



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년09월29일

(11) 등록번호 10-1783577

(24) 등록일자 2017년09월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

*A61K 31/573* (2006.01) *A61K 31/21* (2006.01)*A61K 31/355* (2006.01) *A61K 31/56* (2006.01)*A61K 33/00* (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)*A61K 38/17* (2006.01) *A61K 38/18* (2006.01)*A61K 38/22* (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)*A61K 51/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

*A61K 31/573* (2013.01)*A61K 31/21* (2013.01)

(21) 출원번호 10-2016-7036277(분할)

(22) 출원일자(국제) 2009년12월08일

심사청구일자 2017년01월20일

(85) 번역문제출일자 2016년12월26일

(65) 공개번호 10-2017-0001735

(43) 공개일자 2017년01월04일

(62) 원출원 특허 10-2011-7015534

원출원일자(국제) 2009년12월08일

심사청구일자 2014년10월14일

(86) 국제출원번호 PCT/US2009/067199

(87) 국제공개번호 WO 2010/077681

국제공개일자 2010년07월08일

(30) 우선권주장

61/120,785 2008년12월08일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

US20030060486 A1\*

World J Gastroenterol, 2006.08, Vol. 12, No 30, pp 4879-4883

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 6 항

심사관 : 송호선

(54) 발명의 명칭 방사선 및 화학요법 손상에서 사용되는 국소적 활성 스테로이드

**(57) 요 약**

본 발명은 국소적으로 활성이 있는 치료학적 제제로 소화관에서 급성 방사선 상해로부터 야기되는 조직 손상을 치료 및 예방하기 위해 콜티코스테로이드 또는 그의 대사산물을 전달하는 방법을 특징으로 한다.

(52) CPC특허분류

*A61K 31/355* (2013.01)

*A61K 31/56* (2013.01)

*A61K 33/00* (2013.01)

*A61K 38/00* (2013.01)

*A61K 38/1709* (2013.01)

*A61K 38/1825* (2013.01)

*A61K 38/22* (2013.01)

*A61K 45/06* (2013.01)

*A61K 51/00* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 a) 및 b)를 포함하는 환자의 소화관 내벽의 손상을 완화 또는 치료하기 위한 약제학적 조성물로, 상기 손상은 상기 환자의 화학요법에 대한 노출, 방사선에 대한 노출 또는 화학요법 및 방사선 둘 다에 대한 노출 결과인 약제학적 조성물:

a) 디프로피온산 베클로메타손인 국소적 활성 콜티코스테로이드의 유효량의 경구 투약 형태로서, 상기 유효량은 하루에 8 mg이고; 그리고

b) 조직 손상의 세포 내 다른 양상을 치료하고자 의도된 두 번째 화합물로서, 상기 두 번째 화합물은 케라티노사이트 성장인자(KGF), 탄산리튬, 및 R-스폰딘-1로 이루어진 그룹에서 선택된 것이다.

#### 청구항 2

삭제

#### 청구항 3

삭제

#### 청구항 4

삭제

#### 청구항 5

디프로피온산 베클로메타손인 국소적 활성 콜티코스테로이드의 경구 투약 형태를 환자에게 투여함으로써 상피조직을 국소적으로 치료하기 위한 약제학적 조성물로, 상기 경구 투약 형태는 디프로피온산 베클로메타손을 소화관 내강(gut lumen)에 방출하고 상기 환자의 상부 및 하부 위장관의 국소적 치료에 효과적이며, 또한 상기 환자는 방사선 또는 화학요법 치료로부터 발생하는 조직 손상으로 인한 염증 증상을 나타내고, 상기 국소적 활성 콜티코스테로이드의 유효량은 하루에 8mg이며, 상기 국소적 활성 콜티코스테로이드는 케라티노사이트 성장인자(KGF), 탄산리튬, R-스폰딘-1 또는 그의 조합물의 유효 투약량과 함께 투여되는 약제학적 조성물.

#### 청구항 6

삭제

#### 청구항 7

삭제

#### 청구항 8

삭제

#### 청구항 9

삭제

#### 청구항 10

삭제

#### 청구항 11

삭제

**청구항 12**

제 5항에 있어서, 상기 국소적 활성 콜티코스테로이드가 케라티노사이트 성장인자(KGF)의 유효 투약량과 함께 투여되는 약제학적 조성물.

**청구항 13**

제 5항에 있어서, 상기 국소적 활성 콜티코스테로이드가 탄산리튬의 유효 투약량과 함께 투여되는 약제학적 조성물.

**청구항 14**

제 5항에 있어서, 상기 국소적 활성 콜티코스테로이드가 R-스폰딘-1의 유효 투약량과 함께 투여되는 약제학적 조성물.

**청구항 15**

제 5항에 있어서, 치료제는 화학 요법 또는 방사선 요법 후의 투여에 추가적으로, 화학요법 또는 방사선 요법 전 1 내지 2회 투여되는 약제학적 조성물.

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**발명의 설명****기술 분야**

[0001] 관련 명세서

[0003] 본 명세서는 2008년 12월 8일에 출원된 미국 가출원 제 61/120,785호의 우선권을 주장하고 그의 내용이 참고로 여기에 포함된다.

[0005] 위장관에서 급성 방사선 상해로부터 얻어진 조직 손상을 국소적 유효 치료제를 사용하여 치료 및 예방.

**배경 기술**

[0007] 방사선 요법 및 화학 요법의 조합이 악성 암 세포 소거를 위해 흔히 사용된다. 방사선 또는 화학 치료제에 대한 노출은 정상 조직, 특히 위장관에서 조혈세포 및 상피세포의 파괴를 흔히 야기시킨다. 더욱이, 정상조직에 대한 손상은 예를 들어, 핵 사고 또는 테러리스트 공격에서 방사능 산포탄의 고의적인 사용에 따르는 방사성 물질의 배출에서 방사선에 대한 우연한 노출 또는 방사성 핵종파의 접촉을 포함하는 방사선의 환경적 근원으로부터 또한 일어날 수 있다.

[0008] 방사선 그 자체 또는 화학 요법과의 조합이 악성 세포를 타겟팅하거나 또는 다른 질병을 치료하는데 효과적임에도 불구하고, 그러한 용도는 전형적으로 정상적인 세포 및 조직에서의 손상과 연관한다. 이러한 손상은 섬유증, 혈관 손상, 비정상적인 혈관 신생, 뉴미니티스(pneuminitis), 죽종 형성, 골파사, 면역억제 및 위장관, 폐, 신장 및 다른 기관의 기능적 장애를 포함할 수 있다. 상부 및 하부 위장관에서의 상피세포는 암에서 사용되는 방사선 및 화학치료 제제에 의한 손상에 특히 취약하고, 유추하여 방사성 핵종에 대한 환경학적 노출 형태에서 방사선 또는 우연하거나 또는 고의적인 노출로부터의 고용량 방사선에 취약하다. 상피 세포의 손상은 직접적으로 및 간접적으로 위장관 증상, 점막염, 장염, 및 직장염을 포함하는 만성 상태를 유도할 수 있다.

[0009] 입과 식도의 상피 조직은 화학요법과 방사선에 특히 민감한다. 예를 들어, 두부 경부 암에 대한 방사선 치료

후, 점막염의 특징인 구강 궤양화가 주요 임상학적 문제이고 이들은 현저한 통증, 증가된 감염 감수성 및 섭취 불능을 일으킨다. 복부 또는 골반 암을 방사선으로 치료하면 방사선장염, 즉 소장 및 대장에서 통상적으로 일어나는 장 내면의 손상을 일으킨다. 골반 또는 복부에서 일어나는 암의 방사선 치료의 경우, 방사선 장염이 복부 및 골반 방사선의 합병증을 치료하기에 가장 어려운 것 중의 하나이다. 예를 들어, 방사선 치료 또는 노출은 골반 방사선 및/또는 화학요법의 각각의 연속적인 복용량을 가지고 상피세포의 감소를 유발하는 것으로 생각되고 임상학적으로 관찰된 급성 위장관 증상을 일으킨다. 방사선 장염의 발생은 고용량의 화학요법 및 고용량의 방사선의 조합의 현재 추세 때문에 증가한다. 동일한 절차에 의해서, 전립선암의 국소적인 방사선 치료도 하부 장의 직장염을 일으킨다. 장 및 상피 상해의 거의 동일한 절차가 어떤 화학치료 제제를 사용하여 일어날 수 있으며, 이들 제제는 5-플루오로우라실, 시스플라틴, 메토트렉세이트, 독소루비신, 하이드록시우레아, 사이토신 아라비노시드, 및 이리노테칸이다. 방사선요법, 화학요법 또는 이온화되는 방사선에 대한 우발적인 노출에 따르는 위장관의 손상은 장염, 점막염 또는 직장염을 일으키고, 대상의 생존 또는 사망률 뿐만 아니라 삶의 질에 지대한 역할을 한다.

[0010] 점막염, 직장염 또는 장염은 몇 가지 기작에 의해 일어나고 항암 약물 또는 방사선에 의한 상피의 직접적인 손상을 포함하는 수득된 궤양화 및 증상의 다인성의 원인을 지적한다. 간접적으로, 긴 시간의 방사선 노출 또는 화학치료 제제에 대한 노출 동안의 증가된 상피 손상은 침윤 럼프구, 호중구 및 대식세포 및 프로-염증성 사이토킨 및 다른 세포 이펙터(effecter) 분자의 동시 분비에 의해 일어나는 염증 반응의 결과이다. 방사선 노출 직후는 TGF- $\beta$  및 RANTES, MCP-1, 및 IL-10과 같은 케모킨과 같은 프로-염증성 사이토킨의 증가된 레벨과 완고하게 동반한다. 케모킨은 주화성 펩티드로서 세포 상해 후 염증 세포를 특별히 도입한다. 특정 케모킨의 만성적인 증가는 상해의 섬유화 상에서 단핵구 세포의 지속성을 설명할 수 있다. 장기적으로, 손상은 섬유증 및 복수의 기관 부전증을 유발할 수 있다. 방사선 또는 화학요법 노출에 이은 단기적 측면에서는, 세포 손상이 분명하다. 위장관에서, 세포 변화는 세포 예정 사멸(아폽토시스)의 절차로서 특징이 주어진다. 방사선- 및/또는 화학요법-유도 아폽토시스의 결과로서 그러한 세포 변화는 용털 끝부분의 단축; 전체 상피 표면적의 감소; 당피의 감소 및 소실 및 다능성 세포의 상실을 포함한다. 장 용털의 아폽토시스 및 줄기세포 구획으로부터 그들 보충의 감소는 장 상피의 갈라진 틈을 유도한다.

[0011] 조혈 및 상피 세포가 방사선 손상에 매우 민감하기 때문에 방사선 노출 또는 화학치료 사용 후 그들의 상실은 여러 가지 이유 때문에 치명적인 감염을 흔히 일으킨다. 위장관의 직접적인 손상은 상피 방벽의 갈라진 틈을 야기시켜 병원균이 들어오도록 한다. 장 점막에 대해 이온화되는 방사선의 급성적인 효과는 크립트(crypt)에서 상피 유사분열의 저해에 일반적으로 기인한다. 장 상피 방벽의 재생은 조혈 시스템과 유사하게 활성이 있는 줄기 세포 구획에 의존하며, 장 줄기세포는 이온화되는 방사선 노출에 특히 민감하다. 증가하는 방사선 복용량을 가지고, 장 줄기 세포는 용털을 재개체화(repopulation)하기에 충분한 세포를 생성할 수 없고, 이것은 용털의 높이를 무디게 만들고 감손시켜 궁극적으로 기능적으로 무능한 상태로 만든다. 이것은 감소된 영양분 흡수 및 방벽 기능을 야기하고 장 방벽을 통한 박테리아의 전위(translocation)를 유도한다.

[0012] 상피 세포에 대한 직접적인 손상은 장의 저관류(hypoperfusion)를 일으킨다. 즉, 체액 및 전해질의 상실을 일으킨다. 지속적인 소화관 저관류는 전신 염증 반응 증상 및 복수의 기관 부전(MOF)의 발달에 있어서 중요한 자극적 이벤트이다. 모세혈관 누출과 더불어 증가된 장 혈관 투과도는 조사 후 초기 단계에서 관찰되었고 이것은 소동맥 혈관의 중간 내지 현저한 팽창, 단축 및 비틀어짐, 도관의 숫자 및/또는 길이의 감소 및 후에 일어나는 출혈의 패턴을 포함하는 몇몇 조사-후 변형을 수반한다. 내피층도 또한 영향을 받는다. 내피 아폽토시스는 장 점막의 상실 및 생존에 있어서 중요한 역할을 또한 한다.

[0013] 방사선은 또한 면역계에서 순환하는 세포에 영향을 준다. 선천 및 적응 면역 반응에 관계하는 혈액 속 세포의 파괴는 그런 대상에서 면역 반응 따위가 제대로 발휘되지 못하는 면역계의 상태인 호중구 감소증을 일으킨다. 그 결과, 현저한 호중구 감소증을 유발하는 임의의 약물 또는 치료는 장염 또는 점막염을 촉진시킬 수 있다.

[0014] 급성 방사선 및/또는 화학요법-유도 장염 손상 둘의 증상은 누공, 협착, 궤양화, 천공, 및 만성 흡수불량을 일으키는 장 상해를 포함한다. 오심(nausea), 구토 및 식욕 부진의 증상도 또한 경험될 수 있고, 극심한 설사 및 통증을 유발하는 일반적인 영양소모를 일으킨다. 상기 증상은 잠재적으로 생명을 위협하는 합병증이고 대상의 삶의 질에 영향을 가진다. 악액질(cachexia) 및 죽음이 뒤이어 일어난다.

[0015] 골반 조사 및/또는 화학 요법에 의해 유도되는 소장에서의 기능적 변화는 지방, 탄수화물, 단백질 및 담즙염의 흡수불량을 포함하며 임상학적으로 설사로서 나타난다. 골반 조사에 의해 가장 영향을 받는 소장의 세그먼트(segment)는 회장(ileum)이고, 이것은 골반을 방사선 빔의 필드에 직접적으로 놓는 그것의 골반 위치에 기인한

다. 방사선 장염은 확산한 콜라겐 침전물 및 진행성 페색 혈관염을 나타낸다. 혈관염 및 섬유증은 시간이 지남에 따라 발전되어 협착에 가장 가까운 장의 팽창을 가진 장 강(lumen)의 좁힘을 일으킨다. 만성적인 기초에 의거하여, 방사선 노출은 방사선 상해의 위치에 따라 조직 섬유증을 유발시킨다. 섬유화 절차는 진행성이어서 임상학적 증상을 악화시킨다. 장 및 장막의 영향받는 세그먼트는 두꺼워진다. 장에 대한 손상의 경우에 있어서, 영향받는 부위는 종종 외과적으로 절단된다. 그렇기는 하지만 영향받는 부위를 제거하는 외과술임에도 불구하고 섬유증 절차는 시간에 따라 계속된다. 장벽의 케양화, 괴사 및 우발적인 천공이 일어날 수 있다. 에스상결장도 그것의 골반 위치에 기인하여 골반 방사선 치료에 의해 또한 영향을 받는다. 만성 골반 방사선 상해의 개시는 몇 달 내지 몇 년 동안 지연될 수 있다. 후기 장 손상의 의학적 관리는 어렵고 방사선 요법의 이들 후기 합병증은 숙주의 영양 상태에 바람직하지 않은 효과를 가질 수 있다. 같은 시나리오가 위장관에 대한 만성 화학요법-유도 상해에도 적용된다.

[0016] 소장 크립트 세포와 같은 빠르게 증식하는 조직은 방사선 및 화학요법의 동시 투여에 특히 민감하다. 방사선은 그 자체 재생의 프로세스로서 크립트 밖으로 및 융털 위로 상피 세포가 이동함을 저해하지는 않는다. 다소 그들은 아폽토시스를 겪고 장 융털로부터 떨어진다. 장의 상피 크립토 세포가 조사에 노출된 후, 유사분열 정지는 비성숙 분비 크립트 세포 대 성숙 융털의 장 세포의 비를 증가시킨다. 흡수 및 분비성 세포의 수와 탄수화물, 지방, 단백질 및 담즙염의 최종 소화에 관여하는 미소융모 효소의 파괴 사이의 균형이 이동되면 체액 및 전해질의 비정상적인 흡수 및 분비를 야기시킨다. 정상적인 생리학적 조건하에서, 소장 및 결장의 상피는 낮은 속도의 자발적인 아폽토시스를 겪는다. 장 크립트의 아폽토시스의 속도의 빠른 증가는 동물이 낮은 양의 방사선(15 센티 그레이스 [cGy])에 노출되었을 때 일어난다. 아폽토시스는 일반적으로 크립트의 줄기세포에서 주로 관찰된다. 아폽토시스의 속도는 방사선 양에 의존하고 1 그레이(Gy)에서 안정 상태에 도달한다. 줄기 세포 구역에서 아폽토시스의 증가된 속도는 암 억제 유전자 p53의 증가된 발현과 평행하다. 방사선에 의해 유도된 아폽토시스는 p53의 존재에 의존적이다. 소장 줄기세포는 결장과 직장에 bcl-2가 존재하기 때문에 결장 및 직장의 줄기세포와 비교하여 방사선에 더욱 민감하다.

[0017] 상피 손상 및 연관된 점막염, 장염 및 직장염의 치료는, 어느 것도 홀로 사용해도 완전하게 효과적이지 않거나 방사선 상해에 의한 증상을 치료하는 임의의 다른 화합물과 함께 사용해도 완전하게 효과적이지 않음에도 불구하고, 다양한 치료적 분자를 가지고 시도되어 왔다. 방사선 또는 화학요법-유도 장염의 경우에서, 가장 흔한 치료 접근법은 비특이적 제제의 사용이다. 몇몇 제제가 실제 처치에서 현재 사용중이며, 이것은 파레고리크, 디페녹실레이트 및 아트로핀, 및 로페라미드를 포함한다. 이들 약물의 사용 목적은 설사 증상을 완화하는 것이고 상피 손상 및 염증의 근원적인 원인은 아니다. 상기 증상을 개선하는데 부분적으로 효과적임에도 불구하고, 이들 약물의 유용성은 보다 심각한 증상의 조절에 있어서 쓸모있게 생각되지 않으며, 단지 완화제이다. 임상학적 연구에서 사용되는 다른 제제는 비스테로이드 항염증 제제인 비스무스 서브살리실레이트, 콜레스티라민을 포함한다. 다른 치료 및 예방 전략들이 동물 연구 및 임상에서 또한 사용되어 오고 있다. 예를 들어, 소마토스타틴 유사체인 옥트레오티드가 염화물 분비에 대한 직접적인 영향때문에 방사선 장염의 설사 증상을 개선하는데 약간의 이익이 있음이 보여 주었으나, 방사선 조사에 직접적으로 기인하고 염증에 간접적으로 기인하는 상피 손상을 예방하는데는 어떠한 역할도 하지 않는 것 같다. 예를 들어, 위장관 호르몬의 저해, 곧 운동성, 혈류 및 상피 세포의 증식에 영향을 주기 때문에, 옥트레오티드는 소장의 방사선 조사 후 급성 점막 변화를 감소시키는 것으로 생각된다. 위 호르몬 가스트린의 상승 조절은 방사선 보호의 더 높은 정도와 관련이 있다. 방사선 상해의 효과를 치료하기 위해 사용된 치료학적 전략의 다른 예들은 비타민 E 단독 또는 펜토시필린과 조합으로 사용되는 항산화제, 고압산소의 처리, 장 병원균과 경쟁하는 프로바이오틱스의 용도를 포함하는 음식물의 변형, 로페콕시브(Celebrex®)와 같은 사이코옥시게나제-2의 저해제, LPA2 수용체 저해제인 아미포스틴, 및 마이크로나이즈드(micronized) 수크랄페이트와 같은 약물의 제형을 포함한다.

[0018] 특히 방사선 손상을 치료하는데 있어서 현재의 관습 및 방법은 지지 요법의 개념을 도입하여 호중구의 보충을 강화하기 위해 대상을 GMCSF로 처리함으로써 호중구 감소증의 효과를 상쇄하고 항생제를 사용하여 박테리아 발병의 효과를 상쇄하는 것이다. 뿐만 아니라, 지지 요법은 혈액 구획을 자가 또는 이종 기원의 골수로써 재구성하는 방법의 사용이다. 기술된 바와 같은 지지 요법은 염증을 직접적으로 치료하지 않고, 원발진의 기초가 되는 상피 손상을 치료하도록 의도하지 않는다.

[0019] 손상 원인의 다인성 성질을 다루기 위해 특이적인 치료학적 처치가 필요함이 점점 분명해지고 있다; 이것은 상피 세포 재생 절차를 늘리도록 고안된 조절 분자를 사용하여 상피 세포에 대한 손상을 완화하는 전략, 단핵구, 호중구의 침윤 및 결과로서 생기는 프로염증 사이토kin 및 케모킨의 분비를 감소하도록 목적된 항-염증 제제를 사용하여 상피 세포에 대한 손상을 완화하는 전략, 또는 상피 방벽에 대한 미생물 침해의 프로염증 효과를 완화

하는 전략을 포함한다. 조절되고 측정된 방사선 요법 또는 방사선 근원에 대한 우발적인 노출 또는 방사능 산포 탄 또는 핵사고의 결과로서의 노출에 기인한 고용량 노출의 형태로 방사선 노출 결과를 치료하는 향상된 치료법에 대한 필요성이 아직도 존재한다.

[0020] 다른 치료적 처치가 과량의 방사선 또는 화학요법으로부터의 상피 손상을 치료 또는 예방하는데 고려될 수 있다. 예를 들어, 케라티노사이트 성장 인자(KGF)가 화학방사선 요법 독성에 대해 세포보호 체제가 됨을 보여주었다. KGF는 KGF 수용체 (KGFR)로 알려진 섬유아세포 성장 인자 수용체 2 (FGF-2)의 스플라이싱 변형체에 결합한다. 상피 조직은 KGFR를 발현하는 것으로 알려진 유일한 조직이다. KGF가 구강 점막에서 KGFR과 결합할 때, 그것은 티로신 키나제-매개 경로를 통해 세포 증식을 향상시킨다. 젖과 모델에서, KGF는 동종 이계의 골수 이식 (BMT) 후 GVHD 및 특발성 간질성 폐렴을 개선할 수 있다. KGF는 손상된 상피 조직의 면역 매개 상해를 감소시킨다. KGF는 상피 세포에 대해 증식적인 효과를 가지며, 화학요법, 방사선 및 산화적 스트레스에 의해 유도된 상해로부터 상피 세포를 보호한다. KGF는 방사선으로부터 흉선 상피 세포를 보호한다. BMT 수령 마우스에게 TBI 및 동종 이계의 BMT 전에 KGF 또는 위약이 주어졌다. KGF 사전 처리는 흉선이 공여자-유래 흉선 세포를 생성하는 능력을 증가시키고, 말초 혈에서 온전한 T 세포의 숫자를 증가시키고 및 신생 항원에 대한 면역 반응을 향상시켰다. KGF 처리는 흉선 내부의 IL-7 생성을 증가시켰다. KGF는 흉선 상해를 방지하고 BMT 수령자에서 면역 결핍을 연장하였다. KGF는 자가 HCT 후 붉은 텔 원숭이(rhesus macaques)에서 면역 재구성을 또한 증대시켰다.

[0021] 고용량의 방사선 후 구강 점막염의 예방을 위한 KGF의 임상시험은 12 Gy 분별화된 TBI 조건 요법 전 3일간 및 자가 말초혈 줄기세포(PBSC)의 주입 후 3일간 rhKGF 60  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{일}$ 을 받은 대상은 점막염의 심한 증세의 현저한 감소 및 위약과 비교하여 점막염의 지속기간 즉, 3.4일 대 10.4일로 감소됨을 경험하였다( $p<0.001$ ). 발열 호중구 감소증의 발생은 KGF에 있어서 26%였고, 위약에 대해서는 46%였다. 발열 호중구 감소증의 평균 일수는 KGF에 있어서 2.6일이었고, 위약에 대해서는 4.6일이었다. KGF는 화학방사선요법 유도 점막염을 예방하고자 미국에서 대상들을 위해 현재 사용되고 있다. 건강한 자원자에 대해 현저한 위험없이 KGF는 안전하고 예측가능한 약물 동력학을 가진다. 그러나 방사선 유도 장염 또는 상해에서 KGF의 유효성은 증명되지 않았다.

[0022] 리튬은 단순한 양이온으로 양극성 장애의 치료에 사용되며 초기 발생에 있어서 형태 형성에 효과를 갖는다고 또한 알려져 있다. 예를 들어, 리튬은 강력하고 특별하게 글루카곤 신테타제 키나제3-베타(GSK-3 $\beta$ ) 활성을 저해하여  $\text{Wnt}/\beta$  카테닌 신호 경로를 통해 장 줄기세포 증식을 활성화한다. 즉 장 줄기세포 증식 및 발달에 중요한 역할을 한다. GSK-3 $\beta$ 를 저해하여, 리튬은  $\text{Wnt}/\beta$ -카테닌을 상승조절을 허락하여 장 크립트 줄기세포의 증식을 자극한다. 리튬은 순환성 호중구 감소증(cyclical neutropenia)을 성공적인 치료를 위해 그레이 콜리 개에 투여되었다. 리튬은 증가된 과립성 백혈구 회복을 향상시켰으며, 개에서 시클로포스파미드 유도 소화관 상해를 감소시켰다. 마우스를 리튬으로 처리하면 커진 크립트를 야기하나 리튬의 방사선-유도 상피 상해에 대한 효과는 알려져 있지 않다.

[0023]  $\text{Wnt}$  경로에 대해, 다른 조절 웹티드 및 호르몬이 방사선 유도 상해 치료에 유용할 수 있다. 예를 들어, R-스폰дин 1은 아마도  $\text{Wnt}$  경로를 통해서 손상된 장 상피의 회복을 매개한다. 분비 리간드의 R-스폰дин(RSpo) 패밀리는 정준(canonical)  $\text{Wnt}$  패밀리 멤버와 유사하게  $\beta$ -카테닌 신호를 활성화한다. R-스폰дин 단백질 패밀리는 4개의 인간 파라로그(R-스폰дин 1-4)를 포함하고 이를 각각은 주요한 신호 웹티드, 2개의 시스테인-풍부, 퓨린-유사 도메인, 및 하나의 트롬보스폰딘 타입 1 도메인을 포함한다. 분비되는 단백질의  $\text{Wnt}$  패밀리는 장 상피 세포의 발생, 분화 및 증식을 포함하는 중요한 역할을 한다.  $\text{Wnt}$  신호는 세포질 내  $\beta$ -카테닌의 레벨을 조절함으로써 하류의 세포의 반응을 유도한다.  $\text{Wnt}$ 가 부재시에는,  $\beta$ -카테닌이 인산화되어 프로티아솜에 의한 빠른 분해를 위해 타겟팅된다.  $\text{Wnt}$ 는 LRP6 세포질 내 꼬리에서 GSK3 및 카세인 키나제 I에 의해 PPPSP 모티프의 순차적 인산화를 유도하고 그 후 스캐폴드 단백질인 Axin을 도입한다.

[0024] 주요 약리학적 작용이 소화관의 상피 조직에서 국지적으로 일어나는 국소적으로 작용하는 항염증 약물은 면역 활성화 및 염증의 국부적 효과를 감소시키는 것으로 작용할 수 있다. 이것은 부데소니드(엔토코트®)를 가지고 클론병의 경우에서 증명되었고 클론 완화에 부분적으로 효과적이다. 장 이식편대숙주병은 디프로피온산 베클로메타손(BDP)이 효과적이다. 부데소니드 및 유사하게 국소적으로 작용하는 콜티코스테로이드 약물(TACs)과 함께, BDP도 강력하고 국소적으로 작용하는 콜티코스테로이드이다. 예를 들어, BDP 및 그것의 대사산물, 17-베클로메타손 모노프로피온산의 항염증 및 면역억제 효과는 그것의 주요 약학적인 활성 대사산물로서 고려된다. BDP의 항염증 활성은 그것의 게놈믹 효과(프로-염증 사이토kin의 감소된 생성을 유도하는 전자인자의 억제, 접착분자 발현의 저해 및 T 세포의 아폽토시스) 뿐만 아니라 강력한 비게놈믹 효과(면역 억제, T 세포의 아폽토시스) 및 NFK- $\beta$ 와 같은 세포 내 전체적인 조절 분자를 통해 이루어진다.

[0025]

인간 혈장에서 BDP의 주요 분해 경로는 BDP에서 17-BMP 및 21-BMP(이들 두 대사산물의 상호전환을 가지고)로 그 후 베클로메타손(BOH)으로 제안된다. BDP 대사산물 17-BMP은 BDP 자체보다 ~25배 강력하고 텍사메타손의 친화도의 13배인 글루코콜티코이드 수용체 결합 친화도를 갖는다. BDP 및 BOH는 각각 텍사메타손의 결합 친화도의 약 1/2 및 3/4을 가지고 글루코콜티코이드 수용체에 결합하고, 21-BMP는 상기 수용체에 분명한 친화도를 갖고 있지 않다. 글루코콜티코이드 수용체에 대한 보다 더 큰 결합 친화도를 가질 뿐만 아니라, 17-BMP는 다른 대사산물보다 더 높은 분명한 변화성을 가진다. <sup>3</sup>H-BDP의 구강 투여를 따르는 랫트의 혈장에서 변화하지 않은 BDP는 감지되지 않았다. 주요 대사산물(17-BMP)은 랫트의 혈장에서 발견되었고, 이것은 소화관, 혈장 또는 둘 다에서 모체 분자가 대사산물로의 빠른 변형을 제시하는 것이다. <sup>3</sup>H-BDP를 정맥 투여하면 3-4분의 반감기를 가진 변화되지 않은 BDP가 잠깐 나타났으며, 17-BMP의 높은 농도가 곧바로 나타나서 혈장에서 모체 분자가 대사산물로의 빠르게 변형됨을 제시하였다. BDP의 17-BMP로의 가수분해도 장에서 빨리 일어나는 것 같았고, 17-BMP의 BOH로의 추가적인 가수분해는 매우 느린 속도로 일어났다. 모의 실험된 장 체액에서의 BDP 및 17-BMP의 반감기는 각각 2.1 분 및 12 시간이었다. BDP의 17-BMP로의 가수분해는 장 체액 또는 점막 상피 세포 둘에서 모두 일어날 수 있다. 17-BMP의 욕심 많은 글루코콜티코이드 수용체 결합 친화도, 높은 조직 농도, 위장관 점막에서의 연장된 거주 및 장-간 재순환의 조합은 경구 BDP가 위장관 점막에서 현저한 국소적 활성을 제공함을 제시한다. 뿐만 아니라, DBP 투여 후, 17-BMP의 21 내지 41%로 추산되는 상대적으로 낮은 절대 경구 생체 이용 가능성은 높은 제거를 가지고 전신 노출을 제한한다. 국소적인 BDP는 가슴 조사를 따른 피부 탈피를 감소시키는데 사용되며 흡입된 BDP는 가슴 조사 후 간질성 폐렴을 감소시키는데 사용된다. BDP 관장은 원위부 케양성 대장염을 치료하기 위해 성공적으로 사용되었다. 국소 제제로 적용되는 다른 강력한 콜티코스테로이드는 급성 방사선 피부염의 치료에 성공적이었다. 그러나, 소화관에서 상피 조직에 국소적으로 적용된 BDP 또는 다른 국소 스테로이드 또는 항-염증 약물이 오직 방사선 손상 또는 다인성 프로세스에서 다른 포인트에 작용하는 약물 및 분자와 더불어 기인하는 염증 상피 손상을 치료하거나 예방한다는 것은 알려지지 않았다.

[0026]

괄목할 만한 발전이 방사선 상해 동안 지지요법의 치료에 대하여 만들어졌지만, 기초를 이루는 방사선 손상의 다인성 원인을 조절하여 방사선 상해를 치료하는 향상된 방법에 대한 기술의 필요성이 아직도 있다. BDP와 같은 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드 약물(TACs)이 홀로 작용하여 염증 연쇄반응 및 고용량의 방사선 상해 증상을 감소시키고 상피 조직에 국소 적용하여 방사선 장염, 점막염, 및 방사선 상해를 치료 또는 예방하는데 사용될 수 있음은 본 발명의 놀라운 발견이다. 추가로, 본 발명의 예상치 못한 놀라운 발견은 TACs가 성장 인자 및 사이토카인과 상승적으로 작용하여 위장관 상피 조직에서 방사선 또는 화학요법-유도 조직 손상으로부터 일어나는 증상의 지속기간 및 강도를 감소시키는 것이고 노출 전에 주어진다면 케양화 및 조직 손상의 발달로부터 보호할 수 있는 것이다. 뿐만 아니라, 리튬이, Wnt 신호 활성화를 통해, 장 상피 방사선 및 화학요법-유도 손상을 치료할 수 있음과 BDP 및 리튬이 부가적 또는 상승적으로 작용하여 증상의 심한 정도, 개시 및 기간을 감소 시킨다는 것이 본 발명의 놀라운 발견이다.

[0027]

본 발명에 의하여, 방사선 상해는 소화관의 내강에서 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드를 단일요법으로 또는 KGF 또는 R-스폰딘-1과 같은 성장인자와 상승적으로 같이 사용하여 치료될 수 있거나 또는 예방될 수 있다. 뿐만 아니라 호중구(예, GMCSF)를 보충하거나 균혈증(항생제)을 방해하도록 의도된 지지요법에 의해서도 방사선 상해가 치료될 수 있거나 또는 예방될 수 있다. 국소적 BDP는 방사선으로 손상된 위장관에 의해 유도된 염증 사이토카인 폭풍을 감소시킬 수 있다. 조사로부터의 소화관 상해는 상피 세포 손상 및 장의 저관류 상태(hypoperfusion)와 연관이 있다. 이것은 순차적으로 전신의 염증 반응을 자극한다. 소화관 점막 내의 BDP 및 그의 대사산물인 17-BMP는 점막 손상을 악화시키는 세포 및 선천성 면역 기작을 저해할 수 있다.

## 발명의 내용

### 과제의 해결 수단

[0029]

#### 발명의 요약

[0030]

본 발명은 방사선 또는 화학치료 제제의 해로운 양에 노출된 대상에서 상피 세포독성에 의한 세포 및 조직의 손상의 심한 증세를 예방 또는 감소시키는 새로운 접근법을 제공하며, 이것은 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드 홀로 또는 방사선 및 화학요법-유도 상피 및 조직 상해의 경로에 있어서 다른 포인트에서 작용하는 다른 치료적 분자와의 조합의 유효성을 대상에게 투여함으로써 이루어진다. 본 발명의 목적은 전 기술과 관련된 하나 또는 그 이상의 어려운 점 또는 결핍을 극복 또는 적어도 완화하는 것이다.

- [0031] 첫 번째 양상에서, 본 발명은 화학요법 및/또는 방사선으로부터 야기된 소화관 내면의 손상을 예방, 완화 및/또는 치료하는 방법을 제공하고, 이들 방법은 상피 손상의 염증 성분을 완화하는 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드의 유효량을 필요로 하는 대상에게 투여함을 포함한다.
- [0032] 두 번째 양상에서, 본 발명은 화학요법 및/또는 방사선으로부터 야기된 소화관 내면의 손상을 예방, 완화 및/또는 치료하는 약제학적 조성물을 제공하는 것이고, 상기 조성물은 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드의 유효량을 포함한다.
- [0033] 세 번째 양상에서, 본 발명은 화학요법 및/또는 방사선으로부터 야기된 소화관 내면의 손상을 예방, 완화 및/또는 치료하는 방법을 제공하고, 이들 방법은 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드 및 조직 손상의 세포 내 다른 양상을 치료하고자 의도된 두 번째 화합물과 조합으로의 유효량을 필요로 하는 대상에게 투여함을 포함한다. 이들 두 번째 화합물은 성장 인자, 조절 분자, 케라티노사이트 성장 인자(KGF), R-스폰딘-1, 및 그의 유사체 및 상동체와 같은 항-염증 분자, 소마토스타틴, 옥트레오티드, 가스트린, 그렐린과 같은 호르몬, 사이클로옥시게나제-2의 저해제, 항산화제, 비타민 E, 수크랄레이트, 리소포스파티딕산의 유사체, LPA-2 수용체의 작용제 또는 길항제, 아미프로스탄 및 다른 방사선보호제 또는 방사선-완화 약물을 포함한다.
- [0034] 네 번째 양상에서, 본 발명은 단독으로 사용 또는 성장 인자 및 다른 약물과 함께 사용하던 간에 경구 제형으로 TAC를 가지고 상처받은 상피 조직을 국소적으로 치료하는 방법을 구성하는 제형을 제공한다. 본 발명은 어떤 TACs 특히, 디프로피온산 베클로메타손(BDP)이 대상에게 경구 및 방사선 또는 화학요법 치료로부터 유발된 조직 손상에 의한 염증 증상을 완화하는데 상부 및 하부 위장관 및 구강의 국소적 또는 국지적(즉, 관강 또는 점막) 치료가 효과적인 투약량으로 투여될 수 있고 상기 약물이 체순환에 진입하여 프레드니슨과 같은 전신 스테로이드와 연관된 일반적인 부작용을 일으키지 없다는 발견에 기초한다.
- [0035] 본 발명은 경구로 투여된 제형의 TAC가 위장관 또는 구강에서 방사선-유도 또는 화학요법-유도 손상의 증상을 완화하고 상피 손상을 수선하는데 기능을 하는 성장인자 및 다른 치료적 분자들과 함께 상승적으로 또는 부가적으로 작용한다는 발견에 기초하고 있다. 상기 화합물과 약물은 케라티노사이트 성장 인자(KGF), R-스폰딘-1, 및 그의 유사체 및 상동체, 소마토스타틴, 옥트레오티드, 가스트린, 그렐린과 같은 호르몬, 사이클로옥시게나제-2의 저해제, 항산화제, 비타민 E, 수크랄레이트, 리소포스파티딕산의 유사체, LPA-2 수용체의 작용제 또는 길항제, 아미프로스탄 및 다른 방사선보호제 또는 방사선-완화 약물을 포함한다.
- [0036] 상기의 선택된 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드 약물의 유효량은 구강 또는 위장관으로 구강 제제로서 투여되고 투여량의 오직 일부분이 체 순환계에 흡수되고 흡수된 부분은 제한된 전신 노출을 제공하며 재빠르게 제거된다. 콜티코스테로이드 약물의 강력한 항-염증 활성은 구강 또는 위장관의 손상된 지역에 특히 집중되어 있다. 따라서 전신 스테로이드에 일반적으로 기인한 부작용은 최소화되고 조직 염증 및 궤양화를 조절한다. 소장 및 대장으로부터 빠진 정맥 혈은 궁극적으로 문맥을 통해 간으로 들어간다. 선택되어 사용되는 스테로이드 약물의 복용량이 과량이 아닌 이상, 체 순환계에 상당한 양이 축적되기 이전에 간은 상기 약물을 불활성화 할 수 있다.
- [0037] 따라서, 본 발명에 따라, 위장관 또는 구강에 나타나는 방사선 또는 화학요법 유도 상해에 노출된 대상의 국소적 치료로서 투여를 위한 경구 조성물이 제공된다. 본 발명의 바람직한 구현 예에서, 상기 TAC는 경구 제형으로 약물을 상부 위장관 특히, 소장에 국소적으로 방출한다. 경구 조성물은 TAC 스테로이드를 상당히 국소적인 활성 스테로이드 약물의 약 0.1 mg 내지 약 8 mg 범위의 유효량인 활성 성분으로서 포함하고 경구 투여로써 대상을 치료하는 프로세스도 포함한다.
- [0039] **본 발명의 상세한 설명**
- [0040] **정의:**
- [0041] "유효량"은 단독 또는 복수의 복용량 투여시 화학요법 및/또는 방사선으로부터 얻어진 소화관 내면의 손상의 예방, 완화 및/또는 치료에 효과적인 대상에 있어서 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드 양을 의미한다.
- [0042] "예방, 완화 및/또는 치료하는"은 콜티코스테로이드가 투여되지 않았을 경우 일어나는 손상에 비하여 이 후 손상의 감소 또는 제거를 의미한다; 손상이 일어난 후 콜티코스테로이드가 투여된 경우, 그런 손상의 감소 또는 제거가 일어났다.
- [0043] "손상"은 정상적인 구조 또는 기능의 임의의 변형을 의미한다. 그러한 손상은 점막 염증-점막염 및 장염 및 또한 점막 크립트 지역 및/또는 점막 용털 길이의 부분적 상실, 또는 소화관을 통한 박테리아의 전위

(translocation) 증가를 포함한다.

- [0044] 여기에 사용되는 "소화관"은 임의의 동물에서 입으로부터 항문까지의 소화 통로를 지칭하고 입, 식도, 위, 장(소장 및 대장 포함)을 포함한다. 바람직한 양상에서, 본 발명은 특히 소장에 적용된다.
- [0045] "내면"은 표면을 커버하거나 또는 강의 라인을 덮는 등의 임의의 생물학적 물질을 의미하고 보호적이고, 스크리닝하고 및/또는 다른 기능을 하는 임의의 생물학적 물질을 의미한다. 소화관의 내면은 경구, 식도 및 위장관의 상피를 포함한다.
- [0046] "국소적으로 활성이 있는" 또는 "국지적으로 활성이 있는"은 화합물이 약물이 존재하는 지역 근처 조직을 통해 그것의 주요 약학적 작용을 갖음을 의미한다. 위장관 상피에서 활성이 있는 TAC의 경우, TAC 약물은 소장 상피 조직에서 흡수되고 상피세포에서 그들의 주요기능을 갖는 반면, TAC는 제한된 흡수, 간 및/또는 소화관, 장-간 재순환, 단백질 블라인딩(blinding)에 의해 첫 번째 통과 대사, 또는 재빠른 제거 및 그의 조합으로써 전신 노출을 제한한다.
- [0047] "체 순환"은 스테로이드 약물 대사의 지역으로부터 먼 순환의 부분을 의미하고, 순환에서 약물의 정상 상태가 이루어진다.
- [0048] "약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제"는 조성물의 다른 성분과 호환가능한 담체 또는 부형제를 의미하고 대상에 해롭지 않다.
- [0050] "유효량"은 연구자나 임상의에 의해 추구되는 조직, 시스템, 동물 또는 인간의 생물학적 또는 의학적 반응을 불러일으키는 약물 또는 약제학적 제제의 양을 의미한다.
- [0051] "치료학적으로 유효량"은 그러한 양을 받지 않은 해당 대상과 비교하여, 질병 또는 질환의 향상된 치료, 치유, 예방 또는 완화, 또는 질병 또는 질환의 진행 속도의 감소를 나타내는 양을 의미하고, 정상적인 생리학적 기능을 향상시키는데 효과적인 양을 또한 포함한다.
- [0052] "지지 요법"은 GMCSF를 대상에 처리하여 호중구 보충을 강화함으로써 호중구 감소증 효과를 상쇄시키거나 항생제로 박테리아성 발병 효과를 상쇄시키기 위한 치료법을 의미한다. 뿐만 아니라, 지지 요법은 혈액 구획을 자가 또는 이종 기원의 골수를 가지고 재구성하는 방법의 사용이다.
- [0053] 대상에게 화학요법 및/또는 방사선 요법 또는 방사선 상해에 대한 장염의 증세를 치료/예방/감소시키기 위해 경구 투여 및 화학요법 및/또는 방사선 요법에 대한 점막염의 증세를 예방/감소시키는 양치질 물약 제형 또는 알약을 통해 본 발명의 실시에서 TAC 약물을 처리함이 바람직함에도 불구하고, 본 발명의 실시에서 국소적으로 활성이 있는 콜티코스테로이드가 알약, 캡슐(각각이 시간에 따른 방출 및 지속적인 방출 제형을 포함), 환약, 파우더, 미립자, 엘릭시르제, 턴크제, 혼탁액, 시럽, 및 유제로서의 구강 및 혀 밀 투약 형태로 투여될 수 있다.
- [0054] 유사하게, TAC 약물은 또한 코, 눈, 귀, 직장, 정맥내(큰 환약 및 주입), 복강내, 관절내, 피하 또는 근육내 흡입(inhalation) 또는 취입(insufflation) 형태로 투여될 수 있으며 이를 모두는 당업자들에게 잘 알려진 형태를 사용한다.
- [0056] 본 발명의 화합물을 사용하는 투약 계획은 타입, 종, 나이, 몸무게, 성별, 대상의 의학적 상태, 치료되는 상태의 증세, 투여 경로, 대상의 신장 및 간기능, 및 그것으로부터 사용되는 특정 화합물 및 염을 포함하는 다양한 인자에 따라 선택된다. 일반적으로 숙련된 내과의는 장염 및/또는 점막염 상태를 퇴치하는데 필요한 약물의 유효량을 쉽게 결정하고 조제할 수 있다.
- [0057] 지시된 효과를 위해 사용될 때 본 발명의 실시에서 경구 투약은 TAC의 경우 하루에 몸무게 kg 당 약 0.01 내지 약 100 mg의 범위를 갖는다. 특히 하루에 몸무게 kg당 약 0.1 내지 10 mg의 범위를 갖는다. 경구 투약 단위는 일반적으로 0.1 내지 약 250 mg의 범위로 투여될 것이고 더욱 바람직하게는 약 1 내지 약 16 mg이다. 일일 투약 또는 70 kg의 인간은 1 mg 내지 16 mg의 범위를 갖는다.
- [0058] 조합 치료법의 경우, TAC는 기술된 바와 같이 바람직하게 경구 투약으로 투여되고, 함께 투여되는 약물은 직접적인 조합으로 경구로 투여되거나 또는 경구 TAC와 더불어 정맥 내 조제약품으로 투여된다. 하나의 바람직한 구현 예에서, 조합 치료법은 경구 투약 형태로 TACs와 R-스폰딘-1 1의 정맥 내 유효 투약량으로 이루어진다. R-스폰딘1의 바람직한 1회 복용량은 몸무게 kg 당 5 내지 약 1000 µg이고 특히 몸무게당 약 10 내지 약 100 µg이다.
- [0059] 조합의 다른 하나의 바람직한 구현 예에서, 조합 치료법은 경구 투약 형태의 TACs와 KGF의 정맥 내 투약 양으로 이루어진다. KGF의 바람직한 1회 복용량은 몸무게 kg 당 0.1 µg 내지 약 1 mg이다; 본 발명의 보다 바람직한 예

에서 KGF의 투약 범위는 몸무게 kg 당 1 및 약 60 µg 사이이다.

[0060] 투여되는 투약량은 대상의 육체적 상태, 나이, 몸무게, 과거 병력, 투여의 경로, 상태의 증세 및 유사한 고려사항과 같은 일반적인 상태에 기초한다. 몇몇 경우에, 상대적으로 낮은 1회 복용량으로도 충분하고 몇몇 경우에는 상대적으로 높은 양 또는 1회 복용의 증가 된 횟수가 필요하다. 경구 투여는 화학요법 및/또는 방사선 요법 치료의 진행에 따라 하루에 한번 또는 한번 이상일 수 있다. 유리하게도, 본 발명의 화합물은 단일 하루 복용량으로 투여될 수 있거나 또는 전체 하루 투약량이 하루에 2번, 3번 또는 4번의 1회 복용량으로 나뉘어 투여될 수 있다. 본 발명에 따른 사용을 위한 화합물은 적합한 용매의 0.1 내지 약 5 mg/ml의 국소적 용도를 위한 농도 범위로 제조될 수 있다. 경구 투여를 위한 바람직한 부피는 약 0.2 내지 약 100 mg의 대상에게 전달되는 유효 투약량이다.

[0061] 화학요법 또는 방사선 유도 조직 손상의 예방을 위해, 화학요법 또는 방사선 요법 투여 전에 치료 전 필요한 부가적인 적용제의 투여를 가지고 1 내지 2번의 투여가 바람직하다. 방사선 치료 노출 후 투여가 필요로 된다. 더욱이, 본 발명의 바람직한 화합물은 적당한 비강용 비히클의 국소적 사용을 통해 또는 당업자에게 잘 알려진 경피성 피부 폐치의 형태를 사용한 경피성의 경로를 통해 비강 형태로 투여될 수 있다.

[0062] 본 발명의 방법에서, 여기에 자세히 기술된 화합물은 활성 성분을 형성할 수 있으며, 전형적으로 적합한 약제학적 희석제, 부형제, 또는 담체(집합적으로 여기서 "담체" 물질을 지칭함)와 혼합으로 투여되고 이들은 경구 알약, 캡슐, 엘리시르제, 시럽 등과 같은 투여의 의도된 형태에 대해 적합히 선택되고 전통적인 약제학적 실시와 일치한다.

[0063] 예를 들어, 알약 또는 캡슐 형태의 경구 투여에 있어서, 활성 약물 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구성, 비독성, 약제학적으로 허용가능한 불활성 담체와 조합될 수 있다. 파우더는 화합물을 적합한 미세한 크기에 위탁하고 식용 탄수화물 예를 들어, 전분, 만니톨과 같은 유사하게 분쇄된 약제학적 담체와 혼합함으로써 제조될 수 있다. 풍미제, 보존제, 분산제 및 착색제도 또한 존재할 수 있다.

[0064] 캡슐은 상기에 기술된 바와 같이 파우더 혼합물을 제조하고 형성된 젤라틴 덮개를 채움으로써 만들어진다. 콜로이드성 실리카, 활석, 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘 또는 고체 폴리에틸렌 글리콜과 같은 활택제 및 윤활제가 채우기 작업 전에 파우더 혼합물에 첨가될 수 있다. 아가-아가, 칼슘 카보네이트, 탄산나트륨과 같은 붕괴제 또는 용해제는 또한 첨가될 수 있어 캡슐이 섭취될 때 약제의 유용성을 향상시킬 수 있다.

[0065] TAC 이외에도, 허용가능한 담체 및/또는 희석제가 사용될 수 있으며 또한 당업자들에게 친숙하다. 환약, 캡슐, 마이크로스피어, 미립자 또는 알약 형태의 제형은 하나 또는 그 이상의 TACs 뿐만 아니라, 희석제, 분산제 및 계면 활성제, 바인더 및 윤활제를 포함할 수 있다. 당업자는 적절한 방식 및 Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa.. 1990 (참고로 여기에 포함됨)에 기술된 바와 같이 허용된 실시에 따라, TAC를 추가로 제형할 수 있다. 더욱이, 원하거나 필요함에 따라, 적합한 바인더, 윤활제, 붕괴제 및 착색제가 혼합물에 또한 포함될 수 있다. 적합한 바인더는 전분, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미료, 아카시아, 트래거캔스와 같은 천연 및 합성 검, 또는 알긴산나트륨, 카르복시메틸셀룰로오스, 폴리에틸렌 글리콜, 왁스 등을 포함한다. 이들 투약 형태에서 사용되는 윤활제는 소듐 올리에이트, 소듐 스테아레이트, 스테아린산마그네슘, 소듐, 벤조에이트, 아세트산나트륨, 염화나트륨 등을 포함한다. 붕괴제는 제한없이 전분, 메틸 셀룰로오스, 아가, 벤토나이트, 크산탄 검 등을 포함한다. 알약은 예를 들어, 파우더 혼합물을 제조하고 윤활제 및 붕괴제를 그랜ülü레이팅(granulating) 또는 슬러징(slugging), 첨가하고 및 알약으로 압축해서 제형화될 수 있다. 파우더 혼합물은 적당히 분쇄된 화합물을 상기에 기술된 바와 같이 희석제 또는 베이스와 혼합하거나, 경우에 따라서 카르복시메틸셀룰로오스, 알지네이트, 젤라틴 또는 폴리비닐 피롤리돈과 같은 바인더, 파라핀과 같은 용액 지연제, 퀘이트 내리 솔트(quate nary salt)와 같은 재흡수 가속제 및/또는 벤토나이트, 카울린 또는 디칼슘 포스페이트와 같은 흡수제와 혼합하여 제조될 수 있다. 상기 파우더 혼합물은 심프(symp). 전분 반죽, 아카디아 점액 또는 셀룰로오스 물질의 용액 또는 중합물질의 용액과 같은 바인더와 같이 습화하고 체에 걸름으로써 그랜ﾙ화 될 수 있다. 그랜ﾙ레이팅의 다른 대안으로서, 파우더 혼합물이 알약 기계를 통과할 수 있고 결과는 불완전하지만 형성된 슬러그가 미립자로 분쇄된다. 상기 미립자는 윤활제를 발라서 알약 형성 금형에 달라붙는 것이 방해되며 이것은 스테아르산, 스테아레이트 염, 활석, 또는 광유의 첨가를 통해 이루어진다. 그 후 윤활제가 발라진 혼합물은 압축되어 알약으로 제조된다. 본 발명의 화합물은 그랜ﾙ레이팅 또는 슬러징 단계를 거치지 않고 자유롭게 흐르는 불활성 담체와 또한 조합되어 알약으로 직접적으로 압축될 수 있다. 쉘락(shellac)의 밀봉 코팅, 당 또는 중합물질의 코팅 및 왁스의 광택 코팅으로 이루어진 투명 또는 불투명 보호 코팅이 제공될 수 있다. 염료가 이들 코팅에 첨가되어 다른 단위의 투약을 구별하

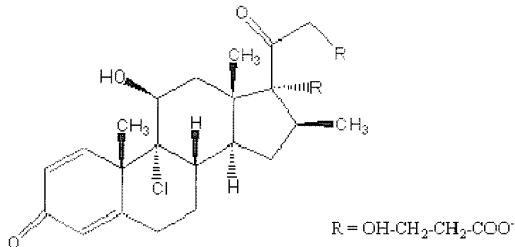
게 해준다.

- [0066] 용액 시럽 및 엘릭시르제와 같은 경구 액체는 주어진 양이 소정량의 화합물을 함유할 수 있도록 투약 단위 형태로 제조될 수 있다. 시럽은 화합물을 적합하게 감미된 수용액에 용해되어 제조될 수 있고 엘릭시르제는 비독성 알코올 비히클의 사용을 통해 제조된다. 혼탁액은 화합물을 비독성 비히클에 분산시킴으로써 제형화될 수 있다. 에톡실화된 이소스테아릴 알코올 및 폴리옥시 에틸렌 소르비톨 에테르, 보존제, 페퍼민트 오일, 또는 천연 감미제 또는 사카린 또는 다른 인공 감미제 등과 같은 향미 첨가제와 같은 가용화제 및 유화제도 또한 첨가될 수 있다.
- [0067] 필요에 따라, 경구 투여를 위한 투약 단위 제형이 마이크로 캡슐화 할 수 있다. 제형은 예를 들어, 특정 물질을 중합체 또는 왁스 등에 코팅하거나 끼워넣어 배출을 연장하고 지속시키도록 또한 제조될 수 있다.
- [0068] 본 발명에 따라 사용하는 화합물은 작은 이중 층이 하나인 소포체, 큰 이중 층이 하나인 소포체 및 이중 층이 여럿인 소포체와 같은 리포솜 전달, 시스템의 형태로 또한 투여될 수 있다. 리포솜은 콜레스테롤, 스테아릴아민 또는 포스파티딜콜린과 같은 다양한 인지질로부터 형성될 수 있다.
- [0069] 상기 화합물은 부형제 또는 약물 담체와 같은 용해될 수 있는 중합체와 같이 또한 공동 투여될 수 있다. 그런 중합체는 폴리비닐피롤리돈, 파이란 공중합체, 폴리하이드록시프로필메타크릴아미드페놀, 폴리하이드록시에틸아스팔트아미드페놀, 또는 팔미토일 잔기로 치환된 폴리에틸렌옥사이드폴리라이신을 포함할 수 있다. 더욱이 상기 화합물은 약물의 조절된 배출을 이루는데 유용한 생분해성 중합체의 클래스와 연결될 수 있다. 예를 들어, 이들 중합체는 폴리락트산, 폴립실론 카프로락톤, 폴리하이드록시 부티릭산, 폴리오르토에스터, 폴리아세탈, 폴리디하이드로파이란, 폴리사이아노아크릴레이트 및 하이드로겔의 크로스-링크된 또는 양친매성의 블록 공중합체이다.
- [0070] 비경구 투여는 피하, 근육 내, 또는 정맥 내 주사를 위해 의도된 멸균 용액 및 혼탁액과 같은 액체 투약 단위 형태를 사용함으로써 이루어질 수 있다. 이들은 화합물의 측정된 양을 주사를 위하고 수성 유성 배지와 같은 비독성 액체 비히클에 혼탁 또는 용해하고 혼탁액 또는 용액을 멸균하여 제조된다.
- [0071] 이와는 달리, 화합물의 측정된 양은 바이알에 놓여져 바이알 및 그것의 내용물이 멸균되어 봉해진다. 동반하는 바이알 및 비히클은 투여 전에 혼합을 위해 제공될 수 있다. 비독성 염 및 염 용액은 주사가 등장이 되도록 첨가될 수 있다. 안정제, 보존제, 및 유화제가 또한 첨가될 수 있다.
- [0072] 직장 투여는 좌약을 사용하여 이루어질 수 있고 여기서 화합물은 폴리에틸렌 글리콜, 코코아 버터, 예를 들어 향미된 수용액으로서의 더 높은 에스테르와 같은 저용점 물에 녹거나 또는 안 녹는 고체와 혼합된다. 엘릭시르제는 미리스틸 팔미테이트 또는 그의 혼합물을 통해 제조된다.
- [0073] 본 발명의 국소적 제형은 예를 들어, 연고, 크림 또는 로션, 안연고제 및 점안약 또는 점이약, 스며드는 드레싱 및 분무기로서 나타나고, 보존제, 약물 통과를 도와주는 용매 및 연고 및 크림에서의 연화제와 같은 적합한 전통적인 첨가제를 포함한다. 상기 제형은 크림 또는 연고 베이스 및 로션을 위한 에탄올 또는 올레일 알코올과 같은 호환가능한 전통적인 담체를 또한 포함할 수 있다. 그러한 담체는 제형의 약 1% 내지 약 98% 까지 나타날 수 있다. 보다 일반적으로 그들은 제형의 약 80% 까지 형성한다.
- [0074] 본 발명에 따라 사용되는 화합물을 흡입하여 투여하는 것은 가압된 팩 또는 네뷸라이저로부터 적합한 추진제를 사용하여 분무기 스프레이의 형태로 편리하게 전달된다. 여기서 추진제는 예를 들어, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 테트라플루오로 에탄, 헬륨플루오로프로판. 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체를 포함한다. 가압된 분무기의 경우에, 투약 단위는 미터제 양을 전달하는 벨브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 흡입기 및 취입기에서 사용을 위한 젤라틴의 캡슐 및 카트리지는 본 발명의 화합물의 파우더 혼합물 및 락토오스 또는 전분과 같은 적합한 파우더 베이스를 포함하여 제형화될 수 있다.
- [0075] 본 발명의 조성물에 사용되는 바람직한 약물은 디프로피온산 베클로메타손 및 베타메타손-17-발리레이트이다. 그러나, 본 발명은 여기에 제한적이지 않고 효과적인 치료를 위해 국소적으로 활성이 있는 임의의 콜티코스테로이드 약물에 관여한다. 대표적인 국소적 활성이 있는 콜티코스테로이드는 제한적이지는 않지만, 베타메타손 17.21-디프로피온네이트, 알도메타손 디프로피온네이트, 부세도니드, 22S 부세도니드, 22R 부세도니드, 베클로메타손-17-모노프로피오네이트, 클로베타솔 프로피온네이트, 디플로라손 디아세테이트, 플루니솔리드, 폴리트란그레노리드, 플루티카손 프로피온네이트, 할로베타솔 프로피온네이트, 할시노시드, 모메타손 퓨로에이트 및 트리암시나론 아세톤니드를 포함한다. 본 발명의 실시에서 유용한 적합한 TACs는 하기의 특징을 갖는 임의이다: 장 및 간에서 빠른 첫 번째 통과 대사, 낮은 전신 생물학적 이용 가능성, 높은 국소적 활성 및 빠른 배출

(Thiescn 등, Alimentary Pharmacology & Therapeutics 10:487-496, 1996을 참조하시오)(참고로 여기에 포함됨).

[0076]

그것의 매우 높은 국소적 항-염증 활성 때문에, 가장 바람직한 약물은 디프로페온산 베타메타손(BDP)이다. 따라서 본 발명의 조성물에서 이 약물은 매우 적은 양으로 효과적으로 사용될 수 있고 임의의 의미있는 정도로 체 순환에 들어가지 않는다. 다른 스테로이드 약물(베타메타손-17-발리레이트와 같은)도 또한 유용하다. BDP는 Schering-Plough Corporation (Kenilworth, NJ.)과 같은 다수의 상업적 출처로부터 크리스탈 형태로 대량으로 입수가 가능하고 하기의 구조식을 갖는다(즉, 17,21-디프로페온산 베타메타손):



[0077]

대상은 치료학적으로 허용가능한 양의 TAC 경구 투여를 통해 받는다. 적합한 캡슐 또는 환약은 일반적으로 0.1 mg 내지 8 mg TAC를 포함하고 전형적으로는 약 1 mg TAC를 포함한다. 뿐만 아니라 경우에 따라 락토오스와 같은 필러(filler)도 포함하고 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트와 같은 다양한 물질로 코팅되어 질 수 있다. 그러한 양은 잘 알려진 복용량-반응 조사를 통한 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있고, 일반적으로 일당 0.1 mg 내지 8 mg의 범위를 갖으며 보다 전형적으로는 일당 2 mg 내지 4 mg의 범위를 갖는다.

[0080]

방사성 또는 화학요법 사용에 의해 유발된 염증의 관점에서, TAC의 치료적 투여는 TAC 스테로이드의 보다 큰 복 용량을 가지고 시작될 수 있고, 염증이 조절된 후에는 TAC의 유지 복용량으로 감소될 수 있다. 심한 경우, 보다 강력한 전신 스테로이드가 사용되어 염증을 조절하고, 이어서 대상은 TAC 스테로이드로 재빠르게 감소될 수 있거나 또는 상피 성장 인자 또는 사이토kin의 형성과 함께 사용될 수 있다.

[0081]

본 발명의 중요한 양상은 TAC가 경구로 투여되어 그것이 장 또는 구강 조직에 국소적으로 투여된다는 것이다. 따라서, 여기서 사용되는 용어로서의 경구 투여는 정맥 내 주사와 같은 전신 투여를 포함하도록 의도되지는 않는다. 차라리, TAC는 전신으로 이용가능성은 (있더라 하더라도) 거의 없고 장 및/또는 간 조직에 대해 높은 국 소적 활성을 갖는다. 높은 국소적 활성은 당업자에게 알려진 임의의 다수의 도구를 통해 곧, TAC의 분포를 장 점막에 제한함으로써 이루어진다. 예를 들어, TAC는 제형화되어 TAC의 높은 국소적 농도로 장 점막 표면을 코팅 할 수 있거나 또는 약물이 장 점막을 가로질러 체 순환계에 진입하는 것을 저해한다. 그러한 제한된 분포가 부 작용을 보다 적게 일으키고, 이것이 본 발명의 의미있는 이점이다.

[0082]

치료에서, 본 목적은 조직 파괴를 야기하는 다양하고 광범위한 생물학적 사건을 억제하는 것으로, 이들 사건은 예를 들어, 염증 사이토kin의 형성, 상해 부위로의 부가적인 염증 세포의 도입, 장 점막(내면)의 방벽 기능의 파괴, 손상된 장 점막으로의 박테리아 및 독소의 통과, 박테리아 및 내독소에 대한 생물 반응의 상승 조절 및 이들 사건에 대한 기관의 광범위한 반응을 들 수 있다.

[0083]

TAC의 적합한 제형화에 의해, TAC는 높은 용량으로 전체 장의 전체 점막 표면적으로 전달될 수 있다. 따라서, TAC는 장 점막 또는 구강 점막에 걸쳐 높은 농도를 이룰 수 있고, 여기서 이러한 초기 염증 면역 반응이 일어난다.

[0084]

본 발명의 구체적인 구현 예가 설명할 목적으로 여기에 기술되어 있음에도 불구하고, 본 발명의 정신 및 범위를 이탈하지 않고 다양한 변형이 이루어질 수 있음이 인식되어진다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

**실시예**

**실시예 1. 항생제 치료에 의한 지지 요법 및 개에서 방사선 조사 후 조혈 구획의 치료**

개는 상피 세포에 대한 방사선 조사 손상을 연구하는데 있어 특히 적합한 동물 모델이다. 고용량 속도(0.4 또는 0.7 Gy/min)로 골수 파괴성 비분획화 전체 몸통 조사(TBI)가 주어진 개에서 GI 조사 증후군으로부터의 죽음이 관찰되었다. 0.4 Gy/분 또는 0.7 Gy/분의 고용량 속도에 주어진 TBI에 대한 반응을 평가하기 위해서, 치료 그룹

은 단일 분획인 6, 7, 8 또는 10 Gy TBI가 주어졌고 TBI 완료 후 전에 동결보존된 자가 골수 주입과 정규 지지 요법을 받았다. 8 Gy 이하의 TBI 양에서, 모든 개는 생존하였다. 8 Gy TBI 후, 9마리의 개중 5마리가 죽었고 10 Gy TBI 후에는 9마리 중 9마리가 GI 조사 증후군으로 죽었다. 모든 죽음은 10 Gy TBI 후 4 일 내지 6일째 일어났다. 모든 죽음은 극심한 소화관 출혈 및 장 크립트 손상 뿐만, 아니라 소화관 상피의 표면 침식 및 장에서의 병소 괴사를 갖는 GI 조사 독성에 기인하였다. 항생제 치료에도 불구하고, 죽음 당시에 얻어진 혈액 배양체는 4 마리의 개에서 그람-양성균에 대해 양성이어서 GI 관에 병원균이 진입했음이 일치한다. 8 Gy TBI에서 살아남은 4마리의 개 중에서, 모두가 그들의 혈액 세포수가 감소했으나, TBI 후 9 내지 10일째에 호중구 개수가 복원되고, TBI 후 16 내지 20일째에 혈소판이 복원됨으로써 조혈작용(그들이 자가 골수로 주어졌기 때문)을 복구하였다. 0.4 및 0.7 Gy/분 그룹 사이의 결과에서는 차이가 없었다. TBI 조사량 속도가 0.05 Gy/분 또는 0.02 Gy/분으로 감소하였을 시, 개는 14 및 16 Gy의 단일 분획화된 TBI 조사량을 임의의 GI 독성 없이 견디었다. TBI의 분획화도 GI 조사 증후군 및 죽음을 또한 피했다.

[0089] 방사선 테러리스트 공격 또는 방사선 요법의 희생자들을 위한 효과적인 치료법을 확인할 목적으로, GI 증후군을 급성 조사에 이은 조혈 증후군의 관점에서 고려하는 것이 중요하다. 고용량 속도로 주어진 10 Gy TBI에 이은 자가 골수 지지의 동물 모델은 실험적 시스템으로 하여금 방사선 손상의 GI 증후군 성분을 조사하게끔 한다. 자가 골수 주입은 호중구 및 혈소판 개수의 보다 빠른 회복을 유도한다. 자가 골수 주입을 가지고 조혈 증후군의 효과를 최소화함에 의해, GI 방사선 증후군을 직접적으로 치료할 수 있는 약물이 연구될 수 있다. GI 관의 병소적 조사라기 보다 GI 방사선 증후군을 일으키는 고용량 TBI 투여는 방사선 테러리스트 공격에 대한 전신 생물학적 반응을 모델링하기에 보다 현실적인 시나리오이다.

[0090] 지지요법은 방사선 후 생존에 필수적이고 조합으로 주어진 사이토킨인 그랜듈로사이트 콜로니 자극 인자(G-CSF) 및 flt-3 리간드(FL)는 7 Gy TBI 및 심지어 8 Gy TBI 후에도 조혈작용의 현저히 향상되고 재빠른 회복을 야기한다. 방사선 조사 후 주어진 지지요법의 중요성은 1980년대 및 1990년 초반의 TBI 생존 연구의 역사적 결과를 비교할 때 명백해진다. 역사적 결과는 4 Gy TBI (0.07 Gy/분, 단일 분획) 및 지지 요법 후 28 마리의 개 중 1 마리만이 조혈 회복을 가지고 생존함을 보여주었다.

[0091] 지지 요법은 하기로 이루어져 있다: (a) 정맥 내 항생제, 암피실린 및 아미카신 및 절대적 호중구 개수가 ( $ANC > 1000/\mu L$ )로 회복될 때까지 약물 요법의 변화 없이 투여되는 경구로 재흡수될 수 없는 폴리믹신/니오마이신: (b)  $10.000/\mu L$  이하의 혈소판 개수에 대한 조사된 전혈(수혈 당 50 mL 혈액)의 수혈: 및 (c) TBI 후 첫 번째 5일간 날마다 주어지는 피하 체액 20 mL/kg.

[0092] TBI 노출 후, 모든 개는 경구 플루오로퀴놀론, 엔로플록사신으로 처리되었다. 심부(Core body) 온도는 하루에 적어도 두번 측정되었다. 열이 발생하거나 또는 ANC가  $<100/\mu L$  이하로 떨어질 때, 개는 정맥 내 3세대 세팔로스포린(세프타지럼) 및 아미노글리코시드 아미카신이 조합으로 경험적으로 치료되었다. 개가 열을 발생시켰을 때 혈액 배양체가 수득되었고 항생제 처리가 혈액 배양체 결과에 기초하여 조정되었다. 혈액 배양체 음성인 호중구 감소성 열이 48시간 동안 지속시, 또는 임상학적 상태가 분명하게 악화될 시, 메트로니다졸 및 반코마이신을 가지고 부가적인 경험적 항생제 처리가 추가된다. 새로운 항생제 요법이 역사적 처리와 비교하여 보다 복잡함에도 불구하고, 그것은 그람 음성, 그람 양성 및 혐기성 병원균에 대한 향상되고 넓은 범위의 포함을 반영한다. 더욱이, 혈액 수혈 지지는, 10 내지 15 mL 혈액/kg/수혈의 몸무게에 기초하여, 전혈 수혈의 보다 큰 부피를 가지고 지금이 보다 집중적이다. 정맥 내 체액 지지( $10\text{--}30 \text{ mL/kg}/\text{일 락트화된 렉거액}$ )의 사용은 경구로 음식물 섭취가 완전히 복구될 때까지 적어도 14 일의 부가적인 날로 확장된다.

[0093] 새로운 지지요법 조치가 TBI 후 현저히 향상된 생존을 보여주었다. 4 Gy TBI (0.07 Gy/분, Varian Clinac 4/80 선형 가속 소스)를 따라, 4마리의 개중 4마리가 생존하였고 각각 27 및 41 일의 ANC 및 혈소판 복구에 대한 중간 시간을 가지고 조혈작용을 복구하였다. ANC 회복은  $> 500/\mu L$ 의 지속적인 호중구 개수의 첫 번째 날로서 정의되고 혈소판 회복은  $> 40.000/\mu L$ 의 수혈-독립적인 지속적인 회복의 첫 번째 날로서 정의된다. 5 Gy TBI 후, 6마리의 개중 3마리가 지지 요법만을 가지고 생존하였다. 죽음은 TBI 후 14일, 15일, 및 21일째에 각각 일어났고 호중구 감소성 패혈증 및 폐렴에 기인하였고 GI 방사선 증후군에 기인하지는 않았다. 생존한 개 중에서, ANC 및 혈소판 회복에 대한 중간 시간은 각각 29일 및 44일이었다. 6 Gy TBI 후, 6마리의 개중 5마리가 지지 요법만을 가지고 생존하였다. 하나의 죽음이 22일째에 일어났고 호중구 감소증의 패혈증에 기인하였다. ANC 및 혈소판 회복에 대한 중간 시간은 각각 34일 및 74일이었다. 7 Gy TBI 및 지지 요법만의 후, 6마리의 개중 5마리가 생존하였고 하나의 죽음이 22일째에 일어났고 호중구 감소증의 패혈증에 기인하였다. ANC 대한 중간 시간은 43일이었고, 혈소판 회복은 2마리의 개에서 각각 53일 및 62일에 이루어졌다. 2007년 4월 18일 현재상황으로, 이들 집단의 남아있는 3마리가 TBI 후에 66 내지 95일째까지 수혈 의존적으로 남아 있다. 이들 예비 결과는 호중구 감

소중 동안 복수의 경험적인 넓은 범위의 항생제, 지속적인 수혈 지지, 및 적극적인 초기 정맥 내 체액 지지를 가지는 집중적인 지지 요법이 TBI 후 생존에 필수적임을 보여주었다. 현재의 AI-066498 연구에서 TBI 후 최적의 지지 요법을 받은 개의 향상된 생존 때문에, 본 발명자들은 TBI 역치의 99% 치사량에 아직도 도달하지 않았다.

[0094] 사이토킨의 지지가 없는 지지 요법도 향상된 생존을 야기함에도 불구하고, TBI 후 조혈 시스템의 복구를 위해 목적이되어 주어진 사이토킨의 처리는 또한 결과를 향상시키고 장시간의 집중적인(값 비싼) 지지 요법의 필요성을 감소시킨다. 우리의 연구 그룹에 의한 개 모델의 역사적 결과는 4 Gy TBI의 치사량 후 주어진 재조합 개(re) 및 재조합 사람(rh)의 G-CSF가 방사선 유도 혈구 감소로부터의 죽음을 방해함을 확립한 연구를 포함한다. 1980년대 및 1990년대 초반, 4 Gy TBI 및 지지 요법을 홀로 처리 후, 28마리의 개중 1마리만이 조혈 복구를 가지고 생존하였다. 대조적으로, 4 Gy TBI 후 21일간 날마다 G-CSF가 주어질 경우, 10마리의 개중 8마리가 생존하였다. 5 Gy TBI를 따라, G-CSF 처리는 10마리 개중 3마리의 생존을 야기했다. 이들 연구는 방사선 사고의 희생자들 치료를 위한 현재의 임상학적 지침을 확립하는데 도움을 주었다.

[0095] TBI 후 주어진 G-CSF 및 FL는 지지 요법 홀로만 일 경우와 비교하여 ANC 및 혈소판 개수에서 향상되고 보다 빠른 복구를 나타낸다. 5 Gy TBI를 따라 조사 완료 후 2시간에 시작하는 G-CSF ( $10 \mu\text{g/kg}/\text{일}$ ) 매일 처리시, 6마리 중 6마리가 생존하였다. ANC 및 혈소판 복구의 중간 시간은 각각 20 및 44일이었고 이것은 지지 요법 단독 처리시와 비교하여 호중구의 보다 빠른 복구를 촉진함을 제시한다. 6 Gy TBI 및 G-CSF 처리 후, 6마리의 개중 5마리가 생존하였고, ANC 및 혈소판 복구의 중간 시간은 각각 26 및 61일이었다. 한 마리의 개가 ANC  $>500/\mu\text{L}$ 의 복구 실패로 기인해 77일째에 안락사되었다. TBI 후 2시간에 시작하고 ANC  $>1000/\mu\text{L}$ 의 복구 때까지 계속되는 6 Gy TBI 후 및 G-CSF ( $10 \mu\text{g/kg}/\text{일}$ ) 및 FL ( $100 \mu\text{g/kg}/\text{일}$ )의 조합 처리시 5마리의 개중 5마리가 생존하였다. ANC 및 혈소판 복구의 중간 시간은 각각 20 및 47일이었다. G-CSF 및 FL의 처리는 지지 요법 단독 처리시와 비교하여 현저히 향상된 호중구 및 혈소판의 복구를 보여주었다. 7 Gy TBI 및 G-CSF와 더불어 FL을 따르면 6마리의 개중 6마리가 생존하였고 ANC 및 혈소판 복구의 중간 시간은 각각 20 및 56일이었다. 7 Gy TBI의 고용량 후, G-CSF 및 FL을 처리하면 지지 요법 단독 처리시와 비교하여 실질적으로 더 많은 호중구 및 혈소판의 복구 향상을 나타냈다. G-CSF 및 FL의 중지 후, 말초혈 개수가 안정적이었으며 계속적으로 정상 레벨로 되돌아갔다. 개는 TBI 후 6개월까지 면역기능 복구 평가를 받았다. TBI 후 6개월인 지금까지 개는 *in vivo* 및 *in vitro*에서 신생 항원에 대한 T 및 B 세포반응에 기초한 정상 면역 기능을 복구하였다.

### 실시예 2. KGF로 방사선 상해의 치료

[0098] 개의 KGF가 클로닝되고 서열분석되었다. RhKGF는 개의 KGF와 97.4% 아미노산 서열 상동성을 가지고 있다. 쥐의 KGF 단백질은 rhKGF와 94% 상동성을 가지고 있다. 뿐만 아니라, KGF 수용체(FGFR2IIIb)는 모든 3 종 사이에서 98% 상동성을 가지고 있다. RhKGF는 상기에 기술된 *in vivo* 쥐 연구 모두에 대해서 사용되었다. rhKGF는 개에서 동일한 생물학적 활성을 갖는다. RhKGF는 개에서 소화관 상피 세포보호 활성을 갖는다. KGF 처리는 방사선으로부터의 소화관, 흉선 및 골수 기질 상피 손상을 감소시켜, TBI 유도 GI 독성 및 범혈구 감소증 후 보다 빠른 장 상피 복구 및 면역 재구성을 가지고 생존을 향상시킨다.

[0099] 3마리의 비-조사된 개에게 각각 7, 14 및 21 일 동안 rhKGF가  $100 \mu\text{g/kg}/\text{일}$  씩 주어졌다. KGF 마지막 복용 후 24시간에, 개들이 안락사되어 완전한 검시(necropsy)를 실시하였다. 14 및 21일 동안 KGF를 받은 개중에서, 회장(intestine)에 걸쳐 페이어스 패치(Peyer's patches)의 크기 및 세포 충실성(cellularity)에서의 현저한 증가 및 콩장(jejenum)에서의 융털 크기의 인상적인 증가가 있었다.

[0100] KGF가 고용량 전신 조사(TBI)에 대해 보호하는 능력을 평가하고자, >80% 치명적임을 야기하는 TBI 용량의 TBI 처리 후 2시간에 시작되는 시점에, KGF가 정맥 내로  $100 \mu\text{g/kg}/\text{일}$ 의 복용량으로 주어졌고 GI 관 기능이 임상학적으로 완전히 복구될 때까지 주어졌다. 개는 TBI 개시(실험의 주요 종점) 후 30일까지 생존이 모니터링되었다. KGF의 이러한 복용량은 TBI의 복용 후 >70% 생존을 제공하였다. 개는 3마리의 집단에서 평가되어 TBI 후 생존을 현저히 향상시키는 약물 처리를 확인하였고, 30일의 생존을 평가하는 동시적인 대조군 그룹과 비교하여 통계학적 유의성을 추가로 평가하기 위해 처리 그룹당 12마리 개까지의 더 큰 그룹으로 나아갔다. 두 번째 종점은 GI 관 복구의 조직학적 및 생리학적 증거에 대한 시간을 포함했다. 개의 아집단은 일련의 내시경 검사를 하여 약물 처리의 효과를 조직학적으로 및  $\text{Wnt}/\beta$  카테닌 및 Notch 신호의 분자적 평가를 통해 평가하였다. 개들은 회복 때까지 매일 CBCs를 취했으며 면역 기능 복구를 위해 평가되었다. 지지 요법 처리 및 자가 골수 주입은 KGF 및 BDP 조합의 평가와 동시에 주어졌다.

### 실시예 3. BDP로 방사선 상해의 치료

[0102] 실시예 2에서와 같이, GI 회복 때까지 BDP는 TBI 후 2 시간으로부터 4 mg/일의 복용량으로 주어졌고 같은 실험적 종점이 모니터링되었다. BDP는 70%보다 더 큰 생존을 제공하였다.

[0104] **실시예 4. KGF 및 BDP를 가지고 방사선 상해의 공동 치료**

[0105] 지지 요법 처치 및 자가 골수 주입은 KGF 및 BDP 조합의 평가와 동시에 주어졌다. 경구 BDP (또는 Bec)는 TBI 후 2시간으로부터 정맥 내로 100 µg/kg/일의 양으로 투여된 KGF와 함께 4 mg/일의 양으로 GI 회복 때까지 주어졌고, TBI의 양은 TBI 후 2시간으로부터 >80% 치명적임(치사율)을 야기하였다. 개들은 부신 역제에 대해 모니터링되었다.

[0107] **실시예 5. 탄산리튬으로 방사선 상해의 치료**

[0108] 탄산리튬은 300 mg/일로 투여되어 0.7 내지 1.4 mEq/L[34]의 정상 상태 혈청 치료적 레벨을 이루었고 일주일마다 레벨이 모니터링되었다. 리튬의 정상 상태가 도착되었을 때 TBI가 시작되었고 개들은 생존 및 실시예 1에서 기술된 바와 같은 다른 종점에 대해 모니터링되었다.

[0110] **실시예 6. 탄산리튬 BDP로 방사선 상해의 동시 치료**

[0111] 탄산리튬은 300 mg/일로 투여되어 0.7 내지 1.4 mEq/L[34]의 정상 상태 혈청 치료적 레벨을 이루었고 일주일마다 레벨이 모니터링되었다. 동시에 BDP는 4 mg/일의 복용양으로 주어졌다. 리튬의 정상 상태가 도착되었을 때 TBI가 시작되었고 개들은 생존 및 실시예 1에서 기술된 바와 같은 다른 종점에 대해 모니터링되었다.