(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0135875
(43) 공개일자 2024년09월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/08 (2006.01) *A61K 38/02* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61K 47/26* (2017.01)
A61K 47/36 (2017.01) *A61P 17/02* (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01) *A61P 41/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/08 (2013.01)
A61K 38/02 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7029282(분할)
(22) 출원일자(국제) 2018년04월05일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2019-7032623
원출원일자(국제) 2018년04월05일
심사청구일자 2021년03월31일
(85) 번역문제출일자 2024년08월30일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/026322
(87) 국제공개번호 WO 2018/187617
국제공개일자 2018년10월11일
(30) 우선권주장
62/482,630 2017년04월06일 미국(US)

(71) 출원인
아미크로베, 인코포레이티드.
미합중국, 캘리포니아 92010, 칼스배드, 스위트 101, 3142 타이거 런 코트
(72) 발명자
베비라쿠아, 마이클 피.
미국, 캘리포니아 92010, 칼스배드 스위트 101, 3142 타이거 런 코트
황, 다니엘 제이.
미국, 캘리포니아 92010, 칼스배드 스위트 101, 3142 타이거 런 코트
루커, 더그
미국, 캘리포니아 92010, 칼스배드 스위트 101, 3142 타이거 런 코트
(74) 대리인
특허법인이룸리온

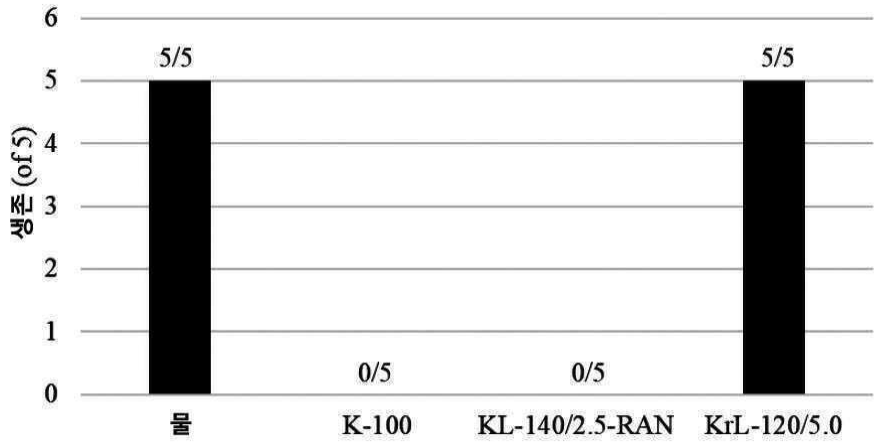
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **개선된 성능 및 안전성을 가진 국소적으로 적용된 항균제의 조성물 및 용도**

(57) 요 약

본 발명은 수용성 담체; 및 상기 수용성 담체에 분산된 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 항균성 약학 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.01 중량% 내지 약 5 중량% 범위의 농도로 포함하고, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 중성 pH에서 복수의 양으로 하전된 아미노산 단위를 포함하고, 특정 점도 및 독성 요구를 충족시킨다. 추가적으로, 본 발명은 상기 조직 부위가 미생물로 오염되는 것을 적어도 부분적으로 보호하기에 효과적인 양으로 상기 항균성 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직의 미생물 오염을 예방하는 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도32



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 47/26 (2013.01)
A61K 47/36 (2013.01)
A61P 17/02 (2018.01)
A61P 31/04 (2018.01)
A61P 41/00 (2018.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

수용성 담체; 및

상기 수용성 담체에 분산된 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 항균성 약학 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.01 중량% 내지 약 5 중량% 범위의 농도로 포함하고,

상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 중성 pH에서 복수의 양으로 하전된 아미노산 단위를 포함하고;

탈이온수 내 2 중량%의 농도로 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 37℃에서 2 센티스토크(cSt) 이상의 점도를 가지고;

상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체는 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 대신 알부민을 2 중량%로 함유하는 상기 수용성 담체의 것에 비해 크고; 및

상기 항균성 약학 조성물은 72 시간에서 마우스 생존율이 50 % 이상으로 측정되는 바와 같이, 10 mL/kg의 용량으로 복수의 건강한 영 어덜트 마우스의 복막강 내로 주입된 후 낮은 독성을 가지는, 항균성 약학 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2017년 4월 6일자 출원된 미국 가출원 제62/482,630호에 우선권을 주장하고, 그 전체가 참조로서 본원에 통합된다.

[0002] 본 개시는 양이온성 항균제를 함유하는 항균성 약학 조성물 및 감염을 예방 및/또는 치료하기 위해 그들을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 방부제 및 항생제를 포함하는, 국소적으로 적용된 항균제는 종종 감염의 예방 및 치료에 효과를 달성하지 못하여, 상당한 환자 이환율 및 사망률을 초래한다. 특정 용도(특정 조직에의 적용을 포함) 및 용량(농도, 부피, 적용의 횟수)은 하나 이상의 독성의 위험에 의해 제한될 수 있다. 그러한 독성에 대한 우려는 특정 병리생리학적 설정에서 부적절한 용량의 임상 적용 또는 모두 함께 사용의 회피를 초래할 수 있다.

[0004] 매우 다양한 양이온성 항균제는 특정 항생제, 비스비구아나이드, 폴리머 비구아나이드, 4 차 암모늄 화합물, 천연 항균성 펩타이드, 및 합성 양이온성 폴리펩타이드를 포함하는, 박테리아 막에 결합 및 파괴시키기 위한 그들의 능력이 공지되어 있다. 그러나, 포유류 독성은 일관된 문제로 남아있다.

[0005] 미국 특허 제9,017,730호는 다양한 비의 양이온성 아미노산 반복 단위(라이신(K)과 같은) 및 소수성 아미노산 단위(류신(L), 이소류신(I), 발린(V), 페닐알라닌(F) 또는 알라닌(A)과 같은)를 함유하는 합성 양이온성 코폴리펩타이드를 서술한다. 미국 특허 제9,017,730호는 인비트로 세포 독성 어세이에 의해 측정된 바와 같이, 양이온성 아미노산의 신축 및 소수성 아미노산의 신축을 포함하는 세그먼트된 또는 블록 구조가 포유류 세포와의 상용성을 향상시킬 수 있음을 나타낸다. 또한, 미국 특허 제9,017,730호는 선택된 양이온성 블록 코폴리펩타이드를 에멀젼 내로 통합시키는 것이 세포 독성 어세이에 의해 측정된 바와 같이, 인비트로 포유류 세포와의 상용성을 향상시킬 수 있음을 나타낸다. 미국 특허 제9,017,730호는 다수의 합성 양이온성 코폴리펩타이드 제제의 국소 적용을 서술하나, 그는 인비보 그들 제제의 용도로부터 초래할 수 있는 독성의 증거를 제공하지 않는다.

[0006] 미국 특허 제9,446,090호는 그러한 폴리펩타이드 및 제2 약학적으로 허용가능한 폴리머를 함유하는 상호 수-혼화성 혼합물과 함께 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 서술한다. 특정 예시는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)과 함께 폴리에틸렌 글라이콜(PEG), 하이드록시에틸 셀룰로오스(HEC), 및 폴록사머 407과 같은 제2 폴리머의 특정 혼합물을 사용하는 특정 박테리아에 대한 항균 활성을 서술한다. 비록 제2 폴리머 단독이 유의미한 항

균 활성을 가지는 것으로 알려져 있지 않았음에도 불구하고, 데이터는 혼합물에서, 제2 중합체의 첨가가 인비트로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 항균 활성을 유지시켰고, 일부 경우에, 인비보 전체 항균성 성능을 개선시켰다는 것을 나타내었다. 그러나, 미국 특허 제9,446,090호는 인비보 다른 약학적으로-허용가능한 폴리머와 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 이들 혼합물의 사용으로 인해 발생할 수 있는 독성의 증거를 제공하지 않는다. 추가적으로, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 단독과 비교하여, 제2 중합체가 혼합물의 독성을 증가시킬 수 있는 가능성을 열어 둔다.

[0007] 미국 특허 제9,017,730호 및 제9,446,090호는 당업계에서 상당한 진보를 서술하지만, 특히 인비보 높은 효능 및 높은 안전성을 모두 가지는 국소적으로 적용된 양이온성 항균제의 약 학적으로 허용가능한 제제를 개발하는 것과 관련하여 많은 도전이 남아있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명자들은 국소 조직 독성의 낮은 위험 및/또는 전신/원격 장기 독성의 낮은 위험을 가진 항균 효과를 제공하는 용량의 인비보 국소 적용을 허용하는 양이온성 항균성 약학 조성물 및 사용의 방법을 개발하였다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 개발에서, 본 발명자들은 인비보 양이온성 항균제의 국소 적용 후 독성의 위험이 그들이 조직 부위에 풍부하게 적용될 때, 또는 건강하고 온전한 피부 이외의 병리생리학적 설정에서 특히 관련 있음을 발견하였다. 그러한 부위 및 병리생리학적 설정은 개방 상처, 신체 동공, 신체 오리피스, 질병에 걸린 피부 등을 포함할 수 있다.

[0010] 이들 조직 부위 및 병리생리학적 설정은 건강하고 온전한 피부와 비교하여, 국소적으로 적용된 항균제 또는 부형제의 보다 높은 국소 감수성 및/또는 버디 높은 흡수 및 전신 분포를 입증할 수 있다. 보다 큰 국소 조직 독성 및 보다 큰 전신/원격 장기 독성은 뒤따를 수 있다.

[0011] 추가적으로, 본 발명자들은 본 발명의 개발을 안내하는데 도움이 되는 일련의 발견을 하였다. 먼저, 본 발명자들은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 분자 설계의 변화가 인비보 항균 효능 및 독성에 다른 영향을 미칠 수 있음을 발견하였고; 둘째, 본 발명자들은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 제형의 변화가 인비보 항균 효능 및 독성에 다른 영향을 미칠 수 있음을 발견하였으며; 셋째, 본 발명자들은 합성 양이온성 폴리펩타이드 제제의 멸균이 분자 무결성 및 생물물리학적 특성에 악영향을 미쳐서, 항균 효과, 독성 또는 모두에 영향을 미칠 수 있음을 발견하였다. 따라서, 본 발명자들은 현재 솔루션이 개발된 문제의 조합을 발견하였다.

[0012] 다양한 구현예에서, 약학 조성물 및 사용의 방법은 다양한 조직 부위로 및/또는 국소 및/또는 전신 독성의 낮은 위험을 가진 다양한 병리생리학적 설정에서 유효한 용량의 항균성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 국소 적용을 허용하는 것이 제공된다. 본 발명의 범위를 제한하지 않으면서, 다양한 구현예에서, 이는 하기와 같이, (A), (B) 및 (C) 중 하나 이상에 의해 달성된다:

[0013] (A) 물에서 증가된 점도를 촉진시키기 위한, 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들), 특히 소수성 함량 및 서열 배열의 설계. 예상외로, 이러한 설계 특징은 인비보 안전성을 향상시키는 것으로 밝혀졌다.

[0014] (B) 그들이 점도-향상 특성을 나타내도록 허용하는 방식으로, 약학 조성물 내로 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 제형화. 본 발명의 범위를 제한하지 않으면서, 이러한 접근은 조직 커버리지를 향상시키는/향상시키거나 보유 시간을 개선시키는 효과를 가지는 것으로 여겨지고, 적용된 용량에 대한 보다 큰 효과를 산출한다. 또한, 제형에서 그러한 향상은 예상외로 안전성을 향상시키는 것으로 밝혀졌다. 본 발명의 범위를 제한하지 않으면서, 부형제는 염화나트륨 및 염화칼륨과 같은 염, 덱스트로오스, 만니톨, 글리세롤, 자일리톨 및 소르비톨과 같은 당 및 당 알코올, 계면 활성제, 및 그 조합을 포함할 수 있다.

[0015] (C) 멸균된 약학 조성물이 멸균되지 않은 약학 조성물의 점도와 비교가능한 점도를 나타내도록 허용하는 방식으로, 약학 조성물의 멸균. 본 발명의 범위를 제한하지 않으면서, 이러한 접근은 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 효과에 저항성을 보일 수 있는 특정 생물 유기체(예컨대, 곰팡이 피부사상균)에 의한 생성물 오염의 위험을 감소시키는 것과 마찬가지로, 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 분자 설계 및 기능을 보호하는 효과를 가지는 것으로 여겨진다.

[0016] 일 구현예는 수용성 담체; 및 상기 수용성 담체에 분산된 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 항균성 약학 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.01 중량% 내지 약 5 중량% 범위의 농도로 포함하는 항균성 약학 조성물을 제공한다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 중성 pH에서 복수의 양으로 하전된 아미노산 단위를 포함한다. 일 구현예에서, 탈이온수 내 2 중량%의 농도로 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 37℃에서 2 센티스토크(cSt) 이상의 점도를 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체는 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 대신에 알부민을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체의 것에 비해 큰 37℃에서 점도를 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체는 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 대신에 알부민을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체의 것에 비해 적어도 약 20 % 큰 37℃에서 점도를 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체는 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 대신에 알부민을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체의 것에 비해 적어도 약 50 % 큰 37℃에서 점도를 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체는 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 대신에 알부민을 2 중량%로 함유하는 수용성 담체의 것에 비해 적어도 약 100 % 큰 37℃에서 점도를 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 72 시간에서 마우스 생존율이 50 % 이상으로 측정되는 바와 같이, 10 mL/kg의 용량으로 복수의 건강한 영 어덜트 마우스의 복막강 내로 주입된 후 낮은 독성을 가진다.

[0017] 다른 구현예는 미생물 오염의 위험이 있는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직 부위를 가지는 포유류 개체를 식별하는 단계; 및 상기 조직 부위가 미생물로 오염되는 것을 적어도 부분적으로 보호하기에 효과적인 양으로 상기 부위에 본원에서 서술된 바와 같은 항균성 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직의 미생물 오염을 예방하는 방법을 제공한다.

[0018] 다른 구현예는 미생물 부하를 가지는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직 부위를 가지는 포유류 개체를 식별하는 단계; 및 상기 미생물 부하를 적어도 부분적으로 감소시키기에 효과적인 양으로 상기 조직 부위에 본원에 서술된 바와 같은 항균성 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직에서 또는 상에 미생물 부하를 감소시키는 방법을 제공한다.

[0019] 이들 및 다른 구현예는 하기에 보다 상세하게 서술된다.

도면의 간단한 설명

[0020] **도 1.** 다양한 아미노산 서열 배열을 가진 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 개략도. 특정 배열은 블록 또는 세그먼트로 언급될 수 있다.

도 2. 양이온성 세그먼트 길이(아미노산 단위의 수)에 기반하여 3개 군으로 분류된 합성 양이온성 폴리펩타이드(들).

도 3. 군 (Ⅰ) 긴 양이온성 세그먼트(≥ 200 단위) 폴리펩타이드(들), (Ⅱ) 중간 양이온 성 세그먼트(100 내지 199 단위) 폴리펩타이드(들), 및 (Ⅲ) 짧은 양이온성 세그먼트(10-99 단위)로 분류된 합성 양이온성 폴리펩타이드(들). 양이온성 세그먼트는 복수의 양이온성 아미노산 단위를 함유하지만, 전체적으로 양이온성 아미노산 단위로 구성될 필요는 없다. 소수성 세그먼트는 복수의 소수성 아미노산 단위를 함유하지만, 전체적으로 소수성 아미노산 단위로 구성될 필요는 없다.

도 4. 라이신 및 순수거울상 이성질체 L-류신 아미노산 단위에 기반한 양이온-소수성 블록 서열 배열을 가진 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들). 폴리펩타이드 제제의 평균 전체 사슬 길이는 대략 160개 아미노산 단위이다. 라이신 대 류신 비, 또는 K:L 비는 3.2 인 것으로 밝혀졌다. 합성 양이온성 폴리펩타이드는 KL-160/3.2로 표기된다. 사이즈-배제 크로마토그래피로 분석은 2번 주입을 기반으로 2개 겹치는 곡선을 표시한다. 분산도(D) = 중량-평균 몰질량(Mw) / 수-평균 몰 질량(Mn).

도 5. 라이신-순수거울상 이성질체 류신 블록 구조 및 3.2인 K:L 비를 가진 대략 160개의 전체 사슬 길이를 가진 예시적인 군 2(중간 양이온성 세그먼트) 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 항균성 분석. 합성 양이온성 폴리펩타이드는 KL-160/3.2로 표기된다. 60분 인비트로 타임-킬 어세이는 1.6 μg/mL 내지 100 μg/mL의 상이한 샘플 농도(Lot BAC003)에서 *S. aureus*(ATCC 6538), *P. aeruginosa*(ATCC 27853), 및 *C. albicans*(ATCC 24433)에 대한 살균 활성(log CFU 감소)를 결정하기 위해 사용되었다.

도 6. 다양한 미생물에 대한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-160/3.2를 가진 다중 항균성 시간-킬 어세이의

요약. 60분 타임-킬 어세이는 100 ㎍/mL의 합성 양이온성 폴리펩타이드 농도(Lot BAC003)로 수행하였다. 용어 "100 %" CFU 감소는 미생물이 검출되지 않았음을 나타낸다. MDR = 다제-내성; ESBL = 연장된 스펙트럼 β-락타마아제; PC =/ 폐렴 카르 바페네마아제. **볼드체** = 질병 통제 센터(CDC) "가장 큰 위협"; "임상 분리물, R.M. Alden Research Laboratory.

도 7. 라이신 및 라세믹 D,L-류신 아미노산 단위에 기반하여 양이온성-소수성 블록 서열 배열을 가진 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들). 폴리펩타이드 제제의 평균 전체 사슬 길이는 대략 100 개의 아미노산 단위이다. 라이신 대 류신 비, 또는 K:L 비는 5.7인 것으로 밝혀졌다. 합성 양이온성 폴리펩타이드는 KrL-100/5.7로 표기된다. 사이즈-배제 크로마토그래피로 분석은 2번 주입을 기반으로 2개 겹치는 곡선을 표시한다. 분산도(D) = 중량-평균 몰질량(Mw) / 수-평균 몰 질량(Mn).

도 8. 라이신-라세믹 류신 블록 구조 및 5.7인 K:(rac-L) 비를 가진 대략 100개의 전체 사슬 길이를 가진 예시적인 군 3(짧은 양이온성 세그먼트) 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 항균성 분석. 합성 양이온성 폴리펩타이드는 KrL-100/5.7로 표기된다. 60분 인비트로 타임-킬 어세이는 1.6 ㎍/mL 내지 100 ㎍/mL의 상이한 샘플 농도(Lot BAC002)에서 주요 병원균에 대한 살균 활성(log CFU 감소)를 결정하기 위해 사용되었다.

도 9. 다양한 미생물에 대한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-100/5.7를 가진 다중 항균성 시간-킬 어세이의 요약. 60분 타임-킬 어세이는 100 ㎍/mL의 합성 양이온성 폴리펩타이드 농도(Lot BAC002)로 수행하였다. 용어 "100 %" CFU 감소는 미생물이 관찰되지 않았음을 나타낸다. MDR = 다제-내성; ESBL = 연장된 스펙트럼 β-락타마아제; PC =/ 폐렴 카르 바페네마아제. **볼드체** = 질병 통제 센터(CDC) "가장 큰 위협"; "임상 분리물, R.M. Alden Research Laboratory.

도 10. 블록 서열 배열을 가진 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 다량체 구조 내로 자기-조립하기 위해 설계 및 제형화될 수 있다. 2개 실시예가 여기 도시된다: KL-160/3.2는 피브릴 구조 내로 자기-조립하고 배리어 하이드로겔을 형성하기 위해 설계되었고, KrL-100/5.7은 미셀 구조 내로 자기-조립하고 계면활성제 특성을 가지기 위해 설계되었다.

도 11. 파이렌 형광법에 의해 측정된 바와 같이, 다양한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 임계 응집 농도(CAC)

도 12. 표면 장력 방법에 의해 측정된 바와 같은, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-100/5.7(Lot BAC002)의 임계 응집 농도(CAC). 회색은 농도에 대한 표면 장력을 도시하고; 검은색은 2개 세트의 값에 가장 적합한 선을 도시한다. CAC는 ~100 ㎍/mL로 여기에 보여진, 2 개의 최적선의 교차점에 의해 본 어세이에서 결정된다.

도 13A-B. (a) 1 중량%로 물 내 다양한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 37℃의 온도에서 유리 모세관 점도계(우벨로데 점도계)를 사용하여 측정된 동점도. (b) KrL-100/5.7(lot BAC002) vs 소 혈청 알부민의 동점도; 물은 참조로서 제공된다. 데이터는 이들 농도에서 알부민이 수용성 제제의 점도에 거의 영향을 미치지 않음을 나타낸다.

도 14. 0.5 중량%로 물 내 라이신-L-류신 블록 서열 배열(KL)을 가진 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 37℃의 온도에서 유리 모세관 점도계(우벨로데 점도계)를 사용하여 측정된 동점도.

도 15. 1 중량% 및 2 중량%로 물 내 라이신-L-류신(KL) 및 라이신-D,L-류신(KrL) 블록 서열 배열을 가진 다양한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 40℃의 온도에서 유리 모세관 점도계(우벨로데 점도계)를 사용하여 측정된 동점도.

도 16. 전단력 증가에 대해 평가된 물 내 1.5 중량%, 2.0 중량% 및 3.0 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5의 동점도. 상온에서 사이즈 14 스핀들 및 사이즈 6R 챔버를 가진 Brookfield RVDV(EQ-AL-2014-16) 회전 점도계를 사용하여 2분에 걸쳐 측정된다.

도 17A-D. 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5는 물 내 점성 용액 및 하이드로겔을 형성한다. KL-120/2.5는 0.5 중량%, 1.0 중량%, 1.5 중량%, 2.0 중량% 및 3.0 중량%의 농도로 DI 물 내 준비되었고, 틸트 튜브 어세이에 의한 겔 형성, 조직 분석에 의한 견고성, 및 전도에 대해 평가되었다. (a) 틸트 튜브 어세이에 의한 시각적 겔화 연구, (b) 조직 분석에 의해 측정된 바와 같은 물 내 농도-의존적 견고성. 견고성 값은 8mm의 프로브 깊이에서 가져왔다. 삽입 그림은 인공 피부 기질(VTTRO-SKIN; IMS Inc.)에 적용된 물 내 2 중량%의 KL-120/2.5를 도시한다. (c) 0.5 중량% 및 1.0 중량%에 대한 점도계로부터 데이터, 조직 분석으로부터 및 보다 높은 농도에 대한 틸트 튜브 어세이로부터 데이터에 기반하여; KL-120/2.5의 농도가 증가함에 따라 물리적 특성의

변화를 나타내는 그래픽 표현(흰색 = 유체; 검은색 = 견고한 겔). (d) 물 내 1.5 중량%로 KL-120/2.5는 2개 상이한 스테인레스 스틸 구체(BBs)에 의한 침투에 저항한다.

도 18. 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 그들을 함유하는 항균성 약학 조성물의 제제에 사용될 수 있는 약학적으로 허용가능한 비-이온성 부형제(첨가제)의 부분 목록.

도 19. 전단력 증가에 대해 평가된, 물, 4.5 % 수용성 만니톨, 2.33 % 수용성 글리세롤, 또는 2.8 % 수용성 히스티딘 내 2.0 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5(BAC004)의 동점도. 상온에서 사이즈 14 스핀들 및 사이즈 6R 챔버를 가진 Brookfield RVDV(EQ-AL-2014-16) 회전 점도계를 사용하여 2분에 걸쳐 측정된다.

도 20. 물, 0.9 % 식염수, 또는 4.4 % 수용성 자일리톨 내 1 중량%로 물 에서 준비된 라이신 -L-류신(KL) 및 라이신-D,L-류신(KrL) 블록 서열 배열을 가진 2 개 예시적인 합성 양이온 성 폴리펩타이드(들)의 동점도. 40℃의 온도에서 유리 모세관 점도계(우벨로데 점도계)를 사용하여 측정된다.

도 21. 전단력 증가에 대해 평가된, 4.5 % 만니톨 및 물 내 2.0 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5(BAC004)의 동점도. 상온에서 사이즈 14 스핀들 및 사이즈 6R 챔버를 가진 Brookfield RVDV(EQ-AL-2014-16) 회전 점도계를 사용하여 2분에 걸쳐 측정된다.

도 22. 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KRL-120/5.0 제제는 2개 다른 양이온성 항균제, 클로르헥시딘 글루코네이트(CHG) 및 폴리헥사메틸렌 비구아나이드(PHMB)와 비교하여, 표면 장력을 감소시키는 것으로 보여진다. 샘플은 0.1 mM에서 제조되었고, 상온에서 500 g 로드 셀, 5 cm 직경 Du Nouy 링 및 0.2 mm/s의 프로브 속도를 가진 TA.XT2 조직 분석기를 사용하여 평가하였다.

도 23. 물 내 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 다양한 제제의 표면 장력. 샘플은 0.1 mM에서 제조되었고, 상온에서 500 g 로드 셀, 5 cm 직경 Du Nouy 링 및 0.2 mm/s의 프로브 속도를 가진 TA.XT2 조직 분석기를 사용하여 평가하였다.

도 24A-B. KrL-100/5.7의 계면활성제 특성. (a) 물과 비교하여, Du Nouy 링이 장착된 인장계를 통한 수용성 KrL-100/5.7 (Lot BAC002) 10 mg/mL(1 중량%)의 표면 장력. (b) 10 분에 걸쳐 n-헥산을 가진 물 내 1 중량%로 KrL-100/5.7의 계면 장력.

도 25. 표면 장력: 첨가제로서 아세트산의 효과. 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-130/3.3(Lot 77) 및 KL-130/3.3(Lot 72)은 물 또는 0.25 % 또는 1.0 % 아세트산을 가진 물에서 준비될 때 표면 장력을 낮춘다. 아세트산의 첨가제는 첨가제 효과를 가진다.

도 26. 계면 장력: 첨가제로서 아세트산의 효과. 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-130/3.3(Lot 77) 및 KL-130/3.3(Lot 72)은 물 또는 0.25 % 또는 1.0 % 아세트산을 가진 물에서 준비될 때 계면 장력을 낮춘다. 아세트산의 첨가제는 첨가제 효과를 가진다.

도 27A-B. 유화 특성. 물 내 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-100/5.0 및 KrL-160/3.2는 소이빈 오일과 혼합될 때 안정한 에멀젼을 형성한다. (a) 에멀젼/액체 계면을 입증하는 어세이의 사진(흰색 화살표); (b) 에멀젼 지수(E24; 24 시간에서 % 에멀젼).

도 28. 물, 식염수, 및 자일리톨 내 유화 특성. 물, 식염수(0.9 %), 또는 자일리톨(4.4 %)에서 준비된 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL- 110/4.0(Lot D-301-37-05) 및 KL-100/5.7(Lot D-301-67-03)는 소이빈 오일과 혼합될 때 안정한 에멀젼을 형성한다.

도 29. 토끼 피부 자극 모델 결과의 평가. 다양한 제형 및 농도의 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-140/2.5 또는 KrL-120/5.0을 적용한 후 온전하고 각질제거된(abraded) 피부에 대한 무시할만한 반응이 관찰되었다. 각각 토끼(뉴질랜드 화이트, 시험 물품 당 N = 3)는 총 8 개의 부위를 가졌다: 2개 온전한 대조군, 2개 온전한 시험 물품, 2개 부위 각질제거된(abraded) 대조군, 및 2개 부위 각질제거된(abraded) 시험 항목. 각각 부위는 대략 2.5 x 2.5cm이고, 24 시간 동안 0.5mL 시험 물품을 받았다. 부위는 홍반, 부종 및 피하 형성에 대해 1 시간, 24 시간, 48 시간 및 72 시간에 스코어링되었다.

도 30. 기니피그 피부 감작 결과의 평가. 물 내 1 중량%로 KL-140/2.5(lot 73) 또는 KrL-120/5.0(lot 93)의 적용 후 눈에 띄는 변화가 관찰되지 않았다. 하틀리 알비노 기니피그(시험 군의 경우 n = 11, 양성 대조군의 경우 n = 6, 음성 대조군의 경우 n = 6)는 3 주 동안 주 당 연속 3 일 동안 6 시간 0.3mL의 시험 물품에 노출되었다.

챌린지 노출은 마지막 유도 노출 후 14 +/- 1 일에 수행되었다. 용량 부위는 챌린지 패치를 제거한 후 24 및 48 시간에 스코어링되었다.

도 31. 래트 경구 독성 결과의 평가. 경구 위관 영양에 의해 0.625 mg/kg 내지 160 mg/kg 범위의 용량으로 래트에 물 내 KL-140/2.5 또는 물 내 KrL-120/5.0을 투여한 후 어떠한 이상도 관찰되지 않았다. 2mL은 수컷 젊은 스프래그 다울리 래트 당 투여되었다(군 당 N = 5). 임상 관찰은 3 일 동안 수행되었다.

도 32. 복강 내 투여 후 마우스 전신 독성의 평가. CD-1 마우스는 40 mL/kg의 물 또는 2 중량%로 물에 희석된 시험 물품 K-100, KL-140/2.5-RAN, 또는 KrL-120/5.0의 복강 내 주사를 받았다. 동물 당 최종 용량은 800 mg/kg이었다. 군 당 N=5 CD-1 마우스. 임상 관찰은 3 일 동안 수행되었다.

도 33. 복강 내 투여 후 마우스 전신 독성의 평가. CD-1 마우스는 40mL/kg의 식염수 또는 다양한 농도로 물에 희석된 KrL-130 / 3.3의 복강 내 주사를 받았다. 동물 당 최종 용량은 12.5 mg/kg 내지 800 mg/kg 범위였다. 군 당 N=5 CD-1 마우스. 임상 관찰은 3 일 동안 수행되었다.

도 34. 복강 내 투여 후 마우스 전신 독성의 평가. CD-1 마우스는 40 mL/kg의 물 또는 다양한 농도로 물에 희석된 KrL-120/5.0 Lot 93 또는 Lot 94의 복강 내 주사를 받았다. 동물 당 최종 용량은 50 mg/kg 내지 800 mg/kg 범위였다. 군 당 N=5 CD-1 마우스. 임상 관찰은 3 일 동안 수행되었다.

도 35. 복강 내 투여 후 마우스 전신 독성의 평가. CD-1 마우스는 40 mL/kg의 물 또는 다양한 농도로 물에 희석된 KL-170/3.3 또는 KL-140/2.5의 복강 내 주사를 받았다. 동물 당 최종 용량은 6.25 mg/kg 내지 400 mg/kg 범위였다. 군 당 N=5 CD-1 마우스. 임상 관찰은 3 일 동안 수행되었다.

도 36. 복강 내 투여 후 마우스 전신 독성의 평가. CD-1 마우스는 40 mL/kg의 물 또는 다양한 제형 및 농도로 KL-140/2.5의 복강 내 주사를 받았다. 동물 당 최종 용량은 1.25 mg/kg 내지 400 mg/kg 범위였다. 군 당 N=5 CD-1 마우스. 임상 관찰은 3 일 동안 수행되었다.

도 37. 복강 내 투여 후 마우스 전신 독성의 평가. CD-1 마우스는 40 mL/kg의 물 또는 다양한 제형 및 다중 농도로 KrL-120/5.0의 복강 내 주사를 받았다. 동물 당 최종 용량은 50 mg/kg 내지 800 mg/kg 범위였다. 군 당 N=5 CD-1 마우스. 임상 관찰은 3 일 동안 수행되었다.

도 38. 사전-감마 멸균 및 사후-감마 멸균 25-40 kGy의 용량을 가진 KL-140/2.5(lot 73)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 감마 조사 후 분자 구조의 붕괴를 나타낸다.

도 39. 사전-감마 멸균 및 사후-감마 멸균 25-40 kGy의 용량을 가진 KL-120/5.0(lot 94)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 감마 조사 후 분자 구조의 붕괴를 나타낸다.

도 40. 사전-E-빔 멸균 및 사후-E-빔 멸균 25 kGy의 용량을 가진 KL-160/3.2(lot BAC003)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 E-빔 멸균 후 분자 구조의 붕괴를 나타낸다.

도 41. 사전-감마 멸균 및 사후-감마 멸균 25-40 kGy의 용량을 가진 2개 KL-140/2.5 lots(73 및 95)의 조직 분석. 0.5 mm/s 프로브 속도를 가진 TA.XT2 조직 분석기를 사용하여 측정된다. 데이터는 감마 조사 후 이들 조성물의 대부분의 견고성이 감소함을 나타낸다.

도 42. 사전-오토클레이브 멸균 및 사후-오토클레이브 멸균 물에서 준비된 KL-140/2.5(lot 73)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 오토클레이브 멸균 후 분자 구조의 유지를 나타낸다.

도 43. 사전-오토클레이브 멸균 및 사후-오토클레이브 멸균 물에서 준비된 KL-120/5.0(lot 94)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 오토클레이브 멸균 후 분자 구조의 유지를 나타낸다.

도 44. 사전-오토클레이브 멸균 및 사후-오토클레이브 멸균 물에서 2 중량%로 준비된 KL-160/3.2(lot BAC003)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 오토클레이브 멸균 후 분자 구조의 유지를 나타낸다.

도 45. 사전-멸균, 사후-오토클레이브 멸균, 및 사후-여과 멸균 2 % 프로필렌 글라이콜을 가진 물에서 2 중량%로 준비된 KL-160/3.2(lot BAC003)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 오토클레이브 멸균 및 필터 멸균 후 분자 구조의 유지를 나타낸다.

도 46. 사전-멸균, 사후-오토클레이브 멸균, 및 사후-여과 멸균 2.33 % 글리세롤을 가진 물에서 2 중량%로 준비된 KL-160/3.2(lot BAC003)의 SEC 크로마토그램. 데이터는 오토클레이브 멸균 및 필터 멸균 후 분자 구조의 유지를 나타낸다.

도 47. 사전- 및 사후-필터 멸균 2.1 % 프로필렌 글라이콜을 가진 물 내 2.0 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5 (lot BAC004)의 동점도. 상온에서 사이즈 21 스핀들 및 사이즈 13R 챔버를 가진 Brookfield RVDV(EQ-AL-2014-16) 회전 점도계를 사용하여 2분에 걸쳐 측정된다.

도 48. 사전- 및 사후-오토클레이브 멸균 물 내 2.0 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-160/3.2(lot BAC003)의 동점도. Brookfield RVDV(EQ-AL-2014-16) 회전 점도계를 사용하여 2분에 걸쳐 측정된다.

도 49. 사전- 및 사후-오토클레이브 멸균 2.33 % 글리세롤을 가진 물 내 2.0 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-160/3.2(lot BAC003)의 동점도. Brookfield RVDV(EQ-AL-2014-16) 회전 점도계를 사용하여 2분에 걸쳐 측정된다.

도 50. 사전-오토클레이브 멸균 및 사후-오토클레이브 멸균 1 % 하이드록시에틸 셀룰로오스(HEC)를 가진 및 가지지 않은 물 내 1 및 2 중량%로 2개 lot의 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-140/2.5(98 및 99)의 조직 분석. 2 mm/s의 프로브 속도로 TA.XT2 조직 분석기를 사용하여 측정된다. 데이터는 오토클레이빙 후 견고성의 유리한 특성의 유지를 나타낸다. 견고성의 일부 전반적인 감소는 보다 높은 농도 제제 및 HEC로 제형화된 제제에서 관찰된다.

도 51. 사전-오토클레이브 멸균 및 사후-오토클레이브 멸균 1 중량% 하이드록시프로필 셀룰로오스(HPC), 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스(HPMC), 또는 메틸셀룰로오스(MC)를 가진 물 내 1 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-140/2.5(lot 99)의 조직 분석. 2 mm/s의 프로브 속도로 TA.XT2 조직 분석기를 사용하여 측정된다.

도 52. 사전- 및 사후-오토클레이브 멸균 물 내 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-120/5.0(lot 94)의 제제에 의한 표면 장력의 감소. 샘플은 0.1 mM에서 제조되었고, 상온에서 500 g 로드 셀, 5 cm 직경 Du Nouy 링 및 0.2 mm/s의 프로브 속도를 가진 TA.XT2 조직 분석기를 사용하여 평가하였다.

도 53. 상처 분류의 그래픽 도식.

도 54A-B. 엑스 비보 돼지 피부 모델에서의 사전-미생물 접종 처리의 결과. KL-120/2.5(lot BAC003) 및 KL-160/3.2(lot BAC004)의 제제의 항균 배리어 특성은 엑스 비보 돼지 피부 상에 입증된다. 데이터는 물로 30 분 동안 전처리되거나(대조군; N=8), (a) 0.5-2.0 중량% KL-120/2.5(N=8) 또는 (b) 0.5-2.0 중량% KL-160/3.2(N=8)로 전처리된 피부 외식편의 접종 3시간 후에 *P. aeruginosa*의 생존의 log CFU를 보인다. "경사지지 않은" 군에서, 외식편은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 제제로 전처리를 통해 수평으로 유지되었고; "경사진" 군에서, 외식편은 접종 전에 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 제제 코팅의 유출을 촉진시키기 위해 15 분 동안 수직 위치로 90° 경사졌다. * 미생물은 관찰되지 않았다. 오류 막대는 SEM을 도시한다.

도 55A-B. 돼지 오픈 상처 모델에서 사전-미생물 접종 처리의 결과. 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-160/3.2(lot BAC003)의 제제는 돼지 모델에서 미생물 오염을 예방한다(N=5 상처; "N.I."에 대해서 4). a) *S. epidermidis* b) *P. aeruginosa*. N.I. = 접종 없음. 완전-두께 상처는 *S. epidermidis* 및 *P. aeruginosa*의 혼합 배양물로 접종하기 15 분 전에 도시된 농도에서 1.0 mL의 KL-160/3.2로 또는 물로 전처리되었다. 선택적인 *S. epidermidis* 및 *P. aeruginosa* 수와 마찬가지로, 총 미생물 수는 접종 4시간 후에 평가되었다. 모든 경우에, 대조군 및 KL-160/3.2 간의 차이는 $p<0.01$에서 유의미하였다. * 미생물은 관찰되지 않았다.

도 56A-B. 돼지 오픈 상처 모델에서 사전-미생물 접종 처리의 결과. KL-160/3.2(lot BAC003)는 돼지 모델에서 미생물 오염을 예방한다(군 당 N=4 상처). a) *S. epidermidis* b) *P. aeruginosa*. N.I. = 접종 없음. 완전-두께 상처는 *S. epidermidis* 및 *P. aeruginosa*의 혼합 배양물로 접종하기 24 시간, 4 시간, 또는 1 시간 전에 도시된 농도에서 1.0 mL의 KL-160/3.2로 또는 물로 전처리되었다. 선택적인 *S. epidermidis* 및 *P. aeruginosa* 수와 마찬가지로, 총 미생물 수는 접종 4시간 후에 평가되었다.

도 57A-B. 수술용 메쉬를 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 사전-미생물 접종 처리의 결과. KL-160/3.2(lot BAC003)(물 내 1 중량%)는 이물질을 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 (a) MRSA(ATCC 33593) 및 (b) *P. aeruginosa*(ATCC 27317)에 대한 활성을 보인다(KL-160/3.2 N=6; 대조군 N=8; 스프래그-다우리 래트). Log CFU는 생검 샘플에 대한 그램 조직 당 및 이식된 폴리프로필렌 메쉬 당 보였다. KL-160/3.2 제제는 미생물 접종 15 분 전에 적용되었고; 미생물 부하는 48 시간 후에 평가되었다. 모든 미생물에 대한 대조군 및 KL-160/3.2 간의 차이는 $p<0.0001$에서 유의미하였다. * 미생물은 관찰되지 않았다.

도 58. 항-바이오필름 활성. 합성 양이온성 폴리펩타이드 KrL-100/5.7(lot BAC002)의 최소 바이오필름 제거 농도(MBEC) 어세이. 바이오필름에서 *P. aeruginosa*(ATCC BAA-47)에 대한 활성. *P. aeruginosa* 바이오필름은 20분

또는 3시간 동안 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) (물 내 0.001 %, 0.01 %, 0.1 % 및 1.0 %)의 상이한 농도로 노출시켰고, 샘플은 콜로니 형성 단위(CFU)의 측정을 위해 처리되었다. * 미생물은 관찰되지 않았다.

도 59. 항-바이오필름 활성. 합성 양이온성 폴리펩타이드 KrL-100/5.7(lot BAC002) 및 KL-100/5.7(Lot D-301-67-03)의 제제의 최소 바이오필름 제거 농도(MBEC) 어세이. 바이오필름에서 *P. aeruginosa*(ATCC BAA-47)에 대한 활성. *P. aeruginosa* 바이오필름은 3시간 동안 물 내 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)(0.01 %, 0.1 % 및 1.0 %)의 상이한 농도로 노출시켰고, 샘플은 콜로니 형성 단위(CFU)의 측정을 위해 처리되었다.

도 60. 수술용 메쉬를 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 사후-미생물 접종 처리의 결과. 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-100/5.7(lot BAC002)의 제제는 이물질을 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 MRSA(ATCC 33593)에 대한 활성을 보인다(KL-100/5.7 N=6; 대조군 N=8; 스프래그-다우리 래트). Log CFU는 생검 샘플에 대한 그램 조직 당 및 이식된 폴리프로필렌 메쉬 당 보였다. KL-100/5.7 제제(0.01 %, 0.1 % 및 1.0 %)는 미생물 접종 15 분 후에 적용되었고; 미생물 부하는 48 시간 후에 평가되었다. 데이터는 평균 + SEM으로서 제시된다. * 미생물은 관찰되지 않았다.

도 61A-B. 수술용 메쉬를 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 사후-미생물 접종 처리의 결과, (a) 조직 생검 및 MRSA 접종을 가진 메쉬의 조직병리학. 샘플은 조직학을 위해 처리되었고, H&E로 염색되었다. (b) 염증 스코어는 숙련된 수의 병리학자에 의한 현미경 분석에 의해 결정되었다.

도 62. 수술용 메쉬를 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 사후-미생물 접종 처리의 결과. 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-100/5.7(lot BAC002)의 제제는 이물질을 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 *P. aeruginosa*(ATCC 27317)에 대한 활성을 보인다(KL-100/5.7 N=6; 대조군 N=8; 스프래그-다우리 래트). Log CFU는 생검 샘플에 대한 그램 조직 당 및 이식된 폴리프로필렌 메쉬 당 보였다. KL-100/5.7 제제(0.01 %, 0.1 % 및 1.0 %)는 미생물 접종 15 분 후에 적용되었고; 미생물 부하는 48 시간 후에 평가되었다. 데이터는 평균 + SEM으로서 제시된다. * 미생물은 관찰되지 않았다.

도 63A-B. 수술용 메쉬를 가진 설치류 폐쇄 상처 모델에서 사후-미생물 접종 처리의 결과. (a) *P. aeruginosa* 접종을 가진 조직 생검 및 메쉬의 조직병리학. 샘플은 조직학을 위해 처리되었고, H&E로 염색되었다. (b) 염증 스코어는 숙련된 수의 병리학자에 의한 현미경 분석에 의해 결정되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 정의

[0022] 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드를 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항균성"은 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, 및 *E. coli*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 박테리아에 대한 60분 타임-킬 어세이에 의해 결정되는 바와 같은 항균 활성을 나타내는 폴리펩타이드를 포함한다.

[0023] 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드를 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "폴리펩타이드"는 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 2개 이상 아미노산 반복 단위(또한 아미노산 잔기, 또는 보다 단순한 단위 또는 잔기로서 언급되는)를 포함하는 폴리머를 포함한다. 코폴리펩타이드는 2개 이상 상이한 아미노산 반복 단위를 포함하는 폴리펩타이드의 타입이다. 폴리머의 분자량은 분자량 기준을 가진 사이즈 배제 크로마토그래피(SEC) 또는 광 산란 검출을 사용하여 결정되는 바와 같은 중량 평균이다.

[0024] 용어 "블록" 또는 "블록성" 코폴리펩타이드는 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 코폴리펩타이드의 전체 조성물과 비교하여 코폴리펩타이드가 하나 이상의 아미노산 단위에 상대적으로 풍부한 길이로 적어도 10개 아미노산 단위인 세그먼트(“블록”) 또는 세그먼트를 포함하는 아미노산 단위의 서열 배열을 포함한다. 일반적으로, 합성 블록 코폴리펩타이드는 공중합 공정에 걸쳐 의도적인 조절을 반영하는 서열 배열을 가진다. 마찬가지로, 용어 "랜덤" 코폴리펩타이드는 당업자가 이해하는 바와 같은 일반적인 의미를 가지는바, 공중 혼합물 내 대응하는 아미노산 모노머의 농도를 반영하는 통계적인 분포인 아미노산 단위의 서열 배열을 포함한다.

[0025] 항균성 합성 양이온성 블록 코폴리펩타이드를 설명하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "소수성" 블록은 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 블록 또는 세그먼트가 복수의 소수성 아미노산 단위를 함유하는 서열 배열을 포함한다. 소수성 아미노산 단위의 예시는 당업자에게 공지되어 있고, 글라이신(G), 류신(L), 이소류신(I), 발린(V), 프롤린(P), 트립토판(W), 시스테인(C), 메티오닌(M), 페닐알라닌(F) 및 알라닌

(A)을 포함한다. 마찬가지로, 용어 "친수성" 블록은 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 블록 또는 세그먼트가 복수의 친수성 아미노산 단위를 함유하는 서열 배열을 포함한다. 친수성 아미노산 단위의 예시는 당업자에게 공지되어 있고, 양으로 하전된 아미노산 라이신(K), 아르기닌(R), 히스티딘(H) 및 오르니틴(O) 뿐만 아니라, 세린(S), 트레오닌(T), 아스파르트산(D) 및 글루탐산(E)을 포함한다.

[0026] 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드를 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "양으로 하전된" 및 "양이온"은 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 중성 pH에서 양으로 하전된 아미노산 단위 또는 폴리펩타이드를 포함한다. 중성 pH에서 양으로 하전된 아미노산 단위의 예시는 라이신, 아르기닌, 히스티딘 및 오르니틴을 포함하는바, 폴리펩타이드 내 양으로 하전된 단위의 하나 이상의 존재는 (임의의 음이온성 단위를 초과하는 양으로) 폴리펩타이드 양이온성을 만든다.

[0027] 멸균된 항균성 약학 조성물에서 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "멸균된"은 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 멸균 공정 또는 공정에 적용되는 조성물을 포함한다. 멸균된 조성물을 신체 오리피스(비강 내 투여와 같은)로 또는 수술 부위와 같은 개방 상처에 투여와 같은 개방 피부로 국소 투여를 위한 임상 적용가능한 멸균된 조성물을 만드는 정도로 조성물 내 알려진 병원균의 부재 또는 감소를 보장하는 효과를 가지는 멸균 공정 또는 공정들에 적용되는 조성물을 포함한다. 그러한 멸균 공정의 비 -제한적인 예시는 열 멸균(예컨대, 오토클레이빙), 멸균 여과, 조사 및/또는 에틸렌 옥사이드와 같은 화학 제제에 의한 처리를 포함한다.

[0028] 자기-조립 폴리펩타이드를 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "자기-조립"은 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 폴리펩타이드의 특정 세그먼트 또는 블록 사이에 분자간 끌어당기는 힘이 그들의 세그먼트 또는 블록을 서로 느슨하게 결합하도록 하는 배양액(약학적 조성물의 다른 성분과 같은)에 분산될 때, 폴리펩타이드의 구성을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 제9,017,730호에 언급된 바와 같이, 블록 양이온성 코폴리펩타이드의 자기-조립은 수용액에서 관찰되어, 소수성 도메인의 구성에 의존하는 다양한 계층 구조 및 중합체 사슬 사이의 끌어당기는 분자간 상호 작용에 대한 그들의 효과를 초래한다. 대조적으로, 미국 특허 제9,017,730호는 랜덤 코폴리펩타이드가 자기-조립을 나타내지 않았다는 것을 나타낸다. 당업자는 합성 양이온성 폴리펩타이드가 자기-조립인지 여부를 결정하기 위한 다양한 기술을 알고 있다(예컨대, 미국 특허 번호 9,017,730 참조). 희석된 용액에서 랜덤 배열을 나타내고 자기-조립을 나타내지 않는 달리 비교할만한 합성 양이온성 폴리펩타이드와 비교하여, 자기-조립 합성 양이온성 폴리펩타이드는 일반적으로 보다 높은 점도를 나타낸다.

[0029] 폴리펩타이드의 자기-조립을 촉진하는 분자 특징 또는 파라미터를 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "촉진하다" 및 "촉진하는"과 같은 것은 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 그러한 자기-조립을 허용 또는 향상시키는 것을 포함한다. 예를 들어, 미국 특허 제9,017,730호 및 제9,446,090호은 물내 코폴리펩타이드의 자기-조립을 촉진하기 위해 구성된 소수성 아미노산 단위 및 친수성 아미노산 단위의 다양한 서열 배열을 서술한다. 유사하게, 폴리펩타이드의 자기-조립을 촉진하는 멸균 상태를 생성하기 위해 구성된 멸균 기술은 수용성 담체 내에 분산된 그러한 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드의 조성물에 적용될 때 자기-조립을 허용하거나 자기-조립을 향상시키는 것이다. 마찬가지로, 폴리펩타이드의 자기-조립을 촉진하기 위해 선택된 수용성 담체의 조성물은 그러한 폴리펩타이드가 수용성 담체 내에 분산될 때 자기-조립을 허용하거나 자기-조립을 향상시키는 것이다.

[0030] 달리 비교할만한 랜덤 합성 양이온성 코폴리펩타이드와 비교하여 합성 양이온성 블록 코폴리펩타이드의 자기-조립을 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 “달리 비교할만한 랜덤 합성 양이온성 코폴리펩타이드”는 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 블록 보다 랜덤인 비교할만한 코폴리펩타이드에서 그들 아미노산 반복 단위의 서열 배열을 제외한, 자기-조립 합성 양이온성 블록 코폴리펩타이드와 동일한 소수성 및 친수성 아미노산 반복 단위의 대략 동일한 분자량 및 상대적인 수를 가지는 코폴리펩타이드를 포함한다. 예를 들어, 약 120개 단위의 평균 길이를 가진 친수성(양으로 하전된) 라이신 블록 및 약 30개 단위의 평균 길이를 가진 소수성 류신 블록을 가지는 자기-조립 블록 코폴리펩타이드와 관련하여, 달리 비교할만한 랜덤 합성 양이온성 코폴리펩타이드는 랜덤 코폴리펩타이드의 사슬을 따라 그들 단위의 서열 배열이 중합 혼합물에서 라이신 및 류신 모노머의 농도를 반영하는 통계적인 분포임을 제외하고, 코폴리펩타이드 사슬 당 약 120개 라이신 단위 및 약 30개 류신 단위의 평균을 함유하는 것이다.

[0031] 감염을 적어도 부분적으로 예방 및/또는 치료하기에 효과적인 충분한 양으로 포유류 신체 상에 부위에 멸균된 항균성 약학 조성물의 투여를 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 “풍부한” 및 “풍부”는 당

업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 원하는 예방 및/또는 치료 효과를 획득하기 위해 필요한 투여량 보다 적어도 10배 큰 코폴리펩타이드의 양의 투여를 포함한다. 전형적으로, 14.3 mg/kg을 나타내는 70 kg 사람에 대해 1 g 이상의 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 투여를 포함하는 항균성 약학 조성물의 총 치료 용량은 풍부한 투여로 간주된다. 당업자는 생물학적 활성 화합물이 그들이 투여되는 개체에서 심각한 부작용을 유발하지 않으면서 원하는 치료 반응이 달성되는 범위의 용량을 포함하는 "치료 창"에서 일반적으로 투여됨을 인식한다. 이러한 투여량 범위는 최소 유효 농도(MEC) 및 최소 독성 농도(MTC) 사이이고, 각각 생물학적 활성 화합물에 대해 사전에 전형적으로 결정되며, 투여량 권장 형태로 개체 및/또는 간병인에게 전달된다. 그러나, 포유류 개체의 신체 오리피스 및/또는 개방 상처와 같은 일부 상황에서, MEC를 결정하는 것은 비현실적일 수 있는바, 항균제를 풍부하게 투여하기 위한 유연성을 가지는 것이 매우 유리하다. 예를 들어, 시간이 본질이 될 수 있는 응급 설정에서 개방 상처를 치료할 때, 간병인이 MTC를 초과하는 양을 투여하는 것에 대해 걱정하지 않고, 항균제를 개방 상처에 풍부하게(예컨대, MEC에 비해 적어도 10배 큰 양으로) 적용하기 위한 유연성을 가지기 위해 매우 유리하다. 특히 멸균된 항균성 약학 조성물의 MEC는 하기 실시예(예컨대, 인비트로 타임-킬 어세이에서 3-log CFU를 획득하기 위해 효과적인 양)에서 서술되는 것들과 같은, 당업자에게 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0032] 수용성 담체 및 수용성 담체에 분산된 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)를 포함하거나 이로 구성된 항균성 약학 조성물을 서술하는 맥락에서 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "수용성 담체"는 당업자가 이해하는 바와 같은 통상적인 의미를 가지는바, 이온성 첨가제(예컨대, 염) 또는 비-이온성 첨가제(예컨대, 폴리머, 알코올, 설탕 및/또는 계면활성제)와 같은 분산된 물질을 선택적으로 함유할 수 있는 다양한 수-기반 담체 시스템을 포함한다. 수용성 담체에 분산된 물질은 그안에 용해되고/용해되거나 작은 입자의 형태로 분산될 수 있다.

[0033] 항균성 약학 조성물

[0034] 다양한 구현예는 수용성 담체 및 상기 수용성 담체에 분산된 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 포함하는 또는 구성된 항균성 약학 조성물을 제공한다. 상기 수용성 담체에 분산된 양이온성 폴리펩타이드(들)의 양은 상기 항균성 약학 조성물의 원하는 점도에 주로 의존하는 넓은 범위에 걸쳐 변할 수 있다. 예를 들어, 다양한 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물 내 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 양은 상기 항균성 약학 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.001 중량% 내지 약 10 중량% 범위이다. 일부 구현예에서, 상기 수용성 담체에 분산된 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 양은 상기 항균성 약학 조성물의 총 중량을 기준으로 약 0.01 중량% 내지 약 5 중량% 범위이다.

[0035] 다양한 구현예에서, 상기 수용성 담체에 분산된 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 복수의 양으로 하전된 아미노산 단위를 포함한다(중성 pH 에서). 일 구현예에서, 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 적어도 40 개 아미노산 단위를 포함하고, 이 중 적어도 일부는 양으로 하전된다. 일부 구현예에서, 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 내 양으로 하전된 아미노산 단위의 수는 적어도 10개, 적어도 15개, 또는 적어도 20개이다. 라이신, 아르기닌, 히스티딘 및 그 조합은 중성 pH에서 양으로 하전된 적합한 아미노산 담위의 예시이다. 일 구현예에서, 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 내 복수의 양으로 하전된 아미노산 단위는 양으로 하전된 라이신 단위를 포함한다.

[0036] 다양한 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 탈이온수 내 2 중량%의 농도 및 37℃의 온도에서 측정되는 바와 같이, 2 센티스토크(cSt) 이상의 점도를 가진다. 보다 높은 및 보다 낮은 점도(예컨대, 약 1.5 cSt 내지 약 16,000 cSt, 또는 약 2.0 cSt 내지 약 16,000 cSt)의 범위를 가지는 적합한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 상기 폴리펩타이드의 분자량, 양으로 하전된 아미노산 단위의 수준 및/또는 상기 폴리펩타이드가 자기-조립되는 정도를 조절함으로써 제조될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 탈이온수 내 2 중량%의 농도 및 37℃의 온도에서 측정되는 바와 같이, 소 혈청 알부민의 것에 비해 큰 점도를 가진다.

[0037] 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 상기 양으로 하전된 아미노산 단위에 추가적으로 다른 모노머 단위를 포함하는 코폴리펩타이드일 수 있다. 예를 들어, 다양한 구현 예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 복수의 소수성 아미노산 단위를 추가로 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 상기 양이온성 코폴리펩타이드 내 소수성 아미노산 단위의 수는 적어도 5개, 적어도 10개, 또는 적어도 15개이다. 적합한 소수성 아미노산 단위의 예시는 류신(L), 이소류신(I), 발린(V), 페닐알라닌(F), 알라닌(A), 및 그 조합을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 내 복수의 소수성 아미노산 단위는 류신 단위를 포함한다.

[0038] 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 내 아미노산 단위의 서열 배열은 랜덤, 블록성 또는 그 조합일 수 있다. 예를 들어, 일 구현예에서, 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 내 소수성 아미노산 단위 및 양으로 하전된 아미노산 단위의 서열 배열은 블록성이다. 다수의 구현예에서, 그러한 블록 코폴리펩타이드는 다양한 소수성 및 친수성 아미노산 단위를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일 구현예에서, 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 소수성 류신 단위 및 양으로 하전된 라이신 단위를 포함하는 블록 코폴리펩타이드이다.

[0039] 다양한 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 물 및 다른 수용성 담체 내 다량체 구조 내로 자기-조립한다. 다량체 구조의 예시는 미셀, 시트, 소포 및 피브릴을 포함한다(미국 특허 제9,017,730호 참조). 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은, 3 중량%의 농도로 37℃의 탈이온수 내, 자기-지지형 하이드로겔을 형성한다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 탈이온수 단독과 비교하여 적어도 10% 또는 적어도 20%의 표면 장력의 감소에 의해 측정되는 바와 같이, 37℃의 탈이온수에서 계면활성제 활성을 나타낸다. 일 구현예에서, 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 자기-조립은 탈이온수 내 37℃에서 1000 ㎍/mL 이하인 폴리펩타이드에 대한 임계 응집 농도에 의해 입증된다. 일 구현예에서, 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 자기-조립은 탈이온수 내 37℃에서 100 ㎍/mL 이하인 폴리펩타이드에 대한 임계 응집 농도에 의해 입증된다.

[0040] 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 자기-조립은 다양한 방식으로 조절될 수 있다. 예를 들어, 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 다량체 구조 내로 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 자기-조립을 촉진하기 위해 구성된 소수성 아미노산 단위 및 양으로 하전된 아미노산 단위의 서열 배열을 포함한다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 자기-조립은 소수성 아미노산 단위 및 양으로 하전된 아미노산 단위의 블록성 서열 배열에 의해 향상된다. 상기 폴리펩타이드 내 보다 높은 소수성 아미노산 단위 함량 및/또는 소수성 아미노산 단위의 보다 긴 블록은 수용성 담체 내 자기-조립을 향상시키는 경향이 있다.

[0041] 본원에 서술된 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 수용성 담체 내 분산되어 항균성 약학 조성물을 형성할 수 있다. 다양한 구현예에서, 상기 수용성 담체는 물이다. 다른 구현 예에서, 상기 수용성 담체는 약학적으로 허용가능한 염, 비-이온성 첨가제(들), 또는 그 조합을 포함하는 수용액이다. 염은 상기 폴리펩타이드의 자기-조립을 억제하려는 경향이 있으므로, 과도한 염은 회피되어야 한다. 정상 식염수, 1/2 정상 식염수, 1/4 정상 식염수 및 인산 완충 식염수는 약학적으로 허용가능한 염을 함유하는 적합한 수용성 담체의 예시이다. 일 구현예에서, 상기 수용성 담체는 염화나트륨을 포함한다. 다양한 구현예에서, 상기 수용성 담체는 비-이온성 첨가제를 포함하는 수용액이다. 적합한 비-이온성 첨가제의 예시는 덱스트로오스, 만니톨, 글리세롤, 자일리톨, 소르비톨, 계면활성제(들), 및 그 조합을 포함한다.

[0042] 상기 수용성 담체는 약학적으로 허용가능한 염, 비-이온성 첨가제(들), 또는 그 조합과 같은 다양한 양의 첨가제를 포함할 수 있다. 다양한 구현예에서, 상기 수용성 담체는 9.0 g/L 이하; 또는 8.0 g/L 이하; 또는 7.0 g/L 이하; 또는 6.0 g/L 이하; 또는 5.0 g/L 이하; 또는 4.5 g/L 이하; 또는 4.0 g/L 이하; 또는 3.0 g/L 이하인 약학적으로 허용가능한 염의 양을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 수용성 담체 내 상기 첨가제(들)의 양은 상기 항균성 약학 조성물의 점도를 조절하기 위해 선택된다. 일 구현예에서, 상기 수용성 담체는 상기 항균성 약학 조성물의 점도를 증가시키는 양으로 첨가제를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 수용성 담체는 상기 항균성 약학 조성물의 점도를 감소시키는 양으로 첨가제를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 비-이온성 첨가제(들)은 상기 첨가제(들) 없이 상기 항균성 약학 조성물의 것에 비해 적어도 10% 큰 값으로 상기 항균성 약학 조성물의 삼투압을 증가시키기에 효과적인 양으로 존재한다. 다양한 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물 내 상기 첨가제의 농도는 총 중량을 기준으로 약 0.1중량 % 내지 약 10 중량%의 범위이다. 다양한 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물 내 상기 비-이온성 첨가제의 농도는 총 중량을 기준으로 약 0.01 중량% 내지 약 2 중량%의 범위, 또는 약 0.05 중량% 내지 약 5 중량%의 범위이다.

[0043] 다양한 구현예에서, 본원에 서술된 항균성 약학 조성물은 멸균된 항균성 약학 조성물을 획득하기 위해 구성된 멸균 기술(들)에 의해 멸균된다. 일 구현예에서, 상기 멸균 기술(들)은 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드의 화학적인 구조 및/또는 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드가 자기-조립되는 경향에 최소 영향을 가지도록 구성된다. 그러한 멸균 기술의 예시는 도 42-52에 도시되어 있다. 일 구현예에서, 본원에 서술된 항균성 약학 조성물은 상기 멸균 기술(들)에 의한 멸균 없이 상기 항균성 약학 조성물의 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 것과 비교할만한(예컨대, 약 10% 이내) 중량 평균 분자량 및/또는 분산성을 가지는 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 가지는 멸균된 항균성 약학 조성물을 획득하기 위해 구성된 멸균 기술(들)에 의해 멸균된다. 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 이러한 멸균 기술(들)에 의한 멸균 없이 상기 항균성 약학 조성물의 것과 비교할만한 37℃에서 점도 수준을 가지는 멸균된 항균성 약학 조성물을 획득하기 위해

구성된 멸균 기술(들)에 의해 멸균된다. 일 구현예에서, 37℃에서 상기 멸균된 약학 조성물의 점도는 달리 비교할만한 멸균되지 않은 항균성 약학 조성물의 점도의 20% 내지 200%의 범위이다.

[0044] 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 주입된 후 72 시간에서 50% 이상의 마우스 생존율에 의해 측정되는 바와 같이, 10 mL/kg의 용량으로 복수의 마우스의 복강 내로 주입된 후 낮은 독성을 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 주입된 후 72 시간에서 50% 이상의 마우스 생존율에 의해 측정되는 바와 같이, 20 mL/kg의 용량으로 복수의 마우스의 복강 내로 주입된 후 낮은 독성을 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 주입된 후 72 시간에서 50% 이상의 마우스 생존율에 의해 측정되는 바와 같이, 40 mL/kg의 용량으로 복수의 마우스의 복강 내로 주입된 후 낮은 독성을 가진다. 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 달리 비교할만한 멸균되지 않은 항균성 약학 조성물의 것과 비교할만한 살균 활성을 가지고, 상기 살균 활성은 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, 및 *E. coli*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 박테리아에 대한 60분 타임-킬 어세이에 의해 결정된다.

[0045] 본원에 서술된 항균성 약학 조성물에 대한 다른 활성 약학 성분의 포함은 항균 성능을 향상시키고/향상시키거나, 국소 및 전신 모두의 독성 위험을 감소시킬 수 있다. 특히, 항생제, 방부제, 요오드 화합물, 및/또는 은 화합물을 포함하는 다른 항균성 제제의 포함은 감염을 예방 및/또는 치료하는 것을 돕기 위해 상기 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)과 협력적으로 작용할 수 있다. 추가적으로, 하나 이상의 항-염증성 제제의 포함은 성능을 향상시키고/향상시키거나, 국소 및 전신 모두의 독성 위험을 감소시킬 수 있다. 국소 염증은 또한 미생물 오염 또는 감염을 수반하는 다양한 질병 설정의 발병에 기여할 수 있다. 예시는 외이염, 만성 부비동염, 폐 상태, 및 특정 상처 상태를 포함한다. 그러한 상태는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 코르티코스테로이드, 항히스타민 및/또는 항-사이토카인과 같은, 항-염증성 제제의 조합에 의해 치료될 수 있다. 그와 같이, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 함유하는 항균성 조성물에 항염증성 제제를 포함시키는 것은 이점을 제공할 수 있다.

[0046] 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 항-염증성 화합물을 포함한다. 예를 들어, 일 구현예에서, 상기 염증성 화합물은 코르티코스테로이드, 히스타민 억제제 및 사이토카인 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된다. 코르티코스테로이드의 예시는 베타메타손 디프로피오네이트, 클로베타솔 프로피오네이트, 디플로라손 디아세테이트, 플루오시노니드, 및 할로베타솔 프로피오네이트를 포함한다. 히스타민 억제제의 예시는 상기 히스타민 H1, H2, H3 및 H4 수용체를 억제하는 것들을 포함한다. 사이토카인 억제제의 예시는 글루코코르티코이드 및 펜톡시필린을 포함한다.

[0047] 본원에 서술된 항균성 약학 조성물은 다양한 방식으로 제조될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드는 미국 특허 제9,017,730호 및/또는 미국 특허 제9,446,090호에 기재된 방식으로 제조되고, 이는 양이온성 폴리펩타이드를 제조하는 그러한 방법의 교시를 포함하는 모든 목적을 위해 참고로서 본원에 명백하게 통합된다. 상기 항균성 약학 조성물은 상기 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드를 수용성 담체와 조합하여, 상기 수용성 담체 내 상기 폴리펩타이드를 분산(예컨대, 용해)시킬 수 있다. 예를 들어, 그러한 조합은 상기 폴리펩타이드를 분산(예컨대, 용해)시키기에 효과적인 시간 동안, 약 20℃ 내지 90℃의 범위에서 온도로 교반하면서 상기 성분(양이온성 폴리펩타이드(들), 수용성 담체 및 항염증 화합물과 같은 선택적인 성분)을 혼합함으로써 달성될 수 있다. 상기 성분은 임의의 순서로 함께 혼합될 수 있지만, 당업자는 개별적인 경우에 특정 순서를 선호할 수 있다.

[0048] 미생물 오염을 예방하는 방법

[0049] 다양한 구현예는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직에 특히 적합한 조직의 미생물 오염을 예방하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 일 구현예에서, 그러한 방법은 미생물 오염의 위험이 있는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직 부위를 가진 포유류 개체를 식별하는 단계를 포함한다. 그러한 조직 부위의 예시는 질병에 걸린 피부, 수술 부위, 외상성 상처, 창상 절제된 조직, 복막강, 폐의 기도, 부비동, 및 요로를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 방법은 상기 조직 부위가 미생물로 오염되는 것을 적어도 부분적으로 보호하기에 효과적인 양으로 상기 부위에 본원에 서술된 항균성 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 상기 방법은 상기 조직 부위가 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, 및 *E. coli*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 박테리아로 감염되는 것을 적어도 부분적으로 보호한다. 상기 방법은 미생물 부하, 예컨대, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, 및 *E. coli*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 박테리아의 부하를 평가하기 위한 상기 조직 부위를 표집하는 단계를 추가로 포함한다. 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 수술 부위에 수술 중에 투여된다. 상기 항균성 약학 조성물의 상기 조직 부위로 투여는 직접 국소 적용에 의해 달

성될 수 있다.

[0050] 상기 조직 부위가 미생물로 오염되는 것을 적어도 부분적으로 예방하기에 효과적인 상기 항균성 약학 조성물의 양은 본원에 제공된 지침에 의해 공지된 일상적인 실험을 사용하여 당업자에 의해 결정될 수 있다. 다양한 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 광범위한 치료 창을 가지는바, 감염으로부터 원하는 보호를 달성하기 위해 상대적으로 광범위한 범위의 용량이 제공된다. 일부 구현예에서, 이러한 광범위한 치료 창은 상기 항균성 약학 조성물을 상기 조직 부위에 풍부하게 투여하는 것을 용이하게 한다.

[0051] 미생물 부하를 감소시키는 방법

[0052] 다양한 구현예는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직에 특히 적합한 조직 내 또는 조직에서의 미생물 부하를 감소시키는 방법을 제공한다. 예를 들어, 일 구현예에서, 그러한 방법은 미생물 부하를 가지는 온전하고 건강한 피부 이외의 조직 부위를 가지는 포유류 개체를 식별하는 단계를 포함한다. 그러한 조직 부위의 예시는 질병에 걸린 피부, 수술 부위, 외상성 상처, 창상 절제된 조직, 복막강, 폐의 기도, 부비동, 및 요로를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 조직 부위는 미생물로 오염되거나, 감염되거나, 모두이다. 일 구현예에서, 상기 방법은 상기 미생물 부하를 적어도 부분적으로 감소시키기에 효과적인 양으로 상기 조직 부위에 본원에 서술된 항균성 약학 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 상기 방법은 상기 조직 부위가 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, 및 *E. coli*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 박테리아의 조직 부위에서 상기 미생물 부하를 적어도 부분적으로 감소시킨다. 상기 방법은 미생물 부하, 예컨대, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, 및 *E. coli*로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 박테리아의 부하를 평가하기 위한 상기 조직 부위를 표집하는 단계를 추가로 포함한다. 일 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 미생물로 오염되거나, 감염되거나, 모두인 조직 부위에 수술 중에 투여된다.

[0053] 상기 미생물 부하를 적어도 부분적으로 감소시키기에 효과적인 항균성 약학 조성물의 양은 본원에 제공된 지침에 의해 공지된 일상적인 실험을 사용하여 당업자에 의해 결정될 수 있다. 다양한 구현예에서, 상기 항균성 약학 조성물은 광범위한 치료 창을 가지는바, 감염으로부터 원하는 보호를 달성하기 위해 상대적으로 광범위한 범위의 용량이 제공된다. 일부 구현예에서, 이러한 광범위한 치료 창은 상기 항균성 약학 조성물을 상기 조직 부위에 풍부하게 투여하는 것을 용이하게 한다. 상기 항균성 약학 조성물의 상기 조직 부위로 투여는 직접 국소 적용에 의해 달성될 수 있다.

[0054] 실시예

[0055] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 다양한 아미노산 서열 배열로 제조될 수 있고, 이들 중 일부는 **도 1**에 개략적으로 도시되어 있다. 특정 배열은 블록 또는 세그먼트로 언급될 수 있다. 전형적으로, 이들은 복수의 아미노산의 하나의 유형(예컨대, 양이온성, 음이온성, 소수성)을 함유하는 아미노산 단위의 신축일 것이다. 본원에 서술된 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 미국 특허 제9,017,730호 및 제9,446,090호에 서술된 합성 방법에 따라 제조되었고, 이는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 그를 제조하는 방법을 서술하는 목적을 포함하여 그 전체 및 모든 목적으로 참고로서 본원에 통합된다.

[0056] 양이온성 블록은 중성 pH에서 복수의 양전하를 가지고, 약 10개 아미노산 단위로부터 300개가 넘는 아미노산 단위까지 길이가 실질적으로 변할 수 있다. 양으로 하전된 아미노산 단위는 라이신(K), 아르기닌(R), 히스티딘(H), 및 오르니틴(O)으로부터 선택될 수 있다. 양이온 성 블록은 양이온성 아미노산으로만 구성될 필요는 없다. 복수의 양이온성 아미노산에 추가적으로, 블록 세그먼트는 역시 친수성을 유지하는데 도움이 되는 세린(S) 및 트레오닌(T)과 같은 극성 아미노산을 포함하는, 다른 아미노산을 포함할 수 있다. 블록 내 음이온성 단위보다 많은 양이온성 단위가 있는 한, 음으로 하전된 아미노산 및/또는 소수성 아미노산의 소량은 역시 양이온성 블록에 포함될 수 있다.

[0057] 소수성 블록은 복수의 소수성 아미노산을 가지고, 전형적으로, 약 5개 아미노산 단위 내지 약 60개 아미노산 단위로 길이가 실질적으로 변할 수 있다. 소수성 블록은 역시 2차 구조 (예컨대, 알파 나선형 vs 무질서형)를 나타낼 수 있다. 소수성 아미노산은 pH 7.0에서 하전되지 않는다. 또한, 그들은 대부분 탄소 및 수소로 구성된 측쇄를 가지고, 매우 작은 쌍극자 모멘트를 가지며, 물에서 반발되는 경향이 있다. 소수성 아미노산 단위는 글라이신(G), 알라닌(A), 발린(V), 류신(L), 이소류신(I), 프롤린(P), 페닐알라닌(F) 및 메티오닌(M)을 포함하는 리스트로부터 선택될 수 있다. 소수성 블록은 소수성 아미노산 단위로만 구성될 필요는 없다. 복수의 소수성 아미노산에 추가적으로, 블록 세그먼트는 역시 세린(S) 및 트레오닌(T)과 같은 극성 아미노산을 포함하는, 다른 아미노산을 포함할 수 있다. 하전된 아미노산의 소량은 역시 소수성 블록에 포함될 수 있다.

[0058] 양이온성-소수성 블록 구조를 가지는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 전체 사슬 길이의 넓은 범위로, 전형적으로 낮은 측면 상에 약 20개 아미노산 단위 이하 및 높은 측면 상에 약 400개 아미노산 단위 이상의 범위로 준비될 수 있다. **도 2**에 도시한 바와 같이, 블록 구조를 가진 양이온성 폴리펩타이드를 서술함에 있어서, 그들은 3개 군으로 구분될 수 있다: (Ⅰ) 긴 양이온성 세그먼트(> 200개 아미노산 단위); (Ⅱ) 중간 양이온성 세그먼트 (100-199개 아미노산 단위); 및 (Ⅲ) 짧은 양이온성 세그먼트(10-99개 아미노산 단위). 양이온성 블록 길이 대 소수성 블록 길이의 비는 넓은 범위에 걸쳐, 전형적으로 낮은 측면 상에 약 1.5 내지 높은 측면 상에 약 5 이상에 걸쳐 변할 수 있다. 이들 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 평균 분자량은 넓은 범위에 걸쳐, 전형적으로는 낮은 측면 상에 약 3,000 Da 내지 높은 측면 상에 약 70,000 Da 이상에 걸쳐 변할 수 있다. **도 3**은 세그먼트된 구조를 가진 그러한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 조성물을 보다 상세하게 보여준다.

[0059] 하기에 보다 상세하게 서술된 바와 같이, 본 발명자들은 블록 서열 배열을 가진 수많은 상이한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)를 합성하고 시험하였다. 비교를 위해, 본 발명자들은 역시 비교할만한 아미노산 조성물을 가진 양이온성 폴리펩타이드를 합성하였지만, 블록 또는 세그먼트된 서열 배열이 결핍되어 있다. 이들 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 항균 활성, 지혈 특성, 배리어 특성 및 계면활성제 활성을 포함하는, 다수의 기능적 특성에서 변하는 것으로 밝혀졌다. 추가적으로, 분자 설계 및 제형 모두는 이들 기능적 특성에 영향을 미칠 수 있음이 입증되었다. 분자 설계 특징과 관련하여, 본 발명자들은 전체 사슬 길이 및 양이온성/친수성 블록 길이 대 소수성 블록 길이의 비가 기능성 상에 큰 영향을 미치는 특성임을 관찰하였다. 아미노산 선택 및 순수거울상를 포함한, 각각 블록 내로 특정 특징 역시 기여한다.

[0060] 본 출원에서, 본 발명자들은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 2가지 주요 특성에 기반한 명명법을 사용한다: 전체 사슬 길이 및 양이온성 블록 길이 대 소수성 블록 길이의 비. 실시예로서, KL-140/2.5는 140개 아미노산 단위의 대략 평균 사슬 길이 및 2.5의 양이온성 세그먼트 대 소수성 세그먼트의 대략 비를 가진다. 이러한 폴리머에서, 양이온성 아미노산 단위는 라이신(K)이고, 소수성 아미노산 단위는 순수거울상 이성질체 L-류신(L)이다. 다른 실시예로서, KrL-100/5.7은 100개 아미노산 단위의 대략 평균 평균 사슬 길이 및 5.7의 양이온성 세그먼트 대 소수성 세그먼트의 대략 비를 가진다. 이러한 폴리머에서, 양이온성 아미노산 단위는 라이신(K)이고, 소수성 아미노산 단위는 라세믹 D,L-류신(rL)이다. 다른 실시예로서, RrL-75/2.8은 75개 아미노산 단위의 대략 평균 사슬 길이를 가진다. 이러한 폴리머에서, 양이온성 아미노산 단위는 아르기닌(R)이고, 소수성 아미노산 단위는 라세믹 D,L- 류신(rL)이다.

[0061] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 K_{55},

$K_{55}L_5$, $K_{55}L_{10}$, $K_{55}L_{15}$, $K_{55}L_{20}$, $K_{55}L_{20}$-RAN, $K_{55}L_{25}$, $K_{55}L_{30}$, $K_{55}(rac\text{-}L)_5$, $K_{55}(rac\text{-}L)_5$-RAN, $K_{55}(rac\text{-}L)_{10}$, $K_{55}(rac\text{-}L)_{10}$-RAN, $K_{55}(rac\text{-}L)_{20}$, $R^H{}_{55}(rac\text{-}L)_{20}$, $K_{55}(rac\text{-}L)_{20}$-RAN, $K_{55}(rac\text{-}L)_{30}$, $K_{55}(rac\text{-}I)_{20}$, $K_{55}(rac\text{-}L/F)_{20}$, $K_{55}(rac\text{-}V)_{20}$, $K_{55}(rac\text{-}A)_{20}$, $[K_{65}(rac\text{-}L)_{15}\text{-RAN}](rac\text{-}L)_{20}$, K_{80}, $K_{80}(rac\text{-}L)_{20}$, $K_{90}(rac\text{-}L)_{30}$, $K_{90}(rac\text{-}L)_{30}$-RAN, $K_{99}L_{36}$, $K_{99}(rac\text{-}L)_{36}$, $K_{99}(rac\text{-}L)_{36}$-RAN, K_{100}, $K_{100}L_{20}$, $K_{100}L_{30}$, $K_{100}L_{40}$, $K_{100}L_{40}$-RAN, $K_{100}L_{50}$, $K_{100}L_{60}$, $K_{100}(rac\text{-}L)_{20}$, $K_{100}(rac\text{-}L)_{20}$-RAN, $K_{100}(rac\text{-}L)_{30}$, $K_{100}(rac\text{-}L)_{40}$, $K_{100}(rac\text{-}L)_{60}$, $K_{120}(rac\text{-}L)_{10}$, $K_{120}(rac\text{-}L)_{40}$, $K_{120}(rac\text{-}L)_{40}$-RAN, $K_{120}(rac\text{-}L)_{50}$, $K_{120}(rac\text{-}L)_{50}$-RAN, $K_{130}L_{20}$, $K_{130}L_{30}$, $K_{130}L_{40}$, $K_{130}L_{40}$-RAN, $K_{130}L_{60}$, $K_{130}(rac\text{-}L)_{20}$, $K_{130}(rac\text{-}L)_{30}$, $K_{130}(rac\text{-}L)_{40}$, $K_{130}(rac\text{-}L)_{60}$, $K_{150}L_{30}$, $K_{160}(rac\text{-}L)_{20}$, K_{180}, $K_{180}L_{18}$, $K_{180}L_{20}$, $K_{180}L_{36}$, $K_{180}L_{54}$, $K_{180}(rac\text{-}L)_{18}$, $K_{180}(rac\text{-}L)_{20}$, $K_{180}(rac\text{-}L)_{36}$, $K_{180}(rac\text{-}L)_{54}$, $K_{190}L_{10}$, $K_{200}L_{50}$, $PEG_{205}(rac\text{-}L)_{20}$, K_{256}, $K_{324}L_{36}$, K_{360} $K_{360}L_{36}$, $K_{360}L_{36}$-RAN, $K_{360}L_{54}$, $K_{360}L_{72}$, $K_{360}(rac\text{-}L)_{36}$, $K_{360}(rac\text{-}L)_{54}$, and $K_{360}(rac\text{-}L)_{72}$

[0062] 를 포함하는 미국 특허 제9,017,730호 및 미국 특허 제9,446,090호에서 (상이한 명명법 시스템을 사용하여) 서술되었다.

[0063] 실시예 1

[0064] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 **도 4-6**에 예시된 바와 같이, 강력한 살균 활성 및 배리어 효과를 가진 제제를 가능하게 하도록 설계될 수 있다. **도 4**는 라이신 및 순수거울상 이성질체 L-류신 아미노산 단위에 기반한 양이온성-소수성 블록 서열 배열을 가진 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드를 서술한다. 폴리펩타이드 제제의 평균 전체 사슬 길이는 대략 160개 아미노산 단위이고; 라이신 대 류신 또는 K:L 비는 3.2인 것으로 밝혀졌다. 이러한 합성 양이온성 폴리펩타이드는 KL-160/3.2로 표기되고, 폴리머의 SEC 크로마토그램은 1.1의 상대적으로

낮은 분산도(D)를 가진 단일 피크를 보여준다.

[0065] **도 5**는 물 내 KL-160/3.2의 농도-의존적 항균 활성을 도시한 것이다. 1.6 μg/mL의 낮은 농도에서 *S. aureus*, *P. aeruginosa* 및 *C. albicans*에 대한 활성을 가진 명확한 농도-의존적 효과가 있다. 다중 실험에서 관찰된 KL-160/3.2의 항균 활성 요약은 **도 6**에서 제공된다. 하기 기재한 바와 같이, KL-160/3.2는 보다 높은 농도(즉, > 2 중량%)로 물에서 준비될 때, 자기-지지형 하이드로겔을 형성한다. 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 이들 특성은 항균 활성 및 배리어 기능의 바람직한 조합을 초래한다. 이들 항균 제제의 기능적 특성은 멸균 방법을 포함하는, 특정 공정 및/또는 취급 절차의 존재, 부재 또는 범위와 마찬가지로, 제형(예컨대, 첨가제의 존재 및 농도)에 의존한다는 것을 인식하는 것이 중요하다.

[0066] 실시예 2

[0067] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 **도 7-9**에 예시된 바와 같이, 강력한 살균 활성 및 계면활성제 활성을 가진 제제를 가능하게 하도록 설계될 수 있다. **도 7**은 라이신 및 라세믹 D,L-류신 아미노산 단위에 기반한 양이온성-소수성 블록 서열 배열을 가진 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드를 서술한다. 폴리펩타이드 제제의 평균 전체 사슬 길이는 대략 100개 아미노산 단위이고; 라이신 대 라세믹 류신 또는 K:rL 비는 5.7인 것으로 밝혀졌다. 이러한 합성 양이온성 폴리펩타이드는 KrL-160/5.7로 표기되고, 폴리머의 SEC 크로마토그램은 1.1의 상대적으로 낮은 분산도(D)를 가진 단일 피크를 보여준다.

[0068] **도 8**은 물 내 KrL-160/5.7의 농도-의존적 항균 활성을 도시한 것이다. 1.6 μg/mL의 낮은 농도에서 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, 및 *C. albicans*에 대한 활성을 가진 명확한 농도-의존적 효과가 있다. 다중 실험에서 관찰된 KrL-160/5.7의 항균 활성 요약은 **도 9**에서 제공된다. 하기 기재한 바와 같이, KL-160/5.7은 물에서 준비될 때, 계면활성제 활성을 입증한다. 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 이들 특성은 항균 활성 및 계면활성제 기능의 바람직한 조합을 초래하고, 이는 바이오필름 및/또는 조직 창상 절제에 대한 성능을 향상시킬 수 있다. 이들 항균 제제의 기능적 특성은 멸균 방법을 포함하는, 특정 공정 및/또는 취급 절차의 존재, 부재 또는 범위와 마찬가지로, 제형(예컨대, 첨가제의 존재 및 농도)에 의존한다는 것을 인식하는 것이 중요하다.

[0069] 실시예 3

[0070] 양이온성 항균성 펩타이드를 다량체 복합체 내로 자기-조립하는 것은 유리할 수 있다. 블록 서열 배열을 가진 합성 양이온성 폴리펩타이드는 다량체 구조로 자가-조립하기 위해 설계되고 제형화될 수 있다. 2개 실시예가 **도 10**에 도시되어 있다. KL-160/3.2는 섬유성 구조 내로 자기-조립하기 위해 설계되고 배리어 하이드로겔을 형성하며, KrL-100/5.7은 미셀 구조 내로 자기-조립하기 위해 설계되고 계면활성제 특성을 가진다. 상기 기재한 바와 같이, 이들 2개 합성 양이온성 폴리펩타이드는 **도 4-6** 및 **도 7-9**에 역시 서술되었음에 유의해야 한다.

[0071] 본 발명의 다양한 구현예는 그 자체 및/또는 조성물의 하나 이상의 다른 성분을 가진 다중분자 복합체를 형성하는 적어도 하나의 항균성 제제를 포함하는 항균성 조성물을 포함한다. 설명에 의해, 이러한 다중분자 복합체의 개발은 분자간 결합에 의해 향상된다. 그러한 결합은 가역적일 수 있다. 그러한 결합은 소수성 인력 효과에 의해, 전체적으로 또는 부분적으로 야기될 수 있다. 그러한 결합은 공유 또는 비공유일 수 있다. 그러한 결합은 전신 흡수를 감소시키거나 지연시킬 수 있다. 그러한 결합은 국소 및/또는 전신 독성의 위험을 감소시킬 수 있다.

[0072] 임계 응집 농도(CAC)는 수용성 환경 내 분자의 자기-조립의 하나의 척도이다. CAC는 파이렌 형광 기술 및 표면 장력 기술을 포함하는, 여러 기술에 의해 측정될 수 있다. **도 11**은 파이렌 형광법에 의해 측정된 바와 같은 다양한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 CAC 값을 보여준다. 블록 서열 배열(KL-130/3.3-RAN)이 결핍된 폴리라이신 사슬(K-100) 및 라이신-류신 합성 양이온성 폴리펩타이드 모두가 매우 높은 CAC, 각각 1,600 및 2,700 μg/mL를 입증하였다는 것은 주목할 만하다. 비교를 위해, 블록 서열 배열을 갖는 수많은 라이신-류신 합성 양이온성 폴리펩타이드는 **도 11**의 나머지 항목에 의해 설명된 바와 같은 이러한 방법에 의해, 1 ㎍/mL 내지 160 ㎍/mL 범위의 훨씬 더 낮은 CAC를 입증하였다. **도 12**는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-100/5.7을 사용한 표면 장력 방법에 의한 CAC의 측정을 도시한다.

[0073] 본 발명의 다양한 구현예는 물에 용해될 때 500 μg/mL 이하의 임계 응집 농도(CAC)를 가지는 적어도 하나의 항균성 제제를 포함하는 항균성 조성물을 포함할 수 있다. 이러한 CAC는 파이렌 형광을 사용하는 방법과 같은, 당업계 공지된 방법에 의해 측정될 수 있다. 다른 항균성 제제는 보다 낮은 CAC를 가질 수 있다. 예를 들어, 항균성 제제는 200 μg/mL, 100 μg/mL, 50 μg/mL 및/또는 20 μg/mL 이하의 CAC를 가질 수 있다.

[0074] 실시예 4

[0075] 점도는 약학 조성물 특성 뿐만 아니라, 분자 특성의 관련 척도이다. 예상외로, 본 발명자들은 증가된 점도가 증가된 안전성의 마커 뿐만 아니라, 증가된 상처 내 항균 성능의 마커일 수 있음을 발견하였다. 다중분자 설계 특징은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 점도에 영향을 미친다. 이들은 전체 사슬 길이, 아미노산 조성물, 양이온성 단위 대 소수성 단위 비, 및 아미노산 잔기의 서열 배열(예컨대, 블록성 vs 랜덤)을 포함한다. 또한, 합성 양이온성 폴리펩타이드 제제(예컨대, 반대 이온, 다른 염 및 잔류 용매) 내 있을 수 있는 다른 성분은 수용성 제제의 점도에 영향을 미칠 수 있음에 주목해야 한다. 추가적으로, 약학 조성물의 제제에 사용될 수 있는 다양한 첨가제(예컨대, 염, 비이온성 장력(tonicity) 변형 부형제, 계면활성제)는 점도에 영향을 미치는데 효과적인 양이다. 하기 서술하는 바와 같이, 또한, 멸균의 방법은 점도에 상당한 영향을 미칠 수 있다.

[0076] **도 13A**는 유리 모세관 점도계(우벨로데 점도계)를 사용하여 측정된 바와 같은, 1 중량%의 물 내 다양한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 동점도 값을 도시한다. 이러한 데이터에 의해 입증된 바와 같이, 대략 100개 아미노산 단위(K-100) 또는 대략 200개 아미노산 단위(K-200)의 폴리라이신 사슬의 존재는 이러한 농도에서 점도에 단지 약간의 영향을 미쳤다. 유사하게, 랜덤/통계적 서열 배열(즉, 블록이 아님), KL-170 / 3.3-RAN을 가진 라이신-류신 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 존재는 역시 점도에 약간의 영향을 미쳤다(1.1 cSt의 값). 대조적으로, 세그먼트된 또는 블록 서열 배열을 가진 다중 합성 양이온성-소수성 폴리펩타이드(들)은 290 cSt 내지 1.4 cSt의 데이터의 이러한 설정에서 높은 범위의 향상된 점도를 입증하였다. 전체 사슬 길이는 점도를 증가시키는 것으로 보여주었고; 소수성 블록의 증가된 길이는 점도를 증가시키는 것으로 보여주었으며; 소수성 류신 아미노산의 순수거울상 이성질체는 점도를 증가시키는 것으로 보여주었다. 비교를 위해, **도 13B**는 이들 조건 하에 1 및 2 중량%의 농도에서 수용성 제제의 점도에 미치는 영향이 있는 경우, 소 혈청 알부민이 거의 없음을 보여준다. 알부민은 풍부한 혈액 단백질이고 대략 66.5kDa의 분자량을 가지며 대략 583개 아미노산 단위의 총 사슬 길이를 가진다. 이들 데이터는 분자 사이즈 단독이 점도 효과를 설명하기에 부적절하다는 것을 나타낸다.

[0077] **도 14**는 37℃에서 물 내 0.5 중량%로 2개 합성 양이온성-소수성 폴리펩타이드(들)에 대한 점도 데이터를 보여준다. 이러한 경우에, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 모두, KL-160/3.3 및 KL-120/2.5는 소수성 세그먼트(~35-40 순수거울상 이성질체 L-류신 단위)의 유사한 길이 및 설계를 가졌다. 보다 높은 점도는 KL-160/3.3에서 발견되었고, 이는 보다 긴 양이온성 블록 구조 및 결과적으로 보다 긴 전체 구조를 가졌다. 즉, KL-120/2.5이 1.0 중량%에서 KrL-160/3.3(**도 13**)에 비해 0.5 중량%(**도 14**)에서 보다 높은 점도를 가졌음에 주목하는 것이 역시 중요하다. 후자는 보다 긴 전체 길이를 가지고, 유사한 사이즈의 소수성 블록을 가지나, 소수성 아미노산 단위(라세믹 D,L-류신 vs 순수거울상 이성질체 L- 류신)의 상이한 조성물을 가진다. **도 15**는 분자 설계 및 농도 영향 점도 모두를 추가로 입증한다. 이러한 데이터는 유리 모세관 점도계를 사용하여 40℃에서 획득되었고, 상기 서술된 것에 비해 상이한 제조 lot로부터 4개 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 포함하였다.

[0078] 또한, 합성 양이온성 폴리펩타이드 점도는 전단력(동점도)의 영향 하에 측정될 수 있다. 이러한 접근은 전단-박화 또는 전단-두께 특성의 평가를 허용한다. 이러한 전단 박화 또는 전단-두께 특성은 인비보 전체 성능과 마찬가지로, 조직에 적용의 용이성 모두에 중요할 수 있다. 특히, 본 발명자들은 다양한 의료 및 수술 설정에서 발생할 수 있는 바와 같은, 전단-박화 특성이 수동 조작에 의해 조직에 보다 쉽게 퍼질 수 있음을 발견하였다. **도 16**에 도시한 바와 같이, 물 내 1.5 중량%, 2.0 중량% 및 3.0 중량%에서 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120 / 2.5의 동점도는 회전 점도계를 사용하여 전단력 증가에 대해 평가되었다. (센티포아즈(cP)에서 측정된) 점도의 전단-의존적(스핀들 속도 증가) 감소는 관찰되었다. 이러한 "전단-박화" 효과는 3개 시험된 농도에서 나타났다. 점도에서 농도-의존적 증가는 역시 도 16에 나타낸 바와 같이 관찰되었다.

[0079] 본 발명의 다양한 구현예는 적어도 하나의 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 포함하는 항균성 조성물을 포함하고, 이는 물에 용해될 때, 점도의 상당한 증가를 유발한다. 예를 들어, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)이 블록 공중합체인 구현예에서, 관찰된 점도의 증가는 달리 비교할만한 랜덤 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)에 대해 관찰된 증가에 비해 크다. 점도의 증가는 하나 이상의 타입의 점도계(들)을 사용하여 당업계에 공지된 방법에 의해 측정될 수 있다.

[0080] 실시예로서, 물 내 10 mg/mL 또는 1 중량%의 농도에서 적어도 하나의 항균성 합성 양이온 성 폴리펩타이드(들)의 제제는 0.9 cSt 이하인 물 단독의 점도 값의 어세이에서, 우벨로데 점도계(들)과 같은, 유리 모세관 점도계(들)을 사용하여 측정된, 37℃에서 1.25 센티스토크 내지 500 센티스토크(cSt; mm^2/s) 범위의 동점도를 가질 수 있다. 다양한 구현예에서, 적어도 하나의 항균성 제제의 이들 제제의 점도는 500 cSt 초과이다.

[0081] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 물에 분산될 때 그들이 자기-지지형 하이드로겔을 형성하도록 설계되고 제조될 수 있다. **도 17A-D**에 도시한 바와 같이, 예시적인 합성 코폴리펩타이드(KL-120/2.5)는 농도에 따라 물 내 점성 용액 및 하이드로겔을 형성한다. KL-120/2.5는 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 및 3.0 중량%의 농도로 DI 물 내 준비되었고, 틸트 튜브 어세이에 의한 겔 형성, 조직 분석에 의한 견고성, 및 점도에 대해 평가하였다. 물리적 특성에 대한 농도-의존적 효과는 분명하다. 예를 들어, 물 내 2 중량%의 농도로 증가될 때, 이러한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 제제는 자기-지지형 하이드로겔을 형성하였다. 1.5 중량%에서, 제제는 배리어로서 작용하였고, 2개 상이한 스테인레스 스틸 구체, 또는 BB에 의한 침투에 저항하였다. 또한, 조직 분석을 사용한 견고성의 정량적 측정은 농도-의존적 증가를 명확하게 나타내었다. 또한, 이러한 후자 방법은 배리어 특성 및 침투에 저항성을 입증한다.

[0082] 실시예 5

[0083] 다양한 첨가제는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 수용성 제제의 점도를 변형시킬 수 있다. 본 발명자들은 다양한 첨가제가 pH 및 장력(tonicity)를 포함하는, 본원에 서술된 약학 조성물의 특정 특성을 변경시키기 위해 사용될 수 있음을 발견하였다. 평가 과정에서, 본 발명자들은 특정 첨가제가 예상외로 점도에 높은 영향을 미쳤음을 발견하였다. 이러한 영향은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 분자 설계에 의존하는 것으로 추가로 발견되었다. 예를 들어, 다중 연구에서, 블록 아미노산 서열 배열을 가진 군 II 중간 라이신-L-류신(KL) 폴리펩타이드(들)의 수용성 제제에 NaCl(~0.9 %)의 첨가가 점도를 현저히 감소시키는 것으로 입증되었다. 라이신-D,L-류신(KrL) 폴리펩타이드(들)에서 유사하지만 덜 현저한 효과가 관찰되었다. 이러한 데이터는 분자 설계 및 첨가제의 성질 모두가 표적 점도 파라미터를 가진 약학 조성물의 제제에 함께 고려되어야 함을 보여주었다. 또한, 이러한 관찰은 합성 양이온성 폴리펩타이드의 제조된 제제에서 발견될 수 있는 염을 포함한, 특정 물질이 기능성 및 성능에 현저한 영향을 미칠 수 있음을 상기시킨다.

[0084] **도 18**은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 함유하는 약학 조성물을 제조하기 위해 사용될 수 있는 약학적으로 허용가능한 비-이온성 부형제(첨가제)의 부분 목록을 보여준다. **도 19**는 증가된 전단력에 대해 평가된, 물, 4.5 % 수용성 만니톨, 2.33 % 수용성 글리세롤, 또는 2.8 % 수용성 히스티딘 내 2.0 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5 (BAC004)의 동점도를 도시한다. 히스티딘 제제는 모든 스핀들 속도에서 매우 낮은 점도를 보여주었다. 만니톨 및 글리세롤 내 제제는 물-단독 제제에서 관찰된 것에 비해 다소 낮은 수준이지만 상대적으로 높고 전단-의존적 점도 프로파일을 보여주었다.

[0085] **도 20**은 물 단독, 0.9 % 수용성 식염수, 또는 4.4 % 수용성 자일리톨 내 1 중량%로 물에 용해된 라이신-L-류신(KL) 및 라이신-D,L-류신(KrL) 블록 서열 배열을 가진 2개 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 동점도를 도시한다. 특히, 0.9 % 식염수 내 KL-100/5.7의 제제는 물 내 제제와 비교하여 점도의 대략 70 % 감소를 입증하였다. 대조적으로, 0.9 % 식염수 내 KrL-110/4.0의 제조는 물 내 제조와 비교하여 점도의 대략 40 % 감소를 입증하였다. 추가적으로, 이들 연구는 자일리톨, 비-이온성 첨가제의 수용액 내 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 모두가 물 단독과 비교하여 예상외로 개선된 점도를 초래하였음을 입증하였다. 따라서, 자일리톨은 장력(tonicity) 및/또는 삼투압을 증가시키면서 보다 높은 점도를 유지하기 위해 바람직한 약학 조성물에 대한 첨가제로서 잠재적인 이점을 추가한다. 추가적으로, 일부 구현예에서, 자일리톨은 항균성 조성물에서 예상외로 바람직한 약학적으로 허용가능한 첨가제이고, 이는 점도에 대한 그 효과와 조합하여, 미생물의 대사 및 대부분 미생물의 성장을 지지하지 않기 때문이다.

[0086] **도 21**은 증가된 전단력에 대해 평가된, 4.5 % 수용성 만니톨 내 2.0 중량%로 합성 양이온 성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5(BAC004)의 동점도를 도시한다. 이는 이들 제제가 50℃ 및 94℃를 포함하는, 열처리에 안정하다는 것을 추가로 도시한다. 열처리에 대한 안정성은 특정 제조 단계, 수용성 담체 내 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 용해 및 어닐링을 위해, 및 멸균에 의한 임의의 오염 미생물의 감소 또는 제거를 위해 유용할 수 있다.

[0087] 본 발명의 다양한 구현예는 수용성 담체 내 적어도 하나의 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 물 단독의 값이 0.9 cSt 이하인 어세이에서, 우벨로데 점도계(들)과 같은, 유리 모세관 점도계(들)을 사용하여 측정된, 37℃에서 약 1.25 센티토크 내지 500 센티토크(cSt; mm^2/s)의 범위에서 약학 조성물에 대한 점도를 초래하기에 효과적인 조합 및 양으로, 적어도 하나의 첨가제 또는 부형제를 포함하는 약학 조성물을 포함한다. 다양한 구현예에서, 이들 약학적 조성물은 500 cSt 초과이다.

[0088] 본 발명의 다양한 구현예는 수용성 담체 내 적어도 하나의 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 회전 점도계를 사용하여 측정된 바와 같이, 37℃에서 조성물에 전단-박화 효과를 부여하는데 효과적인 적어도 하나의

첨가제 또는 부형제의 양을 포함하는 약학 조성물을 포함한다.

[0089] 본 발명의 다양한 구현예는 수용성 담체 내 적어도 하나의 항균성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 첨가제 또는 부형제 없이 수용성 담체 내 비교할만한 제제의 것에 비해 큰 조성물에 점도를 부여하는데 효과적인 적어도 하나의 첨가제 또는 부형제의 양을 포함하는 약학 조성물을 포함한다. 예를 들어, 일 구현예에서, NaCl과 같은 다양한 염을 역시 함유할 수 있는 조성물을 포함하는, 약학 조성물에 자일리톨 또는 글리세롤의 효과적인 양의 첨가는 자일리톨 또는 글리세롤 없이 비교할만한 약학 조성물과 비교하여 제제의 점도를 향상시킨다.

[0090] 본 발명에 따르면, 효과적인 수준의 항균 활성에 도달하는 것은 특정 환자(예컨대, 큰 상처 및/또는 높은 미생물 수준을 가진 환자)에서 본원에 서술된 약학적 조성물의 실질적인 용량을 요구할 수 있다. 본 발명자들은 본원에 제공된 교시에 따라 설계된 경우, 항균성 제제가 국소적으로 적용된 항균성 조성물의 효과 및 안전성을 모두 향상시킬 수 있음을 발견하였다. 자체 또는 조성물의 하나 이상의 다른 성분을 가진 다중분자 복합체를 형성하는 항균성 제제는 항균성 제제의 국소 농도 및 조직 코팅을 증가시켜 보다 낮은 용량에서 보다 큰 효과를 획득할 수 있다. 추가적으로, 이러한 특성은 잠재적인 전신 흡수 및 분포를 감소시키거나 늦출 수 있고, 전신 독성을 감소시킬 수 있다. 또한, 국소 독성을 감소시킬 수 있다. 항균성 조성물의 제형과 마찬가지로, 항균성 제제 자체의 설계는 다중분자 복합체의 형성을 가능하게 하는 분자간 상호작용에 영향을 미칠 것이다.

[0091] 본 발명자들은 국소적으로 적용된 항균제의 효과 및 안전성이 점도를 포함하는, 물리적 특성에 의해 영향을 받는 것으로 밝혀졌다. 예를 들어, 증가된 점도는 국소적으로 적용된 항균제의 조직 체류 시간을 증가시켜 효과를 향상시킬 수 있다. 또한, 이러한 효과는 요구되는 항균성 조성물의 총량을 감소시켜, 용량-제한 독성의 위험을 감소시킬 수 있다. 자체 또는 조성물의 하나 이상의 다른 성분과 항균성 제제의 분자간 상호작용은 항균성 조성물의 점도 증가에 기여한다.

[0092] 실시예 6

[0093] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 계면활성제 활성을 입증하기 위해 설계될 수 있다. 특정 설계 특징은 보다 많은 계면활성제 활성을 부여하고; 다른 것들은 보다 적은 계면활성제 활성을 부여한다. 계면활성제 활성은 다중 어세이에서 입증될 수 있다. 예를 들어, 계면활성제는 유체-공기 계면에서 표면 장력을 감소시키는 것으로 보여질 수 있다. **도 22**에 도시한 바와 같이, 합성 양이온성 폴리펩타이드 KrL-120/5.0은 합성 양이온성 폴리펩타이드가 아닌 다른 양이온성 항균성 제제와 비교하여 물의 표면 장력을 실질적으로 감소시키는 것으로 보여지고; 클로헥시딘 및 PHMB는 거의 효과가 없었다.

[0094] 표면 장력을 감소시키기 위한 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 다양한 제제의 능력은 평가되었다(**도 23**). 몇 가지 관찰이 이루어졌다. 예상외로, 순수거울상 이성질체 L-류신으로 준비된 라이신-류신 다이블록 코폴리펩타이드는 소수성 블록이 30개 아미노산 단위 이상일 때, 계면활성제 활성이 거의 없음을 보여주었다. 계면활성제 활성은 보다 짧은 순수거울상 이성질체 L-류신 블록(예컨대, 약 20개 류신 단위 이하)으로 관찰되었다. 추가적으로, 라세믹 D,L-류신으로 준비된 라이신-류신 다이블록 코폴리펩타이드는 약 20개 단위 이상의 류신 블록 길이에서 순수거울상 이성질체 L-류신으로 준비되는 것과 비교할 때, 상대적으로 높은 계면활성제 활성을 입증하였다. 전반적으로, 데이터는 계면활성제 활성이 아미노산 조성물(순수거울상 이성질체 vs 라세믹을 포함하는) 및 소수성 블록의 길이 모두에 의해 크게 영향을 받는다는 것을 보여준다. 따라서, 설계 요소는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 바람직한 계면활성제 특성을 얻기 위해 사용될 수 있다.

[0095] 또한, 계면 활성제 활성은 다른 어세이에 의해 입증될 수 있다. 일 실시예는 물/오일 시스템 내 계면 장력의 감소이다. **도 24A 및 24B**에 도시한 바와 같이, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-100/5.7은 계면 장력을 감소시키는 것으로 보여졌다.

[0096] 또한, 특정 첨가제는 표면 및 계면 장력에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, **도 25** 내 데이터는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-130/3.3(Lot 77) 및 L-130 / 3.3(Lot 72)의 제제가 물 단독 또는 0.25 % 또는 1.0 % 아세트산을 가진 물 내 제형화될 때, 표면 장력을 낮추는 것을 보여준다. 아세트산의 존재는 부가적인 효과를 가진다. 유사한 효과는 계면 장력에서 관찰되었다(**도 26**).

[0097] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 효과적인 유화제일 수 있다. **도 27**에 도시한 바와 같이, 본 발명자들은 라세믹 D,L-류신 소수성 세그먼트, KrL-100/5.0 및 KrL-160/3.2를 가진 2 개 예시적인 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 수용성 제제가 소이빈 오일을 유화시키는데 효과적임을 입증한다. 또한, 이러한 유화 효과는 순수거울상 이성질체 류신 소수성 블록을 가지는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)로 관찰되었다(**도 28**). 또한, **도 28** 내 데이터는 유화 활성이 물 단독 뿐만 아니라, 식염수 또는 수용성 자일리톨 내 제형화된 합성 양이온성 폴리펩타이

드(들)에 의해 입증될 수 있음을 입증한다.

[0098] 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)은 계면활성제 활성을 입증하기 위해 설계 및 제형화될 수있다. 또한, 본 발명자들은 직접 살균 활성 및 계면활성제 특성을 조합한 합성 양이온 성 폴리펩타이드(들)의 제제가 매우 효과적인 항-바이오필름 제제라는 것을 발견하였다. 추가적으로, 본 발명자들은 그러한 제제가 그람-양성 및 그람-음성 박테리아 모두로 심하게 오염된 조직 상에 인비보 매우 효과적임을 입증하였다.

[0099] 실시예 7

[0100] 국소 독성 및 전신 독성 모두에 대한 가능성을 이해하는 것은 중요하다. 국소 조직 상용성 및 안전성은 국소적으로 적용되는 항균성 조성물의 효과적인 사용을 위해 모두 매우 바람직하다. 전반적으로, 본 발명자들은 블록 또는 세그먼트된 서열 배열을 가진 합성 양이온성 폴리펩타이드의 제제가 상대적으로 높은 조직 호환성 및 국소 안전성을 입증하는 것으로 밝혀졌다. 추가적으로, 본원에 서술된 바와 같은, 적절한 제형, 용량, 및 적용의 방법을 사용하여 조직 손상을 최소화하고 치유를 지원할 수 있다.

[0101] 예상외로, 본 발명자들은 전신 안전성에 있어서 합성 양이온성 폴리펩타이드의 상이한 제제의 실질적인 가변성을 발견하였다. 본 발명자들은 분자 설계 몇 제형이 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 제제가 복강 내로 적용될 때, 전신 독성의 위험에 모두 큰 영향을 미치는 것을 발견하였다. 국소 적용의 유형임에도 불구하고 복강 내 투여는 치료용 제제 및 부형제의 실질적인 전신 흡수 및 분포를 용이하게 한다. 따라서, 복강 내 투여는 항균성 약학 조성물의 대부분의 국소 적용에 비해 전신 독성의 위험이 보다 높다. 이와 관련하여 몇가지 사항을 참고하는 것이 중요하다. 첫째, 온전하고 건강한 피부 이외의 다양한 조직에 대한 국소 적용은 전신 흡수를 증가시킬 수 있다. 둘째, 복강 내 감염은 매우 심각하고 복강 내로 적용할 수 있는 보다 좋고, 안전한 항균제가 필요하다. 셋째, 복강 내, 정맥 내, 또는 전신 흡수를 극적으로 증가시킬 수 있는 다른 부위에 약학 조성물을 의도하지 않게 적용할 수 있다. 현재, 본 발명자들은 건강하고 온전한 피부 이외의 부위에 적용될 때에도, 매우 효과적이고 국소 및 전신 독성 모두의 위험이 낮은 국소적으로 적용된 항균성 약학 조성물을 개발하였다.

[0102] **도 29**는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 조성물이 모두 온전하고 각질제거된(abraded) 피부에 적용된 토끼 피부 자극 모델의 결과를 도시한다. 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-140/2.5 또는 KrL-120/5.0을 다양한 농도 및 다양한 제형으로 적용한 후 무시할만한 반응이 관찰되었다. **도 30**은 기니피그 피부 감작 연구의 결과를 도시한다. KL-140/2.5(lot 73) 또는 KrL-120/5.0 (lot 93)을 물 내 1 중량%로 적용한 후 눈에 띄는 변화가 관찰되지 않았고, 이는 당업자에게 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)이 과민성 가능성 없음을 보였다. **도 31**은 래트 경구 독성 연구의 결과를 도시한다. 경구 위관영양에 의해 0.625 mg/kg 내지 160 mg/kg 범위의 용량으로 래트에서 물 내 KL-140/2.5 또는 물 내 KrL-120/5.0을 투여한 후 3 일에 걸쳐 이상이 관찰되지 않았다.

[0103] 복강 내 투여 후 전신 독성의 연구는 예상외의 결과를 제공하였다. **도 32**에 보여진 바와 같이, 20 mg/mL의 농도 및 800 /mg/kg의 전체 용량으로 대략 100개 아미노산 단위(K-100)의 폴리라이신의 복강 내 투여는 5 마리 동물 중 0 마리가 생존하면서 상당한 독성이 있는 것으로 밝혀졌다. 유사하게, 아미노산 단위의 블록 서열 배열이 결핍된, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-140/2.5-RAN의 제제는 5 마리 동물 중 0 마리가 생존하면서 독성이 있는 것으로 밝혀졌다. 대조적으로, 모든 동물(5/5)은 물 내 비교할만한 농도 및 KrL-120/5.0의 용량의 투여 후에 생존하였다. **도 33**에 보여진 바와 같이, 또한, 라이신 및 D,L-류신의 세그먼트된 또는 블록 서열 배열을 가진 다른 양이온성 펩타이드의 수용성 제제, KrL-130/3.3는 최대 20 mg의 농도(800 mg/kg 용량)에서 완전 생존(5/5)으로 높은 수준의 안전성을 보였다.

[0104] 추가적인 연구는 동일한 표적 분자 구조, KrL-120/5.0을 가지는 2개 상이한 lot(93 및 94)의 폴리머를 조사할 때 예상외의 변동성을 나타내었다. **도 34**에 도시한 바와 같이, lot 93은 lot 94와 비교하여, 복강 내 투여 후 실질적인 독성 및 전신 치사를 유발하는 것으로 밝혀졌다. 이는 lot 93이 **도 30**에서 서술된 기니피그 감작 연구에서 국소 적용에 안전한 것으로 나타났기 때문에 특히 놀랍다. 또한, lot 93은 그람-양성 및 그람-음성 박테리아에 대한 인비트로 효과적인 살균성 제제인 것으로 보여졌다. 추가적으로, 미생물 오염으로 돼지 개방 상처 모델 및 설치류 폐쇄 상처 모델 모두에서 인비보 사용될 때 안전하고 효과적인 것으로 밝혀졌다.

[0105] lot 93 및 94의 추가 분석에서, 임계 응집 농도(CAC)에 의해 평가되는 바와 같은, 다중 체 구조 내로 자기-조립에서 현저한 차이가 관찰되었다. lot 93, 보다 높은 독성 lot은 보다 높은 임계 응집 농도(130 μg/mL)를 가지는 것으로 밝혀졌고, 이는 lot 94(CAC : 51 μg/mL)에 비해 다량체 구조 내로 자기-조립하기 위한 약한 구동력을 나타낸다.

[0106] 또한, 본 발명자들은 물에서 준비될 때 낮은 CAC 및/또는 높은 점도를 입증하는 합성 양이온성

폴리펩타이드(들)이 복강 내로 투여될 때 상대적으로 안전하다는 것을 발견하였다. **도 35** 내 데이터에 의해 도시한 바와 같이, 아미노산 단위의 블록 서열 배열을 가진 라이신-L-류신(KL) 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 2개 제제, KL-170/3.3 및 KL-140/2.5는 복강 내 투여시 매우 안전한 것으로 보여졌다. 이들 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 및 밀접하게 관련된 구조를 갖는 것들은 낮은 CAC(전형적으로 단일-자릿수 μg/mL; 또한, **도 11** 참조)에 의해 측정된 바와 같은, 높은 수준의 자기-조립을 입증한다. 또한, 본 발명자들은 복강 내 적용 후 보다 높은 안전성 프로파일을 입증하는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 역시 수용성 제제 내 조직 분석에서 상대적으로 높은 점도 및/또는 견고성을 입증함을 발견 하였다(**도 13** 내지 **도 17** 참조). 따라서, 본 발명자들은 전신 독성의 위험이 보다 낮은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 설계에서 당업자를 안내하기 위한 본원에 서술된 바와 같은 일반적인 원리를 개발하였다.

[0107] 또한, 제형 첨가제는 복강 내 투여되는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 조성물의 안전성 프로파일에 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다. **도 36**에 보여진 바와 같이, 물 또는 물 및 하이드록시에틸 셀룰로오스(HEC) 내 KL-140/2.5의 제제는 안전성에 있어서 약간의 차이를 입증하였다. 특히, 보다 높은 HEC 함량을 가진 제제는 이러한 첨가제가 안전하다고 널리 인식되어 있음에도 불구하고, 보다 독성이 있는 것으로 밝혀졌다. **도 37**은 복강 내 투여시 독성을 향상시킬 수 있는 제형 변화의 추가 예시를 보여준다.

[0108] 종합하면, 이들 발견은 국소 조직 상용성 및 전신 안전성이 동일하지 않고, 모두를 다루는 것이 중요하다는 것을 나타낸다. 특히, 폴리머 설계 특징 및 제형 파라미터 모두는 전신 독성의 위험을 증가 또는 감소시킬 수 있다. 폴리머 설계 특징과 관련하여, 본 데이터는 보다 안전한 합성 양이온 폴리펩타이드(들)이 보다 낮은 임계 응집 농도로 자기-조립을 촉진시키고/촉진시키거나, 보다 높은 점도를 촉진시키는 설계 특징에 의해 생성될 수 있음을 나타낸다. 추가적으로, 본 발명자들은 제형 첨가제가 다중체 구조 내로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 자기-조립을 향상시키고/향상시키거나, 폴리머 점도를 유지 또는 향상시키는 방식으로 선택되어야 함을 발견하였다.

[0109] 용량-제한 전신 독성 대 국소 유효 용량의 비는 조직 부위 및/또는 병리생리학적 설정에 의존할 수 있다. 유효 용량 및 독성 용량 모두는 특정 부위 또는 병리생리학적 설정에 적용한 후에 결정될 수 있다. 대안적으로, “보다 높은-장애(higher-hurdle)”의 타입은 예측 가능한 높은 전신 흡수(복막강과 같은)를 가진 부위에 적용한 후 전신 독성 용량을 결정함으로써 확립될 수 있다. 국소 유효량은 특정 부위 또는 병리생리학적 설정에 적용한 후에도 여전히 결정될 수 있다(예컨대, 사지 손상, 연조직 감염, 부비동 감염).

[0110] 일 구현예에서, 항균성 제제 또는 항균성 조성물은 인비보 국소 또는 전신 독성의 측정에 부분적으로 기반하여 선택될 수 있다.

[0111] 일 구현예에서, 항균성 제제 또는 항균성 조성물은 복강 내 투여 후 인비보 독성의 측정에 부분적으로 기반하여 선택될 수 있다.

[0112] 본 발명의 특정 구현예는 복막강 이외의 조직에 국소 적용한 후 미생물 부하의 감소에 효과적인 것으로 기대되는 용량에 비해 보다 높은 용량으로 마우스의 복막강 내로 안전하게 주입될 수 있는 항균성 제제 또는 항균성 조성물을 포함할 수 있다.

[0113] 실시예 8

[0114] 멸균의 방법은 중요하다. 본 발명자들은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)에 기반한 항균성 약학 조성물의 안전성이 분자 설계(특히, 양이온-소수성 블록 서열 배열), 폴리머의 다량체 구조로의 자기-조립, 및 점도에 의존한다는 것을 발견하였다. 일 구현예에서, 항균성 약학 조성물의 멸균은 분자 무결성, 다량체 구조, 및 점도를 유지하는 방법에 의해 수행된다.

[0115] **도 38-41**은 조직 분석에 의해 평가된 바와 같이, 전통적인 방사 멸균 기술이 합성 양이온 성 폴리펩타이드(들)의 분자 구조의 파괴 및 조성물 견고성의 손실을 유발할 수 있음을 입증한다. 또한, 합성 양이온성 폴리펩타이드의 수용성 제제의 E-빔 멸균은 점도의 주요 손실을 야기하는 것으로 보여졌다. 샘플은 물과 마찬가지로 유체인 것으로 관찰되었다. 그와 같이, 방사 멸균 기술은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 가진 항균성 약학 조성물의 멸균에 사용하기 위해 신중하게 조절 및/또는 변형될 필요가 있다.

[0116] 방사 기술과 대조적으로, 멸균 여과 및 열 멸균(오토클레이빙) 모두는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 분자 구조를 유지하고 그들을 포함하는 수용성 조성물의 바람직한 물리적 특성을 유지하면서, 항균성 약학 조성물의 효과적인 멸균을 제공한다. **도 42-46**은 여과 및 오토클레이빙에 의한 멸균 후 분자 무결성의 유지를 입증하는

SEC 크로마토그램을 보여준다.

[0117] 또한, 여과 및 오토클레이빙에 의한 멸균은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 포함하는 수용성 제제 및 조성물의 주요 유리한 물리적 특성을 유지한다. **도 47**은 4.5 중량% 만니톨을 가진 물 내 1.25 중량%로 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-120/2.5(lot BAC004)의 수용성 제제가 거의 동일한 사전- 및 사후-멸균 여과 동적 점도 특성을 보였음을 입증한다. **도 48** 및 **도 49**는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-160/3.2(lot BAC003)의 수용성 제제가 오토 클레이빙 후 실질적인 수준의 전단-박화 점도를 유지하지만, 전체 수준이 사전-오토클레이브된 샘플에 비해 다소 감소됨을 입증한다. 추가적으로, 다양한 수용성 제제 및 조성물의 오토클레이브 멸균은 견고성이 다소 감소되었음에도 불구하고, 조직 분석에서 평가되는 바와 같이, 견고성의 유리한 특성을 유지시켰다(**도 50 및 51**). 추가적으로, 데이터는 견고성의 감소가 보다 높은 농도의 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)에서 및 HEC와 같은, 특정 첨가제의 존재 하에 보여졌음을 나타내었다. 설명에 의해, 점도 및 견고성의 관찰된 감소는 오토클레이브 공정 동안 발생할 수 있는 다량체 구조의 추가 용해 및 재-어닐링 공정에 의해 야기될 수 있다. 즉, 이들 제제는 점도 및 견고성의 이점을 유지하기 위해 고려된다. **도 52**는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KrL-120/5.0의 계면활성제 활성이 사후-오토클레이브 멸균 유지되었음을 나타낸다.

[0118] 실시예 9

[0119] 미생물을 억제 또는 사멸시키는데 모두 효과적이고, 국소 및 전신 독성의 위험을 낮추기 위해, 본원에 서술된 바와 같은 항균성 약학 조성물의 구현예는 항균 활성 및 유리한 물리화학적 특성 모두를 제공한다. 후자는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 다량체 구조 내로 자기-조립, 알부민에 의해 예시되는 바와 같은, 다수의 단백질의 수용성 제제에서 발견되는 것에 비해 높은 점도, 또는 모두와 관련된다. 다양한 구현예에서, 멸균 공정이 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 분자 무결성 또는 항균성 약학 조성물의 유리한 물리화학적 특성에 상당히 악영향을 미치지 않는 방식으로 수행되는 한, 국소 및 전신 독성 모두의 위험의 추가 감소는 항균성 약학 조성물의 멸균에 의해 달성된다. 마지막으로, 인비보 설정에서 국소 및 전신 독성의 효과 및 낮은 위험을 모두 달성하기 위해, 본 출원의 발명은(얼마나 많은 및 얼마나 자주를 포함하는), 특히 항균성 약학 조성물이 건강하고, 온전한 피부 이외의 조직에 적용될 때, 고려하기 위해 중요하다.

[0120] 본 발명의 범위를 제한하지 않으면서, 큰 외과적 또는 외상성 상처를 수반하는 것과 같은 일부 임상 설정에서, 항균 효과를 달성하기 위해 본원에 기술 된 바와 같은 항균 제약 조성물을 “풍부하게” 적용하는 것은 중요할 수 있다. 상기 논의된 바와 같이, "풍부한"은 70 kg의 사람에 대해 1 g 이상의 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 포함하는 항균성 약학 조성물의 총 치료 용량을 가르키는 것으로, 이는 14.3 mg/kg을 나타낸다. 항균성 약학 조성물을 “풍부하게” 적용할 때, 환자(인간 또는 동물)에 대한 국소 및 전신 독성의 위험을 최소화하기 위해, 항균 효과, 물리화학적 특성 및 사용의 방법은 조합하여 모두 고려되어야 한다. 본원에 서술된 항균성 약학 조성물은 다중 및 다양한 임상 설정에서 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 수술 및 외상의 노출된 조직에 직접 적용은 가장 가치있는 용도에 속한다. **도 53**은 수술 적용에서 일반적으로 사용되는 상처 분류의 그래픽 묘사를 제공한다. 상처는 클래스 Ⅰ(깨끗한), 클래스 Ⅱ(깨끗한/오염된), 클래스 Ⅲ(오염된), 및 클래스 Ⅳ(더러운/감염된)로 분류된다. 사용의 방법을 고려할 때, 클래스 Ⅰ 및 클래스 Ⅱ 상처 설정 모두에서, 본원에 서술된 항균성 약학 조성물은 실질적인 미생물 오염 전에 조직에 적용될 수 있다. 일부 구현예에서, 직접 살균 활성 및 미생물 배리어 특성의 조합은 그러한 설정에서 유리하다. 또한, 클래스 Ⅲ 및 클래스 Ⅳ 상처 설정에서, 본원에 서술된 항균성 약학 조성물은 상당한 미생물 오염, 또는 바이오필름 형성, 또는 명백한 감염 후에 조직에 적용될 수 있다. 일부 구현예에서, 직접 살균 활성 및 계면활성제 특성의 조합은 그러한 설정에 유리하다.

[0121] 직접 살균 활성 및 미생물 배리어 특성의 조합의 이점은 다양한 시험 설정에서 예시될 수 있다. **도 54**는 미생물 오염의 돼지 생체외 피부 모델의 결과를 도시한다. 이러한 모델에서, 피부 외식편은 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)의 제제로 수평으로 배치되고 전처리될 수 있거나, 그들은 항균성 제제의 유출을 촉진하기 위한 기간 동안 수직으로 경사질 수 있다. 이러한 방법은 인비보 조직에 대한 적용을 보다 잘 모방하도록 설계되었다. 데이터가 나타내는 바와 같이, KL-120/2.5 및 KL-160/3.2의 제제는 수평 조직 샘플 상에 1 중량% 및 2 중량% 모두에서 매우 효과적이다. 그러나, 샘플이 기간 동안 수직으로 경사지면, 보다 높은 점도를 가진, 보다 높은 농도의 제제는 보다 효과적인 것으로 보여졌다. 제제 모두는 이러한 사이즈의 미생물 부하를 치료하는데 요구되는 것에 비해 실질적으로 보다 항균 활성을 가진다.

[0122] **도 55**는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-160/3.2 제제가 박테리아 오염 15 분 전에 전체 두께 상처에 적용된 인비보 돼지 오픈 상처 모델의 결과를 도시한다. *S. epidermidis* 및 *P. aeruginosa*의 고밀도 혼합 배양으로 접종 4 시간 후 평가하였을 때, 처리된 상처는 대조군과 비교하여 조직의 미생물 오염이 거의 나타나지 않았다.

도 56은 미생물 오염 전에 조직의 전처리 효과가 농도 및 시간 모두에 의존성임을 입증한다. 따라서, 임상 설정에서, 바람직한 구현예는 유효량의 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) 조성물 투여 및 연장된 기간에 걸쳐 노출된 조직(예컨대, 연장된 수술 또는 지연된 폐쇄를 수반하는 상처)에 반복 적용을 포함한다. **도 57**은 미생물 접종 전에 이식된 외과용 메쉬(이물질로서 작용)로 설치류 상처의 전처리 결과를 보여준다. 이 모델에서, 상처는 접종 직후에 폐쇄된다. 데이터가 보여준 바와 같이, 합성 양이온성 폴리펩타이드(들) KL-160/3.2를 가진 항균성 약학 조성물의 단일 적용은 48 시간에서 평가된 바와 같이 매우 실질적인(다중-로그) CFU 감소를 초래하였다.

[0123] 종합하면, 이들 데이터는 (1) 직접 살균 활성 및 미생물 배리어 특성의 이점; (2) 실질적인 미생물 오염 이전에 조기 처리의 가치; 및 (3) 조직 노출의 기간 및 미생물 오염의 잠재적인 시기를 모두 고려하는 치료 요법의 중요성을 입증한다.

[0124] 또한, 직접 살균 활성 및 계면활성제 특성의 조합의 이점은 다양한 시험 설정에서 예시될 수 있다. **도 53**에 도시한 바와 같이, 본원에 서술된 항균성 조성물은 조직, 현존하는 바이오필름, 또는 명백한 감염, 또는 둘 이상의 조합의 이미 실질적인 미생물 오염이 이미 있는 다수 및 다양한 임상 설정에서 적용될 수 있다. 그러한 설정은 클래스 Ⅲ 및 클래스 Ⅳ 상처를 가진 수술 절차가 포함할 수 있다. 이들은 이물질을 포함한 수술 부위 감염의 치료를 포함한다(예컨대, 인공 관절(periprosthetic joint) 감염, 탈장 메쉬 감염, 유방 임플란트 감염 등). 또한, 이들 설정은 머리의 부비(특히, 만성 부비동염 환자에서)과 같이, 자주 오염된 영역의 수술적 및 비-수술적 치료와 마찬가지로, 대부분 외상성 상처를 포함한다. 외래 감염 부위가 없는 경우에도 이물질로 수술 부위를 수리하는 것 역시 바이오필름 형성의 위험이 높은 것으로 고려되어야 한다. 상기 언급한 바와 같이, 이들 설정에서, 본원에 서술된 항균성 약학 조성물은 현존하는 미생물 오염을 가진 부위에 적용될 수 있다. 직접 살균 활성 및 계면활성제 특성의 조합은 특히 유리할 수 있다.

[0125] **도 58** 및 **도 59**는 직접 살균 활성 및 계면활성제 활성 모두를 가진 합성 항균성 폴리펩타이드(들)의 제제를 사용하여 바이오필름에서 성장된 *P. aeruginosa*에 대한 강력한 활성을 입증한다. **도 60-63**은 인비보 이들 동일한 원리를 입증하는 연구의 결과를 도시한다. 직접 살균 활성 및 계면활성제 특성을 입증하는 본원에 서술된 항균성 조성물은 미생물, 그람-양성 (메티실린-저항성 *S. aureus*) 및 그람-음성(*P. aeruginosa*와 같은) 모두로 매우 오염된 조직 부위에 적용될 때 매우 효과적이다.

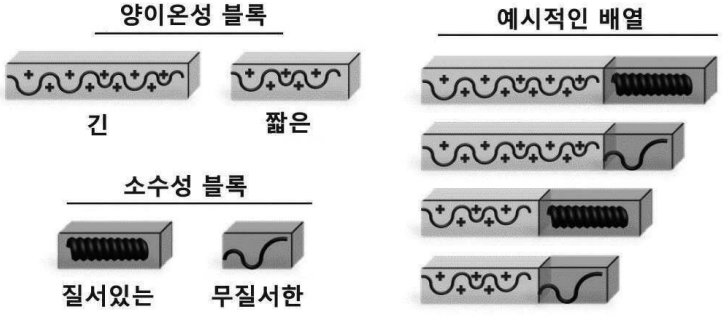
[0126] 실질적으로 미생물 수를 낮추는 것에 추가하여, 다양한 구현예에서, 이러한 치료는 조직 보호인 것으로 보이고, 이는 조직 염증, 조직 손상의 인지된 원인의 감소에 부분적으로 기인할 수 있다. 다양한 구현예에서, 염증의 감소는 본원에 서술된 항균성 조성물을 항-염증성 제제와 조합함으로써 획득되거나 향상될 수 있다.

[0127] 이러한 실시예는 직접 살균 활성 및 배리어 특성의 조합의 이점 및 직접 살균 활성 및 계면활성제 활성의 조합의 이점을 설명한다. 특히, 당업자는 3 가지 기능: 직접 살균 활성, 배리어 특성, 및 계면활성제 활성을 모두 가지는 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 설계하기 위해 본원에 제공된 가이드라인을 활용할 수 있다. 이들 다기능성 합성 양이온성 폴리펩타이드(들)을 가진 약학 조성물의 제제에서, 이러한 기능성을 지지하는 방식으로 제형화 및 멸균이 수행되는 것이 중요하다.

[0128] 다양한 구현예에서, 본원에 서술된 합성 양이온성 폴리펩타이드를 함유하는 항균 조성물은 바람직하고, 상기 폴리펩타이드(들) 및 전체 조성물은 낮은 위험의 국소 및 전신 독성을 가지고 결합된, 높은 수준의 항균 활성을 제공하기 위해 설계된다. 다량체 구조로의 자기-조립 및/또는 점도를 포함하는 물리화학적 특성은 바람직하다.

도면

도면1



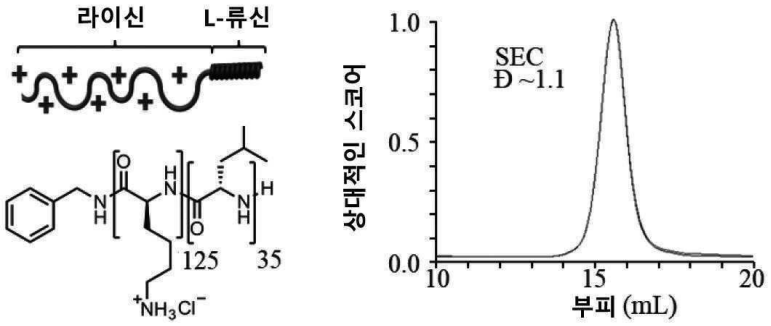
도면2

군	양이온성 세그먼트 길이	양이온성:소수성 블록 길이 비	대략
긴 양이온성 세그먼트	200-400	1.5 내지 15	>32,000
중간 양이온성 세그먼트	100-199	1.5 내지 15	16,000 내지 32,000
짧은 양이온성 세그먼트	10-99	1.5 내지 15	<16,000

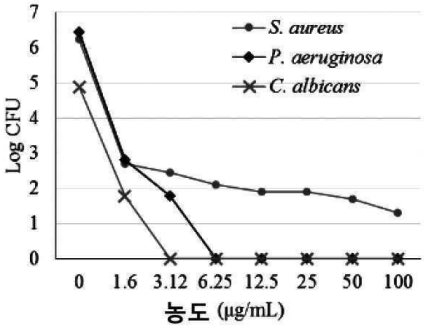
도면3

군	양이온성 세그먼트 (복수의 양이온성 아미노산 단위)		소수성 세그먼트 (복수의 소수성 아미노산 단위)	
	양이온성 아미노산 선택	길이	소수성 아미노산 선택	양이온성:소수성 세그먼트 길이 비
긴 양이온성 세그먼트 복수의 양이온성 아미노산 단위를 가진 ≥200 아미노산 단위	라이신 (K)	200-400	알라닌 (A) 페닐알라닌 (F) 글라이신 (G) 이소류신 (I) 류신 (L) 메티오닌 (M) 프롤린 (P)	1.5 내지 15
	아르기닌 (R)	200-400		
	히스티딘 (H)	200-400		
	오르니틴 (O)	200-400		
중간 양이온성 세그먼트 복수의 양이온성 아미노산 단위를 가진 100 내지 199 아미노산 단위	라이신 (K)	100-199	알라닌 (A) 페닐알라닌 (F) 글라이신 (G) 이소류신 (I) 류신 (L) 메티오닌 (M) 프롤린 (P)	1.5 내지 15
	아르기닌 (R)	100-199		
	히스티딘 (H)	100-199		
	오르니틴 (O)	100-199		
짧은 양이온성 세그먼트 복수의 양이온성 아미노산 단위를 가진 10 내지 99 아미노산 단위	라이신 (K)	10-99	알라닌 (A) 페닐알라닌 (F) 글라이신 (G) 이소류신 (I) 류신 (L) 메티오닌 (M) 프롤린 (P)	1.5 내지 15
	아르기닌 (R)	10-99		
	히스티딘 (H)	10-99		
	오르니틴 (O)	10-99		

도면4



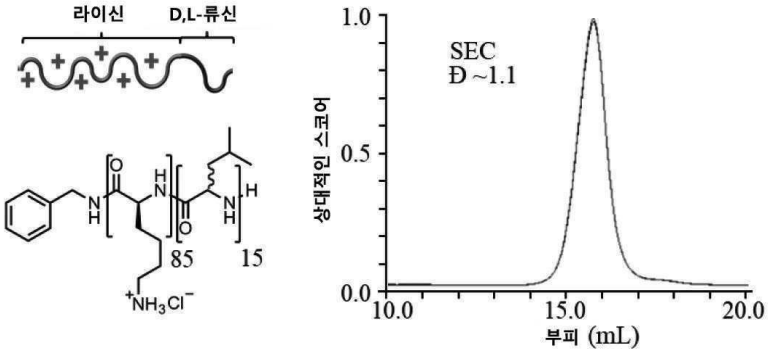
도면5



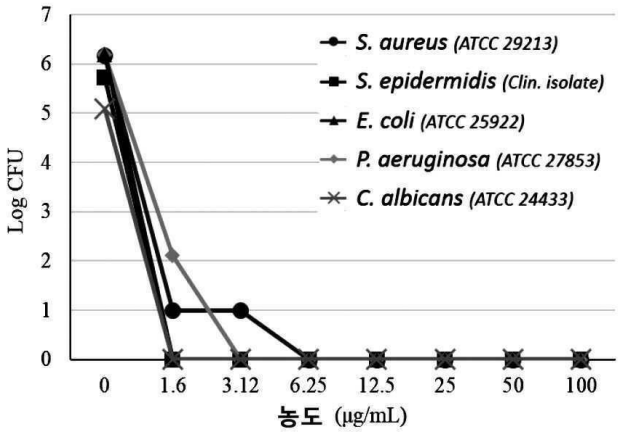
도면6

	미생물	% CFU 감소
그람 양성	*S. aureus*	99.99%
	MRSA*	99.98%
	반코마이신-저항성 ***E. faecium* (VRE)***	100%
	S. pyogenes	99.74%
그람 음성	*A. baumannii**	100%
	MDR *A. baumannii**	100%
	ESBL *E. coli**	100%
	K. pneumoniae	100%
	ESBL, KPC *K. pneumoniae**	100%
	P. aeruginosa	100%
	MDR *P. aeruginosa**	100%
혐기성 미생물	MDR *B. fragilis**	99.80%
곰팡이	*C. albicans*	100%
	플루코나졸-저항성 ***C. albicans****	100%

도면7



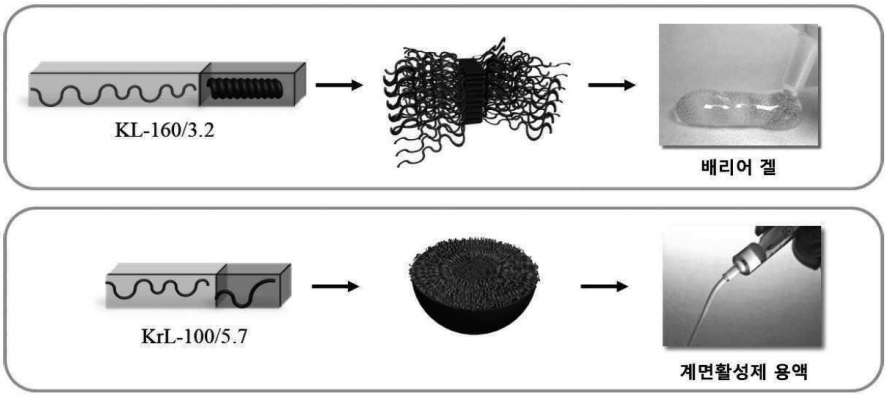
도면8



도면9

	미생물	미생물 (t=0 min)	미생물 (t=60 min)	% CFU 감소
그람 양성	*S. aureus*	1,260,000	0	100%
	MRSA*	1,380,000	0	100%
	반코마이신-저항성 *E. faecium* (VRE)*	955,000	0	100%
	S. pyogenes	2,630,000	60	99.99%
그람 음성	*A. baumannii**	1,450,000	0	100%
	MDR *A. baumannii**	2,000,000	0	100%
	ESBL *E. coli**	1,480,000	0	100%
	K. pneumoniae	2,190,000	0	100%
	ESBL, KPC *K. pneumoniae**	1,450,000	200	99.99%
	P. aeruginosa	2,190,000	0	100%
	MDR *P. aeruginosa**	2,190,000	0	100%
혐기성 미생물	MDR *B. fragilis**	776,000	0	100%
곰팡이	*C. albicans*	115,000	0	100%
	플루코나졸-저항성 *C. albicans**	100,000	0	100%

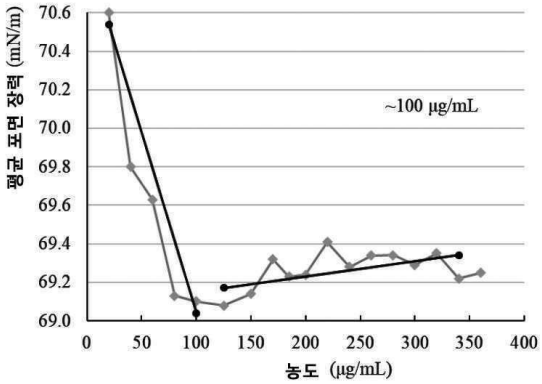
도면10



도면11

분자 타입	폴리펩타이드 명칭	Lot	CAC (μg/mL)
폴리라이신	K-100	79	1,600
라이신 + L-류신	KL-130/3.3-RAN	80	2,700
	KL-170/3.3	111	8
	KL-160/3.2	BAC003	19
	KL-150/2.0	74	2
	KL-140/2.5	99	8
	KL-140/2.5	73	1
	KL-130/3.3	72	6
	KL-120/5.0	71	21
	KL-120/2.5	BAC004	10
라이신 + D,L-류신	KrL-170/3.3	104	4
	KrL-160/3.2	BAC001	34
	KrL-140/2.5	78	6
	KrL-130/3.3	77	4
	KrL-120/5.0	93	130
	KrL-120/5.0	94	51
	KrL-120/5.0	76	14
	KrL-100/5.7	BAC002	160

도면12

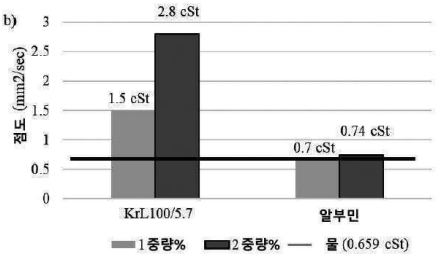


도면13

a)

분자 타입	폴리펩타이드 명칭	Lot	Viscosity (cSt)	Ubbelohde Size
폴리라이신	Water	-	0.71	0
	K-100	Lot 79	0.86	0B
	K-200	Lot 82	1.2	0B
라이신 + L-류신	KL-160/3.3	BAC003	290	2B
	KL-120/2.5	BAC004	138	2B
	KL-170/3.3-RAN	Lot 110	1.1	0B
라이신 + D,L-류신	KrL-160/3.3	BAC001	5.2	1
	KrL-120/5.0	Lot 93	1.5	0B
	KrL-120/5.0	Lot 94	1.4	0B
	KrL-100/5.7	BAC002	1.5	0B

b)



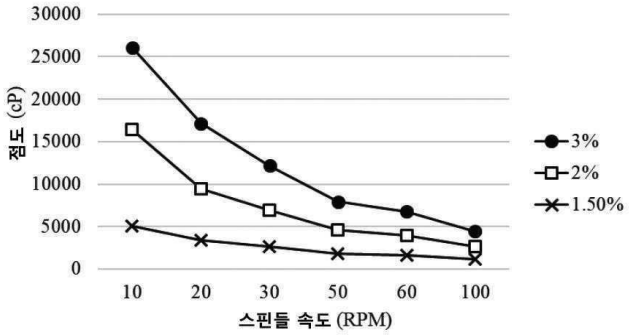
도면14

분자 타입	폴리펩타이드 명칭	Lot	점도 (cSt)	우벨로데 사이즈
라이신 + L-류신	KL-160/3.3	BAC003	17	1B
	KL-120/2.5	BAC004	9	1

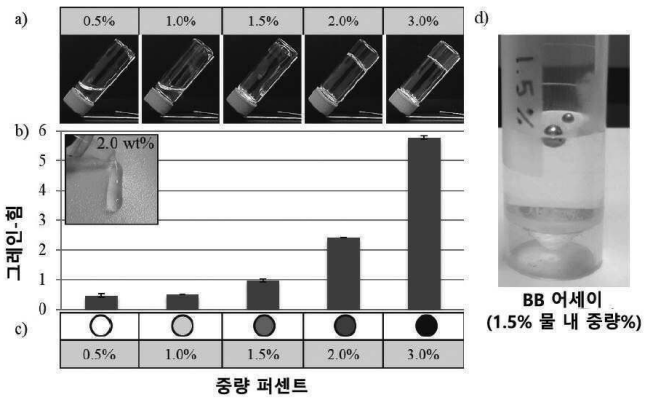
도면15

분자 타입	폴리펩타이드 명칭	Lot	점도 (cSt)		우벨로데 사이즈
			1 중량%	2 중량%	
라이신 + L-류신	KL-160/3.2	D-303-18A	24.8	-	1B
	KL-100/5.7	D-301-67-03	5.53	15.17	1, 1B
라이신 + D,L-류신	KrL-160/3.3	BAC001	5.0	20.7	1, 1B
	KrL-110/4.0	D-301-37-05	2.78	6.45	0B, 1C

도면16



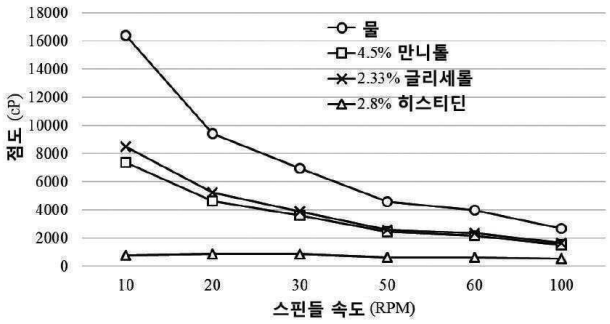
도면17



도면18

비-이온성 부형제
덱스트로오스
만니톨
글리세롤
자일리톨
소르비톨
프로필렌 글라이콜
비-이온성 계면활성제

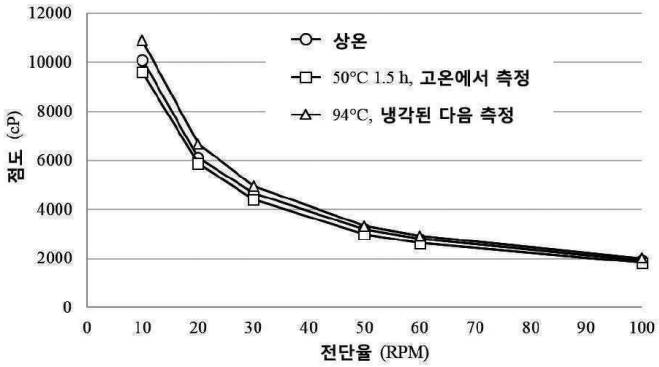
도면19



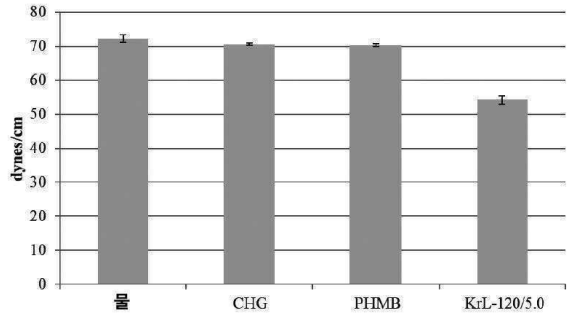
도면20

폴리펩타이드 명칭	Lot	점도 (cSt) @ 1 중량%		
		물	식염수 (0.9%)	자일리톨 (4.4%)
KL-100/5.7	D-301-67-03	5.53	1.50	5.94
KrL-110/4.0	D-301-37-05	2.78	1.69	3.14

도면21



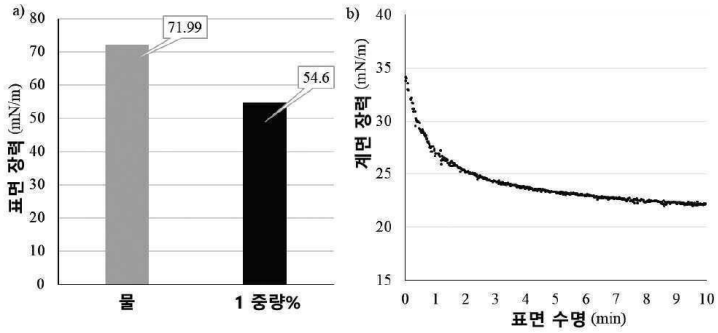
도면22



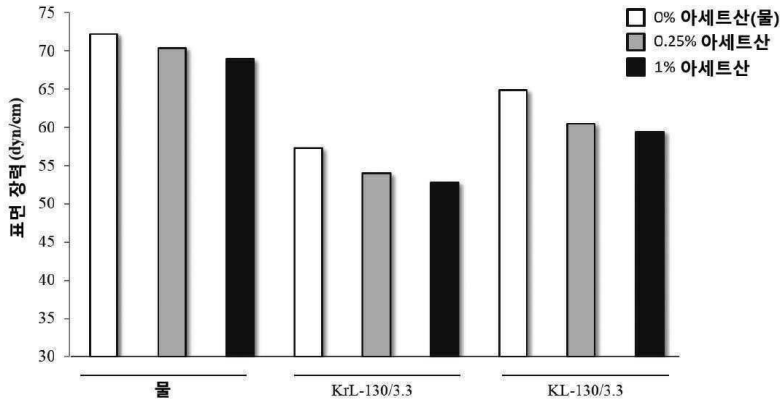
도면23

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	Lot	표면 장력 (dynes/cm)
Water	-	72.2
KL-120/5.0	71	68.8
KL-130/3.3	72	71.5
KL-140/2.5	73	72.4
KL-150/2.0	74	72.3
KrL-120/5.0	76	54.2
KrL-130/3.3	77	59.1
KrL-140/2.5	78	60.1
KrL-150/6.5	92	65.7
KrL-170/3.3	104	57.8

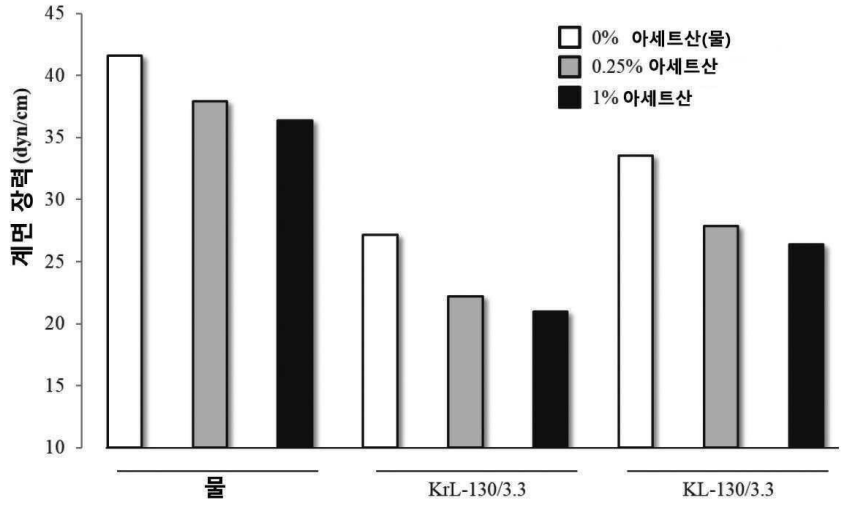
도면24



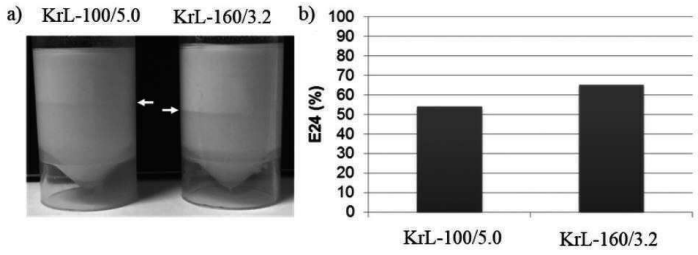
도면25



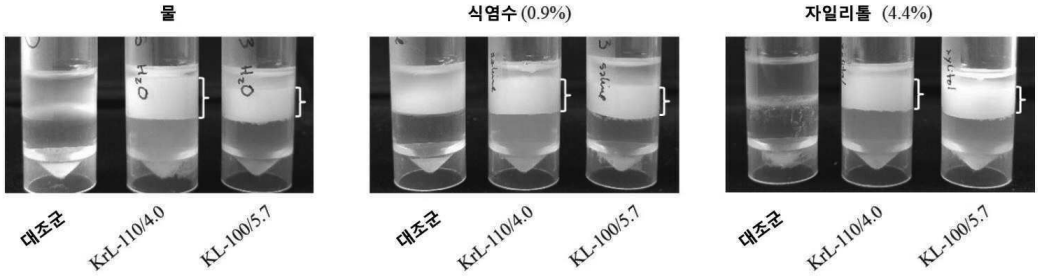
도면26



도면27



도면28



도면29

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	농도 (mg/mL)	제형 (+물)	스코어		반응 카테고리
			온전한 피부	각질제거된 (abraded) 피부	
KL-140/2.5 (Lot 73)	10	-	0	0	무시할만한
	20	-	0	0	무시할만한
	5	10 mg/mL HEC	0	0	무시할만한
	10	5 mg/mL HEC	0.06	0	무시할만한
KrL-120/5.0 (Lot 76)	10	-	0	0	무시할만한
		2 mg/mL P407	0	0	무시할만한
		5 mg/mL HEC	0	0	무시할만한
		30 mg/mL PEG400	0	0	무시할만한

도면30

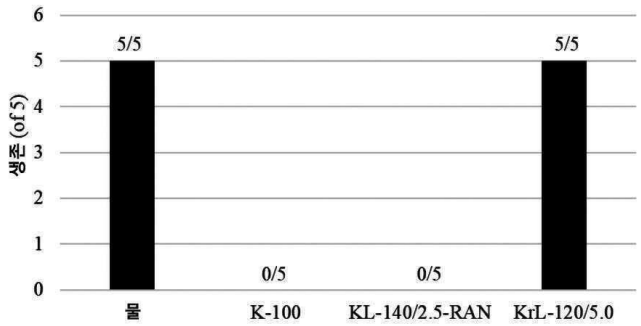
KL-140/2.5 (Lot 73), 1 중량%			KrL-120/5.0, (Lot 93) 1 중량%		
동물 #	챌린지 스코어		동물 #	챌린지 스코어	
	24h	48h		24h	48h
12497	0	0	12450	0	0
12501	0	0	12451	0	0
12503	0	0	12452	0	0
12508	0	0	12453	0	0
12514	0	0	12454	0	0
12519	0	0	12455	0	0
12520	0	0	12456	0	0
12522	0	0	12458	0	0
12525	0	0	12459	0	0
12529	0	0	12460	0	0
12532	0	0	12461	0	0

스케일	패치 테스트 반응
0	시각적인 변화가 없음
1	신중하거나 고르지 못한 홍반
2	보통의 융합성 홍반
3	심각한 홍반 및 스웰링

도면31

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	농도 (mg/mL)	복용량 (mg/kg)	반응
KL-140/2.5 (Lot 76)	20	160	이상이 발견되지 않음
	5	40	이상이 발견되지 않음
	1.25	10	이상이 발견되지 않음
	0.31	2.5	이상이 발견되지 않음
	0.078	0.625	이상이 발견되지 않음
KrL-120/5.0 (Lot 76)	20	160	이상이 발견되지 않음
	5	40	이상이 발견되지 않음
	1.25	10	이상이 발견되지 않음
	0.31	2.5	이상이 발견되지 않음
	0.078	0.625	이상이 발견되지 않음

도면32



도면33

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	농도 (mg/mL)	복용량 (mg/kg)	제형	생존
KrL-130/3.3 (Lot 77)	20	800	물	5/5
	5	200		5/5
	1.25	50		5/5
	0.31	12.5		5/5
식염수	-	-	-	5/5

도면34

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	농도 (mg/mL)	복용량 (mg/kg)	제형	생존
KrL-120/5.0 (Lot 93)	20	800	물	0/0
	5	200		0/0
	1.25	50		5/5
KrL-120/5.0 (Lot 94)	20	800	물	5/5
	5	200		5/5
	1.25	50		5/5

도면35

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	농도 (mg/mL)	복용량 (mg/kg)	제형	생존
KL-170/3.3 (Lot 86)	10	400	물	5/5
	2.5	100		5/5
	0.63	25		5/5
	0.16	6.25		5/5
KL-140/2.5 (Lot 73)	10	400	물	5/5
	2.5	100		5/5
	0.63	25		5/5
	0.16	6.25		5/5
물	-	-	-	5/5

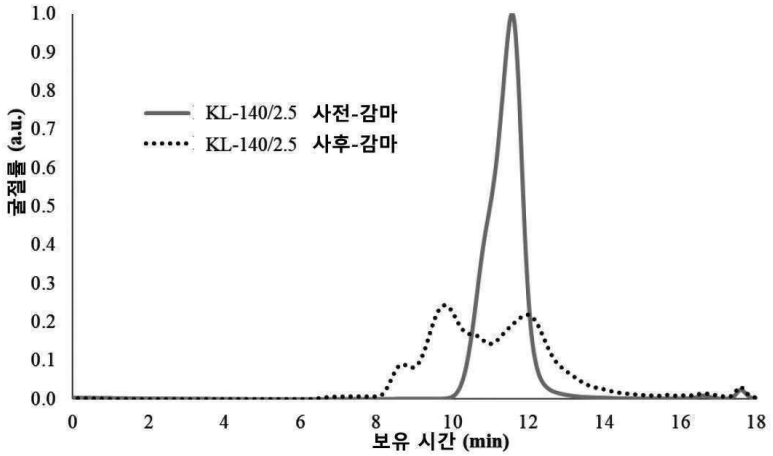
도면36

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	농도 (mg/mL)	복용량 (mg/kg)	제형	생존
KL-140/2.5 (Lot 73)	10	400	물	5/5
	2.5	100		5/5
	0.63	25		5/5
	0.16	6.25		5/5
	5	200	10 mg/mL HEC	3/5
	1.25	50	2.5 mg/mL HEC	5/5
	0.31	12.5	0.625 mg/mL HEC	5/5
	0.08	3.125	0.156 mg/mL HEC	5/5
	2	80	15 mg/mL HEC	2/5
	0.5	20	3.75 mg/mL HEC	4/5
	0.125	5	0.937 mg/mL HEC	5/5
	0.031	1.25	0.234 mg/mL HEC	5/5
물	-	-	-	5/5

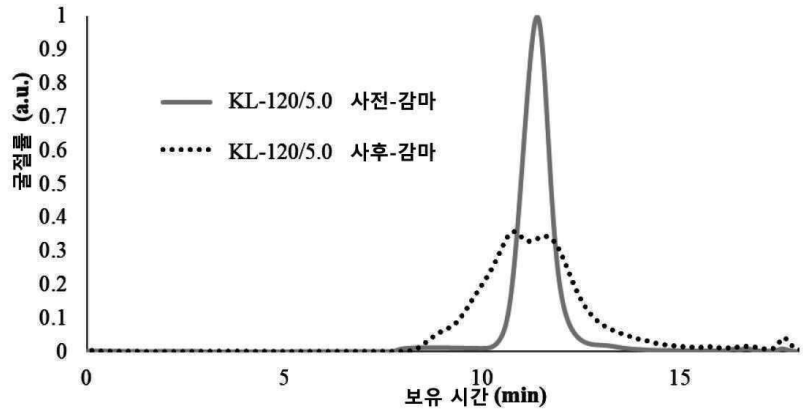
도면37

합성 양이온성 폴리펩타이드(들)	농도 (mg/mL)	복용량 (mg/kg)	제형	생존
KrL-120/5.0 (Lot 94)	20	800	물	5/5
	5	200		5/5
	1.25	50		5/5
	20	800	정상 식염수	5/5
	5	200	상기 4x 희석	5/5
	1.25	50	상기 4x 희석	5/5
	20	800	½ 정상 식염수	4/5
	5	200	상기 4x 희석	4/5
	1.25	50	상기 4x 희석	5/5
	20	800	5 mg/mL T20 + 1 glu/chain	3/5
	5	200	상기 4x 희석	5/5
	1.25	50	상기 4x 희석	5/5
	20	800	5 mg/mL T20 + 5 glu/chain	4/5
	5	200	상기 4x 희석	5/5
	1.25	50	상기 4x 희석	5/5

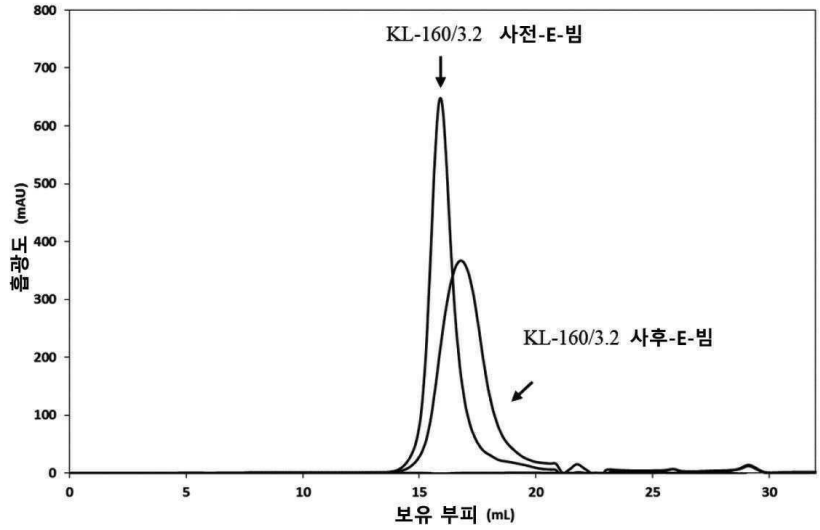
도면38



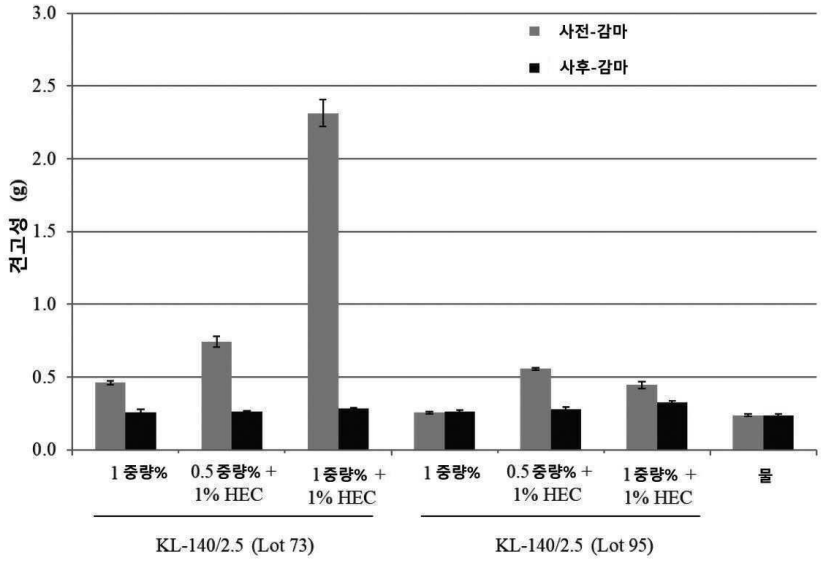
도면39



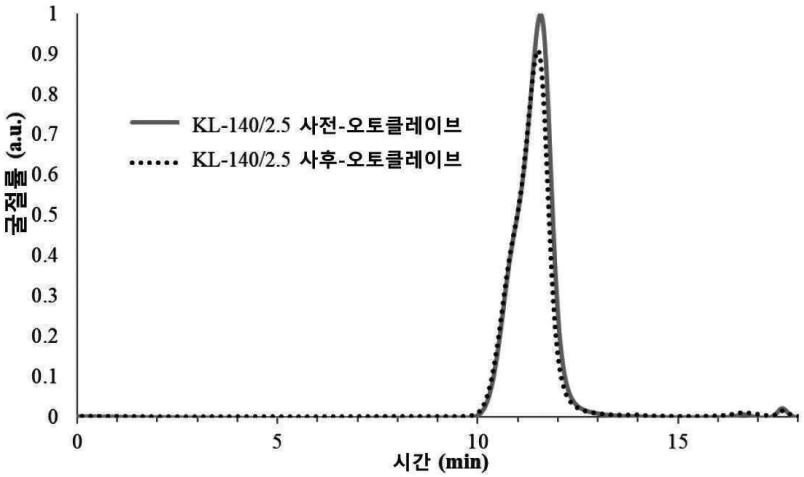
도면40



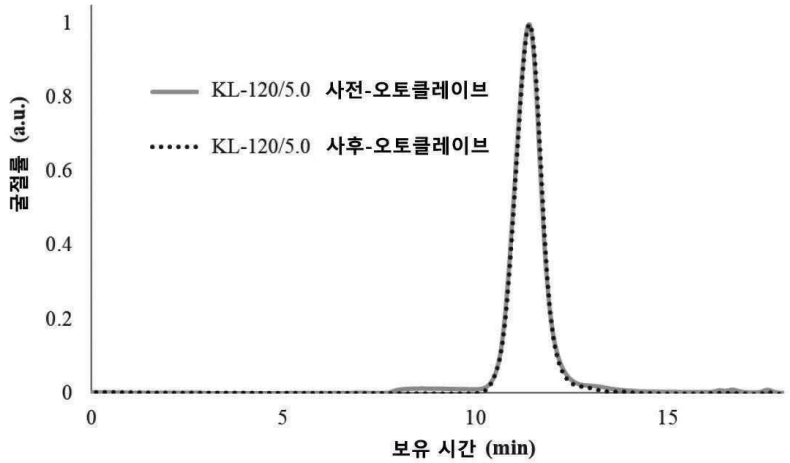
도면41



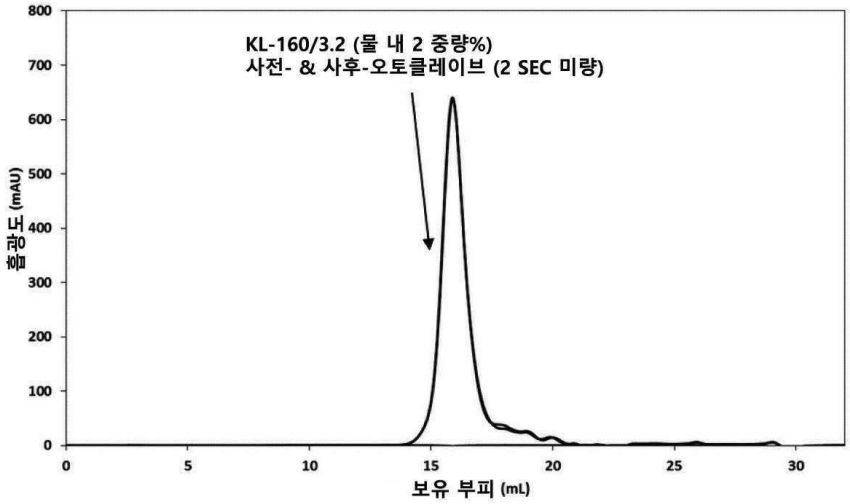
도면42



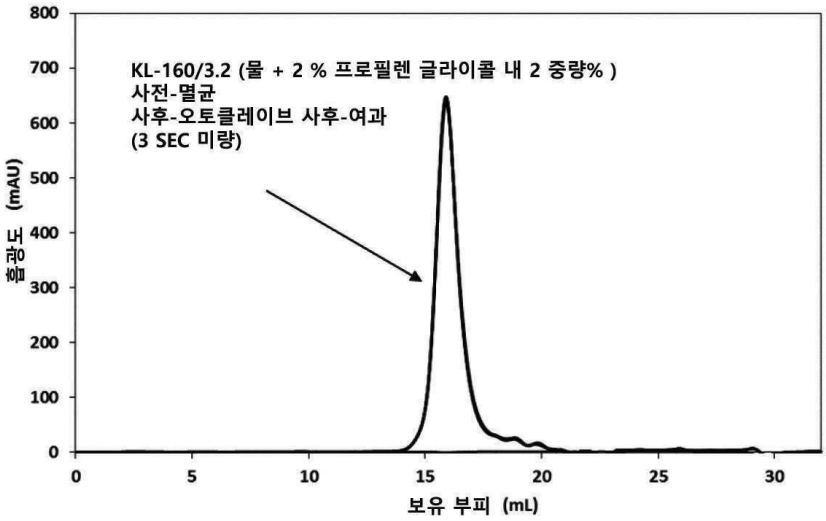
도면43



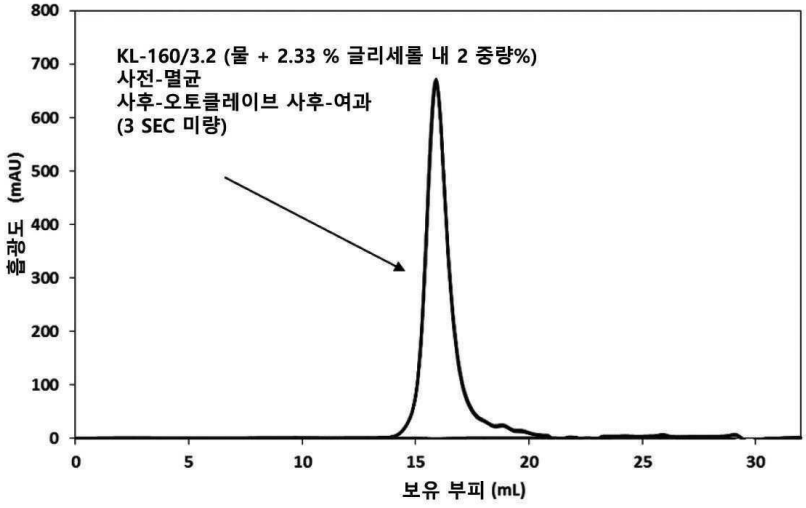
도면44



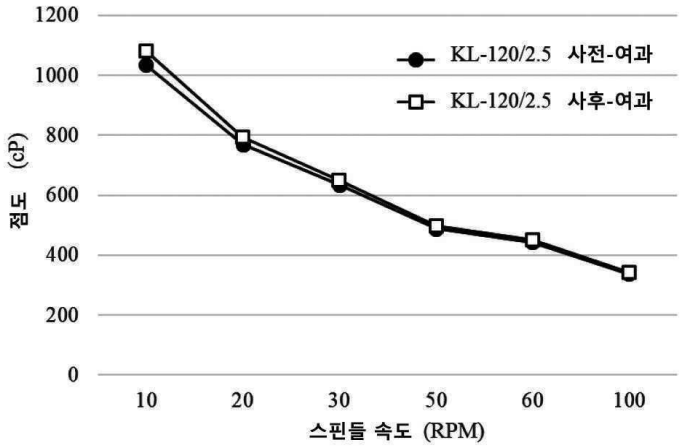
도면45



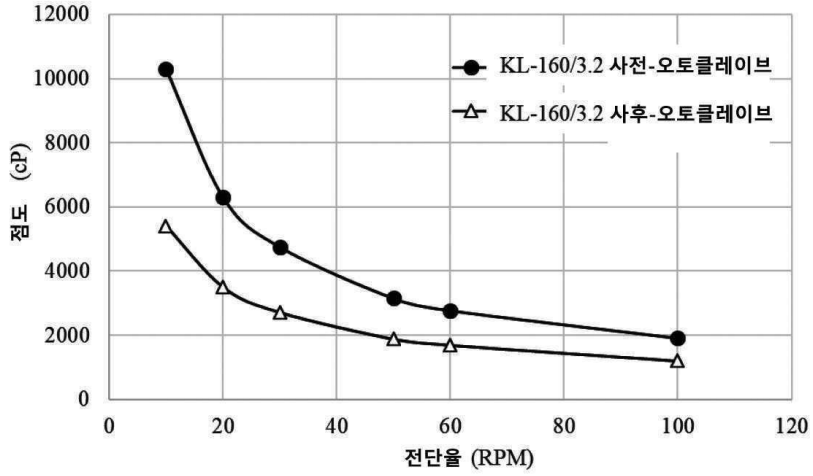
도면46



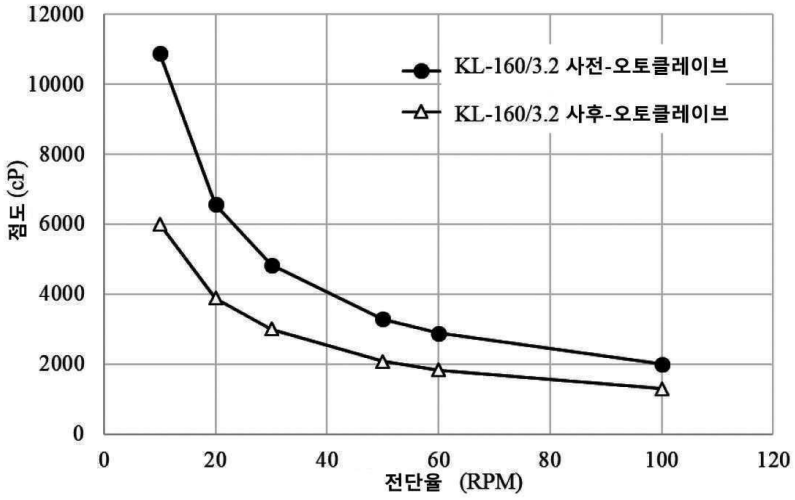
도면47



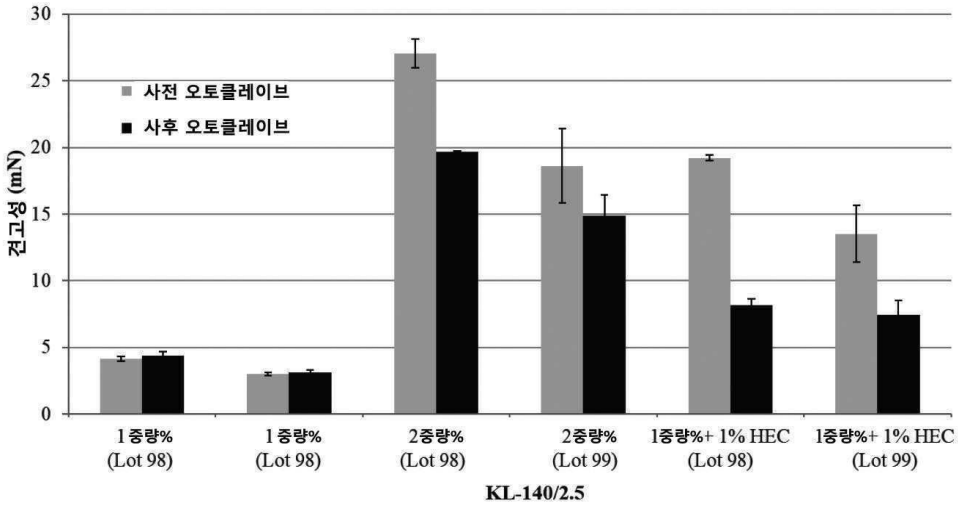
도면48



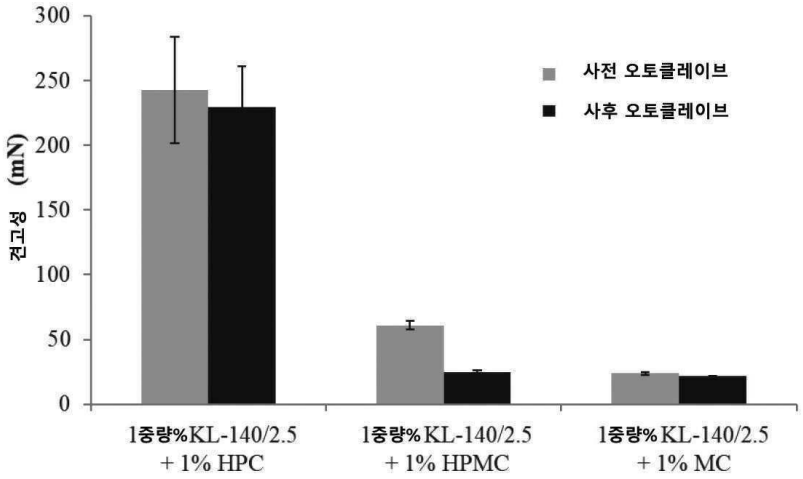
도면49



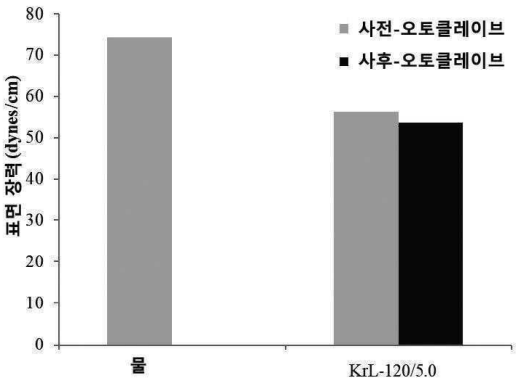
도면50



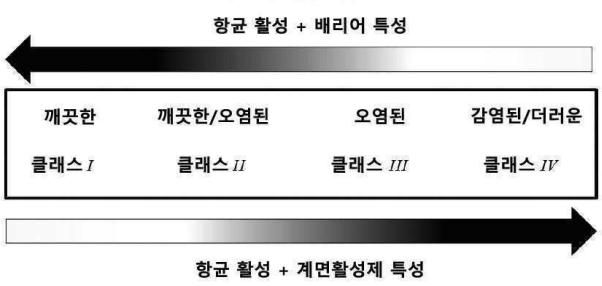
도면51



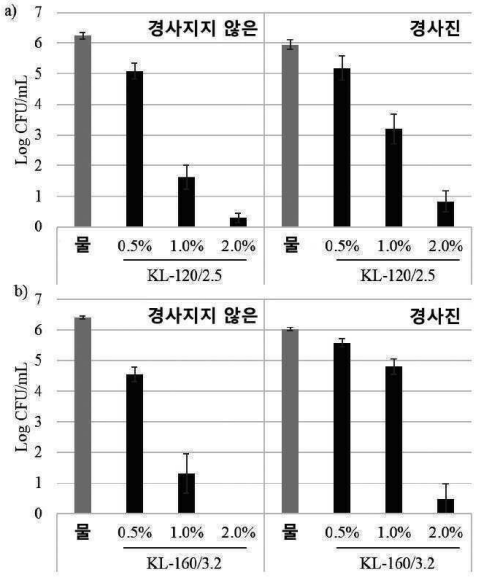
도면52



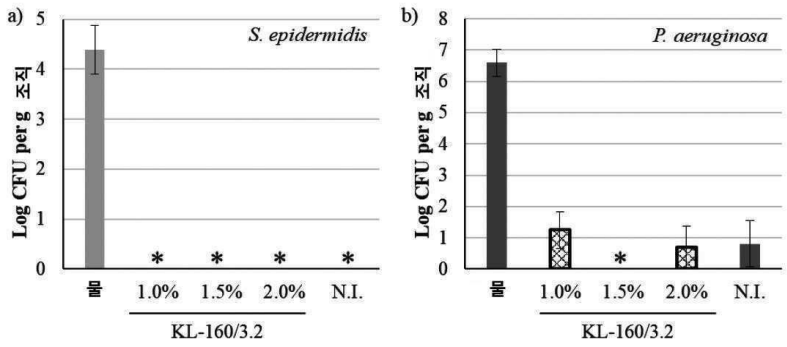
도면53



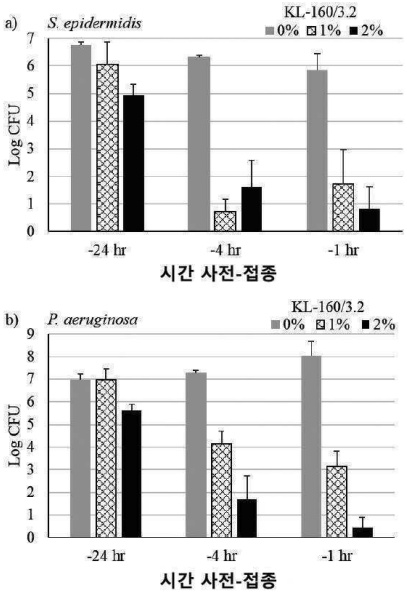
도면54



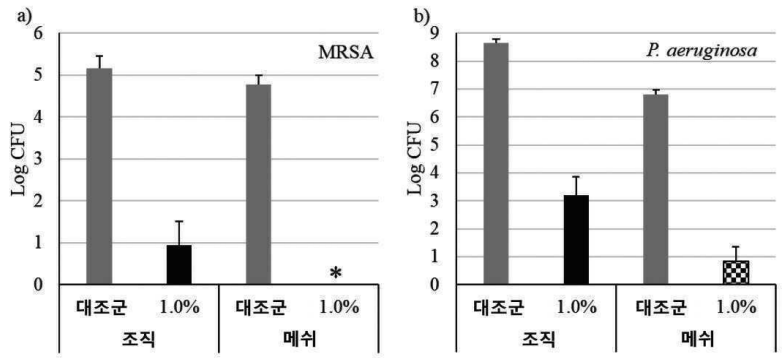
도면55



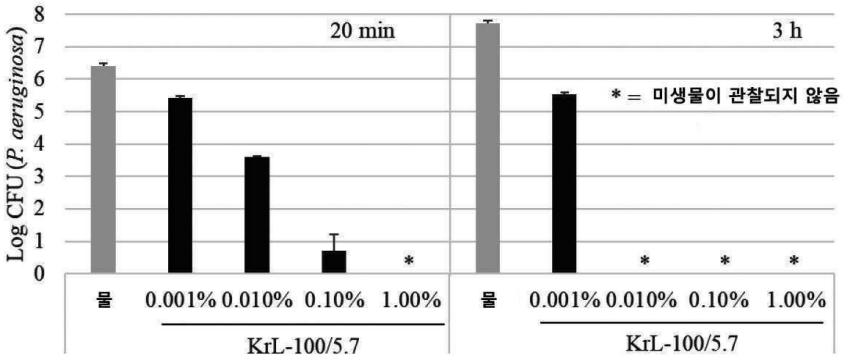
도면56



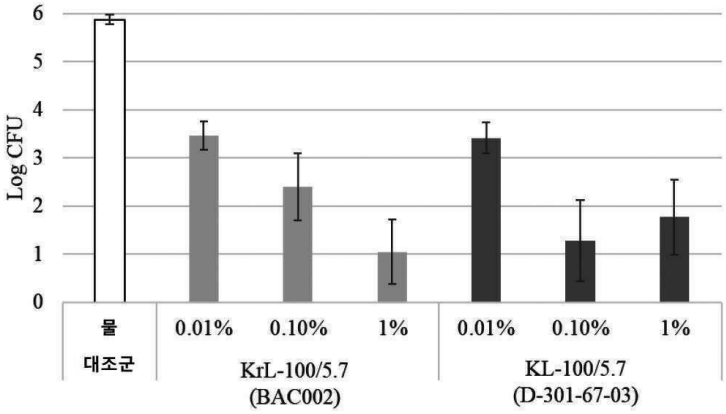
도면57



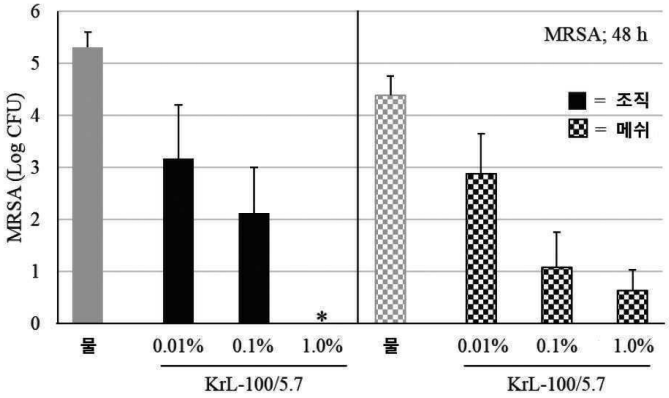
도면58



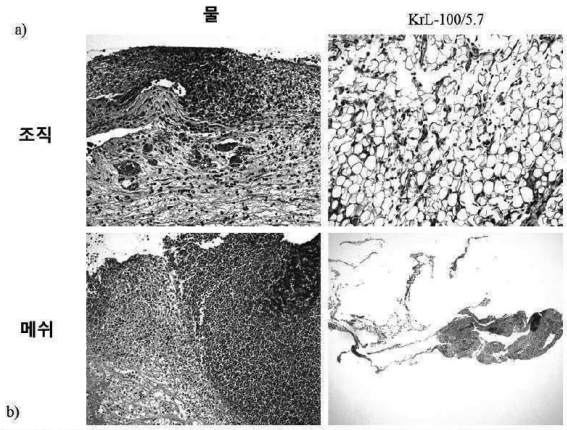
도면59



도면60



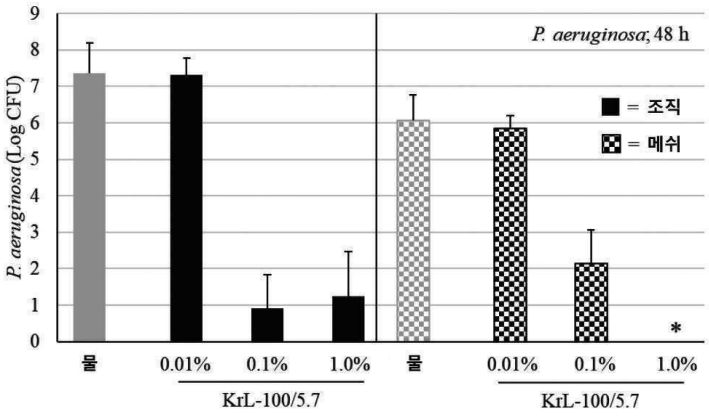
도면61



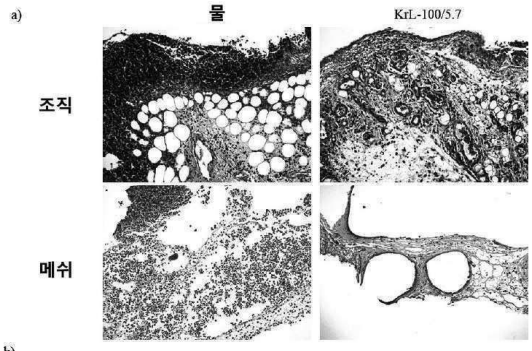
미생물	생체검사	시험 항목	항염증 스코어										평균	SEM
MRSA	조직	물	2	3	2	2	3	1	3	2	1	2	2.1	0.2
		KrL-100/5.7 (1%)	1	3	1	1	1						1.4	0.4
	메쉬	물	3	3	3	3	2	1	3	3	1	3	2.5	0.3
		KrL-100/5.7 (1%)	1	1	1	2	2						1.4	0.2

0= 없음 1= 약간 2= 일부 3= 많음 = 사진

도면62



도면63



b)

미생물	생체검사	시험 항목	항염증 스코어										평균	SEM
P. aeruginosa	조직	물	3	1	3	2	3	3	3	3	3	1	2.6	0.3
		KrL-100/5.7 (1%)	2	1	2	2	1						1.6	0.2
	메쉬	물	2	-	3	3	1	2	-	3	3	1	2.25	0.3
		KrL-100/5.7 (1%)	1	1	2	2	1						1.4	0.2

0= 없음 1= 약간 2= 일부 3= 많음 = 사진