

(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)

(51) 。 Int. Cl. ⁷
A61K 31/74

(11) 공개번호 특2002 - 0005032
(43) 공개일자 2002년01월16일

(21) 출원번호 10 - 2001 - 7014459
(22) 출원일자 2001년11월13일
 번역문 제출일자 2001년11월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2000/12943
(86) 국제출원출원일자 2000년05월11일

(87) 국제공개번호 WO 2000/69428
(87) 국제공개일자 2000년11월23일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 - 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기즈, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 안티구아바부다, 코스타리카, 도미니카연방, 알제리, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 그레나다, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 유고슬라비아, 짐바브웨,
AP ARIPO특허: 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아,
EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄,
EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,
OA OAPI특허: 부르키나파소, 베냉, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기네, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기네비쏘,

(30) 우선권주장 60/133,975 1999년05월13일 미국(US)
09/541,268 2000년04월03일 미국(US)

(71) 출원인 젤테스 파마슈티칼스, 인코포레이티드
폴 멜레트; 마크 스킨러츠키
미국 매사추세츠 왓엄 세컨드 애브뉴 153(우02451)

(72) 발명자 쿠르츠,캐롤라인
미국01776매사추세츠서드버리링컨로드25
피츠패트릭,리차드
미국01945매사추세츠마블헤드피크위크로드23

(74) 대리인 남상선

심사청구 : 없음

(54) 독소 결합제 및 항세균제로서 사용되는 음이온 중합체

요약

본 발명은 중합체 골격에 직접적으로 결합하거나 스페이서기에 의해 중합체 골격에 결합하는 다수의 펜던트 산 작용기를 가진 치료학적 유효량의 중합체를 동물에게 투여함으로써 사람과 같은 동물에서 독소를 억제시키는 방법에 관한 것이다. 상기 스페이서기는 0 내지 약 20개 원자 범위의 길이를 가질 수 있다. 전형적으로 상기 독소는 세균과 같은 병원성 미생물에 의해 분비된 외독소이다.

명세서

배경기술

많은 병원균들은 숙주 생물체에 해로운, 어떤 경우엔 치명적인 독소를 생성한다. 병원균에 의해 생성된 독소는 두 가지 일반적인 범주인 외독소와 내독소로 분류될 수 있다.

외독소는 일반적으로 단백질 또는 폴리펩티드이다. 병원균에 의해 분비되는 이들 독소는 숙주내에서 이동할 수 있어서 감염 부위로부터 멀리 떨어진 숙주의 영역에 손상을 일으킨다. 외독소와 관련된 증상은 매우 다양하며 용혈, 전신 쇼크, 백혈구의 파괴, 구토, 마비 및 설사가 포함된다.

장관독은 소장내에 작용하는 외독소이며 장관내로 유액의 대량 분비를 일으켜, 설사를 유발시킨다. 장관독은 식중독 생물체 스태필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 클로스트리디움 페르프린젠스(*Clostridium perfringens*) 및 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 및 장 병원균 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*), 대장균(*Escherichia coli*) 및 살모넬라 엔테리티디스(*Salmonella enteritidis*)를 포함하는 다양한 세균에 의해 생성된다.

내독소는 그람 - 네가티브 세균의 세포벽의 외층에서 발견된 지질다당류/지질단백질이다. 내독소의 방출과 관련된 증상에는 발열, 설사 및 구토가 포함된다. 상세하게는, 내독소는 숙주 세포가 단백질을, 내인성 피로젠을 분비하도록 자극하여, 체온을 조절하는 뇌의 영역에 영향을 미친다. 열병, 설사 및 구토에 추가적으로, 숙주 동물은 림프구, 백혈구 및 혈소판 수에서 급격한 감소를 겪게 되어, 일반적인 염증 상태에 들어갈 수 있다.

내독소가 외독소보다 독성이 덜하지만, 다량의 내독소는 일반적으로 출혈 쇼크 및 조직 괴사를 통해 치사를 유발할 수 있다. 내독소를 생성하는 세균의 예에는 에스케리치아(*Escherichia*), 쉬겔라(*Shigella*) 및 특히 살모넬라(*Salmonella*) 속의 세균이 포함된다.

일부 경우에서, 외독소에 의해 유발된 활성 질환은 환자에게 항독소를 투여함으로써 치료될 수 있다. 항독소는 독소의 비독성 유도체인 유독소의 감염에 의해 면역화된 동물, 전형적으로 말의 혈청으로부터 유래된 독소에 대한 항체를 포함한다. 그러나, 항독소의 효과는 독소가 세포에 의해 신속하게 흡수되어 항체에 대해 이용할 수 없게 되어 버리기 때문에 제한된다. 또한, 환자의 면역계는 항독소내에 존재하는 외래 단백질에 반응하여 혈청병으로 공지된 질환을 발생시킬 수 있다.

클로스트리디움 디피실레는 병원 및 장기간 치료 기관에서 병원내에서 획득되는 가장 보편적인 생물체 중 하나가 되었다. 이 생물체는 전형적으로 정상적인 장내 균총이 폭넓은 항생제의 투여에 의해 방해된 환자에게 감염한다. 감염과 관련된 설사 및 염증성 대장염은 사망률을 증가시키는 심각한 의학적/외과적 합병증을 대표하며, 거의 평균 3주까지 병원

입원을 연장시킨다. 이것은 노인층 및 가장 감염이 발생할 것 같은 심각한 잠재성 질환을 가진 환자에게 특히 그렇다. 클로스트리디움 디피실레 관련 설사(CDAD)는 미국에서만 줄잡아 어림해도 병원비를 초과하여 연간 3백만 내지 6백만 달러로, 건강관리 시스템에 대해 주요한 경제적인 부담을 대표한다.

현재, CDAD를 위한 치료는 불충분하다. 이러한 치료는 나타난 CDAD를 일으키는 항생제를 중단시키고 정상적인 결장 균총이 가능한 한 신속하게 회복되도록 하는 것이다. 그러나 대부분의 경우에서, 이것은 불충분하며 메트로니다졸 또는 반코마이신과 같은 또 다른 항생제가 클로스트리디움 디피실레 생물체를 사멸시키기 위해 사용된다. 메트로니다졸을 사용한 증상적 개선은 느리며, 전형적으로 4 내지 8일이 걸린다. 또한, 메트로니다졸은 소화관의 대부분의 혐기성세균을 박멸시킴으로써 정상적인 균총을 변화시키기 때문에, 치료된 환자 중 20%는 통상적으로 치료를 중단한 지 1 내지 2주 이내에 CDAD가 재발하게 된다. CDAD이 심각하거나 재발된 경우에, 반코마이신이 사용될 수 있다. 그러나, 이 약물은 메트로니다졸과 유사한 재발율을 가지며 또한 다중-약물 내성 엔테로코쿠스 및 스태필로코쿠스에 대해 선택성을 일으키는 바람직하지 않은 부작용에 대한 잠재성을 지니고 있다.

설사 및 대장염은 클로스트리디움 디피실레 독소 A 및 B에 의해 일어나는 장내 손상 및 염증의 직접적인 결과이다. 클로스트리디움 디피실레에 의해 생성된 독소 A 및 B는 장내 점막을 손상시키며 염증성 대장염을 초래하는 병인학적 작용제이다. 현재, 클로스트리디움 디피실레에 의해 생성된 세균성 독소를 억제시키기 위해 이용할 수 있는 치료법은 없으며 이러한 독소는 설사 및 대장염을 일으키는 장내 손상 및 염증을 초래한다. 독소 A 및 B를 억제할 수 있는 약제가 CDAD 치료에 대한 가장 논리적인 접근법이다.

그러므로, 상기 언급된 문제들을 현저하게 감소시키거나 제거하는 독소-매개된 질환을 치료하는 향상된 방법에 대한 필요성이 존재한다.

발명의 요약

본 발명은 중합체 골격에 직접적으로 결합되거나 스페이서 기에 의해 중합체 골격에 결합된 다수의 펜던트산 작용기를 가진 치료학적 유효량의 중합체를 동물에게 투여함으로써 사람과 같은 동물에서 독소를 억제시키는 방법에 관한 것이다. 스페이서 기는 0 내지 약 20개 원자 범위의 길이를 가질 수 있다. 전형적으로 독소는 세균과 같은 병원성 미생물에 의해 분비된 외독소이다. 바람직한 구체예에서, 중합체는 실질적으로 산 무수화물을 가지지 않는다.

또 다른 구체예에서, 본 발명은 음이온 중합체를 포함하는 약제학적 조성물 및 포유동물, 특히 사람에서 CDAD 및 기타 항생제 관련 설사(AAD)의 치료를 위한 방법에 관한 것이다. 본 발명의 치료학적 조성물은 바람직하게는 클로스트리디움 디피실레 독소 A 및 B 둘 모두를 불활성화시키며 CDAD의 발생을 예방(예방적 치료)할 뿐만 아니라 단일요법로서 사용되거나 항생제(예컨대, 메트로니다졸 및 반코마이신)를 사용하는 동시-요법으로서 사용되는 경우 CDAD의 재발을 예방하는 데에 매우 효과적이다.

상기 논의한 바와 같이, 기술한 방법에서 사용된 중합체는 산 또는 음이온성 기로 치환된다. 적절한 산 작용기에는 카복실산, 설폰산, 포스포산, 하이드로설페이트, 하이드로포스페이트, 설파산 및 보론산 기가 포함된다. 또한 산 기는 적절한 양이온과 결합된 컨쥬게이트 염기 형태에 존재할 수 있다.

하나의 구체예에서, 투여될 중합체는 제 1 단량체 또는 펜던트산 작용기를 가진 반복 단위 및 제 2 단량체 또는 펜던트소수성 기를 가진 반복 단위에 의해 특징화되는 공중합체이다. 또 다른 구체예에서, 중합체는 단량체 또는 펜던트산 작용기 및 펜던트소수성 기 둘 모두를 가지는 반복 단위에 의해 특징화된다. 투여될 중합체는 임의적으로 단량체 또는 하이드록실기 또는 아미드기와 같은 중성 친수성 기를 포함하는 반복 단위에 의해 추가로 특징화될 수 있다.

본 발명의 방법에서 사용하기 위한 바람직한 치료학적 조성물은 폴리(스티렌설포네이트) 및 이들의 염을 포함한다. 본 발명의 바람직한 방법은 치료학적 유효량의 본 발명의 조성물을 CDAD 또는 AAD의 개시를 다른 방법으로 촉진시킬 수 있지만, 본 발명의 폴리스티렌 함유 조성물의 존재하에서는 그렇지 않은 넓은 범위의 항생제를 사용한 동시요법으로서 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 넓은 범위의 항생제를 사용한 동시요법은 항생제의 효과를 방해하지 않을 테지만 동시에 CDAD 또는 AAD의 개시를 예방할 것이다.

또 다른 구체예에서, 본 발명의 조성물은 질환의 개시 이후, 단일요법으로서 단독으로 사용되거나 메트로니다졸, 반코마이신 또는 CDAD 또는 AAD를 치료하기 위해 사용되는 그 밖의 항생제를 사용하는 동시요법으로서 사용될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 발명의 조성물은 단독으로 또는 그 밖의 항생제를 사용하는 동시요법으로서 사용됨으로써 질환의 재발을 예방할 수 있다.

본 발명은 많은 장점을 가지고 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법에서 사용되는 조성물은 중합체 합성의 표준 기술 및 값싼 출발 물질을 사용하여 쉽게 제조된다. 본 발명의 방법은 일반적으로 몸의 기타 감염을 치료하기 위해 종종 필요한 넓은 범위의 항생제를 방해하지 않으므로 넓은 범위의 항생제와 함께 사용될 수 있다. 또한, 본 발명의 예방적 치료 요법이 환자에게 넓은 범위의 항생제의 전달과 함께 사용되는 경우 환자는 CDAD 또는 AAD를 종종 일으키는 넓은 범위의 항생제의 불리한 부작용으로부터 동시에 예방될 수 있다. 또한, 본 발명의 치료 요법은 일반적으로 메트로니다졸 또는 반코마이신의 작용을 방해하지 않으며, 따라서 질환의 개시 이후 치료 또는 후치료와 함께 사용함으로써 질환의 재발을 예방할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물 및 방법은 단일요법으로서 사용되어 질환의 개시를 예방하거나(예방적) 개시 이후 질환을 치료하거나 재발을 예방할 수 있다. 본 발명에 따른 단일요법은 환자가 항생제 요법을 견뎌낼 수 없는 경우에 특히 장점적이다.

도면의 간단한 설명

본 발명의 전술한 목적 및 그 밖의 목적, 특징 및 장점은 유사한 참조 문자가 상이한 관점을 통해 동일한 부분을 언급하는 수반된 도면에서 설명된 바와 같이, 본 발명의 바람직한 구체예의 하기 더욱 상세한 설명으로부터 명백해질 것이다. 도면은 본 발명의 원리를 설명하는 것 대신 강조를 반드시 판단하는 것이 아니다.

도 1 및 도 2는 하기 더욱 자세히 기술하는 두 가지 햄스터 모델에서 독소 A에 대한 폴리스티렌 설포네이트(160 - 246)의 효과를 도시한 것이다.

발명의 상세한 설명

본 발명은 다수의 펜던트산 작용기를 포함하는 치료학적 유효량의 중합체를 환자에게 투여함으로써 사람과 같은 환자의 병원성 또는 미생물성 독소를 억제시키는 방법에 관한 것이다. 산 작용기는 중합체 골격에 직접 결합하거나 1 내지 약 20개 원자의 길이를 가진 지방족 스페이서 기에 의해 중합체 골격에 연결될 수 있다.

본원에 사용되는 바와 같이 용어 "미생물성 독소를 억제하는"은 특정 질환 상태 및 의학적 질환의 발생과 관련된 독소의 활성을 억제시키는 것을 말한다. 미생물성 독소는 세균, 진균, 원생동물 또는 바이러스와 같은 미생물에 의해 생성된 내독소 또는 외독소이다. 독소는 중합체에 의한 독소의 결합을 포함하지만, 이에 제한되지 않는 임의의 메커니즘에 의해 억제될 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같이, "치료학적 유효량"은 환자의 체내 또는 신체상에서 독소의 작용과 관련된 조직 손상 또는 그 밖의 증상을 부분적으로 또는 전체적으로 억제시키거나 예방하거나, 상기 증상의 추가적인 진행을 예방하거나 감소시키기에 충분한 양이다.

본 발명은 CDAD를 포함하는 AAD, 및 대장염을 치료하기에 유용한 방법 및 치료학적 조성물을 제공한다. 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 본 발명의 질환을 "치료하는 것"은 AAD, CDAD 또는 염증성 대장염에 걸리기 쉬운 포유동물의 예방적 치료; AAD, CDAD 또는 염증성 대장염의 초기 개시에서의 치료; 진행중인 AAD, CDAD 또는 염증성 대장염의 치료; 및 민감한 포유동물의 재발하는 AAD, CDAD 또는 염증성 대장염의 치료를 포함한다. 본원에 사용되는 바와 같이, "민감한" 포유동물은 정상적인 균총을 파괴시켜 CDAD를 유발시킬 수 있는 광범위 항생제의 사용을 포함하는 어떤 이유로 질환이 발생하거나 질환이 재발할 수 있는 포유동물이다. 본 발명의 치료학적 조성물은 바람직하게는 폴리스티렌 설포네이트, 염 및 이에 대한 공중합체를 포함한다.

본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "단량체"는 중합화 이전에 하나 이상의 중합화가능한 작용기를 포함하는 분자, 및 중합체의 반복 단위 둘 모두를 말한다. 공중합체는 둘 이상의 상이한 단량체의 존재에 의해 특징지어진다.

본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "중합체 골격" 또는 "골격"은 중합화시에 단량체들간에 형성되는 결합을 포함하는 연속적인 사슬인 중합체의 부분을 말한다. 중합체 골격의 조성물은 분지, 또는 결사슬, 중합체 골격의 부재에 상관없이, 형성된 단량체의 동일성에 의해 기술될 수 있다. 따라서, 폴리(아크릴산)은 결사슬로서 카복실산 ($-C(O)OH$) 기로 치환된 폴리(에틸렌) 골격을 가지는 것으로 언급된다.

"펜던트"기는 중합체 골격에 결합된 결사슬 또는 결사슬의 일부분을 형성하는 부분이다. 예를 들어, 펜던트기는 중합체 골격내에서 하나 이상의 원자에 직접 결합되거나 스페이서기에 의해 중합체 골격에 연결될 수 있다.

산-작용화된 단량체에는 카복실산기, 설포산기, 하이드로설페이트기, 포스포산기, 설파산기, 하이드로포스페이트기 또는 보론산기와 같은 펜던트산 작용기가 포함된다. 산 작용기는 본원에 산양성자화된 형태 또는 부분적으로 양성자화된 형태로서 언급된다. 그러나, 임의의 산 작용기가 또한 컨쥬게이트 염기 또는 약제학적으로 허용되는 양이온과 결합하여 탈양성자화된 형태로 존재하는 것으로 이해되고 있다. 투여될 중합체는 양성자화된 형태, 탈양성자화된 형태 또는 이들의 조합물에 산 작용기를 포함할 수 있다. 적합한 양이온에는 나트륨, 칼륨 및 세슘 이온과 같은 알칼리 금속 이온, 칼슘 및 마그네슘 이온과 같은 알칼리 토류 이온, 전이 금속 이온 및 치환되거나(일차, 이차, 삼차 및 사차) 치환되지 않은 암모늄 이온이 포함된다. 하나의 구체예에서, 양이온은 Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Bi^{3+} , Fe^{2+} 또는 Fe^{3+} 와 같은 다가 금속 이온이다.

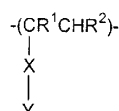
중합체는 실질적으로 산 무수화물기를 가지지 않는 것이 바람직하다. 예를 들어, 5% 미만, 바람직하게는 2% 미만이다. 더욱 바람직하게는 중합체 내에 어떠한 산 작용기도 무수화물 형태로 존재하지 않는다.

산 작용기는 중합체 골격에 직접 결합되거나, 스페이서기를 통해 중합체 골격에 결합할 수 있다. 스페이서기는 중합체 결사슬의 구성요소이고 산 작용기를 중합체 골격에 연결시킨다. 스페이서기는 선형, 분지형 또는 환형, 지방족, 방향족 또는 부분적으로 지방족 및 부분적으로 방향족이다. 적절한 지방족 스페이서기는 정상적이거나 분지된, 포화되거나 부분적으로 불포화된 알킬렌기, 예컨대, $-(CH_2)_n-$ (n 은 1 내지 약 20의 정수이다)와 같은 폴리메틸렌기를 포함하는 하이드로카빌기, 및 1,4-사이클로헥실렌기와 같은 사이클로알킬렌기를 포함한다. 알킬렌기는 치환되거나 치환되지 않을 수 있다. 적절한 알킬렌 치환기에는 하이드록실기 및 할로젠 원자, 예컨대, 불소, 염소 및 브롬 원자가 포함된다. 알킬렌기는 또한 임의적으로 하나 이상의 지점에서 산소, 질소 또는 황 원자와 같은 헤테로원자에 의해 간섭될 수 있다. 예에는 옥사알킬렌기, 예컨대, $-(CH_2)_2O[(CH_2)_2O]_n(CH_2)_2-$ (여기서, n 은 0 내지 약 3의 정수이다)를 포함한다. 스페이서기는 또한 치환되거나 치환되지 않은 C_2-C_{20} -알케닐렌기 또는 하나 이상의 지점에서 헤테로원자에 의해 간섭된 C_2-C_{20} -알케닐렌기와 같은 부분적으로 불포화된 기일 수 있다. 적절한 방향족 스페이서기에는 오르쏘-, 메타- 및 파라-페닐렌기, 나프틸렌기 및 비페닐렌기가 포함된다.

하나의 구체예에서, 중합체내에 반복 단위의 적어도 일부분은 펜던트 소수성기를 추가로 포함한다. 펜던트 소수성기는 치환되거나 치환되지 않은, 포화되거나 부분적으로 불포화되거나 C_2-C_{24} -하이드로카빌기 또는 치환되거나 치환되지 않은 아릴 또는 아릴알킬기일 수 있다. 적절한 아릴 치환기의 예에는 불소 또는 염소 원자와 같은 할로젠 원자, 및 페닐기와 같은 아릴기가 포함된다. 아릴 치환기는 할로젠 원자, C_1-C_6 -알킬기 및 C_1-C_6 -알콕시기를 포함할 수 있다. 바람직하게는, 펜던트 소수성기는 정상적이거나 분지된 C_2-C_{24} -알킬기이다.

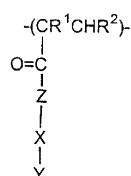
하나의 구체예에서, 투여될 중합체는 동중중합체이다. 또 다른 구체예에서, 투여될 중합체는 산-작용화된 단량체 및 소수성 단량체에 의해 특징화되는 공중중합체이다. 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "소수성 단량체"는 상기 기술한 바와 같이 펜던트 소수성 기를 포함하는 단량체이다. 적합한 소수성 단량체에는 N-n-데실아크릴아미드 및 N-이소프로필아크릴아미드와 같은 치환되거나 치환되지 않은 N-₃-C₂₄-알킬아크릴아미드; n-부틸아크릴레이트 및 n-데실아크릴레이트와 같은 치환되거나 치환되지 않은 C₃-C₂₄-알킬아크릴레이트; 펜타플루오로스티렌 및 4-플루오로스티렌과 같은 스티렌 및 치환된 스티렌; 비닐나프탈렌 및 비닐비페닐을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 공중중합체는 예컨대, 약 10 몰% 내지 약 50 몰%의 소수성 단량체, 및 약 90 몰% 내지 약 50 몰%의 산-작용화된 단량체를 포함하는 폭넓은 범위의 조성물을 가질 수 있다.

바람직한 구체예에서, 투여될 중합체는 하나의 산 작용기를 포함하는 반복 단위에 의해 특징화된다. 본 구체예에서, 중합체내에 두 개의 산 작용기는 인접한 중합체 골격 원자에 연결되지 않을 것이다. 하나의 구체예에서, 투여될 중합체는 하기 일반식을 가지는 반복단위 또는 단량체에 의해 특징화된다:



상기 식에서, X는 상기 기술한 바와 같이, 스페이서 기, 또는 직접 결합이고, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로, 수소 또는 알킬기, 바람직하게는 메틸 또는 에틸이고, Y는 산 작용기이다. 본 타입의 적절한 단량체의 예에는 아크릴산, 메트아크릴산, 비닐설폰산, 비닐포스포산, 3-알릴옥시-2-하이드록시-1-프로판설폰산, 비닐아세트산 및 비닐 하이드로설포이트, 비닐 디하이드로포스페이트, 알릴 하이드로설포이트, 알릴 디하이드로포스페이트를 포함하는 황산, 인산 및 붕산과 같은 광산을 가진 비닐 알콜 및 알릴 알콜의 에스테르 및 이들의 컨주게이트 염기가 포함된다. 또한 단량체는 운데센산, 운데세닐 하이드로설포이트 및 운데세닐 설폰산과 같은 산 작용기로 치환된 알켄으로 중합화될 수 있다. 그 밖의 적절한 예에는 스티렌 설포네이트, 스티렌 포스포네이트 및 비닐벤조산과 같은 산-작용화된 스티렌, 비닐나프탈렌 설포네이트와 같은 산-작용화된 비닐나프탈렌, 및 비닐비페닐 설포네이트와 같은 산-작용화된 비닐비페닐이 포함된다.

또 다른 구체예에서, 투여될 중합체는 하기 일반식의 반복 단위 또는 단량체에 의해 특징화된다:



상기 식에서, Z는 산소 또는 NH이고 X는 상기 기술한 바와 같이 스페이서 기 또는 직접 결합이다. Y는 산 작용기이고 R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소 또는 알킬기, 바람직하게는 메틸 또는 에틸이다. 본 타입의 적절한 단량체의 예에는 2-아크릴아미도글리콜산 및 2-아크릴아미도-2-메틸-1-프로판설폰산이 포함된다.

본 방법에 사용하기 위해 적합한 공중중합체에는 폴리(아크릴산-코-n-데실아크릴레이트) 및 폴리(아크릴산-코-n-부틸아크릴레이트)와 같은 아크릴산 및 C₂-C₂₀-알킬아크릴레이트의 공중중합체가 포함된다. 또한 폴리(아크릴산-코-N-이소프로필아크릴아미드) 및 폴리(아크릴산-코-N-n-데실아크릴아미드)와 같은 아크릴산 및 N-C₂-C₂₀ 알킬아크릴아미드의 공중중합체, 및 펜타플루오로스티렌 또는 4-플루오로스티렌과 같은 스티렌 또는 치환된 스티렌을 가진 아크릴산의 공중중합체가 포함된다.

또 다른 구체예에서, 투여될 중합체는 산-작용화된 단량체, 소수성 단량체 및 중성 친수성 단량체를 포함하는 공중중합체이다. 중성 친수성 단량체는 생리학적 pH에서 분명하게 산성도 아니고 분명하게 염기성도 아닌 극성기를 포함하는 단

량체이다. 적합한 중성 친수성 단량체의 예에는 아크릴아미드, N - (2 - 하이드록시에틸)아크릴아미드, N - (3 - 하이드록시프로필)아크릴아미드, 2 - 하이드록시에틸아크릴레이트, 비닐 아세테이트, 비닐 알콜 및 N - 비닐피롤리돈이 포함된다. 본 타입의 적합한 공중합체는 삼원 혼성 중합체 폴리(아크릴산 - 코 - n - 데실아크릴레이트 - 코 - 아크릴아미드)이다.

또한 투여될 중합체는 펜던트 소수성 기 및 펜던트 산 작용기 둘 모두를 포함하는 반복 단위에 의해 특징화될 수 있다. 적합한 소수성 기 및 산 작용기에는 상기 논의된 것들이 포함된다. 본 타입의 중합체에는 알킬기가 2 내지 약 24개의 탄소 원자를 포함하는 폴리(2 - 알킬아크릴산)이 포함된다. 본 타입의 하나의 적합한 중합체는 폴리(2 - 에틸아크릴산) 또는 이의 컨쥬게이트 염기이다. 또한 투여될 중합체는 펜던트 소수성 기 및 펜던트산 작용기를 가진 제 1 단량체 및 앞서 논의된 중성 친수성 단량체와 같은 제 2의 중성, 친수성 단량체를 포함할 수 있다.

하나의 구체예에서, 투여될 중합체는 펜던트 산 작용기를 포함하는 제 1 반복 단위 및 아미드기 또는 에스테르기와 같은 펜던트산 유도체를 포함하는 제 2 반복 단위를 포함한다. 본 타입의 중합체의 적절한 예에는 설포네이트기의 일부분이 설포아미드 또는 설포네이트 에스테르기로 변환된 폴리(스티렌설포네이트) 및 카복실레이트기의 일부분이 아미드 또는 에스테르기로 변환된 폴리(아크릴레이트)가 포함된다. 중합체의 특성은 아미드화 또는 에스테르화 과정을 통해 중합체내로 도입된 기의 양 및 화학적 특징을 변화시킴으로써 변할 수 있다. 하나의 구체예에서, 중합체는 펜던트 에스테르기를 가지는 반복 단위를 포함하며, 여기서 에스테르기는 멘톨과 같은 알콜, 콜산 또는 리토콜산과 같은 담즙산, 또는 정상적이거나 분지된 C₄ - C₁₂ - 알카놀과 같은 알카놀을 가진 반복 단위를 포함한다. 또 다른 구체예에서, 중합체는 펜던트 아미드기를 가진 반복 단위를 포함하며, 여기서 아미드기는 알킬아민, 예컨대, 정상적이거나 분지된 C₄ - C₁₂ - 알킬아민 또는 암모니오알킬아민과 같은 아민으로부터 유도된다. 적합한 암모니오알킬아민에는 화학식 R¹(R²)(R₃)N⁺(CH₂)_nNH₂의 화합물을 포함하며, 여기서 R₁, R₂ 및 R₃는 각각 독립적으로 수소, C₁ - C₁₂ - 알킬기 또는 아릴알킬기이고, n은 1 내지 약 12의 정수이다.

또 다른 구체예에서, 투여될 중합체는 산 - 작용화된 단량체 또는 반복 단위, 양이온성 반복 단위 및, 임의적으로는, 소수성 반복 단위 및/또는 중성 친수성 반복 단위를 포함하는 공중합체이다. 예를 들어, 산 - 작용화된, 소수성 및 중성 친수성 반복 단위는 상기 논의된 타입의 임의의 반복 단위를 포함할 수 있다. 양이온성 반복 단위는 생리학적 조건하에서 포지티브 전하를 가지며, 바람직하게는, 펜던트 아미노 또는 암모늄기를 포함한다. 이러한 타입의 적합한 반복 단위는 본원에 전체를 참조로 인용한 미국 특허 출원 제 08/934,495호에 기술된 것들을 포함한다. 적합한 양이온성 반복 단위의 예에는 알릴아민, N - 치환된 알릴아민, 4개로 구성된 알릴아민, 디알릴아민, N - 치환된 디알릴아민, 4개로 구성된 디알릴아민, 비닐아민, N - 치환된 비닐아민, 4개로 구성된 비닐아민, N - 아미노알킬아크릴아미드 및 - 메트아크릴아미드, N - 암모니오알킬아크릴아미드 및 - 메트아크릴아미드, 아미노알킬아크릴레이트 및 - 메트아크릴레이트, 및 암모니오알킬아크릴레이트 및 - 메타아크릴레이트가 포함된다. 음이온성 및 양이온성 반복 단위의 비는 폭넓게 다양하며, 예를 들면, 중합체내의 전체 하전된 단량체에 대하여 약 95% 음이온 단량체 및 약 5% 양이온 단량체, 전체 하전된 단량체에 대하여 약 5% 음이온 단량체 및 95% 양이온 단량체이고, 바람직하게는 75% 이상의 단량체가 음이온성이다

본 발명의 바람직한 중합체는 하기 중합체를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다:

폴리(비닐설페이트), 폴리(프로펜설페이트), 폴리(부텐설페이트), 폴리(펜텐설페이트), 폴리(헥센설페이트), 폴리(헵텐설페이트), 폴리(옥텐설페이트), 폴리(노넨설페이트), 폴리(데신설페이트), 폴리(운데센설페이트), 폴리(도데센설페이트)

폴리(비닐설포네이트), 폴리(프로펜설포네이트), 폴리(부텐설포네이트), 폴리(펜텐설포네이트), 폴리(헥센설포네이트), 폴리(헵텐설포네이트), 폴리(옥텐설포네이트), 폴리(노넨설포네이트), 폴리(데센설포네이트), 폴리(운데센설포네이트), 폴리(도데센설포네이트)

폴리(비닐포스페이트), 폴리(프로펜포스페이트), 폴리(부텐포스페이트), 폴리(펜텐포스페이트), 폴리(헥센포스페이트), 폴리(헵텐포스페이트), 폴리(옥텐포스페이트), 폴리(노넨포스페이트), 폴리(데센포스페이트), 폴리(운데센포스페이트), 폴리(도데센포스페이트)

폴리(비닐포스포네이트), 폴리(프로펜포스포네이트), 폴리(부텐포스포네이트), 폴리(펜텐포스포네이트), 폴리(헥센포스포네이트), 폴리(헵텐포스포네이트), 폴리(옥텐포스포네이트), 폴리(노넨포스포네이트), 폴리(데센포스포네이트), 폴리(운데센포스포네이트), 폴리(도데센설포네이트)

카라게난, 헤파린, 헤파란 설페이트, 덱스트란 설페이트, 펜토산 설페이트, 라미나린 설페이트, 콘드로이틴 설페이트, 데르마탄 설페이트

폴리(스티렌설포네이트), 폴리(스티렌설페이트), 폴리(스티렌설파닐레이트), 폴리(설포페닐알라닌), 폴리(티로신설페이트), 폴리(설포페네틸아크릴아미드), 폴리(설포페네틸메트아크릴아미드), 폴리(비닐나프탈렌설포네이트), 폴리(비닐나프탈렌설페이트), 폴리(비닐비페닐설포네이트), 폴리(비닐비페닐설페이트), 폴리(아네톨설포네이트), 폴리(비닐벤조산)

폴리(설포페닐프로펜), 폴리(설포페닐부텐), 폴리(설포페닐펜텐), 폴리(설포페닐헥센), 폴리(설포페닐헵텐), 폴리(설포페닐옥텐), 폴리(설포페닐노넨), 폴리(설포페닐데센), 폴리(설포페닐운데센), 폴리(설포페닐도데센)

폴리(설페이트페닐프로펜), 폴리(설페이트페닐부텐), 폴리(설페이트페닐펜텐), 폴리(설페이트페닐헥센), 폴리(설페이트페닐헵텐), 폴리(설페이트페닐옥텐), 폴리(설페이트페닐노넨), 폴리(설페이트페닐데센), 폴리(설페이트페닐운데센), 폴리(설페이트페닐도데센)

폴리(포스포페닐프로펜), 폴리(포스포페닐부텐), 폴리(포스포페닐펜텐), 폴리(포스포페닐헥센), 폴리(포스포페닐헵텐), 폴리(포스포페닐옥텐), 폴리(포스포페닐노넨), 폴리(포스포페닐데센), 폴리(포스포페닐운데센), 폴리(포스포페닐도데센)

폴리(포스페이트페닐프로펜), 폴리(포스페이트페닐부텐), 폴리(포스페이트페닐펜텐), 폴리(포스페이트페닐헥센), 폴리(포스페이트페닐헵텐), 폴리(포스페이트페닐옥텐), 폴리(포스페이트페닐노넨), 폴리(포스페이트페닐데센), 폴리(포스페이트페닐운데센), 폴리(포스페이트페닐도데센)

설포화된 폴리(비닐페닐 케톤), 설포화된 폴리(페닐설포), 설포화된 폴리(4-메틸스티렌), 설포화된 폴리(α -메틸스티렌), 설포화된 폴리(스티렌-블록-에틸렌옥사이드-블록-스티렌), 설포화된 폴리(에틸렌 옥사이드-블록-스티렌-블록-에틸렌옥사이드), 설포화된 폴리(4-메톡시스티렌), 설포화된 폴리(디페녹시포스파젠), 설포화된 폴리(에틸렌 옥사이드-블록-스티렌), 설포화된 폴리(스티렌-블록-에틸렌), 설포화된 폴리(아세나프틸렌), 설포화된 폴리(비닐카바졸), 설포화된 폴리(스티렌-코-부타디엔), 설포화된 폴리(스티렌-블록-(에틸렌-코-부틸렌)-블록-스티렌)

폴리(스티렌설포네이트-코-말레산), 폴리(스티렌설포네이트-코-아크릴산), 폴리(스티렌설포네이트-코-메트아크릴산), 폴리(스티렌설포네이트-코-아크릴아미도메틸프로판설포네이트), 폴리(스티렌설포네이트-코-이타콘산), 폴리(스티렌설포네이트-코-비닐벤조산)

폴리(스티렌설포네이트-코-디아릴메틸암모늄 클로라이드), 폴리(스티렌설포네이트-코-디아릴디메틸암모늄 클로라이드), 폴리(스티렌설포네이트-코-디아릴메틸록틸암모늄 클로라이드), 폴리(스티렌설포네이트-코-알릴아민), 폴리(스티렌설포네이트-코-비닐벤질트리메틸암모늄 클로라이드)

폴리(스티렌설포네이트-코-스티렌), 폴리(스티렌설포네이트-코-옥틸스티렌설포아미드), 폴리(스티렌설포네이트-코-메틸스티렌설포네이트), 폴리(스티렌설포네이트-코-리토콜산 스티렌설포네이트).

본 방법에서 사용되는 중합체는 선형 또는 가교될 수 있다. 중합체는 예컨대, 다기능성 공단량체(comonomer)의 중합체 내에 혼입됨으로써 가교될 수 있다. 적절한 다기능성 공단량체에는 디아크릴레이트, 트리아크릴레이트 및 테트라아크릴레이트, 디메트아크릴레이트, 디아크릴아미드, 디알릴아크릴아미드, 디(메트아크릴아미드), 트리알릴아민 및 테트라알킬암모늄 이온이 포함된다. 특정 예에는 에틸렌 글리콜 디아크릴레이트, 프로필렌 글리콜 디아크릴레이트, 부틸렌 글리콜 디아크릴레이트, 에틸렌 글리콜 디메트아크릴레이트, 부틸렌 글리콜 디메트아크릴레이트, 메틸렌 비스(메트아크릴아미드), 에틸렌 비스(아크릴아미드), 에틸렌 비스(메트아크릴아미드), 에틸리덴 비스(아크릴아미드), 에틸리덴 비스(메트아크릴아미드), 펜타에리트리톨 테트라아크릴레이트, 트리메틸올프로판 트리아크릴레이트, 비스페놀 A 디메트아크릴레이트 및 비스페놀 A 디아크릴레이트가 포함된다. 그 밖의 적합한 다기능성 단량체에는 디비닐벤젠과 같은 폴리비닐아렌이 포함된다. 가교 작용제의 양은 전형적으로 중합체의 중량에 대해 약 1.0 중량% 내지 약 30 중량%, 바람직하게는 약 5 중량% 내지 약 25 중량%이다.

또한 중합체는 중합화에 후속하여 교차-결합될 수 있다. 예를 들어, 산 작용기의 일부분은 당분야에 공지된 바와 같이 반응성 유도체로 변환될 수 있다. 예를 들어, 카복실산 및 설폰산 기를 티오닐 클로라이드와 반응시켜 각각 아실 클로라이드 및 설폰일 클로라이드 기를 생성할 수 있다. 그런 다음, 이러한 반응기는 디아민, 디알콜 또는 아미노 알콜, 바람직하게는 아미노 및/또는 하이드록실기가 $C_3 - C_{18}$ - 알킬렌 사슬과 같은 알킬렌 사슬에 의해 분리된 디아민, 디알콜 또는 아미노 알콜과 반응할 수 있다. 이러한 반응을 통해 인접한 중합체 사슬상의 유사한 기와 결합되는 소정의 중합체상의 에스테르 및/또는 아미드기가 형성된다. 교차-결합의 크기는 예컨대, 반응기로 변환되는 산 작용기의 분율을 제어함으로써 제어될 수 있다.

중합체의 분자량이 중요한 것은 아니지만, 바람직하게는, 의도된 투여 모드에 적합하고 중합체가 신체의 표적화된 영역 내에 도달하여 잔류하도록 해준다. 예를 들어, 장내 감염을 치료하는 방법은 위장관으로부터 신체의 다른 부분으로의 흡수를 부분적으로 또는 완전히 방지시키기 위해 충분히 높은 분자량 또는 교차-결합의 정도를 가진 중합체를 사용해야 한다. 바람직하게는, 선형인 경우, 투여될 중합체는 2,000 달톤 내지 약 500,000 달톤, 5,000 달톤 내지 약 150,000 달톤, 또는 약 25,000 달톤 내지 약 1 백만 달톤과 같은 약 1 이상 내지 약 1 백만 달톤 범위의 분자량을 가진다. 또한, 분자량은 약 100,000 내지 약 1 백만 또는 약 400,000 내지 약 1 백만 달톤일 수 있다.

본 방법에 사용된 중합체는 바람직하게는 실질적으로 비생분해성이고 비흡수성이다. 즉, 중합체는 실질적으로 생리학적 조건하에서 신체 조직에 의해 흡수될 수 있는 단편으로 분해되지 않는다. 중합체는 바람직하게는 비가수분해성 골격을 가지고 있으며, 이것은 위장관과 같은 신체의 표적 영역에서 접하는 조건하에서 실질적으로 불활성이다. 특히 바람직한 중합체는 폴리스티렌 설포네이트이다. 바람직하게는, 중합체는 600,000 달톤과 같은 약 400,000 내지 1 백만 달톤의 분자량을 가지는 가용성의, 가교되지 않은 폴리스티렌 설포네이트 중합체이다. 또한, 본 발명에 적합한 중합체 골격은 폴리아크릴아미드, 폴리아크릴레이트, 폴리(비닐) 및 폴리(에틸렌이민), 폴리스티렌 골격을 포함한다. 본 발명의 공중합체는 둘 이상의 이러한 골격 구성요소의 조합을 포함할 수 있다. 또한 투여될 중합체는 폴리아미드 또는 폴리에스테르와 같은 축합 중합체일 수 있다.

투여될 소정의 중합체의 정량은 개별적인 주성분으로 결정될 것이고, 적어도 부분적으로는, 개별적인 크기, 공지되거나 의심스러운 병원성 생물체의 확인, 치료될 증상의 경중도 및 발견된 결과를 고려함으로써 결정될 것이다. 중합체는 단독으로 또는 중합체 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 캐리어, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물로 투여될 수 있다. 또한, 약제학적 조성물은 임의적으로 항생제, 항염증제 또는 진통제와 같은 하나 이상의 추가적인 약물을 포함할 수 있다.

중합체는 피하적 또는 그 밖의 주입에 의해 정맥내, 국부적, 경구적, 비경구적, 경피적, 또는 공급 튜브를 통한 직장을 통해 투여될 수 있다. 바람직하게는, 중합체 또는 중합체를 포함하는 약제학적 조성물은 경구적으로 투여된다. 중합체가 투여되는 형태는(예컨대, 분말, 정제, 캡슐, 용액, 또는 에멀전) 투여되는 경로에 달려있다. 치료학적 유효량은 1회 복용량 또는 시간과 같은 적당한 시간 간격으로 분리된 일련의 복용량으로 투여될 수 있다.

경구적인 전달에 있어서, 중합체는 약 0.1 내지 10g/Kg/일, 더욱 바람직하게는 1.0 내지 7.0g/Kg/일, 더욱 더 바람직하게는 2.0 내지 6.6g/Kg/일로 투여될 수 있다.

또한 중합체는 예컨대, 당분야에 공지된 항생제중에서 선택된 하나 이상의 항미생물제와 함께 투여될 수 있다. 투여될 항생제는 일반적으로 당분야에 공지된 바와 같이, 병원성 미생물의 동일성 또는 의심스러운 동일성에 기초하여 선택된다. 예를 들어, 병원성 미생물이 크립토스포리디움 파르븀(*Cryptosporidium parvum*)인 경우, 중합체와 함께 투여될 수 있는 하나의 적합한 항생제는 파로모마이신이다. 중합체 및 항미생물제는 예컨대, 별개의 투여 형태 또는 단일 투여 형태, 또는 적당한 시간 간격에 의해 분리된 순서로 동시에 투여될 수 있다.

용어 "항미생물제"에 항세균제, 항진균제, 방부제 등을 포함시키고자 한다. 적절한 항미생물제는 당분야에 공지되어 있으며 이에 는 이소니아지드, 리팜핀, 피라진아미드, 에탐부톨, 에리트로마이신, 반코마이신, 테트라사이클린, 클로람페니콜, 설펜아미드, 젠타마이신, 아목시실린, 페니실린, 스트렙토마이신, p-아미노살리사이클산, 클라리트로마이신, 클로파지민, 미노사이클린, 설펜아미드, 에티온아미드, 사이클로세린, 카나마이신, 아미카신, 카프레오마이신, 비오마이신, 티아세타존, 리파부틴 및 시프로플록사신, 오픈록사신 및 스파르플록사신과 같은 퀴놀론이 포함된다. 용어 "항세균제"에는 다른 미생물의 성장을 억제시키기 위해 미생물에 의해 생성되는 천연 발생 항생제, 및 살균 또는 세균 활성을 가진 실험실에서 합성되거나 변형된 작용제, 예컨대, 카르벤실림을 포함하는 β -락탐 항세균제; 암피실린, 클록사실린, 옥사실린 및 피에라실린, 세팔로스포린 및 예컨대, 이미페넴 및 메로페넴을 포함하는 세파클로르, 세파만돌, 세파줄린, 세포페라존, 세프트악심, 세폭시틴, 세프트리지덤, 세프트리아존 및 카르바페넴을 포함하는 그 밖의 세팸; 및 글리코펩티드, 마크로리드, 퀴놀론(예컨대, 날리딕산), 테트라사이클린, 아미노글리코사이드(예컨대, 젠타마이신 및 파로모마이신)을 포함하지만, 이에 제한되지 않으며 항진균제를 추가로 포함한다. 일반적으로 항세균제가 세균성인 경우, 이 작용제가 필수적으로 세균성 세포 성장을 정지시키는 것을 의미하며(그러나 세균을 사멸시키지 않는다); 항세균제가 살균성인 경우, 이 작용제가 세균성 세포를 사멸시킴을 의미한다(그리고 세균을 사멸시키기 전에 성장을 정지시킬 수 있다).

따라서, 본원에 기술한 중합체 및 조성물은 예컨대, 본원에 기술한 치료를 위한 약제의 제조시에 의학용으로 사용될 수 있다.

하나의 구체예에서, 다수의 펜던트산 작용기를 포함하는 중합체는 양이온성 중합체, 바람직하게는 아미노 및/또는 암모늄기를 포함하는 중합체와 함께 투여된다. 본 타입의 적합한 중합체의 예는 공동 출원 제 08/934,495호에 기술되어 있으며 이를 전체로서 본원에 참조로 인용하였다. 적절한 양이온 중합체는 선형 또는 교차-결합될 수 있다. 이에 는 알릴아민, 디알릴아민, 디알릴메틸아민, 비닐아민, N-아미노알킬아크릴아미드, N-아미노알킬메타아크릴아미드, 아미노알킬아크릴레이트, 아미노알킬메타아크릴레이트 및 산 부가염 및 이들의 모노알킬화된, 디알킬화된 및 트리알킬화된(4개로 구성된) 유도체와 같은 반복 단위 또는 단량체를 포함하는 중합체가 포함된다. 적절한 양이온 중합체에는 상기 논의한 바와 같이, 이러한 반복 단위의 동중중합체 및 하나 이상의 이러한 반복 단위 및, 임의적으로, 하나 이상의 소수성 단량체 및/또는 중성 친수성 단량체를 포함하는 공중중합체가 포함된다. 산-작용화된 중합체 및 양이온 중합체는 다양한 중량비로 투여될 수 있으며 예컨대, 단일 투여 형태 또는 별도의 투여 형태, 또는 분 또는 시간에 의해 분리된 순서로 동시에 투여될 수 있다. 적절한 투여량 및 투여 방법은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있다. 하나의 구체예에서, 음이온 중합체는 폴리(스티렌설포네이트)이고 양이온 중합체는 예컨대, 반복 단위의 일부분이 옥틸기 또는 데실기와 같은 $C_4 - C_{12}$ -알킬기로 알킬화된 폴리(디알릴메틸아민) 또는 폴리(디알릴메틸아민)이다.

본 발명의 중합체는 예컨대, 산-작용화된 단량체의 직접 중합화 또는 산-작용화된 단량체 및 제 2의 산-작용화된 단량체, 소수성 단량체, 중성 친수성 단량체, 다기능성 교차-결합 단량체 또는 이들의 조합과 같은 하나 이상의 추가적인 공단량체를 포함하는 단량체 혼합물의 공중합화에 의한 당분야에 공지된 방법을 통해 제조될 수 있다. 단량체 혼합물은

예컨대, 당분야에 널리 공지된 자유 라디칼, 양이온 또는 음이온 중합화 방법을 사용하여 중합될 수 있다. 둘 이상의 단량체의 반응 비의 차이로 인해, 공중합체 생성물중의 단량체의 몰비는 초기 반응 혼합물중의 단량체의 몰비와 상이할 수 있다. 또한 이러한 반응성의 차이는 중합체 사슬을 따라 단량체의 비무작위적인 분포를 초래할 수 있다.

또한 중합체는 활성화된 중합체상에서 친핵성 결사슬 치환에 의해 합성될 수 있다. 이러한 방법은 요망되는 결사슬에 의해 쉽게 치환되는 불안정한 결사슬을 가진 중간생성물 중합체를 통해 진행된다. 본 타입의 적절한 중합체에는 폴리(N-아크릴로일옥시숙신이미드)(pNAS)가 포함되며, 이것은 일차 아민과 반응하여 예컨대, N-치환된 폴리아크릴아미드를 형성한다. 불안정한 결사슬을 가진 또 다른 적절한 중합체는 폴리(4-니트로페닐아크릴레이트)이며, 이것은 또한 일차 아민과 반응시에 N-치환된 폴리아크릴아미드를 형성시킨다.

예를 들어, 산 작용기로 치환된 아미드 질소 원자 및 소수성 기로 치환된 아미드 질소 원자를 포함하는 폴리아크릴아미드 골격을 가진 공중합체는 pNAS를 1당량(N-아크릴로일옥시숙신이미드 단량체에 대해) 미만의 아미노산, 예컨대, 글리신과 같은 산 작용기로 끝나는 일차 아민으로 처리함으로써 제조될 수 있다. 그런 다음 소수성 기는 잔류한 N-아크릴로일옥시숙신이미드 단량체의 적어도 일부분에서 $C_2 - C_{20}$ -알킬아민과 같은 제 2의 일차 아민과 반응함으로써 도일될 수 있다. 중성 친수성 단량체를 추가로 포함하는 공중합체는 잔류하는 N-아크릴로일옥시숙신이미드 단량체를 예컨대, 2-아미노에탄올 또는 암모니아와 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 따라서, 여러 공중합체 조성물들은 활성화된 중합체를 상이한 비의 선택된 아민으로 처리함으로써 쉽게 수득될 수 있다.

또한 본 방법에서 사용되는 중합체는 산 작용기를 가진 전구 중합체의 작용화에 의해 합성될 수 있다. 예를 들어, 알릴기를 포함하는 결사슬을 가진 중합체는 공지된 방법을 사용하여 설폰화되어 펜던트 설폰산 기를 가진 중합체를 생성시킬 수 있다. 폴리(비닐 알콜) 및 폴리(알릴 알콜)과 같은 하이드록실기를 포함하는 전구 중합체는 공지된 방법을 사용하여 설페이트화되어 설페이트 에스테르기를 포함하는 중합체를 형성시킬 수 있다. 또한 산 작용기 및 소수성 기 둘 모두를 가진 중합체는 이러한 일반적인 접근법을 사용하여 합성될 수 있다. 예를 들어, 폴리스티렌과 같은 폴리(비닐아렌) 중합체는 예컨대, 발연성 황산과 반응함으로써 설폰화되어 폴리(스티렌 설포네이트)를 형성할 수 있다.

산-작용화된 중합체는 산 기의 적어도 일부분을 아미드 또는 에스테르와 같은 산 유도체로 변환시킴으로써 변화될 수 있다. 예를 들어, 폴리(스티렌설포네이트)는 설포네이트기를 기초로 하여, 티오닐 클로라이드의 서브화학량론적 양과 반응함으로써, 설포네이트기의 일부분을 설포닐 클로라이드 기로 변환시킬 수 있다. 생성된 중합체는 예컨대, 과량의 일차 아민과 반응하여 설포닐 클로라이드 기를 N-치환된-설포아미드 기로 변환시키거나 알콜과 반응하여 설포닐 클로라이드 기를 설포네이트 에스테르 기로 변환시킬 수 있다. 생성된 중합체의 소수성은 N-치환기 또는 에스테르 작용성 및 설포네이트기를 설포아미드 또는 설포네이트 에스테르기로 변환시키는 정도 중 어느 하나 또는 둘 모두를 변화시킴으로써 변화될 수 있다.

본 발명의 방법에 의해 억제될 수 있는 병원성 독소에는 스트렙토코쿠스 뉴모니에(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코쿠스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*) 및 스트렙토코쿠스 산구이스(*Streptococcus sanguis*)를 포함하는 스트렙토코쿠스 종(*Streptococcus* spp.); 살모넬라 엔테리티디스(*Salmonella enteritidis*)를 포함하는 살모넬라 종(*Salmonella* spp.); 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*)를 포함하는 캄필로박터 종(*Campylobacter* spp.); 대장균(*Escherichia coli*)을 포함하는 에스케리치아 종(*Escherichia* spp.); 클로스트리디움 디피실레(*Clostridium difficile*) 및 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*)을 포함하는 클로스트리디아 종(*Clostridia* spp.); 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*)를 포함하는 스타필로코쿠스 종(*Staphylococcus* spp.); 쉬젤라 디센테리아(*Shigella dysenteriae*)를 포함하는 쉬젤라 종(*Shigella* spp.); 슈도모나스 에어루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*)를 포함하는 슈도모나스 종(*Pseudomonas* spp.); 보르다텔라 페르투스시스(*Bordatella pertussis*)를 포함하는 보르다텔라 종(*Bordatella* spp.); 리스테리아 모노시토게네스(*Listeria monocytogenes*)를 포함하는 리스테리아 종(*Listeria* spp.); 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*); 예르시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia enterocolitica*)를 포함하는 예르시니아 종(*Yersinia* spp.); 레지오넬라 뉴모필리아(*Legionella pneumophila*)를 포함하는 레지오넬라 종(*Legionella* spp.); 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*)를 포함하는 바실러스 종(*Bacillus* spp.); 헬리코박터 종(*Helicobacter* spp.); 코리네박테리아 종(*Corynebacterias* spp.); 액티노바실러스 종(*Actinobacillus* spp.); 에어로모나스 종(*Aeromonas* spp.); 박테로이드스 프라길리스(*Bacteroides fragilis*)를 포함하는 박테로이드스 종(*Bacteroides* spp.); 네이세리아 메닝기티디스(*Neisseria meningitidis*)를 포함하는 네이세리아 종(*Neisseria* spp.); 모락셀라 카탈리스(*Moraxella catarrhalis*)와 같은 모락셀라 종(*Moraxella* spp.); 및 파스테우렐라 종(*Pasteurella* spp.)과 같은 독소가 포함되지만, 이에 제한되지 않는다. 또한 엔타메오바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*) 및 아칸타메오바(*Acanthamoeba*)에 의해 생성된 독소와 같은 원생동물 독소; 및 기생동물 독소가 포함된다.

또한 본 발명의 방법은 로타바이러스, 사람 면역결핍 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 폴리오 바이러스, 수포성 구내염 바이러스, 백시니아 바이러스, 아데노바이러스, 피아바이러스, 토가바이러스(신드비스 바이러스 및 세플리키포레스 바이러스와 같은), 파라믹소바이러스, 파필로마바이러스에 의해 생성된 독소와 같은 바이러스성 독소를 억제시키기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 방법을 사용하여 억제될 수 있는 독소에는 상기 바이러스중 어느 것에 의해 생성된 비로포린 분자가 포함된다. 본 발명의 방법을 사용하여 억제될 수 있는 바람직한 독소는 로타바이러스 NSP4 단백질이다. 억제될 수 있는 그 밖의 독소는 인플루엔자 M2 단백질, HIV Vpu 및 gp41 단백질, 피코프나바이러스 3A 단백질, 토가바이러스 6K 단백질, 호흡기 신시절 바이러스 SH 단백질, 코로나바이러스 D3 단백질 및 아데노바이러스 E5 단백질을 포함한다.

감염은 전신 감염 또는 국소화된 감염일 수 있다. 바람직하게는, 감염은 하나 이상의 경구강, 눈, 인후를 포함하는 위장관, 피부 및, 기관 또는 중이와 같은 귀에 국소화된다.

투여될 소정의 중합체의 정량은 개별적인 주성분으로 결정되고 적어도 부분적으로는, 개별적인 크기, 치료된 증상의 경중도 및 발견된 결과를 고려하여 결정될 것이다. 중합체는 단독으로 또는 중합체, 허용되는 캐리어 또는 희석제 및 임의적으로는 하나 이상의 추가적인 약물을 포함하는 약제학적 조성물로 투여될 수 있다.

중합체는 예를 들어, 피하적 또는 그 밖의 주입에 의해 정맥내, 국부적, 경구적, 비경구적, 경피적, 또는 직장을 통해 전신적으로 또는 비전신적으로 투여될 수 있다. 선택된 투여의 경로는 일반적으로 감염이 전신적인지 국소적인지에 따른 것이다. 투여될 중합체의 형태는(예컨대, 분말, 정제, 캡슐, 용액 또는 에멀전) 투여되는 경로에 따른 것이다. 치료학적 유효량은 시간과 같은 적당한 시간 간격에 의해 분리된 일련의 투여량으로 투여될 것이다. 바람직하게는, 중합체는 비전신적으로, 예컨대, 경구적 또는 국부적으로, 예컨대, 피부, 눈, 경구 점막과 같은 경구 조직, 또는 위장 점막에 적용에 의해 투여된다.

바람직한 구체예에서, 독소는 병원성 세균 균주에 의해 생성된 외독소이다. 특히 중요한 병원균은 대장균, 예컨대, 대장균 균주 06:H-, 0157:H7, 0143 및 그 밖의 임상학적 단리물, 및 클로스트리디움 디피실레이다. 0157:H7과 같은 장

출혈성 대장균(EHEC)은 출혈성 대장염으로 공지된 특징적인 무열성 유행 설사를 일으킬 수 있다. EHEC는 구조 및 기능에서 시가 독소와 유사한 두가지 관련된 세포독소중 하나 또는 둘 모두를 높은 레벨로 생성시키며 시가-유사 독소(SLT I 또는 SLT II)로서 부른다. 이러한 시가-유사 독소는 장내 점막을 손상시켜 출혈성 대장염의 징후를 초래하는 것으로 생각된다.

바람직한 구체예에서, 미생물성 독소 또는 독소들은 클로스트리디움 디피실레에 의해 생성된다. 클로스트리디움 디피실레는 두가지 독소인 독소 A 및 독소 B를 생성한다. 독소 A는 호중구의 침투 및 염증의 매개체의 방출을 자극하여 유액 분비를 초래하고, 막 투과성을 변화시켜 출혈성 괴사를 초래하는 장독소이다. 클로스트리디움 디피실레는 항생제-관련된 설사의 많은 사례 및 결장의 심각하고 잠재적으로 치명적인 염증인 위막성 대장염의 대부분의 사례와 관련있다. 클로스트리디움 디피실레 감염의 치료는 전형적으로 반코마이신 또는 메트로니다졸의 투여와 관련있다. 하나의 구체예에서, 치료될 상태는 항생제-관련된 설사 또는 위막성 대장염과 같은 클로스트리디움 디피실레 유도된 위장염이다. 이러한 구체예에서, 중합체는 적어도 부분적으로 클로스트리디움 디피실레에 대해 효과적인 반코마이신 및 메트로니다졸과 같은 하나 이상의 항생제와 함께 임의적으로 투여될 수 있다.

본원에 사용되는 바와 같이 클로스트리디움 디피실레 관련된 설사(CDAD)의 "치료"는 CDAD에 걸리기 쉬운 호나자의 예방적 치료; CDAD의 초기 개시에서의 치료; 진행중인 CDAD의 치료 및 민감한 환자에서 재발하는 CDAD의 치료를 포함한다. 본원에 사용하는 바와 같이 "치료학적 유효량"은 질환의 증상을 예방하거나, 감소시키거나 근절시키기에 충분한 양이다.

바람직한 구체예에서, 치료적/예방적 CDAD 치료 요법(질환의 예방, 개시 이후 질환의 감소 또는 근절, 또는 질환의 재발의 예방을 초래함)은 치료학적 유효량의 400,000 내지 1 백만의 분자량, 가장 바람직하게는 600,000의 분자량을 가지는 폴리스티렌 설포네이트, 바람직하게는 가용성의 가교되지 않은 폴리스티렌 설포네이트, 더욱 바람직하게는, 가용성의 가교되지 않은 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 치료학적 조성물의 투여를 포함한다. 어떤 메카니즘에 제한시키거나 고자 하는 것은 아니지만, 본 발명에 따른 조성물은 독소, 예컨대, 클로스트리디움 디피실레에 의해 생성된 독소에 결합한다. 독소 A는 호중구의 침투 및 염증의 매개체의 방출을 자극하여 유체 분비를 초래하고 막 투과성을 변화시켜 출혈성 괴사를 초래하는 장독소이다. 독소 B는 세포독소이다. 이들 독소는 CDAD 및 그 밖의 AAD의 증상을 담당하는 것으로 생각되고 있다.

또한 본 발명은 폭넓은 범위의 항생제 치료와 함께 동시요법으로서 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 치료학적 조성물을 투여하는 것을 포함하는 예방 치료 요법을 고찰한다. 본원에 사용하는 바와 같이 "동시요법"이란 두 가지 약물을 분, 시간 또는 일에 의해 분리하여 동시에 또는 순차적으로 투여하지만, 일부 방법에서 함께 작용하여 요망하는 치료학적 반응을 제공하는 치료 요법을 의미한다.

본 발명은 하기 실시예에 의해 더욱 상세하게 설명될 것이다.

실시예

실시예 1 - 아크릴산/스티렌 공중합체(2:1)의 합성

THF(200mL) 중의 아크릴산(15.0g, 0.2mol)과 스티렌(10.4g, 0.1mol)의 용액을 제조하였다. 용액을 급속 질소 스트림으로 탈기시킨 후, 아조비스이소부티로니트릴(AIBN)(1.47g, 전체 단량체를 기준으로 하여 3 mol%)을 첨가하였다. 용액을 30분 동안 더 탈기시킨 후, 반응물을 14시간 동안 70°C로 가열하였다. 용액을 냉각시키고, n-헥산(800mL) 내로 침전시켰다. 헥산을 섬유성 백색 생성물로부터 경사분리시키고, 생성물을 에틸 아세테이트(300mL)로 세척한 후, 추가의 헥산 분액(200mL)으로 세척하였다. 중합체를 진공 건조시켜, 취성 백색 고형물 21.6g(84.6%)을 수

득하였다.

실시예 2 - 아크릴산/데실아크릴레이트(96:4) 공중합체의 합성

디옥산(200mL) 중의 아크릴산(10.0g, 133mmol)과 n - 데실아크릴레이트(1.0g, 4.71mmol)의 용액을 제조하였다. 용액을 이에 급속 질소 스트림을 통과시킴으로써 탈기시킨 후, 이 용액에 AIBN(0.6g, 전체 단량체를 기준으로 하여 5 mol%)를 첨가하였다. 용액을 30분 동안 더 탈기시킨 후, 반응물을 16시간 동안 70°C로 가열하였다. 용액을 냉각시키고, 에틸 아세테이트 (600mL) 내로 침전시켰다. 에틸 아세테이트를 섬유성 백색 생성물로부터 경사분리시키고, 생성물을 에틸 아세테이트 (300mL)로 세척한 후, 헥산(200mL)으로 세척하였다. 중합체를 진공 건조시켜, 취성 백색 고형물 9.0g (81%)을 수득하였다.

실시예 3 - 아크릴산/n - 부틸아크릴레이트(9:1) 공중합체의 합성

디옥산(200mL) 중의 아크릴산(10.0g, 133mmol)과 n - 부틸아크릴레이트(2.0g, 14.41mmol)의 용액을 제조하였다. 용액을 이에 급속 질소 스트림을 통과시킴으로써 탈기시킨 후, 이 용액에 AIBN(0.6g, 전체 단량체를 기준으로 하여 5 mol%)를 첨가하였다. 용액을 30분 동안 더 탈기시킨 후, 반응물을 17시간 동안 70°C로 가열하였다. 용액을 냉각시키고, 에틸 아세테이트 (600mL) 내로 침전시켰다. 에틸 아세테이트를 섬유성 백색 생성물로부터 경사분리시키고, 생성물을 에틸 아세테이트 (300mL)로 세척한 후, 헥산(200mL)으로 세척하였다. 중합체를 진공 건조시켜, 취성 백색 고형물 9.0g (81%)을 수득하였다.

아크릴산과 n - 부틸아크릴레이트(10:3)의 상응하는 공중합체는 동일한 과정에 의해 제조되었다.

실시예 4 - 아크릴산/n - 데실아크릴레이트/아크릴아미드 (70:7.5:22.5) 3원 혼성중합체의 합성

디옥산(200mL) 중의 아크릴산(10.0g, 133mmol), n - 데실아크릴레이트(3.0g, 14.2mmol) 및 아크릴아미드(3.0g, 42.2mmol)의 용액을 제조하였다. 용액을 급속 질소 스트림으로 탈기시킨 후, AIBN(1.3g)을 첨가하였다. 용액을 30분 더 탈기시킨 후, 반응물을 17시간 동안 70°C로 가열하였다. 중합체는 반응이 진행함에 따라 섬유성 백색 고형물로서 침전되었다. 용액을 냉각시키고, 디옥산을 경사분리하였다. 잔류물을 에틸 아세테이트 (600mL)로 세척하고, 에틸 아세테이트를 버렸다. 중합체를 최종적으로 헥산(300mL)으로 세척하고, 진공 건조시켰다.

실시예 5 - 아크릴산/n - 부틸아크릴레이트/아크릴아미드 (60:15:25) 3원 혼성중합체의 합성

디옥산(200mL) 중의 아크릴산(10.0g, 133mmol), n - 부틸아크릴레이트(4.0g, 31.4mmol) 및 아크릴아미드(4.0g, 56.3mmol)의 용액을 제조하였다. 용액을 급속 질소 스트림으로 탈기시킨 후, AIBN(1.3g)을 첨가하였다. 생성된 용액을 30분 더 탈기시킨 후, 17시간 동안 70°C로 가열하였다. 반응이 진행함에 따라, 중합체는 섬유성 백색 고형물로서 침전되었다. 용액을 냉각시키고, 디옥산을 경사분리하였다. 중합체를 에틸 아세테이트 (600mL)로 세척한 후, 헥산(300mL)으로 세척하고, 진공 건조시켰다.

실시예 6 - 아크릴산과 데실아크릴레이트(10:2)의 공중합체의 합성

디옥산(300mL) 중의 아크릴산(10.0g, 133mmol)과 데실아크릴레이트(5.64g, 26.6mmol)의 용액을 제조하였다. 용액을 급속 질소 스트림으로 탈기시킨 후, AIBN(0.8g)을 첨가하였다. 생성된 용액을 30분 동안 더 탈기시키고, 반응 혼합물을 16시간 동안 70°C로 가열하였다. 용액을 냉각시키고, 에틸 아세테이트 (600mL)에 첨가시켰다. 에틸 아세테이트를 생성된 섬유성 백색 생성물로부터 경사분리시켰다. 그 후, 생성물을 디옥산(150mL) 중에 재용해시키고, 에틸 아세테이트 (500mL)로 침전시키고, 여과시키고, 차가운 헥산(300mL)으로 세척하고, 진공 건조시켰다.

실시예 7 - 2% 가교된 폴리(에틸렌글리콜메타크릴레이트 포스페이트)겔의 제조

폴리(에틸렌글리콜메타크릴레이트 포스페이트)겔을, 개시제로서 약 1 mol%의 AIBN을 사용하여 에탄올/물(50/50) 중에서 에틸렌글리콜메타크릴레이트 포스페이트 (29.4mmol, 6.178g)을 디비닐벤젠("DVB") (0.926mmol, 0.1319 mL)으로 중합시킴으로써 제조하였다. 생성된 탄성 겔을 2개의 50mL 원심분리 튜브에 2 부분으로 나누어 넣고, 에탄올로 4회 세척하였다 (사용된 전체 에탄올의 양은 약 120mL임). 겔을 강제 공기 오븐에서 70°C에서 밤새 건조시켰다. 건조된 겔을 분쇄시키고, 체로 거르고, 50mL 원심분리 튜브에서 물로 3회 세척하였다. 겔을 강제 공기 오븐에서 70°C에서 밤새 건조시켰다.

실시예 8 - 설폰화된 폴리스티렌겔의 제조

폴리스티렌겔을, 개시제로서 약 1 mol%의 AIBN을 사용하여 톨루엔 중에서 스티렌을 디비닐 벤젠으로 중합시킴으로써 다음과 같이 제조하였다:

폴리스티렌겔 (6% DVB). 스티렌(282mmol, 3.23mL)을 격막 캡이 장착된 40mL 바이알에 첨가하였다. 톨루엔(5mL)을 첨가하고, 용액을 15분간 탈기시켰다. AIBN의 용액 (톨루엔 10mL 중의 0.9852g)을 제조하고, 0.5mL를 용액에 첨가하였다. 용액을 5분간 추가로 탈기시킨 후, 60°C에서 21시간 동안 정치시켰다. 생성된 투명한 무색 겔을 50mL 원심분리 튜브에서 에탄올로 5회 세척하고, 70°C 강제 공기 오븐에서 밤새 건조시켰다.

또한 폴리스티렌겔을 다음의 가교 정도로 이러한 과정을 사용하여 제조하였다: 4% DVB; 2% DVB; 1.5% DVB; 1% DVB; 및 0.5% DVB.

폴리스티렌 겔의 설폰화

건조된 폴리스티렌 겔을 40 mL 유리병으로 운반하였다. 진한 황산(10 mL)을 첨가하고, 1시간 동안 100°C로 가열하였다. 생성된 갈색의 팽창된 겔을 실온으로 냉각시키고, 철저히 메탄올로 세척하여 pH를 4 내지 5로 하였다. 겔을 70°C의 강제 공기 오븐에서 밤새 건조시켰다. 그 다음, 건조된 겔을 커피 분쇄기에서 분쇄하여 50mL의 원심분리용 관으로 운반하였고, 물로 수차례 세척하였다.

실시예 9 - 설폰화 폴리(2-비닐나프탈렌) 겔의 제조

톨루엔 중에서 하기와 같이 ~1 mole% AIBN을 억제제로 사용하여 2-비닐나프탈렌을 디비닐 벤젠과 중합함으로써 폴리(2-비닐나프탈렌) 겔을 제조하였다.

폴리(2-비닐 나프탈렌) 겔(2% DVB)

2-비닐나프탈렌(29.4 mmol, 4.534 g) 및 디비닐벤젠(0.6 mmol, 85.46 microL)을 격막-캡이 구비된 40 mL 병에 첨가하였다. 톨루엔(10 mL)을 첨가하고, 용액을 가열하여 단량체를 용해시켰다. 용액을 15분 동안 탈기시켰다. AIBN의 용액(10 mL 중의 0.9852 g)을 제조하고, 0.5 mL를 중합 용액에 첨가하였다. 용액을 추가로 5분 동안 탈기시키고, 60°C에서 21시간 동안 유지시켰다. 생성된 깨끗한 갈색 겔을 중력 여과에 의해 에탄올(총 2 L)로 세척하고,

70°C의 강제 공기 오븐내에서 2일간 건조시켰다.

폴리(2 - 비닐나프탈렌) 겔의 설폰화

건조된 폴리(2 - 비닐나프탈렌) 겔을 40 mL 유리병으로 운반하였다. 진한 황산(10 mL)을 첨가하고, 1시간 동안 100°C로 가열하였다. 생성된 갈색의 팽창된 겔을 실온으로 냉각시키고, 중력 여과에 의해 철저히 메탄올로 세척하여 pH를 4 내지 5로 하였다. 겔을 물로 수차례 세척하였다. 겔을 70°C의 강제 공기 오븐내에서 2일 동안 건조시켰다.

실시예 10 - 설폰화 폴리(4 - 비닐비페닐) 겔의 제조

톨루엔 중에서 하기와 같이 ~1 mole% AIBN을 억제제로 사용하여 4 - 비닐비페닐을 디비닐 벤젠과 중합함으로써 폴리(4 - 비닐비페닐) 겔을 제조하였다.

폴리(4 - 비닐비페닐) 겔(2% DVB)

4 - 비닐비페닐(29.4 mmols, 5.299 g) 및 디비닐벤젠(0.6 mmols, 85.46 microL)을 격막 - 캡이 구비된 40 mL 병에 첨가하였다. 톨루엔(10 mL)을 첨가하고, 용액을 가열하여 단량체를 용해시켰다. 용액을 15분 동안 탈기시켰다. AIBN의 용액(10 mL 중의 0.9852 g)을 제조하고, 0.5 mL을 중합 용액에 첨가하였다. 용액을 추가로 5분 동안 탈기시키고, 60°C에서 21시간 동안 유지시켰다. 생성된 깨끗한 갈색 겔을 중력 여과에 의해 에탄올(총 2 L)로 세척하고, 70°C의 강제 공기 오븐내에서 2일간 건조시켰다.

2% 가교된 폴리(4 - 비닐비페닐) 겔의 설폰화

건조된 폴리(4 - 비닐비페닐) 겔을 40 mL 유리병으로 운반하였다. 진한 황산(10 mL)을 첨가하고, 1시간 동안 100°C로 가열하였다. 생성된 갈색의 팽창된 겔을 실온으로 냉각시키고, 중력 여과에 의해 철저히 메탄올로 세척하여 pH를 4 내지 5로 하였다. 겔을 물로 수차례 세척하고, 70°C의 강제 공기 오븐내에서 2일 동안 건조시켰다.

실시예 11 - 폴리(스티렌설포네이트 - 코 - 스티렌 - n - N - 옥틸설포아미드)의 제조

나트륨 폴리(스티렌설포네이트)(114.9 mmols, 20 g)을 N,N - 디메틸포름아미드(무수 "DMF", 100 mL)에 분산시켰다. 티오닐 클로라이드(114.9 mmols, 9.95 mL)를 첨가하고, 혼합물을 60°C에서 16시간 동안 유지시켰다. 혼합물을 얼음위에 붓고, 50% NaOH(aq)로 중화하여 pH를 약 6.5로 하였다. 용액을 4×3 겔론의 탈이온수 중의 스펙트라포(SpectraPor) 6 - 8K MWCO 투석관을 통하여 투석시켜, 투석물의 전도율이 0.00 mS/cm이 되게 하였다. 샘플을 동결 건조하여 백색 분말을 수득하였다.

폴리(스티렌설포네이트) w/10 mole% n - 옥틸설포아미드

나트륨 폴리(스티렌설포네이트)(114.9 mmols, 20 g)을 DMF(100 mL, 무수)에 분산시켰다. 티오닐 클로라이드(114.9 mmols, 9.95 mL)를 첨가하고, 혼합물을 60°C에서 16시간 동안 유지시켰다. n - 옥틸아민(11.486 mmols, 1.8980 mL)을 첨가하고, 혼합물을 5.5시간 동안 교반하였다. 혼합물을 얼음위에 붓고, 50% NaOH(aq)로 중화하여 pH를 약 6.1로 하였다. 용액을 4×3 겔론의 DI 물 중의 스펙트라포 6 - 8K MWCO 투석관을 통하여 투석시켜, 투석물의 전도율이 0.00 mS/cm이 되게 하였다. 샘플을 동결건조하여 백색 분말을 수득하였다.

폴리(스티렌설포네이트) w/20 mole% n - 옥틸설파아미드

폴리(스티렌설포네이트, Na)(114.9 mmols, 20 g)을 DMF(100 mL, 무수)에 분산시켰다. 티오닐 클로라이드(114.9 mmols, 9.95 mL)를 첨가하고, 혼합물을 60°C에서 16시간 동안 유지시켰다. n - 옥틸아민(22.97 mmols, 3.796 mL)을 첨가하고, 혼합물을 5.5시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 얼음위에 붓고, 50% NaOH(aq)로 중화하여 pH를 약 6.7로 하였다. 용액을 4×3 갤런의 DI 물 중의 스펙트라포 6 - 8K MWCO 투석관을 통하여 투석시켜, 투석물의 전도율이 0.00 mS/cm이 되게 하였다. 샘플을 동결건조하여 백색 분말을 수득하였다.

폴리(스티렌설포네이트) w/30 mole% n - 옥틸설파아미드

폴리(스티렌설포네이트, Na)(114.9 mmols, 20 g)을 DMF(100 mL, 무수)에 분산시켰다. 티오닐 클로라이드(114.9 mmols, 9.95 mL)를 첨가하고, 혼합물을 60°C에서 16시간 동안 유지시켰다. n - 옥틸아민(34.457 mmols, 5.695 mL)을 첨가하고, 혼합물을 5.5시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 얼음위에 붓고, 50% NaOH(aq)로 중화하여 pH를 약 6.5로 하였다. 용액을 4×3 갤런의 탈이온수 중의 스펙트라포 6 - 8K MWCO 투석관을 통하여 투석시켜, 투석물의 전도율이 0.00 mS/cm이 되게 하였다. 샘플을 동결건조하여 백색 분말을 수득하였다.

폴리(스티렌설포네이트)w/40몰% n - 옥틸설파아미드

나트륨 폴리(스티렌설포네이트)(114.9mmole, 20g)을 DMF(100mL, 무수)중에 분산시켰다. 티오닐 클로라이드(114.9mmole, 9.95mL)를 첨가하고 혼합물을 16시간 동안 60°C에서 가열하였다. n - 옥틸아민(55.131mmole, 7.5934 mL)을 첨가하고 혼합물을 5.5시간 동안 실온에서 교반하였다. 혼합물을 얼음위에 붓고 pH가 약 6.7이 될 때까지 50% NaOH(aq.)로 중화시켰다. 용액을 탈이온수 4x3갤런으로 스펙트라포(SpectraPor) 6 - 8K MWCO 투석 튜브를 통해 투석물의 전도도가 0.00mS/cm가 될 때까지 투석하였다. 샘플을 동결건조시켜 백색 분말을 수득하였다.

실시에 12 - 폴리(스티렌설포네이트) 칼슘 염의 합성

500mL 3구 둥근 바닥 플라스크에 폴리(나트륨 4 - 스티렌 설포네이트) 2g 및 탈이온수 100mL를 첨가하였다. 혼합물을 균일한 혼합물이 얻어질 때까지 수분간 교반하였다. 이 중합체 용액에 0.225M CaCl₂ 용액 6.46mL를 첨가하였다. 반응 혼합물을 15시간 동안 실온에서 교반시켰다.

반응 혼합물을 분자량 3K 컷오프 필터를 사용하여 멤브레인 원심분리에 의해 정제하였다. 용액을 24시간 동안 강제 공기 오븐에서 70°C에서 건조하여 중합체 1.4g을 회백색의 고형물로서 수득하였다.

실시에 13 - 소수성 공단량체를 사용한 가교 스티렌설포네이트 공중합체의 제조

스티렌 설포네이트를 아크릴아미드, n - 부틸아크릴아미드, n - 데실아크릴아미드, 또는 스티렌과 공중합시키고 가교제로서 디비닐벤젠(2%) 또는 N,N' - 메틸렌비스아크릴아미드(8%)를 사용하여 폴리스티렌설포네이트/소수성 겔을 하기와 같이 제조하였다:

폴리스티렌설포네이트 겔(2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(29.4mmole, 5.119g) 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5μL)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 10mL 에탄올 및 10mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트 - 코 - 아크릴아미드 겔(75몰%: 23몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(22.5mmole, 3.918g), 아크릴아미드(6.90mmole, 0.490g), 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 10mL 에탄올 및 10mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트 - 코 - n - 부틸아크릴아미드 겔(75몰%: 23몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(22.5mmole, 3.918g), n - 부틸아크릴아미드(6.90mmole, 0.878g), 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 15mL 에탄올 및 5mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트/아크릴아미드/n - 부틸아크릴아미드 겔(75몰%: 11.5몰%: 11.5몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(22.5mmole, 3.918g), 아크릴아미드(3.45mmole, 0.245g), 및 n - 부틸아크릴아미드(3.45mmole, 0.439g) 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 15mL 에탄올 및 5mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 미황색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트 - 코 - n - 데실아크릴아미드 겔(75몰%: 23몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(22.5mmole, 3.918g), n - 데실아크릴아미드(6.90mmole, 1.458g), 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 15mL 에탄올 및 5mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 크림형 황색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트/아크릴아미드/n - 데실아크릴아미드 겔(75몰%: 11.5몰%: 11.5몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(22.5mmole, 3.918g), 아크릴아미드(3.45mmole, 0.245g), n - 데실아크릴아미드(3.45mmole, 0.729g) 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 15mL 에탄올 및 5mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 크림형 황색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트 - 코 - 스티렌 겔(75몰%: 23몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(22.5mmole, 3.918g), 스티렌(6.90mmole, 0.7906g), 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 10mL 에탄올 및 10mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트/아크릴아미드/스티렌 겔(75몰%: 11.5몰%: 11.5몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(22.5mmole, 3.918g), 아크릴아미드(3.45mmole, 0.245g), 스티렌(3.45mmole, 0.3953g), 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 10mL 에탄올 및 10mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트 - 코 - 아크릴아미드 겔(50몰%: 48몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(15.0mmole, 2.612g), 아크릴아미드(14.4mmole, 1.024g), 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 5mL 에탄올 및 15mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트/아크릴아미드/n - 부틸아크릴아미드 겔(50몰%: 24몰%: 24몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(15.0mmole, 2.612g), 아크릴아미드(14.4mmole, 0.512g), n - 부틸아크릴아미드(7.2mmole, 0.916g) 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 5mL 에탄올 및 15mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트/아크릴아미드/스티렌 겔(50몰%: 24몰%: 24몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트(15.0mmole, 2.612g), 아크릴아미드(7.2mmole, 0.512g), 스티렌(7.2mmole, 0.8250g), 및 디비닐벤젠(0.6mmole, 85.5 μ l)를 격막 캡이 장착된 40mL 바이알중의 10mL 에탄올 및 10mL 물에 용해시켰다. 용액을 질소 버블링에 의해 탈기시키고 1몰% AIBN을 용액으로서 첨가하였다. 중합 용액을 추가로 탈기시키고 가열된 반응 블록중에 60°C에서 18시간 동안 두었다. 투명한 무색 겔이 형성되었다.

폴리스티렌설포네이트 - 코 - 아크릴아미드 겔 (25 몰%: 73 몰%: 2% 가교)

폴리스티렌설포네이트 (7.5 mmoles, 1.306 g), 아크릴아미드 (21.9 mmoles, 1.557 g), 및 디비닐벤젠 (0.6 mmoles, 85.5 μ L)를 격막 캡을 씌운 40 mL 바이알 내의 5 mL 에탄올 및 15 mL 물중에 용해시켰다. 상기 용액으로부터 버블링 질소를 통해 탈기시키고, 용액에 1 몰% AIBN을 가했다. 상기 중합체 용액을 추가로 탈기시키고, 가열시킨 반응 블록중에 60°C에서 18시간동안 두었다.

모든 샘플은, 겔을 50 mL 원심분리 튜브중에 2 부분으로 분열시킴에 의해 정제시켰다. 겔을 에탄올을 사용하여 3회 이상 또는 상층액이 맑아지고 무색으로될 때 까지 세척하였다. 사용한 에탄올의 총 부피는 겔의 팽창지수를 기준으로 약 75 mL 내지 100 mL 이었다. 겔을 강화 - 공기 (forced - air) 오븐내에서 60°C로 2일간 건조시켰다.

겔을 커피 그라인딩내에서 그라인딩시키고, 140, 230 메시 시이브를 사용하여 시이빙 시켰다. 14 - 230 크기 겔 입자의 0.5 - 1 g 샘플을 50 mL 원심분리 튜브중에서 물과 함께 3회 세척했다. 수개의 샘플은 고도로 흡착성이 있었으며, 다중 튜브에 거쳐 분열시켜야만 했다. 일반적으로, 각 튜브내의 물질을 총 20 - 80 mL의 물로 세척했다. 다음, 샘플을 MeOH로 1회 세척하고, 원심분리시켰으며, 뒷물을 따라낸 다음 70°C에서 2일간 건조시켰다. 겔을 총 20 - 80 mL의 물로 세척하였다.

실시에 14 - 폴리(4 - 비닐비페닐설포네이트)의 제조

4 - 비닐비페닐의 중합

4 - 비닐비페닐 (166.6 mmoles, 30 g)을 환류 컨덴서 (J - Kem 써모커플) 및 격막 (septum)이 장착된, 500 mL, 3목, 둥근바닥 플라스크에 가했다. 톨루엔 (60 mL)를 가하고 용액을 1시간 동안 탈기시켰다. AIBN (1 몰%, 0.294 mmoles, 0.2733 g)을 가하고 용액을 추가로 15분간 탈기시켰다. 중합 혼합물을 60°C에서 21시간 동안 가열시켰다. 생성된 깨끗한 갈색 용액을 메탄올 2 L중에 붓고 수시간동안 교반시켰다. 미세 갈색 분말을 여과하고 500 mL 메탄올로 3회 세척시켰으며, 강화 - 공기 오븐에서 70°C로 하룻밤 건조시켰다. 미세 갈색 분말을 수득하였다 (28.02 g, 수율 93.40%).

폴리(4-비닐비페닐)의 선포화

폴리(4-비닐비페닐)을 진한 황산 (100 mL)와 혼합시키고, 100°C에서 8시간 동안 가열시켰다. 혼합물은 종국적으로 맑은 갈색의 점성 용액으로 변했다. 상기 중합체 용액을 얼음에 붓고, 50% 수성 NaOH를 사용하여 pH 6.2로 중화시켰다. 용액을 3.5 K 분자량 컷오프를 갖는 투석막을 통해 5 L 탈이온수중에서 4회 투석시켰다. 투석물의 전도도는 0.1 mS/cm 미만이었다. 물을 회전식 증발기상에서 증류시켜 제거하여, 맑은 갈색의 얇은 조각모양 고형물을 수득하였다.

실시예 15 - 폴리(2-비닐나프탈렌설포네이트)의 제조

2-비닐나프탈렌의 중합

2-비닐나프탈렌 (194.5 mmol, 30 g)을 환류 컨덴서 (J-Kem 써모커플) 및 격막이 장착된, 500 mL, 3목, 둥근바닥 플라스크에 가했다. 톨루엔 (60 mL)를 가하고 용액을 1시간 동안 탈기시켰다. AIBN (1 몰%, 0.294 mmol, 0.3195 g)을 가하고 용액을 추가로 15분간 탈기시켰다. 중합 혼합물을 60°C에서 21시간 동안 가열시켰다. 생성된 맑은 갈색 용액을 메탄올 2 L중에 붓고 수시간동안 교반시켰다. 미세 갈색 분말을 여과하고 500 mL 메탄올로 3회 세척시켰으며, 강화-공기 오븐에서 70°C로 하룻밤 건조시켰다. 미세 갈색 분말을 수득하였다 (28.45 g, 수율 94.83%).

폴리(2-비닐나프탈렌)의 선포화

폴리(2-비닐나프탈렌)을 진한 황산 (100 mL)와 혼합시키고 8시간 동안 100°C로 가열시켰다. 혼합물은 종국적으로 맑은 갈색의 점성 용액으로 변했다. 상기 중합체 용액을 얼음에 붓고 50% 수성 NaOH를 사용하여 pH 6.4로 중화시켰다. 용액을 3.5 K 분자량 컷오프를 갖는 투석막을 통해 5 L 탈이온수중에서 4회 투석시켰다. 투석물의 전도도는 0.1 mS/cm 미만이었다. 물을 회전식 증발기상에서 증류시켜 제거하여, 맑은 갈색의 얇은 조각모양의 고형물을 수득하였다.

실시예 16 - 폴리(소듐 4-스티렌 설포네이트-코-(-)-메틸-4-스티렌 설포네이트), 5%(-)-멘톨

실온에서 교반시킨 무수 DMF 300 mL중의 폴리(소듐 4-스티렌 설포네이트) (30.0 g; 설포네이트 0.145 몰)의 혼합물에 티오닐 클로라이드 (17.3 g; 0.145 몰)을 가했다. 상기 첨가는 온도가 50°C를 초과하지 않도록 천천히 수행했다. 하룻밤 교반시킨 다음 반응 혼합물의 3분의 1을 피리딘 (0.764 g; 0.0966 몰)로 처리했다. 실온에서 2.5시간동안 교반시킨 후, (-)-메탄올 (0.375 g; 0.00240 몰)을 가하고, 생성된 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반시킨 다음 50°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 다음, 혼합물을 중탄산나트륨 (5 g)을 함유하는 물 1 L내로 천천히 부었다. 첨가가 완료된 후, 추가의 중탄산나트륨을 버블링이 멈추고 pH가 중성이 될 때까지 가했다. 기류로 건조시킨 후 철저히 투석시켜 백색 고형물을 수득했다.

실시예 17 - 폴리(소듐 4-스티렌 설포네이트-코-리토콜산-4-스티렌 설포네이트)의 합성, 5% 리토콜산

실온에서 교반시킨 무수 DMF 300 mL중의 폴리(소듐 4-스티렌 설포네이트) (30.0 g; 설포네이트의 0.145 몰)의 혼합물에 티오닐 클로라이드 (17.3 g; 0.145 몰)을 가했다. 상기 첨가는 온도가 50°C를 초과하지 않도록 천천히 수행했다. 하룻밤 교반시킨 다음 반응 혼합물의 3분의 1을 피리딘 (0.764 g; 0.0966 몰)로 처리했다. 실온에서 2.5시간동안 교반시킨 후, 리토콜산 (0.904 g; 0.00240 몰)을 가하고, 생성된 반응 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반시킨 다음 50°C에서 3시간 동안 교반시켰다. 다음, 혼합물을 중탄산나트륨 (5 g)을 함유하는 물 1 L내로 천천히 부었다. 첨가가 완료된 후, 추가의 중탄산나트륨을 버블링이 멈추고 pH가 중성이 될 때까지 가했다. 기류로 건조시킨 후 철저히 투석시켜 백색 고형물을 수득했다.

상기 생체내 햄스터 분석을 사용하여 하기 중합체의 효능을 평가하였으며, 이를 하기 표 1에 제시했다.

실시에 18 - 40% 메트로니다졸을 지닌 폴리(소듐 - 3 - 스티렌 설포네이트)

폴리(소듐 4 - 스티렌 설포네이트 (160 - 246 - 001, 25 g)을 자기막대 판을 사용하여 3 L 플라스틱 버킷내의 탈이온수 (500 mL)중에 용해시켰다. 분리된, 적절한 크기의 비이커로, 메트로니다졸 (8.32 g)을, 탈이온수 (600 mL) 및 1 M HCl (0.75 당량)중에 용해시켰다. 상기 메트로니다졸 용액을 폴리(소듐 4 - 스티렌 설포네이트) 용액에 천천히 부었다. 생성된 용액을 실온에서 약 17시간동안 교반시켰다. 이를 전도도가 0.05미만이 될때까지 투석 백(6K - 8K MWCO)중에 두었다. 상기 중합체 용액을 강화 공기 오븐에서 70°C로 건조시켰다. 중합체 약 22 g을 수득했다. HPLC 분석으로 메트로니다졸 13.8% 로딩을 확인했다.

실시에 19 - 폴리(4 - 메톡시스티렌)의 설포화

폴리(4 - 메톡시스티렌)(1 g)을 30 mL 바이알에 넣었다. 진한 황산 (5 mL)를 바이알에 가했다. 교반하면서, 이를 10 0°C에서 8시간동안 가열시켰다. 8시간 후, 중합체를 용해시켰다 (맑고, 짙은 용액). 탈이온수 (50 mL)를 가하고, 샘플에 NaOH (50% 용액)을 적가하여 중화시켰다. 이를 전도도가 0.1미만이 될 때까지 투석 백(6K - 8K MWCO)중에 두었다. 상기 중합체 용액을 여과시키고 스피드 백(speed vac)상에서 건조시켰다.

실시에 20 - 폴리(디페녹시포스파젠)의 설포화

폴리(디페녹시포스파젠)(1 g)을 30 mL 바이알에 넣었다. 진한 황산 (5 mL)를 바이알에 가했다. 교반하면서, 이를 1 00°C에서 8시간동안 가열시켰다. 8시간 후, 중합체를 용해시켰다 (맑은, 노란색 용액). 탈이온수 (50 mL)를 가하고, 샘플에 NaOH (50% 용액)을 적가하여 중화시켰다. 이를 전도도가 0.1미만이 될 때까지 투석 백(6K - 8K MWCO)중에 두었다. 상기 중합체 용액을 여과시키고 스피드 백(speed vac)상에서 건조시켰다.

실시에 21 - 에틸렌 옥사이드 - 스티렌 - 에틸렌 옥사이드 블록 공중합체의 설포화

에틸렌 옥사이드 - 스티렌 - 에틸렌 옥사이드 블록 공중합체(900mg)를 30ml 바이알에 넣었다. 진한 황산(5ml)을 바이알에 첨가하였다. 교반하면서, 반응물을 8시간 동안 100°C에서 가열하였다. 8시간 후, 중합체는 용해되지 않았다. 더욱 진한 황산(5ml)을 바이알에 첨가하였다. 이후, 추가의 8시간 동안 110°C에서 교반하면서 가열하였다. 이것을 2회 더 반복하였다. 총 20ml의 진한 황산을 첨가하였다(5ml, 100°C, 8시간; 15ml, 110°C, 24시간). 탈이온수를 첨가하였다 (50ml). 샘플을 NaOH(50% 용액)를 적가하여 중화시켰다. 전도도가 0.1 미만에 도달할 때까지 투석 주머니(6K - 8K MWCO)에 넣어 두었다. 중합체를 여과하고(다량의 불용성 물질이 남음), 스피드 백(speed vac) 상에서 건조시켰다.

실시에 22 - 폴리(스티렌설포네이트)와 폴리(디알릴메틸아민)의 동시 투여

가용성 폴리스티렌 설포네이트 및 가교된 C₈ - 알킬화된 폴리디알릴메틸아민(PDMA) 둘 모두는 클로스트리디움 디피실레(C. difficile) 대장염의 햄스터 모델에서 클로스트리디움 디피실레로부터 치사율을 감소시킬 수 있다. 이들 중합체는 시험관내에서 상이한 독소 결합 특성을 보인다. 폴리스티렌 설포네이트는 클로스트리디움 디피실레 독소 A와 결합하여 독소 A가 매개된 세포 라운딩으로부터 배양물 중의 세포를 보호한다. 가교된 C₈ 알킬화된 PDMA는 시험관내 독소 A 및 B에 결합하고, 독소 매개된 세포 라운딩으로부터 배양물 중의 세포를 보호할 수 있다. 이러한 중합체는 시험관내 독소 A를 결합하는 것보다는 독소 B와 결합하는 것에 대해 약 5배 이상 강력하다. 적합한 독소 A 및 B 결합의 이점을 얻기 위해, 이러한 중합체를 클로스트리디움 디피실레 대장염의 햄스터 모델에 결합시켜 시험하였다. 중합체로의 처리는 클로스트리디움 디피실레로 감염되기 24시간 전에 시작하였다. 햄스터에게 매일 오전 8시, 정오 및 오후 4시에 중합체를 3회 투여하였다. 햄스터는 전체 7일 동안 염수(대조군), 폴리스티렌 설포네이트 단독, 가교된 C₈ 알킬화된 PDMA 단독, 또는 따로 투여되는 두가지 중합체의 조합(폴리스티렌 설포네이트 2회 투여, C₈ PDMA 1회 투여)으로 처리하였다. 동물들을 전체 7일 동안 관찰하였다. 염수로 처리된 동물 중에 살아남은 동물은 없었다. 폴리스티렌 설포네이트 처리된 동물은 7일째 80%가 생존하였고, 생존 동물들은 약하거나 온화한 정도의 질병을 보였다. C₈ 알킬화된 PDMA 처리된 동물은 7일째 50%가 생존하였고, 생존 동물들은 온화한 정도의 질병을 보이거나 전혀 보이지 않았다. 폴리스티렌 설포네이트와 C₈ 알킬화된 PDMA의 조합으로 처리된 동물들은 7일째에 90%가 생존하였으며, 생존 동물의 80%는 질병이 전혀 나타나지 않았다. 그러므로, 가용성 폴리스티렌 설포네이트와 C₈ 알킬화된 PDMA의 조합은 클로스트리디움 디피실레 대장염에 대해 생체내 효과적인 치료제인 것으로 여겨진다.

실시에 23 - 독소 결합 검정

ELISA

효소 결합 면역흡수 검정(ELISA)은 스톨(stool) 샘플에서 클로스트리디움 디피실레 독소 수준의 진단에 상업적으로 이용될 수 있다. 이 검정은 클로스트리디움 디피실레 독소 A 및 B에 대한 정제된 모노클로날 항체로 코팅된 미량역가 플레이트를 사용하여 용액 중의 독소를 결합시킨다. 이후, 결합된 독소는 효소인 고추냉이 퍼옥시다아제("HRP")로 결합된 친화성 정제된 폴리클로날 항혈청으로 검출된다. 비결합된 항체를 세척해 버리고, 이후 항체 결합된 독소를 HRP에 대해 착색된 기질로 검출하였다. 검정은 독소 A 및 B의 나노그램 양에 대해 민감하다. 이러한 ELISA 검정은 생체내 독소 결합을 예측하는 생리적으로 관련된 조건을 제공하기 위해 사용된 햄스터 맹장 내용물의 존재하에서 여러 중합체와 함께 정제된 독소 A 또는 B를 인큐베이션한 후에 유리된 독소 수준을 검출하는데 사용되었다.

ELISA 검정을 수행하기 위해, 중합체(10mg)를 각각 네개의 1.5ml 에펜도르프(Eppendorf) 튜브에서 칭량하였다. 500μl의 맹장 내용물을 각각의 튜브에 첨가한 후, 상기 튜브를 보르텍스(Vortex)에서 혼합하고, 1시간 동안 뉴테이터(nutator)에 두었다. 500μl의, 인산염 완충액 중의 독소 A 또는 독소 B의 200ng/ml 또는 2000ng/ml 용액을 각각의 튜브에 첨가하여 최종 독소 농도가 1000ng/ml 또는 100ng/ml가 되게 하였다. 이후, 튜브를 다시 보르텍스 처리하고, 다시 추가의 1시간 동안 뉴테이터에 두었다. 이후, 튜브를 원심분리시켰다.

각각의 튜브로부터의 100μl의 희석된 상청액을 고체 물질을 피하면서 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 100μl의 컨쥬게이트 1를 각 웰에 첨가하였다. 웰을 바이오해저드 리셉터클(biohazard receptacle)로 흡입하였다(저장기는 웨스코딘 또는 10%의 수중 표백제를 함유한다). 플레이트를 플레이트 세척제를 사용하여, 세척하고, 웰을 300μl의 세척 완충제로 충전시켰다. 최종 세척 후, 플레이트를 거꾸로 하여, 강타하여 종이 타올 상의 잔류하는 세척 완충액을 제거하였다. 100μl의 희석된 단계 2의 컨쥬게이트를 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트를 덮고, 실온에서 20분 동안 인큐베이션시켰다. 웰을 상기와 같은 플레이트 세척제를 사용하여 5회 세척하고, 강타하여 잔류하는 완충액을 제거하였다. 100μl의 기질 혼합물을 각각의 웰에 첨가한 후, 플레이트를 밀봉하고, 15분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이후, 150μl의 중단 용액을 각각의 웰에 첨가하고, 플레이트를 벤치상의 선회 플레이트에 의해 부드럽게 혼합하였다.

세포 배양 검정

클로스트리디움 디피실레 독소는 배양물의 세포 라운딩을 유도한다. 이러한 성질은 중합체 화합물에 의한 독소 활성 억제제를 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 독소 A 및 B에 대한 민감도는 상이한 세포주 사이에서 다르다. 이 경우에는, 베로(Vero) 세포(ATCC 세포주)를 사용하였다. 검정은 12웰 트랜스웰 플레이트 또는 96웰 미량역가 플레이트에서 베로 세포를 플레이팅하므로써 수행하였다. 세포를 시험하기 전에 24시간 사이딩(seeding)하고, 독소 첨가시에 단일층을 함유하였다. 중합체(5mg/ml)를 실온에서 독소 A 또는 B를 함유하는 조직 배지(10% 소태아 혈청을 함유하는 최소 필수 배지)에서 1시간 동안 실온에서 흔들어 주면서 인큐베이션시켰다. 인큐베이션 후, 샘플을 가용성 겔인지 수용성 중합체인지에 따라 상이하게 처리하였다. 단일층으로의 불용성 겔의 적절한 첨가는 세포를 불명료하게 하여 세포 라운딩의 검출을 방지하기 때문에 불용성 겔을 트랜스웰에 첨가하였다(0.5ml/웰). 수용성 중합체를 96웰 미량역가 플레이트 중의 세포 단일층에 직접 첨가하였다(0.1ml/웰). 세포를 18시간 동안 37°C에서 인큐베이션시키고, 세포 라운딩을 조사하였다. 18시간 인큐베이션에서 세포 라인딩으로부터의 단일층을 50% 및 100% 보호할 수 있는 중합체의 최저 농도로서 검정의 종말점을 스코어링하였다. 대조군은 독소 A 및 B와 함께 인큐베이션된 활성 중합체, 독소 A 및 B 단독, 및 독소가 없는 각각의 중합체를 단독으로 포함하였다.

랫트 회장 루프 모델 검정

본 검정의 목적은 랫트 회장 연결 섹션에서 독소 A 매개된 체액 축적 및 투과를 방지하는 중합체 화합물의 능력을 측정하는 것이다. 랫트를 마취시키고, 랫트 회장의 5cm 섹션을 명주실 봉합으로 연결시켰다. 중합체(1 - 5mg) 및 5µg의 정제된 독소 A를 이 부분에 주입하였다. 상기 랫트는 또한 장투과를 위한 마아커로서 10 µCi의 ³H 만니톨이 정맥내 주입되었다. 독소 A는 장에서의 혈관 투과를 증가시키며, 이는 만니톨이 루프에 들어가게 한다. 독소 A 및 중합체의 주입 4시간 후, 회장 루프 섹션을 제거하고, 칭량하고, 전체 체액 축적을 측정하였다. ³H 만니톨의 축적을 액체 섬광 계수법에 의해 측정하였다. 독소 A에 결합하는 중합체 화합물은 ³H 만니톨에 대한 장내 유체 축적 및 투과를 블록킹할 것이다. 본 검정의 종말점은 독소 A 매개된 유체 축적 및 투과를 완전히 억제하는 중합체의 농도이다. 본 검정의 변경은 경구적 가바즈(gavage)에 의한 중합체의 투여를 포함한다. 랫트는 회장 루프의 준비 90분 전에 경구적 가바즈에 의해 250mg/kg 용액을 수용하였다. 독소가 상기 기재된 바와 같이 회장 루프에 주입되었다.

결과

ELISA, 세포 배양물, 랫트 회장 루프 및 햄스터 검정의 결과가 여러 가지 중합체에 대해 표 1에 제시된다. 또한, 클로스트리디움 디피실레 독소를 중화시키는데 임상적으로 사용되어 온 양이온성 중합체인 콜레스티라민에 대한 상응하는 데이터가 포함된다.

표 1 생물학적 분석의 결과

중합체	5mg/ml 중합체 용액에 의해 중화된 독소 결합(생체외) 농도	5µ 독소 A를 억제하는 랫트 루프 투여량(직접) (섭식)		5일 동안 햄스터 생존율 %
나트륨 폴리스티렌 설포네이트	A=10ng/ml B=0.004 - 0.008ng/ml	2 - 5mg	250mg/kg	90%
폴리스티렌 설포네이트, 15% Ca ++	A=10ng/ml B=ND	< 0.5mg	ND	80%
폴리스티렌 설포네이트 5% 메탄올	A=10ng/ml B=0.004ng/ml	2.5mg	ND	90%
콜레스티라민	A=< 0.015ng/ml B=< 0.015ng/ml	> 20mg	ND	10%

햄스터 모델에 대해 나타난 데이터는 클로스트리디움 디피실레(C.difficile)로 접종시킨 다음 5일에 생존율%를 나타낸다.

표 1의 결과는 시험된 각각의 폴리스티렌설포네이트가 콜레스티르아민보다 각각의 분석에서 효과적임을 나타낸다.

생체내 시험

기본적인 프로토콜

햄스터는클로스트리디움 디피실레의 감염에 대해 매우 민감하고 질환이 항생물질 치료로 개시되는 경우 치명적인 대장염을 전개시킨다. 화합물은클로스트리디움 디피실레대장염의 햄스터 모델클로스트리디움 디피실레독소의 활성을 억제하는 능력에 대해 측정되었다. 수컷 햄스터(80 - 100g)를 바이오브리더스 인크(Biobreeders Inc.)(Falmouth MA)사로부터 구입하였다. 모든 동물을 고압멸균된 베딩(bedding)(Beta Chips) 위의 미세분리기에서 다섯개의 그룹으로 유지되고 고압멸균된 음식 및 고압멸균되고 여과된 물에 자유롭게 접근하게 하였다. 동물들을 도착후 및 연구 개시 이전 약 1주 동안 휴식시켰다. 인간클로스트리디움 디피실레로부터 초기에 분리된클로스트리디움 디피실레균주가 동물 감염을 위해 사용되었다. 이러한 균주(HUC2 - 4)는 생체외 및 생체내에서 보통 내지 높은 수준의 독소를 생성한다. 10^6 - 10^7 박테리아 세포/ml의 현탁액은 밤새 브로쓰 배양물로부터 제조되었고 0.1ml가 구강 섭식에 의해 하루에 1번 투여되었다. 24시간 후, 각 동물은 10mg/kg의 투여량으로 클레오신 포스페이트(Cleosin Phosphate)IV^R이 피하에 주입되었다. 중합체를 하루에 3회 섭생(t.i.d)에 의해 두개의 10마리 동물 그룹에 투여시켰다. 중합체의 투여량은 25 - 100mg/일이었고, 세번씩 각각 0.75ml가 나누어 투여되었다. 투여의 개시 및 지속은 하기 설명되는 치료 섭생에 따라 달라졌다. 동물들을 이병을 및 사망율에 대해 매일 관찰하였다. 할당된 추가의 변수들은 일반적인 외관, 임상 신호의 개시 시간, 및 설사유무("wet tail")였다. 극단적인 동물 및 연구 말기에 생존하는 동물은 100% CO₂를 이용한 가사상태에 의해 안락사시켰다. 일부 연구에서 맹장 내용물을 수득하여 추후의 독소 분석을 위해 냉동시켰다.

클린다마이신(0일)의 투여는 정상적인 결장 세균을 제거하고클로스트리디움 디피실레이 증식하는 것을 가능하게 하여 클로스트리디움 디피실레(-1일)로 감염된 햄스터에서 질병을 예상대로 유도하였다.클로스트리디움 디피실레은 2 - 4일 내에 감염된 햄스터 90 - 100%에서 치명적인 대장염을 일으킨다. 분석의 일차 종단점은 사망율로부터 햄스터를 보호하는 것이다. 이것은 매우 심각하고 도전적인 모델이고 햄스터에서의 CDAD는 질환의 인간 형태와 비교하여, 심각성과 시간 경과 두가지 면에서 보다 호전적인 질환이다. 본 발명의 약제 조성물은 두가지의 상이한 치료 파라다임을 사용하는 CDAD의 햄스터 모델을 사용하여 측정되었다. 예방 모델에서, 연구는 독소의클로스트리디움 디피실레감염의 진행에도 불구하고 독소 결합제를 이용하여 예비처리하기 위한 잠재성을 측정하도록 설계되었다. 치료 모델에서, 조성물은 CDAD의 개발 후에 투여된다.

예방 모델

이 모델에서 폴리스티렌 설포네이트(또는 염류 조절)의 약제 조성물의 4가지 상이한 투여량(0.750ml의 세번의 투여량으로 구강에 투여된 25, 50, 75 또는 100mg/일)이 7일, -2일 내지 5일 동안 수컷 시리안 골든(syrian golden) 햄스터(시험 그룹당 10마리 동물 및 시험 그룹당 10마리 동물)에 구강 투여했다. 햄스터를 -1일에 클로스트리디움 디피실레(Onderdonk strain(G69))로 접종시키고, 0일에 클린다마이신으로 처리시켰다. 플라세보 대조군을 수용한 동물에서 100%가 질환이 진행되었고 3일에 사망했다. 반대로 조성물을 이용한 예방은 50mg/일 투여량 및 100mg/일 투여량 그룹 각각에서 동물의 70% 및 90% 생존율을 발생시켰다. 모든 동물이 독소 생성클로스트리디움 디피실레감염을 경험하였음에도 불구하고, 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 조성물은 효율적으로 독소를 억제하고 변형된 결장 세균의 기간 동안 대장염을 최소화시킨다. 정상적인 세균이 회복됨에 따라,클로스트리디움 디피실레은 완전해질 수 없는 것으로 보이고 비병원성 수준으로 감소된다. 따라서, 독성 노출의 초기 단계 동안 보드 위에서 독소 결합제를 갖고 이것이 진행되기 전에 대장염을 예방한다.

치료 모델

중합체 치료법은 25, 50, 75 또는 100mg/일의 투여량으로 1일에 개시되었다. 중합체를 하루에 세번 살균 염류 0.7 - 1.5ml t.i.d.으로 총 7일간의 치료 동안 투여시켰다. 치료 말기 후 7 - 14일 동안 이병을, 사망을 및 질환의 임상 신호에 대해 동물들을 관찰하였다.

조합 치료 모델

동물에 1일(병원체 투여후 48시간) 내지 5일 염류의 전체 부피 0.75ml중의 중합체 50 - 100mg/일 및 항생제의 조합물을 투여시켰다. 항생제는 메트로니다졸(metronidazole) 또는 반코마이신(vncomycin)이었다. 반코마이신의 투여량은 3mg/일이었다. 조합 치료에 이어, 동물에 추가 4일 동안 중합체 단독 50 - 100mg/일을 투여시켰다. 동물에 대해 말기 치료 후 7 - 14일 동안 이병율, 사망율, 및 질병의 임상 징후를 관찰하였다.

메트로니다졸은 약제가 활성화되어 투여되는한 햄스터에서 CDAD로 인한 사망을 방지하는데 효과가 있다. 그러나, 치료법의 결과에서, 동물 80 - 90%가 CDAD의 재발/반복을 갖고 메트로니다졸을 중단한 3 - 6일 내에 사망했다. 실험은 CDAD 개시후의 치료로서 재발 금지에서 투여된 폴리스티렌 설포네이트(PSS)의 효과를 보여준다. 메트로니다졸의 철회 수클로스트리디움 디피실레재발로 인한 사망율은 폴리스티렌설포네이트를 포함하는 조성물의 높은 투여로 치료된 동물 90%에서 방지되었다. 낮은 투여량의 폴리스티렌 설포네이트기에서 동물 70%의 재발이 방지되었다. 염류 처리된 대조군중 아무것도 생존하지 않았다. 메트로니다졸로 처리된 단지 20%의 동물만이 항생제의 마지막 투여후 16일 동안 생존하였다(21일에 설사를 하는 생존 동물). 따라서, PSS 조성물에 의한 독소의 억제는 메트로니다졸 치료법이 재발 사태를 방지하는 것으로 보인 후 정상 세균이 회복하는데 필수적인 시간 동안 대장염 및 다른 관련 병변을 방지하였다.

PSS 조성물에 의한 단일요법

PSS 조성물만을 사용한 치료법을 연구하고 메트로니다졸만을 사용한 통용되는 케어 표준과 비교하였다. 본 발명에 따른 PSS 조성물은 메트로니다졸보다 우수하였는데, 메트로니다졸만의 그룹에서 20%인 것과 비교하여 40%의 동물을 예방시켰다. 엄격한 모델에서의 이러한 결과는 PSS 조성물이 단일요법으로서 메트로니다졸보다 탁월하다는 것을 시사한다. PSS 조성물은 항생물질의 활성을 방해하는 것으로는 보이지 않았다.

베로 세포 배양물 검정을 위한 방법 :

모든 스크린에 대해, 베로 세포를 웰당 100μl의 양으로 웰당 4×10^4 세포를 지닌 96웰 포맷에서 사용하였다. 플레이트를 37°C에서 밤새 인큐베이션시켜 다음날 이용될 수 있게 하였다. 배양에 사용되는 모든 배지, 플레이트, 피펫 및 장비는 무균 상태로 유지시켰다. 플레이트를 커버링하고 여기에 EtOH를 분무시킨 후, 인큐베이터내에 정위시켰다.

정규 독소 A 및 B 스크린

중합체를 15ml 용량의 원뿔형 튜브들에 10mg/ml의 양으로 계량하여 배분시키기 시작하여 웰에서의 최종 농도가 5mg/ml가 되게 하였다. 보통, 튜브들은 희석액으로서 약 40mg 내지 4ml의 배지를 지녔다. 재시험 요건이 요망되는 경우에, 초과량의 배지를 4°C 냉장고에 유지시켰다. 피펫을 이용하여 배지를 무균상태로 튜브에 주입시킨 후, 완전하게 혼합시켰다. 중합체가 용액중에 존재하지 않게 되었을 때, 튜브를 15 내지 20분 동안 37°C 수욕에 두었다. 이러한 실험을 위해, 독소 A 농도는 10ng/ml이었고 독소 B의 농도는 최종적으로 1ng/ml이었다. 독소 및 중합체를 각각 2개씩 만들고 1:1로 혼합시켜 육즙에 대하여 최종 농도가 1X가 되게 하였다. 이들 용액을 원뿔형 튜브에서 말들고 얼음상에 두었다.

중합체가 완전히 용해되었을 때, 무균 상태의 96웰 플레이트를 모으고 배지를 열 A - F에서의 칼럼 2 - 6 및 8 - 12 뿐만 아니라 열 G - H에 웰당 100μl의 양으로 위치시켰다. 플레이트당 4종의 중합체를 스크리닝시키고 각각의 중합체는 3개의 열, 즉, 중합체와 배지만의 열, 독소 A와 중합체의 열 및 독소 B와 중합체의 열을 지녔다. 구성은 다음과 같다 :

중합체 1 : 중합체 단독 - 열 A, 칼럼 1 - 6

중합체 + A - 열 B, 칼럼 1 - 6

중합체 + B - 열 C, 칼럼 1 - 6

중합체 2 : 중합체 단독 - 열 D, 칼럼 1 - 6

중합체 + A - 열 E, 칼럼 1-6

중합체 + B - 열 F, 칼럼 1-6

중합체 3 : 중합체 단독 - 열 A, 칼럼 7-12

중합체 + B - 열 C, 칼럼 7-12

중합체 + A - 열 B, 칼럼 7-12

중합체 4 : 중합체 단독 - 열 D, 칼럼 7-12

중합체 + A - 열 E, 칼럼 7-12

중합체 + B - 열 F, 칼럼 7-12

배지를 첨가한 후, 중합체 용액 200 μ l를 각 세그먼트의 제 1 칼럼(칼럼 1 또는 7)에 첨가하고 플레이트를 가로질러 섹션의 단부까지 2배 희석시켰다(칼럼 6 또는 12). 배지를 열 A, D 및 H에 가하고, 독소 A를 열 B, E 및 G (칼럼 1-6)에 가했다. 독소 B를 열 C, F 및 G(칼럼 7-12)에 가했다. 독소 및 배지 둘 모두를 웰당 100 μ l의 양으로 첨가하여, 웰에서의 전체 용적이 200 μ l 이하의 양이 되게 하였다. 마지막 열(H)은 검정에 사용하지 않았다. 그런 다음, 플레이트를 셰이커(shaker)에 정위시키고 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다.

그런 다음, 인큐베이터에서 밤새 인큐베이션시킨 세포가 함유된 플레이트를 꺼내고 웰로부터의 배지를 진공 흡입 장치를 사용하여 피펫으로 제거하였다. 세포가 상기 공정 동안에 건조되는 경향이 있어서, 배지를 한번에 단지 하나의 플레이트로부터 제거하였다. 배지를 제거한 후, 독소/중합체 혼합물을 세포상으로 피펫팅하였다. 공정 전체에 걸쳐 동일한 피펫 팁을 사용하여, 용액을 최소량의 독소으로부터 최대 농도의 웰까지 이르기 까지 웰당 100 μ l의 농도로 첨가하였다. 피펫 팁을 각각의 새로운 중합체 작동을 위해 교체시켰다. 열 H를 건드리지 않고 유지시킨 후, 플레이트를 현미경하에 검사하여 세포 단층이 흡입 동안에 손상되지 않게 하였다. 그런 다음, 플레이트를 다시 37°C 인큐베이터에 두고 중합체/독소 처리후 18시간째에 체크하고 세포 라운, 무 세포 라운딩 또는 부분적(50%) 세포 라운딩을 위해 스코어링하였다.

독소 B 용량 - 다운

중합체를 원뿔형 튜브에 10mg/ml(5mg/ml 최종)의 양으로 계량도입시켰다. 보통, 약 70mg 내지 7ml의 배지(사용된 희석액)가 완전한 작동을 위해 적합하였다. 용액중에 존재하지 않는 중합체를 15 내지 20분 동안 37°C 수욕중에 두었다. 여전히 완전히 용해될 수 없는 용액을 기록하고 겔이 겔 방법에 의해 작동되게 하였다. 독소 B를 2ng/ml(1ng/ml 최종)의 농도로 출발시켜 얼음상에 유지시켰다. 무균 상태의 96-웰 플레이트를 사용하고 배지를 웰당 100 μ l의 양으로 제 1 칼럼을 제외한 웰에 첨가하였다. 각각의 중합체를 3개의 상이한 열(플레이트당 2종의 중합체), 즉, 독소는 없고 중합체만이 있는 제 1 열 및 중합체와 독소 B가 있는 다음 두 열에서 시험하였다. 열 G에서는 독소 B만이 용량 - 다운되었고 열 H는 처리하지 않은 채로 유지시켰다. 구성은 다음과 같다:

중합체 1 : 열 A (1-12) - 중합체 단독

열 B (1-12) - 독소 B와 중합체

열 C (1 - 12) - 독소 B와 중합체

중합체 2 : 열 D (1 - 12) - 중합체 단독

열 E (1 - 12) - 독소 B와 중합체

열 F (1 - 12) - 독소 B와 중합체

그외의 열 : 열 (1 - 12) - - 독소 B만의 용량 다운

열 H - - 비처리

200 μ l의 배지 또는 독소 B를 제 1 칼럼(중합체만을 지닌 열에 대한 배지)에 두고 이것을 플레이트를 가로질러 2배 희석시키고, 100 μ l를 각각의 새로운 칼럼으로 옮겼다. 중합체 혼합물을 열 G 및 H를 제외한 모든 웰에 100 μ l씩 첨가하였다. 열은 100 μ l의 배지를 대신하였고 열 H는 비어있는 상태로 유지시켰다. 이들 플레이트를 1시간 동안 셰이커에 두고 상기로부터의 과정을 이 단계에도 적용시켰다.

독소 및 중합체를 세포에 첨가하였을 때, 플레이트에 EtOH를 분무시키고, 분무된 플레이트를 밤새 37°C 인큐베이터에 정위시키고 18시간 후에 스코어링하였다. 스코어링은 세포 라운딩에 대하여 양성적이었고, 보통의 세포에 대하여는 음성적이었으며, 50% 이상의 표준에서 형태를 지닌 세포에 대하여는 +/- 이었다.

겔화 과정

겔을 5 또는 10mg/ml의 농도로 2가지 상이한 농도의 중합체에서 조작하였다. 독소의 농도는 독소 A 및 B에 대하여 100, 10, 1이었다. 이들 농도는 중합체 유형에 따라 다양하였다. 각각의 중합체용도로 12개의 에펜도르프(Eppendorf) 튜브의 중량을 측정하였다. 독소를 1배 희석시키고 1ml의 독소를 적절한 에펜도르프 튜브에 첨가하였다. (모든 농도에서) 중합체만이 함유된 대조 튜브와 독소만이 함유된 대조 튜브를 사용하였다. 그런 다음, 튜브를 1시간 동안 실온에서 회전시키고 14,000rpm의 속도로 5분 동안 원심분리시켰다. 200 μ l의 각 샘플을 무균 상태의 96 - 웰 플레이트에 두었다. 배로 세포를 지닌 플레이트를 인큐베이터로부터 제거해내고 배지를 흡입을 통해 제거하였다(한번에 하나의 플레이트). 100 μ l의 독소/중합체 혼합물을 세포를 지닌 플레이트에 직접 가하고, 플레이트를 커버링시키고 다음날 스코어링 하기 위해 밤새 인큐베이터에 두었다. 스코어링은 상기된 과정을 이용하였다.

래트 회장 루프 실험

본 프로토콜은 마취한 래트의 회장루프의 제조를 설명한다. 장의 구조 및 기능에 대한 세균 독소와 같은 장중독제의 효과를 시험하기 위해서 이 실험모델을 사용할 수 있으며, 추정되는 보호제 효과도 측정할 수 있다.

실크 봉합실을 사용하여 회장을 결찰시킴으로써, 각 동물별로 대략 5cm 길이의 2개의 회장루프를 만들었다. 만니톨 및 정맥내에 투여된 방사선표지 만니톨(3 H - 만니톨)이 배설되는 것을 방지하기 위해서 신장경도 결찰시킨 다음, 시험제($\pm$ 독소 $\pm$ 중합체)를 이 루프내로 투여하였다. 4시간 후에, 동물들을 죽여서 루프를 회수하였다. 상기 루프를 칭량하고 그 길이를 측정하여, 조직간액 분비도(분비성 설사 지수)를 추정하고, 방사선표지 만니톨(3 H - 만니톨)의 루프내 축적도를 측정함으로써 장점막의 침투력을 추정하였다. 점막손상 및 염증의 연속적인 형태학적 특성을 평가하기 위해서, 조직샘플을 정착제내에 넣었다.

동물준비:

200~250g의 수컷 위스터 래트를 바닥이 와이어로 된 우리내에서 하룻밤(18~22 시간)동안 굶겨서 코프라파지(coprophagy)를 최소화시켰다. 임의대로 물을 사용하였다. 사용된 상기 독소 또는 시험제에 결합되거나 그것을 변형시킬 수 있는 내장 내용물(음식물 및 담즙)을 사실상 제거하였다.

용액제조:

각 회장루프내에 시험제 또는 PBS제를 0.5ml 부피로 넣고, 표지된 관 및 표지된 주사기 4세트(± 독소 ± 중합체)를 준비하였다. 독소A가 플라스틱 용기에 들러붙어서, 그것의 효과적인 농도를 감소시켰다. 이러한 이유로, 관과 주사기를 루프 사이에서 재사용해야 한다.

독소A

테크랩 인코포레이티드(TechLab Inc.)에서 시판되고 있는 독소A를 2mg/ml 함유하는 0.5ml 시험관에 준비하였다. 독소A가 주입되어 있는 각 루프를 총 5µg 또는 상기 용액의 2.5µl만큼 투여하였다.

중합체

중합체를 함유하는 루프에, 0.5ml PBS의 부피에 대해서 총 10mg(20mg/ml)을 주입시켰다. 각 실험을 실시하기 전에 신규 중합체 용액/현탁액을 제조하였다.

³H - 만니톨

표준용액 1mCi/ml의 ³H - 만니톨(만니톨, D - [1 - ³H(N)] -, NEN Catalog No. NET101)을 냉장시켰다. 각 동물에게 200µl의 부피에 대해서 ³H - 만니톨 10 µCi(예를 들어, 동물당 10µl 표준 ³H - 만니톨 + 190µl PBS)을 정맥내로 투입하였다.

마취

복강내에 펜토바비탈 35~60mg/kg(50mg/ml 용액)을 투여하여 동물을 마취시켰다. 따라서, 0.2~0.3ml를 복강내로 투여하여 200~250g 래트를 마취시켰다. 또한, 케타민/자일라진 각테일을 사용할 수 있다. 이 각테일은 케타민 5.4ml(100mg/ml)와 크실라진 0.45ml(100mg/ml)를 혼합하여 제조할 수 있는데, 이 각테일 0.25~0.3ml로 동물을 마취시켰다. 마취시키는데 10~15분이 걸렸다. 고통스런 자극(발가락 꼬집기)에 대한 반응이 부족한 것으로써 수술할 수 있을 정도의 마취상태를 확인하였다.

수술준비

복부 중간선을 절개하여, 맹장과 소장을 체외로 적출시켰다. 좌측 신장경 주위에 3.0 길이의 실크를 배치시키고 맥관을 결찰시킨 다음, 대정맥이 손상되지 않도록 주의하면서, 우측 신장 및 결찰된 신장경이 드러나도록 내장을 위치이동시켰다. 그 후, 소장과 그것을 공급하는 맥관을 관찰하기 위해서 맹장을 위치이동시켰다. 5cm 길이의 2개의 회장에서, 내장 내용물(음식물 및 담즙) 및 2개의 블라인드 루프를 형성하기 위해서 묶었던 결찰사가 제거되었다는 것을 확인하였다. 그리고 나서, 바람직한 시험제를 루프에 투여하였다. 상기 맹장에서 멀리 위치한 결찰사 아래의 루프내에 제제를 투여시키고 나서, 대정맥을 관찰하기 위해서 내장을 위치이동시키고, ³H - 만니톨 용액 200µl을 정맥내 투여하였다. 응집을 촉진시키기 위해서 천자를 제거한 다음, 천자에 의해 천공된 상처부위에 약간의 압력을 인가하였다. 만니톨을 투여하고 나서, 내장을 다시 복부내에 원위치시키고, 상처부위의 근육 및 피부층을 수술용 자못으로 봉합시켰다.

회장루프 주입:

독소A 5µg을 PBS(± 중합체) 0.5ml에 용해시키고, 그 혼합물을 주사기에 넣어서 루프내로 투여시킨 후, 그 주사기의 내용물을 장 루프내로 빠르게 주입하였다.

동물유지

수술시키고 나서, 나무칩으로 된 신발상자로 만든 우리내에 동물을 두고, 4시간 동안 회복시키도록 하면, 이 기간동안 동물들이 의식을 회복하게 되었다. 매우 고통스러워하는 동물은 즉시 안락사시켰다.

루프의 적출 및 처리

시험후 4시간째에 물질을 투여하고, 회장루프를 적출하였다. 100% 이산화탄소를 사용하여 동물을 죽여서, 개복하여 봉합실 마아커를 사용하여 루프를 관찰하였다. 루프 내용물이 조금이라도 유실되지 않도록 하기 위해서, 거대조직으로 루프를 트림(trim)시켜 수술시켰다. 루프를 꽤 무게가 나가는 한 장의 종이위에 올려놓고, 그것의 길이 및 중량을 측정 한 후, 루프의 먼쪽 단부를 미리 칭량된 시험관내에 배치시키고, 내용물을 회수하기 위해서 절단시켰다. 그런 다음, 내용물 전체를 쉽게 세정하기 위해서, PBS 500 μ l를 루프의 가까운쪽 단부에 투여한 후, 루프를 반으로 절단하여 0.5cm 구획으로 격리시키고 개방시켜, 정착제 내에 두었다.

신티레이션 계산용 샘플제조

루프 내용물 부피를 측정하기 위해서 관을 재칭량하였다. 상기 관을 세게 교반시키고, 샘플 200 μ l를 7ml들이 플라스틱 신티레이션용 시험관에 분취하였다. 이러한 샘플을 울티마 골드 신티레이션 카테일 5ml와 혼합하여 교반시켰다. 샘플을 하룻밤동안 평형시킨(화학발광을 최소화시키기 위해서) 다음 교반하여, 다음날 계산하였다.

MIC 검정

최소 억제 농도(MIC) 검정은 시험용 유기체의 성장을 억제하는데 필요한 항미생물제의 최소농도를 측정하는 것이다. 항미생물 활성을 보유하는 화합물을 확인하기 위한 스크리닝 도구로서 유기체의 표준패널에 대하여 MIC 검정을 실시 하였다. 상기 MIC 검정을 기타 특정된 미생물 패널에 대해서도 계속적으로 반복하였다; 상기 화합물은, 미생물활성, 살균에 소요되는 시간, 시험관내에서 성장한 조직배양세포에 대한 독성과, 몇몇의 경우 생체내에서의 항미생물 활성을 시험하기 위한 것이었다.

문헌[참조: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 1998, vol. M100~S8, Eighth Informational Supplement, NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087]에 따라 MIC 검정을 실시하였다.

요컨대, 최종농도가 5000 μ g/ml가 될때까지, 시험할 중합체를 0.85%의 식염수에 용해시키고, pH를 7.0으로 조정시킨 다음, 용액을 0.22 μ m 필터를 통하여 여과살균시켰다. 뮐러 - 힌톤 브로쓰(Mueller - Hinton Broth)내에서 96 - 웰 미량 역가(microtiter) 플레이트를 사용하여, 분취한 양이온으로 2배 연속희석한 중합체를 제조하였다. 그런 다음, 타겟 유기체중 5×10^5 세포/웰로 플레이트를 항온접종시키고, 35°C에서 18~24시간 동안 항온배양시켰다. 그 후, 590nm에서 광밀도(OD)를 판독하여, 미생물 성장율을 계산하였다(OD > 0.1인 것을 성장된 것으로 간주하고, OD < 0.1인 것을 성장이 억제된 것으로 간주한다). 상기 MIC 값을 성장을 억제시키는 화합물의 최저농도로 정의하였다.

시험된 생물체에는 칸디다종 복수 균주 뿐만 아니라, 임상적으로 중요한 호기성 그램 음성 및 그램 양성 세균성 균주, 단독 혐기성 세균종(clostridium difficile)이 있다.

본 발명을 이의 바람직한 구체예에 대한 참조와 함께 상세히 제시하고 설명하였지만, 형태와 세부사항에서 다양한 변화가 첨부된 청구항에 의해 정의된 바와 같이 본 발명의 정신 및 범위를 벗어나지 않고 그 안에서 수행될 수 있음은 당업자에 의해 이해될 것이다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

펜던트산 작용기를 포함하는 치료학적 유효량의 중합체 또는 이와 약제학적으로 허용되는 양이온과의 염을 환자에게 투여하는 단계를 포함하여, 환자의 병원성 독소를 억제시키는 방법으로서, 상기 중합체가 실질적으로 산무수물기를 가지지 않는 방법.

청구항 2.

펜던트 설폰산 작용기를 포함하는 치료학적 유효량의 중합체 또는 이와 약제학적으로 허용되는 양이온과의 염을 환자에게 투여하는 단계를 포함하여, 환자의 병원성 독소를 억제시키는 방법.

청구항 3.

펜던트산 작용기를 포함하는 치료학적 유효량의 중합체 또는 이와 약제학적으로 허용되는 양이온과의 염을 환자에게 투여하는 단계를 포함하여, 환자의 병원성 독소를 억제시키는 방법으로서, 상기 중합체가 하나의 펜던트산 작용기를 가지는 반복 단위에 의해 특징화되는 방법.

청구항 4.

제 1항에 있어서, 환자가 포유동물임을 특징으로 하는 방법.

청구항 5.

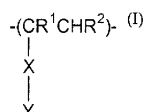
제 1항에 있어서, 중합체가 소수성 기를 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 6.

제 1항에 있어서, 산 작용기가 카복실산, 설폰산, 포스폰산, 보론산, 하이드로설페이트 또는 디하이드로포스페이트 기임을 특징으로 하는 방법.

청구항 7.

제 6항에 있어서, 중합체가 하기 화학식 I의 단량체를 포함함을 특징으로 하는 방법:



상기 식에서, X는 스페이서 기 또는 직접 결합이고; R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소 또는 알킬기이거나; R¹은 수소 원자 또는 알킬기이고 R²는 산 작용기이고; Y는 산 작용기이다.

청구항 8.

제 7항에 있어서, X가 정상적인 분지형 또는 환형의 치환되거나 치환되지 않은 포화되거나 불포화된 하이드로카빌렌기이거나, 하나 이상의 탄소 원자가 헤테로원자에 의해 치환된, 정상적인 분지형 또는 환형의 치환되거나 치환되지 않은 포화되거나 불포화된 하이드로카빌렌기임을 특징으로 하는 방법.

청구항 9.

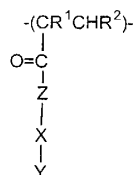
제 8항에 있어서, X가 C₂ - C₂₀ - 알킬렌기, C₂ - C₂₀ - 알케닐렌기, 하나 이상의 지점에서 헤테로원자에 의해 간접된 C₂ - C₂₀ - 알킬렌기 또는 하나 이상의 지점에서 헤테로원자에 의해 간접된 C₂ - C₂₀ - 알케닐렌기임을 특징으로 하는 방법.

청구항 10.

제 9항에 있어서, 헤테로원자가 질소, 산소 또는 황 원자임을 특징으로 하는 방법.

청구항 11.

제 7항에 있어서, 중합체가 하기 화학식 II의 반복 단위에 의해 특징화됨을 특징으로 하는 방법:



상기 식에서, R¹ 및 R²는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 알킬기이거나; R¹은 수소 원자 또는 알킬기이고 R²는 산 작용기이고; Z는 O 또는 NH이고, X는 스페이서 기이고 Y는 산 작용기이다.

청구항 12.

제 11항에 있어서, X가 정상적인 분지형 또는 환형의 치환되거나 치환되지 않은 포화되거나 불포화된 하이드로카빌렌기이거나, 하나 이상의 탄소 원자가 헤테로원자에 의해 치환된, 정상적인 분지형 또는 환형의 치환되거나 치환되지 않은 포화되거나 불포화된 하이드로카빌렌기임을 특징으로 하는 방법.

청구항 13.

제 12항에 있어서, X가 C₂ - C₂₀ - 알킬렌기, C₂ - C₂₀ - 알케닐렌기, 하나 이상의 지점에서 헤테로원자에 의해 간접된 C₂ - C₂₀ - 알킬렌기 또는 하나 이상의 지점에서 헤테로원자에 의해 간접된 C₂ - C₂₀ - 알케닐렌기임을 특징으로 하는 방법.

청구항 14.

제 7항에 있어서, 중합체가 동중중합체임을 특징으로 하는 방법.

청구항 15.

제 7항에 있어서, 중합체가 공중합체임을 특징으로 하는 방법.

청구항 16.

제 13항에 있어서, 공중합체가 3원 혼성중합체임을 특징으로 하는 방법.

청구항 17.

제 7항에 있어서, 단량체가 아크릴산, 메트아크릴산, 비닐설폰산, 비닐포스포산, 3 - 알릴옥시 - 2 - 하이드록시 - 1 - 프로판설폰산, 비닐아세트산, 비닐 하이드로설페이트, 비닐 디하이드로포스페이트, 알릴 하이드로설페이트, 알릴 디하이드로포스페이트, 운데센산, 운데세닐 하이드로설페이트, 운데세닐 설폰산, 스티렌 설포네이트 및 비닐벤조산; 및 이들과 약제학적으로 허용되는 양이온이 결합된 컨쥬게이트 염기로 구성된 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 18.

제 7항에 있어서, 중합체가 펜던트 소수성 기를 가진 단량체에 의해 추가로 특징화되는 공중합체임을 특징으로 하는 방법.

청구항 19.

제 18항에 있어서, 소수성 기가 직쇄형 또는 분지형의 치환되거나 치환되지 않은 환형 또는 비환형인 $C_3 - C_{24}$ - 알킬기, 아릴기 또는 아릴알킬기임을 특징으로 하는 방법.

청구항 20.

제 19항에 있어서, 소수성 단량체가 스티렌, N - 이소프로필아크릴아미드, N - t - 부틸아크릴아미드, N - n - 부틸아크릴아미드, 헵타플루오로부틸 아크릴레이트, N - n - 데실알릴아민, N - n - 데실아크릴아미드, 펜타플루오로스티렌, n - 부틸아크릴레이트, t - 부틸 아크릴레이트, n - 데실 아크릴레이트, N - t - 부틸메트아크릴아미드, n - 데실 메트아크릴레이트, n - 부틸 메트아크릴레이트, n - 헥실 메트아크릴레이트, N - n - 헥실비닐아민, N - n - 헥실알릴아민, N - 벤질알릴아민, N - (사이클로헥실메틸)알릴아민 및 N - (n - 데실)알릴아민으로 구성된 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 21.

제 16항에 있어서, 중합체가 중성 친수성 단량체를 추가로 포함함을 특징으로 하는 방법.

청구항 22.

제 21항에 있어서, 중성 친수성 단량체가 아크릴아미드, 메트아크릴아미드, N - (2 - 하이드록시에틸)아크릴아미드 및 2 하이드록시에틸메트아크릴레이트로 구성된 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 23.

제 7항에 있어서, 병원성 독소가 스트렙토코쿠스 종(*Streptococcus* spp.); 살모넬라 종(*Salmonella* spp.); 캄필로박터 종(*Campylobacter* spp.); 에스케리치아 종(*Escherichia* spp.); 클로스트리디아 종(*Clostridia* spp.); 비브리오 종(*Vibrio* spp.); 스태필로코쿠스 종(*Staphylococcus* spp.); 쉬젤라 종(*Shigella* spp.); 슈도모나스 종(*Pseudomonas* spp.); 보르다텔라 종(*Bordetella* spp.); 리스테리아 종(*Listeria* spp.); 예르시니아 종(*Yersinia* spp.); 레지오넬라 종(*Legionella* spp.); 바실러스 종(*Bacillus* spp.); 헬리코박터 종(*Helicobacter* spp.); 코리네박테리아 종(*Corynebacterias* spp.); 액티노바실러스 종(*Actinobacillus* spp.); 에어로모나스 종(*Aeromonas* spp.); 박테로이드 종(*Bacteroides* spp.) 및 파스테우렐라 종(*Pasteurella* spp.)으로 구성된 군으로부터 선택된 미생물과 관련된 독소임을 특징으로 하는 방법.

청구항 24.

제 23항에 있어서, 미생물이 스트렙토코쿠스 뉴모니아(*Streptococcus pneumoniae*), 스트렙토코쿠스 피오게네스(*Streptococcus pyogenes*), 살모넬라 엔테리티디스(*Salmonella enteritidis*), 캄필로박터 제주니(*Campylobacter jejuni*), 대장균(*Escherichia coli*), 클로스트리디움 보툴리눔(*Clostridium botulinum*), 스타필로코쿠스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 쉬겔라 디센테리아(*Shigella dysenteriae*), 슈도모나스 에어루지노사(*Pseudomonas aeruginosa*), 보르다텔라 페르투스시스(*Bordetella pertussis*), 리스테리아 모노시토키네스(*Listeria monocytogenes*), 예르시니아 엔테로콜리티카(*Yersinia enterocolitica*), 레지오넬라 뉴모필리아(*Legionella pneumophila*) 및 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*)로 구성된 군으로부터 선택됨을 특징으로 하는 방법.

청구항 25.

제 23항에 있어서, 미생물이 클로스트리디움 디피실레(*Clostridium difficile*)임을 특징으로 하는 방법.

청구항 26.

제 24항에 있어서, 미생물이 출혈성 대장균 균주임을 특징으로 하는 방법.

청구항 27.

제 7항에 있어서, 병원성 독소가 비브리오 콜레라(*Vibrio cholerae*); 엔타메오바 히스톨리티카(*Entamoeba histolytica*) 및 아칸타메오바(*Acanthamoeba*)로 구성된 군으로부터 선택된 생물체와 관련된 독소임을 특징으로 하는 방법.

청구항 28.

(폴리)스티렌설포네이트를 포함하는 약제학적 조성물을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하여 포유동물의 클로스트리디움 디피실레 관련 설사를 치료하는 방법.

청구항 29.

폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 치료학적 유효량의 조성물을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하여 포유동물의 항생제 관련 설사를 치료하는 방법.

청구항 30.

폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 치료학적 유효량의 조성물을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하여 포유동물의 클로스트리디움 디피실레 관련 설사를 치료하는 방법.

청구항 31.

클로스트리디움 디피실레 관련 설사의 개시를 예방하기에 충분한 양으로 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 조성물을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하여 민감한 포유동물의 클로스트리디움 디피실레 관련 설사의 개시를 예방하는 방법.

청구항 32.

광범위 항생제 및 치료적 유효량의 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 조성물의 조합물을 단일 치료 에피소드로서 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하여 민감한 포유동물의 클로스트리디움 디피실레 관련 설사의 개시를 예방하기 위한 치료 요법.

청구항 33.

클로스트리디움 디피실레 관련 설사의 재발을 예방하기에 충분한 양으로 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 조성물을 포유동물에게 투여하는 것을 포함하여 민감한 포유동물의 클로스트리디움 디피실레 관련 설사의 재발을 예방하는 방법.

청구항 34.

클로스트리디움 디피실레에 대해 효과적인 항생제 및 치료적 유효량의 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 조성물의 조합물을 단일 치료 에피소드로서 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하여 민감한 포유동물의 클로스트리디움 디피실레 관련 설사의 재발을 예방하기 위한 치료 요법.

청구항 35.

제 34항에 있어서, 항생제가 메트로니다졸 또는 반코마이신임을 특징으로 하는 치료 요법.

청구항 36.

클로스트리디움 디피실레에 대해 효과적인 항생제 및 치료학적 유효량의 폴리스티렌 설포네이트를 포함하는 조성물의 조합물을 단일 치료 에피소드로서 동시에 또는 순차적으로 투여하는 것을 포함하여 포유동물의 활동성 클로스트리디움 디피실레 관련 설사를 치료하기 위한 치료 요법.

청구항 37.

제 34항에 있어서, 항생제가 메트로니다졸 또는 반코마이신임을 특징으로 하는 치료 요법.

청구항 38.

제 29항에 있어서, 중합체가 가용성임을 특징으로 하는 방법.

청구항 39.

제 38항에 있어서, 중합체가 약 400,000 내지 1 백만 달톤 범위의 분자량을 가짐을 특징으로 하는 방법.

청구항 40.

제 39항에 있어서, 중합체가 약 600,000 달톤의 분자량을 가짐을 특징으로 하는 방법.

청구항 41.

폴리스티렌 설포네이트 및 항생제를 포함하는 의학용 약제학적 조성물.

청구항 42.

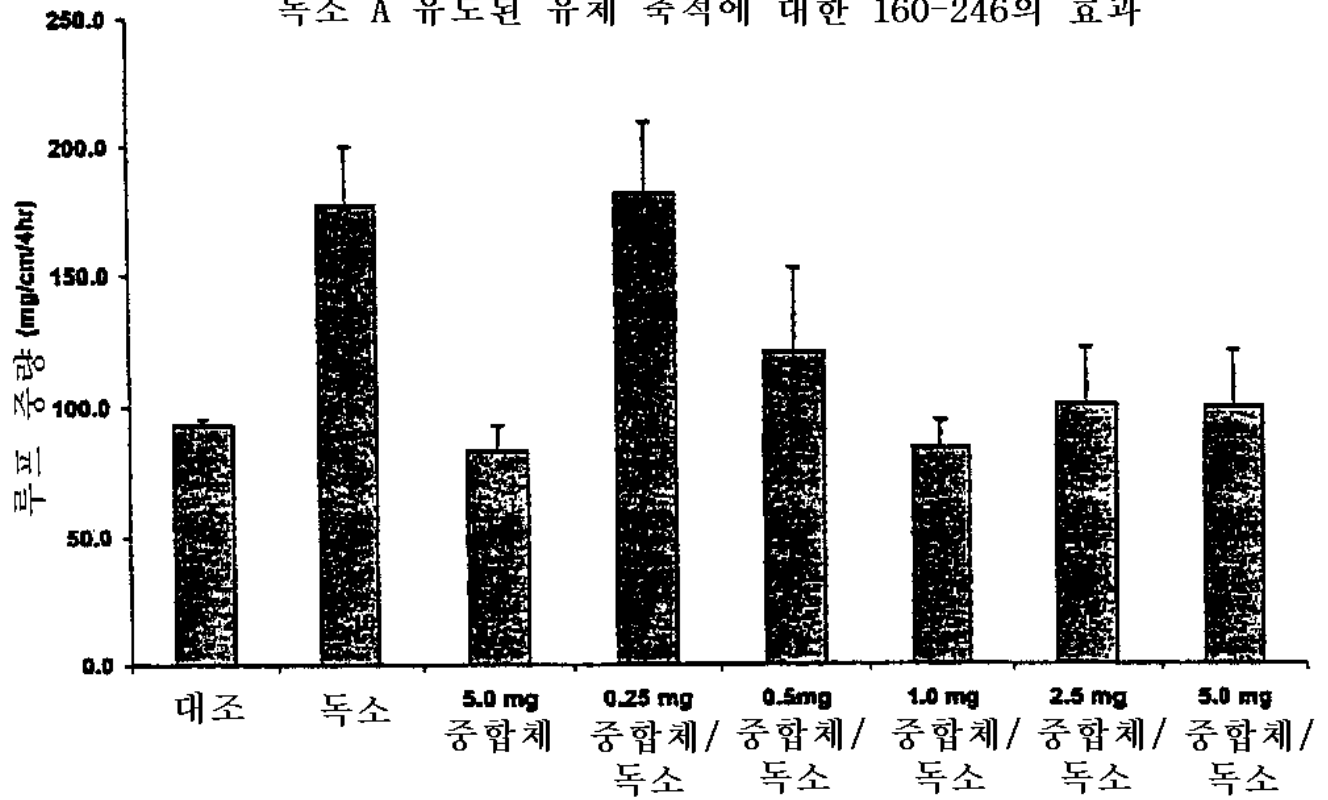
항생제 관련 설사 또는 클로스트리디움 디피실레 관련 설사를 치료하기 위한 약제의 제조에 사용되는 폴리스티렌 설포네이트의 용도.

도면

도면 1

#1036

독소 A 유도된 유체 축적에 대한 160-246의 효과



도면 2

#1036

독소 A 유도된 루프 투과성에 대한 160-246의 효과

