



(19) 대한민국특허청(KR)  
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2018-0004104  
 (43) 공개일자 2018년01월10일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 9/127 (2006.01) A61K 31/7048 (2006.01)*  
*A61K 45/06 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)*
- (52) CPC특허분류  
*A61K 9/1274 (2013.01)*  
*A61K 31/7048 (2013.01)*
- (21) 출원번호 10-2017-7026735
- (22) 출원일자(국제) 2016년03월03일  
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2017년09월21일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/020722
- (87) 국제공개번호 WO 2016/141203  
 국제공개일자 2016년09월09일
- (30) 우선권주장  
 62/127,799 2015년03월03일 미국(US)  
 (뒷면에 계속)

- (71) 출원인  
 마티나스 바이오파마 나노테크놀로지스, 인코포레이티드  
 미국 뉴저지주 07921 베드민스터 스위트 302 루트 206 사우쓰 1545
- (72) 발명자  
 만니노, 라파엘 제이.  
 미국, 뉴저지 08826, 클렌 가드너, 518 래넌 레인 루, 루잉  
 미국, 뉴저지 07974, 뉴 프로비던스, 47 뉴콤 드 라이브
- (74) 대리인  
 손민

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 코클레이트 및 약리학적 활성제의 조직 침투를 향상시키기 위해 이를 사용하는 방법

### (57) 요약

코클레이트 조성물이 개시된다. 코클레이트 조성물의 경우 투여 후, 약리학적 활성제는 혈장에 비해 조직에서 더 높은 농도로 발견된다. 이러한 코클레이트 조성물의 경우 투여는 또한 건강한 대상체의 조직과 비교하여 감염 또는 염증 조직을 우선적으로 표적화한다. 코클레이트 조성물은 코클레이트 입자 크기를 감소시키는 크기 조절제, 예를 들면, 지질-고정된 폴리뉴클레오티드, 지질-고정된 당, 지질-고정된 폴리펩티드 또는 담즙산 염(예: 옥시클레이트 또는 데옥시클레이트)을 함유한다. 코클레이트 조성물을 사용하는 치료 방법 및 건강한 대상체의 혈장 또는 조직에서 약리학적 활성제의 농도와 비교하여 감염 조직에서 약리학적 활성제의 농도를 증가시키는 방법도 또한 개시된다.

(52) CPC특허분류

*A61K 45/06* (2013.01)

*A61K 9/0053* (2013.01)

(30) 우선권주장

62/162,425 2015년05월15일 미국(US)

62/163,212 2015년05월18일 미국(US)

62/239,675 2015년10월09일 미국(US)

62/247,641 2015년10월28일 미국(US)

62/264,164 2015년12월07일 미국(US)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

코클레이트(cochleate) 조성물로서, 상기 조성물이 적어도 하나의 음으로 하전된 인지질, 다가 양이온, 약리학적 활성제, 및 지질-고정된 폴리뉴클레오티드, 지질-고정된 당, 지질-고정된 폴리펩티드 및 담즙산 염, 예컨대 옥시콜레이트 또는 데옥시콜레이트로 이루어진 그룹으로부터 선택된 크기 조절제를 포함하는 복수의 코클레이트를 포함하는, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 2

제1항에 있어서, 상기 복수의 코클레이트의 평균 입자 크기가  $10\mu\text{m}$  미만인, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 3

제2항에 있어서, 상기 복수의 코클레이트의 평균 입자 크기가  $1\mu\text{m}$  미만인, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 4

제3항에 있어서, 상기 복수의 코클레이트의 평균 입자 크기가 400 내지  $800\text{nm}$ 인, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 복수의 코클레이트의 평균 입자 크기가 상기 크기 조절제 없이 제조된 코클레이트의 평균 입자 크기보다 2 내지 3배 더 작은, 코클레이트.

#### 청구항 6

코클레이트 조성물로서, 상기 조성물이 적어도 하나의 음으로 하전된 인지질, 다가 양이온, 및 약리학적 활성제를 포함하는 복수의 코클레이트를 포함하고, 상기 코클레이트 조성물을 감염 또는 염증 조직을 갖는 포유동물에 경구 투여하면 혈장 중의 약리학적 활성 수준에 비해 감염 또는 염증 조직에서 약리학적 활성제의 높은 수준을 초래하는, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 코클레이트 조성물의 경구 투여 후 상기 약리학적 활성제의 조직 수준이 상기 약리학적 활성제의 혈장 수준보다 적어도 2배 더 높은, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 코클레이트 조성물을 대상체에게 경구 투여한지 24시간 후 감염 또는 염증 조직에서의 상기 약리학적 활성제의 조직 수준이 건강한 대상체에게 경구 투여한지 24시간 후 상기 약리학적 활성제의 조직 수준보다 적어도 1.5배 더 높은, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조직이 신장, 폐, 객담, 간, 뇌, 척추, 척수, 신경, 비장, 심장, 흉선, 림프절, 동맥벽, 혀장, 담낭, 전립선, 난소, 자궁, 고환, 갑상선, 부신, 시상하부, 뇌하수체, 눈, 귀, 장, 방광, 근육, 피부, 백혈구, 뼈, 연골, 관절 조직, 활액 및 지방 조직으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 코클레이트 조성물.

#### 청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 약리학적 활성제가 항진균제, 베타-락타마제 억제제를 포함하거나 이에 국한되지 않는 항세균제, 항바이러스제, 항기생충제, 항원충제 또는 구충제, 백신, 항염증제, siRNA, iRNA, 안티-센스 요법, 또는 유전자-요법 폴리뉴클레오티드를 포함하거나 이에 국한되지 않는 폴리뉴클레오티드, 면역요법제, 항암제, 항이상지질혈증제, 항치매제, 영양 보조제, 허브 제품 및 비타민으로 이루어진 그룹으로부

터 선택되는, 코클레이트 조성물.

### 청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 다가 양이온이 2가 금속 양이온, 예컨대 칼슘, 아연, 망간 또는 바륨인, 코클레이트 조성물.

### 청구항 12

제11항에 있어서, 상기 2가 금속 양이온이 칼슘인, 코클레이트 조성물.

### 청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 적어도 하나의 음으로 하전된 인지질이 상기 코클레이트 조성물의 총 인지질 함량의 약 20% 내지 80%, 또는 30% 내지 70%, 또는, 40% 내지 60%, 또는 45% 내지 55%의 양으로 존재하는, 코클레이트 조성물.

### 청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항의 코클레이트 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하여, 이를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법.

### 청구항 15

혈장에서 약리학적 활성제의 농도에 비해 감염 조직에서 약리학적 활성제의 농도를 증가시키는 방법으로서, 상기 방법이 제1항 내지 제13항 중 어느 한 항의 코클레이트 조성물을 감염 조직을 갖는 대상체에게 경구 투여하는 단계를 포함하고, 상기 약리학적 활성제의 농도가 상기 코클레이트 조성물을 상기 대상체에게 경구 투여한지 24시간 후 혈장에서의 상기 약리학적 활성제의 농도보다 적어도 25% 더 높고( $1.25x$ ), 또는 적어도 50% 더 높고( $1.5x$ ), 또는 적어도 100% 더 높고( $2x$ ), 또는 적어도 150% 더 높고, 또는 적어도 200% 더 높고, 또는 적어도 250% 더 높고, 또는 적어도 300% 더 높고, 또는 적어도 350% 더 높고, 또는 적어도 400% 더 높고, 또는 적어도 500% 더 높고, 또는 적어도 600% 더 높고, 또는 적어도 700% 더 높고, 또는 적어도 800% 더 높고, 또는 대안적으로 적어도 1000% 더 높은( $11x$ ), 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001]

#### 관련 출원의 상호 참조

[0002]

본원은 2015년 3월 3일에 출원된 미국 가출원 제62/127,799호; 2015년 3월 15일에 출원된 미국 가출원 제62/162,425호; 2015년 5월 18일에 출원된 미국 가출원 제62/163,212호; 2015년 10월 9일에 출원된 미국 가출원 제62/239,675호; 2015년 10월 28일에 출원된 미국 가출원 제62/247,641호; 2015년 12월 7일에 출원된 미국 가출원 제62/264,164호의 이익을 주장하고, 이들의 출원일에 의존하며; 이를 전체 개시 내용은 본원에 참조로 인용된다.

[0003]

#### 서열 목록

[0004]

본원은 ASCII 포맷으로 전자 제출된 서열 목록을 함유하고, 이의 전체는 참조로 인용된다. 2016년 3월 3일에 생성된 상기 ASCII 카피는 0200.0002-PCT\_SL.txt로 명명되고, 크기가 993바이트이다.

[0005]

#### 기술 분야

[0006]

본원은 일반적으로 코클레이트(cochleate) 및 약리학적 활성제를 표적 조직에 신속하게 전달하기 위해 이를 투여하는 방법에 관한 것이다.

## 배경 기술

[0007]

현대 약리학 중의 다수는 제1 통과 간 대사작용을 일으키는 혈류로 직접 장의 상부 부분에 치료제의 흡수를 기초로 한다. 이러한 제1 통과 대사작용은 투여되는 약리학적 제제의 다수를 제거하거나 변경할 수 있고, 따라서 유용한 용량을 감소시키거나 부작용을 일으킬 수 있는 대사산물을 생성함으로써 치료 효과를 감소시킨다.

[0008] 혈류로 흡수된 다수의 약리학적 제제는 최종적으로 신체 내의 다른 조직에서 표적화된다. 종종, 혈류로의 흡수는 신체를 통해 약리학적 제제를 분산시키고, 표적 조직으로의 확산을 가능하게 하는 방법이다. 이 접근법은 특정 치료적 적용에 매우 효과적일 수 있지만, 종종 비효율성과 부작용을 초래한다. 예를 들면, 다수의 항감염제는 표적 기관(예: 폐, 비강 또는 방광 벽)을 최종적으로 침투하기 위해서 유의한 혈액 수준에 도달해야 한다. 동시에, 약리학적 제제의 섭취는 항생물질에 의한 장내 세균총의 살상, 메스꺼움, 구토, 설사, 간 독성(제1 통과 또는 이후 대사로부터), 신장 독성(독성 약물 또는 혈액에서 순환하는 그들의 대사산물로부터) 또는 비스테로이드성 항염증성 약물(NSAID)에 의한 위 및 장의 궤양과 같은 비표적 조직에서 유의한 부작용을 일으킬 수 있다.

[0009] 결과로서, 혈유로의 위장 흡수를 통해 또는 주사/주입에 의한 약리학적 제제의 분포는 전형적으로 약물 대 조직 및 기관 수준의 보다 높은 혈액/혈청/혈장 수준을 초래한다. 또한, 약리학적 제제가 약리학적으로 관련된 수준 까지 조직 및 기관에 침투하는 데 종종 상당한 시간이 걸린다.

### 발명의 내용

[0010] 본 개시는 코클레이트 조성물을 제공하고, 상기 조성물은 적어도 하나의 인지질(바람직하게는 적어도 하나의 음으로 하전된 인지질), 다가 양이온(바람직하게는, 2가 금속 양이온, 예를 들면, 칼슘, 아연, 마그네슘 및 바륨), 약리학적 활성제, 및 지질-고정된 폴리뉴클레오티드(lipid-anchored polynucleotide), 지질-고정된 당(lipid-anchored sugar), 지질-고정된 폴리펩티드(lipid-anchored polypeptide) 또는 담즙산 염(예: 옥시콜레이트 또는 데옥시콜레이트)으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 크기 조절제를 포함하는 복수의 코클레이트를 포함한다.

[0011] 특정 구현예에서, 복수의 코클레이트의 평균 입자 크기는  $10\mu\text{m}$  미만, 또는 대안적으로  $1\mu\text{m}$  미만이다. 특정 구현예에서, 복수의 코클레이트의 평균 입자 크기는 크기 조절제 없이 제조된 코클레이트의 평균 입자 크기보다 2 내지 10배 더 작거나, 또는 대안적으로 2 내지 3배 더 작다.

[0012] 다른 국면에서, 본 개시는 코클레이트 조성물을 제공하고, 상기 조성물은 적어도 하나의 인지질(바람직하게는 적어도 하나의 음으로 하전된 인지질), 다가 양이온(바람직하게는 2가 금속 양이온, 예를 들면, 칼슘, 아연, 마그네슘 및 바륨) 및 약리학적 활성제를 포함하는 복수의 코클레이트를 포함하고, 감염 또는 염증 조직을 갖는 포유동물에 상기 코클레이트 조성물의 투여는 혈장 중의 약리학적 활성제의 수준에 비해 감염 또는 염증 조직에서 더 높은 수준의 약리학적 활성제를 초래한다.

[0013] 코클레이트 조성물이 또한 제공되고, 상기 조성물은 적어도 하나의 인지질(바람직하게는 적어도 하나의 음으로 하전된 인지질), 다가 양이온(바람직하게는 2가 금속 양이온, 예를 들면, 칼슘, 아연, 마그네슘 및 바륨), 및 약리학적 활성제를 포함하는 복수의 퀼레이트를 포함하고, 대상체에게 투여(바람직하게는 경구 투여) 후 감염 또는 염증 조직에서 약리학적 활성제의 조직 수준은 건강한 대상체에게 투여(바람직하게는 경구) 24시간 후 약리학적 활성제의 조직 수준보다 적어도 1.5배 더 높다.

[0014] 다른 국면은 이를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 본원에 기재된 코클레이트 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0015] 또 다른 국면은 혈장 중의 약리학적 활성제의 농도와 비교하여 감염 조직에서 약리학적 활성제의 농도를 증가시키는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은 본원에 기재된 코클레이트 조성물을 감염 조직을 갖는 대상체에게 투여(바람직하게는 경구 투여)하는 단계를 포함하고, 상기 약리학적 활성제의 농도는 대상체에게 코클레이트 조성물의 투여 24시간 (또는 48시간 또는 72시간) 후 혈장에서의 약리학적 활성제의 농도보다 적어도 25% 더 높고 ( $1.25x$ ), 또는 적어도 50% 더 높고( $1.5x$ ), 또는 적어도 100% 더 높고( $2x$ ), 또는 적어도 150% 더 높고, 또는 적어도 200% 더 높고, 또는 적어도 250% 더 높고, 또는 적어도 300% 더 높고, 또는 적어도 350% 더 높고, 또는 적어도 400% 더 높고, 또는 적어도 500% 더 높고, 또는 적어도 600% 더 높고, 또는 적어도 700% 더 높고, 또는 적어도 800% 더 높고, 또는 대안적으로 적어도 1000% 더 높다( $11x$ ).

### 도면의 간단한 설명

[0016] 본 명세서에 통합되어 본 명세서의 일부를 구성하는 첨부되는 도면은 특정 구현예를 예시하고, 서술된 설명과 함께 본원에 개시된 조성물 및 방법의 특정 원리를 설명하는 역할을 한다.

도 1은 양친매성 부분 및 음으로 하전된 부분을 갖는 지질-고정된 폴리뉴클레오티드를 도시한다. 이는 또한 코

클레이트를 제조하기 위해 사용될 수 있는 포스파티딜세린 분자를 도시한다. 포스파티딜세린 분자도 또한 양친 매성 부분 및 음으로 하전된 부분을 갖는다.

도 2는 지질-고정된 폴리뉴클레오티드를 함유하는 코클레이트를 제조하는 방법의 개략도를 도시한다.

도 3은 제조되고 시험된 다양한 지질-고정된 폴리뉴클레오티드를 도시한다. 도 3에 도시된 폴리뉴클레오티드는 증강된 그린 형광성 단백질(EGFP)에 특이적인 이본체 siRNA이다. siRNA의 센스 쇄는 서열 ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC(서열번호 1)를 갖는 반면, 앤터센스 쇄는 서열 ACUGGGACUUCAAGUAGACGU(서열번호 2)를 갖는다.

도 4는 칸디다 알비칸스(*Candida albicans*)로 감염되고 복강내로 투여된 2mg/kg의 치료 표준 암포테리신 B 데옥시콜레이트(편지준으로서 공지되기도 함) 또는 경구 투여된 10mg/kg의 코클레이트화 암포테리신 B(CAMB)로 처리된 마우스의 간 조직에서 암포테리신 B의 농도의 시간 경과를 도시한다.

도 5는 칸디다 알비칸스로 감염되고 복강내로 투여된 2mg/kg의 치료 표준 암포테리신 B 데옥시콜레이트(편지준으로서 공지되기도 함) 또는 경구 투여된 10mg/kg의 코클레이트화 암포테리신 B(CAMB)로 처리된 마우스의 폐 조직에서 암포테리신 B의 농도의 시간 경과를 도시한다.

도 6은 칸디다 알비칸스로 감염되고 복강내로 투여된 2mg/kg의 치료 표준 암포테리신 B 데옥시콜레이트(편지준으로서 공지되기도 함) 또는 경구 투여된 10mg/kg의 코클레이트화 암포테리신 B(CAMB)로 처리된 마우스의 신장 조직에서 암포테리신 B의 농도의 시간 경과를 도시한다.

도 7은 0.5mg/kg 코클레이트화 암포테리신 B의 경구 투여 대 2mg/kg 또는 1mg/kg 편지준("기준 AmB")의 정맥내 투여의 효능을 도시한다.

도 8은 암포테리신 B 코클레이트(15mg/kg)가 투여된 건강한 동물 또는 암포테리신 B 코클레이트(10mg/kg)으로 처리된 칸디다 감염 마우스의 혈장, 뇨, 간, 폐 및 신장에서 검출된 암포테리신 B의 수준을 도시한다. 암포테리신 B 코클레이트의 수준은 건강한 동물에서 28일째에, 감염 동물에서 15일째에 검출했다. BLD는 검출 수준이하를 나타낸다.

도 9는 피. 뮤리나(*P. murina*)로 감염되고 경구 위관영양법을 통해 100mg/kg의 용량으로 코클레이트화 ATQ(eATQ)로 처리된 마우스의 혈장 및 폐에서 ATQ의 농도의 시간 경과를 도시한다.

도 10a-f는 피. 뮤리나로 감염되고, 1) ATQ 없는 비히클 (코클레이트) 대조군(C/S), 2) 트리메토프림/설파메탁소졸(T/S), 3) 비-코클레이트화 ATQ(ATQ), 4) 경구 위관영양법에 의해 100mg/kg의 코클레이트화 ATQ(eATQ hi) 또는 5) 경구 위관영양법에 의해 코클레이트화 ATQ 50mg/kg(eATQ lo)으로 처리된 마우스에서 7일(도 10a-b), 14일(도 10c-d) 및 21일(도 10e-f) 후 평균 핵 및 ascii 계수를 도시한다.

도 11a-c는 피. 뮤리나로 감염되고, 1) ATQ 없는 비히클 (코클레이트) 대조군(C/S), 2) 트리메토프림/설파메탁소졸(T/S), 3) 비-코클레이트화 ATQ(ATQ), 4) 경구 위관영양법에 의해 100mg/kg의 코클레이트화 ATQ 또는 5) 경구 위관영양법에 의해 코클레이트화 ATQ 50mg/kg으로 처리된 마우스에서 7일(도 11a), 14일(도 11b) 및 21일(도 11c) 후 생존 곡선을 도시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0017] 각종 예시적 구현예가 상세하게 참조되고, 이의 예가 첨부하는 도면에 예시되고, 이하 상세한 설명에서 논의된다. 이하의 상세한 설명은 본 발명의 특정 구현예, 특징, 및 국면의 상세함의 완전한 이해를 독자에게 제공하기 위해 제공된 것으로 이해되어야 하고, 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0018] 코클레이트는 포스파티딜세린과 같은 인지질에 칼슘과 같은 다가 양이온의 첨가시 (중합이 아니라) 전하-전하 상호작용을 통해 자발적으로 형성된다. 이는 내부 수성 공간이 없는 나선형으로 또는 적층 시트로 감겨진 커다란 연속 고체 지질 이중층을 갖는 다층 구조물을 갖는 안정한 결정성 인지질-칼슘 침전물을 생성한다. 이 독특한 구조는 연관된 "코클레이트화" 분자의 분해로부터 보호한다. 전체 코클레이트 구조가 일련의 고체 층이기 때문에, 코클레이트 구조의 내부 내의 성분(예: 약리학적 활성제)은, 코클레이트의 외부 층이 열악한 환경적 조건 또는 효소에 노출될 수 있음에도 불구하고, 손상되지 않은 채로 잔류한다. 혈청 및 점막 분비에서 생체내 2가 칼슘 농도는 코클레이트 구조가 유지되는 정도이다. 따라서, 대부분의 코클레이트 관련 분자는 고체의 안정하고 불침투성인 구조의 내부 층에 존재한다. 경구 투여 후, 코클레이트는 위장관에서 세포외 봉괴로부터 생존하고, 순환계, 조직 및 활성/감염 세포로 진입한다.

- [0019] 그러나, 일단 세포의 내부에 있으면, 낮은 세포내 칼슘 농도는 코클레이트의 개방 및 포획된 활성 약리학적 제제의 방출("트로이 목마 효과")을 초래한다. 따라서, 코클레이트로의 제형화는, 주로 단핵구/마크로파지 계통의 감염 세포로 세포내 약물 전달을 향상시키는 세포내 표적화를 유도하고, 주사가능한 약물을 유리 약물의 수환 수준 및 따라서 독성이 낮은 유효한 경구 제형으로 전환시킨다.
- [0020] 크기 조절제를 사용하여 코클레이트의 크기를 조절할 수 있다. 코클레이트의 흡수 속도(흡수 효율) 및 조직에 침투하는 이들의 능력은 결정 또는 지오드 코클레이트 입자의 크기에 의해 경감된다. 코클레이트 입자의 크기는 개별 코클레이트 지질-결정의 크기 뿐만 아니라 그들의 응집 속도 및 응집체의 안정성에 의존한다. 변형되지 않은 코클레이트 입자는 비교적 소수성 표면을 갖고, 수성 코클레이트 제조 환경에서, 코클레이트 입자는 전형적으로 함께 부착하여 직경이 수  $\mu\text{m}$  이상, 종종  $10\mu\text{m}$ 보다 큰, 때로는  $50\mu\text{m}$ 보다 훨씬 더 큰 입자로 응집된다. 더 큰 코클레이트 입자는 또한 흡수되지 않고 작은 입자보다 식균 세포에 의해 삼켜진다.
- [0021] 놀랍게도, 더 큰 입자로 응집하는 능력 뿐만 아니라 개개의 코클레이트 결정의 크기는 하나 이상의 크기 조절제, 예를 들면, 지질-고정된 폴리뉴클레오티드, 지질-고정된 당(당지질) 또는 지질-고정된 폴리펩티드 또는 담즙산 염(옥시콜레이트 또는 데옥시콜레이트)을 첨가함으로써 조절될 수 있다는 것이 밝혀졌다.
- [0022] 지질-결정 또는 지오드(또한 지오데이트로서 공지됨) 코클레이트 입자에서 약리학적 활성제의 나노 캡슐화는 GI 관으로부터 혈류로의 약리학적 활성제의 흡수 (또는 이의 최초 통과 또는 다른 대사산물)를 상당히 제한하고, 따라서 조직 노출(위, 장, 간, 신장 등)로부터 생성되는 부작용 또는 유리 약리학적 활성제 및/또는 이의 최초 통과 또는 다른 대사산물로부터의 부작용을 감소시키거나 피한다. 혈류 흡수의 부족은 비코클레이트화 형태의 동일한 약물의 투여와 비교하여 고클레이트 제형으로 경구 투여된 경우 약리학적 활성제 또는 이의 대사산물에 대한 비교적 낮은 혈장 농도에 의해 입증된다.
- [0023] 코클레이트 지오드 또는 지질-결정 나노입자는 GI 관에서 안정하지만, 혈류로 불량하게 흡수된다. 임의의 이론에 결부시키고자 하지 않고, 코클레이트는 대부분 림프계로 흡수된다고 간주된다. 림프계 흡수는 오메가-3 지방산과 같은 지방의  $T_{max}$ 와 일치하여 약 8 내지 12시간에 대부분의 소분자 약물 (또는 그들의 대사산물)에 대한 일관된  $T_{max}$ 에 의해 지지된다.
- [0024] 이러한 매우 작은 코클레이트 지오데이트 또는 지질 결정 나노 입자의 림프계로의 흡수는 이를 입자를 파이어 패치(Peyer's patches) 및 장의 다른 위치에서 마크로파지 및 다른 식균 세포에 노출시킨다. 코클레이트 입자의 크기 및 표면 특성은 코클레이트가 장 및 림프계에 흡수되는 속도/효율 뿐만 아니라 코클레이트가 식균 세포에 의해 흡수되는 속도/효율에 영향을 미친다.
- [0025] 림프계 내의 순환과 화학 주성 때문에, 이러한 마크로파지 및 다른 식균 세포는 림프계를 통해 이들의 약제 투여량(약리학적 활성제)을 갖는 코클레이트 입자를 감염 또는 염증 조직으로 운반한다. 다수의 병리학적 상태 (예: 감염 또는 외상)는 관심이 있는 조직/기관의 국소 염증과 관련된다.
- [0026] 감염 또는 염증 표적 조직에서 코클레이트의 침착 후, 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)는 혈류로 침출된다. 놀랍게도, 약리학적 활성제의 비코클레이트화 전달과 대조적으로, 코클레이트 전달로부터 발생되는 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 조직 수준은 투여 후 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 혈액/혈장 수준과 비교하여 급속히 증가하는 것으로 밝혀졌다.
- [0027] 1. 크기 조절제
- [0028] 본원에 사용된 크기 조절제는 코클레이트의 입자 크기를 감소시키는 제제를 의미한다. 본원에 사용된 용어 "입자 크기"는 입자 직경을 의미하거나, 또는 입자가 구형이 아닌 경우 입자의 한 방향으로 최대 연장을 의미한다. 코클레이트의 입자 크기는 서브마이크론 입자 크기 분석기와 같은 종래의 방법을 사용하여 측정할 수 있다.
- [0029] 특정 구현예에서, 크기 조절제는 지질-고정된 폴리뉴클레오티드, 지질-고정된 당(당지질) 또는 지질-고정된 폴리펩티드이다. 다른 구현예에서, 크기 조절제는 담즙산 염, 예를 들면, 옥시콜레이트 또는 데옥시콜레이트이다. 담즙산 염은 양이온, 일반적으로 나트륨과 배합된 담즙산이다. 담즙산은 포유동물의 담즙에서 주로 발견되는 스테로이드 산이고 시판된다. 특정 구현예에서, 지질-고정된 폴리뉴클레오티드, 지질-고정된 당 또는 지질-고정된 폴리펩티드는 또한, 예를 들면, 폴리뉴클레오티드가 표적 유전자의 발현을 억제할 수 있는 이본쇄 RNA인 경우를 포함하는 약리학적 활성제이다.
- [0030] 지질-고정된 폴리뉴클레오티드는 지방산, 인지질 또는 코클레이트의 인지질 이중층의 소수성 꼬리 내에 고정시키기에 충분히 소수성인 도메인을 갖는 다른 화합물에 공유 결합된 폴리뉴클레오티드이다. 지질-고정된 당은

지방산, 인지질 또는 코클레이트의 인지질 이중층의 소수성 꼬리 내에 고정시키기에 충분히 소수성인 도메인을 갖는 다른 화합물에 공유 결합된 당이다. 지질-고정된 폴리펩티드는 지방산, 인지질 또는 코클레이트의 인지질 이중층의 소수성 꼬리 내에 고정시키기에 충분히 소수성인 도메인을 갖는 다른 화합물에 공유 결합된 폴리펩티드이다. 특정 구현예에서, 지질 앵커는 12개 내지 38개의 탄소원자를 갖는 포화되거나 불포화된 지방산, 예를 들면, 팔미테이트, 스테롤, 예를 들면, 콜레스테롤 또는 라노스테롤, 및 비타민, 예를 들면, 비타민 E 또는 비타민 K로 이루어진 그룹으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 지질 앵커는 공유 결합에 의해 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 당에 직접 연결된다. 다른 구현예에서, 지질 앵커는 폴리카본 또는 폴리-에틸렌 글리콜 쇄, 예를 들면, 헥사-에틸렌글리콜을 포함하나, 이에 국한되지 않는 선형 분자를 포함하는 공유 결합된 스페이서에 의해 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 당에 직접 연결된다. 스페이서는 에스테르, 아미드, 에테르 또는 아지드 결합을 통해 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드 또는 당에 연결될 수 있다.

[0031] 일부 구현예에서, 코클레이트 입자 크기는 앵커-지질에 결합된 폴리뉴클레오티드의 길이를 조절함으로써 최적화된다. 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 길이가 15-20 뉴클레오티드, 또는 15-30 뉴클레오티드, 또는 20-25 뉴클레오티드, 또는 30-50 뉴클레오티드이다. 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드는 순 음전하를 갖는다. 올리고뉴클레오티드는 RNA 또는 DNA일 수 있고, RNA 또는 DNA는 일본쇄 또는 이본쇄(예: 표적 유전자의 발현을 억제할 수 있는 이본쇄 RNA)일 수 있다.

[0032] 다른 구현예에서, 코클레이트 입자 크기는 앵커-지질에 결합된 특이적 다당류 또는 폴리펩티드의 길이 또는 선택을 조절함으로써 최적화된다. 예를 들면, 특정 구현예에서, 폴리펩티드는 길이 10-15, 또는 10-20, 또는 15-20, 또는 25-30, 또는 30-50, 또는 대안적으로 20-30 아미노산이다. 특정 구현예에서, 폴리펩티드 또는 당은 순 음전하를 갖는다. 코클레이트 입자 크기는 또한 특이적 담즙산 염, 예를 들면, 옥시콜레이트 또는 데옥시콜레이트의 선택을 조절함으로써 최적화될 수 있다.

[0033] 하나의 구현예에서, 크기 조절체로 형성된 코클레이트의 적어도 50%(50%의 총 콜레이트 용적 또는 50%의 약리학적 활성체 함유 코클레이트 입자)는 크기  $1\mu\text{m}$  미만, 또는  $2\mu\text{m}$  미만, 또는  $5\mu\text{m}$  미만, 또는  $10\mu\text{m}$  미만, 또는  $20\mu\text{m}$  미만, 또는  $25\mu\text{m}$  미만, 또는  $50\mu\text{m}$  미만의 입자 크기를 갖는다. 다른 구현예에서, 크기 조절체로 형성된 적어도 50%의 코클레이트 입자는 200-400nm, 200-600nm, 200-800nm, 300-500nm, 300-700nm, 300-900nm, 400-500nm, 400-600nm, 400-700nm, 400-800nm, 400-900nm, 500-600nm, 500-700nm, 500-800nm, 500-900nm, 600-700nm, 600-800nm, 600-900nm, 700-800nm, 또는 700-900nm 사이, 바람직하게는 400-800nm 사이의 입자 크기를 갖는다.

[0034] 다른 구현예에서, 크기 조절체로 형성된 코클레이트의 적어도 75%는 크기  $1\mu\text{m}$  미만, 또는  $2\mu\text{m}$  미만, 또는  $5\mu\text{m}$  미만, 또는  $10\mu\text{m}$  미만, 또는  $20\mu\text{m}$  미만, 또는  $25\mu\text{m}$  미만, 또는  $50\mu\text{m}$  미만의 입자 크기를 갖는다. 다른 구현예에서, 크기 조절체로 형성된 코클레이트의 적어도 75%는 200-400nm, 200-600nm, 200-800nm, 300-500nm, 300-700nm, 300-900nm, 400-500nm, 400-600nm, 400-700nm, 400-800nm, 400-900nm, 500-600nm, 500-700nm, 500-800nm, 500-900nm, 600-700nm, 600-800nm, 600-900nm, 700-800nm, 또는 700-900nm 사이, 바람직하게는 400-800nm 사이의 입자 크기를 갖는다.

[0035] 다른 구현예에서, 크기 조절체로 형성된 코클레이트의 적어도 90%는 크기  $1\mu\text{m}$  미만, 또는  $2\mu\text{m}$  미만, 또는  $5\mu\text{m}$  미만, 또는  $10\mu\text{m}$  미만, 또는  $20\mu\text{m}$  미만, 또는  $25\mu\text{m}$  미만, 또는  $50\mu\text{m}$  미만의 입자 크기를 갖는다. 다른 구현예에서, 크기 조절체로 형성된 코클레이트의 적어도 90%는 200-400nm, 200-600nm, 200-800nm, 300-500nm, 300-700nm, 300-900nm, 400-500nm, 400-600nm, 400-700nm, 400-800nm, 400-900nm, 500-600nm, 500-700nm, 500-800nm, 500-900nm, 600-700nm, 600-800nm, 600-900nm, 700-800nm, 또는 700-900nm 사이, 바람직하게는 400-800nm 사이의 입자 크기를 갖는다.

[0036] 하나의 구현예에서, 코클레이트의 평균 입자 크기는 크기  $1\mu\text{m}$  미만, 또는  $2\mu\text{m}$  미만, 또는  $5\mu\text{m}$  미만, 또는  $10\mu\text{m}$  미만, 또는  $20\mu\text{m}$  미만, 또는  $25\mu\text{m}$  미만, 또는  $50\mu\text{m}$  미만이다. 다른 구현예에서, 코클레이트의 평균 입자 크기는 200-400nm, 200-600nm, 200-800nm, 300-500nm, 300-700nm, 300-900nm, 400-500nm, 400-600nm, 400-700nm, 400-800nm, 400-900nm, 500-600nm, 500-700nm, 500-800nm, 500-900nm, 600-700nm, 600-800nm, 600-900nm, 700-800nm, 또는 700-900nm 사이, 바람직하게는 400-800nm 사이이다.

[0037] 다른 구현예에서, 코클레이트의 평균 입자 크기는 크기  $1\mu\text{m}$  미만, 또는  $2\mu\text{m}$  미만, 또는  $5\mu\text{m}$  미만, 또는  $10\mu\text{m}$  미만, 또는  $20\mu\text{m}$  미만, 또는  $25\mu\text{m}$  미만, 또는  $50\mu\text{m}$  미만이다. 다른 구현예에서, 코클레이트의 평균 입자 크기는 200-400nm, 200-600nm, 200-800nm, 300-500nm, 300-700nm, 300-900nm, 400-500nm, 400-600nm, 400-700nm, 400-800nm, 400-900nm, 500-600nm, 500-700nm, 500-800nm, 500-900nm, 600-700nm, 600-800nm, 600-900nm, 700-800nm, 또는 700-900nm 사이, 바람직하게는 400-800nm 사이이다.

- [0038] 또 다른 구현예에서, 크기 감소제를 갖는 코클레이트의 평균 입자 크기는 크기 감소제가 없는 동일한 코클레이트의 평균 입자 크기보다 1.5-2배, 또는 2-3배, 또는 3-5배, 또는 2-10배, 또는 5-10배, 또는 대안적으로 10배 이상 더 작다. 다른 구현예에서, 크기 감소제를 갖는 코클레이트의 평균 입자 크기는 크기 감소제를 갖지 않는 동일한 코클레이트의 평균 입자 크기보다 적어도 140%, 적어도 120%, 적어도 100%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 60%, 적어도 50%, 적어도 40%, 적어도 30%, 적어도 25%, 적어도 20%, 또는 적어도 10% 더 작다.
- [0039] 리포솜 혼탁액을 형성하기 전에 지질에 또는 코클레이트화 전에 리포솜 혼탁액에 첨가되는 크기 조절제의 양은 코클레이트 입자의 크기에 영향을 미칠 수 있다. 특정 구현예에서, 크기 조절제의 양은 총 코클레이트 중량의 0.1중량% 미만, 또는 0.1중량% 내지 0.7중량%, 또는 0.7중량% 내지 1.5중량%, 또는 1.5중량% 내지 2.5중량%, 또는 2.5중량% 내지 5중량%, 또는 5중량% 내지 15중량%, 또는 15중량% 내지 25중량%, 또는 대안적으로 25중량% 내지 50중량%이다. 하나의 구현예에서, 크기 조절제의 양은 총 코클레이트 중량의 5중량% 미만이다.
- [0040] **2. 코클레이트의 제조방법**
- [0041] 코클레이트는 전체 개시내용이 본원에 참조로 인용된 미국 특허 제5,994,318호 및 제6,153,217호에 기재된 것들을 포함하나, 이에 국한되지 않는 공지된 방법을 사용하여 제조할 수 있다. 하나의 구현예에서, 상기 방법은 일반적으로 약리학적 활성제를 용매의 존재하에 지질(바람직하게는 음으로 하전된 인지질, 예를 들면, 포스파티딜세린)과 배합하는 단계, 수용액을 첨가하여 리포솜을 형성하는 단계 및 다가 양이온으로 침전시켜 코클레이트를 형성하는 단계를 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 방법은 일반적으로 약리학적 활성제가 리포솜과 결합하도록 약리학적 활성제를 용매의 존재하에 리포솜과 배합하는 단계 및 다가 양이온으로 침전시켜 약리학적 활성제 함유 코클레이트를 형성하는 단계를 포함한다.
- [0042] 바람직한 구현예에서, 다가 양이온은 2가 금속 양이온, 예를 들면, 칼슘, 아연, 마그네슘 및 바륨이다. 바람직한 구현예에서, 2가 금속 양이온은 칼슘이다.
- [0043] 약리학적 활성제를 용매의 존재하에 리포솜에 도입하는 단계는 다양한 방식으로 달성될 수 있다. 하나의 구현예에서, 약리학적 활성제는 용매 및 약리학적 활성제의 용액을 리포솜에 도입함으로써 도입된다. 바람직하게는, 리포솜은 리포솜 혼탁액, 바람직하게는 수성 리포솜 혼탁액으로 존재한다. 바람직한 구현예에서, 용액은 용액의 적가로 리포솜에 도입된다. 다른 구현예에서, 용액은 연속 유동에 의해 또는 거환으로서 첨가될 수 있다. 또한, 용액은 용액의 첨가 전, 첨가 후 또는 첨가와 함께 첨가된 물과 함께 건조된 지질에 도입될 수 있다.
- [0044] 다른 구현예에서, 약리학적 활성제는 용매 전 또는 후에 리포솜에 도입된다. 예를 들면, 약리학적 활성제는 용매를 포함하는 리포솜 혼탁액에 도입될 수 있다. 이어서, 혼합물은 약리학적 활성제와 리포솜의 결합을 촉진시키기 위해 진탕, 혼합와동 등을 수행할 수 있다. 도입된 약리학적 활성제는 분말 또는 액체 형태일 수 있다.
- [0045] 항산화제(예: 비타민 E)도 또한 코클레이트를 제조하는 데 사용될 수 있다. 항산화제는 약리학적 활성제 또는 리포솜과 함께 도입될 수 있다. 바람직하게는, 이는 리포솜 혼탁액 또는 약리학적 활성제와 용매의 용액에 도입된다.
- [0046] 리포솜은 리포솜을 제조하는 임의의 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 따라서, 리포솜은, 예를 들면, 용매 주사, 지질 수화, 역증발, 반복 동결 및 해동에 의한 동결 건조에 의해 제조될 수 있다. 리포솜은 소단층 소포(SUV)를 포함하는 다중층(MLV) 또는 단층(ULV)일 수 있다. 이러한 리포솜 용액 중의 지질의 농도는 약 0.1mg/ml 내지 500mg/ml일 수 있다. 바람직하게는, 지질의 농도는 약 0.5mg/ml 내지 약 50mg/ml, 더욱 바람직하게는 약 1mg/ml 내지 약 25mg/ml이다.
- [0047] 리포솜은, 예를 들면, 투석, 컬럼 크로마토그래피, 바이오 비드 SM-2를 사용하는 세제 제거, 역상 증발(REV) 또는 고압 압출에 의한 중간 크기 단층 소포의 형성에 의해 제조된 거대한 단층 소포(LUV), 안정한 복수층 소포(SPLV) 또는 올리고라벨라 소포(OLV)일 수 있다[참조: Methods in Biochemical Analysis, 33:337 (1988)].
- [0048] 임의의 적합한 용매가 이러한 방법에 사용될 수 있다. 소정의 적용에 적합한 용매는 당업자에 의해 용이하게 동정될 수 있다. 바람직하게는, 용매는 FDA 허용 용매이다. 용매는 유기 용매 또는 무기 용매일 수 있다. 하나의 구현예에서, 용매는 수 혼화성 용매이다. 다른 구현예에서, 용매는 물 또는 수성 완충제이다. 다른 적합한 용매는 디메틸설폐사이드(DMSO), 메틸페롤리돈, N-메틸페롤리돈(NMP), 아세토니트릴, 알콜, 예를 들면, 에탄올(EtOH), 디메틸포름아미드(DMF), 테트라하이드로푸란(THF), 및 이의 조합을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

일반적으로, 용매 내의 약리학적 활성제 농도는 약 0.01mg/ml 내지 200mg/ml 사이이다. 바람직하게는, 약리학적 활성제 농도는 약 0.05mg/ml 내지 약 100mg/ml 사이, 더욱 바람직하게는 약 0.1mg/ml 내지 20mg/ml 사이이다.

[0049] 용매는, 예를 들면, 리포솜의 형성 전, 리포솜 단계 및/또는 코클레이트가 형성된 후에 임의로 제거될 수 있다. 임의의 공지된 용매 제거 방법이 사용될 수 있다. 예를 들면, 용매는 접선 유동 및/또는 여과 및/또는 투과에 의해 리포솜 혼탁액으로부터, 또는 세척, 여과, 원심분리 및/또는 투석에 의해 코클레이트로부터 제거될 수 있다. 코클레이트는, 예를 들면, 완충제 또는 물로, 임의로 칼슘 또는 다른 양이온에 의해 세척할 수 있다.

[0050] 상기 주시된 바와 같이, 크기 조절제는 코클레이트를 제조하는 방법 동안 도입될 수 있다. 특정 구현예에서, 크기 조절제는 침전된 코클레이트의 형성 전에 지질 또는 리포솜에 첨가된다. 예를 들면, 하나의 구현예에서, 크기 조절제는 코클레이트가 후속적으로 형성되는(예: 양이온의 첨가 또는 투석에 의해) 리포솜 혼탁액에 도입된다. 대안적으로, 크기 조절제는 약리학적 활성제의 첨가 전후에 지질 용액에 도입될 수 있다.

[0051] 임의의 적합한 지질이 코클레이트를 제조하는 데 사용될 수 있다. 하나의 구현예에서, 지질은 하나 이상의 음으로 하전된 지질을 포함한다. 본원에 사용된 용어 "음으로 하전된 지질"은 산성, 염기성 또는 생리학적 pH의 수용액에서 공식적 음전하를 띤 헤드 그룹을 갖는 지질을 포함하고, 또한 쌍성 양이온성 헤드 그룹을 갖는 지질을 포함한다.

[0052] 코클레이트는 또한 비-음으로 하전된 지질(예: 양성 및/또는 중성 지질)을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 코클레이트는 상당한 양의 음으로 하전된 지질을 포함한다. 특정 구현예에서, 대부분의 지질은 음으로 하전된다. 하나의 구현예에서, 지질은 적어도 50% 음으로 하전된 지질을 포함하는 지질의 혼합물이다. 다른 구현예에서, 지질은 적어도 75% 음으로 하전된 지질을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 지질은 적어도 85%, 90%, 95% 또는 98% 음으로 하전된 지질을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 지질은 35%-70%, 40%-70%, 45%-65%, 40%-60%, 45%-55%, 또는 45%-50% 사이 음으로 하전된 지질을 포함한다.

[0053] 음으로 하전된 지질은 대두 기반 지질, 다른 콩과 기반 지질, 계란 기반 지질, 소 기반 지질 또는 돼지 기반 지질을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 지질은 인지질, 예를 들면, 대두 기반 인지질을 포함한다. 음으로 하전된 지질은 포스파티딜세린(PS), 디올레오일포스파티딜세린(DOPS), 포스파티드산(PA), 포스파티딜이노시톨(PI) 및/또는 포스파티딜 글리세롤(PG) 및/또는 이러한 지질 중 하나 이상과 다른 지질의 혼합물을 포함할 수 있다. 추가로 또는 대안적으로, 지질은 포스파티딜콜린(PC), 포스파티딜에탄올아민(PE), 디포스포파티딜글리세롤(DPG), 디올레오일 포스파티드산(DOPA), 디스테아로일 포스파티딜세린(DSPS), 디미리스토일 포스파티딜세린(DMPS), 디팔미토일 포스파티딜글리세롤(DPPG) 등을 포함할 수 있다.

### 3. 약리학적 활성제

[0055] 코클레이트는 바람직하게는 약리학적 활성제와 결합되거나 약리학적 활성제와 함께 부하된다. 예를 들면, 약리학적 활성제는 다음 부류 중의 하나로부터 선택될 수 있다: 항진균제, 베타-락타마제 억제제를 포함하나 이에 국한되지 않는 항세균제, 항바이러스제, 항기생충제, 항원충제 또는 구충제, 백신, 항염증제, siRNA, iRNA, 암티센스 요법(RNA 또는 DNA, 일본쇄 또는 이본쇄), 또는 유전자 요법 폴리뉴클레오티드(통합성 DNA 또는 RNA 플라스미드)를 포함하지만, 이에 국한되지 않는 폴리뉴클레오티드, 면역요법제, 항암제(항신생물제 포함), 항이상지질혈증제, 항치매제, 영양 보조제, 허브 제품 또는 비타민.

[0056] 특정 구현예에서, 지질-고정된 폴리뉴클레오티드, 지질-고정된 당 또는 지질-고정된 폴리펩티드는, 예를 들면, 폴리뉴클레오티드가 표적 유전자의 발현을 억제할 수 있는 이본쇄 RNA인 경우를 포함하는 약리학적 활성제이다.

[0057] 예로써, 항진균제는 다음 중의 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다: 폴리엔 항진균제(예: 니스타틴, 나타마이신, SPA-S-843, SPA-S-752, SPA-S-753, 또는 파르트리신 A 또는 파르트리신 B), 에치노칸딘(예: 아나돌라펜긴, 카스포펜긴, 미카펜긴 또는 비아펜긴), 아졸 항진균제(예: 플루코나졸, 케토코나졸, 보리코나졸, 포사코나졸, 이사부코나졸, 비포나졸, 부토코나졸, 클로트리마졸, 에코나졸, 펜티코나졸, 이소코나졸, 룰리코나졸, 미코나졸, 오모코나졸, 옥시코나졸, 세르타코나졸, 설코나졸, 티오코나졸, 알바코나졸, 에피나코나졸, 에폭시코나졸, 이트라코나졸, 프로피코나졸, 라부코나졸, 테르코나졸 또는 아바펜긴), 나프토퀴논(예: 아토바쿠온), 1,3 D 글루칸 합성 억제제(예: 엔푸마펜긴 또는 이의 유도체(MK-3118 또는 SCY-078), 14 α-데메틸라제 억제제 또는 에르고스테롤 생산 억제제(예: 아졸 항진균제 또는 VT-1161, VT-1129, VT-1598와 같은 금속 효소 진균제CYP51 억제제)).

[0058] 예로써, 항세균제는 다음 중의 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다: 단백질 합성 억제제; 30S

개시 억제제, 예를 들면, 아미노글리코시드 항생물질(스트렙토마이신, 디하이드로스트렙토마이신, 네오마이신, 프라미세틴, 파로모마이신, 리보스타마이신, 칸나마이신, 아미카신, 아르베카신, 베카나마이신, 디베카신, 토크라마이신, 스펙티노마이신, 하이그로마이신 B, 파로모마이신, 젠타마이신, 네틸마이신, 시소마이신, 이세파마이신, 베르다마이신 및 아스트로마이신 포함); 30S tRNA 결합 항생물질, 예를 들면, 테트라사이클린, 글리실사이클린 또는 플루오로사이클린(독시사이클린, 클로르테트라사이클린, 클로모사이클린, 데메클로사이클린, 리메사이클린, 메클로사이클린, 메타사이클린, 미노사이클린, 옥시테트라사이클린, 페니메피사이클린, 롤리테트라사이클린, 테트라사이클린, 티게사이클린 또는 에라바사이클린 포함); 50S 개시 억제제, 예를 들면, 옥사졸리дин 항생물질(에페зол리드, 리네졸리드, 포시졸리드, 라데졸리드, 란베졸리드, 수테졸리드 및 테디졸리드 포함); 웨პ티딜 트랜스페라제, 예를 들면, 암페니콜 또는 플류로무틸린(클로르암페니콜, 아지드암페니콜, 티암페니콜, 플로르페니콜, 레타파몰린, 티아몰린 및 발네몰린 포함); 웨პ티드 전이/전좌 항생물질, 예를 들면, 마크롤리드, 케톨리드, 플루오로케톨리드, 린코사미드 또는 스트렙토그라민(아지트로마이신, 클라리트로마이신, 디리트로마이신, 에리트로마이신, 플루리트로마이신, 조사마이신, 미데카마이신, 미오카마이신, 올레안도마이신, 오키타마이신, 록시트로마이신, 스피라마이신, 트롤레안도마이신, 텔로신, 텔리트로마이신, 세트로마이신, 솔리트로마이신, 피닥소마이신, 카보마이신 A, 키타사마이신, 클린다마이신, 린코마이신, 피클리마이신, 프리스티나마이신, 퀴누프리스틴, 달포프리스틴 및 베지니아마이신 포함); 신장 인자 억제제, 예를 들면, 스테로이드 항세균제(푸시드산 포함); 웨პ티도글리칸 합성/트랜스웨პ티다제 억제제, 예를 들면, 페니실린(천연 페니실린 페니실린 G 및 페니실린 V;  $\beta$ -락타마제-내성 페니실린 메티실린, 나프실린, 옥사실린, 클록사실린 및 디클록사실린; 아미노페니실린 암피실린, 아목시실린, 피밥피실린, 혜타실린, 바캄피실린, 메탐피실린, 타람피실린 및 에피실린; 카복시페니실린 카베니실린, 및 티카실린; 우레이도페니실린 메플로실린 및 피페라실린 포함) 또는 세팔로스포린(세파세트릴, 세파드록실, 세팔렉신, 세팔로글리신, 세팔로늄, 세팔로라딘, 세팔로틴, 세파피린, 세파트리진, 세파자플루르, 세파제돈, 세파졸린, 세프라딘, 세프록사딘, 세프테졸, 세파클로르, 세포니시드, 세프프로질, 세푸록심, 세푸조남, 세프메타졸, 세포테탄, 세폭시틴, 로라카르베프, 세프부페라존, 세프메타졸, 세프미녹스, 세포테탄, 세폭시틴, 세포티암, 세프카펜, 세프달록심, 세프디니르, 세프디토렌, 세페타메트, 세피심, 세프메녹심, 세포디자임, 세포탁심, 세포베신, 세프피미졸, 세프포독심, 세프테람, 세프타메레, 세프티부텐, 세프티오푸르, 세프티올렌, 세프티족심, 세프트리악손, 세포페라존, 세프타지덤, 라타목세프, 세프클리딘, 세페팜, 세풀루프레남, 세포셀리스, 세포조프란, 세프피롬, 세프퀴놈, 플로목세프, 세프토비프롤, 세프타롤린, 세프톨로잔, 세팔로람, 세파파롤, 세프카넬, 세페드롤로르, 세펩피돈, 세페트리졸, 세피비트릴, 세프마틸렌, 세프메피듐, 세폭사졸, 세프로틸, 세프수미드, 세프티옥시드, 세푸라세타임 및 니트로세핀 포함); 페넴 또는 카바페넴(파로페넴, 에르타페넴, 도리페넴, 이미페넴, 메로페넴, 비아페넴 및 파니페넴 포함); 모노박탐(아즈트레오남, 티게모남, 카루모남, 노카르디신 A 포함); 글리코웹티드 항생물질(반코마이신, 오리타반신, 텔라반신, 테이코플라닌, 달바반신 및 라모플라닌 포함); 베타-락타마제(클라불라네이트, 설박탐, 타조박탐 및 아비박탐 포함), 다른 항생물질(포스포마이신, 사이클로세린, 박시트라신, 콜리스틴, 폴리믹신 B, 텁토마이신, 라이소자임, 그라미시딘, 이소니아지드 또는 테익소박틴 포함).

[0059]

예로써, 항바이러스제는 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있지만, 이에 국한되지 않는다: DNA 폴리머라제 억제제(예: 아시클로비르, 팜시클로비르, H2G, 밸시클로비르, 간시클로비르, 시도포비르 또는 브린시도포비르); 탈외피 억제제(예: 아만타딘 및 리만타딘), 바이러스 진입 억제제(예: 엔푸비르티드), 면역 반응 조절제(예: 이미퀴모드, 레시퀴모드 또는 라르디퀴모드), 뉴클레오시드 역전사효소 억제제(예: 지도부딘 또는 라미부딘), 또는 다음 중의 하나; 소포스부비르, 레디파스비르, 시메프레비르, 옴비타스비르, 파리타프레비르, 리토나비르, 아바카비르, 돌루테그라비르, 테노포비르, 엠트리시타빈, 엘비테그라비르, 마라비록, 에파비렌즈, 릴피비린, 코비시스타트, 포삼프레마비르, 넬피나비르, 멜라비르딘, 인디나비르, 랄테그라비르, 인터페론 감마, 리바비린, 보세프레비르, 에파비렌즈, 엔테카비르, 다클라타스비르, 아타자나비르. 항바이러스제는 또한 임의의 HIV 항바이러스제일 수 있다.

[0060]

예로써, 항기생충제, 항원충제 또는 구충제는 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다: 벤즈이미다졸 유도체(예: 알벤다졸, 메벤다졸, 티아벤다졸, 펜벤다졸, 트리클라벤다졸 또는 플루벤다졸), 아버멕틴 유사체 또는 유도체(예: 아버멕틴, 아바멕틴 또는 이버멕틴), 디에틸카마마진, 수라민, 피란텔, 파모에이트, 프로구아닐, 레바미솔, 살리실아닐리드(예: 니클로사미드 또는 옥시클로자자니드), 프라지쿠안텔, 옥타헵시펩티드(예: 에모펩시드), 나프토퀴논(예: 아토바쿠온), 아미노아세토니트릴 유도체(예: 모네판텔), 스피로인돌(예: 데르쿠안텔) 또는 펠레티에린 설페이트.

[0061]

예로써, 한 구현예에서, 항염증제는 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다: 다음 부류 중의 하나 이상에 속하는 NSAID를 포함하는 NSAID: 살리실레이트(예: 아스파린[아세틸살리실산], 디플루니살,

살살레이트 또는 살리실산 및 다른 살리실레이트), 프로피온산 유도체(예: 이부프로펜, 텍시부프로펜, 나프록센, 페노프로펜, 케토프로펜, 텍스케토프로펜, 플루르비프로펜, 옥사프로진 또는 룩소프로펜), 아세트산 유도체(예: 인도메타신, 툴메틴, 설린닥, 에토돌락, 케토롤락, 디클로페낙, 아세클로페낙 또는 나부메톤), 에놀산(-옥시캄) 유도체(예: 피록시캄, 멜록시캄, 테녹시캄, 드록시캄, 로르녹시캄, 이속시캄 또는 페닐부타존), 안트라닐산 유도체(예: 페나메이트, 예를 들면, 메페남산, 메클로페남산, 플루페남산 또는 톨페남산), 선택적 COX-2 억제제(예: 셀레콕시브, 로페콕시브, 발데콕시브, 파레콕시브, 루미라콕시브, 에토리콕시브 또는 피로콕시브), 셀론아닐리드(예: 니메실리드) 또는 기타(예: 클로닉신, 리코페론 또는 H-하파지드).

[0062] 예로써, 다른 구현예에서, 항염증제는 다음 중의 하나 이상을 포함할 수 있으나, 이에 국한되지 않는다: 코르티코스테로이드(예: 하이드로코르티손, 하이드로코르티손 아세테이트, 코르티손 아세테이트, 틱소코르톨 피발레이트, 프레드니솔론, 메틸프레드니솔론, 프레드니손, 트리암시놀론 아세토니드, 트리암시놀론 알콜, 모메타손, 암시노니드, 부테소니드, 테소니드, 플루오시노니드, 플루오시놀론 아세토니드, 할시노니드, 베타메타손, 베타메타손 나트륨 포스페이트, 텍사메타손, 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 플루오코르톨론, 하이드로코르티손-17-발레레이트, 할로메타손, 알클로메타손 디프로페오네이트, 베타메타손 발레레이트, 베타메타손 디프로페오네이트, 프레드니카베이트, 클로베타손-17-부티레이트, 클로베타솔-17-프로페오네이트, 플루오코르톨론 카프로에이트, 플루오코르톨론 피발레이트, 플루프레드니텐 아세테이트, 하이드로코르티손-17-부티레이트, 하이드로코르티손-17-아세포네이트, 하이드로코르티손-17-부테프레이트, 시클레소니드, 프레드니카베이트, 플루니솔리드, 플루티카손 푸로에이트, 플루티카손 프로페오네이트, 트리암시놀론 아세토니드, 베클로메타손 디프로페오네이트 및 부데소니드), DMARD(예: 메토트렉세이트, 아자티오프린, 시클로스포린, 페니실라민, 오라노핀, 오로티오말레이트 염, 미노사이클린, 하이드록시클로로퀸, 클로로퀸, 설파살라진, 레플루노미드, 테리플루노미드, 메살라민 또는 사이클로포스파미드), 아세트아미노펜, 항-TNF 제제(예: 아달리무맙, 인플릭시맙, 에타네르셉트, 세르톨리주맙 페골), 마크롤리드 칼시뉴린 억제제(예: 시룰리무스 또는 타크롤리무스), JAK-억제제(예: 토파시티닙, 톡솔리티닙, 바리시티닙(LY3009104, INCB28050), CYT387, 필고티닙(GLPG0634), GSK2586184, 레스타우르티닙, 파크리티닙(SB1518), TG101348, JSI-124, 또는 CHZ868), IL-6 길항제(예: 토실리주맙 또는 아틀리주맙), 항-CD20 제제(예: 리툭시맙, 오비누투주맙, 이브리투모맙 티وخ세탄, 토시투모맙, 오파투무맙, 오크렐리주맙, TRU-015 또는 IMMU-106[벨투주맙]), CD52-길항제(예: 알렘투주맙), 알파-4 인테크린 길항제(예: 나탈리주맙), II형 토포아이소머라제 억제제(예: 미토크산트론), 스팽고신-1-포스페이트 수용체 조절제(예: 핀골리모드, 라퀴니모드, 오자니모드 또는 포네시모드), 베타-인터페론, 또는 다음 제제 중의 하나 또는 이들의 기능적 유사체: 글라티라며아세테이트 또는 디메틸 푸마레이트.

#### 4. 약제학적 조성물

[0064] 본원에 기재된 코클레이트는 약제학적 조성물로서 제조될 수 있다. 본원에 개시된 약제학적 조성물을 위한 적합한 제제 형태는, 예를 들면, 정제, 캡슐, 연질 캡슐, 과립, 산제, 혼탁액, 에멀젼, 마이크로에멀젼, 나노에멀젼, 단위 투여 형태, 링, 필름, 좌제, 용액, 크림, 시럽, 경피 패치, 연고 및 젤을 포함한다.

[0065] 약제학적 조성물은 다른 약제학적으로 허용되는 부형제, 예를 들면, 각종 pH 및 이온 강도의 완충제(예: 트리스-HCl, 아세테이트, 포스페이트); 첨가제, 예를 들면, 표면에의 흡수를 방지하는 알부민 또는 젤라틴; 프로테아제 억제제; 침투 촉진제; 가용화제(예: 글리세롤, 폴리에틸렌 글리세롤; 항산화제(예: 아스코르브산, 메타중아황산나트륨, 부틸화 하이드록시아니솔); 안정화제(예: 하이드록시프로필 셀룰로스, 하이드록시프로필메틸 셀룰로스); 점도 증가제(예: 카보머, 콜로이드성 이산화규소, 에틸 셀룰로스, 구아 검); 감미제(예: 아스파탐, 시트르산); 방부제(예: 티메로살, 벤질 알콜, 파라벤); 유동 보조제(예: 콜로이드성 이산화규소), 가소제(예: 디에틸 프탈레이트, 트리에틸 시트레이트); 유화제(예: 카보머, 하이드록시프로필 셀룰로스, 나이트륨 라우릴 세ղ레이트); 중합체 코팅(예: 폴록사며 또는 폴록사민, 하이프로멜로스 아세테이트 석시네이트); 코팅 및 필름 형성제(예: 에틸 셀룰로스, 아크릴레이트, 폴리메타크릴레이트, 하이프로멜로스 아세테이트 석시네이트); 아쥬반트; 액체 제형을 위한 약제학적으로 허용되는 담체, 예를 들면, 수성(물, 알콜성/수성 용액, 에멀젼 또는 혼탁액, 생리식염수 및 완충 배지 포함) 또는 비수성(예: 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 및 주사가능한 유기 에스테르, 예를 들면, 에틸 올레아이트) 용액, 혼탁액, 에멀젼 또는 오일; 및 염화나트륨 용액, 링거의 텍스트로스, 텍스트로스 및 염화나트륨, 락테이트화 링거 및 비휘발성 오일을 포함하나, 이에 국한되지 않는 비경구 비히클(피하, 정맥내, 동맥내 또는 근육내 주사용)을 포함할 수 있다.

[0066] 이러한 부형제는 예로써 제공되고, 본원에 나열된 것들과 동일한 화학적 특징을 제공할 수 있는 다른 또는 상이한 부형제가 존재할 것임이 당업자에게 공지될 것이다.

[0067]

## 5. 용량 및 투여

[0068]

본원에 개시된 바와 같은 코클레이트를 포함하는 약제학적 조성물은 이의 의도된 투여 경로에 적합하도록 제형화된다. 투여를 달성하는 방법은 당업자에게 공지되어 있다. 이는, 예를 들면, 정맥내, 혈관내, 동맥내, 피하, 근육내, 복강내, 심실내, 경막내 또는 기타와 같은 비경구 경로에 의한 주사 뿐만 아니라 경구, 비내, 안, 직장 또는 국소를 포함한다.

[0069]

하나의 구현예에서, 코클레이트는, 예를 들면, 혼탁액, 정제, 캡슐, 소프트겔 또는 다른 경구 투여 형태를 투여 함으로써 경구 투여된다. 다른 구현예에서, 코클레이트화 약물은 혈류, 눈, 복강내로, 근육 또는 피하로의 주입 또는 주사에 의해 비경구 투여된다. 또 다른 구현예에서, 코클레이트화 약물은 국소 투여된다, 예를 들면, 눈 위에, 귀에 낙하되거나 피부, 발가락/손가락-손톱 또는 생식기 영역에 다양한 형태로, 예를 들면, 패치(층 또는 저장소), 크림, 연고, 또는 혼탁액으로 또는 항문 좌제로서 적용된다.

[0070]

본원에 기재된 코클레이트에 의해 제공된 상당히 향상된 조직 침투로, 약리학적 활성제의 더 낮은 1일 용량을 제공할 수 있고 여전히 약리학적 활성제의 약제학적 유효 수준을 달성할 수 있다.

[0071]

코클레이트화 약물의 표적 전달은 혈류로의 흡수를 상당히 제한하고, 놀랍게도 동일한 약물의 비코클레이트화 형태의 경구 투여 또는 심지어 이러한 약물의 주사 가능한 형태와 비교하여 투여된 코클레이트화 약물의 표적 조직(전형적으로, 염증, 감염, 외상 또는 급성/암성 조직)으로의 신속한 침투를 초래한다.

[0072]

일부 구현예에서, 코클레이트에 의해 전달된 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 조직 수준은 동일한 대상체 또는 대상체의 그룹 내에서 결정된 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 혈액/혈장/혈청 수준보다 더 높다. 구현예에서, 코클레이트 조성물의 경구 투여 후 약리학적 활성제의 조직 수준은 혈장 수준의 적어도 50%, 또는 적어도 60%, 또는 적어도 70%, 또는 적어도 75%, 또는 적어도 80%, 또는 적어도 90%, 또는 적어도 100%, 또는 적어도 110%, 또는 적어도 120%, 또는 적어도 125%, 또는 적어도 130%, 또는 적어도 140%, 또는 적어도 150%, 또는 적어도 200%, 또는 적어도 500%, 또는 적어도 600%, 또는 적어도 750%, 또는 대안적으로 적어도 1000%이다. 하나의 구현예에서, 코클레이트 조성물의 경구 투여 후 약리학적 활성제의 조직 수준은 약리학적 활성제의 혈장 수준보다 2배 더 높다. 다른 구현예에서, 약리학적 활성제는 구체적으로 암포테리신 B를 제외한다.

[0073]

일부 구현예에서, 코클레이트에 의해 전달된 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 조직 수준은 동일한 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 비코클레이트화 전달로부터 생성된 조직 수준보다 더 높다. 따라서, 일부 구현예에서, 코클레이트화 약물은 동일 약물의 비코클레이트화 버전보다 더 빨리 의학적 상태를 해결한다.

[0074]

비코클레이트화 약물의 보급이 종종 대부분 건강한 대상체 대 병든 대상체에서 일반적으로 유사한 흡수, 소산, 이동, 대사 및 배설 과정의 결과이지만, 이들은 일반적으로 코클레이트화 약물에 대해서는 사실이 아니다. 결과적으로, 조직 수준 및 클리어런스 과정은 코클레이트화 약물로 치료될 경우, 병든 대상체(의학적 상태를 갖는 대상체)와 비교하여 건강한 대상체에서 상이하게 전개된다.

[0075]

일부 구현예에서, 의학적 상태를 갖는 대상체에게 코클레이트에 의해 전달된 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 조직 수준은 동일한 코클레이트화 약제의 투여시 건강한 대상체의 비교가능한 조직에서의 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 수준보다 더 높다. 특정 구현예에서, 의학적 상태를 갖는 대상체에게 코클레이트를 통해 투여 24시간 후 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 조직 수준은, 건강한 대상체에게 코클레이트에 의해 투여 24시간 (또는 48시간 또는 72시간) 후 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 조직 수준과 비교하여, 적어도 25% 더 높고, 또는 적어도 50% 더 높고, 또는 적어도 100% 더 높고, 또는 적어도 150% 더 높고, 또는 적어도 200% 더 높고, 또는 적어도 250% 더 높고, 또는 적어도 300% 더 높고, 또는 적어도 350% 더 높고, 또는 적어도 400% 더 높고, 또는 적어도 500% 더 높고, 또는 적어도 600% 더 높고, 또는 적어도 700% 더 높고, 또는 적어도 800% 더 높고, 또는 적어도 1000% 더 높다. 하나의 구현예에서, 약리학적 활성제는 구체적으로 암포테리신 B를 제외한다.

[0076]

다른 구현예에서, 동일한 코클레이트화 약물로 치료될 때, 의학적 상태를 갖는 대상체 또는 대상체들에서 이 약물의 혈액/혈장/혈청 수준은 건강한 대상체에서보다 더 낮다. 다른 구현예에서, 동일한 코클레이트화 약물로 치료될 경우, 의학적 상태를 갖는 대상체 또는 대상체들에서 이 약물의 높 수준은 건강한 대상체에서보다 더 낮다.

[0077]

따라서, 표적 조직(예: 감염 또는 염증 조직)에서 코클레이트화 약물의 수준은 혈장 중의 코클레이트화 약물 또

는 건강한 대상체의 조직에서 코클레이트화 약물의 수준 또는 비코클레이트화 약물의 조직 수준과 비교하여 상이하게 더 높다.

[0078] 약리학적 활성제의 조직 수준은 신장, 폐, 객담, 간, 뇌, 척추, 척수, 신경, 비장, 심장, 흉선, 램프절, 동맥벽, 췌장, 담낭, 전립선, 난소, 자궁, 여성 유방, 고환, 갑상선, 부신, 시상하부, 뇌하수체, 눈, 귀, 장, 방광, 뇨, 근육, 피부, 백혈구, 뼈, 연골, 관절 조직, 활액, 지방 조직 또는 종양 및 암성/신생물성 조직을 포함하지만, 이에 국한되지 않는 조직, 기관 및 체액의 범위에서 다양한 형태로 결정될 수 있다.

[0079] 특정 구현예에서, 약리학적 활성제 (또는 이의 대사산물)의 조직 침투 및 조직 수준은 특정 시점의 조직 농도, 최대 조직 농도(Cmax), 및/또는 지정된 시간 동안 누적 조직 농도(AUC)에 기초하여 결정된다. 특정 구현예에서, 차별적으로 더 높은 조직 수준이 투여 후 첫째 날 동안 관찰되어 표적 조직으로 투여된 코클레이트화 약물의 신속한 침투를 입증한다. 다른 구현예에서, 이들 더 높은 조직 수준은 처음 2일 이내에, 또는 투여 후 처음 3일 이내에, 또는 투여 후 처음 5일 이내에, 또는 투여 후 처음 7일 이내에, 또는 투여 후 처음 10일 이내에, 또는 투여 후 처음 15일 이내에, 또는 투여 후 처음 30일 이내에 관찰된다. 또 다른 구현예에서, 더 높은 조직 수준은 1일째에, 또는 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 14일, 15일, 20일, 25일째에, 또는 30일째에 관찰된다. 하나의 구현예에서, 약리학적 활성제는 구체적으로 암포테리신 B를 제외한다.

[0080] 코클레이트화 약물은 치료 주기 초기에 더 빨리 표적 조직에 침투하고 약물학적 중재의 초기 단계 동안 더 높은 조직 수준을 초래하지만, 치료된 의학적 상태의 결과적인 조기 해소로, 조직 수준은 비코클레이트화 약물에 의한 비교 치료보다 빨리 감소한다. 일부 구현예에서, 코클레이트화 약물에 의한 치료 후기 단계 동안 보다 완만한 조직 수준은 보다 낮은 독성 및 민감한 기관 및 조직의 보다 우수한 기능성을 초래하여 치료된 대상체의 생존 전망 및 건강을 향상시킨다.

[0081] 일부 구현예에서, 의학적 상태의 해소의 시작과 관련된 이러한 낮은 수준은 이 약물의 비코클레이트화 버전에 의한 치료와 비교하여 코클레이트화 약물에 의한 치료 개시 후 3일 이내에 명백해진다. 대안적으로, 다른 구현예에서, 의학적 상태의 해소의 시작과 관련된 이러한 낮은 조직 수준은 이 약물의 비코클레이트화 버전에 의한 치료와 비교하여 코클레이트화 약물에 의한 치료 개시 후 5일 이내, 또는 7일 이내, 또는 10일 이내, 또는 15일 이내, 또는 20일 이내, 또는 30일 이내, 또는 50일 이내에 명백해진다. 하나의 구현예에서, 약리학적 활성제는 구체적으로 암포테리신 B를 제외한다.

## 6. 치료 방법

[0083] 본원에 기재된 코클레이트는 약리학적 활성제로 치료될 수 있는 장애의 위협이 있거나 (또는 걸리기 쉽거나) 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법에 사용될 수 있다. 약제학적 활성제로부터 이익을 얻을 수 있는 임의의 치료적 징후는 본원에 기재된 코클레이트를 사용하여 치료할 수 있다. 치료적 징후는 세균성, 진균성, 바이러스성 또는 기생충 감염, 자가면역 또는 다른 상태와 관련된 염증, 외상의 해소, 또는 암 및 신생물성 상태의 진정을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

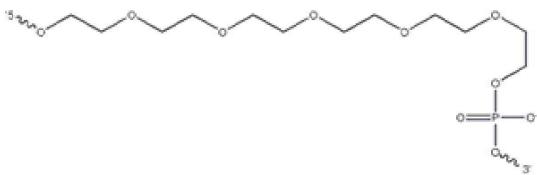
[0084] 특정 구현예에서, 상기 방법은 약리학적 활성제 및 크기 감소제를 포함하는 코클레이트를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명의 코클레이트 및 코클레이트 조성물은 경구, 비강, 국소, 정맥내, 경피, 구강, 설하, 직장, 질내 또는 비경구 투여될 수 있다. 바람직한 구현예에서, 코클레이트는 경구 투여된다. 대상체는 인간 또는 비인간 동물, 예를 들면, 개, 고양이 및 농장 동물이다. 바람직한 구현예에서, 대상체는 인간이다.

## 실시예

[0086] 상기 제공된 실시예는 예시 목적을 위한 것일 뿐이다. 당업자는 본원에 기재된 바와 같은 적합한 고체 분산 형태를 생성하기 위해 적합한 방법 및 장치를 용이하게 결정할 수 있다.

### 실시예 1: 지질-고정된 폴리뉴클레오티드를 갖는 코클레이트의 입자 크기의 조절

[0088] siRNA를 지질 앵커에 공유 결합시켰다. siRNA는 각 3' 말단에 2개의 뉴클레오티드 오버행과 함께 21 뉴클레오티드를 갖는 이본쇄 RNA 분자였다. siRNA는 강화된 그린 형광 단백질(EGFP)에 특이적이다. 센스 쇄는 서열 ACCCUGAAGUCAUCUGCACC(서열번호 1)를 갖는 반면, 앤티센스 쇄는 서열 ACUGGGACUUCAAGUAGACGU(서열번호 2)를 갖는다. siRNA는 S18을 갖거나 갖지 않는 팔미테이트, S18을 갖거나 갖지 않는 콜레스테롤, S18을 갖거나 갖지 않는 비타민 E(라세미체), 또는 S18을 갖거나 갖지 않는 비타민 EL(비타민 E의 L-이성체)를 포함하는 다양한 지질 앵커에 공유 결합시켰다. S18은 하기 화학식을 갖는 18 원자 헥사-에틸렌글리콜 스페이서이다:



[0089]

[0090] 지질 고정된 siRNA는 또한 형광 Cy3 염료를 포함했다. 수용액 중의 지질 고정된 siRNA는 리포솜의 혼탁액에 첨가한 다음, 칼슘을 siRNA-리포솜 복합체에 첨가하여 코클레이트를 형성했다. 리포솜은 DOPS(디올레오일포스파티딜세린, 99.9% 순수) 또는 DOPS + 10% (wt:wt) 콜레스테롤로 구성되었다. 상 콘트라스트 및 흡수형es광 현미경법을 사용하여 리포솜, 코클레이트, "개방된 코클레이트"(EDTA 첨가 후) 단계에서 siRNA-코클레이트 제형의 형태학을 평가했다.

[0091]

[0091] 코클레이트의 입자 크기는 광자 상관 분광법 서브마이크론 입자 크기 분석기를 사용하여 측정했다. 샘플을 90° 각, 22°C에서 200초의 실행 시간으로 분석기를 통해 실행시켰다. 희석제는 4mM 칼슘을 함유하는 수용액이었다.

[0092]

[0092] 이들의 소수성 표면 때문에, 평면 코클레이트는 수용액 중에서 응집된다. 따라서, siRNA를 전혀 함유하지 않는 대조군 코클레이트는 칼슘의 첨가 후 거대한 코클레이트 응집체를 형성했다(데이터는 도시되지 않음). 어떤 지질-고정된 폴리뉴클레오티드도 함유하지 않는 대조군 코클레이트의 평균 입자 크기는 약 85 내지 115 $\mu\text{m}$ 였다. 상이한 지질-고정된 폴리뉴클레오티드로 형성된 코클레이트의 평균 입자 크기는 이하 표에 나타낸 바와 같이, 대조군 코클레이트보다 100 내지 200배 정도 더 작았다.

지질 고정 폴리뉴클레오티드	평균 크기( $\text{nm}$ )	평균 SD ( $\text{nm}$ )
EGFP-VEL	714.8	465.6
EGFP-VEL+CH	759.8	331.3
EGFP-VEL+S18	449.7	327.6
EGFP-VEL+S18+CH	443.9	336.0
EGFP-VE	496.0	335.9
EGFP-VE+CH	667.7	389.2
EGFP-VE+S18	399.9	284.7
EGFP-VE+S18+CH	1453.1	1077.1
PMA1-II+CH	3000.0	173.0
EGFP-1Pa1+CH	758.3	216.6

[0093]

[0094] CH는 코클레이트가 지질 이중층에서 콜레스테롤로 제조되었다는 것을 나타낸다.

#### 실시예 2: 데옥시콜레이트로 제조된 암포테리신 B 코클레이트의 입자 크기 감소

[0096]

[0096] 암포테리신 B(CAmB) 및 상이한 양의 데옥시콜레이트를 함유하는 코클레이트를 제조했다. 최종 생성물에 0.45mg/ml 데옥시콜레이트를 함유하는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml 50mM 포스페이트 완충제 중에서 100mg의 50% 대두 포스파티딜세린 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45 $\mu\text{m}$  필터를 통해 여과시켰다). 1.2 $\mu\text{l}$  알콜 중의 120 $\mu\text{g}$  비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 암포테리신 B 코클레이트 결정의 입자 크기를 더 작게 만들기 위해, 이어서 83 $\mu\text{l}$  멸균수 중의 5.0mg 데옥시콜레이트를 암포테리신 B 리포솜의 혼합물에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었고, 그들은 최종 생성물에 0.45mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유했다.

[0097]

[0097] 최종 생성물에 0.9mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유하는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml의 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml의 50mM 포스페이트 완충제 중의 100mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45 $\mu\text{m}$  필터를 통해 여과시켰다). 1.2 $\mu\text{l}$  알콜 중의 120 $\mu\text{g}$  비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 암포테리신 B 코클레이트 결정의 입자 크기를 더 작게 만들기 위해, 이어서 167 $\mu\text{l}$  멸균수 중의 10mg의 데옥시콜레이트를 암포테리신 B 리포솜의 혼합물에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었고, 그들은 최종 생성물에 0.9mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유했다.

- [0098] 최종 생성물에 1.79mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유하는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml의 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml의 50mM 포스페이트 완충제 중의 100mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45μm 필터를 통해 여과시켰다). 1.2μl 알콜 중의 120μg 비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 암포테리신 B 코클레이트 결정의 입자 크기를 더 작게 만들기 위해, 이어서 0.33ml 멸균수 중의 20mg의 데옥시콜레이트를 암포테리신 B 리포솜의 혼합물에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었고, 그들은 최종 생성물에 1.79mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유했다.
- [0099] 최종 생성물에 2.5mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유하는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml의 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml의 50mM 포스페이트 완충제 중의 100mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45μm 필터를 통해 여과시켰다). 1.2μl 알콜 중의 120μg 비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 암포테리신 B 코클레이트 결정의 입자 크기를 더 작게 만들기 위해, 이어서 0.5ml 멸균수 중의 30mg의 데옥시콜레이트를 암포테리신 B 리포솜의 혼합물에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었고, 그들은 최종 생성물에 2.5mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유했다.
- [0100] 최종 생성물에 3.4mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유하는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml의 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml의 50mM 포스페이트 완충제 중의 100mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45μm 필터를 통해 여과시켰다). 1.2μl 알콜 중의 120μg 비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 암포테리신 B 코클레이트 결정의 입자 크기를 더 작게 만들기 위해, 이어서 0.67ml 멸균수 중의 40mg의 데옥시콜레이트를 암포테리신 B 리포솜의 혼합물에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었고, 그들은 최종 생성물에 3.4mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유했다.
- [0101] 최종 생성물에 4.3mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유하는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml의 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml의 50mM 포스페이트 완충제 중의 100mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45μm 필터를 통해 여과시켰다). 1.2μl 알콜 중의 120μg 비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 암포테리신 B 코클레이트 결정의 입자 크기를 더 작게 만들기 위해, 이어서 0.83ml 멸균수 중의 50mg의 데옥시콜레이트를 암포테리신 B 리포솜의 혼합물에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었고, 그들은 최종 생성물에 4.3mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유했다.
- [0102] 최종 생성물에 5mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유하는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml의 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml의 50mM 포스페이트 완충제 중의 100mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45μm 필터를 통해 여과시켰다). 1.2μl 알콜 중의 120μg 비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 암포테리신 B 코클레이트 결정의 입자 크기를 더 작게 만들기 위해, 이어서 1.0ml 멸균수 중의 60mg의 데옥시콜레이트를 암포테리신 B 리포솜의 혼합물에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었고, 그들은 최종 생성물에 5mg/ml의 데옥시콜레이트를 함유했다.
- [0103] 최종 생성물에 데옥시콜레이트를 함유하지 않는 CAmB를 제조하기 위해, 0.5ml의 50mM NaOH 용액 중의 20mg의 암포테리신 B를 암포테리신 B를 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 10ml의 50mM 포스페이트 완충제 중의 100mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜을 5, 0.8 및 0.45μm 필터를 통해 여과시켰다). 1.2μl 알콜 중의 120μg 비타민 E를 AmB 리포솜에 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.378ml의 1M 염화칼슘 용액을 암포테리신 B 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 코클레이트 중의 지질 대 암포테리신 B의 비는 5:1이었다.
- [0104] 코클레이트의 입자 크기는 서브마이크론 입자 크기 분석기를 사용하여 측정했다. 놀랍게도, 데옥시콜레이트를 사용하여 암포테리신 B를 갖는 코클레이트를 제조할 경우, 입자 크기를 데옥시콜레이트 없이 제조된 암포테리신

B 코클레이트보다 약 2 내지 3배 더 작은  $8.7\mu\text{m}$ (평균) 또는  $7.8\mu\text{m}$ (중앙값)으로 감소시킬 수 있었다. 이는 또한 데옥시콜레이트 없이 제조된 아미카신 코클레이트의 입자 크기보다 10배 이상 더 작다(참조: 실시예 3).

코클레이트 제형	크기 < 10%	25%	50%	75%	90%	평균	중앙값
데옥시콜레이트 없는 CamB	$7.5\mu\text{m}$	$12.5\mu\text{m}$	$19.2\mu\text{m}$	$26.3\mu\text{m}$	$32.7\mu\text{m}$	$19.2\mu\text{m}$	$19.7\mu\text{m}$
0.45mg/ml 데옥시콜레이트를 갖는 CamB	$4.9\mu\text{m}$	$7.2\mu\text{m}$	$10.9\mu\text{m}$	$15.7\mu\text{m}$	$22\mu\text{m}$	$13\mu\text{m}$	$10.9\mu\text{m}$
0.9mg/ml 데옥시콜레이트를 갖는 CamB	$4.3\mu\text{m}$	$6.4\mu\text{m}$	$9.8\mu\text{m}$	$15\mu\text{m}$	$27.8\mu\text{m}$	$12.8\mu\text{m}$	$9.8\mu\text{m}$
1.8mg/ml 데옥시콜레이트를 갖는 CamB	$2.7\mu\text{m}$	$4.8\mu\text{m}$	$7.8\mu\text{m}$	$11.7\mu\text{m}$	$15.9\mu\text{m}$	$8.8\mu\text{m}$	$7.8\mu\text{m}$
2.5mg/ml 데옥시콜레이트를 갖는 CamB	$2.5\mu\text{m}$	$4.8\mu\text{m}$	$8.1\mu\text{m}$	$12.2\mu\text{m}$	$15.8\mu\text{m}$	$8.7\mu\text{m}$	$8.1\mu\text{m}$
3.4mg/ml 데옥시콜레이트를 갖는 CamB	$2.7\mu\text{m}$	$5.3\mu\text{m}$	$8.8\mu\text{m}$	$13.2\mu\text{m}$	$18\mu\text{m}$	$9.8\mu\text{m}$	$8.8\mu\text{m}$
4.5mg/ml 데옥시콜레이트를 갖는 CamB	$3.3\mu\text{m}$	$5.4\mu\text{m}$	$8.4\mu\text{m}$	$11.9\mu\text{m}$	$15.2\mu\text{m}$	$8.8\mu\text{m}$	$8.4\mu\text{m}$
5mg/ml 데옥시콜레이트를 갖는 CamB	$4.4\mu\text{m}$	$7.2\mu\text{m}$	$10.2\mu\text{m}$	$13.3\mu\text{m}$	$16.3\mu\text{m}$	$10.3\mu\text{m}$	$10.2\mu\text{m}$

[0105]

#### 실시예 3: 데옥시콜레이트로 제조된 아미카신 코클레이트의 입자 크기 분석

[0106]

아미카신 코클레이트를 제조하기 위해, 0.2ml 멸균수 중의 2mg의 아미카신을  $0.22\mu\text{m}$  필터를 통해 여과시키고, 아미카신을 함유하는 리포솜을 형성하기 위해 2.0ml 중의 멸균수 중의 20mg의 50% 대두 PS 리포솜과 배합했다(대두 PS 리포솜 혼탁액을 먼저 5, 0.8 및  $0.45\mu\text{m}$  필터를 통해 여과시켰다). 데옥시콜레이트를 이하 표에 나타낸 바와 같이 코클레이트를 제조하는 과정 동안 상이한 시간: 아미카신의 첨가 전, 칼슘의 첨가 전, 칼슘의 첨가 후 또는 각 단계에서 첨가했다. 생성되는 혼합물에, 이어서, 0.159ml의 0.1M 염화칼슘을 아미카신 코클레이트를 형성하기 위해 격렬하게 혼합하면서 첨가했다. 아미카신을 함유하지 않는 대조군 코클레이트(플라시보)를 제조하고, 데옥시콜레이트를 칼슘 전에 첨가했다. 아미카신을 갖고, 데옥시콜레이트 또는 아미카신도 데옥시콜레이트도 갖지 않는 다른 대조군 코클레이트를 제조했다. 코클레이트의 입자 크기는 서브마이크론 입자 크기 분석기를 사용하여 측정했다.

샘플 정보	크기< 10%	25%	50%	75%	90%	평균	중앙값
CAmK - Amk 전 테옥 시콜레이트 첨가	43.8 $\mu$ m	64 $\mu$ m	85.6 $\mu$ m	110 $\mu$ m	134.8 $\mu$ m	87 $\mu$ m	85.6 $\mu$ m
CAmK - Ca++ 전 테 옥시콜레이트 첨가	45.2 $\mu$ m	90.1 $\mu$ m	121.7 $\mu$ m	152 $\mu$ m	178.3 $\mu$ m	117.7 $\mu$ m	121.7 $\mu$ m
CAmK - Ca++ 후 전 테옥시콜레이트 첨 가	43.2 $\mu$ m	65 $\mu$ m	85.8 $\mu$ m	107.4 $\mu$ m	127.5 $\mu$ m	84.9 $\mu$ m	85.8 $\mu$ m
CAmK - 각 단계에서 테옥시콜레이트 첨 가	46.5 $\mu$ m	70 $\mu$ m	91.1 $\mu$ m	113.8 $\mu$ m	135.6 $\mu$ m	90.5 $\mu$ m	91.1 $\mu$ m
플라시보 - Ca++ 전 테옥시콜레이트 첨 가	16.2 $\mu$ m	69.6 $\mu$ m	110.9 $\mu$ m	156.9 $\mu$ m	198.2 $\mu$ m	110.6 $\mu$ m	110.9 $\mu$ m
4:1 CAmK - 10mgPS/ml 최종 pH 5.0(테옥시콜레이트 없음)	-	27 $\mu$ m	53.2 $\mu$ m	75.7 $\mu$ m	98.9 $\mu$ m	121.3 $\mu$ m	75.5 $\mu$ m
4:1 CAmK - 10mgPS/ml 최종 pH 7.0(테옥시콜레이트 없음)	-	17.5 $\mu$ m	35.2 $\mu$ m	51.3 $\mu$ m	71.3 $\mu$ m	95.1 $\mu$ m	54.7 $\mu$ m
4:1 CAmK - 20mgPS/ml 최종 pH 5.0(테옥시콜레이트 없음)	-	24.1 $\mu$ m	49 $\mu$ m	77.2 $\mu$ m	111.8 $\mu$ m	145.9 $\mu$ m	82 $\mu$ m
4:1 CAmK - 20mgPS/ml 최종 pH 7.0(테옥시콜레이트 없음)	-	33.1 $\mu$ m	52.1 $\mu$ m	72.2 $\mu$ m	95.5 $\mu$ m	118.9 $\mu$ m	73.8 $\mu$ m
10:1 CAmK - 10mgPS/ml 최종 pH 5.0(테옥시콜레이트 없음)	-	16.7 $\mu$ m	40.1 $\mu$ m	61.8 $\mu$ m	84.5 $\mu$ m	106.5 $\mu$ m	62.7 $\mu$ m
10:1 CAmK - 10mgPS/ml 최종 pH 7.0(테옥시콜레이트 없음)	-	13.6 $\mu$ m	37.1 $\mu$ m	64.6 $\mu$ m	90.6 $\mu$ m	115.1 $\mu$ m	65.2 $\mu$ m
플라시보 - 10mgPS/ml 최종 pH 5.0(테옥시콜레이트 없음)	-	13.4 $\mu$ m	30.5 $\mu$ m	94.4 $\mu$ m	197.4 $\mu$ m	278.3 $\mu$ m	122.9 $\mu$ m
플라시보 - 20mgPS/ml 최종 pH 5.0(테옥시콜레이트 없음)	-	15.3 $\mu$ m	57.2 $\mu$ m	119.6 $\mu$ m	173.1 $\mu$ m	221.7 $\mu$ m	119.7 $\mu$ m
							119.6 $\mu$ m

[0108]

[0109]

아미카신 코클레이트는 지질 대 아미카신의 비 및 최종 pH에 따라 테옥시콜레이트의 첨가 없이 큰 응집체를 형성하고 크기는 평균 약 50 내지 80 $\mu$ m이다. 놀랍게도, 큰 아미카신 코클레이트에 테옥시코클레이트를 첨가하면 크기를 감소시키지 않았고, 실제로 테옥시콜레이트가 첨가된 경우에 따라 그들의 크기를 평균 약 85 내지 117 $\mu$ m로 증가시켰다. 상기 주시된 바와 같이, 테옥시콜레이트로 제조된 암포테리신 B 코클레이트의 입자 크기는 테옥시콜레이트로 제조된 아미카신 코클레이트의 입자 크기보다 약 적어도 10배 더 작았다.

[0110]

실시예 4: 전신 칸디다증을 앓는 마우스에서 코클레이트화 암포테리신 B(CAmB)의 경구 투여 후 약물동력학(PK) 및 생체분포(BD)

[0111]

암포테리신 B 테옥시콜레이트(DAmB)는 이의 광범위한 활성 스펙트럼 및 제한된 내성으로 인해 항진균 치료에서 "금본위제(gold standard)"로서 간주되어 왔다. 그러나, DAmB 및 이의 유도체의 사용은 상당한 독성 및 정맥내 투여에 의해 제한된다. CAmB는 관련된 독성 없이 감염 조직에 암포테리신 B(AmB)의 표적 경구 전달을 위해 설계된 지질 결정 나노입자 제형이다.

[0112]

65마리 BALB/c 마우스를  $5 \times 10^5$  세포의 칸디다 알비칸스로 0일째에 감염시켰다. 감염 후 24시간에 마우스를 대조군, DAmB 2mg/kg (복강내), 또는 CAmB 10mg/kg (경구)으로 최대 14일 동안 치료했다. 치료되지 않고 감염되지 않은 마우스의 그룹을 블랭크 대조군으로 사용했다. 각 치료 그룹으로부터 5마리 마우스를 1일, 3일, 5일, 7일, 11일 및 15일째에 희생시켰다. 혈장 및 조직을 AmB 농도의 분석을 위해 수집했다.

[0113]

혈장 중의 AmB의 농도는 61%의 CAmB 및 44%의 DAmB 샘플에서 검출되지 않았으며, 두 그룹 사이에 혈장 수준의 유의한 차이는 없었다. 그러나, 조직(간, 폐, 신장)에서, 정량화 가능한 AmB 수준이 모든 샘플에서 나타났고(도 4 내지 6), CAmB는 24시간 이내에 0.25 $\mu$ g/ml의 최소 억제 농도(MIC)에 도달하는 반면, DAmB는 MIC에 도달하는데 3 내지 5일 소요된다. 효과적인 투여량에서, CAmB에 대한 조직 수준은 MIC의 2 내지 3배에 머무르는 반면,

DAmB는 치료 두 번째 주 동안 조직 수준을 MIC의 4 내지 40배로 증가시킨다.

[0114] 칸디다(*Candida*) 감염 마우스에서, 경구 투여된 CAmB는 위장관으로부터 급속히 흡수되어 24시간 전에 MIC 수준 이상의 조직 농도를 초래한다. 대조적으로, 치료의 표준인 복강내 투여된 DAmB는 MIC에 도달하는데 약 72시간 소요된다. 또한, DAmB의 복강내 투여 후 AmB의 조직 농도는 MIC보다 훨씬 높은 수준으로 계속 상승하여 심지어 투여 2주 후에 독성에 대한 우려를 제기한다. 대조적으로, 경구 CAmB는, 치료 첫 날 동안 조직에 급속하게 축적 후, 치료 두 번째 주 동안 높은 수준으로 상승하지 않고 수평을 유지하여 원하지 않는 부작용 및 독성을 완화시킨다.

[0115] 칸디다 감염 마우스를 또한 낮은 용량(0.5mg/kg)의 경구 코클레이트화 암포테리신 B로 치료하고, DAmB가 1mg/kg 및 2mg/kg 복강내 투여된 감염 마우스와 비교했다. 코클레이트화 암포테리신 B는 상당히 낮은 용량에서 1mg/kg 및 2mg/kg DAmB와 비교하여 향상된 효능(연구 기간 동안 100% 생존율)을 나타냈다.

#### 실시예 5: 건강한 동물 대 감염 동물에서 조직 수준의 비교

[0116] 건강한 스프라그-다울리(Sprague-Dawley) 랫트 및 개에서 암포테리신 B 코클레이트의 독성 연구를 15mg/kg을 포함하는 용량 범위에서 28일 동안 수행하였다. 28일째에 이들 랫트 및 개로부터 조직 수준(폐, 신장, 간), 혈장 수준 및 뇨 수준을 측정하고, 실시예 4에서 14일 동안 암포테리신 B 코클레이트로 치료된 마우스의 것들에 대해 비교했다.

[0117] 감염된 마우스의 폐, 간 및 신장에서 암포테리신 B의 수준은 건강한 랫트 및 개(모두 씨. 알비칸스(*C. albicans*)에 대한 MIC 수준보다 훨씬 낮다)의 이러한 동일 조직에서의 암포테리신 B 수준보다 적어도 5 내지 10 배 더 높았다(그리고, 칸디다 알비칸스 감염을 치료하는 데 필요한 MIC 수준 이상이었다)(도 8). 대조적으로, 감염 마우스에서 암포테리신 B의 뇌 및 혈장 수준은 검출 수준 이하(BLD)인 반면, 혈장 및 특히 뇌 수준은 측정 가능했고, 건강한 랫트 및 개에서 훨씬 더 높았다(도 8). 따라서, 감염된 대상체에서 암포테리신 B와 같은 코클레이트화 약물의 약물동력학은 건강한 대상체에서 암포테리신 B와 같은 코클레이트 약물의 약물동력학과 매우 상이하고, 코클레이트화 약물은 감염된 건강하지 않은 동물의 조직에서 훨씬 더 높은 수준으로 농축된다.

#### 실시예 6: 뉴모시스티스 뮤린 모델에서 코클레이트화 아토바쿠온(eATQ)의 약물동력학 및 효능

[0118] 아토바쿠온(ATQ)은 뉴모시스티스성 폐렴(PCP) 및 톡소플라스마증의 예방 및 치료를 위한 대체제이다. 소분자 아토바쿠온은 불량한 환자 내성, 포화가능한 흡수 및 비선형 약물동력학의 임상적 제한을 받는다. 본 발명자들은 ATQ 코클레이트를 제조했고, 뉴모시스티스 뮤리나(*Pneumocystis murina*)로 감염된 면역약화된 마우스에서 코클레이트화 ATQ의 생체분포, 약물동력학(PK) 및 효능을 연구했다.

[0119] 마우스는 엑사메타손으로 면역약화시키고, 피. 뮤리나(*P. murina*)로 감염시켰다. PK 연구에서, 마우스를 경구 위관 영양법을 통해 eATQ 100mg/kg으로 처리한 다음, 희생시키고, 투여 후 0(기준선), 2, 4, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 및 96시간에 혈액 및 폐 조직을 수집했다(n=30, 각 시점에 3). 치료 연구에서, 마우스는 다음 중의 하나로 각각 7, 14 및 21일 동안 경구 위관 영양법을 통해 매일 처리했다: eATQ 50mg/kg, eATQ 100mg/kg, 아토바쿠온 혼탁액 100mg/kg, 설플메톡사졸/트레메토프림 3/100 mg/kg, 또는 비히를 대조군(n=138, 그룹당 8-10). 마우스를 희생시키고, 폐를 뉴모시스티스 ascii 및 핵의 현미경 열거를 위해 처리했다.

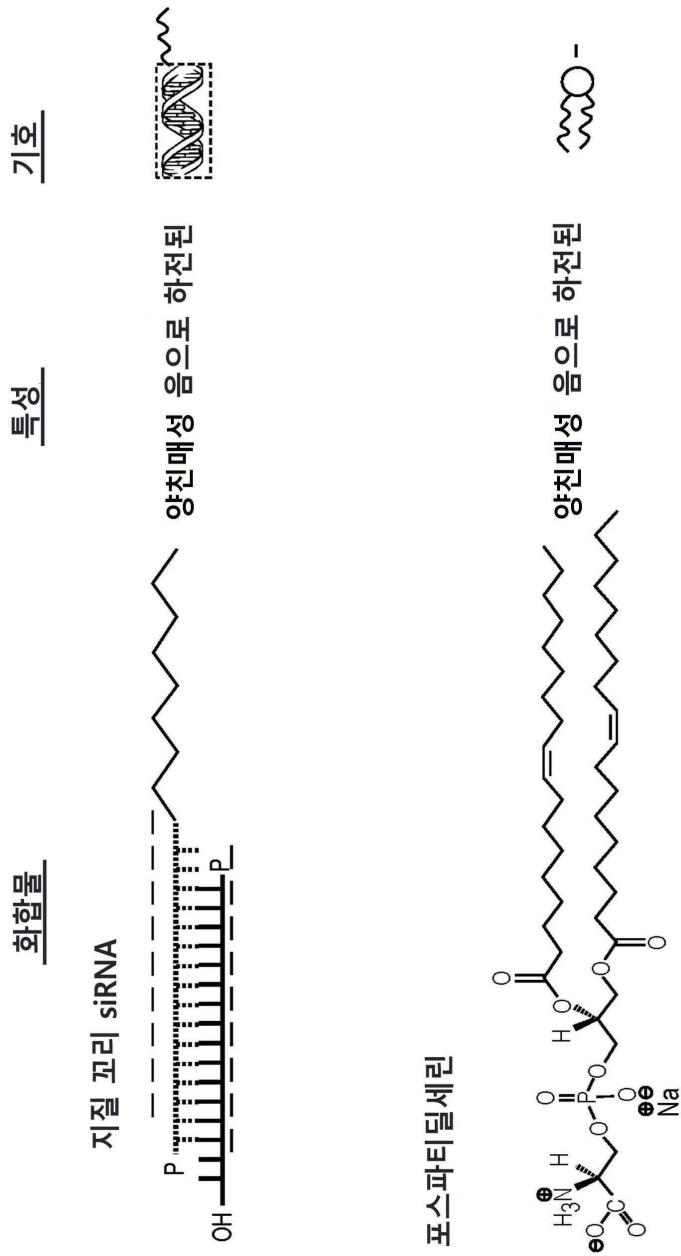
[0120] 최대 농도(Cmax) 및 곡선하 면적(AUC)의 기하 평균은 혈장에서보다 폐에서 각각 18% 및 44% 더 높았다(도 9). 반감기는 혈장에서 10 내지 12시간이고, 폐에서 15 내지 17시간이었고, Tmax는 둘 다 12시간이었다(도 9). 50mg/kg 그룹에서 7일째 흡해핵 계수 대 C/S를 제외하고 3개 시점 모두에서 100mg/kg 및 50mg/kg 용량 대 비히를 대조군(C/S) 둘 다에서 핵 및 ascii 계수 모두에서 유의한 감소가 존재했다(도 10a-f). 모든 시점에서 두 용량 사이에 일관된 용량 반응이 존재했다(도 10a-f). 모든 처리 그룹은 14일 및 21일째 시점에서 비히를 대조군(C/S)에 대해 생존율의 유의한 개선을 나타냈다(도 11a-c). 연구 과정에서 명백한 독성을 관찰되지 않았다.

[0121] 코클레이트화 ATQ는 마우스에서 PCP를 성공적으로 치료했고, PCP 치료용으로 시판되는 아토바쿠온의 제형보다 상당히 우수하게 수행되는 것으로 나타났다.

[0122] 본 발명은 특히 이의 바람직한 구현예를 참조하여 나타내고 기재되었지만, 본원에서 형태 및 세부사항에 대한 다양한 변화가 첨부된 청구범위에 포함되는 본 발명의 범위를 벗어나지 않으면서 이루어질 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다.

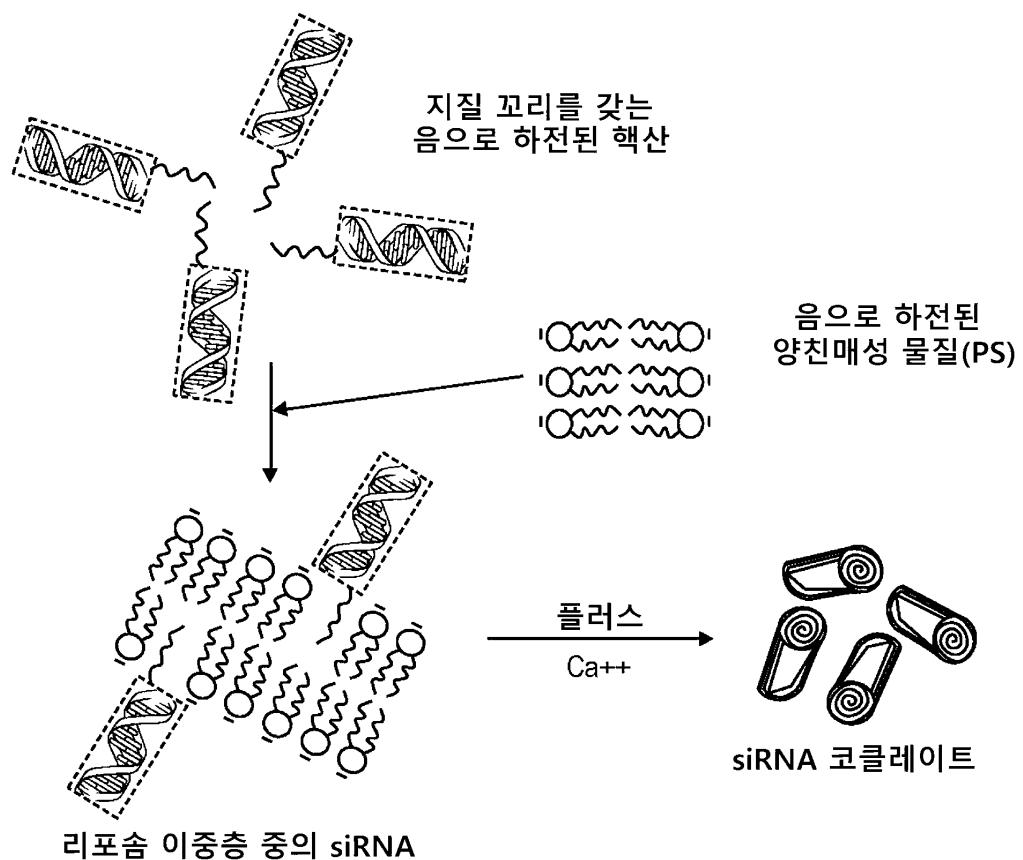
도면

도면1



도면2

지질 꼬리 올리고뉴클레오티드의 제형화 전략의 개략도



**도면3**

**EGFP Pal+S**

ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC-Cy3-S18-팔미테이트  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

**EGFP Pal**

ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC-Cy3-팔미테이트  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

**EGFP Chol+S**

ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC-Cy3-S18-콜레스테롤  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

**EGFP Chol**

ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC-Cy3-콜레스테롤  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

**EGFP VE+S**

VtE-S18-Cy3-ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

**EGFP VE**

VtE-Cy3-ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

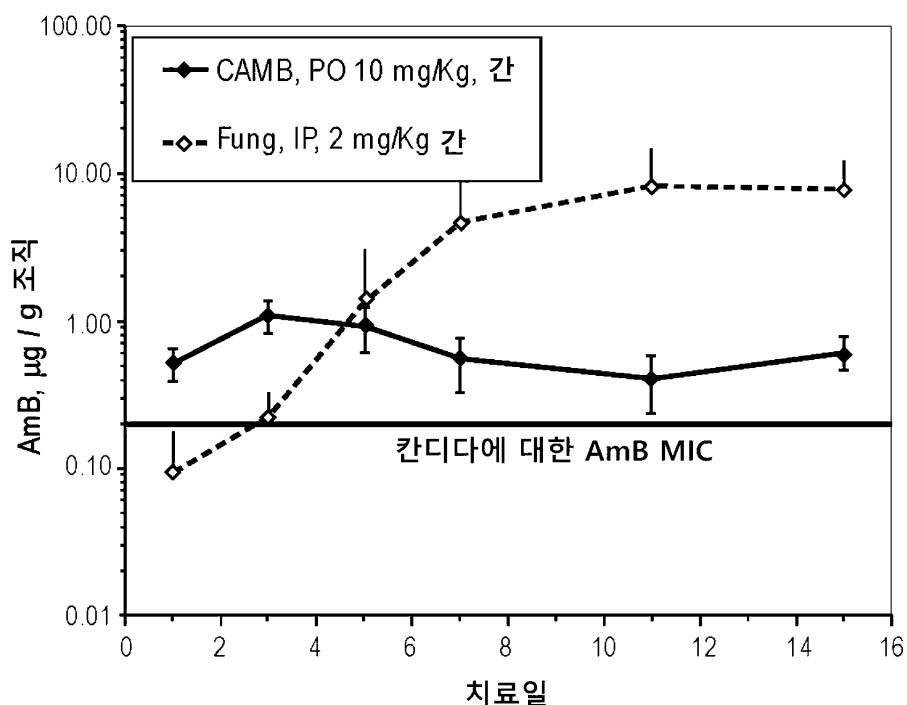
**EGFP VEL+S**

VtEL-S18-Cy3-ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

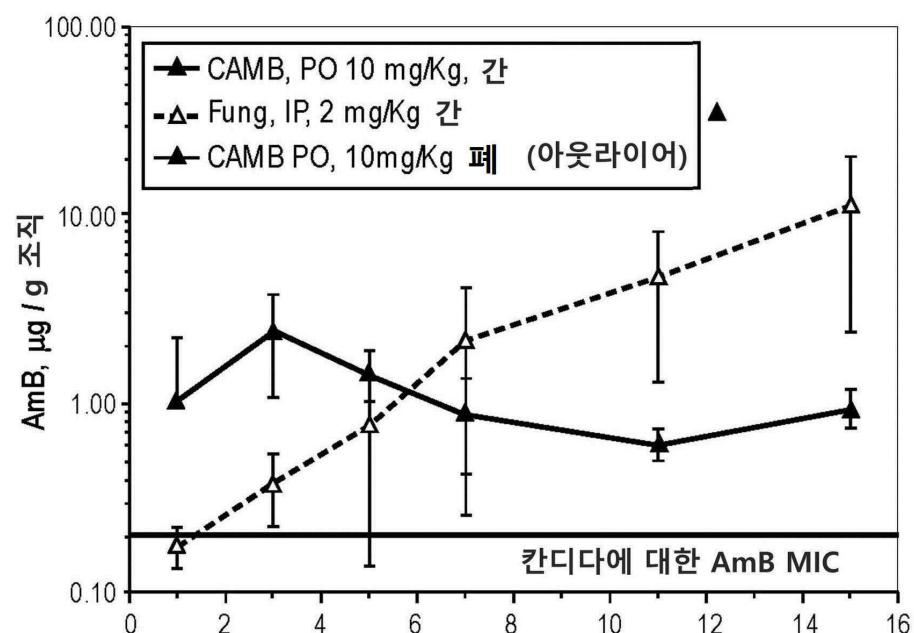
**EGFP VEL**

VtEL-Cy3-ACCCUGAAGUUCAUCUGCACC  
ACUGGGACUUCAAGUAGACGU

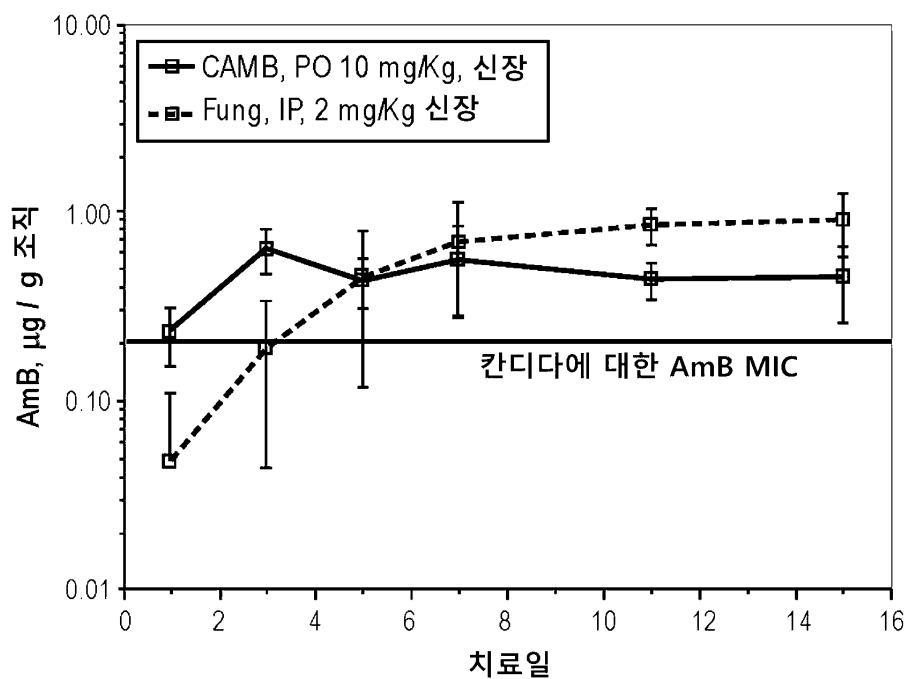
## 도면4



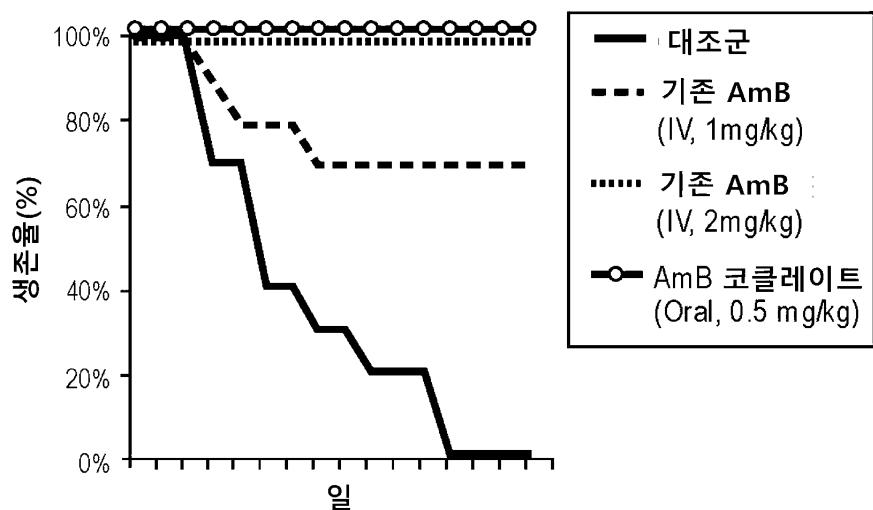
## 도면5



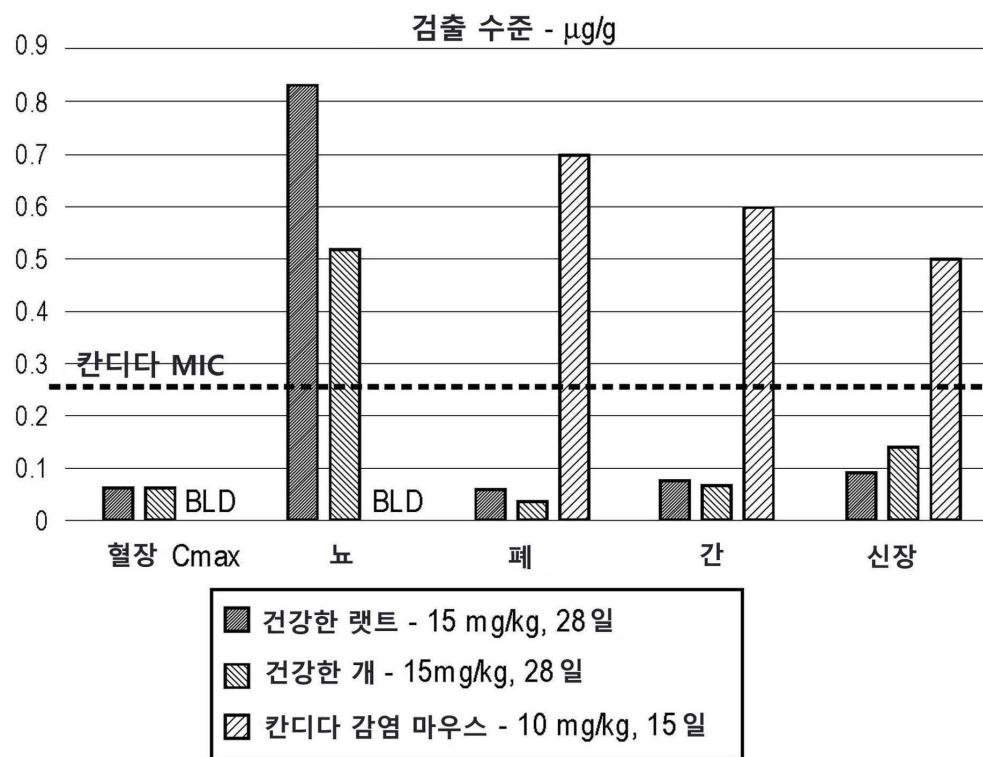
## 도면6



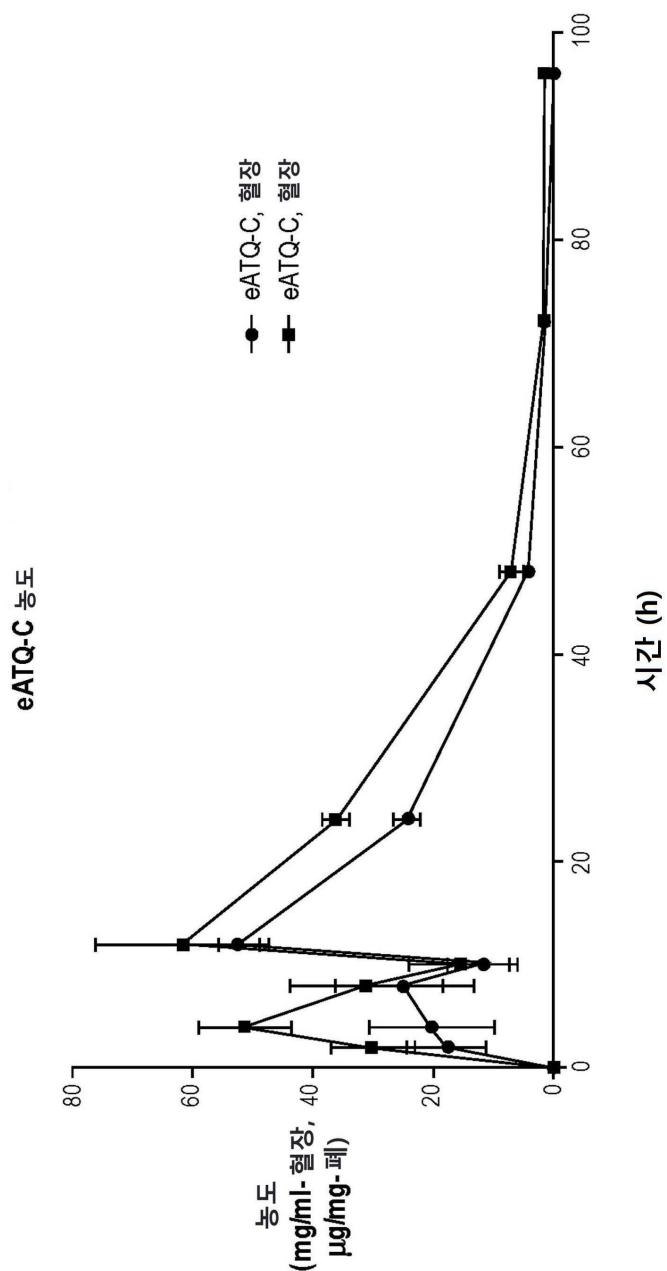
## 도면7



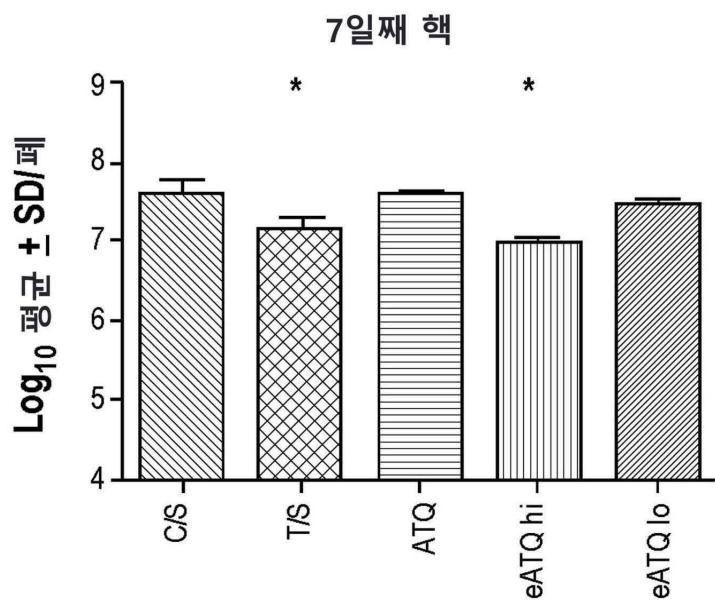
## 도면8



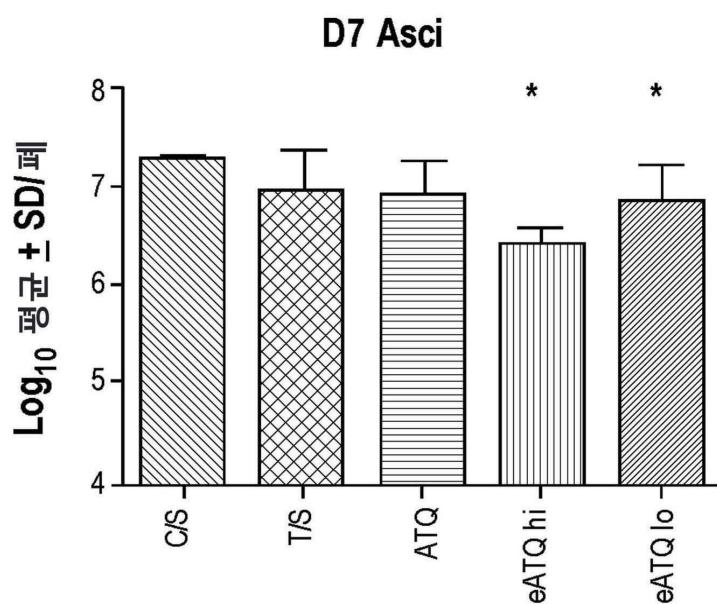
## 도면9



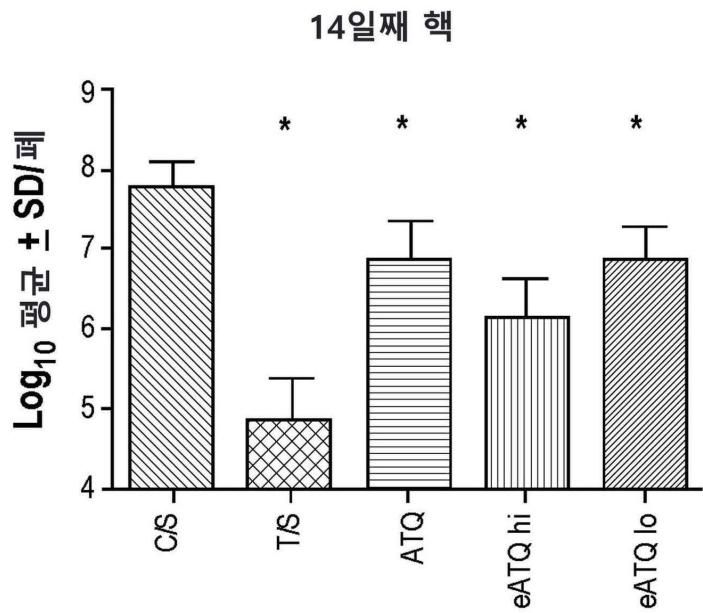
도면10a



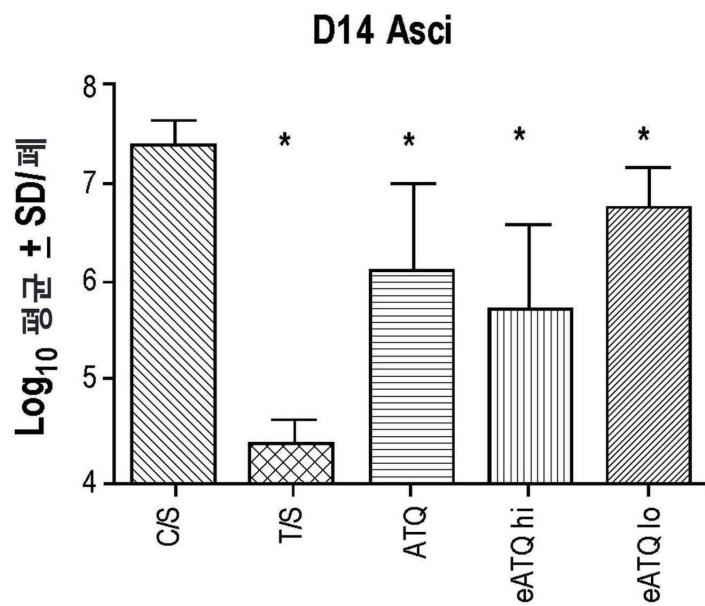
도면10b



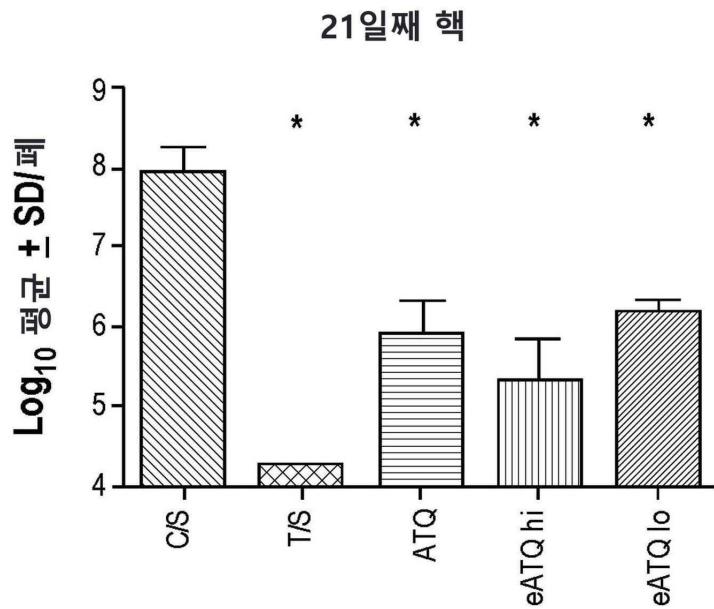
도면10c



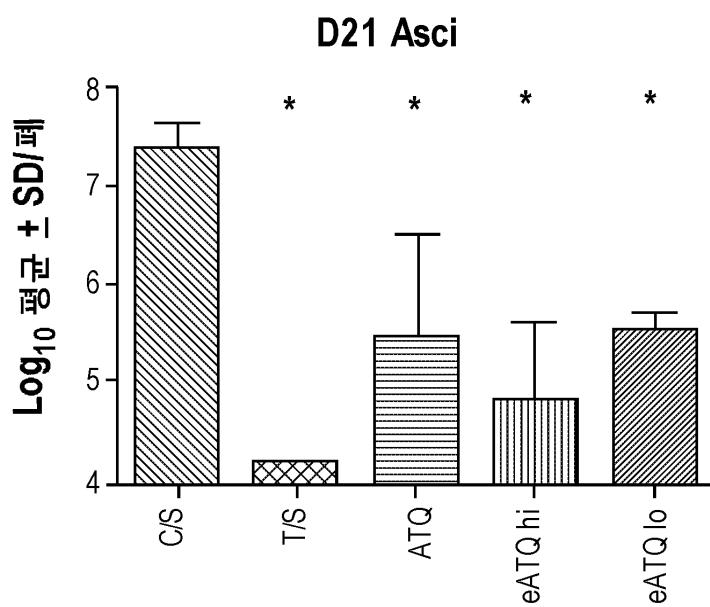
도면10d



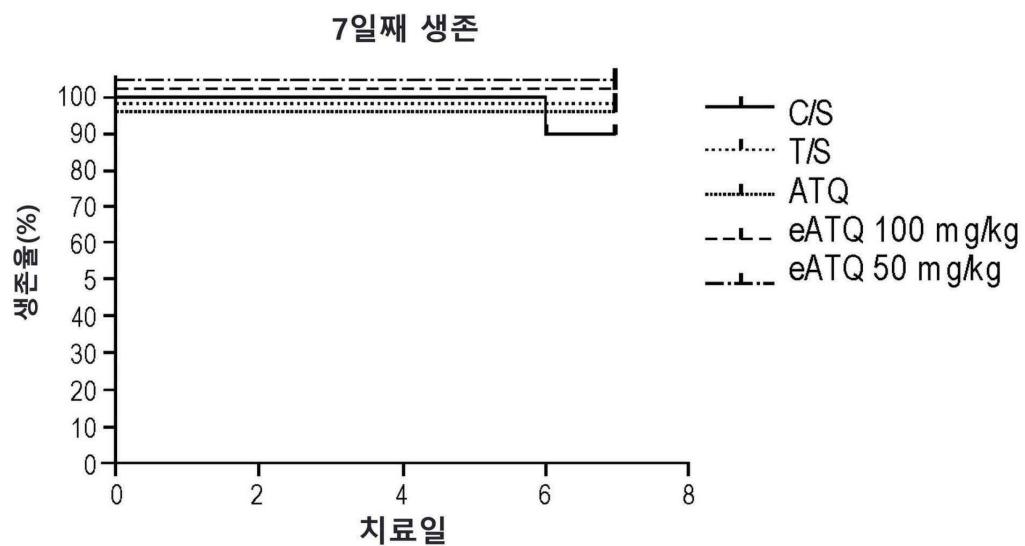
도면10e



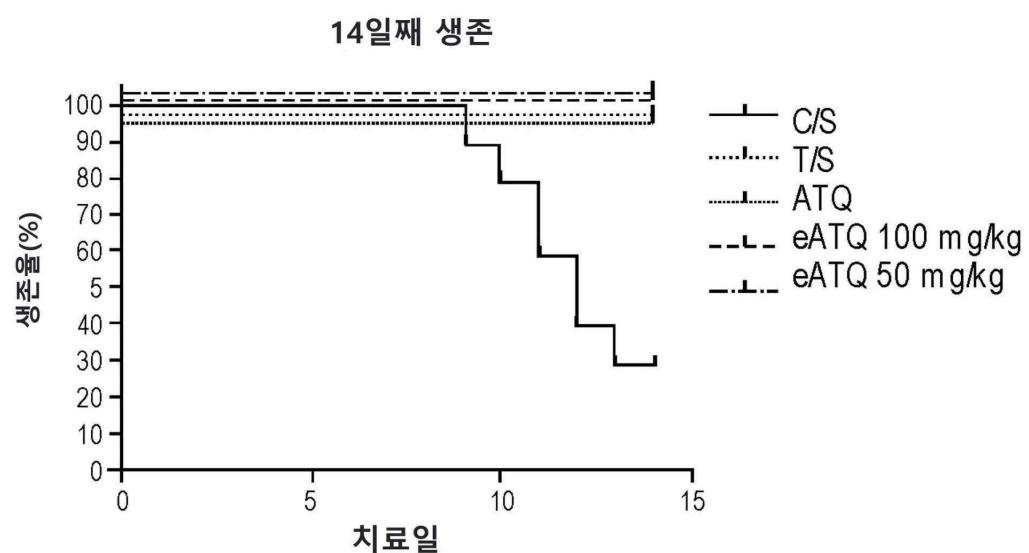
도면10f



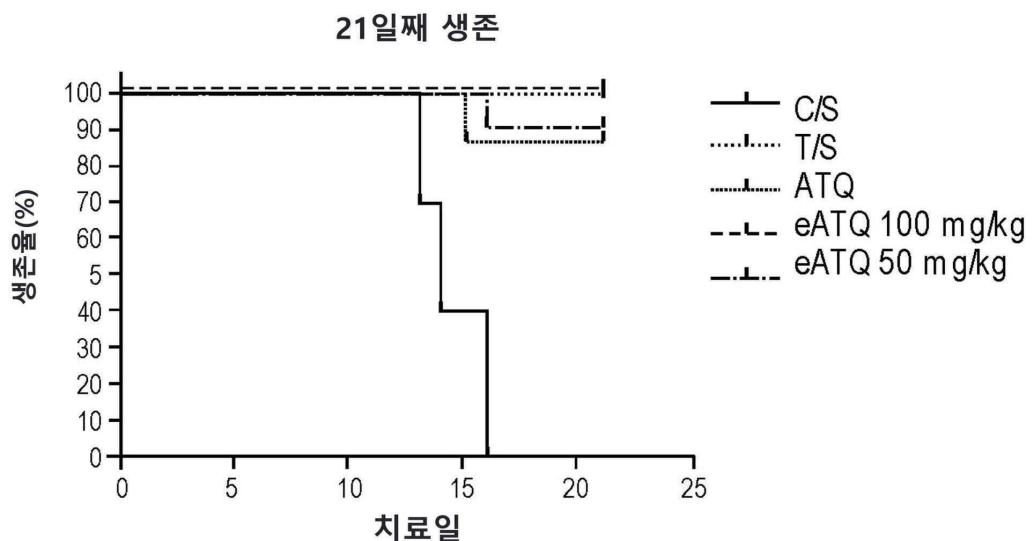
도면11a



도면11b



## 도면11c



## 서열 목록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; AQUARIUS BIOTECHNOLOGIES, INC.

&lt;120&gt; COCHLEATES AND METHODS OF USING THE SAME TO ENHANCE TISSUE

PENETRATION OF PHARMACOLOGICALLY ACTIVE AGENT

&lt;130&gt; IPA170948-US

&lt;150&gt; 62/127,799

&lt;151&gt; 2015-03-03

&lt;150&gt; 62/162,425

&lt;151&gt; 2015-05-15

&lt;150&gt; 62/163,212

&lt;151&gt; 2015-05-18

&lt;150&gt; 62/239,675

&lt;151&gt; 2015-10-09

&lt;150&gt; 62/247,641

&lt;151&gt; 2015-10-28

&lt;150&gt; 62/264,164

&lt;151&gt; 2015-12-07

&lt;160&gt; 2

&lt;170&gt; PatentIn version 3.5

&lt;210&gt; 1

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide

<400> 1

acccugaagu ucaucugcac c

21

<210> 2

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
oligonucleotide

<400> 2

acugggacuu caaguagacg u

21