSYRQAA  
 VPLASETHGGEDVAVFARGPQAHLVHGVQEETFVAHIMAFAGCPEPYTDCNLPAPATATSIP  
 D

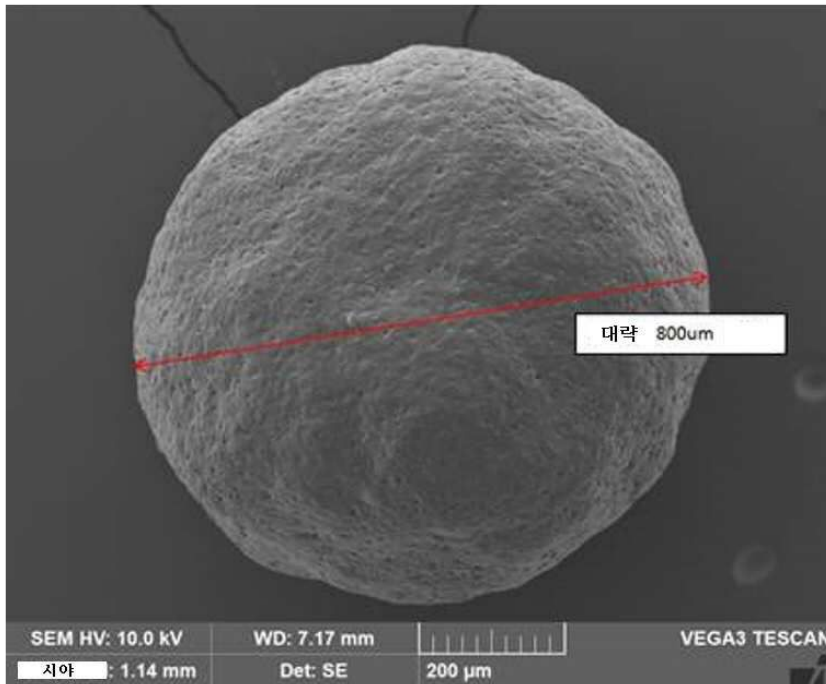
도면2



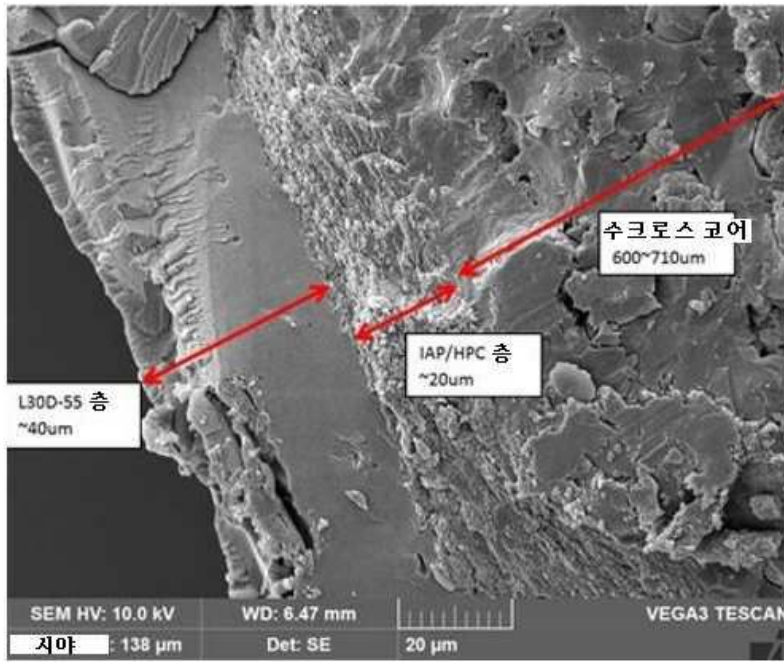
도면3



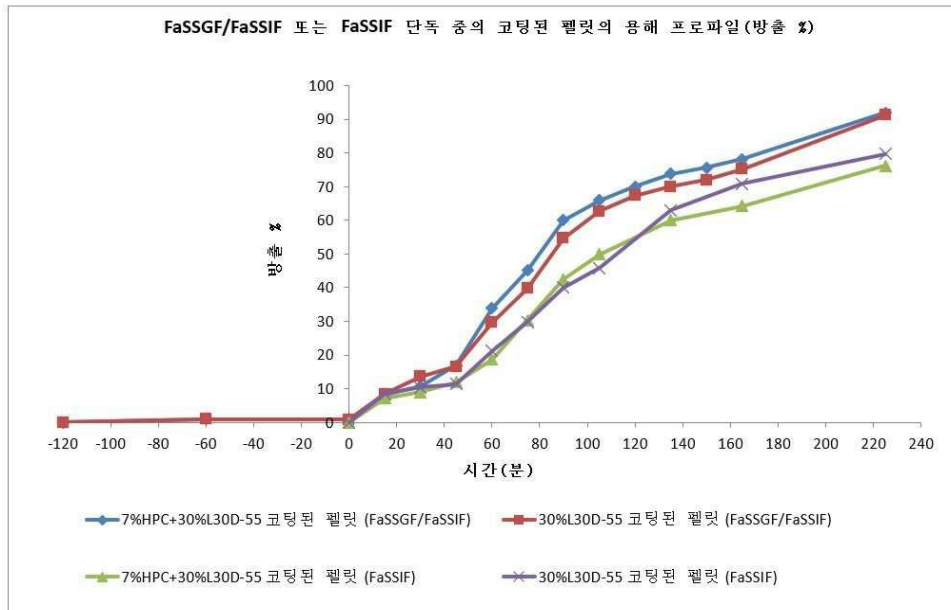
도면4



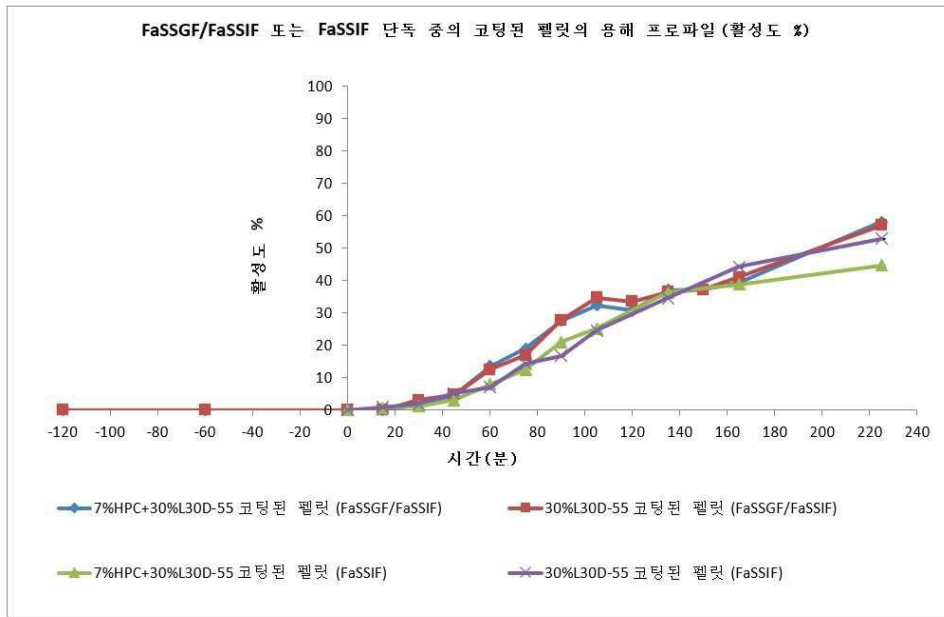
도면5



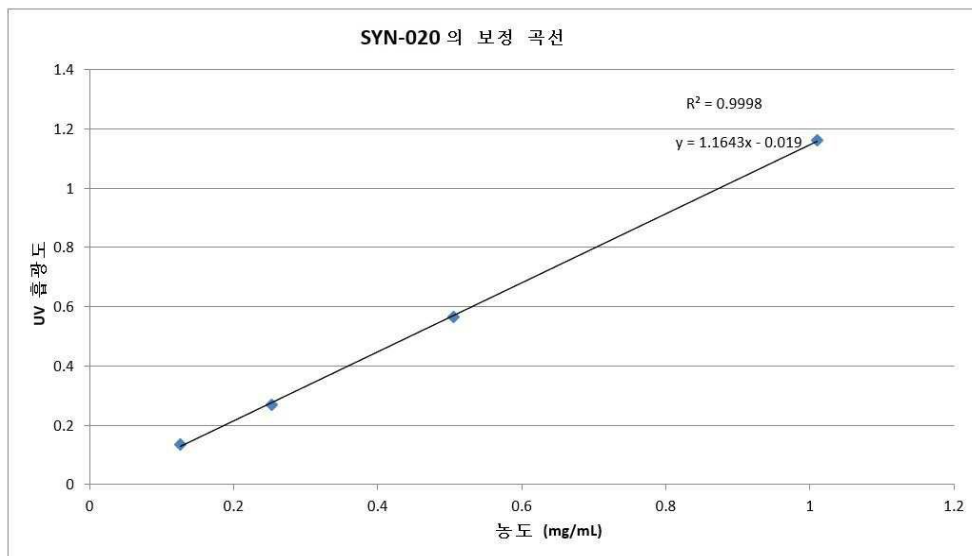
도면6



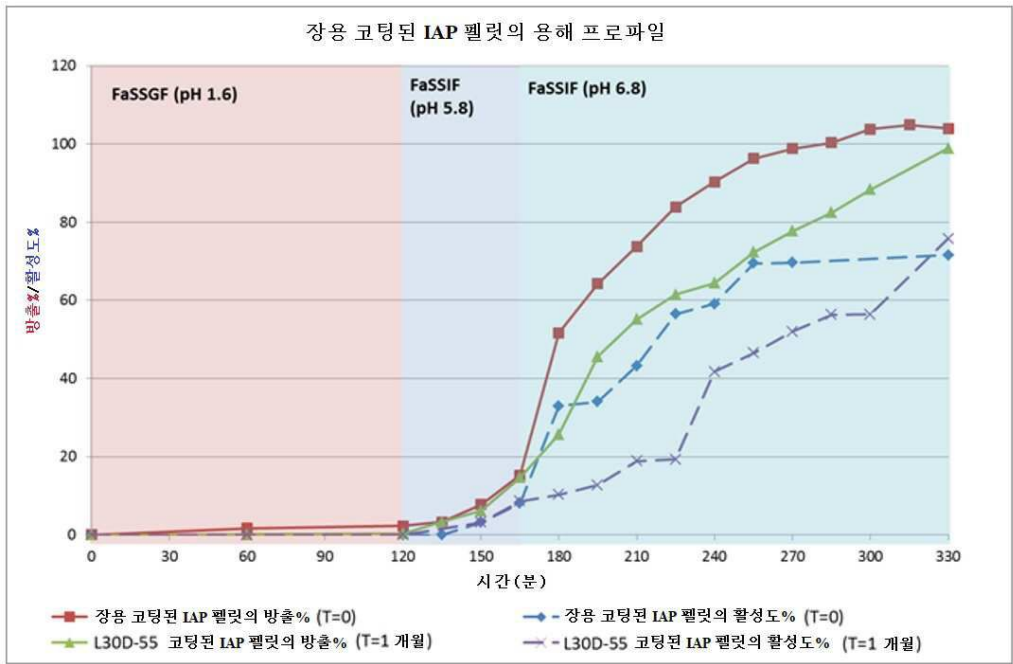
도면7



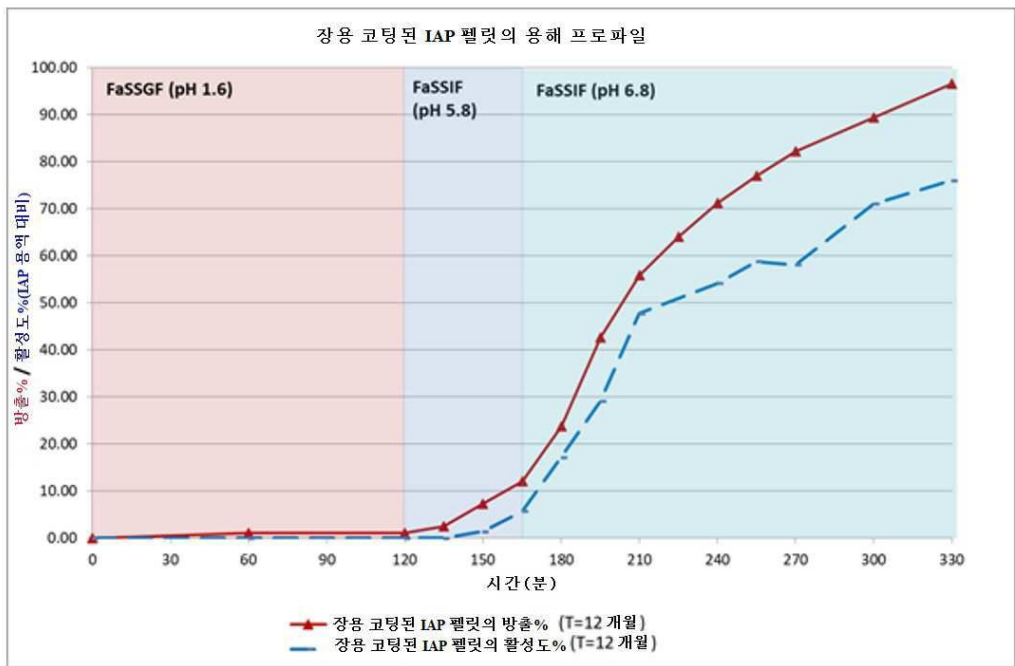
도면8



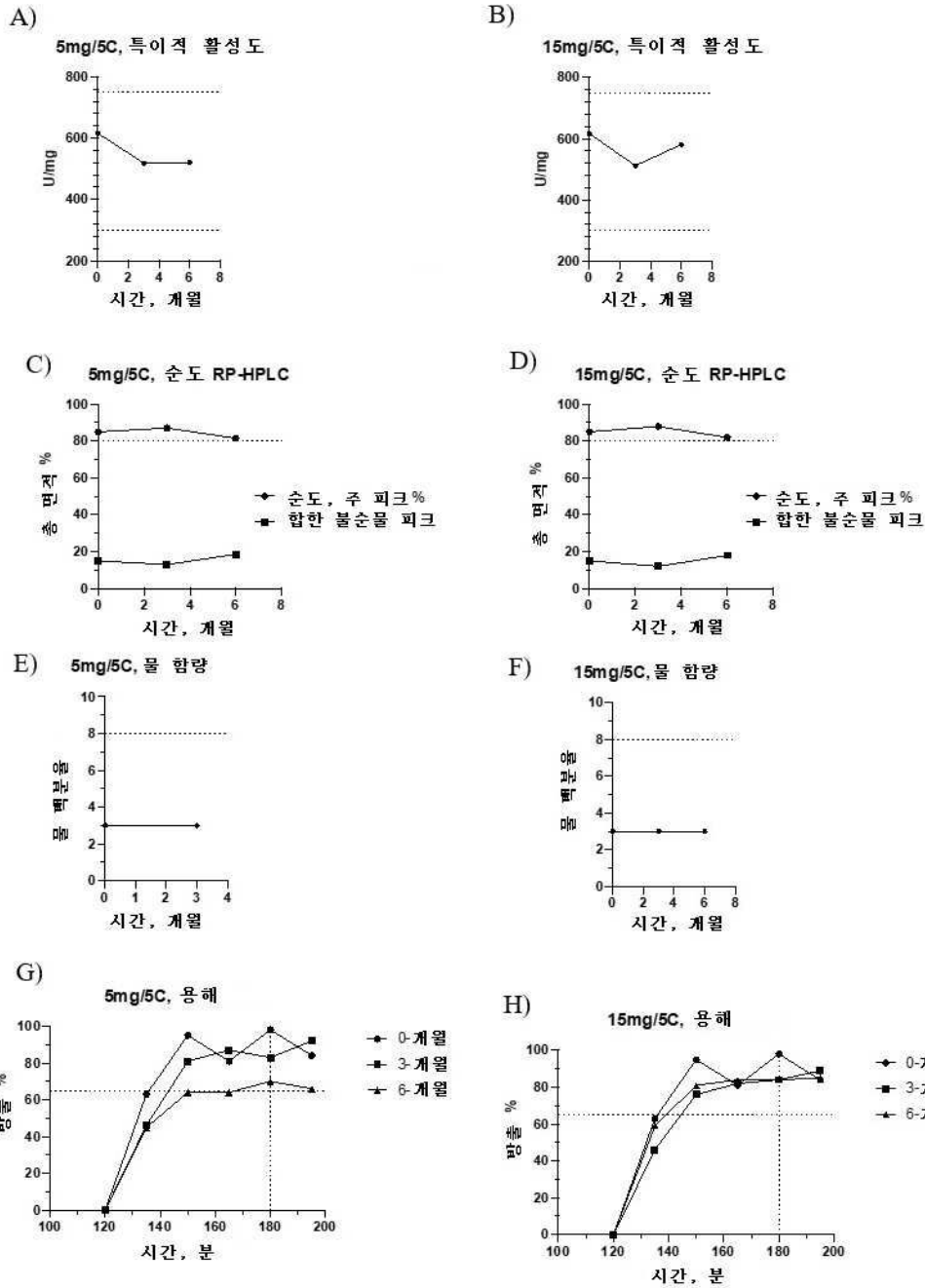
도면9



도면10



도면11



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Synthetic Biologics, Inc.

<120> ALKALINE PHOSPHATASE FORMULATIONS AND USES THEREOF

<130> WO/2020/247421

<140> PCT/US2020/035814

<141> 2020-06-03

<150> US 62/856,309

<151> 2019-06-03

<160> 39

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 528

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 1

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu

1                    5                    10                    15

Ser Leu Gly Val Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Pro Ala Phe Trp Asn

20                    25                    30

Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Asp Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile

35                    40                    45

Gln Lys Val Ala Lys Asn Leu Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Leu Gly

50                    55                    60

Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Asn Gly

65                    70                    75                    80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Leu

85                    90                    95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala

100                    105                    110

Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Phe Gln Thr

115                    120                    125

Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg

130                    135                    140

Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Gln Ala Gly Lys

145                    150                    155                    160

Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala

165                    170                    175

Gly Thr Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp

180 185 190  
 Met Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln  
 195 200 205  
  
 Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Ala Asp Ala  
 225 230 235 240  
 Ser Gln Asn Gly Ile Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Trp Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu  
 260 265 270  
  
 Met Gln Ala Ser Leu Asp Gln Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285  
 Glu Pro Gly Asp Thr Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Pro Thr Leu Asp  
 290 295 300  
 Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu Leu Ser Arg  
 305 310 315 320  
 Asn Pro Arg Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His  
 325 330 335  
  
 Gly His His Glu Gly Val Ala Tyr Gln Ala Leu Thr Glu Ala Val Met  
 340 345 350  
 Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp  
 355 360 365  
 Thr Leu Thr Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly  
 370 375 380  
 Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Ser Lys  
 385 390 395 400  
  
 Ala Gln Asp Ser Lys Ala Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415  
 Gly Tyr Val Phe Asn Ser Gly Val Arg Pro Asp Val Asn Glu Ser Glu  
 420 425 430

Ser Gly Ser Pro Asp Tyr Gln Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ser Ser  
 435 440 445

Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln  
 450 455 460

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Gln Ser Phe Val Ala His Val  
 465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Ala Cys Leu Glu Pro Tyr Thr Ala Cys Asp Leu Ala  
 485 490 495

Pro Pro Ala Cys Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Val Ala Ala Ser Leu  
 500 505 510

Pro Leu Leu Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Gly Ala Ser Ala Ala Pro  
 515 520 525

<210> 2

<211> 533

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 2

Met Gln Gly Ala Cys Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu His Leu Gln Leu  
 1 5 10 15

Ser Leu Gly Leu Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Pro Ala Phe Trp Asn  
 20 25 30

Arg Gln Ala Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
 35 40 45

Gln Thr Ala Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly  
 50 55 60

Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly  
 65 70 75 80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val  
 85 90 95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala  
 100 105 110

Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Arg Thr  
 115 120 125  
 Ile Gly Val Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg  
 130 135 140  
 Gly Asn Glu Val Thr Ser Val Ile Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Ala Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
 165 170 175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
 180 185 190  
 Leu Pro Ala Asp Ala Gln Lys Asn Gly Cys Gln Asp Ile Ala Ala Gln  
 195 200 205  
 Leu Val Tyr Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Ala  
 225 230 235 240  
 Ser Val Asn Gly Val Arg Lys Asp Lys Gln Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Gln Ala Lys His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Ala Leu  
 260 265 270  
 Leu Gln Ala Ala Asp Asp Ser Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285  
 Glu Pro Ala Asp Met Lys Tyr Asn Val Gln Gln Asp His Thr Lys Asp  
 290 295 300  
 Pro Thr Leu Ala Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Gln Val Leu Ser Arg  
 305 310 315 320  
 Asn Pro Arg Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His  
 325 330 335  
 Gly His His Asp Gly Lys Ala Tyr Met Ala Leu Thr Glu Ala Ile Met  
 340 345 350  
 Phe Asp Asn Ala Ile Ala Lys Ala Asn Glu Leu Thr Ser Glu Leu Asp

355 360 365  
 Thr Leu Ile Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly

370 375 380  
 Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Thr Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys  
 385 390 395 400

Ala Leu Asp Ser Lys Ser Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gly Tyr Ala Leu Gly Gly Gly Ser Arg Pro Asp Val Asn Gly Ser Thr  
 420 425 430

Ser Glu Glu Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ala Ser

435 440 445  
 Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln

450 455 460  
 Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Glu Thr Phe Val Ala His Ile

465 470 475 480  
 Met Ala Phe Ala Gly Cys Val Glu Pro Tyr Thr Asp Cys Asn Leu Pro

485 490 495  
 Ala Pro Ala Thr Ala Thr Ser Ile Pro Asp Ala Ala His Leu Ala Ala

500 505 510  
 Ser Pro Pro Pro Leu Ala Leu Leu Ala Gly Ala Met Leu Leu Leu Leu

515 520 525  
 Ala Pro Thr Leu Tyr

530

<210> 3

<211> 530

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 3

Met Gln Trp Ala Cys Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Trp Leu Gln Leu

1 5 10 15

Ser Leu Thr Phe Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asp Pro Ala Phe Trp Asn  
 20 25 30  
 Arg Gln Ala Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
 35 40 45  
 Gln Thr Ala Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly  
 50 55 60  
 Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val  
 85 90 95  
 Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala  
 100 105 110  
 Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Lys Thr  
 115 120 125  
 Ile Gly Val Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Ser  
 130 135 140  
 Gly Asn Glu Val Thr Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Val Gly Val Val Thr Thr Ser Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
 165 170 175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
 180 185 190  
 Leu Pro Ala Asp Ala Gln Thr Tyr Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln  
 195 200 205  
 Leu Val Asn Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Tyr Asp Val  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Thr Gly Val Arg Lys Asp Lys Arg Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Gln Ala Lys His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu



Ser Leu Ala Leu Leu Ala Gly Ala Met Leu Leu Leu Leu Ala Pro Ala  
 515 520 525

Leu Tyr  
 530

<210> 4  
 <211> 503  
 <212>  
 > PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic polymer.  
 <400> 4

Met Gln Gly Pro Trp Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Arg Leu Gln Leu  
 1 5 10 15

Ser Leu Gly Val Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Pro Ala Phe Trp Asn  
 20 25 30

Arg Gln Ala Ala Glu Ala Leu Asp Ala Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
 35 40 45

Gln Lys Val Ala Lys Asn Leu Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Leu Gly  
 50 55 60

Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Lys Asn Gly  
 65 70 75 80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Arg Phe Pro Tyr Leu  
 85 90 95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala  
 100 105 110

Ala Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Ala Asn Phe Gln Thr  
 115 120 125

Ile Gly Leu Ser Ala Ala Ala Arg Phe Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg  
 130 135 140

Gly Asn Glu Val Ile Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Gln Ala Gly Lys  
 145 150 155 160

Ser Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
 165 170 175

Gly Thr Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
 180 185 190  
 Met Pro Ala Ser Ala Arg Gln Glu Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln  
 195 200 205  
 Leu Ile Ser Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Lys  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Met Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Ala Asp Ala  
 225 230 235 240  
 Ser Gln Asn Gly Ile Arg Leu Asp Gly Lys Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Leu Ala Lys His Gln Gly Ala Trp Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu  
 260 265 270  
 Met Gln Ala Ser Leu Asp Gln Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285  
 Glu Pro Gly Asp Thr Lys Tyr Glu Ile His Arg Asp Pro Thr Leu Asp  
 290 295 300  
 Pro Ser Leu Met Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Arg Leu Leu Ser Arg  
 305 310 315 320  
 Asn Pro Arg Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His  
 325 330 335  
 Gly His His Glu Gly Val Ala Tyr Gln Ala Leu Thr Glu Ala Val Met  
 340 345 350  
 Phe Asp Asp Ala Ile Glu Arg Ala Gly Gln Leu Thr Ser Glu Glu Asp  
 355 360 365  
 Thr Leu Thr Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly  
 370 375 380  
 Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Ser Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Ser Lys  
 385 390 395 400  
 Ala Gln Asp Ser Lys Ala Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415  
 Gly Tyr Val Phe Asn Ser Gly Val Arg Pro Asp Val Asn Glu Ser Glu



Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Arg Thr  
 115 120 125  
 Ile Gly Val Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg  
 130 135 140  
 Gly Asn Glu Val Thr Ser Val Ile Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Ala Val Gly Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
 165 170 175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
 180 185 190  
 Leu Pro Ala Asp Ala Gln Lys Asn Gly Cys Gln Asp Ile Ala Ala Gln  
 195 200 205  
 Leu Val Tyr Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Ala  
 225 230 235 240  
 Ser Val Asn Gly Val Arg Lys Asp Lys Gln Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Gln Ala Lys His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Ala Leu  
 260 265 270  
 Leu Gln Ala Ala Asp Asp Ser Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285  
 Glu Pro Ala Asp Met Lys Tyr Asn Val Gln Gln Asp His Thr Lys Asp  
 290 295 300  
 Pro Thr Leu Ala Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Gln Val Leu Ser Arg  
 305 310 315 320  
 Asn Pro Arg Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His  
 325 330 335  
 Gly His His Asp Gly Lys Ala Tyr Met Ala Leu Thr Glu Ala Ile Met  
 340 345 350  
 Phe Asp Asn Ala Ile Ala Lys Ala Asn Glu Leu Thr Ser Glu Leu Asp

355 360 365  
 Thr Leu Ile Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly

370 375 380  
 Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Thr Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys  
 385 390 395 400

Ala Leu Asp Ser Lys Ser Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gly Tyr Ala Leu Gly Gly Gly Ser Arg Pro Asp Val Asn Gly Ser Thr  
 420 425 430

Ser Glu Glu Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ala Ser

435 440 445  
 Glu Thr His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln

450 455 460  
 Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Glu Thr Phe Val Ala His Ile

465 470 475 480  
 Met Ala Phe Ala Gly Cys Val Glu Pro Tyr Thr Asp Cys Asn Leu Pro

485 490 495  
 Ala Pro Ala Thr Ala Thr Ser Ile Pro Asp

500 505

<210> 6

<211> 503

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 6

Met Gln Trp Ala Cys Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Trp Leu Gln Leu  
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Phe Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asp Pro Ala Phe Trp Asn  
 20 25 30

Arg Gln Ala Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
 35 40 45

Gln Thr Ala Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly  
 50 55 60  
 Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val  
 85 90 95  
 Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala  
 100 105 110  
 Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Lys Thr  
 115 120 125  
 Ile Gly Val Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Ser  
 130 135 140  
 Gly Asn Glu Val Thr Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Val Gly Val Val Thr Thr Ser Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
 165 170 175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
 180 185 190  
 Leu Pro Ala Asp Ala Gln Thr Tyr Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln  
 195 200 205  
 Leu Val Asn Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Tyr Asp Val  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Thr Gly Val Arg Lys Asp Lys Arg Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Gln Ala Lys His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu  
 260 265 270  
 Leu Gln Ala Ala Asn Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285  
 Glu Pro Ala Asp Met Lys Tyr Asn Val Gln Gln Asp Pro Thr Lys Asp



<220><223> Synthetic polymer.

<400> 7

Met Gln Trp Ala Cys Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Trp Leu Gln Leu  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Thr Phe Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asp Pro Ala Phe Trp Asn  
                   20                    25                    30  
 Arg Gln Ala Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
                   35                    40                    45  
 Gln Thr Ala Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly  
                   50                    55                    60  
 Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly  
 65                    70                    75                    80  
 Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val  
                   85                    90                    95  
 Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala  
                   100                    105                    110  
 Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Lys Thr  
                   115                    120                    125  
 Ile Gly Val Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Ser  
                   130                    135                    140  
 Gly Asn Glu Val Thr Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145                    150                    155                    160  
 Ser Val Gly Val Val Thr Thr Ser Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
                   165                    170                    175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
                   180                    185                    190  
 Leu Pro Ala Asp Ala Gln Thr Tyr Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln  
                   195                    200                    205  
 Leu Val Asn Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met  
                   210                    215                    220  
 Tyr Met Phe Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Tyr Asp Val  
 225                    230                    235                    240

Asn Gln Thr Gly Val Arg Lys Asp Lys Arg Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Gln Ala Lys His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu  
 260 265 270  
 Leu Gln Ala Ala Asn Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285  
 Glu Pro Ala Asp Met Lys Tyr Asn Val Gln Gln Asp Pro Thr Lys Asp  
 290 295 300  
 Pro Thr Leu Glu Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Gln Val Leu Ser Arg  
 305 310 315 320  
 Asn Pro Gln Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His  
 325 330 335  
 Gly His His Glu Gly Lys Ala Tyr Met Ala Leu Thr Asp Thr Val Met  
 340 345 350  
 Phe Asp Asn Ala Ile Ala Lys Ala Asn Glu Leu Thr Ser Glu Leu Asp  
 355 360 365  
 Thr Leu Ile Leu Ala Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly  
 370 375 380  
 Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Thr Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Ser Lys  
 385 390 395 400  
 Ala Ser Asp Asn Lys Ser Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415  
 Gly Tyr Val Leu Gly Gly Gly Leu Arg Pro Asp Val Asn Asp Ser Ile  
 420 425 430  
 Ser Glu Asp Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ser Ser  
 435 440 445  
 Glu Ser His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln  
 450 455 460  
 Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Glu Thr Phe Val Ala His Val  
 465 470 475 480  
 Met Ala Phe Ala Gly Cys Val Glu Pro Tyr Thr Asp Cys Asn Leu Pro



Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
 180 185 190

Leu Pro Ala Asp Ala Gln Lys Asn Gly Cys Gln Asp Ile Ala Ala Gln  
 195 200 205

Leu Val Tyr Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met  
 210 215 220

Tyr Met Phe Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Ala  
 225 230 235 240

Ser Val Asn Gly Val Arg Lys Asp Lys Gln Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255

Gln Ala Lys His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Ala Leu  
 260 265 270

Leu Gln Ala Ala Asp Asp Ser Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285

Glu Pro Ala Asp Met Lys Tyr Asn Val Gln Gln Asp His Thr Lys Asp  
 290 295 300

Pro Thr Leu Ala Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Gln Val Leu Ser Arg  
 305 310 315 320

Asn Pro Arg Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His  
 325 330 335

Gly His His Asp Gly Lys Ala Tyr Met Ala Leu Thr Glu Ala Ile Met  
 340 345 350

Phe Asp Asn Ala Ile Ala Lys Ala Asn Glu Leu Thr Ser Glu Leu Asp  
 355 360 365

Thr Leu Ile Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly  
 370 375 380

Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Thr Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys  
 385 390 395 400

Ala Leu Asp Ser Lys Ser Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415

Gly Tyr Ala Leu Gly Gly Gly Ser Arg Pro Asp Val Asn Gly Ser Thr



Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp  
 675 680 685

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val  
 690 695 700

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp  
 705 710 715 720

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His  
 725 730 735

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro  
 740 745 750

Gly Lys

<210> 9

<211> 751

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 9

Met Gln Trp Ala Cys Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Trp Leu Gln Leu  
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Phe Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asp Pro Ala Phe Trp Asn  
 20 25 30

Arg Gln Ala Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
 35 40 45

Gln Thr Ala Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly  
 50 55 60

Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly  
 65 70 75 80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val  
 85 90 95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala



Phe Asp Asn Ala Ile Ala Lys Ala Asn Glu Leu Thr Ser Glu Leu Asp  
 355 360 365  
  
 Thr Leu Ile Leu Ala Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly  
 370 375 380  
 Gly Tyr Thr Leu Arg Gly Thr Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Ser Lys  
 385 390 395 400  
 Ala Ser Asp Asn Lys Ser Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro  
 405 410 415  
 Gly Tyr Val Leu Gly Gly Gly Leu Arg Pro Asp Val Asn Asp Ser Ile  
 420 425 430  
  
 Ser Glu Asp Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ser Ser  
 435 440 445  
 Glu Ser His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln  
 450 455 460  
 Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Glu Thr Phe Val Ala His Val  
 465 470 475 480  
 Met Ala Phe Ala Gly Cys Val Glu Pro Tyr Thr Asp Cys Asn Leu Pro  
 485 490 495  
  
 Ala Pro Ser Gly Leu Ser Asp Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 500 505 510  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 515 520 525  
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 530 535 540  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 545 550 555 560  
  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Gln  
 565 570 575  
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Gln Val His Asn Ala Lys  
 580 585 590  
 Thr Lys Pro Arg Glu Gln Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

595 600 605  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asn Trp Leu Asp Gly Lys Glu Tyr Lys  
 610 615 620

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 625 630 635 640

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 645 650 655

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 660 665 670

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 675 680 685

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 690 695 700

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 705 710 715 720

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 725 730 735

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 740 745 750

<210> 10

<211> 539

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 10

Met Gln Trp Ala Cys Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Trp Leu Gln Leu  
 1 5 10 15

Ser Leu Thr Phe Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asp Pro Ala Phe Trp Asn  
 20 25 30

Arg Gln Ala Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile  
 35 40 45

Gln Thr Ala Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly  
 50 55 60  
 Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val  
 85 90 95  
 Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala  
 100 105 110  
 Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Lys Thr  
 115 120 125  
 Ile Gly Val Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Ser  
 130 135 140  
 Gly Asn Glu Val Thr Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Val Gly Val Val Thr Thr Ser Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala  
 165 170 175  
 Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp  
 180 185 190  
 Leu Pro Ala Asp Ala Gln Thr Tyr Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln  
 195 200 205  
 Leu Val Asn Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met  
 210 215 220  
 Tyr Met Phe Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Tyr Asp Val  
 225 230 235 240  
 Asn Gln Thr Gly Val Arg Lys Asp Lys Arg Asn Leu Val Gln Glu Trp  
 245 250 255  
 Gln Ala Lys His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Glu Leu  
 260 265 270  
 Leu Gln Ala Ala Asn Asp Pro Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe  
 275 280 285  
 Glu Pro Ala Asp Met Lys Tyr Asn Val Gln Gln Asp Pro Thr Lys Asp



<210> 11

<211> 534

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 11

Met Gln Trp Ala Cys Val Leu Leu Leu Leu Gly Leu Trp Leu Gln Leu

1                    5                    10                    15

Ser Leu Thr Phe Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asp Pro Ala Phe Trp Asn

                  20                    25                    30

Arg Gln Ala Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile

                  35                    40                    45

Gln Thr Ala Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly

                  50                    55                    60

Val Pro Thr Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly

65                    70                    75                    80

Lys Leu Gly Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val

                  85                    90                    95

Ala Leu Ser Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala

                  100                    105                    110

Gly Thr Ala Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Lys Thr

                  115                    120                    125

Ile Gly Val Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Ser

                  130                    135                    140

Gly Asn Glu Val Thr Ser Val Met Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys

145                    150                    155                    160

Ser Val Gly Val Val Thr Thr Ser Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala

                  165                    170                    175

Gly Ala Tyr Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp

                  180                    185                    190

Leu Pro Ala Asp Ala Gln Thr Tyr Gly Cys Gln Asp Ile Ala Thr Gln



Glu Ser His Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln  
 450 455 460

Ala His Leu Val His Gly Val Gln Glu Glu Thr Phe Val Ala His Val  
 465 470 475 480

Met Ala Phe Ala Gly Cys Val Glu Pro Tyr Thr Asp Cys Asn Leu Ala  
 485 490 495

Pro Pro Ala Gly Thr Thr Asp Ala Ala His Pro Ile Glu Gly Arg Ser  
 500 505 510

Val Val Pro Ala Leu Leu Pro Leu Arg Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu  
 515 520 525

Glu Thr Ala Thr Ala Pro  
 530

<210> 12

<211> 1669

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 12

atgcaggggc cctgggtgct gctgctgctg ggcctgaggc tacagctctc cctgggcgtc 60  
 atcccaggta atgaggctcc ccaagctggt ccacacacag ggcaccccct cagccaggct 120  
 gacctgatct ctactctccc cctggccagc tgaggaggag aaccggcct tctggaaccg 180  
 ccaggcagct gaggccctgg atgctgccaa gaagctgcag cccatccaga aggtcggcaa 240  
 gaacctcatc ctcttctg gcgatgggtt gggggtgccc acggtgacag ccaccaggat 300  
  
 cctaaagggg cagaagaatg gcaaactggg gcctgagacg ccctggcca tggaccgctt 360  
 cccatacctg gctctgtcca agacatacaa tgtggacaga caggtgccag acagegcagc 420  
 cacagccacg gcctacctgt gcggggtcaa ggccaacttc cagaccatcg gcttgagtgc 480  
 agccgcccgc ttaaccagt gcaacacgac acgcggaat gaggtcatct cegtgatgaa 540  
 ccgggccaag caagcaggaa agtcagtagg agtggtgacc accacacggg tgcagcacgc 600  
 ctcgccagcc ggcacctacg cacacacagt gaaccgcaac tggtactcag atgctgacat 660  
 gcctgectca gcccgcagg aggggtgcca ggacatgcc actcagctca tctccaacat 720  
  
 ggacattgac gtgatcctg gcggaggccg caagtacatg tttcccatgg ggaccccaga 780

ccctgagtac ccagctgatg ccagccagaa tggaaatcagg ctggacggga agaacctggt 840  
 gcaggaatgg ctggcaaagc accaggggtgc ctggtatgtg tggaaaccgca ctgagctcat 900  
 gcaggcgtcc ctggaccagt ctgtgaccca tctcatgggc ctctttgagc cgggagacac 960  
 gaaatatgag atccaccgag accccacact ggaccctcc ctgatggaga tgacagaggc 1020  
 tgccctgcgc ctgctgagca ggaacccccg cggcttctac ctctttgtgg agggcggccg 1080  
 catcgacat ggtcatcatg aggggtgtggc ttaccaggca ctcaactgagg cggtcattgtt 1140  
  
 cgacgacgcc attgagaggg cgggccagct caccagcgag gaggacacgc tgaccctcgt 1200  
 caccgctgac cactcccatg tcttctctt tgggtggtac accttgcgag ggagctccat 1260  
 cttegggttg gccccagca aggtcagga cagcaaagcc tacacgtcca tctgtacgg 1320  
 caatggcccc ggctacgtg tcaactcagg cgtgcgacca gacgtgaatg agagcgagag 1380  
 cgggagcccc gattaccagc agcaggcggc ggtgccctg tcgtccgaga cccacggagg 1440  
 cgaagacgtg gcggtgtttg cgcgcgccc gcaggcgcac ctggtgcatg gtgtgcagga 1500  
 gcagagcttc gtagcgcagc tcatggcctt cgctgcctgt ctggagcct acacggcctg 1560  
  
 cgacctggcg cctcccgcct gcaccacega cgcgcgcac ccagttgccg cgtcgtgcc 1620  
 actgctggcc gggaccctgc tgctgctggg ggcgtccgct gctccctga 1669  
  
 <210> 13  
 <211> 1671  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic polymer.  
 <400> 13  
  
 atgcaggggc cctgggtgct gctgctgctg ggectgagge tacagctctc cctgggcgtc 60  
 atcccagctg aggaggagaa cccggccttc tggaaaccgcc aggcagctga ggccctggat 120  
 gctgccaaga agctgcagcc catccagaag gtcgccaaga acctatcct ctctctgggc 180  
 gatgggttgg gggtgcccac ggtgacagcc accaggatcc taaaggggca gaagaatggc 240  
  
 aaactggggc ctgagacgcc cctggccatg gaccgcttcc catacctggc tctgtccaag 300  
 acatacaatg tggacagaca ggtgccagac agcgcagcca cagccacggc ctacctgtgc 360  
 ggggtcaagg ccaacttcca gaccatcggc ttgagtgcag ccgcccgctt taaccagtgc 420  
 aacacgacac gcggcaatga ggtcatctcc gtgatgaacc gggccaagca agcaggaaag 480  
 tcagttaggag tggtgaccac cacacgggtg cagcacgcct cgccagccgg cacctacgca 540  
 cacacagtga accgcaactg gtactcagat gctgacatgc ctgcctcagc ccgccaggag 600

gggtgccagg acatgccac tcagctcatc tccaacatgg acattgacgt gatccttggc 660

ggagggccga agtacatggt tcccatgggg accccagacc ctgagtacc agctgatgcc 720

agccagaatg gaatcaggct ggacgggaag aacctggtgc aggaatggct ggcaaagcac 780

caggggtgctt ggtatgtgtg gaaccgcact gagctcatgc aggcgtccct ggaccagtct 840

gtgaccctac tcattgggct ctttgagccc ggagacacga aatatgagat ccaccgagac 900

cccacactgg acccctccct gatggagatg acagaggctg ccctgcgctt getgagcagg 960

aacccccgcg gcttctacct ctttgtggag ggcggccgca tcgacatgg tcatcatgag 1020

ggtgtggctt accaggcact cactgaggcg gtcattgtcg acgacccat tgagagggcg 1080

ggccagctca ccagcgagga ggacacgctg accctcgtca ccgctgacca ctcccatgtc 1140

ttctcctttg gtggctacac cttgcgaggg agctccatct tcgggttggc ccccagcaag 1200

gctcaggaca gcaaagccta cacgtccatc ctgtacggca atggccccgg ctacgtgttc 1260

aactcaggcg tgcaccaga cgtgaatgag agcgagagcg ggagccccga ttaccagcag 1320

cagggcggcg tgccccgtc gtccgagacc cacggaggcg aagacgtggc ggtgtttgcg 1380

cgcggccccg aggcgcacct ggtgcatggt gtgcaggagc agagcttcgt agcgcattgc 1440

atggccttcg ctgcctgtct ggagccctac acggcctgcg acctggcgcc tcccgcctgc 1500

accaccgacg ccgcgcacc agttgcccg tcgctgccac tgctggccgg gaccctgctg 1560

ctgctggggg cgtccgctgc tccctgattt actaaaacct tgaataaaaa ttgtaaaaca 1620

tcagttttaa ggctgactc tcagggtagt tcttttttaa ttctgggttt t 1671

<210> 14

<211> 1672

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 14

atgcagtggg cctgtgtgct gctgetgctg ggctgtggc tacagctctc cctcaccttc 60

atcccaggta atcaggcggc tcccagcagc ccctactcac agggcgcgct ctaggctgac 120

ctgaccaaca ctctcccctt gggcagctga ggaggaagac cccgccttct ggaaccgcca 180

ggcagcccag gccttgatg tagccaagaa gttgcagccg atccagacag ctgccaagaa 240

tgtcatctc ttcttggggg atgggatggg ggtgcctacg gtgacagcca ctcgatcct 300

aaagggcgag atgaatgta agctgggacc tgagacacce ctggccatgg accagttccc 360

atactggct ctgtccaaga catacaacgt ggacagacag gtgccagaca gcgcaggcac 420

tgccactgcc tacctgtgtg gggtaaggg caactacaaa accattggtg taagtgcagc 480  
 cgcccgtac aaccagtga acacaacaag tggcaatgag gtcacgtctg tgatgaaccg 540  
 ggccaagaaa gcaggaaagt cagtgggagt ggtgaccacc tccaggtgc agcatgcctc 600  
  
 cccagccggt gcttatgcac acacggtgaa ccgaaactgg tactcagatg ccgacctgcc 660  
 tgccgatgca cagacgtatg gctgccagga catcgccaca caactggtca acaacatgga 720  
 tattgacgtg atcctgggtg gaggccgaat gtacatgttt cctgagggga ccccggatec 780  
 tgaataccca tacgatgca atcagactgg agtccggaag gacaagcgga atctggtgca 840  
 ggagtggcag gccaaagcacc agggagccca gtatgtgtgg aaccgcacgg agctccttca 900  
 ggacagcaat gacccagtg taacacacct catgggcctc tttgagccgg cagacatgaa 960  
 gtataatgtt cagcaagacc ccaccaagga cccgacctg gaggagatga cggagcggc 1020  
  
 cctgcaagtg ctgagcagga acccccaggg ctctacctc ttcgtggagg gaggccgat 1080  
 tgaccacggt caccatgaag gcaaagctta tatggcactg actgatacag tcatgtttga 1140  
 caatgccatc gccaaaggcta acgagctcac tagcgaactg gacacgtga tccttgccac 1200  
 tgcagaccac tccatgtct tctcttttgg tggtacaca ctgctggga cctccatfff 1260  
 cggctctggc cccagcaagg cctcagaca caagtctac acctccatcc tctatggcaa 1320  
 tggccttggc tacgtgcttg gtgggggctt aaggcccgat gttaatgaca gcataagcga 1380  
 ggaccctctg taccggcagc aggcggcctt gccctgtct agtgagtccc acggggcgca 1440  
  
 ggacgtggcg gtgttcgctc gagccccga ggcgcacctg gtgcacggcg tgcaggagga 1500  
 gacctctgtg gcgcacgtca tggcctttgc gggctgctg gagccctaca ccgactgcaa 1560  
 tctgccggcc ccctctggcc tctccgacgc cgcgcacctg gcggccagcc cgccttctct 1620  
 ggcgctgctg gccggggcga tgctgtgct gctggcgcct gccttgtact ga 1672  
  
 <210> 15  
 <211> 1869  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic polymer.  
 <400> 15  
  
 atgcagtggg cctgtgtgct gctgtgtctg ggctgtggc tacagctctc cctcaecttc 60  
 atcccagctg aggaggaaga ccccgccttc tgaaccgcc aggcagccca gcccttgat 120  
  
 gtagccaaga agttgcagc gatccagaca getgccaaga atgtcatcct cttcttgggg 180  
 gatgggatgg ggtgcctac ggtgacagcc actcggatcc taaagggcga gatgaatggt 240

aagctgggac ctgagacacc cctggccatg gaccagtcc catacgtggc tctgtccaag 300  
acatacaacg tggacagaca ggtgccagac agcgcaggca ctgccactgc ctacctgtgt 360  
ggggtcaagg gcaactacaa aaccattggt gtaagtgcag cgcgccgcta caaccagtgc 420  
aacacaacaa gtggcaatga ggtcacgtct gtgatgaacc gggccaagaa agcaggaaag 480  
tcagtgggag tggtagaccac ctccaggggtg cagcatgcct cccagccgg tgcttatgca 540  
  
cacacggtga accgaaactg gtactcagat gccgacctgc ctgccgatgc acagacgtat 600  
ggctgccagg acatcgccac acaactggtc aacaacatgg atattgacgt gatcctgggt 660  
ggaggccgaa tgtacatgtt tcttgagggg accccggatc ctgaataccc atacgatgtc 720  
aatcagactg gagtccgaa ggacaagcgg aatctggtgc aggagtggca ggccaagcac 780  
caggagccc agtatgtgtg gaaccgcacg gagctccttc aggcagcaa tgacccagc 840  
gtaacacacc tcatgggctt ctttgagccg gcagacatga agtataatgt tcagcaagac 900  
cccaccaagg acccgacct ggaggagatg acggaggcgg ccctgcaagt gctgagcagg 960  
  
aacccccagg gcttctacct cttcgtggag ggaggccgca ttgaccacgg tcacatgaa 1020  
ggcaaagctt atatggcact gactgataca gtcatgtttg acaatgcat cgccaaggt 1080  
aacgagctca ctacgcaact ggacacgctg atccttgcca ctgcagacca ctccatgtc 1140  
ttctcttttg gtggctacac actgcgtggg acctccattt tcggtctggc ccccagcaag 1200  
gcctcagaca acaagtcta cacctccatc ctctatggca atggccctgg ctacgtgctt 1260  
ggtgggggct taaggcccga tgtaatgac agcataagcg aggaccctc gtaccggcag 1320  
caggcggccg tgeccctgtc tagtgagtcc cacgggggcg aggacgtggc ggtgttcgcg 1380  
  
cgaggcccgc aggcgcacct ggtgcacggc gtgcaggagg agacctctgt ggcgcacgtc 1440  
atggcctttg cgggctgctt ggagccctac accgactgca atctgccgc cccctctggc 1500  
ctctccgacg ccgcgcacct ggcggccagc ccgccttcgc tggcgtgct ggccggggcg 1560  
atgctgctgc tgctggcgc tccttgtac tgaggggacc cgggggtggg gacacaggcc 1620  
ccgcctccc tgggaggcag gaagcagctc tcaataaac tgttctaagt atgatacagg 1680  
agtatacat gtgtgaagag aagcccttag gtggggcac agagtgtctg ggtgaggggg 1740  
gtcagggtca catcaggagg ttagggaggg gttgatgaag ggctgacgtt gagcaaagac 1800  
  
caaagcaac tcagaaggac agtgggtgcag gactgggtgt ggtcagcagg gggactggtt 1860  
gggggatcc 1869  
<210> 16  
<211> 1259  
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 16

```

aaaaacaag acaaagctga gatcagaaat gtcattgtga tgataggcga cggcatgggg 60
acgccttaca taagagccta ccgttccatg aaaataacg gtgacacacc gaataaccg 120
aagttaacag aatttgaccg gaacctgaca ggcatgatga tgacgcatcc ggatgacct 180
gactataata ttacagattc agcagcagcc ggaacagcat tagcgacagg cgttaagaca 240

tataacaatg caattggcgt cgataaaaac ggaaaaaaag tgaatctgt acttgaagag 300
gccaaacagc aaggcaagtc aacagggtt gtcgccacgt ctgaaattaa ccacgccact 360
ccagccgcat atggcgccca caatgaatca cggaaaaaca tggaccaaat cgccaacagc 420
tatatggatg acaagataaa aggcaaacat aaaatagacg tgctgctcgg cggcgaaaaa 480
tcttatttta accgcaagaa cagaaacttg acaaaggaat tcaacaagc cggctacagc 540
tatgtgacaa ctaacaagc attgaaaaaa aataaagatc agcaggtgct cgggcttttc 600
gcagatggag ggcttgctaa agcgtctgac cgtgacagta aaacaccgtc tctcaaagac 660

atgacggttt cagcaattga tgcctgaac caaaataaaa aaggatTTTT cttgatggtc 720
gaagggagcc agattgactg ggcgcccat gacaatgata cagtaggagc catgagcgag 780
gttaaagatt ttgaacagcg ctataaagcc gcgattgaat ttgcgaaaaa agacaaacat 840
acacttgtga ttgcaactgc tgaccataca accggcggct ttaccattgg cgcaaacggg 900
gaaaagaatt ggcacgcaga accgattctc tccgctaaga aaacacctga attcatggcc 960
aaaaaaatca ggaaggcaag ccggttaaag atgtgctcgc ccgctatgcc aatctgaaag 1020
tcacatctga agaatcaaa agcgttgaag cagctgcaca ggctgacaaa agcaaagggg 1080

cctccaaagc catcatcaag attttaata cccgtccaa cagcggatgg acgagtaccg 1140
atcataccgg cgaagaagta ccggtatacg cgtacggccc cggaaaagaa aaattccgcg 1200
gattgattaa caatacggac caggcaaca tcatatata gatttataaa actggaaaa 1259

```

<210> 17

<211> 420

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 17

Lys Lys Gln Asp Lys Ala Glu Ile Arg Asn Val Ile Val Met Ile Gly

1                    5                                    10                                                            15

Asp Gly Met Gly Thr Pro Tyr Ile Arg Ala Tyr Arg Ser Met Lys Asn  
 20 25 30  
 Asn Gly Asp Thr Pro Asn Asn Pro Lys Leu Thr Glu Phe Asp Arg Asn  
 35 40 45  
 Leu Thr Gly Met Met Met Thr His Pro Asp Asp Pro Asp Tyr Asn Ile  
 50 55 60  
 Thr Asp Ser Ala Ala Ala Gly Thr Ala Leu Ala Thr Gly Val Lys Thr  
 65 70 75 80  
 Tyr Asn Asn Ala Ile Gly Val Asp Lys Asn Gly Lys Lys Val Lys Ser  
 85 90 95  
 Val Leu Glu Glu Ala Lys Gln Gln Gly Lys Ser Thr Gly Leu Val Ala  
 100 105 110  
 Thr Ser Glu Ile Asn His Ala Thr Pro Ala Ala Tyr Gly Ala His Asn  
 115 120 125  
 Glu Ser Arg Lys Asn Met Asp Gln Ile Ala Asn Ser Tyr Met Asp Asp  
 130 135 140  
 Lys Ile Lys Gly Lys His Lys Ile Asp Val Leu Leu Gly Gly Gly Lys  
 145 150 155 160  
 Ser Tyr Phe Asn Arg Lys Asn Arg Asn Leu Thr Lys Glu Phe Lys Gln  
 165 170 175  
 Ala Gly Tyr Ser Tyr Val Thr Thr Lys Gln Ala Leu Lys Lys Asn Lys  
 180 185 190  
 Asp Gln Gln Val Leu Gly Leu Phe Ala Asp Gly Gly Leu Ala Lys Ala  
 195 200 205  
 Leu Asp Arg Asp Ser Lys Thr Pro Ser Leu Lys Asp Met Thr Val Ser  
 210 215 220  
 Ala Ile Asp Arg Leu Asn Gln Asn Lys Lys Gly Phe Phe Leu Met Val  
 225 230 235 240  
 Glu Gly Ser Gln Ile Asp Trp Ala Ala His Asp Asn Asp Thr Val Gly  
 245 250 255  
 Ala Met Ser Glu Val Lys Asp Phe Glu Gln Ala Tyr Lys Ala Ala Ile

260 265 270  
 Glu Phe Ala Lys Lys Asp Lys His Thr Leu Val Ile Ala Thr Ala Asp

275 280 285  
 His Thr Thr Gly Gly Phe Thr Ile Gly Ala Asn Gly Glu Lys Asn Trp

290 295 300  
 His Ala Glu Pro Ile Leu Ser Ala Lys Lys Thr Pro Glu Phe Met Ala  
 305 310 315 320

Lys Lys Ile Ser Glu Gly Lys Pro Val Lys Asp Val Leu Ala Arg Tyr  
 325 330 335  
 Ala Asn Leu Lys Val Thr Ser Glu Glu Ile Lys Ser Val Glu Ala Ala

340 345 350  
 Ala Gln Ala Asp Lys Ser Lys Gly Ala Ser Lys Ala Ile Ile Lys Ile

355 360 365  
 Phe Asn Thr Arg Ser Asn Ser Gly Trp Thr Ser Thr Asp His Thr Gly  
 370 375 380

Glu Glu Val Pro Val Tyr Ala Tyr Gly Pro Gly Lys Glu Lys Phe Arg  
 385 390 395 400  
 Gly Leu Ile Asn Asn Thr Asp Gln Ala Asn Ile Ile Phe Lys Ile Leu

405 410 415  
 Lys Thr Gly Lys

420

<210> 18

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 18

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

<210> 19

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 19

Gly Gly Gly Gly Ser

1                    5

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1                    5                    10

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 21

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1                    5                    10                    15

<210> 22

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 22

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1                    5                    10                    15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 23

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 23

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1                    5

<210> 24

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1                    5

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 25

Glu Ala Ala Ala Lys

1                    5

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 26

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1                    5                    10

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 27

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1                    5                    10                    15

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 28

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

1                    5                    10

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 29

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1                    5                    10                    15

Ala

<210> 30

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 30

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1                    5                    10                    15

Glu Ala Ala Ala Lys Ala

20

<210> 31

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 31

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1                    5                    10                    15

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

                  20                    25

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 32

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

1                    5                    10

<210> 33

<211> 46

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 33

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1                    5                    10                    15

Glu Ala Ala Ala Lys Ala Leu Glu Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala

                  20                    25                    30

Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

                  35                    40                    45

<210> 34

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 34

Pro Ala Pro Ala Pro

1                    5

<210> 35

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 35

Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser

1                    5                    10                    15

Leu Asp

<210> 36

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 36

Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr

1                    5                    10

<210> 37

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 37

Gly Ser Ala Gly Ser Ala Ala Gly Ser Gly Glu Phe

1                    5                    10

<210> 38

<211> 13

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 38

gccgccacca tgg

13

<210> 39

<211> 487

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polymer.

<400> 39

Leu Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Pro Ala Phe Trp Asn Arg Gln Ala

1                    5                    10                    15

Ala Gln Ala Leu Asp Val Ala Lys Lys Leu Gln Pro Ile Gln Thr Ala

20                    25                    30

Ala Lys Asn Val Ile Leu Phe Leu Gly Asp Gly Met Gly Val Pro Thr

35                    40                    45

Val Thr Ala Thr Arg Ile Leu Lys Gly Gln Met Asn Gly Lys Leu Gly

50                    55                    60

Pro Glu Thr Pro Leu Ala Met Asp Gln Phe Pro Tyr Val Ala Leu Ser

65                    70                    75                    80

Lys Thr Tyr Asn Val Asp Arg Gln Val Pro Asp Ser Ala Gly Thr Ala

85                    90                    95

Thr Ala Tyr Leu Cys Gly Val Lys Gly Asn Tyr Arg Thr Ile Gly Val

100                    105                    110

Ser Ala Ala Ala Arg Tyr Asn Gln Cys Asn Thr Thr Arg Gly Asn Glu

115                    120                    125

Val Thr Ser Val Ile Asn Arg Ala Lys Lys Ala Gly Lys Ala Val Gly

130                    135                    140

Val Val Thr Thr Thr Arg Val Gln His Ala Ser Pro Ala Gly Ala Tyr

145                    150                    155                    160

Ala His Thr Val Asn Arg Asn Trp Tyr Ser Asp Ala Asp Leu Pro Ala

165                    170                    175

Asp Ala Gln Lys Asn Gly Cys Gln Asp Ile Ala Ala Gln Leu Val Tyr  
 180 185 190  
 Asn Met Asp Ile Asp Val Ile Leu Gly Gly Gly Arg Met Tyr Met Phe  
 195 200 205  
 Pro Glu Gly Thr Pro Asp Pro Glu Tyr Pro Asp Asp Ala Ser Val Asn  
 210 215 220  
 Gly Val Arg Lys Asp Lys Gln Asn Leu Val Gln Glu Trp Gln Ala Lys  
 225 230 235 240  
 His Gln Gly Ala Gln Tyr Val Trp Asn Arg Thr Ala Leu Leu Gln Ala  
 245 250 255  
 Ala Asp Asp Ser Ser Val Thr His Leu Met Gly Leu Phe Glu Pro Ala  
 260 265 270  
 Asp Met Lys Tyr Asn Val Gln Gln Asp His Thr Lys Asp Pro Thr Leu  
 275 280 285  
 Ala Glu Met Thr Glu Ala Ala Leu Gln Val Leu Ser Arg Asn Pro Arg  
 290 295 300  
 Gly Phe Tyr Leu Phe Val Glu Gly Gly Arg Ile Asp His Gly His His  
 305 310 315 320  
 Asp Gly Lys Ala Tyr Met Ala Leu Thr Glu Ala Ile Met Phe Asp Asn  
 325 330 335  
 Ala Ile Ala Lys Ala Asn Glu Leu Thr Ser Glu Leu Asp Thr Leu Ile  
 340 345 350  
 Leu Val Thr Ala Asp His Ser His Val Phe Ser Phe Gly Gly Tyr Thr  
 355 360 365  
 Leu Arg Gly Thr Ser Ile Phe Gly Leu Ala Pro Gly Lys Ala Leu Asp  
 370 375 380  
 Ser Lys Ser Tyr Thr Ser Ile Leu Tyr Gly Asn Gly Pro Gly Tyr Ala  
 385 390 395 400  
 Leu Gly Gly Gly Ser Arg Pro Asp Val Asn Gly Ser Thr Ser Glu Glu  
 405 410 415  
 Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Ala Ala Val Pro Leu Ala Ser Glu Thr His

420 425 430  
Gly Gly Glu Asp Val Ala Val Phe Ala Arg Gly Pro Gln Ala His Leu  
435 440 445  
Val His Gly Val Gln Glu Glu Thr Phe Val Ala His Ile Met Ala Phe  
450 455 460  
Ala Gly Cys Val Glu Pro Tyr Thr Asp Cys Asn Leu Pro Ala Pro Ala  
465 470 475 480  
Thr Ala Thr Ser Ile Pro Asp  
485