



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0065649
(43) 공개일자 2017년06월13일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/50 (2006.01) A61K 38/50 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61K 9/20 (2006.01)
A61K 9/28 (2006.01) A61K 9/48 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/5078 (2013.01)
A61K 38/50 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7012353
- (22) 출원일자(국제) 2015년10월08일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2017년05월04일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/054606
- (87) 국제공개번호 WO 2016/057744
국제공개일자 2016년04월14일
- (30) 우선권주장
62/061,507 2014년10월08일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
신세텍 바이오로지스, 인코퍼레이티드
미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬
센터 드라이브 9605
- (72) 발명자
브리스톨 앤드류
미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬
센터 드라이브 9605 신세텍 바이오로지스, 인코퍼
레이티드 내
카레코 마이클
미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬
센터 드라이브 9605 신세텍 바이오로지스, 인코퍼
레이티드 내
코넬리 쉐라
미국 메릴랜드주 20850 록빌 스위트 270 메디컬
센터 드라이브 9605 신세텍 바이오로지스, 인코퍼
레이티드 내
- (74) 대리인
특허법인아주김장리

전체 청구항 수 : 총 51 항

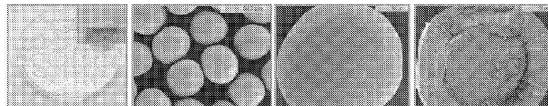
(54) 발명의 명칭 **베타-락타마제 제형 및 이의 용도**

(57) 요약

본 발명은 부분적으로 베타-락타마제를 포함하는 제형을 제공한다. 특히, 장에서 실질적인 양의 베타-락타마제를 방출하는 베타-락타마제를 포함하는 변형-방출 제형이 제공된다. 베타-락타마제 제형의 치료적 용도가 또한 제공된다.

대표도

도 18



(52) CPC특허분류

A61K 45/06 (2013.01)
A61K 9/2013 (2013.01)
A61K 9/2018 (2013.01)
A61K 9/2027 (2013.01)
A61K 9/2054 (2013.01)
A61K 9/2873 (2013.01)
A61K 9/4808 (2013.01)
A61K 9/4858 (2013.01)
A61K 9/4866 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/126,556 2015년02월28일 미국(US)
62/205,443 2015년08월14일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

변형-방출 제형(modified-release formulation)으로서, 베타-락타마제를 포함하되, 상기 제형은 GI(gastrointestinal) 관에서 실질적인 양의 상기 베타-락타마제를 방출하는, 변형-방출 제형.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 서열번호 1과 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 소장에서 실질적으로 방출되는, 변형-방출 제형.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 대장에서 실질적으로 방출되는, 변형-방출 제형.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 코어 입자, 상기 코어 입자 위로 베이스 코트를 포함하되, 상기 베이스 코트는 상기 베타-락타마제를 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 코어 입자는 수크로스를 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 코어 입자를 포함하되, 상기 베타-락타마제는 상기 코어 입자 내에서 캡슐화되는, 변형-방출 제형.

청구항 8

제5항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 복수의 코어 입자를 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 위액 중에서 실질적으로 안정한 변형-방출 코팅을 더 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 상기 장내세균총 중에 존재하는 미생물 효소에 의해 분해되는 변형-방출 코팅을 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 pH-의존적인 용해도를 갖는 변형-방출 코팅을 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 시간 의존적 부식 프로파일을 갖는 변형-방출 코팅을 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 추가적인 치료제를 더 포함하는, 변형-방출 제형.

청구항 14

제13항에 있어서, 상기 추가적인 치료제는 추가적인 항생제 분해 효소인, 변형-방출 제형.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 항생제 분해 효소는 클래스 EC 3.5.2.6인, 변형-방출 제형.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 항생제 분해 효소는 기능성 그룹 1, 그룹 2, 그룹 3, 또는 그룹 4 베타-락타마제 및/또는 분자/앰블러(Ambler) 클래스 A, 또는 클래스 B, 또는 클래스 C, 또는 클래스 D 베타-락타마제로부터 선택되는, 변형-방출 제형.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제형은 캡슐 또는 정제의 형태인, 변형-방출 제형.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 변형-방출 펠릿을 포함하되, 각각의 변형-방출 펠릿은 하기를 포함하는, 변형-방출 제형:

- 약 10 내지 20중량%의 베타-락타마제;
- 약 20 내지 30중량%의 수크로스 구체;
- 약 30 내지 40중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 15 내지 25중량%의 장용 중합체;
- 약 1.5 내지 2.5중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 0.5 내지 1.5중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.1 내지 1.0중량%의 폴리솔베이트-80; 및
- 약 1 내지 2중량%의 완충제 염.

청구항 19

제18항에 있어서, 각각의 변형-방출 펠릿은 하기를 포함하는, 변형-방출 제형:

- 약 16중량%의 베타-락타마제;
- 약 23중량%의 수크로스 구체;
- 약 35중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 21중량%의 장용 중합체;
- 약 2중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 1중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.5중량%의 폴리솔베이트-80; 및
- 약 2중량%의 완충제 염.

청구항 20

제18항에 있어서, 각각의 변형-방출 펠릿은 하기를 포함하는, 변형-방출 제형:

- 약 15.8중량%의 베타-락타마제;
- 약 23.3중량%의 수크로스 구체;
- 약 35중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 20.8중량%의 장용 중합체;
- 약 2.1중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 1중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.4중량%의 폴리솔베이트-80; 및
- 약 1.6중량%의 완충제 염.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 약 75mg의 베타-락타마제를 포함하되, 상기 제형은 하기를 포함하는, 제형:

- 약 10 내지 20중량%의 베타-락타마제;
- 약 15 내지 25중량%의 수크로스 구체;
- 약 25 내지 35중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 10 내지 25중량%의 장용 중합체;
- 약 1.5 내지 2.5중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 0.5 내지 1.5중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.1 내지 1.0중량%의 폴리솔베이트-80;
- 약 1 내지 2중량%의 완충제 염; 및
- 약 10 내지 20중량%의 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 캡슐.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 제형은 하기를 포함하는, 변형-방출 제형:

- 약 13중량%의 베타-락타마제;
- 약 19중량%의 수크로스 구체;
- 약 29중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 17중량%의 장용 중합체;
- 약 2중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 1중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.5중량%의 폴리솔베이트-80;
- 약 1중량%의 완충제 염; 및
- 약 17중량%의 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 캡슐.

청구항 23

제21항에 있어서, 상기 제형은 하기를 포함하는, 변형-방출 제형:

- 약 13.1중량%의 베타-락타마제;
- 약 19.4중량%의 수크로스 구체;

- 약 29.1중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 17.3중량%의 장용 중합체;
- 약 1.7중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 0.9중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.4중량%의 폴리솔베이트-80;
- 약 1.3중량%의 완충제 염; 및
- 약 16.8중량%의 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 캡슐.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 약 25mg의 베타-락타마제를 포함하되, 상기 제형은 하기를 포함하는, 제형:

- 약 5 내지 15중량%의 베타-락타마제;
- 약 10 내지 20중량%의 수크로스 구체;
- 약 15 내지 25중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 10 내지 20중량%의 장용 중합체;
- 약 1.0 내지 2.0중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 0.1 내지 1.0중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.1 내지 1.0중량%의 폴리솔베이트-80;
- 약 0.5 내지 1.5중량%의 완충제 염; 및
- 약 30 내지 40중량%의 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 캡슐.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 제형은 하기를 포함하는, 변형-방출 제형:

- 약 10중량%의 베타-락타마제;
- 약 15중량%의 수크로스 구체;
- 약 22중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;
- 약 13중량%의 장용 중합체;
- 약 1중량%의 트라이에틸시트레이트;
- 약 0.5중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
- 약 0.3중량%의 폴리솔베이트-80;
- 약 1중량%의 완충제 염; 및
- 약 38중량%의 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 캡슐.

청구항 26

제24항에 있어서, 상기 제형은 하기를 포함하는, 변형-방출 제형:

- 약 9.8중량%의 베타-락타마제;
- 약 14.5중량%의 수크로스 구체;
- 약 21.8중량%의 하이드록시프로필셀룰로스;

약 13중량%의 장용 중합체;
 약 1.3중량%의 트라이에틸시트레이트;
 약 0.6중량%의 글리세릴 모노스테아레이트;
 약 0.3중량%의 폴리솔베이트-80;
 약 1중량%의 완충제 염; 및
 약 37.7중량%의 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 캡슐.

청구항 27

치료 또는 예방이 필요한 환자에게 제1항 내지 제26항 중 어느 한 항의 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는 GI 관에서 항생제-유도 유해 효과를 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 28

치료 또는 예방이 필요한 환자에게 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는 클로스트리듐 디피실(*C. difficile*) 감염(*Clostridium difficile* infection: CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 항생제-유도 유해 효과 및/또는 CDI 또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환은 항생제-관련 설사, 클로스트리듐 디피실 설사(*C. difficile* diarrhea: CDD), 클로스트리듐 디피실 장 염증 질환, 대장염, 가막성 대장염, 발열, 복통, 탈수 및 전해질 장애, 거대결장, 복막염, 및 결장의 천공 및/또는 파열 중 하나 이상인, 치료 또는 예방하는 방법.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환은 초기 개시 또는 재발과 관련하여 치료되는, 방법.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 세프트리아kson-관련 유해 효과를 치료 또는 예방하는, 방법.

청구항 32

제27항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 원내 감염 및/또는 2차 신생(emergent) 감염을 치료 또는 예방하는, 방법.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 선택적으로 정맥내로 투여되는 항생제인 1종 이상의 주요 항생제에 의한 치료를 받고 있거나, 또는 최근에 치료를 받은, 방법.

청구항 34

제27항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 GI 관에서 과량의 항생제를 가수분해하는, 방법.

청구항 35

제27항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 정상 장 미생물상을 유지하고/하거나 환자의 GI 관에서 1종 이상의 병원성 미생물의 과성장을 방지하는, 방법.

청구항 36

제27항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 주요 항생제의 혈장 수준을 실질적으로 방해하지 않는, 방법.

청구항 37

제27항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 초기 및/또는 보조 요법은 환자에게 투여되는, 방법.

청구항 38

제27항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 초기 및/또는 보조 요법은 메트로니다졸, 반코마이신, 피닥소마이신, 리팍시민, 분변 박테리아요법, 프로바이오틱 요법 및 항체 요법 중 하나 이상인, 방법.

청구항 39

항생제-유도 유해 효과, 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 예방하는 방법으로서, 예방이 필요한 환자에게 제1항 내지 제38항 중 어느 한 항의 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하되,

상기 환자는 주요 항생제에 의한 요법을 받고 있고,

상기 주요 항생제는 세프트리악손, 세포탁심, 세파졸린, 세포페라존, 세푸록심 및 피페라실린 중 하나 이상이고, 정맥내로 투여되는, 항생제-유도 유해 효과, 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 예방하는 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, 환자는 메트로니다졸, 반코마이신, 피닥소마이신, 리팍시민, 분변 박테리아요법, 프로바이오틱 요법 및 항체 요법 중 하나 이상인 초기 및/또는 보조 요법에 의한 치료를 받고 있지 않은, 방법.

청구항 41

제39항 또는 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 환자는 반코마이신에 의한 치료를 받고 있지 않은, 방법.

청구항 42

제39항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항생제-유도 유해 효과 및/또는 CDI 또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환은 항생제-관련 설사, 클로스트리듐 디피실 설사(CDD), 클로스트리듐 디피실 장 염증 질환, 대장염, 가막성 대장염, 발열, 복통, 탈수 및 전해질 장애, 거대결장, 복막염, 및 결장의 천공 및/또는 과열 중 하나 이상인, 방법.

청구항 43

제39항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환은 초기 개시 또는 재발과 관련하여 치료되는, 방법.

청구항 44

제39항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 세프트리악손-관련 유해 효과를 치료 또는 예방하는, 방법.

청구항 45

제39항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법은 원내 감염 및/또는 2차 신생 감염을 치료 또는 예방하는, 방법.

청구항 46

제39항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 GI 관에서 과량의 항생제를 가수분해하는, 방법.

청구항 47

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 정상 장 미생물상을 유지하고/하거나 환자의 GI 관에서의 1종 이상의 병원성 미생물의 과성장을 방지하는, 방법.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 환자의 GI 관에서의 메타노브레브박터 스미시(*Methanobrevibacter smithii*)의 과성장을 방지하는, 방법.

청구항 49

제39항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 정상 장 미생물상을 유지하고/하거나 환자의 GI 관에서의 1종 이상의 유익한 병원성 미생물의 감소를 방지하는, 방법.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 환자의 GI 관에서의 투리시박터 종(*Turicibacter spp.*)의 감소를 방지하는, 방법.

청구항 51

제39항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 베타-락타마제는 주요 항생제의 혈장 수준을 실질적으로 방해하지 않는, 방법.

발명의 설명

기술분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호참조

[0002] 본 출원은 2014년 10월 8일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/061,507호; 2015년 2월 28일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/126,556호; 및 2015년 8월 14일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/205,443호의 유익을 주장하며, 모든 이들 기초출원의 전문은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 부분적으로 베타-락타마제를 포함하는 약제학적 투여형(dosage form) 및 이의 용도를 제공한다.

[0005] 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 설명

[0006] 본 명세서와 함께 전자적으로 제출된 텍스트 파일의 내용은 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다: 서열 목록의 컴퓨터 판독 가능한 형식 사본(파일명: SYN-007PC-SequenceListing.txt; 데이터 기록: 2016년 10월 6일, 파일 용량: 12 KB).

배경기술

[0007] 베타-락탐 항생제는 그들의 분자 구조 내 베타-락탐 고리를 특징으로 한다. 베타-락탐 고리의 완전성은 생물학적 활성에 필수적인데, 이는 펩티도글리칸 합성의 최종 가교 반응을 촉매하는 트랜스펩티다제 세트의 비활성화를 초래한다. 베타-락탐 항생제 패밀리의 구성원은 페니실린, 세팔로스포린, 클라밤(또는 옥사페남), 세파마이신 및 카바페넴을 포함한다.

[0008] 베타-락타마제는 베타-락탐 항생제를 가수분해하는 박테리아 방어 효소이다. 그램 음성 박테리아는 베타-락탐 항생제에 대한 내성을 달성하기 위해 베타-락타마제를 생성한다. 특히, 베타-락타마제는 베타-락탐 고리의 아마이드 결합의 비가역적 가수분해를 효율적으로 촉매하여 생물학적으로 비활성인 생성물(들)을 초래할 수 있다.

[0009] 인간은 포유류 및 미생물 세포가 등글게 뭉쳐진 "초개체(superorganism)"가 되는 것으로 고려될 수 있는데, 미생물 세포는 포유류 세포보다 10 대 1만큼 수가 많은 것으로 추정된다. 이 미생물 성분 및 그의 미생물 유전자 레퍼토리, 마이크로바이옴(microbiome)은 인간 숙주보다 대략 100배 더 크다. 두드러지게, 외래 유기체의 이런 엄청난 다양성에도 불구하고, 인간 면역계는 일반적으로 상승 상태를 유지한다. 이는 1000개까지의 별개의 박테리아 종 및 추정 과량의 1×10^{14} 개의 미생물을 수용하는 원위 위장(gastrointestinal: GI) 관에서 특히 그러하며, 인간 숙주 건강 상태를 정하는 데 중요한 것으로 나타난다. 특히 GI관에서의 마이크로바이옴에서 주의 깊은

균형의 상실은 다양한 질환을 야기할 수 있다.

- [0010] 그럼에도 불구하고, 특정 질환 양상을 치료하는 데 필요한 항생제 의학적 치료는 GI 관을 포함하는 마이크로바이옴의 붕괴를 유도할 수 있고, 추가 질환을 야기할 수 있다. 예를 들어, 특정 비경구로 투여된 베타-락탐 유사 암피실린, 세프트리악손, 세포페라존 및 피페라실린은 소장(십이지장)의 근위 부분 내로의 담즙 분비를 통해 부분적으로 제거된다. GI관 내 잔여 비흡수 베타-락탐은 정상 장 미생물상의 생태학적 균형에 대한 바람직하지 않은 효과를 야기하여, 예를 들어, 클로스트리듐 디피실(*Clostridium difficile*) 감염(*Clostridium difficile* infection: CDI), 항생제-관련 설사, 병원성 박테리아, 예컨대 반코마이신 내성 엔테로코키(vancomycin resistant enterococci: VRE), 광범위 베타-락타마제 생성 그램 음성 바실리(extended-spectrum beta-lactamase producing Gram-negative bacilli: ESBL), 및 진균의 과성장, 및 정상 장 미생물상과 잠재적 병원성 박테리아 둘 다에서의 항생제-내성 균주의 선택을 초래할 수 있다.
- [0011] 정상 장 미생물상의 생태학적 균형을 회피하거나 또는 재균형화하기 위한 일 접근은 베타-락타마제, 예를 들어, GI 관 내 예상치 못한 또는 비흡수 항생제를 활성화시킴으로써, 잠재적으로 병원성인 미생물에 의한 그의 과성장을 방지하는 베타-락타마제의 치료적 사용이다.
- [0012] 따라서, 치료적 개입에서 사용하기 위한 개선된 베타-락타마제 제형에 대한 필요가 남아있다.

발명의 내용

- [0013] 따라서, 본 발명은 베타-락타마제(예를 들어, 서열번호 1 또는 2에 나타낸 바와 같은 "P3A", 또는 이의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 변형-방출 제형(modified-release formulation)을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 제형은 GI 관에서 실질적인 양의 베타-락타마제를 방출한다. 일 실시형태에서, 제형은 적어도 하나의 코어 입자 및 코어 입자 위로 베이스 코트를 포함하되, 베이스 코트는 베타-락타마제를 포함한다. 다른 실시형태에서, 제형은 적어도 하나의 코어 입자를 포함하되, 베타-락타마제는 코어 입자 내에서 캡슐화된다. 다양한 실시형태에서, 제형은 코어 입자 위로 배치된 지연 방출 코팅과 같은 변형-방출 코팅을 포함한다. 일부 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 위액에서 실질적으로 안정하다. 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 유드라짓(Eudragit) 화합물을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 제형은 캡슐 또는 정제 형태일 수 있다. 일부 실시형태에서, 캡슐 또는 정제는 복수의 코어 입자를 포함한다.
- [0014] 이들 개선된 베타-락타마제는 GI 관 내 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환 또는 다른 항생제-유도 유해 효과의 예방 또는 치료를 포함하는 다수의 요법에서의 용도를 발견한다. 예를 들어, 베타-락타마제는 환자가 항생제 요법을 받게 하는 한편, 마이크로바이옴에 부정적으로 영향을 미치는 과량의 항생제로부터 초래될 수 있는 질환에 대해 보호하는 용도를 발견한다. 이러한 용도는 항생제의 전신 효용을 방해하지 않는다. 오히려, 베타-락타마제는 GI 관의 부분에 모여있을 수 있는 과량의 항생제를 제거하고, 그렇게 해서 본 명세서에 기재된 다양한 질환과 연결된 미생물상의 붕괴를 방지한다.
- [0015] 일부 양상에서, 본 발명은 주요 항생제, 예컨대 세프트리악손, 세포탁심, 세피졸린, 세포페라존, 세푸록심 및 피페라실린 중 하나 이상에 의한 요법을 받는 환자에 대해 상기 청구한 것 중 임의의 하나의 유효량의 변형 방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 예방하는 방법을 제공하며, 주요 항생제는 정맥내로 투여된다.

도면의 간단한 설명

- [0016] **도 1A**은 P3A 지연 방출 캡슐을 생성하는 제조방법의 실시형태를 도시한 도면.
- 도 1B**는 본 발명의 실시형태에 따라 생성된 P3A 장 코팅 펠렛의 사진을 도시한 도면.
- 도 2**는 본 발명의 실시형태에 따라 생성된 P3A 펠렛의 pH 용해 프로파일을 도시한 도면.
- 도 3**은 5명의 상이한 공여체로부터의 인간 유미즙 샘플에서의 P3A 펠렛의 안정성을 도시한 도면.
- 도 4**는 5명의 인간 유미즙 샘플 및 혼합된 유미즙 샘플에서의 P3A 안정성을 도시한 도면.
- 도 5**는 10nM P1A 또는 P3A(SYN-004로도 알려짐) 약물 물질(Ref) 또는 용해된 P1A 또는 P3A 펠렛 물질(Pe1)에 의한 소화 30, 60, 90 및 120초에 가수분해된 세프트리악손의 양(nmol)을 도시한 도면.
- 도 6**은 P3A 지연 방출 캡슐을 생성하는 제조방법의 추가적인 실시형태를 도시한 도면.

도 7은 P3A 매개된 마이크로바이옴 보호를 평가하기 위한 돼지 연구의 설계를 도시한 도면. "*"는 돼지 9가 허약하고, 체중증가가 없었다는 것을 나타낸다. "***"는 돼지 8이 클로스트리듐 디피실 투여 후 제14일에 빈사 상태이며 안락사되었다는 것을 나타낸다. CDI는 확인되지 않았다. 돼지 8 및 9 이외에, 다른 동물은 허약하지 않았다. CDI는 클로스트리듐 디피실 독소 A 또는 IL8 ELISA를 통해, 또는 장관 조직학적 분석을 통해 돼지 8을 포함하는 임의의 동물에서 확인되지 않았다.

도 8은 P3A(SYN-004)-매개 마이크로바이옴 보호를 평가하기 위한 돼지 연구의 개략적 시각표를 도시한 도면. 돼지는 제0일에 제왕절개를 통해 출생되었고, 마이크로아이스레이터에서 유지하였다. 제5일에, 동물은 정상 인간 태아 미생물상의 풀을 이용하여 위관영양 공급하였다. P3A 투여(75mg/용량, QID)를 제8일에(그룹 4)에 개시하였고, 7일 동안 계속하였다(14일까지). 항생제(클린다마이신, 50mg/kg; 그룹 2) 또는 세프트리악손(CRO, 50mg/kg, 그룹 3 및 4)을 제9일에 시작하여 1일 1회 IP 주사를 통해 투여하였고, 제12일까지 4일 동안 계속하였다. 클로스트리듐 디피실(2.6×10^6 cfu)을 제13일에 모든 동물에 대해 경구로 전달하였다. 대변을 멸균 면봉을 이용하여 제11일, 제12일, 제14일, 제18일, 제20일에 직장으로부터 직접적으로 수집하고, 제21일에 검시 시 장관으로부터 직접적으로 수집하였다.

도 9는 연구 제14일에 돼지 대변으로부터 단리한 DNA에서 동정된 박테리아 문의 분류학적 부류를 나타낸다. 각각의 돼지에서, 하부로부터 시작해서, 막대는 박테로이데테스, 프로테오박테리아, 페르미쿠테스 및 비분류의 상대적 존재비를 나타낸다. 예를 들어, 그룹 1에서, 돼지 2의 대변 DNA 샘플 중에 존재하는 박테리아는 모든 유형의 박테리아의 존재를 나타내었다. 그룹 2에서, 돼지 7 및 8은 대부분 박테로이데테스 및 프로테오박테리아의 존재를 나타내었다. 그룹 3에서, 돼지 5의 대변 DNA 샘플은 대부분 박테로이데테스를 나타낸 반면, 돼지 6은 대부분 박테로이데테스, 프로테오박테리아 및 페르미쿠테스를 나타내었다. 그룹 4에서, 돼지 10 및 12는 모든 유형의 박테리아의 존재를 나타낸 반면, 돼지 11은 대부분 박테로이데테스, 프로테오박테리아 및 페르미쿠테스의 존재를 나타내었다.

도 10A 및 **도 10B**는 연구 제21일에 검시 시 수집한 대변 샘플로부터의 박테리아 성장 정량화를 도시한 도면. **도 10A**는 LB+amp 플레이트의 사진을 도시한 도면. **도 10B**는 각각의 플레이트 상에서 박테리아 콜로니의 정량화를 도시한 도면. 검시 시 동물로부터 수집한 동일한 양의 희석 대변을 LB+amp 플레이트 상에서 플레이팅하고 나서, 37°C에서 호기성 조건 하에 성장시켰다. 콜로니를 계수화하는 한편, 희석 배율을 고려하였다.

도 11은 상대적 존재비에 기반한 각각의 분변 샘플 내 박테리아 군주의 히트맵을 제공하는 도면. 도면의 상부 및 좌측에 나타난 계통도를 생성하기 위해 최대 거리 함수 및 계층적 군집 방법 알고리즘을 이용하여 박테리아 분류군의 조성 유사성을 기준으로 샘플을 군집화하였다. 샘플 동정을 우측에 나타낸다. 도면의 상부 상의 박스는 그룹 1(대조군) 및 그룹 4(세프트리악손 + P3A)가 그룹 2(클린다마이신) 및 3(세프트리악손 단독)보다 서로 더 유사하다는 것을 강조한다.

도 12는 상대적 존재비에 기반한 각각의 분변 샘플 내 박테리아 속의 히트맵을 제공하는 도면. 도면의 상부 및 좌측에 나타난 계통도를 생성하기 위해 최대 거리 함수 및 계층적 군집 방법 알고리즘을 이용하여 박테리아 분류군의 조성 유사성을 기준으로 샘플을 군집화하였다.

도 13은 모든 연구 그룹의 전반적인 평균 빈도로부터 각각의 연구 그룹 내에서 각각의 박테리아 군주 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 중심 분류를 이용하는 비교 메타유전자 분석을 제공하는 도면.

도 14는 모든 연구 그룹의 전반적인 평균 빈도로부터 각각의 연구 그룹 내에서 각각의 박테리아 군주 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 중심 분류를 이용하는 비교 메타유전자 분석을 나타내는 도면.

도 15은 그룹 3(세프트리악손) 및 그룹 4(세프트리악손 + P3A) 대 그룹 1(대조군)에서 각각의 박테리아 종의 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 샘플 서브세트의 중-수준 중심 분류를 도시한 도면. 도면 부분의 상부 및 하부 상의 박스는 투리시박터 종(*Turicibacter spp*), 개에서의 특발성 염증성 장질환 및 급성 혈성 설사와 관련된 종(Minamoto *et al.*, 2015, Gut Microbes 6(1), 33-47; Rossi *et al.*, 2014, PLoS ONE 9(4), e94699), 및 과잉 메탄생성 고세균, 메타노브레브박터 스미시(*Methanobrevibacter smithii*), 변비와 관련된 것으로 보고된 종, 과민성 장 증후군, 및 비만(Pimentel *et al.*, 2002, Am. J. Gastroenter. Supple. 1:28)의 존재비의 감소를 강조한다.

도 16은 모든 그룹 종의 평균의 고유 빈도로부터 혐기성 및 조건적 호기성 박테리아 종의 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 샘플 서브세트의 중-수준 중심 분류를 도시한 도면. 타원은 그룹 4(세프트리악손 + P3A)가 그룹 2(클린다마이신) 또는 그룹 3(세프트리악손 단독)보다 그룹 1(대조군)에 대해 혐기성 및 조건적 호기성 박테리

아 종의 더 유사한 패턴을 나타낸다는 것을 강조한다.

도 17은 모든 그룹 중의 평균의 고유 빈도로부터 절대 호기성 박테리아 종의 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 샘플 서브세트의 중-수준 중심 분류를 도시한 도면.

도 18은 그룹 1, 그룹 2 및 그룹 3으로부터의 종의 평균 고유 빈도로부터 그램 양성 박테리아 종의 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 샘플 서브세트의 중-수준 중심 분류를 도시한 도면. 타원은 그룹 4(세프트리아손 + P3A)가 그룹 1(대조군) 및 그룹 3(세프트리아손 단독)에 비해 그램 양성 종의 과잉을 나타낸다는 것을 강조한다.

도 19는 그룹 1로부터의 종의 평균 고유 빈도로부터 그램 양성 박테리아 종의 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 샘플 서브세트의 중-수준 중심 분류를 나타낸다. 타원은 그룹 4(세프트리아손 + P3A)가 그룹 1(대조군)에 비교하여 그램 양성 종의 과잉을 나타낸다는 것을 강조한다.

도 20은 그룹 1, 2 및 3으로부터의 종의 평균 고유 빈도로부터 그램 음성 박테리아 종의 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 샘플 서브세트의 중-수준 중심 분류를 나타낸다.

도 21은 그룹 3 및 4로부터의 종의 평균 고유 빈도로부터 그램 양성 박테리아 종의 빈도의 평균 편차를 비교하기 위한 샘플 서브세트의 중-수준 중심 분류를 나타낸다.

도 22는 치료 돼지의 혈청에서의 세프트리아손 수준을 도시한 도면. 총 10마리의 돼지를 총 7일 동안 IV 세프트리아손(CRO; 50mg/kg)으로 1일 1회 치료하였다. 5마리 돼지의 코호트는 또한 CRO 치료 전날 시작해서 CRO를 중단한 후 1일 연장하여 총 9일 동안 경구 P3A(75mg, 1일 4회)를 받았다. CRO 치료의 제2일에, CRO 투여 후 1, 6 및 19시간에 혈청을 수집하였다. 적합한 고성능 액체 크로마토그래피 분석을 이용하여 혈청을 CRO 수준에 대해 분석하였다. 데이터는 평균 및 표준 편차로서 나타낸다. 19시간에 수집한 혈청 중의 CRO 수준은 분석의 검출 한한(0.5µg/ml)이었다. 히스토그램의 세트 둘 다에 대해(1시간과 6시간), 좌측 막대는 세프트리아손 단독이며, 우측 막대는 세프트리아손과 P3A이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

베타-락타마제

일부 양상에서, 본 발명은 1종 이상의 베타-락타마제의 조성물 및 제형 및 용도에 관한 것이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 베타-락타마제는 베타-락탐을 가수분해하는 효소를 지칭한다. 베타-락탐 고리의 아마이드 결합의 가수분해는 항미생물제를 생물학적으로 비활성으로 만든다. 본 명세서에서 사용하는 바와 같은, 클래스 A 베타-락타마제(앰블러 분류(Ambler classification))는 베타-락탐의 가수분해가 보통 알파 나선₂에서의 아미노산 위치 70에서 활성 부위 내 세린에 의해 매개되는 세린 베타-락타마제를 지칭한다. 클래스 A 베타-락타마제는 Len-1, SHV-1, TEM-1, PSE-3/PSE-3, ROB-1, 바실러스 세레우스(*Bacillus cereus*), 예킨대 1형 5/B, 1형 569/H 및 3형 569/H, 바실러스 안트라시스 종(*Bacillus anthracis* sp), 바실러스 리케니포르미스(*Bacillus licheniformis*), 예킨대 PenP, 바실러스 바이엔슈테파넨시스(*Bacillus weihenstephanensis*), 바실러스 클라우시(*Bacillus clausii*), 스태필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*) PC1, Sme-1, NmcA, IMI-, PER-, VEB-, GES-, KPC-, CME- 및 CTX-M형 베타-락타마제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

다양한 양상에서, 베타-락타마제는 서열번호 1의 아미노산 서열(즉, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 W02011/148041에 기재된 바와 같은 "P3A")을 가진다. 본 발명의 방법에 의해 이용될 수 있는 베타-락타마제 유도체를 생성하기 위해 이 서열로 돌연변이가 이루어질 수 있다.

서열번호 1

```

TEMKDDFAKLEEQFADKLGIFALDTGNTVRTVAYRPDERFAFASTIKALTVGVLLQQKS
IEDLNQRITYTRDDLNVNYPITEKHVDTGMTLKEADASLRYSNAAQNLILKQIGGPE
SLKKELRKIGDEVNPERFEPELNEVNPGETQDTSTARALVTSRFALEDKLPSEKR
ELLIDWMKRNTTGDALIRAGVPDGWEVADKTGAASYGTRNDIAIHWPPKGDPPVVLAV
LSSRDKKDAKYDNKLI AEATKVVMMKALNMNGK.
    
```

일부 실시형태에서, 베타-락타마제는 서열번호 1과 적어도 약 60%(예를 들어, 약 60%, 또는 약 61%, 또는 약 62%, 또는 약 63%, 또는 약 64%, 또는 약 65%, 또는 약 66%, 또는 약 67%, 또는 약 68%, 또는 약 69%, 또는 약 70%, 또는 약 71%, 또는 약 72%, 또는 약 73%, 또는 약 74%, 또는 약 75%, 또는 약 76%, 또는 약 77%, 또는 약

78%, 또는 약 79%, 또는 약 80%, 또는 약 81%, 또는 약 82%, 또는 약 83%, 또는 약 84%, 또는 약 85%, 또는 약 86%, 또는 약 87%, 또는 약 88%, 또는 약 89%, 또는 약 90%, 또는 약 91%, 또는 약 92%, 또는 약 93%, 또는 약 94%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0023] 일부 실시형태에서, 서열번호 1은 서열의 첫 번째 잔기에 앞서서 Met 및/또는 Thr을 가질 수 있다. 다양한 실시 형태에서, Met은 절단될 수 있다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 베타-락타마제 유도체를 생성하기 위해 첫 번째 잔기에 앞서서 Met 및/또는 Thr을 포함하는 서열로 돌연변이가 이루어질 수 있다. 일부 실시형태에서, 리딩 (leading) Thr은 다른 리딩 아미노산(예를 들어, Lys)에 대해 효소의 증가된 안정성을 초래할 수 있다. 예를 들어, 이러한 잔기는 아미노 펩티다제에 대해 증가된 내성을 부여할 수 있다.

[0024] 또한 본 명세서에서 서열번호 2로서 P3A의 뉴클레오타이드 서열이 제공된다:

[0025] 서열번호 2

```
atgactgagatgaaagatgatttgcgaagctggaagaacagttgacgcaaaattggcatttgcggtggacacg
gtacgaatcgtacggtgcctaccgtccgagcagcgtctgccttcgagcagcagatcaaacctgacgctggcg
tgctgctccagaaaagagcatcgaggacctgaaccagcgcattacctaccccgtgatgatctggtgaactataatc
cgatcaccgagaaacacggtgatccggtatgacctgaaagaactggcagatgcaagcctgcgctacagcgataa
cgcggtcagaatctgattctgaagcaaatcgggtgctcggagagctgaagaagaactgcgtaaaatcggcgatg
aagtcactaatcggagcgtttgagccggagctgaacgaagtaacgggtgaaacgcaagacacgagcaccg
cggtgagcttgctacccctcgcgcttctgcactggaagataagctgctcggagaaaacgagcgtgctgatcg
actggatgaagcgaatacagccggcagcgcgctgattcgtgctgggctccggacgggtgggaagtggctgaca
gaccggtcggcgagctacggcaccctgaacgatatcgatcatttggccactaaaggtgaccggctgctgctgg
ccgfactgagcagcgtgacaagaagacgcaagatgataacaagctgattgacagggcgaccaaagtgttat
gaaggcactgaacatgaatgtaag
```

[0026]

[0027] 일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 서열번호 2와 적어도 약 60% (예를 들어, 약 60%, 또는 약 61%, 또는 약 62%, 또는 약 63%, 또는 약 64%, 또는 약 65%, 또는 약 66%, 또는 약 67%, 또는 약 68%, 또는 약 69%, 또는 약 70%, 또는 약 71%, 또는 약 72%, 또는 약 73%, 또는 약 74%, 또는 약 75%, 또는 약 76%, 또는 약 77%, 또는 약 78%, 또는 약 79%, 또는 약 80%, 또는 약 81%, 또는 약 82%, 또는 약 83%, 또는 약 84%, 또는 약 85%, 또는 약 86%, 또는 약 87%, 또는 약 88%, 또는 약 89%, 또는 약 90%, 또는 약 91%, 또는 약 92%, 또는 약 93%, 또는 약 94%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%) 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0028] 일부 실시형태에서, 베타-락타마제, 예를 들어, P3A는 실질적인 세프트리아손 가수분해 활성을 가진다. 일부 실시 형태에서, 베타-락타마제, 예를 들어, P3A는 P1A보다 실질적으로 더 효율적으로 세프트리아손을 가수분해한다.

[0029] 예시적 실시형태에서, 베타-락타마제는 서열번호 1과 적어도 60% 서열 동일성 및 다음의 앰블러 분류를 갖는 아미노산 서열을 포함한다: 위치 232에서 알라닌(A) 이외의 소수성 잔기; 위치 237에서 알라닌(A) 이외의 친수성 잔기; 위치 238에서 알라닌(A) 이외의 소수성 잔기; 위치 240에서 세린(S) 이외의 친수성 잔기; 및 위치 276에서 아스파르트산염(D) 이외의 친수성 잔기. 일부 실시형태에서, 위치 232에서 알라닌(A) 이외의 소수성 잔기는 글리신(G)이다. 일부 실시형태에서, 위치 237에서 알라닌(A) 이외의 친수성 잔기는 세린(S)이다. 일부 실시형태에서, 위치 238에서 알라닌(A) 이외의 소수성 잔기는 글리신(G)이다. 일부 실시형태에서, 위치 240에서 세린(S) 이외의 친수성 잔기는 아스파르트산염(D)이다. 일부 실시형태에서, 위치 276에서 아스파르트산염(D) 이외의 아스파라긴(N)이다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제는 A232G, A237S, A238G, S240D 및 D276N 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제는 A232G, A237S, A238G, S240D 및 D276N 모두를 포함하며, 이의 서열은 서열번호 3, 즉, P4A이다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제 및/또는 억제학적 조성물은 서열번호 3과 적어도 90%, 또는 95%, 또는 97%, 또는 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0030] 서열번호 3

EMKDDFAKLEEQFDAKLGIFALDTGTNRVTVAIRPDERFAFASTIKALTVGVLLQKKSIEDLNQR
ITRDDLNVNYPITEKHVDGTGMLKELADASLRYSDNAQNLIKQIGGPESLKKELRKIGDEVT
NPERFEPELNEVNPGETQDTSTARALVTSLRAFALEDKLPSEKRELLIDWMKRNTTGDALIRA
GVPDGWEVGDKTGSGDYGTRNDIAIWPDPKGPVVLAVLSSRDKKDAKYDNKLI AEATKVVM
KALNMNGK

[0031]

[0032] 일부 실시형태에서, 본 발명의 베타-락타마제 폴리펩타이드는 서열번호 3과 적어도 약 60%(예를 들어, 약 60%, 또는 약 61%, 또는 약 62%, 또는 약 63%, 또는 약 64%, 또는 약 65%, 또는 약 66%, 또는 약 67%, 또는 약 68%, 또는 약 69%, 또는 약 70%, 또는 약 71%, 또는 약 72%, 또는 약 73%, 또는 약 74%, 또는 약 75%, 또는 약 76%, 또는 약 77%, 또는 약 78%, 또는 약 79%, 또는 약 80%, 또는 약 81%, 또는 약 82%, 또는 약 83%, 또는 약 84%, 또는 약 85%, 또는 약 86%, 또는 약 87%, 또는 약 88%, 또는 약 89%, 또는 약 90%, 또는 약 91%, 또는 약 92%, 또는 약 93%, 또는 약 94%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0033] 서열번호 4는 서열번호 3으로부터 유래되고, 추가로 QASKT 아미노산의 신호 및 첨가를 포함한다(암호 영역은 밑줄 표시되어 있다):

MIQKRKRTVSRFLVLMCTLLFVSLPITKTSQAQASKTEMKDDFAKLEEQFDAKLG
IFALDTGTNRVTVAIRPDERFAFASTIKALTVGVLLQKKSIEDLNQRITYTRDDL
VNYPITEKHVDGTGMLKELADASLRYSDNAQNLIKQIGGPESLKKELRKIGD
EVTNPERFEPELNEVNPGETQDTSTARALVTSLRAFALEDKLPSEKRELLIDW
MKRNTTGDALIRAGVPDGWEVGDKTGSGDYGTRNDIAIWPDPKGPVVLAVL
SSRDKKDAKYDNKLI AEATKVVMKALNMNGK

[0034]

[0035] 일부 실시형태에서, 본 발명의 베타-락타마제 폴리펩타이드는 서열번호 4와 적어도 약 60%(예를 들어, 약 60%, 또는 약 61%, 또는 약 62%, 또는 약 63%, 또는 약 64%, 또는 약 65%, 또는 약 66%, 또는 약 67%, 또는 약 68%, 또는 약 69%, 또는 약 70%, 또는 약 71%, 또는 약 72%, 또는 약 73%, 또는 약 74%, 또는 약 75%, 또는 약 76%, 또는 약 77%, 또는 약 78%, 또는 약 79%, 또는 약 80%, 또는 약 81%, 또는 약 82%, 또는 약 83%, 또는 약 84%, 또는 약 85%, 또는 약 86%, 또는 약 87%, 또는 약 88%, 또는 약 89%, 또는 약 90%, 또는 약 91%, 또는 약 92%, 또는 약 93%, 또는 약 94%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0036] 일부 실시형태에서, 베타-락타마제 및/또는 억제학적 조성물은 서열번호 4와 적어도 90%, 또는 95%, 또는 97%, 또는 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0037] 예시적인 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 서열번호 5인데, 이는 A232G, A237S, A238G, S240D 및 D276N 돌연변이체, Hind III 부위(AAGCTT-볼드체) 및 추가적인 K 및 T 아미노산의 전체 뉴클레오타이드 서열이다. 일부 실시 형태에서, 서열번호 5의 밑줄 부분은 생략된다. 리더 및 추가적인 뉴클레오타이드(Hind III 부위 및 K 및 T 아미노산- 아미노산 서열 QASKT의 첨가를 위해)는 밑줄 표시되어 있다.

atgattcaaaaaacgaaagcggacagtttcgttcagacttgcttatgtgacgcgtgtatttgcagtttgccg
attacaaaaacatcagcggcaagcctccaagacggagatgaaagatgatttgcataaaactgaggaaca
 atttgatgcaaaactcgggatctttgattggatacaggtacaaaccggacggtagcgtatcggccggatg
 agcgttttgcctttgcttcgacgattaaggcttaactgtaggcgtgctttgcaacagaaatcaatagaagatc
 tgaaccagagaataacatatacacgtgatgattgtaaaactacaaccgattacggaaaagcacggtga
 tacgggaatgacgtcctaaagagctgaggatgcttcgcttgatagtgacaatgacggcacagaatctc
 attctaacaacaaattggcggacctgaaagittgaaaaaggaactgaggaagattggtgatgaggttaca
 atcccgaacgattcgaaccagagtaaatgaagtgaatccgggtgaaactcaggataaccgtacagca
 agagcactgtcacaagccttcgagcctttgctcttgaagataaaactccaagtgaaaacgagcgttita
 atcgattggatgaaacgaaatacactggagacgccttaacggtgacggtgacggtgacggtggaa
 gtgggtgataaaactggaagcggagattatggaacccggaatgacattgcatattggccgcaaaa
 ggagatcctgctgtcttcgagcattatccagcaggataaaaaggacgccaagtatgataataaactatt
 gcagaggcaacaaggtggaatgaaagccttaaacatgaacggcaataa

[0038]

[0039]

일부 실시형태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 서열번호 5(밑줄 부분이 있거나 또는 없음)와 적어도 약 60% (예를 들어, 약 60%, 또는 약 61%, 또는 약 62%, 또는 약 63%, 또는 약 64%, 또는 약 65%, 또는 약 66%, 또는 약 67%, 또는 약 68%, 또는 약 69%, 또는 약 70%, 또는 약 71%, 또는 약 72%, 또는 약 73%, 또는 약 74%, 또는 약 75%, 또는 약 76%, 또는 약 77%, 또는 약 78%, 또는 약 79%, 또는 약 80%, 또는 약 81%, 또는 약 82%, 또는 약 83%, 또는 약 84%, 또는 약 85%, 또는 약 86%, 또는 약 87%, 또는 약 88%, 또는 약 89%, 또는 약 90%, 또는 약 91%, 또는 약 92%, 또는 약 93%, 또는 약 94%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%) 서열 동일성을 가진다.

[0040]

다양한 양상에서, 베타-락타마제 폴리펩타이드는 서열번호 6의 서열(즉, P2A)을 가지거나 또는 서열번호 6의 하나 이상의 돌연변이에 의해 유래된다:

ETGTISISQLNKNVWVHTELGYFNGEAVPSNGLVNLNTSKGLVLDSSWDNK
 LTKELIEMVEKKFKQKRVTDVIIITHAHADRIGGITALKERGIKAHSTALTAELAK
 NSGYEEPLGDLQTITSLKFGNTKVETFPYKGGHTEDNIVVWLPQYQILAGG
 CLVKSAAEKDLGNVADAYVNEWSTSIENVLKRYGNINSVVPGHGEVGDKG
 LLLHTLDLLK.

[0041]

[0042]

일부 실시형태에서, 본 발명의 베타-락타마제 폴리펩타이드는 서열번호 6과 적어도 약 60%(예를 들어, 약 60%, 또는 약 61%, 또는 약 62%, 또는 약 63%, 또는 약 64%, 또는 약 65%, 또는 약 66%, 또는 약 67%, 또는 약 68%, 또는 약 69%, 또는 약 70%, 또는 약 71%, 또는 약 72%, 또는 약 73%, 또는 약 74%, 또는 약 75%, 또는 약 76%, 또는 약 77%, 또는 약 78%, 또는 약 79%, 또는 약 80%, 또는 약 81%, 또는 약 82%, 또는 약 83%, 또는 약 84%, 또는 약 85%, 또는 약 86%, 또는 약 87%, 또는 약 88%, 또는 약 89%, 또는 약 90%, 또는 약 91%, 또는 약 92%, 또는 약 93%, 또는 약 94%, 또는 약 95%, 또는 약 96%, 또는 약 97%, 또는 약 98%, 또는 약 99%) 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0043]

일부 실시형태에서, 베타-락타마제 및/또는 약제학적 조성물은 서열번호 6과 적어도 90%, 또는 95%, 또는 97%, 또는 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0044]

P1A(즉, 위치 276이 D이고, N이 아닌 것을 제외한 서열번호 1), P2A, P3A, 및 P4A를 포함하는 베타-락타마제의 추가적인 서열 및 이들의 유도체는, 예를 들어, WO 2011/148041 및 PCT/US2015/026457에 기재되어 있으며, 이의 전문은 본 명세서에 전문이 참고로 포함된다.

[0045]

추가로, 베타-락타마제 폴리펩타이드는 서열번호 1의 첫 번째 잔기로부터 추가적인 상류의 잔기를 포함할 수 있다(예를 들어, JBC 258 (18): 11211, 1983, 이의 전문은 penP 및 penP1의 외부-거대 및 외부-소형 형태를 포함하여 본 명세서에 참고로 포함됨). 추가로, 베타-락타마제 폴리펩타이드는 또한 서열번호 1의 마지막 잔기로부터 추가적인 하류의 잔기를 포함할 수 있다.

[0046]

일부 실시형태에서, 베타-락타마제는 서열번호 1 또는 서열번호 2에 대해 하나 이상의(예를 들어, 약 1, 또는

약 2, 또는 약 3, 또는 약 4, 또는 약 5, 또는 약 6, 또는 약 7, 또는 약 8, 또는 약 9, 또는 약 10개의) 돌연변이를 포함한다. 일부 실시형태에서 베타-락타마제는 P3A의 변이체, 예를 들어, 서열번호 1 또는 서열번호 2에 대해 적어도 95, 96, 97, 98, 99, 99.5, 99.8, 99.9% 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 다양한 실시형태에서, 서열번호 1의 하나 이상의 아미노산은 천연 유래 아미노산, 예컨대 친수성 아미노산(예를 들어, 극성 및 양으로 하전된 친수성 아미노산, 예컨대 아르기닌(R) 또는 라이신(K); 극성 및 중성 전하 친수성 아미노산, 예컨대 아스파라긴(N), 글루타민 (Q), 세린(S), 트레오닌(T), 프롤린(P) 및 시스테인(C), 극성 및 음으로 하전된 친수성 아미노산, 예컨대 아스파르트산염(D) 또는 글루탐산염(E), 또는 방향족의, 극성 및 양으로 하전된 친수성 아미노산, 예컨대 히스티딘(H)) 또는 소수성 아미노산(예를 들어, 소수성, 지방족 아미노산, 예컨대 글리신(G), 알라닌(A), 류신(L), 아이소류신(I), 메티오닌(M) 또는 발린(V), 소수성, 방향족 아미노산, 예컨대 페닐알라닌(F), 트립토판(W), 또는 티로신(Y) 또는 비-분류 아미노산(예를 들어, 셀레노시스테인, 파이로라이신, N-폼일메티오닌 β-알라닌, GABA 및 δ-아미노레볼린산. 4-아미노벤조산(PABA), 통상적인 아미노산의 D-이성질체, 2,4-다이아미노뷰티르산, α-아미노 아이소뷰티르산, 4-아미노뷰티르산, Abu, 2-아미노 뷰티르산, γ-Abu, ε-Ahx, 6-아미노 헥산산, Aib, 2-아미노 아이소뷰티르산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르류신, 노르발린, 하이드록시 프롤린, 사르코스메, 시트룰린, 호모시트룰린, 시스테인, t-뷰틸글리신, t-뷰틸알라닌, 페닐글리신, 사이클로헥실알라닌, β-알라닌, 플루오로-아미노산, 디자이너 아미노산, 예컨대 β 메틸 아미노산, C α -메틸 아미노산, N α-메틸 아미노산, 및 일반적으로 아미노산 유사체)으로 치환된다. 일부 실시형태에서, 서열번호 1은 서열의 첫 번째 잔기에 앞서는 Met 및/또는 Thr을 가질 수 있다. 이들 잔기는 상기와 유사하게 돌연변이될 수 있다.

[0047] 예시적인 돌연변이체는 하기를 포함한다:

P1A에 대한 돌연변이 (앰블러 분류에 기반함)	명칭
야생형	RS310 (또는 P1A)
D276N	IS118 (또는 P3A)
I72S	IS222
T160F	IS203
R244T	IS217
R244T D276K	IS215
Q135M	IS197
G156R A238T	IS235
F33Y D276N	IS158
F33Y S240P D276N	IS230 (또는 IS181)
F33Y A238T D276N	IS232 (또는 IS180)
I72S Q135M T160F (블록 1 돌연변이체)	IS227
A232G A237S A238G S240D (블록 2 돌연변이체)	IS191
A232G A237S A238G S240D R244T	IS229
A232G A237S A238G S240D D276R	IS219
A232G A237S A238G S240D D276K	IS221
A232G A237S A238G S240D Q135M	IS224
A238T	IS233
T243I S266N D276N	IS234 (또는 IS176)
A232G A237S A238G S240D D276N	IS288 (또는 P4A)

[0048]

[0049] 모든 이들 돌연변이체에서, 잔기의 넘버링은 서열번호 1에 대응한다. 이들 잔기 번호는 임의의 통상적인 생물정보학적 방법의 사용을 통해, 예를 들어 BLAST(기본적 국소 정렬 검색 도구(Basic Local Alignment Search Tools)) 또는 FASTA(FAST-AII)를 이용함으로써 앰블러 수로 전환될 수 있다(문헌[Ambler *et al.*, 1991, A standard numbering scheme for the Class A β-lactamases, *Biochem. J.* 276:269-272], 이의 전문은 본 명세서에 참고로 포함됨).

[0050] 다양한 실시형태에서, 본 발명에서 사용되는 베타-락타마제는 이콜라이(*E. coli*) 세포와 같은 박테리아 세포에

서 생성된다(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함되는 PCT/US15/47187 참조).

[0051] 변형 방출 프로파일

[0052] 일 양상에서, 본 발명은 적어도 하나의 베타-락타마제를 포함하는 변형 방출 제형을 제공하되, 제형은 GI 관의 하나 이상의 영역 내로 실질적인 양의 베타-락타마제를 방출한다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제는 P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제, 및 이들의 변이체(예를 들어, 상기 기재한 바와 같음)이다. 예를 들어, 제형은 위 다음에 그리고 GI 관의 하나 이상의 영역 내로 적어도 약 60%의 베타-락타마제, 예를 들어, P3A를 방출할 수 있다.

[0053] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형-방출 제형은 즉시 방출(예를 들어, 섭취 시)용으로 설계된다. 다양한 실시형태에서, 변형-방출 제형은 장기간의 시간에 걸쳐 신체(예를 들어, GI 관) 내 활성 성분(들)의 지속 방출 프로파일, 즉, 서방출을 가질 수 있다. 다양한 실시형태에서, 변형-방출 제형은, 오히려 조성물이 위장관에서 하부에 있을 때까지 활성 성분(들) 방출의 지연은; 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상) 또는 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분 및 직장 중 하나 이상)에서 방출을 위해, 지연 방출 프로파일을 가질 수 있고, 즉, 섭취 시 활성 성분(들)을 즉시 방출하지 않는다. 예를 들어, 조성물은 소장 또는 대장에 도달될 때까지 활성 성분(들)의 방출을 지연시키기 위해 장용 코팅될 수 있다. 일부 실시형태에서, 대변 중에서 본 제형의 활성 성분(들)의 실질적인 양은 없다.

[0054] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형 방출 제형은 위 다음에 장의 하나 이상의 영역 내로 적어도 60%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제 및 이들의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형-방출 제형은 장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다.

[0055] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형-방출 제형은 소장에서 적어도 60%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형-방출 제형은 소장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다.

[0056] 일 실시형태에서, 본 발명의 변형-방출 제형은 십이지장에서 적어도 60%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형-방출 제형은 십이지장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다.

[0057] 일 실시형태에서, 본 발명의 변형-방출 제형은 공장에서 적어도 60%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형-방출 제형은 공장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다.

마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다.

[0064] 일 실시형태에서, 본 발명의 변형-방출 제형은 S상 결장에서 적어도 60%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 변형-방출 제형은 S상 결장에서 적어도 60%, 적어도 61%, 적어도 62%, 적어도 63%, 적어도 64%, 적어도 65%, 적어도 66%, 적어도 67%, 적어도 68%, 적어도 69%, 적어도 70%, 적어도 71%, 적어도 72%, 적어도 73%, 적어도 74%, 적어도 75%, 적어도 76%, 적어도 77%, 적어도 78%, 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다.

[0065] 다양한 실시형태에서, 변형-방출 제형은 위에서 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 실질적으로 방출하지 않는다.

[0066] 특정 실시형태에서, 변형-방출 제형은 특정 pH에서 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 산성 환경에서 실질적으로 안정하고, 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 실질적으로 불안정하다(예를 들어, 빠르게 용해하거나 또는 물리적으로 불안정하다). 일부 실시형태에서, 안정성은 실질적으로 방출되지 않음을 나타내는 반면, 불안정성은 실질적으로 방출됨을 나타낸다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 pH 약 7.0 이하, 또는 약 6.5 이하, 또는 약 6.0 이하, 또는 약 5.5 이하, 또는 약 5.0 이하, 또는 약 4.5 이하, 또는 약 4.0 이하, 또는 약 3.5 이하, 또는 약 3.0 이하, 또는 약 2.5 이하, 또는 약 2.0 이하, 또는 약 1.5 이하, 또는 약 1.0 이하에서 실질적으로 안정하다. 일부 실시형태에서, 본 제형은 더 낮은 pH 영역에서 안정하고, 따라서, 예를 들어, 위에서 실질적으로 방출되지 않는다. 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 약 1 내지 약 4 또는 더 낮은 pH에서 실질적으로 안정하고, 더 큰 pH 값에서 실질적으로 불안정하다. 이들 실시형태에서, 변형-방출 제형은 위에서 실질적으로 방출되지 않는다. 이들 실시형태에서, 변형-방출 제형은 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상) 및/또는 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장, 및 S상 결장 중 하나 이상)에서 실질적으로 방출된다. 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 pH 약 4 내지 약 5 또는 그 이하에서 실질적으로 안정하고, 결과적으로 더 큰 pH 값에서 실질적으로 불안정하며, 따라서 위 및/또는 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상)에서 실질적으로 방출되지 않는다. 이들 실시형태에서, 변형-방출 제형은 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장 및 S상 결장 중 하나 이상)에서 실질적으로 방출된다. 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 인용된 pH 값은, 예를 들어, 음식 상태이든 식후 상태이든 대상체의 상태를 설명하기 위해 당업계에서 공지된 바와 같이 조절될 수 있다.

[0067] 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 위액에서 실질적으로 안정하고, 장액에서 실질적으로 불안정하며, 따라서 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상) 및/또는 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장 및 S상 결장 중 하나 이상)에서 실질적으로 방출된다.

[0068] 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 위액에서 안정하고, 산성 환경에서 안정하다. 이들 변형-방출 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 4 내지 약 5 이하인 위액, 또는 pH가 약 4 내지 약 5 이하인 인공 위액 중에서 변형-방출 제형 중의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 약 30중량% 이하를 방출한다. 본 발명의 변형 방출 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 4 내지 5 이하인 위액 또는 pH가 4 내지 5 이하인 인공 위액 중의 변형-방출 제형에서 약 0중량% 내지 약 30중량%, 약 0중량% 내지 약 25중량%, 약 0중량% 내지 약 20중량%, 약 0중량% 내지 약 15중량%, 약 0중량% 내지 약 10중량%, 약 5중량% 내지 약 30중량%, 약 5중량% 내지 약 25중량%, 약 5중량% 내지 약 20중량%, 약 5중량% 내지 약 15중량%, 약 5중량% 내지 약 10중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 방출할 수 있다. 본 발명의 변형-방출 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 5 이하인 위액, 또는 pH가 5 이하인 인공 위액 중의 변형-방출 제형에서 약 1중량%, 약 2중량%, 약 3중량%, 약 4중량%, 약 5중량%, 약 6중량%, 약 7중량%, 약 8중량%, 약 9중량%, 또는 약 10중량%의 총 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 방출할 수 있다.

[0069] 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 장액 중에서 불안정하다. 이들 변형-방출 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 장액 또는 인공 장액 중의 변형-방출 제형에서 베타-락타마제(예를

들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 약 70중량% 이상을 방출한다. 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 불안정하다. 이들 변형-방출 제형은 약 15, 또는 약 30, 또는 약 45, 또는 약 60, 또는 약 90분에 pH가 약 4 내지 5 이상인 장액 또는 pH가 약 4 내지 5 이상인 인공 장액 중의 변형-방출 제형에서 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 약 70중량% 이상을 방출한다. 거의 중성 또는 알칼리성 환경에서 불안정한 변형-방출 제형은 약 5분 내지 약 90분, 또는 약 10분 내지 약 90분, 또는 약 15분 내지 약 90분, 또는 약 20분 내지 약 90분, 또는 약 25분 내지 약 90분, 또는 약 30분 내지 약 90분, 또는 약 5분 내지 약 60분, 또는 약 10분 내지 약 60분, 또는 약 15분 내지 약 60분, 또는 약 20분 내지 약 60분, 또는 약 25분 내지 약 90분, 또는 약 30분 내지 약 60분에 pH가 약 5 초과인 유체(예를 들어, pH가 약 5 내지 약 14, 약 6 내지 약 14, 약 7 내지 약 14, 약 8 내지 약 14, 약 9 내지 약 14, 약 10 내지 약 14, 또는 약 11 내지 약 14임) 중의 변형-방출 제형에서 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 70중량% 이상을 방출할 수 있다.

[0070] 인공 위액 및 인공 장액의 예는 2005 약전 23NF/28USP 2858페이지 시험 용액 중에 및/또는 당업자에게 공지된 다른 인공 위액 및 인공 장액, 예를 들어, 효소 없이 제조한 인공 위액 및/또는 장액에 개시된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0071] 일 실시형태에서, 변형-방출 제형은 본질적으로 무손상으로 남아있을 수 있거나, 또는 위액에서 본질적으로 불용성일 수 있다. 변형-방출 제형은 pH 의존적인 하나 이상의 지연-방출 코팅을 포함할 수 있다. pH 의존적인 지연 방출 코팅은 산성 환경(pH가 약 5 이하)에서 실질적으로 안정하고, 거의 중성 내지 알칼리성 환경(pH가 약 5 초과)에서 실질적으로 불안정하다. 예를 들어, 지연-방출 코팅은 소장(예를 들어, 십이지장, 공장 및 회장 중 하나 이상) 및/또는 대장(예를 들어, 맹장, 상행 결장, 횡행 결장, 하행 결장 및 S상 결장 중 하나 이상)에서 발견되는 것과 같이 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 본질적으로 붕괴되거나 또는 용해될 수 있다.

[0072] 대안적으로, 변형-방출 제형의 안정성은 효소-의존적일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 변형-방출 제형은 효소-의존적인 하나 이상의 지연-방출 코팅을 포함할 수 있다. 효소-의존적인 지연 방출 코팅은 특정 효소를 함유하지 않는 유체에서 실질적으로 안정하고, 효소를 함유하는 유체에서 실질적으로 불안정할 것이다. 지연-방출 코팅은 적절한 효소를 함유하는 유체 중에서 본질적으로 붕괴되거나 또는 용해될 것이다. 효소-의존적 제어는, 예를 들어, 갈락토만난과 같은 장 내 효소에 대한 노출 시에만 활성 성분을 방출하는 물질을 이용함으로써 초래될 수 있다. 또한, 변형-방출 제형의 안정성은 장내세균총에 존재하는 미생물 효소의 존재 하의 효소 안정성에 의존적일 수 있다.

[0073] 다양한 실시형태에서, 베타-락타마제(예를 들어, P3A, 또는 이의 변이체)를 포함하는 변형-방출 제형은 유미즙에서 실질적으로 안정하다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 투여로부터 약 10, 또는 9, 또는 8, 또는 7, 또는 6, 또는 5, 또는 4, 또는 3, 또는 2, 또는 1시간에 베타-락타마제 활성의 약 50% 또는 약 40%, 또는 약 30%, 또는 약 20%, 또는 약 10% 미만의 상실이 있다.

[0074] 일부 실시형태에서, 이중 펄스 제형이 제공된다. 다양한 실시형태에서, 본 발명은 장을 따라서 상이한 위치에서, 상이한 시간에 및/또는 상이한 pH에서 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 다회 용량을 방출하는 변형-방출 제형을 제공한다. 예시적 실시형태에서, 변형-방출 제형은 제1 용량의 베타-락타마제 및 제2 용량의 베타-락타마제를 포함하되, 제1 용량 및 제2 용량은 장을 따라서 상이한 위치에서, 상이한 시간에 및/또는 상이한 pH에서 방출된다. 예를 들어, 제1 용량은 십이지장에서 방출되고, 제2 용량은 회장에서 방출된다. 다른 예에서, 제1 용량은 공장에서 방출되고, 제2 용량은 회장에서 방출된다. 다른 실시형태에서, 제1 용량은 소장(예를 들어, 십이지장)을 따라가는 위치에서 방출되는 반면, 제2 용량은 대장(예를 들어, 상행 결장)을 따라서 방출된다. 다양한 실시형태에서, 변형-방출 제형은 장을 따라서 상이한 위치에서, 상이한 시간에 및/또는 상이한 pH에서 적어도 1 용량, 적어도 2 용량, 적어도 3 용량, 적어도 4 용량, 적어도 5 용량, 적어도 6 용량, 적어도 7 용량 또는 적어도 8용량의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출할 수 있다. 추가로, 본 명세서의 이중 펄스 설명은 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및 추가적인 치료제를 방출하는 변형-방출 제형에 적용한다.

[0075] 변형 방출 제형 및 제형

[0076] 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 변형-

방출 제형은 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 추가로 포함할 수 있다. 당업자는 본 제형이 목적으로 하는 용도 및 투여 경로에 적절한 임의의 적합한 형태일 수 있다는 것을 인식할 것이다.

- [0077] 일부 실시형태에서, 베타-락타마제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 변형-방출 제형의 투여는 경구, 정맥 내 및 비경구 중 임의의 하나이다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형의 투여는, 예를 들어, 전신으로 투여된 항생제에 의한 개입을 방지하기 위해 정맥내가 아니다. 다른 실시형태에서, 투여 경로, 예를 들어: 경구, 진피내, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외, 설하, 비강내, 대뇌내, 질내, 경피, 직장내, 흡입에 의해 또는 국소로, 특히 귀, 코, 눈 또는 피부를 포함한다.
- [0078] 본 명세서에 기재한 바와 같은 베타-락타마제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 변형-방출 제형은 경구로 투여될 수 있다. 이러한 본 발명의 제형은 또한 임의의 다른 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 정맥내 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막 내벽(예를 들어, 경구 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 추가적인 치료제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신 또는 국소일 수 있다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 감염 부위에서 항생제의 가수분해를 피하기 위해 감염 부위에서 투여되지 않는다. 다양한 전달 시스템, 예를 들어 리포솜 내 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 캡슐 등이 공지되어 있고, 투여를 위해 사용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 치료가 필요한 면적에 국소적으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0079] 경구 사용을 위한 적합한 투여형은, 예를 들어, 고체 투여형, 예컨대 정제, 분산성 분말, 과립 및 캡슐을 포함한다. 일 실시형태에서, 변형-방출 제형은 캡슐 형태이다. 다른 실시형태에서, 변형-방출 제형은 정제 형태이다. 또 다른 실시형태에서, 변형-방출 제형은 연질-젤 캡슐의 형태이다. 추가 실시형태에서, 변형-방출 제형은 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐의 형태이다.
- [0080] 일부 투여형에서, 본 명세서에 기재된 제제는 적어도 하나의 비활성, 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체, 예컨대 시트르산나트륨, 인산이칼슘 등, 및/또는 a) 충전제 또는 증량제, 예컨대 전분, 락토스, 수크로스, 글루코스, 만니톨, 규산, 미정질 셀룰로스, 및 베이커스 스페셜 당(Bakers Special Sugar) 등., b) 결합제, 예컨대, 카복시메틸셀룰로스, 알긴산염, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈, 수크로스, 아카시아, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로스, 하이드록시프로필 셀룰로스(HPC), 및 하이드록시메틸 셀룰로스 등, c) 습윤제, 예컨대 글리세롤 등, d) 붕해제, 예컨대 한천-한천, 탄산칼슘, 감자 또는 타피오카 전분, 알긴산, 특정 규산염, 탄산나트륨, 가교 중합체, 예컨대 크로스포비돈(가교된 폴리비닐피롤리돈), 크로스카멜로스 나트륨(가교된 카복시메틸셀룰로스나트륨), 글리콜산나트륨 전분 등, e) 용액 완연제, 예컨대 파라핀 등, f) 흡수 촉진제, 예컨대 4차 암모늄 화합물 등, g) 습윤제, 예를 들어, 세틸 알코올 및 글리세롤 모노스테아레이트 등, h) 흡수제, 예컨대 카올린 및 벤토나이트 점토 등, 및 i) 윤활제, 예컨대 탈크, 스테아르산칼슘, 스테아르산마그네슘, 고체 폴리에틸렌 글리콜, 라우릴황산나트륨, 글리세릴베헤네이트 등, 및 이러한 부형제의 혼합물과 혼합된다. 당업자는 특정 부형제가 경구 투여형에서 2 이상의 기능을 가질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 경구 투여형의 경우에, 예를 들어, 캡슐 또는 정제, 투여형은 또한 완충제를 포함할 수 있다.
- [0081] 변형 방출 제형은 추가적으로 표면 활성제를 포함할 수 있다. 본 발명에서 사용하는 데 적합한 표면 활성제는 임의의 약제학적으로 허용 가능한, 비독성 계면활성제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명의 조성물에서 적합한 계면활성제의 부류는 폴리옥실화 지방산, PEG-지방산 다이에스터, PEG-지방산 모노- 및 다이-에스터 혼합물, 폴리에틸렌 글리콜 글리세롤 지방산 에스터, 알코올-오일 에스터 교환 생성물, 폴리글리세르화 지방산, 프로필렌 글리콜 지방산 에스터, 프로필렌 글리콜 에스터-글리세롤 에스터, 모노- 및 다이글리세라이드의 혼합물, 스테롤 및 스테롤 유도체, 폴리에틸렌 글리콜 솔비탄 지방산 에스터, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 에터, 당 에스터, 폴리에틸렌 글리콜 알킬 페놀, 폴리옥시에틸렌-오일옥시프로필렌 블록 공중합체, 솔비탄 지방산 에스터, 저급 알코올 지방산 에스터, 이온성 계면활성제, 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 라우릴황산나트륨, 폴리솔베이트 20, 폴리솔베이트 40, 폴리솔베이트 60, 폴리솔베이트 80 및 트라이에틸시트레이트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 1종 이상의 계면활성제를 포함할 수 있다.
- [0082] 변형-방출 제형은 또한 목적으로 하는 기계적 특성, 예컨대 가요성 및 경도를 얻기 위해 약제학적으로 허용 가능한 가소제를 함유할 수 있다. 이러한 가소제는 트리아세틴, 시트르산 에스터, 트라이에틸시트레이트, 프탈산 에스터, 다이부틸 세바케이트, 세틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리솔베이트 또는 다른 가소제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0083] 변형-방출 제형은 또한 1종 이상의 적용 용매를 포함할 수 있다. 예를 들어, 지연-방출 코팅 조성물을 적용하기 위해 사용될 수 있는 일부 더 통상적인 용매는 아이소프로필 알코올, 아세톤, 염화메틸렌 등을 포함한다.

- [0084] 변형-방출 제형은 또한 1종 이상의 알칼리성 물질을 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물에서 사용하기에 적합한 알칼리성 물질은 인산, 탄산, 시트르산과 같은 산의 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 및 알루미늄염 및 기타 알루미늄/마그네슘 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가로, 알칼리성 물질은 제산제 물질, 예컨대 수산화알루미늄, 수산화칼슘, 수산화마그네슘 및 산화마그네슘으로부터 선택될 수 있다.
- [0085] 고체 경구 투여형은, 예를 들어 1종 이상의 적합한 부형제와 함께 본 발명의 제제의 과립(예를 들어, 습식 또는 건식 과립)에 의해 제조될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 제제는 통상적인 방법, 예컨대 유동층 또는 팬 코팅을 이용하여 비활성 코어(예를 들어, 니파레일(nonpareil)/당 구체, 예컨대 수크로스 구체 또는 실리카 구체) 상에 층상화될 수 있거나, 또는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 활성 화합물-함유 펠렛으로 성형되고 과립화될 수 있다. 실시형태에서, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 수크로스 구체 상에 분무 코팅된다. 이어서, 이러한 펠렛은 통상적인 방법을 이용하여 정제 또는 캡슐에 혼입될 수 있다.
- [0086] 활성제에 추가로 현탁액은 현탁제, 예를 들어, 에톡실화된 아이소스테아릴 알코올, 폴리옥시에틸렌 솔비톨 및 솔비탄 에스터, 미정질 셀룰로스, 알루미늄 메타하이드록사이드, 벤토나이트, 한천-한천, 트래거캔스 등 및 이들의 혼합물을 함유할 수 있다.
- [0087] 비활성 희석제에 비해, 경구 조성물은 또한 감미제, 향미제 및 방향제와 같은 보조제를 포함할 수 있다.
- [0088] 비경구 투여(예를 들어, 정맥내, 근육내, 복강내, 피하 및 관절내 주사 및 주입)에 적합한 제형은, 예를 들어, 용액, 현탁액, 분산물, 에멀전 등을 포함한다. 그들은 또한 사용 직전에 멸균 주사용 매질 중에서 용해 또는 현탁될 수 있는 멸균 고체 조성물(예를 들어, 동결건조 조성물)의 형태로 제조될 수 있다. 그들은, 예를 들어, 당업계에 공지된 현탁제 또는 분산제를 함유할 수 있다.
- [0089] 베타-락타마제(및/또는 추가적인 치료제)를 포함하는 제형은 단위 투여형으로 편리하게 제공될 수 있고, 약학 분야에 잘 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방법은 일반적으로 치료제를 담체와 회합시키는 단계를 포함하는데, 이는 1종 이상의 부속 성분을 구성한다. 전형적으로, 제형은 액체 담체, 미세하게 분할된 고체 담체, 또는 둘 다와 균일하게 그리고 직접적으로 회합되게 하고, 이어서, 필요하다면, 목적으로 하는 제형의 투여형으로 생성물을 성형함으로써(예를 들어, 습식 또는 건식 과립, 분말 배합물 등, 다음에 당업계에 공지된 통상적인 방법을 이용하여 정제화) 제조된다.
- [0090] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 변형-방출 제형은 GI 관에 선택적으로 다른 추가적인 치료제와 함께 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 효과적이고, 또한 지연된 실질적인 전달을 제공하기 위한 하나 이상의 변형-방출 코팅, 예컨대 지연-방출 코팅을 이용할 수 있다.
- [0091] 일 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 산성 환경에서 실질적으로 안정하고 거의 중성 내지 알칼리성 환경에서 실질적으로 불안정한 장용 제제를 포함한다. 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 위액에서 실질적으로 안정한 장용 제제를 함유한다. 장용 제제는, 예를 들어, 메타크릴산 공중합체, 셀룰로스 아세테이트 프탈레이트, 하이드록시프로필메틸 셀룰로스 프탈레이트, 폴리비닐 아세테이트 프탈레이트, 카복시메틸에틸셀룰로스 및 유드라짓(EUDRAGIT)(등록상표)-유형 중합체(폴리(메타크릴산, 메틸메타크릴레이트), 하이드록시프로필 메틸셀룰로스 아세테이트 숙시네이트, 셀룰로스 아세테이트 트라이멜리테이트, 셀락 또는 기타 적합한 장용 코팅 중합체의 용액 또는 분산물로부터 선택될 수 있다. 유드라짓(등록상표)-유형 중합체는, 예를 들어, 유드라짓(등록상표) FS 30D, L 30 D-55, L 100-55, L 100, L 12,5, L 12,5 P, RL 30 D, RL PO, RL 100, RL 12,5, RS 30 D, RS PO, RS 100, RS 12,5, NE 30 D, NE 40 D, NM 30 D, S 100, S 12,5, 및 S 12,5 P를 포함한다. 유사한 중합체는 콜리코트(Kollicoat)(등록상표) MAE 30 DP 및 콜리코트(등록상표) MAE 100 P를 포함한다. 일부 실시형태에서, 유드라짓(등록상표) FS 30D, L 30 D-55, L 100-55, L 100, L 12,5, L 12,5 P RL 30 D, RL PO, RL 100, RL 12,5, RS 30 D, RS PO, RS 100, RS 12,5, NE 30 D, NE 40 D, NM 30 D, S 100, S 12,5 S 12,5 P, 콜리코트(등록상표) MAE 30 DP 및 콜리코트(등록상표) MAE 100 P 중 하나 이상이 사용된다. 다양한 실시형태에서, 장용 제제는 앞서 언급한 용액 또는 분산물의 조합물일 수 있다. 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 장용 제제 유드라짓(등록상표) L 30 D-55를 포함한다.
- [0092] 특정 실시형태에서, 1종 이상의 코팅 시스템 첨가제는 장용 제제와 함께 사용된다. 예를 들어, 1종 이상의 플라스아크릴(PlasACRYL)(상표명) 첨가제는 부착방지제 코팅 첨가제로서 사용될 수 있다. 예시적인 플라스아크릴(상표명) 첨가제는 플라스아크릴(상표명) HTP20 및 플라스아크릴(상표명) T20을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는

다. 실시형태에서, 플라스아크릴(상표명) HTP20은 유드라짓(등록상표) L 30 D-55 코팅과 함께 제형화된다. 다른 실시형태에서, 플라스아크릴(상표명) T20은 유드라짓(등록상표) FS 30 D 코팅과 함께 제형화된다.

[0093] 다른 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 pH 및/또는 용액 중의 효소 존재와 상관없이 수용액 중에 있을 때 시간의 함수로서 분해될 수 있다. 이러한 코팅은 수 불용성 중합체를 포함할 수 있다. 따라서 수용액 중에서 그의 용해도는 pH와 독립적이다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "pH 독립적"은 중합체의 물 투과성 및 약제학적 성분을 방출하는 그의 능력이 pH의 함수가 아니고/아니거나 pH에 대해 단지 매우 약간 의존적이라는 것을 의미한다. 이러한 코팅은, 예를 들어, 지속 방출 제형을 제조하기 위해 사용될 수 있다. 적합한 수 불용성 중합체는 용액의 pH와 독립적으로 수성 매질, 예를 들어, 물 중에서 실질적으로 불용성인 약제학적으로 허용 가능한 비독성 중합체를 포함한다. 적합한 중합체는 셀룰로스 에터, 셀룰로스 에스터 또는 셀룰로스 에터-에스터, 즉, 셀룰로스 골격 상의 하이드록실기 중 일부는 알킬기로 치환되고, 일부는 알칸오일기로 변형되는 셀룰로스 유도체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예는 에틸 셀룰로스, 아세틸 셀룰로스, 나이트로셀룰로스 등을 포함한다. 불용성 중합체의 다른 예는 래커 및 아크릴 및/또는 메타크릴 에스터 중합체, 저급 4차 암모늄 함량을 갖는 아크릴레이트 또는 메타크릴레이트의 중합체 또는 공중합체, 또는 이들의 혼합물 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 불용성 중합체의 다른 예는 유드라짓 RS(등록상표), 유드라짓 RL(등록상표) 및 유드라짓 NE(등록상표)를 포함한다. 본 발명에서 유용한 불용성 중합체는 폴리비닐 에스터, 폴리비닐 아세탈, 폴리아크릴산 에스터, 뷰타다이엔 스타이렌 공중합체 등을 포함한다. 일 실시형태에서, 결장 전달은 서서히 부식하는 왁스 플러그(예를 들어, 다양한 PEGs, 예를 들어, PEG6000을 포함함)의 사용에 의해 달성된다.

[0094] 추가 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 장내세균층에 존재하는 미생물 효소에 의해 분해될 수 있다. 일 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 소장 내에 존재하는 박테리아에 의해 분해될 수 있다. 다른 실시형태에서, 지연-방출 코팅은 대장 내에 존재하는 박테리아에 의해 분해될 수 있다.

[0095] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 1종 이상의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체), 및 코팅된 코어 입자 위로 배치된 지연-방출 코팅을 포함하는 베이스 코트를 갖는 코어 입자를 포함하는 제형을 제공한다. 지연-방출 코팅은 산성 환경 및/또는 위액에서 실질적으로 안정하고/하거나 거의 중성 내지 알칼리성 환경 또는 장액에서 실질적으로 불안정하여 코팅된 코어 입자를 장액에 노출시킬 수 있다. 하나 이상의 베타-락타마제를 포함하는 베이스 코트는 1종 이상의 추가적인 치료제를 포함할 수 있다. 선택적으로 복수의 베이스 코트는 베타-락타마제 및/또는 추가적인 치료제를 함유할 수 있는 각각의 코어에 적용될 수 있다. 실시형태에서, 코어 입자는 수크로스를 포함한다. 제형은 당업계에 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 비활성 코어(예를 들어, 수크로스 코어 또는 수크로스 구체) 상에 분무될 수 있고, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)-함유 펠렛을 형성하기 위해 장용층(예를 들어, 유드라짓 L30 D-55)과 함께 분무건조된다.

[0096] 선택적으로, 코어 입자는 1종 이상의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 1종 이상의 추가적인 치료제를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 1 이상의 용량의 베타-락타마제는 코어 입자에서, 예를 들어, 마이크로스피어의 형태로 캡슐화될 수 있다. 예를 들어, 베타-락타마제는 중합체(예를 들어, 라텍스)와 조합될 수 있고, 이어서, 수크로스 코어를 이용하지 않고 미립자, 마이크로-캡슐화된 효소 제제로 형성된다. 이렇게 형성된 마이크로스피어는 선택적으로 지연-방출 코팅으로 뒤덮일 수 있다.

[0097] 효소를 봉입할 수 있는 미립자(예컨대, 마이크로스피어, 응집물, 기타)를 생성하기 위한 다양한 접근은 공지되어 있다. 그들은 전형적으로 적어도 2개의 상을 수반하는데, 하나는 효소를 함유하고, 하나는 미립자의 골격을 형성하는 중합체를 함유한다. 제3 성분의 첨가에 의해 중합체가 그의 용매 상으로부터 분리되는 코아세르베이션, 또는 내부 수성상이 단백질을 함유하고, 중간 유기상이 중합체를 함유하며, 외부 수성상이 마이크로스피어를 형성하기 위해 용매가 제거될 수 있을 때까지 w/o/w 이중 에멀전을 지지하는 안정제인 다중 상 에멀전, 예컨대 수중유중수(w/o/w) 에멀전이 가장 통상적이다. 대안적으로, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및 안정화 부형제(예를 들어, 트레할로스, 만니톨, 트윈(Tween) 80, 폴리비닐 알코올)는 조합되고, 수용액으로부터 분무되고, 수집된다. 이어서, 입자는 중합체 및 방출 변형 화합물을 함유하는 건조, 수 혼화성 유기 용매 중에서 현탁되고, 현탁액은 입자를 분산시키기 위해 초음파 처리된다. 추가적인 접근은 수성상을 사용하지만, 유기 용매는 사용하지 않는다. 구체적으로, 효소, 완충제 성분, 중합체 라텍스 및 안정화 및 방출-변형 부형제가 수 중에서 용해/분산된다. 수성 분산물은 분무 건조되어, 라텍스의 용합 및 용합된 라텍스의 입자 내 단백질 및 부형제의 혼입을 야기한다. 방출 변형제

가 산성 조건에서 불용성이지만, 더 높은 pH(예컨대, 카복실산)에서 불용성일 때, 기질로부터의 방출은 위 환경에서 저해된다.

- [0098] 일부 실시형태에서, 코팅된 코어 입자에 대한 지연-방출 코팅을 적용하기 전에, 입자는 선택적으로, 예를 들어, pH-완충 화합물과 같은 알칼리성 화합물을 포함하는 약제학적 부형제를 포함하는 하나 이상의 별개의 층으로 뒤덮일 수 있다. 분리층은 본질적으로 지연-방출 코팅으로부터 코팅된 코어 입자를 분리시킨다.
- [0099] 분리층은 코팅 장비, 예컨대 코팅팬, 코팅 파이프에 의해 또는 코팅 공정을 위해 물 및/또는 유기 용매를 이용하는 유동층 장치에서 전형적으로 사용되는 코팅 또는 증상화 절차에 의해 코팅된 코어 입자에 적용될 수 있다. 대안으로서, 분리층은 분말 코팅 기법을 이용함으로써 코어 물질에 적용될 수 있다. 분리층에 대한 물질은 단독으로 또는 혼합물로 약제학적으로 허용 가능한 화합물, 예를 들어, 당, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 아세테이트, 하이드록시프로필 셀룰로스, 메틸-셀룰로스, 에틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 나트륨 및 기타이다. 첨가제, 예컨대 가스제, 착색제, 안료, 충전제, 부착방지제 및 대전 방지제, 예컨대 스테아르산마그네슘, 이산화티타늄, 탈크 및 기타 첨가제가 또한 분리층에 포함될 수 있다.
- [0100] 일부 실시형태에서, 지연-방출 코팅을 지니는 코팅 입자는 추가로 오버코트층으로 뒤덮일 수 있다. 오버코트 층은 다른 코팅 조성물에 대해 기재한 바와 같이 적용될 수 있다. 오버코트 물질은 단독으로 또는 혼합물로 약제학적으로 허용 가능한 화합물, 예컨대 당, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 폴리비닐 알코올, 폴리비닐 아세테이트, 하이드록시프로필 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 에틸셀룰로스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로스, 카복시메틸셀룰로스 나트륨 및 기타이다. 오버코트 물질은 지연-방출 코팅으로 코팅된 입자의 잠재적 응집을 방지하거나, 지연-방출 코팅을 압축 공정 동안 균열로부터 보호하거나 또는 정제화 공정을 향상시킬 수 있다.
- [0101] 다양한 실시형태에서, 제형은 복수의 변형-방출 입자 또는 펠렛 또는 마이크로스피어를 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 제형은 다중 펠렛을 포함하는 캡슐 형태이다. 일 실시형태에서, 제형은 다중 마이크로스피어를 포함하는 캡슐 형태이다.
- [0102] 일부 실시형태에서, 변형-방출 제형은 베타-락타마제로부터 방출된 복수의 베타-락타마제-함유 펠렛(예를 들어, P3A(또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)-함유 펠렛)으로 충전된 캡슐이다. 실시형태에서, 캡슐은 젤라틴 캡슐, 예컨대 경질 젤라틴 캡슐이다. 다른 실시형태에서, 캡슐은 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐이다. 예를 들어, 제형은 다중 펠렛을 포함하는 캡슐 형태일 수 있다. 예를 들어, 제형은 캡슐, 예를 들어, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 함유하는 다중 장용 코팅 펠렛을 포함하는 젤라틴 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐의 형태일 수 있다. 이러한 실시형태에서, 각각의 펠렛이 특정 시점 또는 위치에서 방출되도록 설계된 펠렛의 조합물이 이용될 수 있다. 다양한 실시형태에서, 펠렛(예를 들어, 장용-코팅 펠렛)은 위를 통해 변하지 않은 채로 통과하고, 이어서, 장의 하나 이상의 영역 내로 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출하도록 설계된다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제-함유 펠렛은 상이한 장 pH 값에서 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 방출하기 위해 장용 코팅될 수 있다.
- [0103] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 복수의 장용 코팅 베타-락타마제-함유 펠렛을 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 이러한 실시형태에서, 펠렛(또는 각각 개개의 펠렛)은, 베타-락타마제, 예를 들어, P3A 또는 변이체가 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)), 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55), 가스제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트), 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트), 유화제 및 완충제 옆에 분무되는, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체), 수크로스 구체를 포함한다.
- [0104] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 복수의 장용 코팅 베타-락타마제-함유 펠렛을 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 이러한 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 약 10 내지 20 중량%를 포함한다. 예를 들어, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 약 10중량%, 약 11중량%, 약 12중량%, 약 13중량%, 약 14중량%, 약 15중량%, 약 16중량%, 약 17중량%, 약 18중량%, 약 19중량%, 또는 약 20중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 베타-락타마제, 예를 들어, P3A 또는 변이체가 분무되는 수크로스 구체의 약 20 내지 30 중량%를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 20중량%, 약 21중량%, 약 22중량%, 약 23중량%, 약 24중량%,

약 25중량%, 약 26중량%, 약 27중량%, 약 28중량%, 약 29중량%, 또는 약 30중량%로 존재할 수 있다. 다양한 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 약 30 내지 40중량% 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC))를 포함한다. 예를 들어, 결합제 부형제는 약 30중량%, 약 31중량%, 약 32중량%, 약 33중량%, 약 34중량%, 약 35중량%, 약 36중량%, 약 37중량%, 약 38중량%, 약 39중량%, 또는 약 40중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 약 15 내지 25중량% 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55)를 포함한다. 예를 들어, 장용 중합체는 약 15중량%, 약 16중량%, 약 17중량%, 약 18중량%, 약 19중량%, 약 20중량%, 약 21중량%, 약 22중량%, 약 23중량%, 약 24중량%, 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 약 1.5 내지 2.5중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트)를 포함한다. 예를 들어, 가소제는 약 1.5중량%, 약 1.6중량%, 약 1.7중량%, 약 1.8중량%, 약 1.9중량%, 약 2중량%, 약 2.1중량%, 약 2.2중량%, 약 2.3중량%, 약 2.4중량%, 약 2.5중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 약 0.5 내지 1.5중량% 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트)를 포함한다. 예를 들어, 활택제는 약 0.5중량%, 약 0.6중량%, 약 0.7중량%, 약 0.8중량%, 약 0.9중량%, 약 1중량%, 약 1.1중량%, 약 1.2중량%, 약 1.3중량%, 약 1.4중량%, 또는 약 1.5중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 약 0.1 내지 1.0중량% 유화제(예를 들어, 폴리솔베이트-80)를 포함한다. 예를 들어, 유화제는 약 0.1중량%, 약 0.2중량%, 약 0.3중량%, 약 0.4중량%, 약 0.5중량%, 약 0.6중량%, 약 0.7중량%, 약 0.8중량%, 약 0.9중량%, 또는 약 1중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 추가로 약 1 내지 2중량% 완충제 염을 포함한다. 예를 들어, 완충제 염은 약 1.1중량%, 약 1.2중량%, 약 1.3중량%, 약 1.4중량%, 약 1.5중량%, 약 1.6중량%, 약 1.7중량%, 약 1.8중량%, 약 1.9중량%, 또는 약 2중량%로 존재할 수 있다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 중량은 캡슐 그 자체의 중량을 제외한 모든 성분의 총 중량을 지칭한다.

[0105] 일부 실시형태에서, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 약 16중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체); 약 23중량%의 수크로스 구체; 약 35중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)); 약 21중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55); 약 2중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트); 약 1중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트); 약 0.5중량%의 유화제(예를 들어, 폴리솔베이트-80); 및 약 2중량%의 완충제 염을 포함한다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 중량은 캡슐 그 자체의 중량을 제외한 모든 성분의 총 중량을 지칭한다.

[0106] 예를 들어, 펠렛(또는 각각의 개개 펠렛)은 약 15.8중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체); 약 23.3중량%의 수크로스 구체; 약 35중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)); 약 20.8중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55); 약 2.1중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트); 약 1.0중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트); 약 0.4중량%의 유화제(예를 들어, 폴리솔베이트-80); 및 약 1.6중량%의 완충제 염을 포함한다. 본 명세서에 기재된 바와 같은 중량은 캡슐 그 자체의 중량을 제외한 모든 성분의 총 중량을 지칭한다.

[0107] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 75mg의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용 코팅 베타-락타마제-함유 펠렛을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 10 내지 20중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 포함한다. 예를 들어, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 약 10중량%, 약 11중량%, 약 12중량%, 약 13중량%, 약 14중량%, 약 15중량%, 약 16중량%, 약 17중량%, 약 18중량%, 약 19중량%, 또는 약 20중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 15 내지 25중량%의 수크로스 구체를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19%, 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24%, 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 다양한 실시형태에서, 제형은 약 25-35중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC))를 포함한다. 예를 들어, 결합제 부형제는 약 25%, 약 26%, 약 27%, 약 28%, 약 29%, 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34%, 또는 약 35중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 10 내지 25중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55)를 포함한다. 예를 들어, 장용 중합체는 약 10%, 약 11%, 약 12%, 약 13%, 약 14%, 약 15%, 약 16%, 약 17%, 약 18%, 약 19%, 약 20%, 약 21%, 약 22%, 약 23%, 약 24%, 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 1.5 내지 2.5중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트)를 포함한다. 예를 들어, 가소제는 약 1.5중량%, 약 1.6중량%, 약 1.7중량%, 약 1.8중량%, 약 1.9중량%, 약 2중량%, 약 2.1중량%, 약 2.2중량%, 약 2.3중량%, 약 2.4중량%, 약 2.5중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 0.5 내지 1.5중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트)를 포함한다. 예를 들어, 활택제는 약 0.5

중량%, 약 0.6중량%, 약 0.7중량%, 약 0.8중량%, 약 0.9중량%, 약 1중량%, 약 1.1중량%, 약 1.2중량%, 약 1.3중량%, 약 1.4중량%, 또는 약 1.5중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 0.1 내지 1.0중량%의 유효제(예를 들어, 폴리솔베이트-80)를 포함한다. 예를 들어, 유효제는 약 0.1중량%, 약 0.2중량%, 약 0.3중량%, 약 0.4중량%, 약 0.5중량%, 약 0.6중량%, 약 0.7중량%, 약 0.8중량%, 약 0.9중량%, 또는 약 1중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 1 내지 2중량%의 완충제 염을 포함한다. 예를 들어, 완충제 염은 약 1중량%, 약 1.1중량%, 약 1.2중량%, 약 1.3중량%, 약 1.4중량%, 약 1.5중량%, 약 1.6중량%, 약 1.7중량%, 약 1.8중량%, 약 1.9중량%, 또는 약 2중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 10 내지 20중량%의 젤라틴 또는 HPMC 캡슐을 포함한다. 예를 들어, 젤라틴 또는 HPMC 캡슐은 약 10중량%, 약 11중량%, 약 12중량%, 약 13중량%, 약 14중량%, 약 15중량%, 약 16중량%, 약 17중량%, 약 18중량%, 약 19중량%, 또는 약 20중량%일 수 있다.

[0108] 일부 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 75mg의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 13중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체); 약 19중량%의 수크로스 구체; 약 29중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)); 약 17중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55); 약 2중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트); 약 1중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트); 약 0.5중량%의 유효제(예를 들어, 폴리솔베이트-80); 약 1중량%의 완충제 염; 및 약 17중량%의 젤라틴 또는 HPMC 캡슐을 포함한다.

[0109] 예를 들어, 제형은 약 13.1중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체); 약 19.4중량%의 수크로스 구체; 약 29.1중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)); 약 17.3중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55); 약 1.7중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트); 약 0.9중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트); 약 0.4중량%의 유효제(예를 들어, 폴리솔베이트-80); 약 1.3중량%의 완충제 염; 및 약 16.8중량%의 젤라틴 또는 HPMC 캡슐을 포함한다.

[0110] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 25mg의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 포함하는 캡슐(예를 들어, 경질 젤라틴 또는 HPMC 캡슐)의 형태이다. 캡슐은 복수의 장용-코팅된 베타-락타마제-함유 펠릿을 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 5 내지 15중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 포함한다. 예를 들어, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 약 5중량%, 약 6중량%, 약 7중량%, 약 8중량%, 약 9중량%, 약 10중량%, 약 11중량%, 약 12중량%, 약 13중량%, 약 14중량%, 또는 약 15중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 10 내지 20중량%의 수크로스 구체를 포함한다. 예를 들어, 수크로스 구체는 약 10중량%, 약 11중량%, 약 12중량%, 약 13중량%, 약 14중량%, 약 15중량%, 약 16중량%, 약 17중량%, 약 18중량%, 약 19중량%, 또는 약 20중량%로 존재한다. 다양한 실시형태에서, 제형은 약 15 내지 25중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC))를 포함한다. 예를 들어, 결합제 부형제는 약 15중량%, 약 16중량%, 약 17중량%, 약 18중량%, 약 19중량%, 약 20중량%, 약 21중량%, 약 22중량%, 약 23중량%, 약 24중량%, 또는 약 25중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 10 내지 20중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55)를 포함한다. 예를 들어, 장용 중합체는 약 10중량%, 약 11중량%, 약 12중량%, 약 13중량%, 약 14중량%, 약 15중량%, 약 16중량%, 약 17중량%, 약 18중량%, 약 19중량%, 또는 약 20중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 1.0 내지 2.0중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트)를 포함한다. 예를 들어, 가소제는 약 1.0중량%, 약 1.1중량%, 약 1.2중량%, 약 1.3중량%, 약 1.4중량%, 약 1.5중량%, 약 1.6중량%, 약 1.7중량%, 약 1.8중량%, 약 1.9중량%, 또는 약 2.0중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 0.1 내지 1.0중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트)를 포함한다. 예를 들어, 활택제는 약 0.1중량%, 약 0.2중량%, 약 0.3중량%, 약 0.4중량%, 약 0.5중량%, 약 0.6중량%, 약 0.7중량%, 약 0.8중량%, 약 0.9중량%, 또는 약 1중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 0.1 내지 1.0중량%의 유효제(예를 들어, 폴리솔베이트-80)를 포함한다. 예를 들어, 유효제는 약 0.1중량%, 약 0.2중량%, 약 0.3중량%, 약 0.4중량%, 약 0.5중량%, 약 0.6중량%, 약 0.7중량%, 약 0.8중량%, 약 0.9중량%, 또는 약 1중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 0.5 내지 1.5중량%의 완충제 염을 포함한다. 예를 들어, 완충제염은 약 0.5중량%, 약 0.6중량%, 약 0.7중량%, 약 0.8중량%, 약 0.9중량%, 약 1.0중량%, 약 1.1중량%, 약 1.2중량%, 약 1.3중량%, 약 1.4중량%, 또는 약 1.5중량%로 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 제형은 약 30 내지 40중량%의 젤라틴 또는 HPMC 캡슐을 포함한다. 예를 들어, 젤라틴 또는 HPMC 캡슐은 약 30%, 약 31%, 약 32%, 약 33%, 약 34%, 약 35%, 약 36%, 약 37%, 약

38%, 약 39%, 또는 약 40중량%일 수 있다.

[0111] 일부 실시형태에서, 본 발명의 제형은 약 25mg의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)를 포함한다. 이러한 실시형태에서, 제형은 약 10중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체); 약 15중량%의 수크로스 구체; 약 22중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)); 약 13중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55); 약 1중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트); 약 0.5중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트); 약 0.3중량%의 유화제(예를 들어, 폴리솔베이트-80); 약 1중량%의 완충제 염; 및 약 38중량%의 젤라틴 또는 HPMC 캡슐을 포함한다.

[0112] 예를 들어, 제형은 약 9.8중량%의 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체); 약 14.5중량%의 수크로스 구체; 약 21.8중량%의 결합제 부형제(예를 들어, 하이드록시프로필셀룰로스(HPC)); 약 13중량%의 장용 중합체(예를 들어, 유드라짓 L 30 D-55); 약 1.3중량%의 가소제(예를 들어, 트라이에틸시트레이트); 약 0.6중량%의 활택제(예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트); 약 0.3중량%의 유화제(예를 들어, 폴리솔베이트-80); 약 1.0중량%의 완충제염; 및 약 37.7중량%의 젤라틴 또는 HPMC 캡슐을 포함한다.

[0113] 본 발명은 또한 위장관을 따라서 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제의 다회 용량을 방출하는 변형-방출 제형을 제공한다. 이러한 실시형태에서, 이러한 제형의 전반적인 프로파일은, 예를 들어, 다중 입자 유형 또는 다중층을 이용함으로써 조절될 수 있다. 일 실시형태에서, 베타-락타마제의 제1 용량은, 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상) 또는 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)에서의 방출을 위해 제형화될 수 있는 반면, 제2 용량은, 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상) 또는 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)의 상이한 영역에서 지연 방출을 위해 제형화된다. 대안적으로, 다회 용량은 장을 따라서 상이한 위치에서 방출된다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 베타-락타마제의 제1 용량은, 예를 들어, 소장(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상)에서 방출을 위해 제형화될 수 있는 반면, 제2 용량은, 예를 들어, 소장의 다른 부분(예를 들어, 십이지장, 공장, 회장 중 하나 이상)에서 지연 방출을 위해 제형화된다. 다른 실시형태에서, 베타-락타마제의 제1 용량은, 예를 들어, 대장(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)에서 방출을 위해 제형화될 수 있는 반면, 제2 용량은, 예를 들어, 대장의 다른 부분(예를 들어, 맹장, 결장의 상행, 횡행, 하행 또는 S상 부분, 및 직장 중 하나 이상)에서 지연 방출을 위해 제형화된다.

[0114] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 제제는 약제학적으로 허용 가능한 염, 즉, 과도한 독성, 자극, 알레르기 반응 등 없이 인간 및 다른 동물의 조직과 접촉하여 사용하는데 적합하고, 합리적인 유해/유익비에 비례하는 해당 염의 형태일 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 염은 당업계에 잘 공지되어 있다. 염은 치료제의 최종 단리 및 정제 동안 인시추로, 또는 유리 염기 작용기를 적합한 산과 또는 유리 산 작용기를 적절한 알칼리성 모이어티와 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 대표적인 산 부가 염은 아세트산염, 아디핀산염, 알긴산염, 아스코르브산염, 아스파르트산염, 벤젠설포산염, 벤조산염, 중황산염, 붕산염, 뷰티르산염, 캄페산염, 캄페실폰산염, 시트르산염, 사이클로펜탄프로피온산염, 다이글루콘산염, 도데실황산염, 에탄설포산염, 푸마르산염, 글루코헵톤산염, 글리세로인산염, 헤미황산염, 헵톤산염, 헥산산염, 브롬화수소산염, 염산염, 요오드화수소산염, 2-하이드록시에탄설포산염, 락토바이온산, 락트산염, 라우린산염, 라우릴황산염, 말산염, 말레산염, 말론산염, 메탄설포산염, 2-나프탈렌설포산염, 니코틴산염, 질산염, 올레산염, 옥살산염, 팔미트산염, 과모산염, 펙틴산염, 과황산염, 3-페닐프로피온산염, 인산염, 피크르산염, 피발산염, 프로피온산염, 스테아르산염, 숙신산염, 황산염, 타르타르산염, 티오시안산염, 톨루엔설포산염, 운데칸산염, 발레르산염 등을 포함한다. 대표적인 알칼리 또는 알칼리토금속염은 나트륨, 리튬, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 등뿐만 아니라 비독성 암모늄, 4차 암모늄, 및 아민 양이온(암모늄, 테트라메틸암모늄, 테트라에틸암모늄, 메틸아민, 다이메틸아민, 트라이메틸아민, 트라이에틸아민, 에틸아민 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않음)을 포함한다.

[0115] 다양한 실시형태에서, 본 제형은 다수의 이점을 제공한다. 예를 들어, 본 발명자들은 그 자체가 도전적인 단백질(즉, 베타-락타마제)을 성공적으로 제형화하였다. 이는 본 제형이 다양한 실시형태에서 약물을 방출하는 GI 관 환경에 의해 추가로 조절된다. 추가로, 다양한 실시형태에서, 본 제형은 다양한 항생제의 유해 효과로부터 GI관에서, 예를 들어, 소장에서 양호한 보호 범위를 허용하기 위해 충분히 느린 GI 관 방출을 제공한다(더 느린 방출에 비례하는 베타-락타마제 반감기의 증가에 의해 강조되는 이점). 더 나아가, 본 발명의 펠렛의 약물 물질 층을 HPC로 코팅함으로써, 유드라짓과 대조적으로, 예를 들어, 본 제형은 제형 내 유드라짓의 양을 최소화하고,

따라서 가능한 용량-제한 독성 및 제조 문제를 완화시킨다.

[0116] 투여 및 투약량

[0117] 본 발명에 따라 투여될 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 실제 용량은, 예를 들어, 특정 투약 형태 및 투여 방식에 따라 다르다는 것이 인식될 것이다. 베타-락타마제의 작용을 변형시킬 수 있는 다수 인자(예를 들어, 체중, 성별, 식이요법, 투여시간, 투여 경로, 배설 속도, 대상체의 병태, 약물 조합, 유전적 성향 및 반응 민감성)가 당업자에 의해 고려될 수 있다. 투여는 최대 허용 용량 내에서 연속적으로 또는 1회 이상의 별도의 용량으로 수행될 수 있다. 주어진 상황의 병태에 대한 최적의 투여 속도는 통상적인 투약량 투여 시험을 이용하여 당업자에 의해 확인될 수 있다.

[0118] 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 개개 용량은, 예를 들어, 약 0.01mg 내지 약 1,000mg, 약 0.01mg 내지 약 950mg, 약 0.01mg 내지 약 900mg, 약 0.01mg 내지 약 850mg, 약 0.01mg 내지 약 800mg, 약 0.01mg 내지 약 750mg, 약 0.01mg 내지 약 700mg, 약 0.01mg 내지 약 650mg, 약 0.01mg 내지 약 600mg, 약 0.01mg 내지 약 550mg, 약 0.01mg 내지 약 500mg, 약 0.01mg 내지 약 450mg, 약 0.01mg 내지 약 400mg, 약 0.01mg 내지 약 350mg, 약 0.01mg 내지 약 300mg, 약 0.01mg 내지 약 250mg, 약 0.01mg 내지 약 200mg, 약 0.01mg 내지 약 150mg, 약 0.01mg 내지 약 100mg, 약 0.1mg 내지 약 90mg, 약 0.1mg 내지 약 80mg, 약 0.1mg 내지 약 70mg, 약 0.1mg 내지 약 60mg, 약 0.1mg 내지 약 50mg, 약 0.1mg 내지 약 40mg 활성 성분, 약 0.1mg 내지 약 30mg, 약 0.1mg 내지 약 20mg, 약 0.1mg 내지 약 10mg, 약 0.1mg 내지 약 5mg, 약 0.1mg 내지 약 3mg, 약 0.1mg 내지 약 1mg/단위 투여형, 또는 약 5mg 내지 약 80mg/단위 투여형을 함유하는 단위 투여형(예를 들어, 정제 또는 캡슐)으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 단위 투여형은 약 0.01mg, 약 0.02mg, 약 0.03mg, 약 0.04mg, 약 0.05mg, 약 0.06mg, 약 0.07mg, 약 0.08mg, 약 0.09mg, 약 0.1mg, 약 0.2mg, 약 0.3mg, 약 0.4mg, 약 0.5mg, 약 0.6mg, 약 0.7mg, 약 0.8mg, 약 0.9mg, 약 1mg, 약 2mg, 약 3mg, 약 4mg, 약 5mg, 약 6mg, 약 7mg, 약 8mg, 약 9mg 약 10mg, 약 15mg, 약 20mg, 약 25mg, 약 30mg, 약 35mg, 약 40mg, 약 45mg, 약 50mg, 약 55mg, 약 60mg, 약 65mg, 약 70mg, 약 75mg, 약 80mg, 약 85mg, 약 90mg, 약 95mg, 약 100mg, 약 150mg, 약 200mg, 약 250mg, 약 300mg, 약 350mg, 약 400mg, 약 450mg, 약 500mg, 약 550mg, 약 600mg, 약 650mg, 약 700mg, 약 750mg, 약 800mg, 약 850mg, 약 900mg, 약 950mg, 또는 약 1,000mg (그 사이의 모든 값과 범위를 포함함)일 수 있다. 실시형태에서, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 개개 용량은 25mg의 베타-락타마제를 함유하는 단위 투여형으로 투여된다. 다른 실시형태에서, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 개개 용량은 50mg의 베타-락타마제를 함유하는 단위 투여형으로 투여된다. 추가 실시형태에서, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 개개 용량은 75mg의 베타-락타마제를 함유하는 단위 투여형으로 투여된다.

[0119] 일 실시형태에서, 베타-락타마제는 1일에 약 0.01mg 내지 약 100mg의 양으로, 1일에 약 0.01mg 내지 약 1,000mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 950mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 900mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 850mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 800mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 750mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 700mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 650mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 600mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 550mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 500mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 450mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 400mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 350mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 300mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 250mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 200mg, 1일에 약 0.01mg 내지 약 150mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 100mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 95mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 90mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 85mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 80mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 75mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 70mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 65mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 60mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 55mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 50mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 45mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 40mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 35mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 30mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 25mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 20mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 15mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 10mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 5mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 3mg, 1일에 약 0.1mg 내지 약 1mg, 또는 1일에 약 5mg 내지 약 80mg의 양으로 투여된다.

[0120] 다양한 실시형태에서, 베타-락타마제는 1일에 약 0.01mg, 약 0.02mg, 약 0.03mg, 약 0.04mg, 약 0.05mg, 약 0.06mg, 약 0.07mg, 약 0.08mg, 약 0.09mg, 약 0.1mg, 약 0.2mg, 약 0.3mg, 약 0.4mg, 약 0.5mg, 약 0.6mg, 약 0.7mg, 약 0.8mg, 약 0.9mg, 약 1mg, 약 2mg, 약 3mg, 약 4mg, 약 5mg, 약 6mg, 약 7mg, 약 8mg, 약 9mg 약 10mg, 약 15mg, 약 20mg, 약 25mg, 약 30mg, 약 35mg, 약 40mg, 약 45mg, 약 50mg, 약 55mg, 약 60mg, 약 65mg, 약 70mg, 약 75mg, 약 80mg, 약 85mg, 약 90mg, 약 95mg, 약 100mg, 약 150mg, 약 200mg, 약 250mg, 약 300mg, 약 350mg, 약 400mg, 약 450mg, 약 500mg, 약 550mg, 약 600mg, 약 650mg, 약 700mg, 약 750mg, 약 800mg, 약

850mg, 약 900mg, 약 950mg, 또는 약 1,000mg(그 사이의 모든 값 및 범위를 포함함)의 용량으로 투여된다.

- [0121] 일부 실시형태에서, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)의 적합한 투약량은 대상체의 약 0.01mg/kg 내지 약 100mg/kg 체중, 예를 들어, 약 0.01mg/kg, 약 0.02mg/kg, 약 0.03mg/kg, 약 0.04mg/kg, 약 0.05mg/kg, 약 0.06mg/kg, 약 0.07mg/kg, 약 0.08mg/kg, 약 0.09mg/kg, 약 0.1mg/kg, 약 0.2mg/kg, 약 0.3mg/kg, 약 0.4mg/kg, 약 0.5mg/kg, 약 0.6mg/kg, 약 0.7mg/kg, 약 0.8mg/kg, 약 0.9mg/kg, 약 1mg/kg, 약 1.1mg/kg, 약 1.2mg/kg, 약 1.3mg/kg, 약 1.4mg/kg, 약 1.5mg/kg, 약 1.6mg/kg, 약 1.7mg/kg, 약 1.8mg/kg, 1.9mg/kg, 약 2mg/kg, 약 3mg/kg, 약 4mg/kg, 약 5mg/kg, 약 6mg/kg, 약 7mg/kg, 약 8mg/kg, 약 9mg/kg, 약 10mg/kg, 약 15mg/kg, 약 20mg/kg, 약 25mg/kg, 약 30mg/kg, 약 35mg/kg, 약 40mg/kg, 약 45mg/kg, 약 50mg/kg, 약 55mg/kg, 약 60mg/kg, 약 65mg/kg, 약 70mg/kg, 약 75mg/kg, 약 80mg/kg, 약 85mg/kg, 약 90mg/kg, 약 95mg/kg, 또는 약 100mg/kg 체중(그 사이의 모든 값 및 범위를 포함함)의 범위이다. 다른 실시형태에서, 베타-락타마제의 적합한 투약량은 약 0.01mg/kg 내지 약 10mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.01mg/kg 내지 약 9mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.01mg/kg 내지 약 8mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.01mg/kg 내지 약 7mg/kg 체중, 0.01mg/kg 내지 약 6mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 5mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 4mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 3mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 2mg/kg 체중의 범위에서, 약 0.05mg/kg 내지 약 1.5mg/kg 체중의 범위에서, 또는 약 0.05mg/kg 내지 약 1mg/kg 체중의 범위이다.
- [0122] 본 발명의 특정 실시형태에 따르면, 베타-락타마제는, 예를 들어, 1일당 약 1회, 약 2일마다, 약 3일마다, 1주당 약 1회, 2주마다 약 1회, 1개월마다 약 1회, 2개월마다 약 1회, 3개월마다 약 1회, 6개월마다 약 1회, 또는 1년마다 약 1회 투여될 수 있다. 특정 실시형태에서, 베타-락타마제는 1일 1회 초과, 예를 들어, 약 2회, 약 3회, 약 4회, 약 5회, 약 6회, 약 7회, 약 8회, 약 9회, 또는 약 10회로 투여될 수 있다.
- [0123] 추가적인 치료제 및 병용요법 또는 공동 제형화
- [0124] 본 제형의 투여는 추가적인 치료제와 병용될 수 있다. 추가적인 치료제 및 본 제형의 공동 투여는 동시이거나 또는 순차적일 수 있다. 추가적인 본 제형은 추가적인 치료제(예를 들어, 공동 제형화를 통해)를 포함할 수 있다.
- [0125] 일부 실시형태에서, 본 발명의 변형-방출 제형은 추가적인 치료제와 병용하여 투여된다. 실시형태에서, 추가적인 치료제 및 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 단일 변형-방출 제형로 조합된다. 일부 실시형태에서, 치료 및/또는 예방 방법은 추가적인 치료제에 의한 치료를 받는 대상체에게 본 발명의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0126] 일 실시형태에서, 추가적인 제제 및 베타-락타마제는 대상체에게 동시에 투여된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "동시에"는, 추가적인 제제 및 베타-락타마제가 약 60분 이하, 예컨대 약 30분 이하, 약 20분 이하, 약 10분 이하, 약 5분 이하, 또는 약 1분 이하의 시간 간격을 두고 투여된다는 것을 의미한다. 추가적인 제제 및 베타-락타마제의 투여는 단일 제형(예를 들어, 추가적인 제제 및 베타-락타마제를 포함하는 제형)의 또는 별개의 제형(예를 들어, 추가적인 제제를 포함하는 제1 제형 및 베타-락타마제를 포함하는 제2 제형)의 동시 투여에 의할 수 있다.
- [0127] 공동 투여는, 그들의 투여 시간이 추가적인 제제 및 베타-락타마제의 약학적 활성이 제시간에 중복되도록 하고, 이에 의해 조합된 치료 효과를 발휘하게 한다면, 추가적인 치료제가 동시에 투여될 필요는 없다. 예를 들어, 추가적인 제제 및 베타-락타마제는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "순차적으로"는 추가적인 제제 및 베타-락타마제가 약 60분 초과,의 시간 간격을 두고 투여된다는 것을 의미한다. 예를 들어, 추가적인 제제와 베타-락타마제의 순차적 투여 사이의 시간은 약 60분 초과, 약 2시간 초과, 약 5시간 초과, 약 10시간 초과, 약 1일 초과, 약 2일 초과, 약 3일 초과, 또는 약 1주 초과,의 간격일 수 있다. 최적의 투여 시간은 투여 중인 추가적인 제제 및 베타-락타마제의 대사 속도, 배설 및/또는 약역학적 활성에 의존할 것이다. 추가적인 치료제 또는 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 중 하나는 처음에 투여될 수 있다.
- [0128] 공동 투여는 또한 동일한 투여 경로에 의해 대상체에게 투여될 추가적인 치료제가 필요하지 않다. 오히려, 각각의 추가적인 치료제는 임의의 적절한 경로에 의해, 예를 들어, 비경구로 또는 경구로 투여될 수 있다.
- [0129] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 추가적인 항생제 분해 효소, 예를 들어, 클래스 EC 3.5.2.6의 베타-락타마제이다. 일부 실시형태에서, 항생제 분해 효소는 기능성 그룹 1, 그룹 2, 그룹 3, 또는 그룹 4 베타-락타마제

(예를 들어, 문헌[Bush *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother*, 39: 1211] 참조, 이의 전문은 본 명세서에 참고로 포함됨)(이론에 의해 구속되지 않고, 그룹 1은 클라불란산에 의해 제대로 저해되지 않는 세팔로스포리나제로 이루어지고; 그룹 2는 활성 부위 지정 베타-락타마제 저해제에 의해 일반적으로 저해되는 페니실리나제, 세팔로스포리나제 및 광범위 베타-락타마제로 이루어지고; 그룹 3은 페니실린, 세팔로스포린 및 카바페넴을 가수분해하고, 거의 모든 베타-락탐-함유 분자에 의해 불량하게 저해되는 메탈로-베타-락타마제로 이루어지며; 그룹 4는 클라불란산에 의해 제대로 저해되지 않는 페니실리나제로 이루어짐) 및/또는 분자/엠블러 클래스 A, 또는 클래스 B, 또는 클래스 C, 또는 클래스 D 베타-락타마제(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 문헌[Ambler 1980, *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 289: 321] 참조)(이론에 의해 구속되지 않고, 클래스 A, C 및 D는 세린 베타-락타마제 효소의 진화적으로 별도의 그룹을 모으고, 클래스 B는 아연-의존적("EDTA-저해") 베타-락타마제 효소(문헌[Ambler R.P. *et al.*, 1991, *Biochem J.* 276: 269-270], 이의 전문은 본 명세서에 참고로 포함됨)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 항생제 분해 효소는 세린 베타-락타마제 또는 아연-의존적(EDTA-저해) 베타-락타마제이다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 베타-락타마제는 P1A, P2A, P3A 또는 P4A 중 하나 이상이다. 추가로, 베타-락타마제는 TEM, SHV, CTX-M, OXA, PER, VEB, GES 및 IBC 베타-락타마제로부터 선택적으로 선택된 광범위 베타-락타마제(ESBL)일 수 있다. 추가로, 베타-락타마제는 AmpC-형 β-락타마제, 카바페네마제, IMP-형 카바페네마제(메탈로-β-락타마제), VIM(베로나 인테그론-암호화된 메탈로-β-락타마제), β-락타마제의 OXA(옥사실리나제), KPC(클렙시엘라 뉴모니아(*K. pneumonia*) 카바페네마제), CMY(클래스 C), SME, IMI, NMC 및 CcrA, 및 NDM(뉴 델리 메탈로-β-락타마제, 예를 들어, NDM-1) 베타-락타마제로부터 선택적으로 선택된 저해제-내성 β-락타마제일 수 있다.

[0130]

일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 CDI 치료에서 사용되는 보조 요법이다. 일부 실시형태에서, 추가적인 제제는 메트로니다졸(예를 들어, FLAGYL), 피탁소마이신(예를 들어, DIFICID), 또는 반코마이신(예를 들어, 반코신), 리팍시민, 분변 박테리아요법, 차콜계 결합제(예를 들어, DAV132), 프로바이오틱 요법(예를 들어, 문헌[*Intnat'l J Inf Dis*, 16 (11): e786] 참조, 이의 전문은 본 명세서에 참고로 포함됨)이며, 예시적인 프로바이오틱은 사카로마이세스 보올라디(*Saccharomyces boulardii*); 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*) GG; 락토바실러스 플란타룸(*Lactobacillus plantarum*) 299v; 클로스트리듐 뷰티리쿰(*Clostridium butyricum*) M588; 클로스트리듐 디피실 VP20621(비-독소발생 클로스트리듐 디피실 균주); 락토바실러스 카제이(*Lactobacillus casei*), 락토바실러스 애시도필루스(*Lactobacillus acidophilus*) 의 조합물(Bio-

CL1285); 락토바실러스 카제이, 락토바실러스 불가리쿠스, 스트렙토코커스 써모필루스(악티멜(Actimel))의 조합물; 락토바실러스 에시도필루스, 비피도박테리움 비피둠(*Bifidobacterium bifidum*)(플로라젠3)의 조합물; 락토바실러스 에시도필루스, 락토바실러스 불가리쿠스 델브루에키 아종(*Lactobacillus bulgaricus delbrueckii* subsp.) 불가리쿠스, 락토바실러스 불가리쿠스 카제이, 락토바실러스 불가리쿠스 플란타룸(*Lactobacillus bulgaricus plantarum*), 비피도박테리움 롱검(*Bifidobacterium longum*), 비피도박테리움 인판티스(*Bifidobacterium infantis*), 비피도박테리움 브레브(*Bifidobacterium breve*), 스트렙토코커스 살리마리우스(*Streptococcus salivarius*) 아종 써모필루스(*thermophilus*)(VSL#3) 및 항체의 조합물 또는 다른 생물학적 요법(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 문헌[N Engl J Med. 2010;362(3):197]에 기재된 바와 같은 클로스트리듐 디피실 독소 A 및 B에 대한 단클론성 항체; 중화 결합 단백질, 예를 들어, 전문이 본 명세서에 참고로 포함된 미국 특허 공개 제2013/0058962 호에 열거된 서열번호 중 하나 이상(예를 들어, 서열번호 59, 60, 95, 67, 68, 및 87 중 하나 이상)과 관련된 다량체로서 정렬됨); 또는 클로스트리듐 디피실 2성분 독소와 관련된 임의의 중화 결합 단백질을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 페니실린 및 세팔로스포린은 추가적인 제제일 수 있다.

[0131] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 지사제이다. 본 발명에서 사용하는 데 적합한 지사제는 DPP-IV 저해제, 천연 오피오이드, 예컨대 아편의 텅크, 진통제, 및 코데인, 합성 오피오이드, 예컨대 다이페녹실레이트, 다이페녹신 및 로페라마이드, 비스무트 서브살리실레이트, 란레오타이드, 바프레오타이드 및 옥트레오타이드, 모틸론 길항제, 셀레콕싹과 같은 COX2 저해제, 글루타민, 탈리도마이드 및 전통적 지사제 치료, 예컨대 카올린, 펙틴, 베르베린 및 무스카린제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0132] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 항염증제, 예컨대 스테로이드성 항염증제 또는 비스테로이드성 항염증제(NSAIDS)이다. 스테로이드, 특히 부신 피질 스테로이드 및 그들의 합성 유사체는 당업계에서 잘 공지되어 있다. 본 발명에서 유용한 코르티코스테로이드의 예는 제한 없이 하이드록실트라이암시놀론, 알파-메틸 텍사메타손, 베타-메틸 베타텍사메타손, 베클로텍사메타손 다이프로피오네이트, 베타텍사메타손 벤조에이트, 베타텍사메타손 다이프로피오네이트, 베타텍사메타손 발레레이트, 클로베타솔 발레레이트, 데소나이드, 데속시텍사메타손, 텍사메타손, 다이플로라손 다이아세테이트, 다이플루코르톨론 발레레이트, 플루아드레놀론, 플루클로롤론 아세토나이드, 플루텍사메타손 피발레이트, 플루오시놀론 아세토나이드, 플루오시노나이드, 플루코르틴 뷰틸에스터, 플루오코르톨론, 플루프레드니덴(플루프레드닐리덴) 아세테이트, 플루란드레놀론, 할시노나이드, 하이드로코르티손 아세테이트, 하이드로코르티손 뷰티레이트, 메틸프레드니솔론, 트라이암시놀론 아세토나이드, 코티손, 코르토독손, 플루세토나이드, 플루드로코르티손, 다이플루오로손 다이아세테이트, 플루라드레놀론 아세토나이드, 메드리손, 암시나펠, 암시나파이드, 베타텍사메타손 및 그의 에스터의 균형상태, 클로로프레드니손, 클로코르테론, 클레스시놀론, 다이클로리손, 다이플루프레드네이트, 플루클로로나이드, 플루니솔라이드, 플루오로메탈론,

플루페롤론, 플루프레드니솔론, 하이드로코티손, 메프레드니손, 파라텍사메타손, 프레드니솔론, 프레드니손, 베클로텍사메타손 다이프로피오네이트를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 발명에서 사용될 수 있는 (NSAIDS)는 살리실산, 아세틸 살리실산, 메틸 살리실레이트, 글리콜 살리실레이트, 살리실라마이드, 벤질-2,5-다이아세톡시벤조산, 이부프로펜, 풀린다, 나프록센, 케토프로펜, 에토페나메이트, 페닐부타존 및 인도메타신을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 추가적인 항염증제는, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 포함된 미국 특허 제4,537,776호에 기재되어 있다.

[0133] 일부 실시형태에서, 추가적인 치료제는 진통제일 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법에서 유용한 진통제는 물론, 코데인, 헤로인, 메타돈 및 관련된 화합물, 테바인, 오르피아빈 및 그들의 유도체, 부프레노르핀, 피페리딘, 몰피난, 벤조몰판, 테트라하이드로아이소퀴놀린, 티암부탄, 벤질아민, 킬리딘, 비미놀, 네포팜, 캅사이신(8-메틸-N-바닐릴-6E-노넨아마이드), "합성" 캅사이신(N-바닐릴노나마이드), 및 관련 화합물을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0134] 모든 추가적인 제제 조성물 및 방법에 대해, GI관의 다양한 부분에 대한 표적화는 본 명세서에 기재된 바와 같이 사용될 수 있다.

[0135] 일부 실시형태에서, 본 제형은 추가적인 치료제에 의한 치료를 피하기 위해 환자에게 투여된다. 예를 들어, 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 예방하는 것과 관련하여, 본 제형은, 예를 들어, 반코마이신을 받을 필요를 피하기 위해 환자에게 제공될 수 있다.

[0136] 치료 방법

[0137] 다양한 양상에서, 본 발명은 GI 관에서의 항생제-유도 유해 효과의 치료 및/또는 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형을 제공한다. 다른 양상에서, GI 관에서 항생제-유도 유해 효과를 치료 하고/하거나 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 치료 또는 예방하기 위한 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형의 용도가 제공된다.

[0138] 다양한 양상에서, 본 발명은 치료 또는 예방이 필요한 환자에게 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는, GI 관에서 항생제-유도 유해 효과를 치료 또는 예방하는 방법이 제공된다. 일 양상에서, 본 발명은 예방이 필요한 환자(비제한적 예로서, 본 명세서에 기재된 것을 포함하는 항생제를 투여 중인 또는 투여될 환자)에게 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는, GI 관에서 항생제-유도 유해 효과를 예방하는 방법이 제공된다.

[0139] 다양한 양상에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 위장 마이크로바이옴을 보호하는 방법을 제공한다. 다양한 실시형태에서, 대상체는 항생제에 의한 치료를 받고 있거나, 또는 항생제에 의한 치료를 최근에 받았다. 다양한 실시형태에서, 항생제는 본 명세서에 기재된 바와 같은 페니실린, 세팔로스포린, 모노박탐 및 카바페넴 중 하나 이상이다. 실시 형태에서, 베타-락타마제는 P3A이다.

[0140] 다양한 실시형태에서, 대상체는 마이크로바이옴-매개 장애에 대한 특정 위험에 있는 대상체, 예컨대, 비제한적 예로서 항생제에 의한 치료를 받고 있거나 또는 항생제에 의한 치료를 최근에 받은 대상체를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예를 들어, 대상체는 과거 약 30일 정도 동안 항생제를 취할 수 있고/있거나 (예를 들어, 만성 질환으로부터) 쇠약해진 면역계를 갖고/갖거나 여성이고/이거나 노인(예를 들어, 약 65세 이상)이고/이거나 노인 여성이고/이거나 속쓰림 또는 위산 장애(예를 들어, 프레바시드(PREVACID), 타가메트(TAGAMET), 프릴로섹(PRILOSEC) 또는 넥시움(NEXIUM) 및 관련 약물과 같은 제제를 이용)에 대한 치료를 받고 있고/있거나(또는 받은) 최근에 중환자실을 포함하는 병원에 있었거나, 또는 양로원에 살고 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 원내 감염 및/또는 2차 신생(emergent) 감염 및/또는 병원 감염(HAI)을 치료 또는 예방한다.

[0141] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 항생제-유도 손상으로부터 장 마이크로바이옴을 보호한다. 예시적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로

로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 세팔로스포린-유도 손상으로부터 장 마이크로바이옴을 보호한다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 다음 중 하나 이상일 수 있는 세팔로스포린에 의해 유도되는 손상으로부터 장 마이크로바이옴을 보호한다:

일반명칭	상표명
1 세대	
세파세트릴(Cefacetrile)(세파세트릴(cephacetrile))	셀로스포르, 셀틀, 크리스타세프
세파드록실(Cefadroxi l)(세파드록실(cefadroxy l))	듀리세프, 울트라세프
세팔렉신(Cefalexin)(세팔렉신(cephalexin))	케플렉스, 케프렙
세팔로글리신(Cefaloglycin)(세팔로글리신(cephaloglycin))	케프글리신
세팔로늄(Cefalonium)(세팔로늄(cephalonium))	
세팔로리딘(세팔로라딘)	
세팔로틴(Cefalotin)(세팔로틴(cephalothin))	케플린
세파피린(Cefapirin)(세파피린(cephapirin))	세파딜
세파트리진	
세파자플루르	
세파제돈	
세파졸린(Cefazolin)(세파졸린(cephazolin))	안세프(ANCEF), 케프졸(KEFZOL)
세프라딘(Cefradine)(세프라딘(cephradine))	벨로세프
세프록사딘	
세프테졸	

[0142]

2세대	
세파클로르	세클로르, 세클로르 CD, 디스타클로르, 케플로르, 라니코르
세파만돌	만돌
세프메타졸	
세포니시드	모노시드
세포테탄	세포탄
세폭시틴	메폭신
세프프로질(세프프록실)	세프질
세푸록심	세프틴, 케푸록스, 지나세프, 진네트
세푸조남	
3세대	
세프카펜	
세프달록심	
세프디니르	옵니세프, 세프디엘
세프디토렌	스펙트라세프
세페타메트	
세픽심	수프락스
세프메녹심	세프막스
세포디짐	
세포탁심	클라포란
세프피미졸	
세프포독심	반틴
세프테람	
세프티부텐	세닥스
세프티오푸르	역세드
세프티올렌	
세프티족심	세피족스
세프트리악손	로세핀
세포페라존	세포비드
세프타지덤	셉타즈, 포르툼, 포타즈, 타지세프, 타지덤

[0143]

4 세대	
세프클리딘	
세페핌	막시핌
세플루프레남	
세포세일스	
세포조프란	
세프피롬	세프롬
세프퀴놈	
5 세대	
세프토비프롤	제프테라
세프타를린	테플라로
분류 없음	
세파클로메진	
세팔로람	
세파파롤	
세프카넬	
세페드롤로르	
세핌피돈	
세페트리졸	
세피비트릴	
세프마틸렌	
세프메피덤	
세포베신	
세폭사졸	
세프로틸	
세프수마이드	
세푸라세딤	
세프티옥사이드	

[0144]

[0145]

일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 세프트리악손(CRO)-유도 손상으로부터 장 마이크로바이옴을 보호한다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 세프트리악손-관련 유해 효과(예를 들어, 설사, 구역, 구토, 미각장애, 및 가막성 대장염 질환 및/또는 증상)를 치료하거나 또는 예방한다.

[0146]

항생제 치료, 예컨대 세프트리악손 치료는 메탄생성균의 비정상적 성장(예를 들어, 과성장 및/또는 과잉)을 초래할 수 있다. 메탄생성균은 대사 부산물로서 메탄을 생성하는 미생물을 포함한다. 메탄생성균의 예는 메타노박테리움 브리안티(*Methanobacterium bryantii*), 메타노박테리움 포미쿰(*Methanobacterium formicum*), 메타노브레비박터 아르보리필리쿠스(*Methanobrevibacter arboriphilicus*), 메타노브레비박터 갓츠찰키(*Methanobrevibacter gottschalkii*), 메타노브레비박터 루미난툼(*Methanobrevibacter ruminantium*), 메타노브레비박터 스미시, 메타노칼쿨루스 청신젠시스(*Methanocalculus chunghsingensis*), 메타노코코이테스 부르토니, 메타노코커그 아에올리쿠스(*Methanococcus aeolicus*), 메타노코쿠스 델타(*Methanococcus deltae*), 메타노코쿠스 잔나스키(*Methanococcus jannaschii*), 메타노코쿠스 마리팔루디스(*Methanococcus maripaludis*), 메타노코쿠스 반니엘리(*Methanococcus vanniellii*), 메타노코르푸스쿨룸 라브레아눔(*Methanocorpusculum labreanum*), 메타노쿨레우스 보우르젠시스(*Methanoculleus bourgensis*)(메타노게늄 올렌탄기(*Methanogenium olentangyi*), 메타노게늄 부르젠스(*Methanogenium bourgense*)), 메타노쿨레우스 마리스니그리(*Methanoculleus marisnigri*), 메타노폴리스 리미니탄스(*Methanofollis liminatans*), 메타노게늄 카리아시(*Methanogenium cariaci*), 메타노게늄 프리기둠(*Methanogenium frigidum*), 메타노게늄 오가노필룸(*Methanogenium organophilum*), 메타노게늄 윌페이(*Methanogenium wolfei*), 메타노게늄 모바일(*Methanomicrobium mobile*), 메타노피러스 칸들레리(*Methanopyrus kandleri*), 메타노레굴라 부네이(*Methanoregula boonei*), 메타노사에타 콘실리(*Methanosaeta concilii*), 메타노사에타 써모필(*Methanosaeta thermophile*), 메타노사르시나 아세티보란스(*Methanosarcina acetivorans*), 메타노사르시나 바르케리(*Methanosarcina barkeri*), 메타노사르시나 마제이(*Methanosarcina mazei*), 메타노스파에라 스타트만나(*Methanosphaera stadtmanae*), 메타노스피릴룸 헝가테(*Methanospirillum hungatei*), 메타노써모박터 데플루비(*Methanothermobacter defluvii*)(메타노박테리움 데플루비(*Methanobacterium defluvii*)), 메

타노써모박터 써마우토티트로피쿠스(*Methanothermobacter thermoautotrophicus*)(메타노박테리움 써모우토티트로피쿰(*Methanobacterium thermoautotrophicum*)), 메타노써모박터 써모플렉서스(*Methanothermobacter thermoflexus*)(메타노박테리움 써모플렉숨(*Methanobacterium thermoflexum*)), 메타노써모박터 윌페이(*Methanothermobacter wolfei*)(메타노박테리움 윌페이(*Methanobacterium wolfei*)) 및 메타노트릭스 소크제니(*Methanothermobacter soehngenii*)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 실시형태에서, 메탄생성균은 메타노브레브박터 스미시이다. 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 형식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 메탄생성균의 비정상적 존재 또는 부재, 메탄생성균의 비정상적 수준, 메탄생성균의 과성장, 상승된 수준의 메탄생성반응, 상승된 장용 메탄 수준, 수소-소모 메탄생성균에 의한 과량의 수소 포집 또는 비정상적 위치에서(예를 들어, 대장보다는 소장에서) 메탄생성균의 군집화 중 하나 이상을 방지한다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 형식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 메탄생성균, 예컨대 메타노브레브박터 스미시의 과성장 및/또는 과잉으로부터 장 마이크로바이옴을 보호한다.

[0147] 다양한 실시형태에서, 항생제 치료, 예컨대 세프트리악손 치료는 또한 비정상 성장, 예컨대 박테리아 종의 감소 또는 과소대표를 초래할 수 있다. 실시형태에서, 항생제 치료는 투리시박터 종의 감소 또는 과소대표를 초래한다. 예시적인 투리시박터 종은 투시리박터 산구이니스(*T. sanguinis*), 투리시박터 종(*Turicibacter sp*) HGF1, 투리시박터 종 LA61, 투리시박터 종 LA62, 투리시박터 종 HGA0205, 및 투리시박터 종 HGHO181을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 실시형태에서, 박테리아 종은 투시리박터 산구이니스이다. 투리시박터 종의 감소는 개에서의 특발성 염증성 장질환 및 급성 혈성 설사와 관련되었다(Minamoto *et al.*, 2015, Gut Microbes 6(1), 33-47; Rossi *et al.*, 2014, PLoS ONE 9(4), e94699). 따라서, 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 투리시박터 종, 예컨대 투시리박터 산구이니스의 감소 및/또는 과소대표로부터 장 마이크로바이옴을 보호한다.

[0148] 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 장관 내 박테리아의 정상 다양성을 유지하는 작용을 한다. 예를 들어, 이러한 치료는 박테리오티데스, 프로테오박테리아 및 피르미쿠테스의 균형을 유지한다. 일부 실시형태에서, P3A(선택적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 형식으로 제형화됨)는 부조화를 방지하거나 또는 감소시킨다. 일부 실시형태에서, P3A(선택적으로 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 형식으로 제형화됨)는 GI관 내 피르미쿠테스의 박멸 또는 실질적인 감소를 방지하거나 또는 감소시킨다.

[0149] 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 항생제 매개 변화로부터 혐기성 및 조건적 호기성 박테리아종을 보호함으로써 장 마이크로바이옴을 보호한다. 예시적인 혐기성 및 조건적 호기성 박테리아종은 스트렙토코커스 인판타리우스(*S. infantarius*), 박테로이데스파라질리스 불가투스(*B. vulgatus*), 래크노스피라세에 박테리움(*Lachnospiraceae bacterium*), 투리시박터 종, 루미노코커스 그나부스(*R. gnavus*), 비피도박테리움 비피덤(*B. bifidum*), 파라박테로이데스 메르다(*P. merdae*), 알리스티페스 푸트레디니스(*A. putredinis*), 클로스트리듐 종, 클로스트리듐 심비오섬(*C. symbiosum*), 클로스트리듐 하테와이(*C. hathewayi*), 클로스트리듐 시트로니아(*C. citroniae*), 클로스트리듐 라모섬(*C. ramosum*), 클로스트리듐 넥사일(*C. nexile*), 클로스트리듐 디피실, 클로스트리듐 클로스트리다디오폼(*C. clostridioforme*), 이콜라이(*E. coli*), 알리스티페스 종(*Alistipes sp.*), 비피도박테리움 종(*Bifidobacterium sp.*), 엔테로코커스 파에시움(*E. faecium*), 락토바실러스 플란타룸(*L. plantarum*), 엔테로코커스 파에칼리스(*E. faecalis*), 루미노코커스 토르쿠에스(*R. torques*), 락토바실러스 페르멘툼(*L. fermentum*), 클렙시엘라 뉴모니아, 스트렙토코커스 써모필루스(*S. thermophilus*), 파라박테로이데스 디스타소니스(*P. distasonis*), 몰리쿠테스 박테리움(*Mollicutes bacterium*), 엔테로코커스 종(*Enterococcus sp.*), 박테로이데스 종(*Bacteroides sp.*), 루미노코커시에 박테리움(*Ruminococcaceae bacterium*), 클로스트리디알레스 박테리움(*Clostridiales bacterium*), 클렙시엘라 종(*Klebsiella sp.*), 락토코커스 락티스(*L. lactis*), 아나에로스티페스 카카에(*A. caccae*) 및 엔테로코커스 갈리나룸(*E. gallinarum*)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0150] 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 장 내 그램 양성/그램 음성

미생물의 적절한 비를 유지할 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 장 내 그램 양성 미생물 과잉을 유지할 수 있다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 변형 방출 방식으로 선택적으로 제형화된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체)는 장 내 그램 음성 미생물의 수를 감소시킬 수 있다.

- [0151] 다양한 실시형태에서, 본 발명은 환자의 장 내 다양한 대장균(악성 및/또는 항생제 내성인 대장균형을 포함)의 과성장을 완화시키거나 또는 방지하는 조성물 및 방법을 제공한다. 다양한 양상에서, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물은 내성 유기체에 의한 2차 감염을 방지하거나 또는 감소시키고, 일부 실시형태에서, 베타-락탐 내성 발생을 줄인다. 추가로, 본 명세서에 기재된 방법 및 조성물은 내성 우려 때문에 현재 회피되는 베타-락탐 항생제의 사용을 허용할 수 있고/있거나 1종 이상의 베타-락타마제 저해제와의 공동 투여 또는 공동 제형화(예를 들어, 오그멘틴(AUGMENTIN)은 아목실린과 클라불린산의 혼합물임)에 대한 필요를 감소시킬 수 있다.
- [0152] 다양한 양상에서, 본 발명은 급성 혈성 설사를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 다양한 양상에서, 본 발명은, 예를 들어, 특발성 염증성 장질환을 포함하는 염증성 장질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 다양한 양상에서, 본 발명은 변비, 과민성 장 증후군 및 비만 중 하나 이상을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.
- [0153] 다양한 양상에서, 본 발명은 치료 또는 예방이 필요한 환자에게 본 명세서에 기재된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 일 양상에서, 본 발명은 예방이 필요한 환자(비제한적 예로서, 본 명세서에 기재된 것을 포함하는 항생제를 투여 중인 환자 또는 투여할 환자)에게 본 명세서에 기재된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 예방하는 방법을 제공한다.
- [0154] 일부 실시형태에서, 본 발명은 예방이 필요한 환자에게 본 명세서에 기재된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 유효량의 변형-방출 제형을 투여하는 단계를 포함하는 클로스트리듐 디피실 감염(CDI) 및/또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환을 예방하는 방법에 관한 것이되, 환자는 주요 항생제에 의한 요법을 받고 있고, 주요 항생제는 세프트리악손, 세포타믹, 세파졸린, 세포페라존, 세푸록심 및 피페라실린 중 하나 이상이며, 정맥내로 투여된다. 일부 실시형태에서, 환자는 메트로니다졸, 반코마이신, 피닥소마이신, 리팍시민, 분변 박테리아요법, 프로바이오틱 요법 및 항체 요법 중 하나 이상인 초기 및/또는 보조 요법에 의한 치료를 받고 있지 않다.
- [0155] 다양한 실시형태에서, 항생제-유도 유해 효과 및/또는 CDI 또는 클로스트리듐 디피실-관련 질환은 항생제-관련 설사, 클로스트리듐 디피실 설사(*C. difficile* diarrhea: CDD), 클로스트리듐 디피실 장 염증 질환, 대장염, 가막성 대장염, 발열, 복통, 탈수 및 전해질 장애, 거대결장, 복막염 및 결장의 천공 및/또는 파열 중 하나 이상이다.
- [0156] 다양한 실시형태에서, CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환은 초기 개시 또는 다시 생김/재발(예를 들어, 계속된 또는 재개된 항생제 요법에 기인함)과 관련하여 치료 또는 예방된다. 예를 들어, CDI로 이전에 고통 받은 환자에서, 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 본 변형-방출 제형은 재발의 첫 번째 증상 시 투여될 수 있다. 비제한적 예로서, 재발 증상은 경증의 경우에, 1일에 약 5 내지 약 10회의 수성 변통, 상당한 발열 없음, 및 단지 경증의 경련성 복통을 포함하는 반면, 혈액 검사는 백혈구 수가 약 15,000개까지 약하게 상승됨을 나타낼 수 있고(정상 수준은 약 10,000개까지임), 중증의 경우에, 1일당 약 10회 초과와 물변, 구역, 구토, 고열(예를 들어, 약 102 내지 104°F), 직장 출혈, 중증의 복통(예를 들어, 압통 있음), 복부팽만, 및 높은 백혈구 수(예를 들어, 약 15,000 내지 약 40,000개)를 나타낸다.
- [0157] 초기 개시 또는 다시 생김/재발과 상관없이, CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환은 본 명세서에 기재된 임의의 증상(예를 들어, 2일 이상 동안 하루에 약 3회 이상의 물 설사, 배에서의 경증 내지 악화된 경련 및 통증, 발열, 대변의 혈액 또는 농, 구역, 탈수, 식욕상실, 체중감소 등)을 통해 진단될 수 있다. 초기 개시 또는 다시 생김/재발과 상관없이, CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환은 또한 효소 면역분석(예를 들어, 클로스트리듐 디피실 유기체에 의해 생성되는 클로스트리듐 디피실 독소 A 또는 B 항원 및/또는 글루타민 탈수소 효소(GDH)를 검출하기 위함), 중합효소 연쇄 반응(예를 들어, 클로스트리듐 디피실 독소 A 또는 B 유전자 또는 이의 일부(예를 들어, *tcdA* 또는 *tcdB*)를 검출하기 위함, 일루미진 램프(ILLUMIGENE LAMP) 분석을 포함함), 세

포 독성 분석을 통해 진단될 수 있다. 예를 들어, 임의의 다음의 시험을 사용할 수 있다: 머리디언 이뮤노카드 (Meridian ImmunoCard) 독소 A/B; 왓폴 독소 A/B 퀵 체크(Quik Chek); 왓폴 클로스트리듐 디피실 퀵 체크 컴플리트 (Wampole C. diff Quik Chek Complete); 레멜 엑스펙트(Remel Xpect) 클로스트리듐 디피실 독소 A/B; 머리디언 프리미어 독소(Meridian Premier Toxins) A/B; 워폴 클로스트리듐 디피실 독소 A/B II; 레멜 프로스펙트 독소 (Remel Prospect Toxin) A/B EIA; 비오메리외 비다스(Biomerieux Vidas) 클로스트리듐 디피실 독소 A&B; BD 게놈 클로스트리듐 디피실; 프로데세 프로가스트로 CD(Prodesse Progastro CD); 및 세펠드 엑스퍼트 클로스트리듐 디피실(Cepheid Xpert C. diff.). 다양한 실시형태에서, 임상 샘플은 환자 대변 샘플이다.

[0158] 또한 결장의 이미지를 제공하는 신축성 S상결장 검사법 "스코프" 검사 및/또는 복부 X-선 및/또는 컴퓨터 단층 촬영(CT) 스캔은 환자를 평가하는 데 사용될 수 있다(예를 들어, 결장벽에 부착된 특징적인 크립같은 백색 또는 황색 플라크를 찾음). 추가로, (예를 들어, GI 관의 임의의 영역)생검은 잠재적 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환 환자를 평가하는 데 사용될 수 있다.

[0159] 더 나아가, 본 발명의 방법은 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환에 대한 특정 위험에 있는 환자, 예컨대 과거 30일 정도 동안 항생제를 취하였거나(예를 들어, 만성 질환으로부터) 쇠약해진 면역계를 갖고/갖거나 여성이고/이거나 노인(예를 들어, 약 65세 이상)이고/이거나 노인 여성이고/이거나 속쓰림 또는 위산 장애(예를 들어, 프레바시드(PREVACID), 타가메트(TAGAMET), 프리로섹(PRILOSEC) 또는 넥시움(NEXIUM) 및 관련 약물과 같은 제제를 이용)에 대한 치료를 받고 있고/있거나 최근에 중환자실을 포함하는 병원에 있었거나, 또는 양로원에 살고 있는 환자를 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 원내 감염 및/또는 2차 신생 감염 및/또는 병원 감염(HAI)을 치료 또는 예방한다.

[0160] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 1종 이상의 항생제에 의한 치료를 받고 있거나 또는 최근에 받은 환자에 관한 것이다. "주요 항생제"는 환자에게 투여되고, CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환을 초래할 수 있는 항생제를 지칭한다. 이들은 가장 흔하게는 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환을 야기하는 항생제(플루오로퀴놀론, 세팔로스포린, 클린다마이신 및 페니실린)를 포함한다.

[0161] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 소장 및/또는 대장을 포함하는 GI 관 내로 주요 항생제가 유입되기 전에 주요 항생제를 가수분해하는 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 변형-방출 제형에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 주요 항생제가 대장 내로 유입되기 전에 주요 항생제를 가수분해하는 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 변형-방출 제형에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 GI 관 내 과량의 항생제 잔사를 가수분해하는 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 환자의 GI 관에서 정상 장 미생물상을 유지하고/하거나 1종 이상의 병원성 미생물의 과성장을 방지하는 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형에 관한 것이다. 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 환자의 GI 관에서 정상 장 미생물상을 유지하고/하거나 1종 이상의 유익한 미생물의 감소를 방지하는 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형에 관한 것이다. 다양한 실시형태에서, 베타-락타마제 및/또는 약제학적 조성물(및/또는 추가적인 제제)은 주요 항생제의 혈장 수준을 실질적으로 방해하지 않는다. 예를 들어, 본 발명의 베타-락타마제 및/또는 약제학적 조성물(및/또는 추가적인 제제)은 환자가 감염에 필요하고 항생제의 전신 효율을 방해하지 않는 주요 항생제를 받게 한다. 오히려, 베타-락타마제 및/또는 약제학적 조성물(및/또는 추가적인 제제)은 GI 관의 부분에 모여있을 수 있는 과량의 항생제를 비활성화시키고, 그렇게 해서 본 명세서에 기재된 다양한 질환과 연결된 미생물상의 붕괴를 방지한다.

[0162] 다양한 실시형태에서, 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 본 발명의 변형-방출 제형은 전신으로 흡수되지 않는다. 다양한 실시형태에서, 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형은 전신으로 투여된 항생제의 활성을 실질적으로 방해하지 않는다. 다양한 실시형태에서, 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형은 마이크로바이옴(예를 들어, 대장을 포함하는 장)의 미생물상을 방해하는 것으로부터 항생제를 제거하는 작용을 한다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형은 항생제 순환의 반감기를 충분히 변경하기 위해 장으로부터의 및/또는 장과 간으로의 항생제 흡수를 방해하지 않는다. 일부 실시형태에서, 베타-락타마제(및/또는 추가적인 제제)를 포함하는 변형-방출 제형은 임상적으로 중요하게 되기에 충분히 장으로부터 및/또는 장과 간으로의 항생제 흡수를 방해하지 않는다.

- [0163] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 초기 및/또는 보조 요법이 대상체에게 투여되는 것을 포함한다. 초기 및/또는 보조 요법은, 예를 들어, 마이크로바이옴-매개 장애 또는 질환을 치료하기 위해 이러한 장애 또는 질환의 검출 시 사용되는 요법을 나타낸다. 실시형태에서, 초기 및/또는 보조 요법은 CDI 및/또는 클로스트리듐 디피실 관련 질환을 치료하기 위해 이러한 질환의 검출 시 사용되는 요법을 나타낸다. 일부 실시형태에서, 초기 및/또는 보조 요법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 메트로니다졸, 반코마이신, 피다소마이신, 리팍시민, 차콜 계 결합제/흡착제, 분변 박테리아요법, 프로바이오틱 요법, 및 항체 요법 중 하나 이상이다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 임의의 이들 초기 및/또는 보조 요법(공동 투여 또는 순차적 투여를 포함)에 대한 보조제로서 본 명세서에 기재된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 변형-방출 제형의 용도를 포함한다. 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법 및 용도는 초기 및/또는 보조제 요법을 받는 대상체에서 본 명세서에 기재된 베타-락타마제(예를 들어, P3A 또는 본 명세서에 기재된 다른 베타-락타마제 제제, 및 이들의 변이체) 및/또는 추가적인 치료제를 포함하는 변형-방출 제형의 용도를 포함한다.
- [0164] 다양한 실시형태에서, 본 용도 및 방법은 본 명세서에 기재된 베타-락타마제 및 임의의 추가적인 치료제를 포함하는 변형-방출 제형 및/또는 임의의 초기 및/또는 보조 요법과의 공동 치료(동시에 또는 순차적으로), 또는 본 명세서에 기재된 베타-락타마제 및 임의의 추가적인 치료제를 포함하는 변형-방출 제형의 공동 제형화에 의한 치료 및/또는 본 명세서에 기재된 다양한 질환의 치료를 위한 임의의 초기 및/또는 보조 요법, 또는 환자에게 베타-락타마제를 포함하는 변형-방출 제형을 투여함으로써 본 명세서에 기재된 임의의 추가적인 제제 및/또는 본 명세서에 기재된 임의의 초기 및/또는 보조 요법에 의한 치료를 받고 있는 환자에서 본 명세서에 기재된 다양한 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0165] 일부 실시형태에서, 용어 "환자" 및 "대상체"는 상호 호환적으로 사용된다. 일부 실시형태에서, 대상체 및/또는 동물은 포유류, 예를 들어, 인간, 마우스, 래트, 기너픽, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 토끼, 양 또는 비-인간 영장류, 예컨대, 원숭이, 침팬지 또는 개코원숭이이다. 다른 실시형태에서, 대상체 및/또는 동물은 비포유류, 예를 들어, 제브라피시이다. 일부 실시형태에서, 대상체 및/또는 동물은 (예를 들어, GFP로) 형광 태그된 세포를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 대상체 및/또는 동물은 형광 세포를 포함하는 유전자이식 동물이다.
- [0166] 다양한 실시형태에서, 본 발명의 방법은 인간 대상체의 치료에서 유용하다. 일부 실시형태에서, 인간은 소아 인간이다. 다른 실시형태에서, 인간은 성인 인간이다. 다른 실시형태에서, 인간은 노인 인간이다. 다른 실시형태에서, 인간은 환자로서 지칭될 수 있다. 일부 실시형태에서, 인간은 여성이다. 일부 실시형태에서, 인간은 남성이다.
- [0167] 특정 실시형태에서, 인간은 연령이 약 1 내지 약 18개월령, 약 18 내지 약 36개월령, 약 1 내지 약 5세, 약 5 내지 약 10세, 약 10 내지 약 15세, 약 15 내지 약 20세, 약 20 내지 약 25세, 약 25 내지 약 30세, 약 30 내지 약 35세, 약 35 내지 약 40세, 약 40 내지 약 45세, 약 45 내지 약 50세, 약 50 내지 약 55세, 약 55 내지 약 60세, 약 60 내지 약 65세, 약 65 내지 약 70세, 약 70 내지 약 75세, 약 75 내지 약 80세, 약 80 내지 약 85세, 약 85 내지 약 90세, 약 90 내지 약 95세 또는 약 95 내지 약 100세 범위이다.
- [0168] 키트
- [0169] 본 발명은 본 명세서에 기재된 변형-방출 제형의 투여를 단순화할 수 있는 키트를 제공한다. 키트는 본 명세서에 기재된 변형-방출 제형 중 적어도 하나를 포함하는 물질 또는 성분의 집합체이다. 키트에서 구성된 성분의 정확한 특성은 그의 의도된 목적에 의존한다. 일 실시형태에서, 키트는 인간 대상체를 치료하는 목적을 위해 구성된다.
- [0170] 사용을 위한 설명서가 키트에 포함될 수 있다. 사용을 위한 설명서는 전형적으로 목적으로 하는 결과에 영향을 미치기 위해, 예컨대 본 명세서에 기재된 장애를 치료하기 위해 키트의 구성성분을 이용하는 데 사용될 기법을 설명하는 실재하는 표현을 포함한다. 선택적으로, 키트는 또한 다른 유용한 구성성분, 예컨대, 희석제, 완충제, 약제학적으로 허용 가능한 담체, 주사기, 카테터, 도포기, 피펫 또는 측정 도구, 붓대 재료 또는 당업자에 의해 용이하게 인식될 다른 유용한 용품을 수용한다.
- [0171] 키트에서 조립되는 물질 및 구성성분은 작업성 및 효용을 보존하는 임의의 편리하고 적합한 방법으로 실행자의 저장소에 제공될 수 있다. 예를 들어, 구성성분은 실온, 냉장 또는 냉동 온도로 제공될 수 있다. 구성성분은 전형적으로 적합한 패키징 물질 내에 수용된다. 다양한 실시형태에서, 패키징 물질은 바람직하게는 멸균, 무 오염 물질 환경을 제공하기 위해 잘 공지된 방법에 의해 구성된다. 패키징 물질은 키트 및/또는 그의 구성성분의 내

용물 및/또는 목적을 나타내는 라벨을 가질 수 있다.

[0172] 실시예

[0173] 실시예 1: P3A 지연-방출 펠렛 및 캡슐의 제조

[0174] P3A 장용-코팅된 펠렛을 포함하는 P3A 제형을 생산하였다. 펠렛을 생산하기 위해, P3A를 수크로스 코어 상에 분무 코팅하고 나서, 장용층, 즉, 유드라짓 L30 D-55로 분무 건조시켜 위의 산성 조건으로부터 P3A 활성 약제학적 성분을 보호하였다. 소장에서 pH가 5.5 이상으로 상승되었을 때, 유드라짓 L30 D55 중합체는 탈중합화를 시작하고, 따라서 펠렛으로부터 활성 약물을 방출한다.

[0175] P3A 장용-코팅된 펠렛을 포함하는 지연 방출 캡슐을 도 1A에 도시한 바와 같은 GMP 공정에서 제조하였다. 구체적으로, P3A 지연 방출 캡슐의 GMP 제조는 하기를 포함하는 3단계 순차적 공정이었다: 1) 분무 적용에 의한 수크로스 코어 펠렛 상에서의 P3A 약물 증상화, 2) 분무 적용을 이용하여 유드라짓(등록상표) L 30 D-55에 의한 장용 코팅, 및 3) 경질 젤라틴 캡슐 크기 0으로 펠렛의 캡슐화.

[0176] 결합제 부형제로서 하이드록시프로필셀룰로스(HPC), 용매로서 물 및 출발물질로서 수크로스 구체를 이용하여 P3A 약물 물질의 분무 적용에 의해 P3A 증상화 펠렛을 생산하였다. 적어도 15% 백분율의 최종 활성 약제학적 제제(API)를 달성하기 위해 6회 작업 이동을 거쳐서 유동층 시스템을 이용하여 분무 적용을 수행하였다. P3A/HPC 혼합물의 분무 적용의 6번째 이동 후에, P3A 증상화 펠렛을 트레이 상에서 실온에서 밤새 건조시키고, 이어서, 폴리에틸렌(PE) 백 및 PE 용기에서 벌크 패키징하기 전에 1.4mm 체를 통해 체질하였다. 약물-증상화 펠렛을 추가 가공을 위해 5±3°C에서 저장하였다. 결합제 부형제로서 하이드록시메틸셀룰로스(HMC)를 사용하기 위한 시도는 성공적이지 않았는데, 이것이 추가로 가공(예를 들어, 분무 건조)될 수 없는 얇게 벗겨지는 펠렛을 생성하기 때문임을 주목한다.

[0177] 후속적 공정에서, P3A 증상화 펠렛을 장용 중합체로서 메타크릴산 에틸 아크릴레이트 공중합체(유드라짓(등록상표) L 30 D-55), 가스제로서 트라이에틸시트레이트, 활택제로서 글리세릴 모노스테아레이트, 유화제로서 폴리솔베이트-80 및 희석제로서 물로 코팅하였다. 단일 작업 이동에서 유동층 시스템을 이용하여 코팅을 수행하였다. 장용 코팅된 P3A 증상화 펠렛을 트레이 상에서 실온에서 밤새 건조시키고, PE 백 및 PE 용기에서 벌크 펠렛으로서 패키징 전에 1.6mm 체를 통해 체질하였다. 장용 코팅된 P3A 증상화 펠렛을 추가 가공을 위해 5±3°C에서 저장하였다.

[0178] 캡슐 수송체 및 크기 0 캡슐을 충전하기 위한 투약 단위를 지니는 자동 캡슐 충전기를 이용하여 장용 코팅된 P3A 증상화 펠렛을 경질 젤라틴 캡슐로 캡슐화하였다. 최종 P3A 지연 방출 캡슐, 75mg을 PE 백 및 PE 용기 내 벌크 약물 제품으로서 패키징하고 나서, 수송 준비를 위해 5±3°C에서 저장하였다.

[0179] P3A 지연 방출 캡슐, 25mg을 제조하기 위한 별도의 수동 공정에서, 크기 0 캡슐을 충전하기 위해 분석 저울, 캡슐 충전 깔때기를 이용하여 장용 P3A 증상화 펠렛을 경질 젤라틴 캡슐로 캡슐화하였다. 최종 P3A 지연 방출 캡슐, 25mg을 PE 백 및 PE 용기 내 벌크 약물 제품으로서 패키징하고 나서, 수송 준비를 위해 5±3°C에서 저장하였다.

[0180] 유도 밀봉과 함께 38mm 폴리프로필렌(PP) 어린이 안전 마개를 지니는 100cc 고밀도 폴리에틸렌(HDPE) 둥근 보틀에서 임상 시험 및 안정성 연구에서 사용하도록 의도된 P3A 지연 방출 캡슐을 패키징하였다.

[0181] 제조 동안, 표 1에 나타낸 바와 같은 공정 중 대조군의 목록을 P3A 지연 방출 캡슐, 75mg 및 25mg에 대해 사용하였다. 이들 시험을 캡슐화 전에 제조한 P3A 지연 방출 펠렛 상에서 수행하였다.

표 1

P3A 지연 방출 캡슐 제어 공정 중 대조군			
시험	공정 중 단계	시험 방법	사양
외관	장용 코팅 후	시각적	백색 내지 약간 노르스름한, 구체 및 균일한 크기의, 자유 유동성
입자 크기 분포	장용 코팅 후	USP	보고
센타(CENTA) 분석에 의한 생물학적 활성	장용 코팅 후	QKY24701	12.6-19.0% (80 내지 120% 라벨 표시)

[0183] 대조군으로서, P3A 지연 방출 캡슐과 본질적으로 동일한 공정을 이용하여 위약 완충제를 함유하는 위약 캡슐을 또한 생산하였다. 구체적으로, P3A 지연 방출 캡슐, 75mg 약물 제품과 유사한 배취 기록에 따라 위약 캡슐을 제조하였다.

[0184] 최종 위약 캡슐을 PE 백 및 PE 용기 내 벌크 제품으로서 포장하고, 수송 준비를 위해 5±3°C에서 저장하였다. 임상 시험에서 사용하는 것으로 의도되는 위약 캡슐을 유도 밀봉과 함께 38mm PP 어린이 안전 마개를 지니는 100cc HDPE 등근 보틀에서 패키징하였다.

[0185] 위약 캡슐의 제조 동안, 표 2에 나타난 공정중 대조군의 목록을 또한 사용하였다. 캡슐화 전에 위약 펠렛 상에서 시험을 수행하였다.

표 2

[0186]

시험	공정 중 단계	시험 방법	사양
외관	장용 코팅 후	시각적	백색 내지 약간 노르스름한, 구체 및 균일한 크기의, 자유 유동성
입자 크기 분포	장용 코팅 후	USP	보고
센타(CENTA) 분석에 의한 생물학적 활성	장용 코팅 후	QKY24701	≤ 검출 한계 (<1%의 라벨 표시)

[0187] 추가로, 제조업자에 의한 펠렛의 최종 캡슐화를 제외하고, P3A 지연 방출 펠렛의 비-GMP 배취를 도 1A에 기재한 바와 동일한 공정 흐름을 이용하여 비임상 용도를 위해 제조하였다. 대신에, 벌크 P3A 지연 방출 펠렛을 시험하고 벌크로 저장하였다. 비임상적 용도에 대한 방출 시험에 후속적으로, 비-GMP 배취를 크기 0 경질 젤라틴 캡슐에서 캡슐화하고, 안정성 연구에 배치하였다.

[0188] *실시예 2: P3A 지연 방출 펠렛 및 캡슐의 조성 및 외관*

[0189] P3A 투여형은 지연 방출 펠렛으로 충전한 경질 젤라틴 캡슐 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐이다. 캡슐은 불투명한 백색 또는 백색이고, 크기가 0이다. 지연 방출 캡슐은 부형제에서 P3A 약물 물질의 내부층으로 코팅된 수크로스 구체 및 부형제에서 pH 민감성 장용 외피로 구성된 펠렛을 함유한다. 펠렛은 pH가 5.5 초과로 상승함에 따라 상부 소장에서 용해되기 시작해서 약물 물질을 방출하도록 설계된다.

[0190] P3A 지연 방출 캡슐(75mg 및 25mg 강도) 및 위약 캡슐 내 성분 및 양의 목록을 표 3에서 제공한다. 75mg 및 25mg 강도 P3A 지연 방출 캡슐에 대해, 동일한 제조 배취로부터의 펠렛을 목적으로 하는 캡슐 강도로 캡슐화시켰고, 따라서 각각의 성분의 백분율은 동일하다. 위약 캡슐에 대해, P3A 지연 방출 캡슐, 75mg 약물 제품의 유도 라짓(등록상표) L 30 D-55 장용 코팅 부형제(20.8%) 수준을 매칭하도록 위약 펠렛을 캡슐화하였다.

표 3

[0191]

성분	75mg 캡슐		25mg 캡슐		위약 캡슐	
	mg	총%	mg	총%	mg	총%
수크로스 구체	110.8	23.3	36.9	23.3	139.8	29.5
하이드록시프로필셀룰로스	166.3	35.0	55.4	35.0	209.6	44.2
유드라짓(등록상표) L 30 D-55	98.9	20.8	33.0	20.8	98.7	20.8
P3A	75.0	15.8	25.0	15.8	-	-
완충제 염	7.5	1.6	2.5	1.6	9.4	2.0
글리세릴 모노스테아레이트	4.9	1.0	1.6	1.0	4.9	1.0
폴리솔베이트-80	2.0	0.4	0.7	0.4	2.0	0.4
트라이에틸 시트레이트	9.9	2.1	3.3	2.1	9.9	2.1
소계	475.3	100.0	158.4	100.0	474.3	100.0
경질 젤라틴 캡슐 #0 또는 하이드록시프로필 메틸셀룰로스(HPMC) 캡슐	96.0		96.0		96.0	
총	571.3		254.4		570.3	

[0192] P3A 지연 방출 펠렛 및 캡슐의 대표적인 사진을 도 1B에 나타낸다. 펠렛은 부드러운 외관을 지니는 직경이 1.0 내지 1.3mm인 균일한 구체였다. 크기 0 캡슐을 펠렛으로 충전하였다. 각각의 캡슐은 총 대략 571mg에 대해 대략 475mg 중량의 활성 펠렛 약물 제품 + 96mg 빈 캡슐 중량을 지니는 대략 75mg의 P3A(15 내지 16% P3A/펠렛)를 함유하였다.

[0193] 실시예 3: 인간 유미즙에서 P3A 지연 방출 펠렛의 pH 용해 프로파일 및 P3A 지연 방출 펠렛의 안정성

[0194] 장용-코팅 P3A 펠렛(실시예 1 및 2에서 제형화한 바와 같음)을 2시간 동안 0.1M HCL 용액에서 보유한 다음, 15 내지 240분에 pH가 5.5, 5.8 또는 6.8인 완충제 중에서 인큐베이션시켰다. pH 5.5 및 5.8 샘플에 대해 15, 30 및 45분에, 그리고 45분, 1, 2, 3 및 4시간에, 그리고 pH 6.8 샘플에 대해 1, 2, 3 및 4시간에 분취액을 취하였다. 센타 크로마제닉 분석을 이용하여 모든 샘플 분취액을 베타-락타마제 활성에 대해 분석하였다.

[0195] 도 2에 나타낸 바와 같이, P3A 장용-코팅된 펠렛을 낮은 pH에서 보호한 반면, 5.5 초과의 pH에서 용해가 일어났는데, pH 5.8 및 6.8은 pH 5.5보다 더 빠른 용해를 나타낸다.

[0196] 실시예 4: 인간 유미즙에서 P3A 지연 방출 펠렛의 안정성

[0197] 인간 유미즙 중의 P3A 펠렛(실시예 1 및 2에서 제형화한 바와 같음)의 안정성을 37°C에서 평가하였다. 구체적으로, P3A 펠렛을 5종의 상이한 유미즙 표본에서 인큐베이션하였다. 분취액을 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 및 6시간에 취하고 나서, 센타(CENTA) 베타-락타마제 기질을 이용하여 베타-락타마제 활성을 측정하였다. 표 4는 사용한 5가지 유미즙 샘플의 특징을 나타낸다.

표 4

[0198]

유미즙 표본			
표본	pH	액체%	프로테아제 활성(mU/mL)
유미즙 1	6.42	55	5.57
유미즙 2	5.98	57	8.96
유미즙 3	5.58	57	6.63
유미즙 4	6.26	66	6.21
유미즙 5	6.56	78	6.56

[0199] 최고 활성의 시간에 대한 활성 백분율을 각각의 유미즙에서 각각의 복제 분석에 대해 계산하였고, 값을 그래프 패드 프리즘 5.0을 이용하여 플롯팅하였다. P3A 베타-락타마제 활성의 방출 및 상대적 안정성을 나타내는 모든 유미즙 표본에 대해 각각의 시점에 측정된 흡광도 405nm(ΔA_{405})에서의 평균 상대적 변화를 도 3에 제시한다.

[0200] 도 3에서 나타내는 바와 같이, P3A 베타-락타마제 활성은 모든 미가공 유미즙 표본에서 평가하였을 때 상대적으로 안정하였고, 인큐베이션 6시간 후에 전체 활성의 50% 미만이 상실되었다. 5개 유미즙 표본 중 4개에서 30분 내에 최고 활성을 검출하였는데, 이는 유미즙 샘플에서 인큐베이션의 처음 30분 내에 이들 펠렛이 완전히 용해되었음을 나타낸다. 인간 유미즙에서, P3A 펠렛은 30 내지 60분 내에 빠른 용해를 나타내었다. 고수준 P3A 활성은 적어도 6시간 동안 관찰되었는데, 이는 인간 유미즙에서의 P3A 효소 활성을 입증한다.

[0201] 인간 유미즙에서의 P3A의 안정성을 미가공 유미즙과 정화 유미즙 표본 둘 다에서 평가하였다. 유미즙 표본 내 37°C에서 P3A의 인큐베이션을 각각의 유미즙 표본(1 내지 5) 및 혼합 유미즙 기질에 대해 3회 중복해서 수행하였다. 샘플을 0, 30, 60, 120, 180, 240, 300 및 360분에 제거하였고, 센타 베타-락타마제 기질을 이용하여 베타-락타마제 효소 활성에 대해 분석하였다. 유미즙/P3A 표본의 베타-락타마제 활성을 반응의 처음 순간(선형 부분)에서 분 당 405nm에서의 흡광도 변화($\Delta A_{405}/\text{분}$)에 기반하여 결정하였다. $\Delta A_{405}/\text{분}$ 값을 결정된 경로 길이로 나눔으로써 $\Delta A_{405}/\text{분}$ 값을 1cm 경로 길이에 대해 정규화하였다. 각각의 유미즙 표본에 대한 개개 복제물의 정규화된 $\Delta A_{405}/\text{분}$ 값의 평균을 사용하여 각각의 시점에 상대적 베타-락타마제 활성을 계산하였다.

[0202] 표 5에 나타낸 바와 같이, P3A 베타-락타마제 활성은 정화한 유미즙 1에서 최소 안정성이었는데, 반감기 243분을 나타내었다. 다른 기질에서 상대적 안정성은 유미즙 2, 4, 5 및 혼합된 유미즙에 대해 5시간(300분) 초과 및 유미즙 3에 대해 6시간(360분) 초과였다.

표 5

정화 유미즙에서 P3A 베타-락타마제 활성의 반감기

기질	T _{1/2} (분)
유미즙 1	243
유미즙 2	342
유미즙 3	394 ^(a)
유미즙 4	334
유미즙 5	328
혼합된 유미즙	325

[0203]

[0204]

(a) 120분(활성의 감소가 처음으로 관찰되기 바로 전의 시점) 내지 360분에 활성 백분율의 선형 회귀에 의해 만들어진 선형 식 $y = -0.1621x + 113.94$ 로부터 유미즙 3 표본에 대한 반감기를 추론하였다.

[0205]

실시예 5: 세프트리아손의 P3A 펠렛 매개 분해

[0206]

P1A 또는 P3A(SYN-004)를 함유하는 제형화된 펠렛의 베타-락타마제 효소 활성을 기질로서 세프트리아손으로 시험관내 생화학적 분석을 이용하여 결정하였다. 실시예 1 및 2에서 앞서 기재한 바와 같이 펠렛을 제형화하였다. 구체적으로, 50mM 인산칼륨 완충제 6.8 완충제 중에서 제형화된 펠렛(수크로스 코어 상에 분무 건조되고, 이어서, 보호 장용 코팅에 의해 분무 건조된 P1A 또는 P3A 약물 물질을 이용하여 제조된 펠렛)으로부터 P1A 및 P3A를 용해시켰다. 용해 완충제 중의 P1A 및 P3A의 농도를 HPLC 분석 방법에 의해 결정하였고, 용해된 펠렛의 베타-락타마제 효소 활성을 시험관내 생화학적 분석을 이용하여 세프트리아손의 가수분해에 대해 평가하였다.

[0207]

도 5에 나타난 바와 같이, P3A(SYN-004로도 불림)는 P1A보다 세프트리아손의 3.4배 더 큰 촉매 속도를 입증하였는데, P3A의 3가지 농도에서 평균 k_{cat} 값 139sec⁻¹를 P1A에 대한 평균 k_{cat} 값 40.9sec⁻¹과 비교하였다. 세프트리아손의 가수분해에 대한 P1A 및 P3A 용해 물질의 활성은 각각의 베타-락타마제에 대한 각각의 약물 물질 기준 표준의 활성과 비슷하였다.

[0208]

실시예 6: P3A-매개 마이크로바이옴 보호

[0209]

세프트리아손(CRO)-유도 손상으로부터 장 마이크로바이옴을 보호하는 P3A의 능력을 인간화된 돼지에서의 예비 연구에서 평가하였다. 연구 설계 및 시각표를 각각 도 7 및 도 8에 나타낸다.

[0210]

5일령 무균 돼지의 위장(GI) 관에서 인간 성인 대변 미생물상이 집단을 이루었다. 2일 후에, 동물은 4일 동안 항생제(클린다마이신 또는 CRO, IP, 50mg/kg)를 받았다. CRO 투여 전날에 시작해서 7일 동안 1일 4회(75mg/용량) 경구로 P3A를 전달하였다. 구체적으로, 실시예 1 및 2에 기재한 바와 같은 P3A 지연 방출 캡슐을 동물에 투여하였다. 클로스트리듐 디피실(2.6×10^6 cfu)을 제13일에 모든 동물에 대해 경구로 전달하였다. 대변을 멸균 면봉을 이용하여 제11일, 제12일, 제14일, 제18일, 제20일에 직장에서부터 직접적으로 수집하고, 제21일에 검시 시 장관으로부터 직접적으로 수집하였다. DNA를 대변으로부터 단리시키고 나서, 16S rRNA 유전자 V1V2 영역의 고속대량 처리를 실시하여 마이크로바이옴 변화를 모니터링하였다. CRO에는 민감하지만, 클린다마이신에는 민감하지 않은 것으로 예상되는 특정 박테리아 집단(프로테오박테리아문을 포함하는 암피실린-내성 호기성균)의 수준을 LB+amp 플레이트 상에서 동일한 양의 제21일 대변을 플레이팅함으로써 평가하였다. 클로스트리듐 디피실 감염(CDI)의 측정으로서 ELISA를 통해 대변 클로스트리듐 디피실 독소 A 및 인터류킨-8(IL8)을 평가하였다. 제21일에 검시 시 수집한 장관을 CDI 징후에 대해 조직학적으로 평가하였다.

[0211]

CDI를 대표하는 조직병리학의 결여 및 클로스트리듐 디피실 독소 A 및 IL8에 대한 음성 ELISA 결과, 및 클로스트리듐 디피실에 대한 음성 대변 배양물에 기반하여, 전형적인 CDI의 증거를 나타낸 동물은 없었다. 두 동물(그룹 1로부터의 돼지 9 및 그룹 2로부터의 돼지 8)은 병약하였다. 돼지 9는 체중 증가가 없었고, 돼지 8은 빈사 상태였고, 클로스트리듐 디피실 감염 후 제14일에 안락사시켰다. 그러나, 돼지 8에서 또는 임의의 연구 동물에서 CDI는 확인되지 않았다.

[0212]

제14일에 수집한 대변 DNA 샘플 중에 존재하는 박테리아의 문-수준의 분류학적 분류를 도 9에 나타낸다. 그룹 1은 돼지 2만을 나타내었고, 돼지 9는 잘 자라지 못하였다. 그룹 1(항생제 없음)과 그룹 4(CRO + P3A, 즉, SYN-004)는 유사하게 보이며, 박테로이데테스, 프로테오박테리아, 페르미쿠테스에 의해 양호한 표시를 나타낸 반면,

그룹 2(클린다마이신) 및 그룹 3(CRO 단독)은 피르미쿠테스의 제시가 전혀 또는 거의 없이 크게 우세한 문으로서 박테로이테테스와외의 불균형을 나타내었다. LB+amp 데이터(도 10A 및 도 10B)는 이들 발견을 제공하는데, 그룹 1, 그룹 2 및 그룹 4는 유사한, 고수준을 나타낸 반면, 그룹 3(CRO 단독)은 적어도 2 log 더 낮은 수준을 나타내었기 때문에, 프로박테리아 집단의 감소를 시사한다. 특히, 클린다마이신(그룹 2)은 프로테오박테리아 문을 포함하는 압피실린-내성 호기성 균에 영향을 미치는 것으로 예상되지 않으며, 피르미쿠테스 문을 포함하는 혐기성 박테리아를 주로 사멸시켰다. 그룹 1, 2 및 4에 존재하는 프로테오박테리아 수준은 유사하였고(도 9), 피르미쿠테스는 그룹 2 마이크로바이옴이 없었는데, 이는 가설과 일치된다.

[0213] 이들 데이터는 P3A가 인간 마이크로바이옴을 보호할 수 있고, 베타-락탐 항생제를 받는 환자에서 CDI를 포함하는 항생제-매개 마이크로바이옴 손상을 방지하도록 설계된 예방적 요법을 이용할 수 있다는 것을 입증한다.

[0214] 실시예 7: P3A-매개 마이크로바이옴 보호의 게놈 분석

[0215] 항생제-유도(예를 들어, 세프트리악손 (CRO)-유도) 손상으로부터 장 마이크로바이옴을 보호하는 P3A의 능력을 연구하기 위해, 상기 기재한 연구로부터 얻은 돼지 대변 샘플에 추가적인 게놈 분석을 실시하였다. 구체적으로, 16S rRNA 유전자 V1V2 영역을 시퀀싱하였다. 추가로, 대변 DNA에 전체 게놈 샷건 서열분석(whole genome shotgun sequencing)을 실시하였다. 샘플 당 대략 1천만 내지 2천만회 판독을 달성하기 위한 목적으로 100 bp 단일 판독을 표적화하는 일루미나 HiSeq RAPID RUN을 이용하여 샷건 서열분석을 수행하였다(표 6).

표 6

샷건 서열 데이터 통계

파일	판독의 수	총 간기 개수	최소 판독 길이	최대 판독 길이	평균 판독 길이
3799_112_S7.fasta (G1-P2)	18606077	1854356507	35	101	99.66
3799_217_S8.fasta (G2-P2)	20883580	2084703775	35	101	99.83
3799_315_S9.fasta (G3-P5)	20071353	2011723470	35	101	100.23
3799_316_S10.fasta (G3-P6)	22624519	2271889933	35	101	100.42
3799_4110_S11.fasta (G4-P10)	13712842	1377348829	35	101	100.44
3799_4111_S12.fasta (G4-P11)	20530800	2061344856	35	101	100.4
3799_4112_S13.fasta (G4-P12)	20580238	2068107187	35	101	100.49
3799_G1_P2_10232014_S3.fasta	10252196	1001456689	35	101	97.68
3799_G1_P2_10302014_S1.fasta	59592542	5977858476	35	101	100.31
3799_G2_P7_10232014_S7.fasta	24946417	2491552712	35	101	99.88
3799_G2_P7_10302014_S1.fasta	22924500	2295666225	35	101	100.14
3799_G2_P8_10232014_S6.fasta	16156948	1608989121	35	101	99.58
3799_G3_P5_10232014_S8.fasta	6940*	693554	35	101	99.94
3799_G3_P5_10302014_S2.fasta	33082874	3320035662	35	101	100.36
3799_G3_P6_10232014_S4.fasta	22064444	2168570854	35	101	98.28
3799_G3_P6_10302014_S3.fasta	13521358	1357435510	35	101	100.39
3799_G4_P10_10232014_S9.fasta	5389698	541060355	35	101	100.39
3799_G4_P10_10302014_S2.fasta	17012060	1695792860	35	101	99.68
3799_G4_P11_10232014_S6.fasta	19738*	1973281	35	101	99.97
3799_G4_P11_10302014_S4.fasta	25764488	2579825095	35	101	100.13
3799_G4_P12_10232014_S5.fasta	76649703	7681797089	35	101	100.22
3799_G4_P12_10302014_S5.fasta	3312789	332575801	35	101	100.39

*이들 두 데이터세트는 다른 데이터세트에 비해 너무 적은 서열분석 판독을 포함하였고, 비교 분석으로부터 제거하였다.

[0216]

[0217] 돼지 대변 샘플과 관련된 미생물 군집을 동정하기 위해 이들 서열 데이터를 분류학적으로 분류하였다. 생물정보학 알고리즘 및 검증된 게놈 데이터베이스를 이용하여 분류학적 분류를 수행하였다. 간략하게, 박테리아 군집뿐만 아니라 그들의 상대적 존재비의 빠른 동정을 위해 제니우스(GENIUS) 소프트웨어 패키지를 이용하여 검증된 진북(GeneBook)박테리아 및 데이터베이스에 대해 미가공, 비집합 샷건 서열 판독을 프로빙하였다(Hasan *et al.*, 2014, PLoS ONE 9:e97699; Lax *et al.*, 2014, Science 345:1048). 분석은 처리군 중에서 139명의 박테리아 군주, 79종, 및 35속을 동정하였다(표 7).

표 7

검출된 분류군의 수

샘플 ID	검출된 분류군의 수
3799_112_S7.fasta (G1-P2)	46
3799_217_S8.fasta (G2-P2)	9
3799_315_S9.fasta (G3-P5)	27
3799_316_S10.fasta (G3-P6)	58
3799_4110_S11.fasta (G4-P10)	51
3799_4111_S12.fasta (G4-P11)	23
3799_4112_S13.fasta (G4-P12)	57
3799_G1_P2_10232014_S3.fasta	56
3799_G1_P2_10302014_S1.fasta	55
3799_G2_P7_10232014_S7.fasta	11
3799_G2_P7_10302014_S1.fasta	8
3799_G2_P8_10232014_S6.fasta	6
3799_G3_P5_10232014_S8.fasta	1
3799_G3_P5_10302014_S2.fasta	27
3799_G3_P6_10232014_S4.fasta	62
3799_G3_P6_10302014_S3.fasta	49
3799_G4_P10_10232014_S9.fasta	52
3799_G4_P10_10302014_S2.fasta	48
3799_G4_P11_10232014_S6.fasta	2
3799_G4_P11_10302014_S4.fasta	20
3799_G4_P12_10232014_S5.fasta	66
3799_G4_P12_10302014_S5.fasta	19

[0218]

[0219] 상이한 처리군 중에서 박테리아 분류군의 상대적 분포를 표 8에 나타낸다.

표 8

치료군 중에서 박테리아 분류군의 상대적 분포

그룹	G1	G2	G3	G4
균주/하위 종	71	17	102	112
종	59	12	70	71
속	27	7	32	30

[0220]

[0221] NMF R 소프트웨어 패키지(Gaujoux and Seoighe, 2010, BMC Bioinformatics, 11:367)를 이용하여 각각의 샘플 (도 11 참조)에서 그리고 박테리아속 수준(도 12 참조)에서 박테리아 균주의 상대적 존재비에 기반하여 히트맵을 생성함으로써 비교 메타제노믹스(metagenomics) 분석을 수행하였다. 최대 거리 함수 및 병동 계층 군집화(Ward Hierarchical Clustering) 알고리즘을 이용하여 샘플을 군집화하였다. 각각의 샘플 사이의 조성물 차이를 측정하기 위해 거리 함수를 사용하였다. 동일한 계통군 내 유기체의 존재와 부재 둘 다를 포함하는, 유사한 조성을 지니는 샘플을 군집화한 계통도를 생성하기 위해 군집화 알고리즘은 각각의 샘플 사이의 거리를 사용하였다. 박테리아 균주 비교에 기반하여(도 11), 그룹 1(대조군) 및 그룹 4(세프트리악손 + P3A) 샘플을 군집화하고, 파란색 박스로 강조하였는데(도 11), 이는 그룹 1 및 4가 그룹 2(클린다마이신) 및 3(세프트리악손 단독)보다 서로 더 유사하다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 P3A가 세프트리악손(그룹 3)의 효과로부터 마이크로바이옴을 보호하고, 마이크로바이옴을 항생제에 노출되지 않은 대조군(그룹 1)과 더 유사하게 유지하는 작용을 한다는 것을 시사한다.

[0222] 상이한 처리군에 걸쳐 마이크로바이옴의 변화를 조사하기 위해 비교 메타제노믹스 분석을 또한 수행하였다. 이들 분석을 위해, PamR 패키지(Tibshirani *et al.*, 2002, PNAS 99:6567)로부터의 중심 분류 방법을 사용하여 샘플 내 각각의 박테리아 균주의 평균 빈도(절대 존재비)를 비교하였다. 각각의 연구 그룹으로부터 각각의 박테리아 균주의 중심의 편차를 모든 연구 그룹의 전체 중심에 의해 그래프화하였다(도 13).

[0223] 각각의 개개 샘플로부터 생성된 서열 판독 수가 가변적이기 때문에, 1천만개의 판독의 서브셋을 나타내기 위

해 각각의 샘플로부터의 하위샘플을 선택하였다. 상이한 샘플 크기에 기인하는 임의의 편향을 회피하기 위해 그리고 샘플 내 박테리아 유도체의 절대 존재비 측정을 가능하게 하기 위해 이를 행하였다. 편향을 감소시키기 위해 이들 서브세트를 이용하여, 모든 연구 그룹의 전체 중심에 의해 각각의 연구 그룹으로부터 각각의 박테리아 균주의 중심의 편차를 그래프화함으로써 도 13에 대해 앞서 기재한 바와 같이 비교 메타제노믹스 분석을 수행하였다(도 14). 데이터는 그룹 4(세프트리아손 + P3A)가 그룹 1(대조군)에 비해 그룹 2(클린다마이신) 또는 그룹 3(세프트리아손 단독)보다 종 존재비의 덜 심각한 일그러짐을 나타낸다는 것을 입증하는데, 이는 P3A가 항생제-매개 손상으로부터 마이크로바이옴을 보호하였다는 것을 나타낸다.

[0224] 그룹 3(세프트리아손) 및 그룹 4(세프트리아손 + P3A)에서 각각의 박테리아 종 빈도의 평균 편차를 그룹 1(대조군)과 비교하는 박테리아 종 수준에서 샘플 서브세트의 중심 분류를 수행하였다(도 15). 특히, 그룹 3(세프트리아손 단독)은 투리시박터 종의 과소대표 및 메탄생성 고세균, 메타노브레브박터 스미시의 과잉을 나타낸 반면, 그룹 4(세프트리아손 + P3A)는 그룹 1(대조군)과 유사한 투리시박터 종 및 메타노브레비박터 스미티(*M. smithii*)의 존재비 수준을 나타내었다. 투리시박터 종의 감소는 개에서의 특발성 염증성 장질환 및 급성 혈성 설사와 관련되는 한편(Minamoto *et al.*, 2015, Gut Microbes 6(1), 33-47; Rossi *et al.*, 2014, PLoS ONE 9(4), e94699) 메타노브레비박터 스미티는 변비, 과민성 장 증후군 및 비만과 관련되는 것으로 보고된 메탄생성 고세균 종이다(Pimentel *et al.*, 2002, Am. J. Gastroenter. Suppl. 1:28). 종합하면, 이들 데이터는 P3A가 항생제 사용의 유해 효과로부터 장 미생물상을 보호하였다는 것을 입증한다. 구체적으로, 이들 데이터는 P3A가 세프트리아손에 의해 유도된 투리시박터 종의 손실 및 메탄생성균의 과잉으로부터 마이크로바이옴을 보호한다는 것을 입증한다. 따라서, 투리시박터 종의 손실 및 메탄생성균의 증식이 P3A의 사용에 의해 방지될 수 있는 장 미생물상에 대한 항생제-유도 변화가 되는 것을 나타낸다.

[0225] 추가로, 모든 그룹에서 종의 평균 고유 빈도로부터 혐기성 및 조건적 호기성 박테리아 종 빈도의 평균 편차를 비교하는 샘플 서브세트의 중심 분류를 박테리아 수준에서 수행하였다(도 16). 데이터는 그룹 4(세프트리아손 + P3A)가 그룹 1(대조군)과 비교할 때 그룹 2(클린다마이신) 또는 그룹 3(세프트리아손 단독)보다 그룹 1(대조군)에 대해 혐기성 및 조건적 호기성 박테리아 종의 더 유사한 패턴을 나타낸다는 것을 입증한다. 모든 그룹에서 종의 평균 고유 빈도로부터 절대 호기성 박테리아 종 빈도의 평균 편차를 비교하는 샘플 서브세트의 중심 분류를 박테리아 수준에서 또한 수행하였다(도 17). 그러나 모든 그룹에서 그룹 4(세프트리아손 + P3A)가 그룹 3(세프트리아손 단독)과 상이한 패턴의 박테리아 종을 나타내었다는 변화가 관찰되었는데, 이는 P3A가 돼지 장 미생물상에 대한 항생제-유도 변화 패턴을 변화시켰다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 P3A가 항생제-매개 변화로부터 혐기성 및 조건적 호기성 박테리아 종을 보호함으로써 장 마이크로바이옴에 대한 항생제의 효과를 변형시킬 수 있었다는 것을 나타낸다.

[0226] 그룹 1, 3 및 4(도 18)에서 종의 평균 고유 빈도로부터 그램 양성 박테리아 종 빈도의 평균 편차를 비교하는 샘플 서브세트의 중심 분류를 박테리아 수준에서 또한 수행하였고, 그룹 1종의 평균의 고유 빈도와 비교하였다(도 10). 유사하게, 그룹 1, 3 및 4(도 20)에서 종의 평균 고유 빈도로부터 그램 음성 박테리아 종 빈도의 평균 편차를 비교하는 샘플 서브세트의 중심 분류를 박테리아 수준에서 또한 수행하였고, 그룹 3 및 그룹 4 종의 평균의 고유 빈도와 비교하였다(도 21). 데이터는 그램 양성 유기체가 P3A로 처리한 코호트에서 가장 흔한 반면, 그램 음성 유기체는 항생제-단독 처리군(그룹 3) 또는 비처리 대조군(그룹 1)에 비해 P3A-처리군에서 덜 흔하다는 것을 입증한다.

[0227] 종합하면, 이들 연구는 특히, P3A(즉, SYN-004)가 항생제-유도 변화로부터 마이크로바이옴을 보호하였다는 것을 나타낸다. P3A는 조성물에 대한 항생제 효과와 다투었고, 장 마이크로바이옴의 로드를 항생제 단독 처리와 비교하였다. 특히, P3A는 과잉의 메탄생성균, 구체적으로 메타노브레비박터 스미티와 다투었는데, 이는 장 미생물상의 항생제-유도 변화이다. 메타노브레비박터 스미티는 변비, 과민성 장 증후군 및 비만과 관련된다(Pimentel *et al.*, 2012, Am. J. Gastroent. Suppl. 1:28). P3A는 또한 투리시박터 종의 존재비 감소, 개에서 특발성 염증성 장질환 및 급성 혈성 설사와 관련된 미생물상에 대한 다른 항생제-유도 변화를 방지하였다(Minamoto *et al.*, 2015, Gut Microbes 6(1), 33-47; Rossi *et al.*, 2014, PLoS ONE 9(4), e94699).

[0228] 실시예 8. P3A는 전신 세프트리아손 수준에 영향을 미치지 않는다

[0229] P3A(즉, SYN-004)의 경구 투여가 항생제의 전신 수준에 대해 임의의 효과를 가지는지의 여부를 결정하기 위한 다른 돼지 연구를 수행하였다. 이 연구를 위해, 대략 2개월령이며 무게가 대략 20kg인 10마리의 요크셔 새끼돼지를 7일 동안 1일 1회 50mg/kg에서 정맥내 세프트리아손(CRO)으로 처리하였다. 5마리 동물은 또한 CRO 치료 전 날 시작해서 CRO 치료 후 1일까지 연장하여 총 9일 동안 P3A 캡슐(75mg의 P3A를 함유하는 1 캡슐, 1일 4회)을

받았다. 구체적으로, 실시예 1 및 2에 기재한 바와 같은 P3A 지연 방출 캡슐을 동물에 투여하였다. 제2일에, 동물을 마취시키고 나서, CRO 투여 후 3회 시점, 즉, 1시간, 6시간 및 19시간에 대정맥으로부터 대략 9ml의 혈액을 뽑아내었다. 혈액을 즉시 혈청 분리기 진공채혈관에 제공하였다. 응고 후에, 샘플을 원심분리시키고 나서, 혈청을 냉동 바이알에 옮기고, 분석까지 -80°C에서 저장하였다. 혈청 샘플 중의 CRO를 적합한 고성능 액체 크로마토그래피 분석을 이용하여 정량화하였다(Owens *et al.*, 2001, *Int. J. Antimicrobial Agents*, 17:483). CRO에 대한 표준 곡선을 음성 대조군(비처리) 돼지 혈청에서 생성하고, 0.5 내지 50µg/ml 범위에서 6개 지점을 포함하였다. 분석은 0.5 내지 50µg/ml 범위에 걸쳐 선형이었다. 도 22에 나타낸 바와 같이, 1시간 시점에, CRO 혈청 수준은 CRO 단독 처리군에 대해 79.43±12.08µg/ml 그리고 CRO + P3A 처리군에 대해 76.28±15.83µg/ml였다. 6시간에, CRO 혈청 수준은 CRO 단독 처리군에 대해 5.83±1.15µg/ml 그리고 CRO + P3A 처리군에 대해 3.76±1.01µg/ml였다(도 22). 이들 데이터는 P3A가 처리군에서 최고 CRO 수준에 대해 효과를 갖지 않고, 있다고 해도 6시간 시점 수준에 대해 효과가 거의 없다는 것을 입증한다. CRO 치료 후 19시간에 취한 혈청 샘플은 분석 검출 하한(0.5µg/ml)이었다. 이들 데이터는 P3A의 경구 전달이 돼지에서 CRO의 혈청 수준에 대한 효과가 거의 없거나 또는 전혀 없다는 것을 입증하는데, 이는 P3A가 전신으로 흡수되지 않고, 항생제 효능을 방해하지 않는다는 것을 시사한다.

[0230] 실시예 9: 추가적인 P3A 제형

[0231] P3A 약물 부하를 증가시키기 위해 그리고/또는 P3A 펠렛으로 충전된 캡슐 크기를 감소시키기 위해 200mg의 약물 제품을 지니는 크기 0 또는 크기 1 P3A 캡슐을 제조한다. 구체적으로, P3A를 라텍스 또는 다른 중합체와 조합하고, 이어서, 수크로스 코어를 이용하지 않고 미립자, 마이크로-캡슐화된 효소 제제로 형성된다. 선택적으로, 마이크로스피어는 pH-의존적 장용 코팅으로 뒤덮인다.

[0232] 이 제형을 제조하기 위해 3가지 접근을 사용한다(도 6). 첫째로, 부형제 부하를 감소시키기 위해 기질 그 자체로 구성된 장 기능성(예를 들어, 위에서 방출되지 않고, 소장에서 완전한 방출)을 갖는 입자를 개발한다. 선택적으로 장용 코팅은 입자에 첨가되어 산성 조건으로부터의 보호를 제공한다.

[0233] 단백질을 봉입할 수 있는 미립자(예컨대, 마이크로스피어, 응집물, 기타)를 생성하기 위한 다양한 접근은 공지되어 있다. 그들은 전형적으로 적어도 2개의 상을 수반하는데, 하나는 단백질을 함유하고, 하나는 미립자의 골격을 형성하는 중합체를 함유한다. 제3 성분의 첨가에 의해 중합체가 그의 용매 상으로부터 분리되는 코아세르베이션, 또는 내부 수성상이 단백질을 함유하고, 중간 유기상이 중합체를 함유하며, 외부 수성상이 마이크로스피어를 형성하기 위해 용매가 제거될 수 있을 때까지 w/o/w 이중 에멀전을 지지하는 안정제인 다중 상 에멀전, 예컨대 수중유중수(w/o/w) 에멀전이 가장 통상적이다.

[0234] 대안적으로, P3A 단백질 및 안정화 부형제(예를 들어, 트레할로스, 만니톨, 트윈(Tween) 80, 폴리비닐 알코올)은 조합되고, 수용액으로부터 분무되고, 수집된다. 이어서, 입자는 중합체 및 방출 변형 화합물을 함유하는 건조, 수 혼화성 유기 용매 중에서 현탁되고, 현탁액은 입자를 분산시키기 위해 초음파 처리된다. P3A 단백질은 이 공정 후에 그의 활성을 보유한다.

[0235] 추가적인 접근은 수성상을 사용하지만, 유기 용매는 사용하지 않는다. 여기서, 효소, 완충제 성분, 중합체 라텍스 및 안정화 및 방출-변형 부형제가 수 중에서 용해/분산된다. 수성 분산물은 분무 건조되어, 라텍스의 용합 및 용합된 라텍스의 입자 내 단백질 및 부형제의 혼입을 야기한다. 방출 변형제가 산성 조건에서 불용성이지만, 더 높은 pH(예컨대, 카복실산)에서 불용성일 때, 기질로부터의 방출은 위 환경에서 저해된다.

[0236] 정의

[0237] 본 명세서에서 사용하는 바와 같은, 단수의 용어는 하나 초과를 의미할 수 있다.

[0238] 추가로, 용어 "약"은 기준 수치 표시와 관련하여 사용할 때, 기준 수치 표시 + 또는 - 해당 기준 수치 표시의 10%까지를 의미한다. 예를 들어, 용어 "약 50%"는 45% 내지 55%의 범위를 아우른다.

[0239] 의학적 용도와 관련하여 사용될 때 "유효량"은 관심 대상 장애의 측정가능한 치료, 예방 또는 관심 대상 장애 비율의 감소를 제공하는 데 유효한 양이다.

[0240] 본 명세서에서 사용하는 바와 같은, 활성 및/또는 효과의 판독이 제제 또는 자극의 존재 하에서 이러한 조절이 없을 때에 비해 상당한 양만큼, 예컨대 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 이상만큼(적어도 약 100%를 포함) 감소된다면, 그것은 "감소된다". 당업자에 의해 이해될 바와 같이,

일부 실시형태에서, 활성은 감소되고, 일부 하류 관독은 감소될 것이지만, 나머지는 증가할 수 있다.

- [0241] 대조적으로, 활성 및/또는 효과의 관독이 체제 또는 자극의 존재 하에서 이러한 조절이 없을 때에 비해 상당한 양만큼, 예를 들어 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98% 이상(적어도 약 100% 이상을 포함), 적어도 약 2-배, 적어도 약 3-배, 적어도 약 4-배, 적어도 약 5-배, 적어도 약 6-배, 적어도 약 7-배, 적어도 약 8-배, 적어도 약 9-배, 적어도 약 10-배, 적어도 약 50-배, 적어도 약 100-배만큼 증가된다면, 활성은 "증가된다".
- [0242] 본 명세서에 지칭되는 바와 같은, 모든 조성 백분율은 달리 특정되지 않는 한, 총 조성물의 중량만큼이다. 본 명세서에서 사용하는 바와 같이, 단어 "포함하다" 및 그의 변형은 목록에서 항목의 열거가 이 기술의 조성물 및 방법에서 또한 유용할 수 있는 다른 유사 항목을 제외하지 않도록, 비제한적인 것으로 의도된다. 유사하게, 용어 "할 수 있다" 및 "할 수도 있다" 및 그들의 변형은 실시형태가 특정 구성요소 또는 특징을 포함할 수 있거나 또는 포함할 수도 있고 해당 구성요소 또는 특징을 포함하지 않는 본 기술의 다른 실시형태를 제외하지 않도록 비제한적인 것으로 의도된다.
- [0243] 포함하는(including), 함유하는 또는 갖는과 같은 용어의 동의어로서 개방형 용어 "포함하는(comprising)"은 본 발명을 기재하고 청구하기 위해 본 명세서에서 사용하며, 본 발명, 또는 이의 실시형태는 대안의 용어, 예컨대 "이루어진" 또는 "본질적으로 이루어진"을 이용하여 대안적으로 기재될 수 있다.
- [0244] 본 명세서에서 사용하는 바와 같이, 단어 "바람직한" 및 "바람직하게"는 특정 상황 하에서 특정 이점을 얻는 기법의 실시형태를 지칭한다. 그러나, 동일한 또는 다른 상황 하에서 다른 실시형태가 또한 바람직할 수 있다. 더 나아가, 하나 이상의 바람직한 실시형태의 열거는 다른 실시형태가 유용하지 않으며, 기술 범주로부터 다른 실시형태를 제외하는 것으로 의도되지 않는다는 것을 암시하지 않는다.
- [0245] 치료제를 달성하는 데 필요한 본 명세서에 기재된 조성물의 양은 특정 목적을 위한 통상적인 절차에 따라 경험적으로 결정될 수 있다. 일반적으로, 치료적 목적으로 치료제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 베타-락타마제 및/또는 추가적인 치료제)를 투여하기 위해, 치료제는 약학적 유효 용량으로 제공된다. "약학적 유효량", "약학적 유효 용량", "치료적 유효량" 또는 "유효량"은 특히 장애 또는 질환을 치료하기 위해 목적으로 하는 결과를 달성할 수 있는 요망되는 생리적 효과 또는 양을 생성하는 데 충분한 양을 지칭한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 유효량은, 예를 들어, 장애 또는 질환의 증상 개발을 지연시키고, 장애 또는 질환의 증상 과정을 변형시키며(예를 들어, 질환의 증상 진행을 늦추고), 장애 또는 질환의 하나 이상의 증상 또는 징후를 감소 또는 제거하고, 장애 또는 질환의 증상을 반전시키는 데 충분한 양을 포함한다. 개선이 실현되는지의 여부와 상관없이, 치료적 이점은 또한 근본적인 질환 또는 장애의 진행을 멈추게 하거나 또는 늦추는 것을 포함한다.
- [0246] 유효량, 독성 및 치료적 효능은, 예를 들어 LD50(집단의 약 50%까지의 치사 용량) 및 ED50(집단의 약 50%에서 치료적으로 치료적으로 유효한 용량)을 결정하기 위해 세포 배양, 조직 샘플, 조직 파쇄액 또는 실험 동물에서 표준 약제학적 절차에 의해 결정될 수 있다. 투약량은 사용된 투여형 및 이용되는 투여 경로에 따라 다를 수 있다. 독성과 치료적 효과 사이의 용량비는 치료 지수이고, LD50/ED50 비로서 표현될 수 있다. 일부 실시형태에서, 큰 치료 지수를 나타내는 조성물 및 방법이 바람직하다. 치료적 유효 용량은, 예를 들어, 세포 배양 분석을 포함하는 시험관내 분석으로부터 초기에 추정될 수 있다. 또한, 용량은 세포 배양물에서 또는 적합한 동물 모델에서 결정된 바와 같은 IC50을 포함하는 순환 혈장 농도 범위를 달성하기 위해 동물 모델에서 제형화될 수 있다. 혈장 중의 기재된 조성물 수준은, 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의해 측정될 수 있다. 임의의 특정 투약량의 효과는 적합한 생체분석에 의해 모니터링될 수 있다. 투약량은 의사에 의해 결정되고, 필요하다면 치료 관찰된 치료 효과에 적합하도록 조절될 수 있다.
- [0247] 특정 실시형태에서, 효과는 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 50%, 적어도 약 70%, 또는 적어도 약 90%의 정량화 가능한 변화를 초래할 것이다. 일부 실시형태에서, 효과는 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 50%, 약 70%, 또는 심지어 약 90% 이상의 정량화 가능한 변화를 초래할 수 있다. 개선이 실현되는지의 여부와 상관없이, 치료적 이점은 또한 근본적인 질환 또는 장애의 진행을 멈추게 하거나 또는 늦추는 것을 포함한다.
- [0248] 본 명세서에서 사용하는 바와 같이, "치료 방법"은 본 명세서에 기재된 질환 또는 장애를 치료하기 위한 조성물 및/또는 본 명세서에 기재된 질환 또는 장애를 치료하기 위한 의약의 제조에서의 용도 및/또는 용도들을 위한 조성물에 동일하게 적용가능하다.

[0249] **균등론**

[0250] 본 발명은 이의 구체적 실시형태와 관련하여 기재되었지만, 이는 추가로 변형될 수 있고, 본 출원은 일반적으로 본 발명의 원칙을 따르고 본 발명이 속하는 기술 분야 내에서 공지된 또는 관습적인 실행에 속하며, 본 명세서에서 앞서 제시한 필수 특징에 적용될 수 있고 첨부하는 청구범위의 범주에 따르는, 본 개시내용으로부터의 변경을 포함하는 임의의 변화, 용도 또는 적용을 아우르는 것으로 의도된다는 것이 이해될 것이다.

[0251] 당업자는 단지 일상적인 실험을 이용하여 본 명세서에 구체적으로 기재된 특정 실시형태에 대한 수많은 균등물을 인식하거나 또는 확인할 수 있을 것이다. 이러한 균등물은 다음의 청구범위의 범주 내에 포함되는 것으로 의도된다.

[0252] **참고문헌에 의한 포함**

[0253] 본 명세서에 언급된 모든 특허 및 간행물은 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0254] 본 명세서에 논의된 간행물은 본 출원의 출원일 전에 단지 그의 개시내용에 대해 제공된다. 본 명세서의 어떤 것도 본 발명은 선행 발명이라는 이유로 이러한 간행물에 앞서는 자격이 부여되지 않는다는 용인으로서 해석되어서는 안 된다.

[0255] 본 명세서에서 사용하는 바와 같은 모든 표제는 단순히 조직화를 위한 것이며, 임의의 방식으로 본 개시내용을 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 임의의 개개 부분의 내용은 모든 부문에 동일하게 적용될 수 있다.

[0256] **참고문헌**

Hasan NA, Young BA, Minard-Smith AT, Saeed K, Li H, Heizer EM, McMillan MJ, Isom R, Abdullah, AS, Bornman DM, Faith SA, Choi SA, Dickens ML, Cebula TA, Colwell RR. (2014). Microbial community profiling of human saliva using shotgun metagenomics sequencing. PLoS ONE 9(5):e97699. Doi:10.1371/journal.pone.0097699.

Lax S, Smith DP, Marcell JH, Owens S, Handley K, Scott K, Gibbons S, Larsen P, Shogan BD, Weiss S, Metcalf JK, Ursell LK, Vazquez-Baeza Y, Treuren VW, Hasan NA, Gibson MK, Colwell RR, Dantas G,

[0257]

Knight R, Gilbert JA. (2014). Longitudinal analysis of microbial interaction between humans and the indoor environment. *Science* 345, 1048 (2014); DOI:1126/science.1254529.

Gaujox R and Seoighe C. (2010). A flexible R package for nonnegative matrix factorization. *BMC Bioinformatics*, 11(1), 367.

Tibhirani R, Hastie, T, Narashimhan B, and Chu G. (2002). Diagnosis of multiple cancer types by shrunken centroids of gene expression. *PNAS* 99(10), 6567-6572.

Pimentel, M, Guynsalus, RP, Rao SS, and Zhang, H. (2012). Methanogens in human health and disease. *Am. J. Gastroenter. Supp.* 1(1), 28-33.

Owens, RC, Tessier, P, Nightingale, CH, Ambrose, PG, Quintiliani, R, Nicolau, DP. (2001). Pharmacodynamics of ceftriaxone and cefixime against community-acquired respiratory tract pathogens. *Int. J. Antimicrobial Agents* 17(6), 483-489.

Pimentel, M, Guynsalus, RP, Rao SS, and Zhang, H. (2012). Methanogens in human health and disease. *Am. J. Gastroenter. Supp.* 1(1), 28-33.

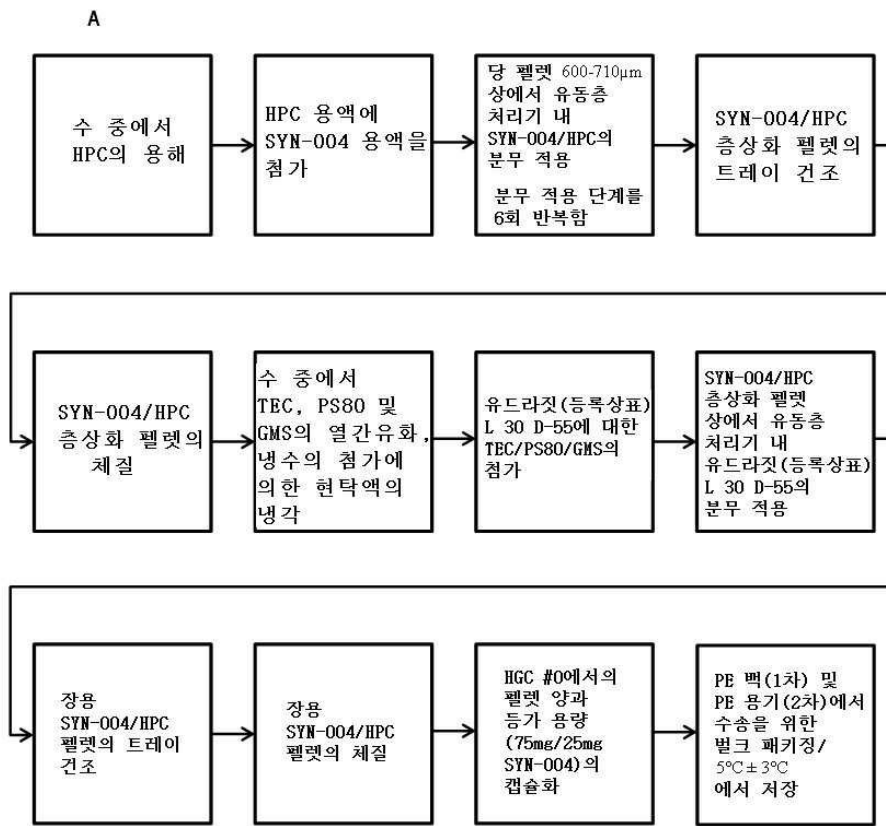
Minamoto, Y, Otoni, C.C., Steelman, S.M., Buyukleblebibi, O., Steiner, J.M., Jergens, A.E., Suchodolski, J.S. (2015). Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* 6(1), 33-47.

Rossi, G., Pengo, G., Caldin, M., Piccionello, A.P., Steiner, J.M., Cohen, N.D., Jergens, A.E., Suchodolski, J.S. (2014). Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS ONE* 9(4), e94699.

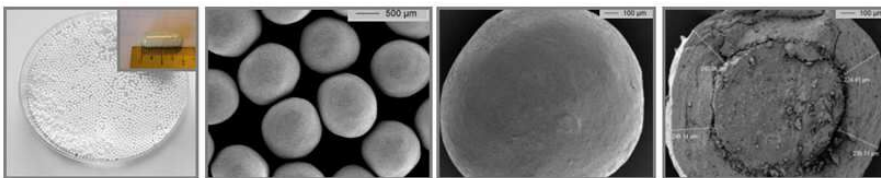
[0258]

도면

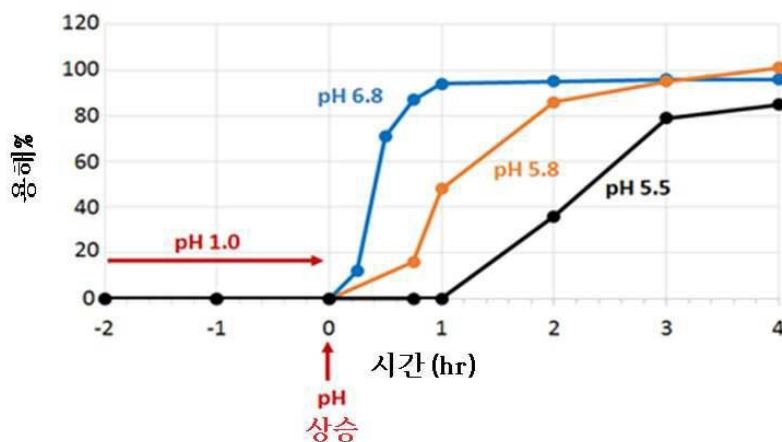
도면1



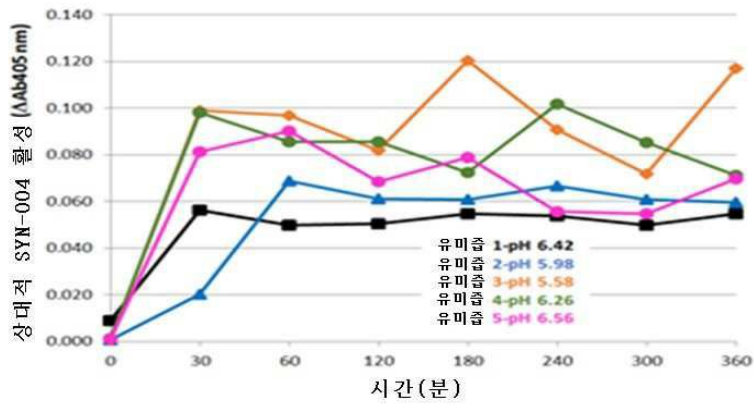
B



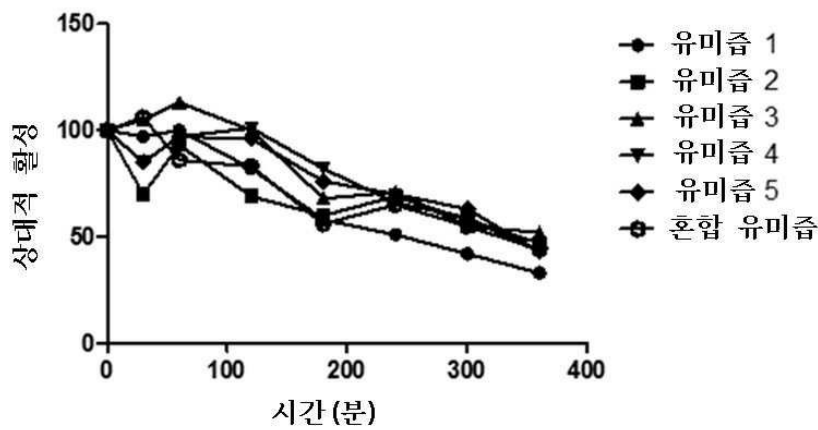
도면2



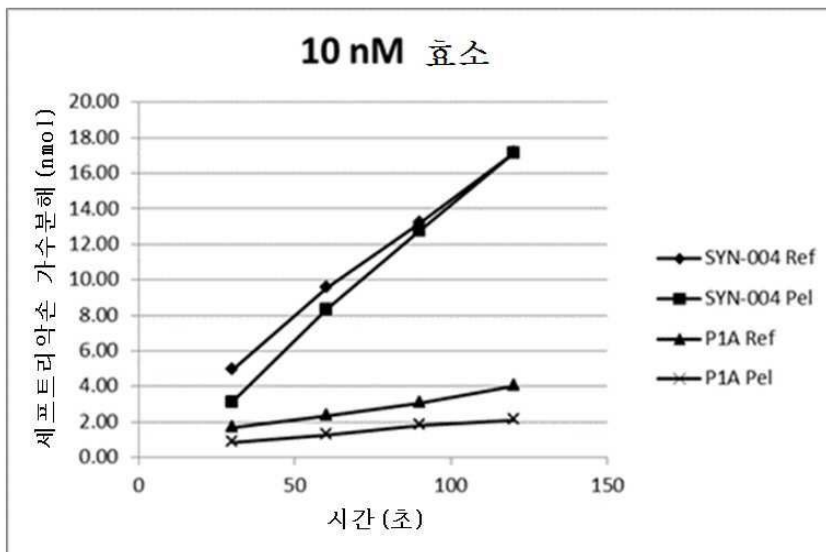
도면3



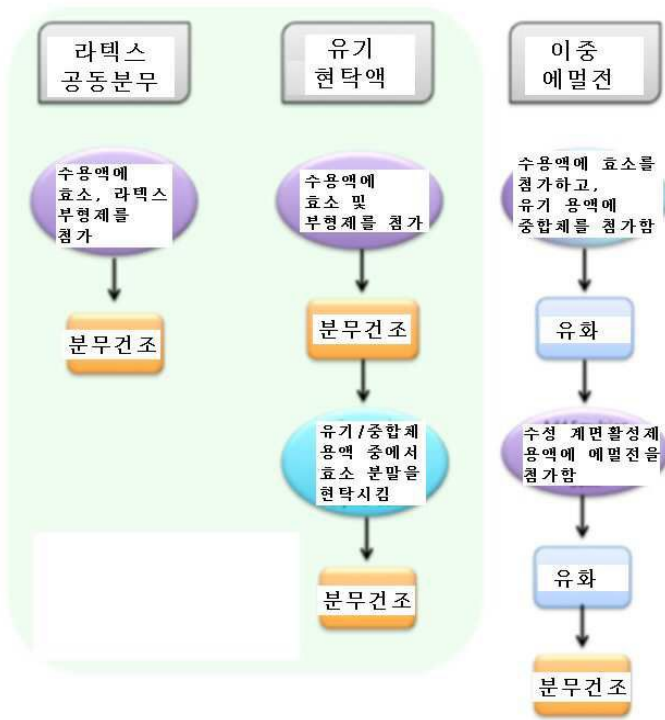
도면4



도면5



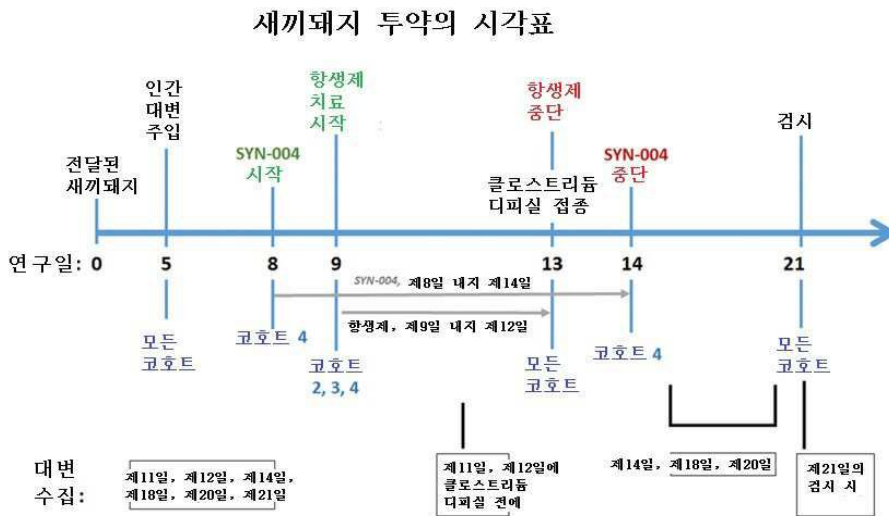
도면6



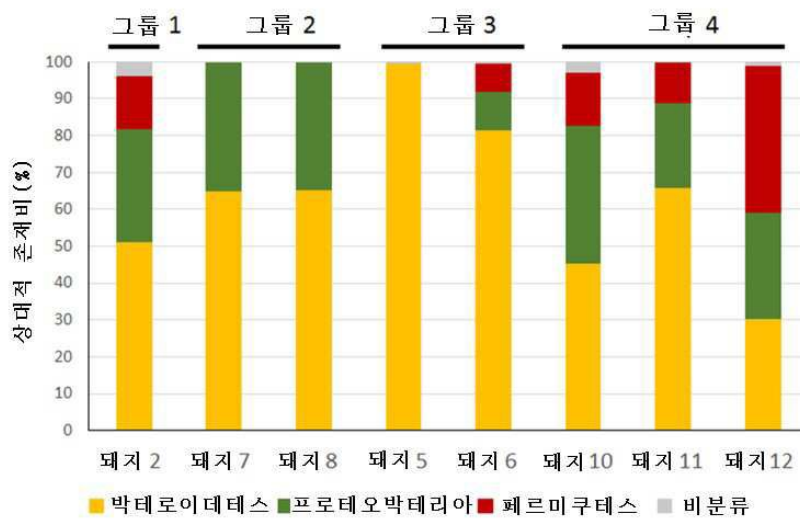
도면7

그룹	동물	항생제	SYN-004	클로스트리듐 디피실 (2.6x10 ⁶ cfu)
1	돼지 2 돼지 9*	없음	없음	있음
2	돼지 7 돼지 8**	클린다마이신 (50 mg/kg, IP)	없음	있음
3	돼지 5 돼지 6	세프트리악손 (50 mg/kg, IP)	없음	있음
4	돼지 10 돼지 11 돼지 12	세프트리악손 (50 mg/kg, IP)	75 mg, QID 7am, 12 pm, 5 pm, 10 pm	있음

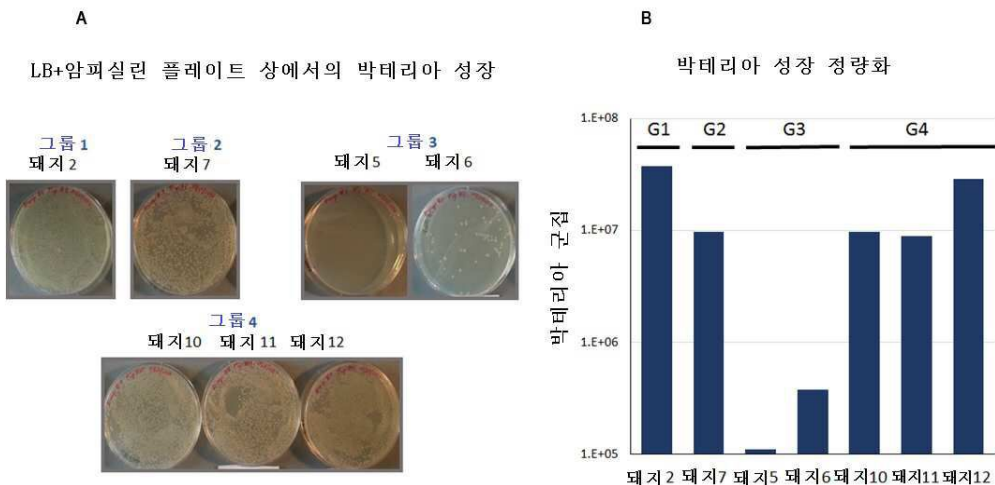
도면8



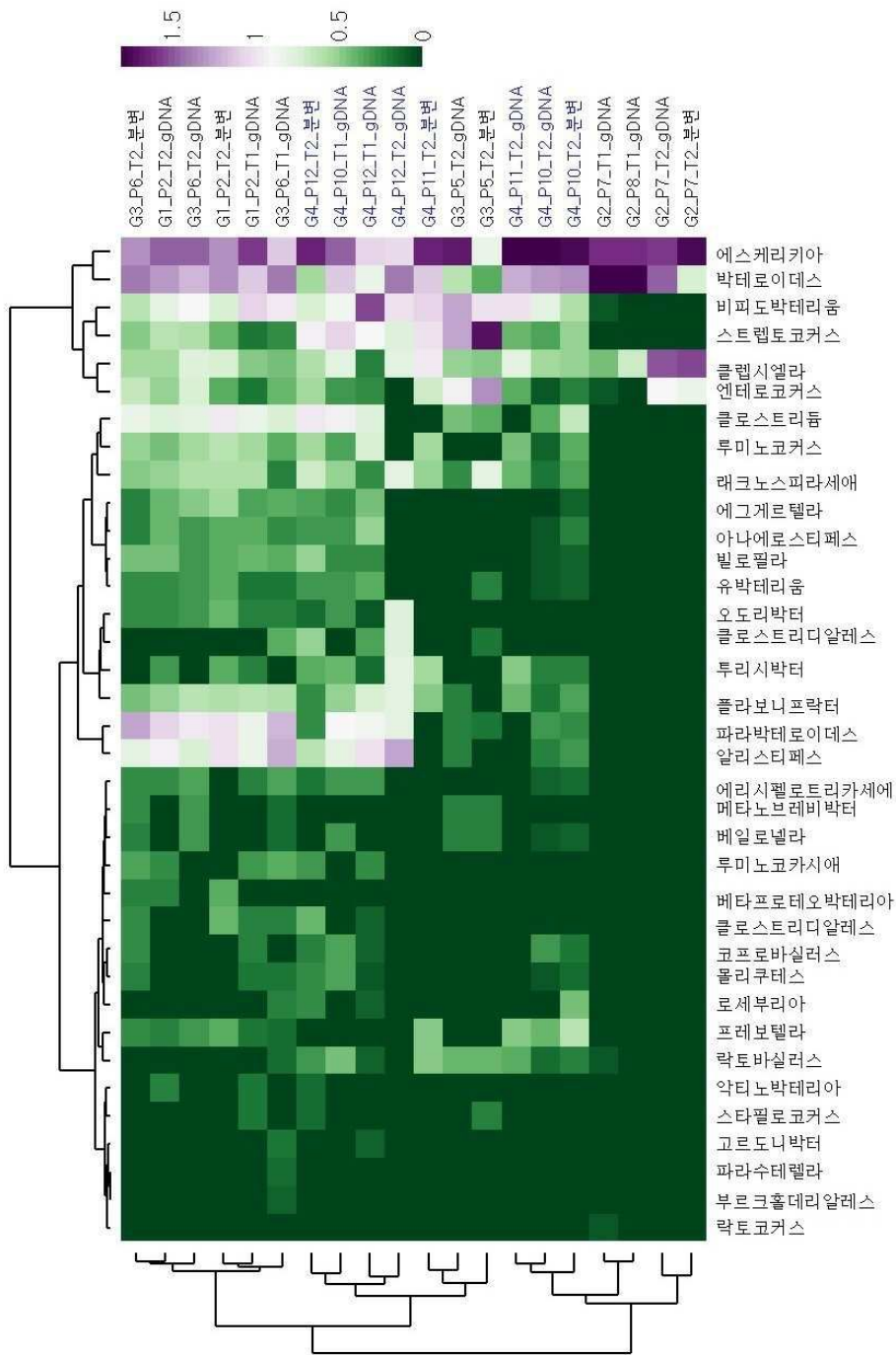
도면9



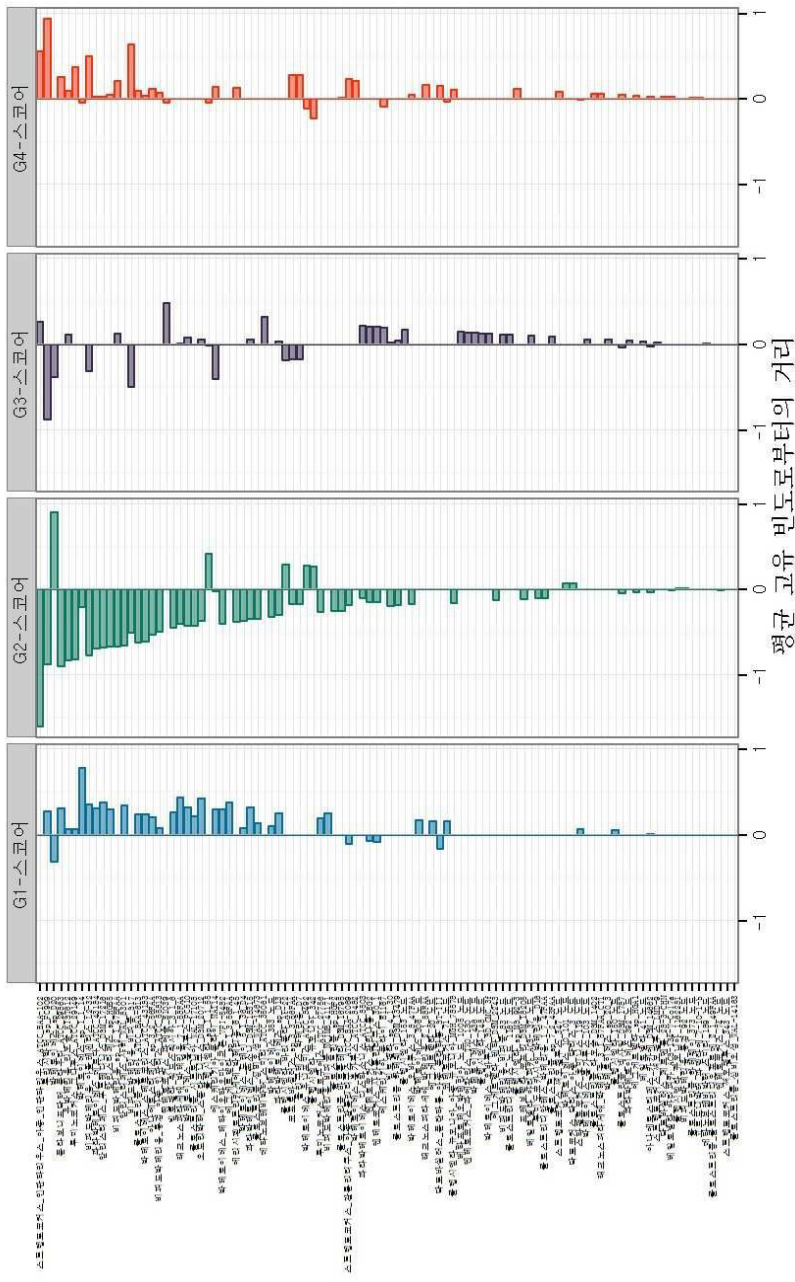
도면10



도면12

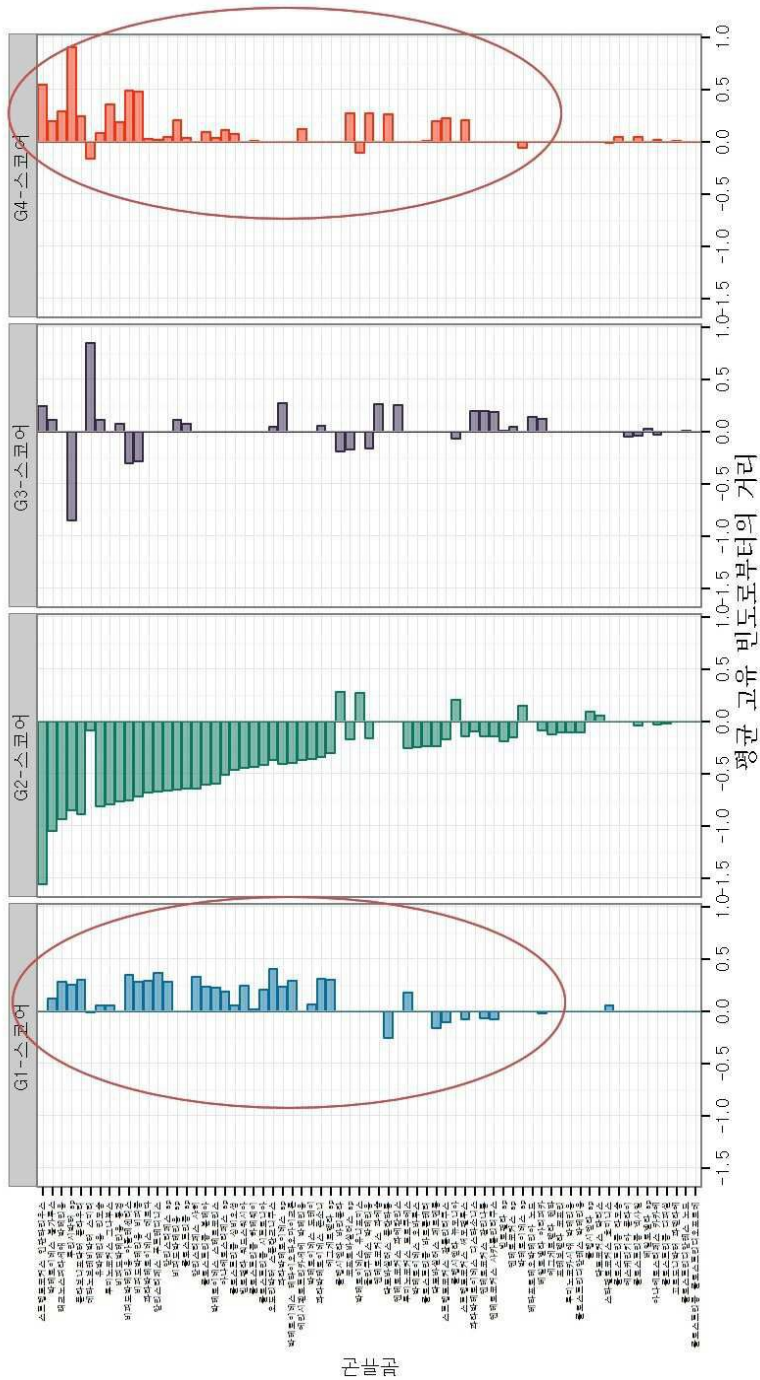


도면13

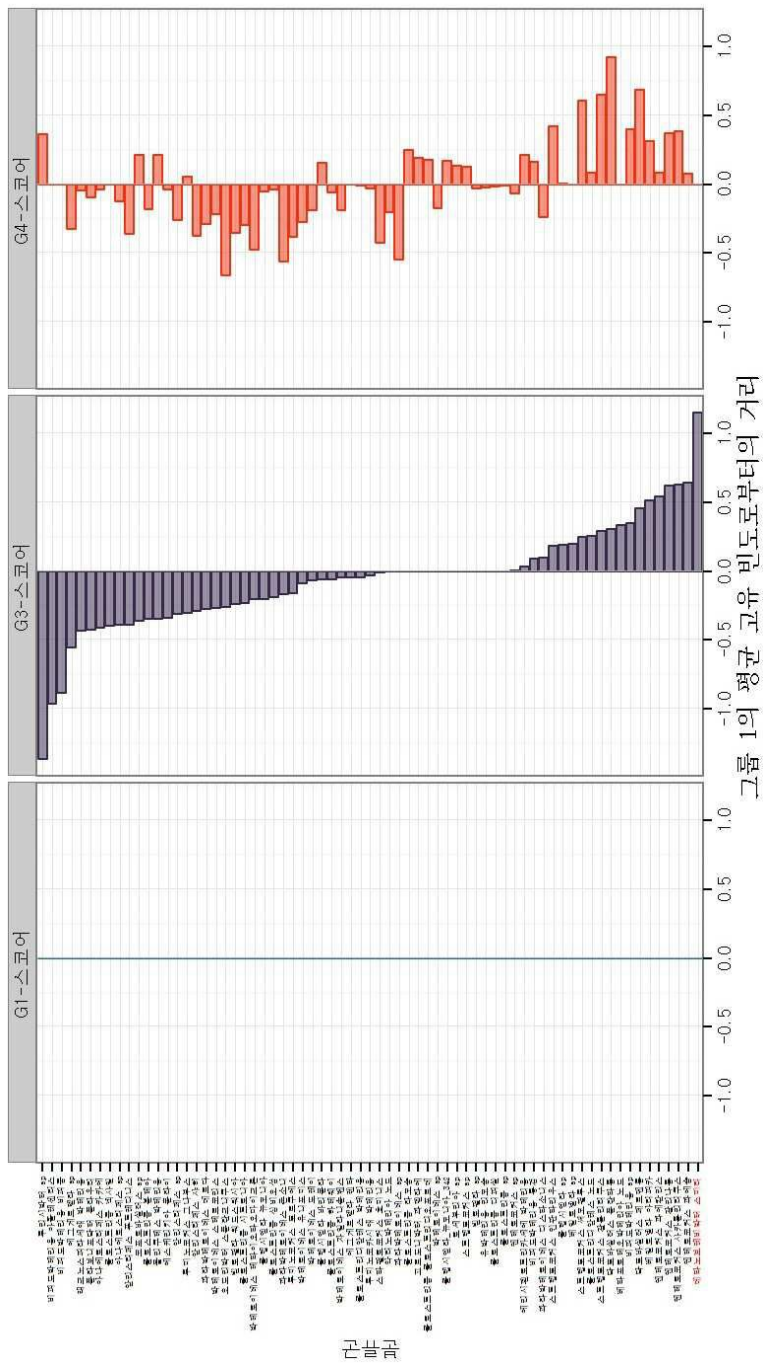


공블공

도면14

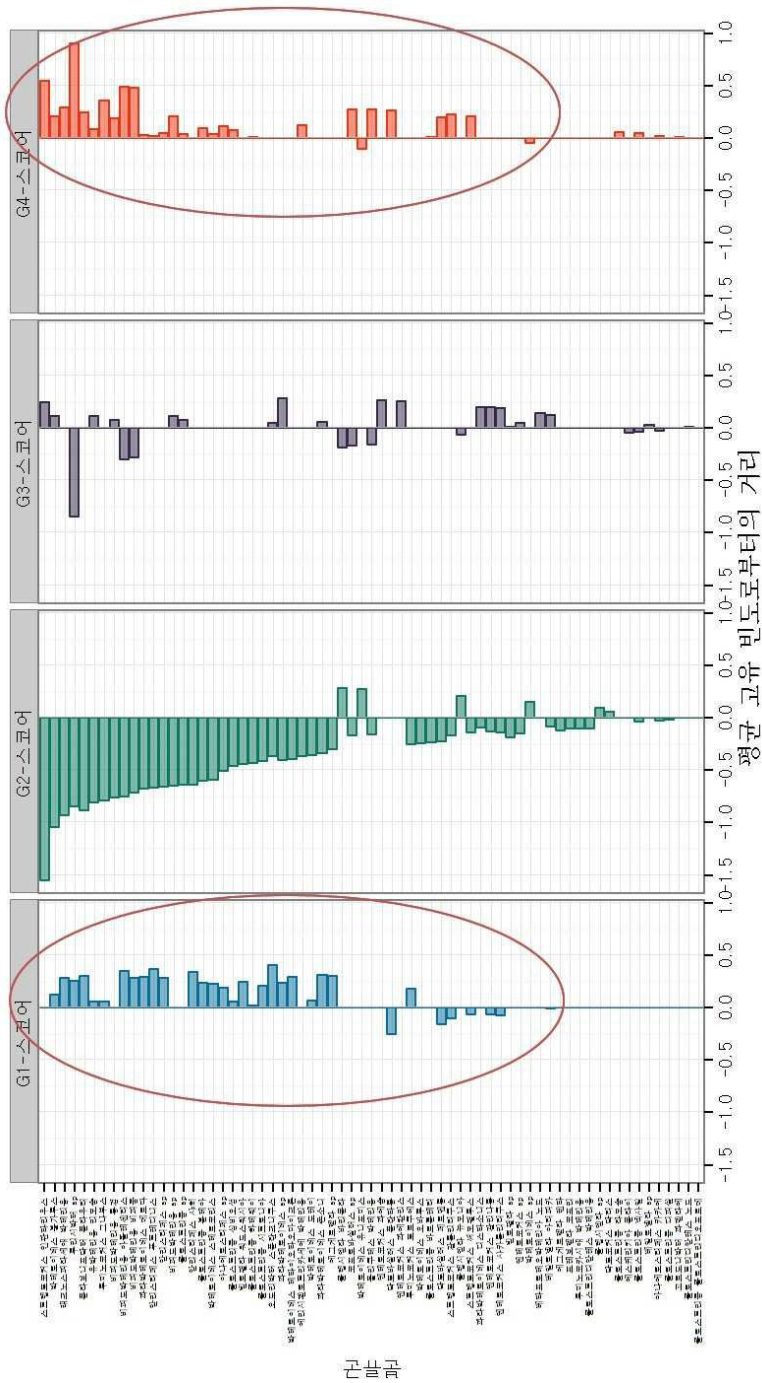


도면15

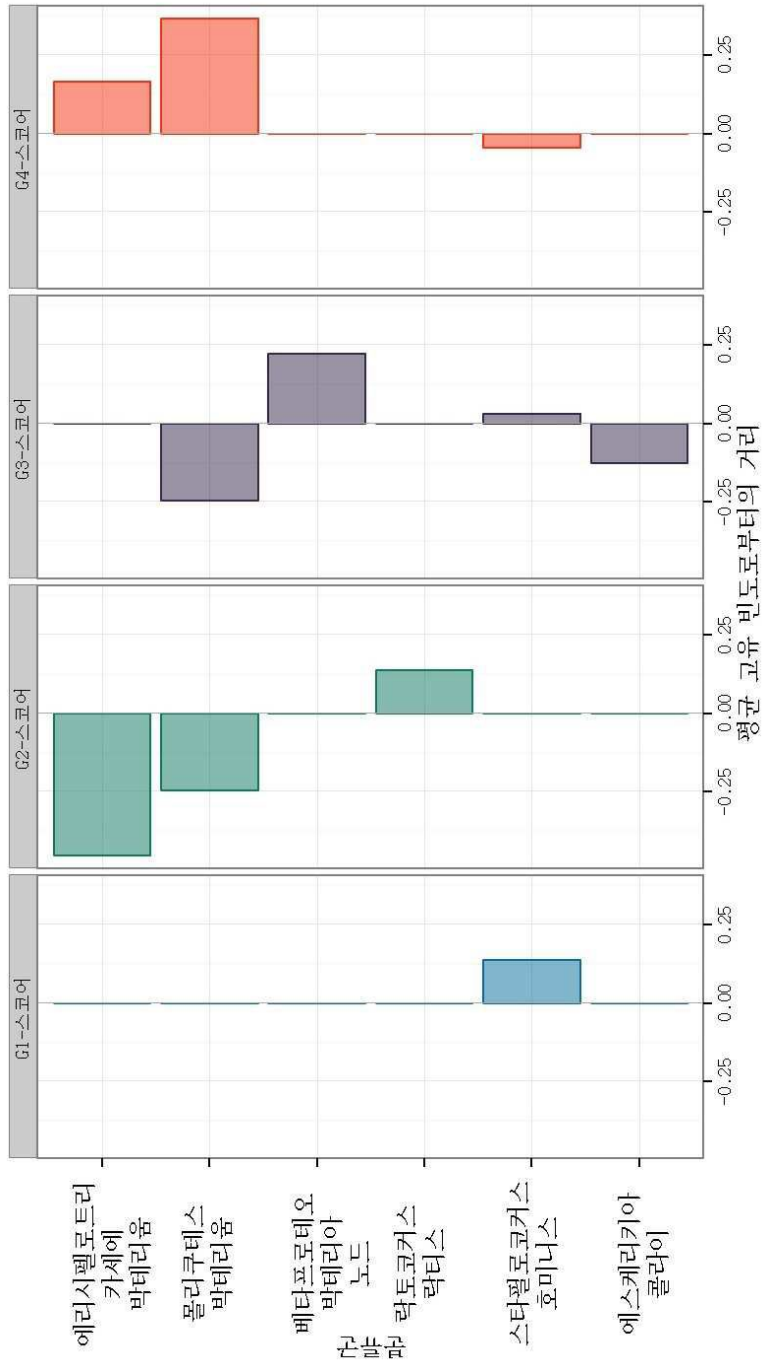


그룹 1의 평균 고유 빈도로부터의 거리

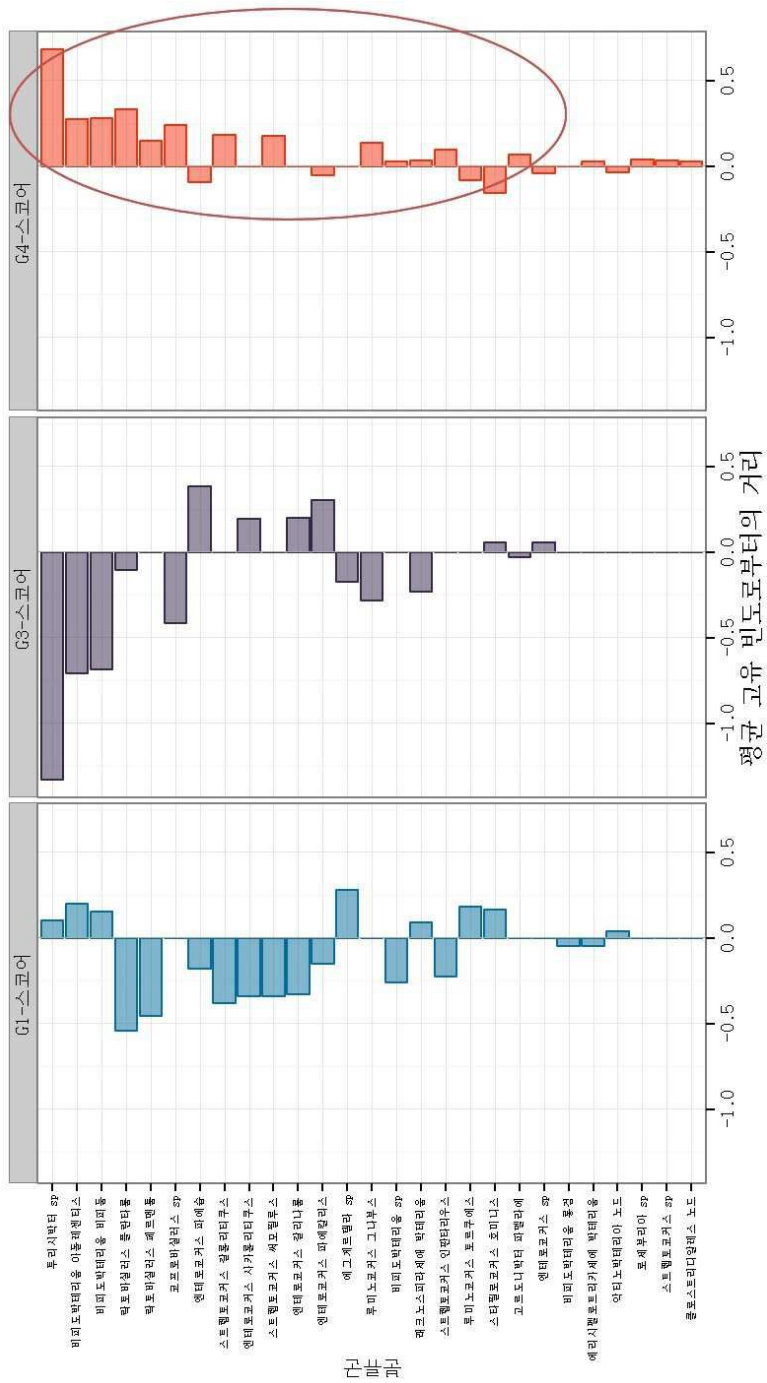
도면16



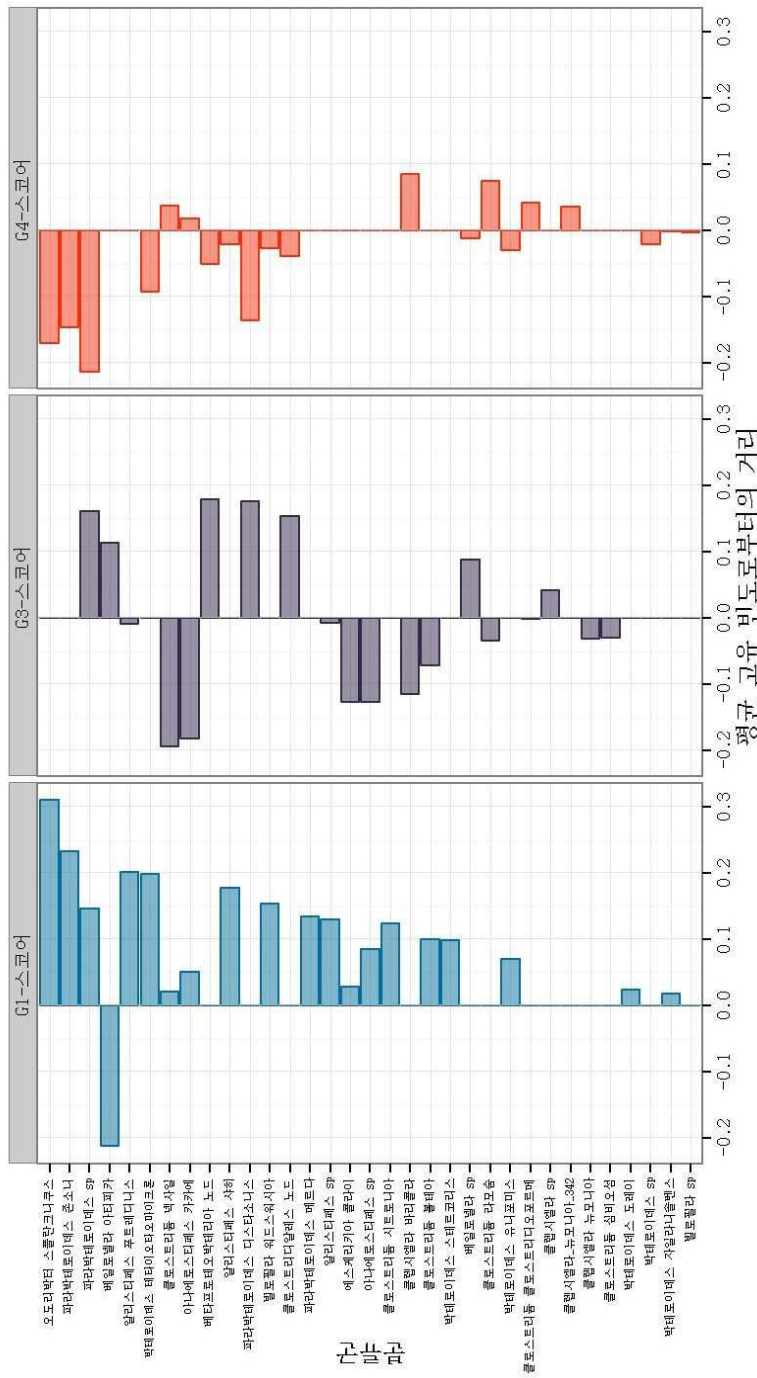
도면17



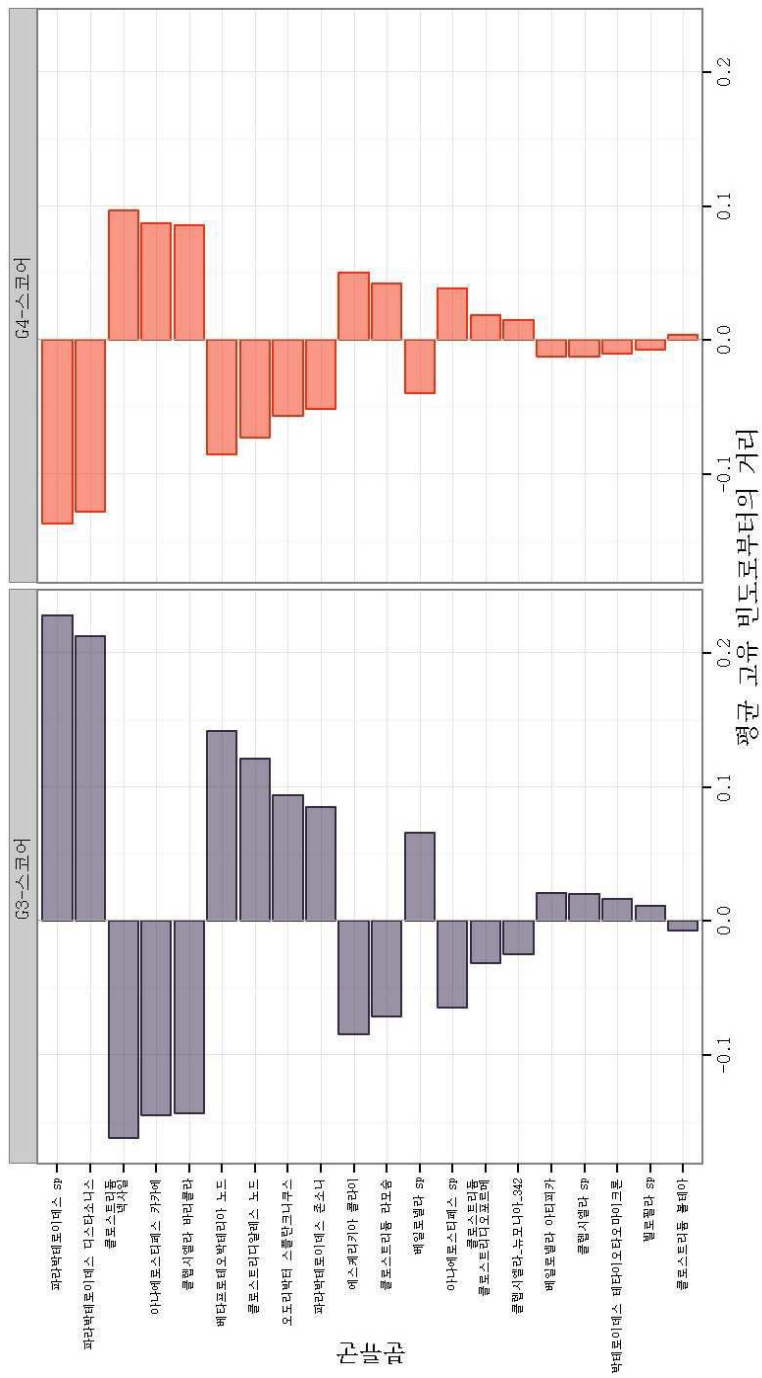
도면18



도면20



도면21



<210> 2

<211> 795

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 2

atgactgaga tgaagatga ttttgcgaag ctggaagaac agtttgacgc aaaattgggc 60
 attttcgct tggacacggg tacgaatcgt acggttgctt accgtccgga cgagcgttc 120
 gccttcgca gcaacatcaa agccctgacc gtggcgctgc tgctccagca aaagagcatc 180
 gaggacctga accagcgcac tacctacacc cgtgatgacg tgggaacta taatccgatc 240
 accgagaaac acgttgatac cggtatgacc ctgaaagaac tggcagatgc aagcctgcgc 300
 tacagcgata acgcggtcca gaatctgatt ctgaagcaaa tcggtggtcc ggagagcttg 360

aagaaagaac tgcgtaaat cggcagatga gtcactaatc cggagcgttt tgagccggag 420
 ctgaacgaag tgaatccggg tgaacgcaa gacacgagca ccgctcgtgc gcttgctacc 480
 tccttcgctg ctttcgcaat ggaagataag ctgccctcgg agaaacgca gctgctgatc 540
 gactggatga agcgaatac gaccggcgac gcctgattc gtgctggcgt tccggacggt 600
 tgggaagtgg ctgacaagc cggctcggcg agctacggca cccgtaacga tatcgcgatc 660
 atttggccac ctaaaggatg cccggtcgtg ctggccgtac tgagcagccg tgacaagaaa 720
 gacgcaaagt atgataacaa gctgattgca gaggcgacca aagtgttat gaaggcactg 780

aacatgaatg gtaag 795

<210> 3

<211> 262

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 3

Glu Met Lys Asp Asp Phe Ala Lys Leu Glu Glu Gln Phe Asp Ala Lys
 1 5 10 15
 Leu Gly Ile Phe Ala Leu Asp Thr Gly Thr Asn Arg Thr Val Ala Tyr
 20 25 30
 Arg Pro Asp Glu Arg Phe Ala Phe Ala Ser Thr Ile Lys Ala Leu Thr

35

40

45

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

<210> 4

<211> 299

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 4

Met Ile Gln Lys Arg Lys Arg Thr Val Ser Phe Arg Leu Val Leu Met

1 5 10 15

Cys Thr Leu Leu Phe Val Ser Leu Pro Ile Thr Lys Thr Ser Ala Gln

20 25 30

Ala Ser Lys Thr Glu Met Lys Asp Asp Phe Ala Lys Leu Glu Glu Gln

35 40 45

Phe Asp Ala Lys Leu Gly Ile Phe Ala Leu Asp Thr Gly Thr Asn Arg

50 55 60

Thr Val Ala Tyr Arg Pro Asp Glu Arg Phe Ala Phe Ala Ser Thr Ile

65 70 75 80

Lys Ala Leu Thr Val Gly Val Leu Leu Gln Gln Lys Ser Ile Glu Asp

85 90 95

Leu Asn Gln Arg Ile Thr Tyr Thr Arg Asp Asp Leu Val Asn Tyr Asn

100 105 110

Pro Ile Thr Glu Lys His Val Asp Thr Gly Met Thr Leu Lys Glu Leu

115 120 125

Ala Asp Ala Ser Leu Arg Tyr Ser Asp Asn Ala Ala Gln Asn Leu Ile

130 135 140

Leu Lys Gln Ile Gly Gly Pro Glu Ser Leu Lys Lys Glu Leu Arg Lys

145 150 155 160

Ile Gly Asp Glu Val Thr Asn Pro Glu Arg Phe Glu Pro Glu Leu Asn

165 170 175

Glu Val Asn Pro Gly Glu Thr Gln Asp Thr Ser Thr Ala Arg Ala Leu

180 185 190

Val Thr Ser Leu Arg Ala Phe Ala Leu Glu Asp Lys Leu Pro Ser Glu

195 200 205

Lys Arg Glu Leu Leu Ile Asp Trp Met Lys Arg Asn Thr Thr Gly Asp

210 215 220

Ala Leu Ile Arg Ala Gly Val Pro Asp Gly Trp Glu Val Gly Asp Lys

225 230 235 240
 Thr Gly Ser Gly Asp Tyr Gly Thr Arg Asn Asp Ile Ala Ile Ile Trp
 245 250 255
 Pro Pro Lys Gly Asp Pro Val Val Leu Ala Val Leu Ser Ser Arg Asp
 260 265 270
 Lys Lys Asp Ala Lys Tyr Asp Asn Lys Leu Ile Ala Glu Ala Thr Lys

 275 280 285
 Val Val Met Lys Ala Leu Asn Met Asn Gly Lys

 290 295

<210> 5

<211> 900

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 5

atgattcaaa aacgaaagcg gacagtttcg ttcagacttg tgcttatgtg cagcgtgtta 60
 tttgtcagtt tgccgattac aaaaacatca gcgcaagctt ccaagacgga gatgaaagat 120
 gatatttgcaa aacttgagga acaatttgat gcaaaactcg ggatctttgc attggataca 180
 ggtacaaaacc ggacggtagc gtatcgcccg gatgagcgtt ttgcttttgc ttcgacgatt 240

aaggctttaa ctgtaggcgt gcttttgcaa cagaaatcaa tagaagatct gaaccagaga 300
 ataacatata cacgtgatga tcttgtaaac tacaaccgga ttacggaaaa gcacgttgat 360
 acgggaatga cgctcaaaga gcttgcggat gcttcgcttc gatatagtga caatgcggca 420
 cagaatctca ttcttaaaca aattggcggga cctgaaagtt tgaaaaagga actgaggaag 480
 attggtgatg aggttacaaa tcccgaacga ttcgaaccag agttaaataga agtgaatccg 540
 ggtgaaactc aggataccag tacagcaaga gcacttgtca caagccttcg agcctttgct 600
 cttgaagata aacttccaag tgaaaaacgc gagcttttaa tcgattggat gaaacgaaat 660

accactggag acgccttaat ccgtgccggt gtgccggacg gttgggaagt gggtgataaa 720
 actggaagcg gagattatgg aaccgggaat gacattgcca tcatttggcc gccaaaagga 780
 gatcctgtcg ttcttgcaat attatccagc agggataaaa aggacgcaa gtatgataat 840
 aaacttattg cagaggcaac aaaggtggta atgaaagcct taaacatgaa cggcaaataa 900

<210> 6

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 6

Glu Thr Gly Thr Ile Ser Ile Ser Gln Leu Asn Lys Asn Val Trp Val
 1 5 10 15

His Thr Glu Leu Gly Tyr Phe Asn Gly Glu Ala Val Pro Ser Asn Gly
 20 25 30

Leu Val Leu Asn Thr Ser Lys Gly Leu Val Leu Val Asp Ser Ser Trp
 35 40 45

Asp Asn Lys Leu Thr Lys Glu Leu Ile Glu Met Val Glu Lys Lys Phe
 50 55 60

Gln Lys Arg Val Thr Asp Val Ile Ile Thr His Ala His Ala Asp Arg
 65 70 75 80

Ile Gly Gly Ile Thr Ala Leu Lys Glu Arg Gly Ile Lys Ala His Ser
 85 90 95

Thr Ala Leu Thr Ala Glu Leu Ala Lys Asn Ser Gly Tyr Glu Glu Pro
 100 105 110

Leu Gly Asp Leu Gln Thr Ile Thr Ser Leu Lys Phe Gly Asn Thr Lys
 115 120 125

Val Glu Thr Phe Tyr Pro Gly Lys Gly His Thr Glu Asp Asn Ile Val
 130 135 140

Val Trp Leu Pro Gln Tyr Gln Ile Leu Ala Gly Gly Cys Leu Val Lys
 145 150 155 160

Ser Ala Glu Ala Lys Asp Leu Gly Asn Val Ala Asp Ala Tyr Val Asn
 165 170 175

Glu Trp Ser Thr Ser Ile Glu Asn Val Leu Lys Arg Tyr Gly Asn Ile
 180 185 190

Asn Ser Val Val Pro Gly His Gly Glu Val Gly Asp Lys Gly Leu Leu
 195 200 205

Leu His Thr Leu Asp Leu Leu Lys

210

215