(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
A61M 15/00
A61M 16/00

(45) 공고일자 2004년08월18일
(11) 등록번호 10-0430125
(24) 등록일자 2004년04월22일

(21) 출원번호 10-1997-0707279
(22) 출원일자 1997년10월14일
번역문제출일자 1997년10월14일
(86) 국제출원번호 PCT/US1996/005062
(86) 국제출원일자 1996년04월11일
(81) 지정국 국내특허 : 아일랜드 알바니아 오스트레일리아 바베이도스 불가리아 브라질 캐나다 중국 체코 에스토니아 그루지야 헝가리 아이슬란드 일본 북한 대한민국 AP ARIPO특허 : 케냐 레소토 말라위 수단 스와질랜드 케냐
EA 유라시아특허 : 아르메니아 아제르바이잔 벨라루스 키르기즈
EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 리히텐슈타인 독일 덴마크 스페인 프랑스 영국 그리스 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투칼 오스트리아 스위스 독일 덴마크 스페인 핀랜드 영국

(65) 공개번호 10-1998-0703879
(43) 공개일자 1998년12월05일
(87) 국제공개번호 WO 1996/32152
(87) 국제공개일자 1996년10월17일

(30) 우선권주장 08/423515 1995년04월14일 미국(US)
08/617512 1996년03월13일 미국(US)

(73) 특허권자 넥타르 테라퓨틱스
미국 캘리포니아주 94070 산 카를로스 인더스트리얼 로드 150
(72) 발명자 모하메드 엘자말
미국, 캘리포니아 95129, 산 호세, 새러토가 애비뉴 #206비 1255
존 에스. 패튼
미국, 캘리포니아 94070, 산 카를로스, 에머랄드 애비뉴 330
(74) 대리인 신정건, 김성기, 나영환, 이상섭

심사관 : 김용일

(54) 건조분말알파1-안티트립신의폐투여

명세서

배경기술

<1> 호중구 엘라스타제(neutrophil elastase)는 폐 조직에 접근하는 것으로 알려져 있는 광범위한 프로테아제(protease)이다. 이 프로테아제는 일반적으로 폐포 간질의 모든 주요 단백질 성분을 분해시킬 수 있다. 탄성 조직 분해성을 보유한 이들 프로테아제의 비제한적인 작용은 폐의 결합 조직의 파괴 및 폐 기종(emphysema)의 해부학적 및 기능적 장애를 초래한다[Smith 등, J. Clin. Invest. 84:1145-1154 (1989)].

<2> α1-안티트립신("α1AT")은 호중구 엘라스타제에 대한 억제 활성을 갖는 프로테아제 억제제이다. α1AT는 호중구 엘라스타제로부터 폐포 구조체를 보호하는 데 있어서 결정적인 역할을 하기 때문에, 하부 기도 내에서의 그 α1-안티트립신의 결핍은 기종 발병에 중추적인 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. α1AT 결핍증은 억제제의 낮은 혈장 레벨 및 폐 레벨과 30 내지 40년에 걸친 기종 진행을 특징으로 하는 유전적 질환이다.

<3> α1AT에 있어서 유전적 결핍 외에도, 흡연자들의 폐가 호중구에 의해 부하되는 것으로 밝혀졌다. 구체적으로, 비흡연자와 비교하여 통상의 흡연자 및 유육종 흡연자의 기관지 폐포 세척액 및 개방형 폐 생검물에서 분리한 세포 현탁액에서는 호중구의 수가 상당히 증가된 것으로 밝혀졌다[참조문헌: Hunnighake and Crystal, Am. Rev. Respir Respir. Dis. 128:833-838 (1983)].

<4> 유전적이든 또는 후천적이든, α1AT 결핍증의 치료 방법은 그러한 결핍증이 있는 환자들에게 α1AT의 외래원을 제공하는 증강 요법(argmentation therapy)에 주로 집중되어 왔다. 종래 이 증강 요법에서는 정맥내 투여를 이용하여 α1AT의 외래원을 제공하였다. 그러나, 이를 필요로 하는 조직(예: 폐 조직)에 효과적인 농도의 억제제를 제공하기 위해서, 정맥내 투여 방법에서는 다량의, 예컨대 1주일에 4 내지 5 g의 α1AT를 투여해야 한다. 또한, 이러한 정맥내 투여법은 일반적으로 병원 설비하에서 시행되어야 한다.

<5> 액체 α1AT 제제의 에어로졸 투여법을 사용한 성공적인 결과가 보고되었다. 에어로졸 투여는 하부 기도의 효과를 받을 조직에 억제제를 국부 전달하기 때문에 필요 용량을 더 낮춘다. 공개된 유럽 특허 출원 제0 289 336호, Smith등, J. Clin. Invest. 84:1145-1154 (1989), Hubbard 등, J. Clin. Invest.

84:1349-1354 (1989), Hubbard 등, Lung Suppl. 565-578 (1990) 참조.

<6> α1AT 증강 요법의 개선에도 불구하고, 문제는 여전히 남아 있다. 구체적으로, 종래 보고된 액상 에어로졸 방법은 오로지 단기간 동안(예: 수 시간내) 폐 조직에 효과적인 레벨의 α1AT를 제공함으로써, 종종 보다 높은 용량 레벨(예; 〉200 mg/일)로 반복 투여해야 한다. 따라서, 1회 치료에 의해 보다 장기간의 효과를 제공함으로써 보다 적은 용량 및 보다 적은 투여 회수로 환자에게 α1AT를 투여하는 방법이 필요하다. 본 발명은 이들 조건과 기타의 조건을 충족시킨다.

발명의 상세한 설명

<7> 본 발명의 일반적인 목적은 α1AT 건조 분말 조성물의 폐 투여 방법을 제공하는 것이다. 본 발명의 방법은 일반적으로 지금까지 기재되어 있는 투여 방법을 능가하여 하부 기도의 중요 조직에서 α1-안티트립신의 지속성을 향상시킨다.

<8> 본 발명의 방법은 일반적으로 α1-안티트립신을 건조 분말로서 제공하는 것을 포함한다. α1-안티트립신 건조 분말을 에어로졸화하여 환자에게 폐 투여한다. 본 발명의 방법은 일반적으로 유전적이든 또는 후천적이든 α1-안티트립신 결핍 개체의 치료에 유용하며, 특히 기종의 기능적 장애 치료에 유용하다.

<9> 폐 투여용 건조 분말 α1AT의 에어로졸화는 일반적으로 건조 분말 흡입 장치를 사용하여 수행한다. 따라서, 본 발명은 또한 α1-안티트립신 건조 분말의 폐 투여를 수행하는 장치를 제공하는데, 이 장치는 일반적으로 α1-안티트립신 건조 분말 조성물의 유효량을 함유하고, 챔버가 배치된 하우징(housing)을 포함한다. 상기 장치는 또한 건조 분말 조성물을 에어로졸화하기 위하여 기류를 챔버에 전달하도록 챔버에 유동적으로 연결된 가스압 공급원을 포함한다. 또한, 상기 장치에는 챔버에 유동적으로 연결되어 환자가 흡입하도록 에어로졸화된 건조 분말 조성물을 전달하는 전달 시스템이 있다.

도면의 간단한 설명

<10> 도 1은 건조 분말 에어로졸 노출 후, 시간에 따른 림프 조직에서의 α1-안티트립신의 농도를 도시한다. 상이한 노출 프로토콜에 의해 3 마리의 양(sheep)을 시험하였다.

<11> 도 2는 건조 분말 에어로졸 노출 후, 시간에 따른 림프 조직에서의 α1-안티트립신의 농도를 도시한다. 0 시간 및 50 시간에서 2회의 노출을 수행하였다.

<12> 도 3은 흡입에 의한 다중 투여 후에 양의 폐 림프로부터 회수한 α1AT 레벨을 도시한다. 에어로졸 투여 시점은 화살표로 표시되어 있다.

<13> 도 4는 다중 투여 후에 양(n=3)의 α1AT의 림프 및 혈장의 평균 농도를 도시한다. 투여 시점은 화살표로 표시되어 있다.

<14> 도 5는 폐포 공간으로부터 혈장으로의 α1AT의 이동에 관여하는 폐포 구조의 개략도이다.

<15> [발명의 상세한 설명]

<16> **I. 개론**

<17> 본 발명은 일반적으로 α1-안티트립신을 환자에게 투여하는 방법 및 장치를 제공한다. 통상, 그러한 투여는 내인성 α1-안티트립신이 결핍된 환자의 치료에 유용하다. "내인성 α1AT의 결핍"이란, 존재하는 호중구 엘라스타제 레벨에 대한 보호를 제공하기에 불충분한 내인성 α1AT의 레벨을 의미한다. 이러한 결핍은, 표적 조직에서 α1AT가 정상 이하의 레벨로 나타나거나, 또는 호중구 엘라스타제의 레벨이 과잉으로 나타나는 것으로 입증할 수 있다. 본 발명의 방법은 일반적으로 α1-안티트립신 건조 분말을 환자의 폐를 통해 투여하는 방법을 포함한다. 본 발명의 투여 방법은 일반적으로 종래 개시된 에어로졸 투여 방법에 비해 폐 조직내 α1-안티트립신의 지속성을 향상시킨다.

<18> **II. 건조 분말 제제**

<19> 약학 조성물의 에어로졸 투여는 다수의 질환 치료에서 이미 보고되어 왔다. 예를 들면, 에어로졸화된 인슐린 용액의 호흡기를 통한 전달법이 상세히 기술되어 있다. 예컨대, Laube 등, J. Am. Med. Assoc. 269:2106-2109 (1993), Elliott 등, Aust, Pediat. J. 23:293-297 (1987), Wiglet 등, Diabetes 20:552-556 (1971), Corthorpe 등, Pharm, Res. 9:764-768 (1992) 참조.

<20> 대형 입자 담체 매체 중 인슐린과 같은 건조 분말 약제의 폐 투여법은 미국 특허 제5,254,330호에 개시되어 있다. 추진제내에 현탁된 결정성 인슐린 전달용의 계량된 용량 흡입기는 Lee 등의 문헌[J. Pharm. Sci, 65:567-572 (1976)]에 개시되어 있다.

<21> 건조 분말 α1AT의 폐 투여는 일반적으로 당해 분야에 공지된 건조 분말 투여 방법으로 수행할 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 치료 방법 및 투여에 특히 적합한 건조 분말 투여 방법은 본원에서 그 전문을 참고로 인용한 미국 특허 출원 제08/423,515호(출원일; 1995.4.14)에 개시되어 있다.

<22> 본 발명의 방법에 사용하기 위한 α1-안티트립신("α1AT")은 일반적으로 각종 공급원으로부터 얻을 수 있다. 예를 들면, α1AT의 천연 및 재조합 형태는 각각 캘리포니아주 버클리에 소재하는 커터 래보러토리즈 및 캘리포니아주 마운틴 뷰에 소재하는 쿠퍼 랩스에서 시판된다. 한편, α1AT는 사람 혈장의 콘(Cohn) 분획 IV-1로부터 유래된 것과 같이 사람으로부터 분리하거나, 또는 널리 알려진 재조합 방법에 의해 생성할 수 있다. 미국 특허 제4,599,311호 참조.

<23> 건조 분말 α1AT 제제의 제조는 일반적으로 동결건조, 분무 건조, 응결(agglomeration), 분무 코팅, 압출 공정 및 이들의 조합을 비롯하여 각종 공지된 방법을 사용하여 수행할 수 있다. 바람직한 양태에서 건조 분말 α1AT 제제는 분무 건조/응집 공정을 사용하여 제조하는데, 이 공정은 쉽게 흡입할 수 있

고, 수분 함량이 낮으며, 에어로졸화를 용이하게 하는 유동 특성을 지닌 입자 크기를 갖는, 균질 구조의 실질적으로 비정질의 분말을 생성한다.

<24> 분무 건조된 흡입성 분말 조성물을 제조하는 방법은, 예컨대 1995년 4월 14일에 출원된 미국 특허 출원 일련번호 제08/423,515호(상기에서 인용함)에 개시되어 있다. 통상적으로, 분무 건조 공정에서는 적절한 담체를 포함 또는 불포함해도 좋은 α1AT의 균질 수용액을 노즐, 회전 디스크 또는 유사 장치를 통해 고온 기류내로 도입하여 미세한 소적을 형성하도록 용액을 분무한다. 용액으로 개시되어 있기는 하지만, α1AT의 수성 형태는 용액, 현탁액, 슬러리 또는 기타 균질 액체 형태일 수 있다. 바람직하게는 용액 형태이다. α1AT가 용해, 현탁 또는 슬러리화된 용매는 주로 직경이 1 내지 5 ㎛인 입자를 가진 미분말을 생성하는 소적으로부터 신속히 증발된다. 바람직하게는 생성된 분말의 입자 크기는 건조 분말 질량의 약 98% 이상이 약 10 ㎛ 이하의 직경을 가진 입자 상태로, 질량의 90% 이상은 약 5 ㎛ 미만의 직경을 가진 입자 상태로 존재하는 것이 바람직하다. 한편, 질량의 약 95%는 직경이 약 10 ㎛ 미만인 입자를, 질량의 약 80%는 직경이 약 5 ㎛ 이하인 입자를 가진다.

<25> 분무 건조는 부치, 니로, 야마토 케미컬 컴파니, 오카와라 카코키 컴파니등에서 시판되는 것과 같이, 일반적으로 비정질 분말 제품을 생산할 수 있는 통상의 시판용 분무 건조 장치를 사용하여 수행할 수 있다. 통상적으로, 이들 기계는 광범위한 변수에 대응하여 작동시킬 수 있다. 예를 들면, 부치(Buchi)-190 분무 건조기를 이용하여 분무 압력 50~120 psi, 분무 공기 공급 속도 20~80 lpm 및 건조 온도 50~200℃에서 5 내지 20 ㎖/분으로 조작하여 건조 분말 조성물을 제조할 수 있다.

<26> 분무 건조 공정의 경우, 회전식 분무법, 가압 분무법 및 2-유동액 분무법과 같은 분무 방법을 사용할 수 있다. 상기 방법들에 사용되는 장치의 예로는 야마토 케미컬 컴파니에서 제조되는 파루비슈 미니-스프레이(Parubisu Mini-Spray) GA-32 및 "파루비슈 스프레이 드라이어 DL-41", 또는 오카와라 가코키 컴파니에서 제조되는 CL-8, L-8 FL-12, FL-16 또는 FL-20 모델 분무 건조기 등이 있다. 이 장치는 회전식 디스크 분무기 분무 건조 방법을 비롯하여 본원에 기술한 조성물을 분무 건조시키는 데에 용이하게 이용할 수 있다.

<27> 전술한 건조 분말은 본원에 개시된 방법에 용이하게 사용할 수 있다. 그러나, 어떤 경우에는 보다 양호한 취급 특성, 예컨대, 유동성, 낮은 응결성(caking)등을 보유하는 형태의 건조 분말 제제를 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 응집체 또는 응결체 조성물의 생성에 대해서는 본 명세서에서 전문을 참고로 인용한 미국 특허 출원 제08/483,467호(출원일:1995년 6월 7일)에 개시되어 있다. 특정의 경우에는 본 명세서에서 기술한 건조 분말 제제를 전술한 미분말 조성물의 응집체 또는 응결체로서 제공한다.

<28> 일반적으로, 전술한 미분 조성물의 응집은 미립자 분말을 결합액과 혼합함으로써 습윤화된 괴상체(mass)를 생성한다. 습윤화된 괴상체를 소체적으로 나누어 건조시켜 결합액을 제거하고, 1차 크기 분포를 가진 건조 분말 응결 단위체를 생성한다. 이것은 통상적으로 공지된 방법, 예컨대 압출로 수행한다. 압출 방법은 통상적으로 습윤화된 괴상체 또는 페이스트를 40~650 ㎛, 보다 바람직하게는 약 150~500 ㎛ 범위의 구멍을 가진 스크린을 통해 압출시키는 것을 포함한다. 스크린내 구멍은 통상 모양이 원형으로 연장된 원통형 압출물을 생산한다. 압출물은 통상적으로 건조되는 재료의 성질에 따라 약 15℃~약 40℃의 온도에서 건조시킨다. 통상적으로, 강제식 공기 대류 건조기 또는 진공 건조기를 압출물의 건조에 사용한다. 통상, 진공 건조기는 응결 입자에 약 250 내지 약 650 mmHg의 압력을 가한다.

<29> 결합액은 제조되는 약학 조성물과 상용성인 각종 액체로서, 그 예로는 물, 염수 등이 있다. 또한, 어떤 경우에 결합액은 비수성 용매, 예컨대, 플루오르화탄소, 톨루엔, 크실렌, 벤젠, 아세톤, 헥산, 옥탄, 클로로포름 및 염화메틸렌이다. 전술한 응집 조성물에 일반적으로 포함되는 탄수화물 및 단백질은 통상 결합액에 대한 용해도가 낮아서 응결체내 미분 입자들 사이의 결정성 브리지를 형성할 가능성을 최소화하기 때문에, 결합액으로서 비수성 용매를 사용하는 것이 일반적으로 유리하다. 또한, 대부분의 비수성 용매는 표면 장력이 낮기 때문에, 필요한 경우 큰 응결체 입자를 분해할 수 있다.

<30> 바람직한 비수성 용매의 예로는 퍼플루오로데칼린 및 퍼플로오로옥틸 브로마이드와 같은 플루오로카본 액체가 있다. 단백질 또는 탄수화물을 용해시키거나 이와 상호작용하지 않는 소수성 및 소유성으로 인해 플루오르카본 액체가 통상적으로 바람직하다. 응결체 입자로부터 액체를 제거하는 데는 플루오로카본 액체의 고 증기압이 또한 유용하다. 또한 이들 플루오로카본 액체는 일반적으로 대부분의 약학 조성물에서 생체적합성이고, 일반적으로 각종 시판업체, 예컨대, PCR 인코오포레이티드(플로리다주 게인스빌), 시그마 케미컬 컴파니(미주리주 세인트 루이스) 및 알드리치 케미컬 컴파니(위스콘신주 밀워키)에서 시판된다.

<31> 건조 분말 조성물에 첨가되는 결합액의 양은 일반적으로 미세 입자의 표면적을 기준으로 한다. 예를 들면, 1~5 ㎛ 크기 범위의 미세 입자와 같은 초기 건조 분말 조성물의 미세 입자와 함께 플루오로카본 결합액을 사용하는 경우에는, 결합액을 분말 1 g당 약 0.5 g 내지 5 g의 범위로 분말에 첨가한다.

<32> 그 다음, 처음의 일련의 단계에서 생산된 건조 분말 응결체를, 취성 지수(friability index)가 약 10~약 60인 것을 특징으로 하는 제2의 크기 분포를 가지도록 조정한다. 조정된 경우, 응집 입자는 전형적으로 통상의 취급 및 계량 절차중에 분해를 견디는 충분한 내구성을 갖는다. 동시에, 입자는 통상적으로 필요시에, 즉, 투여 중에 응집체의 분해가 가능하도록 충분한 취성이 있다. 취성 지수는 일반적으로 응집체 조성물의 소량 샘플, 예를 들면 0.4~0.5 g을 1000 ㎛ 스크린상에 배치하여 계산한다. 스크린은 약 1 ㎝의 진폭 및 약 5 Hz의 진동수로 20분간 진동시킨다. 20분 후에, 1000 ㎛ 스크린상에 잔존하는 응집체의 중량을 측정하고, 이 중량을 초기 중량으로 나눈다. 1000 ㎛ 스크린을 통해 분해되지 않은 응집체의 비율이 취성 지수이다.

<33> 응집체 입자 조성물의 제2 크기 분포로의 조정은, 일반적으로 응결체 조성물을 목적하는 스크린 크기 범위를 가진 일련의 스크린 또는 체를 통해 선별함으로써 수행한다. 예를 들면, 약 150~500 ㎛의 크기 범위 분포를 원하는 경우에, 응집된 입자는 한 세트의 적층된 스크린상에 배치한다. 상부 스크린은 약 500 ㎛의 통로를 가지는 반면에, 하부 스크린은 150 ㎛의 통로를 가진다. 응집 입자는 상부 스크린상에 배치하고, 진동 및/또는 태핑(tapping)으로 선별한다. 500 ㎛의 크기 한계를 초과하는 모든 입자는 상부 스크린 상에 남게 되어, 이로부터 제거하거나 또는 재처리할 수 있다. 500 ㎛ 미만의 입자는 하부 스

크린으로 통과하여, 여기서 150 ㎛를 초과하는 입자는 남게 된다. 제2 스크린을 통과한 입자는, 제2 스크린 아래의 팬에 모아져서, 버려지거나 또는 재처리될 수 있다.

<34> 통상적으로, 제2의 크기 분포는 평균 입자 크기가 약 50 ㎛~약 600 ㎛, 바람직하게는 약 150 ㎛ ~500 ㎛, 가장 바람직하게는 약 200 ㎛~500 ㎛이다. 응결체는 통상적으로 형성/선택되어, 응결체 조성물의 90% 이상이 ±250 ㎛의 크기 범위, 바람직하게는 ±150 ㎛의 범위, 보다 바람직하게는 약 ±100 ㎛ 범위내에 속한다.

<35> 또한, 건조 분말 응결체는 팬 코팅 조작에 통상적으로 사용되는 것과 같은 압연 방법 등의 공지된 방법으로 구상화, 즉 구상의 기하학을 제공할 수 있다. 이것은 통상적으로 용기 내에서 입자를 압연하여 구형 입자를 생성한다.

<36> 응결체 조성물은 또한 유동층(fluid bed) 건조 장치에서 제조할 수 있다. 통상적으로, 이는 건조 분말 조성물을 고온 기류하에 유동화하는 것을 포함한다. 그 다음 노즐을 통해 유동화된 분말내로 결합액을 분무한다. 개개의 입자를 습윤화하여 다른 입자를 여기에 응집시킬 수 있다. 고온 기류의 동시 건조는 취성이 낮은 응결체의 형성을 방지한다. 또한 유동층 건조기는, 예컨대 글랫 에어 테크닉스 인코오포레이티드 등에서 시판한다.

<37> 또한, 건조 분말 조성물은 기타 건조 공정, 예컨대 응결 공정, 압출, 분무 코팅 및 동결건조와 제트 미분쇄 공정을 사용하여 제조할 수 있다. 건조 분말 폴리펩티드 제제를 제조하기 위한 동결건조/제트 미분쇄 공정은, 예컨대 공개된 PCT 출원 WO 91/16038호에 개시되어 있다.

<38> 바람직한 측면에서, 본 명세서에 개시된 방법에 사용하기 위한 건조 분말 α1AT 건조 분말 조성물은 실질적으로 순수하다. 실질적으로 순수하다는 것은 건조 분말 제제 중에 α1AT가 중량/중량 기준으로 주요 성분을 구성한다는 것을 의미한다. 통상적으로, 예컨대 건조 분말 제제에는 α1AT가 약 30 중량% 이상일 것이다. 바람직한 측면에서, 건조 분말 제제에는 α1AT가 약 70% 이상, 보다 바람직하게는 약 80% 이상이다. 보다 바람직한 측면에서, 건조 분말 제제에는 α1AT가 약 90% 이상, 가장 바람직하게는 약 95% 이상, 및 약 99% 이상이다. α1AT의 중량%의 계산은 면역흡착 분석, 활성계 분석 등과 같은 각종 공지된 방법 중 임의의 방법으로 수행할 수 있다.

<39> 건조 분말 조성물이 α1AT 이외의 성분을 함유하는 경우, 조성물의 남은 분획은 일반적으로 1종 이상의 다수의 기타 성분을 포함할 수 있다. 예를 들면, 건조 분말 조성물은 분무 건조 공정의 생성물, 즉 불활성 α1AT종, 또는 α1AT의 제조로부터 잔존하는 기타 거대분자 성분을 함유할 수 있다. 그러나, 특히 바람직한 측면에서는, 순수하거나 또는 거의 순수한 α1AT를 사용하여 건조 분말 조성물을 제형화한다. 구체적으로, 순도 90% 이상, 보다 바람직하게는 95% 이상인 α1AT 조성물을 사용하여 건조 분말 조성물을 제형화한다.

<40> 전술한 추가의 성분 외에도, 분무 공정 중에 또는 분무 공정 후에 건조 분말 혼합 방법을 통해 건조 성분을 첨가함으로써 각종 보조제를 건조 분말 제제에 첨가할 수 있다. 예를 들면, 일부 측면에서는, 호흡 및 폐 투여에 적합한 하나 이상의 약학적 담체 또는 부형제와 α1AT를 혼합하는 것이 바람직할 수도 있다. 그러한 담체는, 예컨대, 단일 용량으로 환자에게 전달되는 α1AT의 농도를 감소시키는 것이 바람직할 경우에는 증량제로서 작용할 수 있고, 또는 건조 분말 조성물용 안정화제, 제제의 취급 특성을 향상시키는 분산제, 폐 조직내 α1AT의 활성을 증가시키는 보조제, 예컨대, 완충제 등으로서 제제의 효능을 증가시키는 작용을 할 수 있다. 적절한 약학적 허용 부형제 또는 증량제의 예로는 탄수화물, 폴리펩티드, 아미노산 또는 이들의 조합을 들 수 있다. 적절한 탄수화물의 예로는 갈락토스, D-만노스, 소르보스등과 같은 단당류, 락토스, 트레할로스 등과 같은 이당류, 2-히드록시프로필-β시클로덱스트린과 같은 시클로덱스트린 및 라피노스, 말토덱스트린, 덱스트란등과 같은 다당류, 만니톨, 크실리톨 등과 같은 알디톨 등이 있다. 바람직한 탄수화물로는 락토스, 트레할로스, 라피노스, 말토덱스트린 및 만니톨 등이 있다. 적합한 폴리펩티드로는 아스파탐 등이 있고, 적합한 아미노산으로는 알라닌 및 글리신 등이 있다.

<41> 담체 재료는, 예컨대 담체를 α1AT 용액에 첨가함으로써 분무 건조하기 전에 α1AT와 혼합할 수 있다. 이는 담체가 α1AT와 동시에 건조되어 균질한 건조 분말을 생성하게 한다. 한편, 담체는 별도로 건조하거나 또는 건조 분말로서 얻어, α1AT 분말과 혼합할 수 있다. α1AT 건조 분말과 혼합하기 위한 건조 분말 담체는 통상적으로 결정질(물의 흡수를 감소시킴)이나, 비정질일 수도 있다. 담체의 크기는 일반적으로 α1AT 분말의 유동성을 향상시키도록 통상 약 25 ㎛~약 100 ㎛의 범위로 선택할 수 있다. 결정질 락토스가 특히 바람직한 건조 분말 담체이다.

<42> α1AT 성분을 순수한 형태로, 즉 보조제 성분이 없이 투여할 수 있지만, α1AT와 함께 부가 성분을 포함시키는 것, 예컨대 약학 제제의 일부로서 α1AT를 제공하는 것이 바람직할 경우가 종종 있다. 이들 제제는 치료학적 또는 약학적 유효의 α1AT를 1종 이상의 약학적 또는 치료학적 허용 담체 및 경우에 따라 기타 치료학적 성분과 함께 함유한다. 다양한 고려 사항은 본원에 참고로 인용한 문헌 [Gilman 등 편집, (1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 8판, 퍼거몬 프레스: Novel Drug Delivery Systems, 2판, Norris 편집, 마르셀 데커 인코오포레이티드 (1989), 및 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18판, (맥 퍼블리싱 컴파니 1990)]에 기술되어 있다. 본원에 기술한 α1AT 제제내의 보조제 성분의 구체적 예로는 증량제, 완충제, α1AT와의 동시투여용 기타 약제(예: 탄수화물 담체 등) 등이 있다.

<43> **III. 투여**

<44> 특정 측면에서, 본 발명은 α1AT 건조 분말을 환자의 폐를 통해 투여하는 방법을 제공한다. 이러한 방법은 폐 조직내 α1AT의 결핍을 특징으로 하는 질환이 있는 환자의 치료에 특히 유용하다. 이들 질환은 유전적 결핍 또는 외부 영향(예; 만성 흡연 등)의 결과일 수 있다. α1AT를 건조 분말 조성물로서 폐 투여하여, 폐 조직내 α1AT의 지속성 향상 효과를 얻는다.

<45> "폐 투여" 또는 "폐를 통한 투여"란 투여할 화합물의 유효량을 하부 기도의 조직에 전달하는 투

여 경로를 의미한다. 이러한 투여는 일반적으로 환자가 대상 화합물을 흡입하여, 그 화합물을 심폐(深肺: deep lung)에 공급한다.

<46> 분말화된 약제의 폐로의 전달은, 통상 기류하에 분말화된 약제를 유체화한 다음, 환자가 흡입하여 약제를 환자의 폐로 전달할 수 있는 흡입 장치를 사용하여 수행된다. 전술한 바와 같이 목적하는 취성 지수를 가진 응집된 입자를 제공함으로써, 응집된 입자를 흡입기내에서 분말화된 형태로 분해할 수 있다. 이런 방식으로, 분말화된 약제는 흡입기에 의한 폐 전달에 필요할 때까지 측정 및 취급을 위해 응결체 형태로 유지될 수 있다.

<47> 응집된 입자는 일반적으로, 통상 블리스터 팩(blister pack) 또는 카트리지로 불리우는 단위 투여량 리셉터클(receptacles) 형태로 흡입기에 공급된다. 블리스터 팩은 통상적으로 포장 분야에 일반적으로 널리 알려진 방법으로 제조한다. 용기로부터 응집된 입자를 추출하기 위해서, 리셉터클을 흡입기내로 삽입할 때, 또는 흡입기내에 있는 동안, 리셉터클의 벽은 천공된다. 리셉터클이 개방되면, 응집된 입자는 충분한 파괴력(disruptive force), 즉 전단력을 가져 응집된 입자를 구성 미분말 성분으로 분해하는 기류내로 추출된다. 통상적으로, 음속의 기류에 의해 충분한 파괴력이 제공된다. 또 다른 측면에서, 응집 입자를 대체의 미분말로 분해하기 위해 리셉터클을 천공하기 전에 블리스터 팩 또는 리셉터클을 진동 에너지로 처리할 수 있다.

<48> 통상적으로, 응집 입자는 흡입 전에 그 대체의 미분말 성분으로 상당히 분해된다. 예를 들면, 통상적으로 기류의 파괴력으로 처리된 응집 입자의 30% 이상이 분해된다. 응집 입자의 약 50% 이상이 분해되는 것이 바람직하고, 환자가 흡입하기 전에 기류로 처리할 경우에는 응집 입자의 약 70% 이상이 분해되는 것이 더욱 바람직하다. "분해(broken down)"란 전술한 보다 큰 응집 입자가 역시 전술한 보다 작은 미분말 입자, 예컨대, 직경이 약 1 ㎛-약 5 ㎛인 미분말 입자로 분산되는 것을 의미한다.

<49> 응집 입자가 200~500 ㎛의 목적하는 크기 범위내인 경우, 보다 큰 응집체는 리셉터클의 천공된 벽 뒤에서 포집할 수 있기 때문에, 리셉터클로부터 응집 입자를 거의 완전히 제거할 수 있다. "거의 완전한 제거"란 약 55 중량% 이상, 바람직하게는 약 70 중량% 이상, 보다 바람직하게는 약 90 중량% 이상이 제거되는 것을 의미한다.

<50> 각종 흡입 장치가 에어로졸 투여용으로 이미 개시되어 있다. 예컨대, 미국 특허 제4,137,914호, 제4,174,712호, 제4,524,769호, 제4,667,688호 및 공개된 PCT 출원 PCT/SE93/00389호, PCT/SE93/01053호, PCT/DK90/00005호 및 미국 특허 출원 제08/309,691호(출원일: 1994년 9월 21일) 참조. 특히 바람직한 건조 분말 흡입기는 미국 특허 출원 제08/487,184호에 개시된 것이다. 일반적으로, 이 흡입 장치는 1~5 ㎛ 크기의 분산된 미분말 입자로부터 형성된 건조 분말 조성물의 전달에 특히 적합하다. 바람직한 장치는 일반적으로 건조 분말 조성물의 최적 분산을 달성하기 위해 2-단계 분산 기법을 이용한다. 통상적으로, 응집체 또는 응결체 조성물과 같은 분말 조성물은 블리스터 팩 등의 단위 투여량 리셉터클내에서 유체화된다. 그 후 유체화된 응결 입자는, 그 응결된 입자를 그 구성 분말 성분으로 분해하는 조건하에 고속 기류에 분산시킨다. 그러한 완전한 분산은 매우 적은 부피의 고속 공기를 사용하여 달성할 수 있으며, 이 분산체의 입자 농도는 비교적 높다. 이 장치는 증량제와 같은 희석제를 다량 함유하는 조성물과 함께 사용할 수도 있다.

<51> 상기 장치는 일반적으로 리셉터클 덮개 또는 접근 표면내 침투공을 통해 삽입되는 분말 유입단을 가진 공급관을 구비하고 있다. 고속 기류는 공급관의 유출단을 지나 유동하여, 분말을 리셉터클로부터 기류내로 유인하여 목적하는 에어로졸을 형성한다. 전술한 기류의 속도는 통상 음속으로서 응결체 입자를 분해할 수 있다. 통상적으로, 제2의 침투공이 리셉터클 내에 제공되어 유동화 공기의 별도의 흐름이 리셉터클내로 유입되고 에어로졸화된 분말을 일소하도록 함으로써, 리셉터클로부터 분말의 최대 회수율을 얻는다.

<52> 고압 기류는 통상적으로 (1) 리셉터클내 분말을 유체화하고 이송하는 공급관을 통해 충분한 유체화 공기류를 유발하고, (2) 공급관의 유출단으로부터 분말이 배출됨에 따라서 잔존하는 분말 응결체를 분해하도록 선택되는 각도로, 공급관의 유출단과 교차하는 유로를 통해 가압 가스 충전물을 돌연 방출시킴으로써 생성된다. 방출전의 기압은 일반적으로 약 15 psig 이상(음속을 얻기 위해), 바람직하게는 20 psig 이상이며, 일반적으로 40 내지 80 psig의 범위이다. 따라서, 가스의 팽창된 부피(14.7 psig 및 20℃의 표준 온도 및 압력("STP")에서 측정함)는 통상 2 ㎖~25 ㎖, 바람직하게는 4 ㎖~15 ㎖의 범위이다. 고압 가스의 방출은 수동 트리거(manual trigger)에 의해 또는 경우에 따라 환자의 흡입(즉, 활성화된 호흡)에 의해 유발된 부압을 감지함으로써 실시할 수 있다.

<53> 에어로졸화된 분말은 통상적으로 환자가 흡입하기 전에 깃털형 포집 챔버내에 포집하여, 환자에게 직접 고압 용량이 전달되는 것과 관련된 난점을 피할 수 있다. 그 다음, 깃털형 챔버내에 에어로졸화된 분말을, 주변 공기와 동시에 및 또는 주변 공기를 호흡한 다음에, 즉 깃털형 챔버내 별도의 주입구를 통해 환자가 흡입하는데, 이것은 깃털형 챔버로부터 분말의 전체 용량을 일소하고, 분말을 심폐(deep lung)에 주입하는 것을 돕는다.

<54> **IV. 치료 용도**

<55> 본 발명의 방법은 폐의 조직내에 α1AT가 결핍되어 있거나 또는 α1AT의 높은 레벨의 증강이 유리한 환자의 치료 용도에 특히 이용가능하다. 전술한 바와 같이, 그러한 환자들의 예로는 α1AT 억제제의 낮은 혈장 레벨 및 폐 레벨과 폐 기종의 기능 장애을 특징으로 하는 유전 질환 환자가 있다.

<56> "환자"란 일반적으로 치료를 요하는 포유류 환자를 의미한다. 본 명세서에 개시된 방법은 일반적으로 각종 포유류 종에 적용할 수 있지만, 본원에 사용된 바와 같이, 환자란 용어는 일반적으로 인간 환자를 의미하는 것이 바람직하다.

<57> "환자의 치료"란 증상의 부분적 완화로부터 특정 질환의 완전한 치료에 이르기까지 특정 질환에 대한 광범위한 처치 치료를 의미한다. 치료는 통상 치료학적 유효량의 α1AT 건조 분말의 폐 투여에 의해 실시된다. "치료학적 유효량"이란 치료를 요하는 특정 질환의 치료, 즉 하부 기도 내에 있어서 α1AT 레

벨을 충분히 증강시키기에 충분한 α1AT의 양을 의미한다. 통상적으로, 이러한 치료학적 유효량은 하부 기도의 조직중 α1AT의 양을 비결핍 개체의 그것과 유사하게 제공하기에 충분한 양이다.

<58> 통상적으로, 전술한 질환의 치료는 총 약 1~약 80 ㎎ 범위의 α1-안티트립신을 함유하는 α1AT 건조 분말의 용량을 매일 투여함으로써 수행된다. 치료학적 유효량은, 바람직하게는 1일에 약 5~약 25 ㎎ 범위의 α1-안티트립신, 더욱 바람직하게는 약 10~약 20 ㎎의 α1-안티트립신이다. 특히 바람직한 측면에서, 본 발명의 방법 및 전술한 방법은, 폐 기종 환자의 치료에 사용할 수 있다. 목적하는 치료량을 달성하기 위해서는, 반복 투여, 즉 계량된 용량의 반복적인 개별 흡입을 실시하는 것이 바람직할 수 있다. 개별 투여는 목적하는 일일 투여량이 달성될 때까지 반복한다.

<59> 전술한 바와 같이, 건조 분말 α1AT를 환자에게 투여하는 방법은 일반적으로 α1AT를 건조 분말로서 제공하는 단계, 그 분말을 에어로졸화하는 단계, 및 이를 흡입용으로 환자에게 제공하는 단계를 포함한다. 이는 일반적으로 전술한 방법 및 장치를 사용하여 수행된다.

실시예

<60> 본 발명은 하기 실시예들에 의해서 추가로 예시된다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것으로서 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아니다.

<61> **실시예 1-α1AT의 분무 건조**

<62> 정제된 사람의 혈장 α1AT는 일리노이주 캔커키 소재의 아머 파마슈티컬 컴파니에서 제공받았다. α1AT는 구연산 완충액 내에서 제형화하였다. 완충된 α1AT를 미세 건조 분말 조성물로 분무 건조하였다. 분무 건조는, 공급 속도 5 ㎖/분, 분무화 압력 120 psi, 분무 공급 속도 80 lpm 및 건조 온도 80℃에서 부치-190 분무 건조기를 사용하여 수행하였다. 조성물의 괴상체의 대부분은 호흡가능한 입자 크기(공기역학적 직경이 5 ㎛ 미만)를 가졌다. 건조 분말 조성물은 약 73%의 α1AT, 3.7%의 습기 및 16.9%의 증량제를 함유하였다. 분말의 특이적 억제 활성은 트립신에 대한 분말의 억제 활성을 분석하여 측정하였다. 분말은 건조시키기 전의 단백질과 대략 동일한 특이 활성에서 분석하였다.

<63> 블리스터 팩은 제어형 조건하에 5 ㎎의 분말 조성물로 채우고, 사용할 때까지 실온에서 건조된 파우치에 보관하였다. 실험 시간의 경과에 따라 건조 분말 에어로졸내 α1AT의 안정성 분석으로부터, 트립신 억제 분석에 의해 측정된 경우, 검출가능한 활성의 손실은 없음을 확인하였다.

<64> α1AT 건조 분말의 물리적 안정성은 다음 변수를 특징으로 한다: (1) 12.5 lpm에서 작동되는 캘리포니아 인스트루먼트 캐스케이드 충격기로 측정시 괴상체 평균 공기역학적 직경(MMAD): (2) 호흡가능한 분획(공기역학적 입자 크기가 5 ㎛ 미만인 괴상체): 및 (3) 30 lpm에서 2.5초 동안 에어로졸화 장치의 마우스피스에서의 필터 수집에 의해 측정된 분산도(표 1 참조).

[표 1]

시간	분산도(STD)	MMAD	호흡가능한 분획(%) <5㎛
초기	63.6(3.5)	1.3	90
연구전(3 개월)	72.6(9.3)	1.3	90
연구후(6 개월)	72.5(6.3)	1.2	92

<66> **실시예 2-양 모델에서의 α1AT의 에어로졸 노출의 평가**

<67> 혼합 교배 양(36±3 kg)을 사용하여 건조 분말 α1AT 조성물에 대한 최적 투여 방법을 결정하였다. 한 번에 한 마리의 양을 연구하였다. 에어로졸 노출 2일전에 양의 꼬리의 원심성 림프 도관, 경동맥 및 경정맥에 전신 마취하에 캐눌라를 삽입하였다(림프 도관 캐눌라: 030 × 050 타이곤관, 피셔 사이언티픽 컴파니: 동맥 및 정맥 캐눌라: 연장관, 박스터-파마시얼, 목록번호 K751L). 노출일에, 연구하고자 하는 양에게 500 ㎎의 펜토탈(티오펜탈 나트륨, 일리노이 소재의 애보트 랩스)을 정맥 투여하여 마취시키고, 크기 10 ID 내기관(endotracheal) 튜브를 삽입하였다.

<68> 3종의 상이한 노출 기술을 시험하였는데(표 2 참조), 2종은 정압 환기 기법이고, 한 가지는 자발 호흡 기법이었다. 정압 흡입 모델에서, 2가지의 환기 방식을 두 마리의 별개의 양(양 #1 및 #3)에서 평가하였다. 양 #1은 건조 분말 흡입 장치를 통하는 관을 형성한 하바드 환기 장치를 사용하여 1%의 할로탄(뉴저지 소재의 할로카본)을 함유하는 호흡 품질의 산소를 400 ㎖/호흡으로 15회 호흡/분 환기시켰다. 양 #3에게는 근육 이완제인 숙시닐콜린 60 ㎎을 정맥내 주사하고, 1%의 할로탄을 함유하는 산소를 600 ㎖/호흡으로 10회 호흡/분 환기시켰다. 자발적 호흡 모델에서, 양 #2는 케타민 25 ㎎/㎏을 정맥내 주사하여 마취시키고(아이오와주 소재의 포트 다지 랩 케타셋), 건조 분말 흡입 장치를 통해 주변 공기를 호흡시켰다. 캘리포니아 측정 캐스케이트 충격기를 사용하여 공기역학적 크기 분포를 측정하였다. 에어로졸 괴상체 중앙값 공기역학적 직경 및 호흡가능한 분획(5 ㎛ 미만의 공기역학적 입자 크기를 보유한 괴상체 분획)은 각각 1.3 ± 0.1 ㎛ 및 90%였다. 이 제제는 사용된 장치에서 63 ± 3%의 분산도를 나타냈다.

<69> 3가지 노출 기술의 평가는 (1) 흡입에 이용가능한 에어로졸의 비율(흡입 장치의 마우스피스에서

이용가능한 에어로졸의 비율 %) 및 (2) α1AT의 림프 및 혈장 레벨의 측정을 포함하였다.

<70> 장치 효율, 예컨대 에어로졸을 내기관 튜브로 전달하는 능력의 평가는 근육이완제가 없는 정압 흡입 모델("PPI")(15회 호흡/분, 400 ㎖/호흡), 근육 이완제가 있는 정압 흡입 모델("PPIMR")(10회 호흡/분, 600 ㎖/호흡) 및 자발적 호흡 모델(100~200 ㎖/호흡)에 대해 각각 23 ± 1%, 32 ± 4% 및 31 ± 1%로 측정되었다.

<71> 노출시키기 전에, 림프 및 혈액을 샘플링하여 α1AT의 배경 레벨을 확정하였다. 각 동물을 100 mg의 포장된 α1AT 건조 분말 에어로졸에 노출시켰다. 림프 및 혈액 샘플을 6 시간 동안 30 내지 60분마다 취하고, 투여 후에는 24 내지 26시간 및 48 내지 50 시간째에 취했다. 첫 번째 노출후 50 시간째에 자발 호흡 동물인 양 #2를 에어로졸 α1AT에 다시 노출시키고 5 시간 후에 세척하였다.

<72> 각각의 연구 말미에, 폐는 계속 환기시켜 폐의 허탈(collapsing)을 방지하면서 혈액을 채취한 다음, 각각의 폐를 완전히 세척했다. 이는 목과 흉부를 수술로 노출시키고, 다른 폐를 조여 차단시키고, 50 ㎖의 주사기에 연결된 타이곤 튜브를 통해 6 × 200 ㎖의 등장 염수 세척액을 주입함으로써 하나의 폐를 한번에 세척하여 수행하였다. 각각의 폐로부터 회수된 세척액을 함께 모아서 전체 폐 세척액 샘플을 얻었다. 림프 및 혈액의 모든 샘플은, 3000 rpm에서 3분 동안 원심분리하기 전에 얼음위에서 보관하였다. 이들 샘플은 ELISA로 분석할 때까지 -70℃에서 유지하였다.

<73> 표 2는 각종 전달 방법의 경우 내기관 튜브의 주입에 대한 α1AT의 에어로졸 전달에 사용된 장치의 효율(흡입율 %로 나타냄)을 나타낸다. α1AT의 최대 림프 레벨도 제시되어 있다.

[표 2]

양 #	흡입 모델	호흡율%	α1AT의 최대 림프 레벨(nM)
1	정압: 15회 호흡/분; 400 ㎖/호흡	23 ± 1	5.8
2	자발 호흡: 100 내지 200 ㎖/호흡	32 ± 4	12.2
3	정압: 10회 호흡/분; 600 ㎖/호흡; 마비된 동물	31 ± 1	29.4

<75> 전술한 바와 같이, 양에게 폐 투여된 α1AT 건조 분말 에어로졸은, 양 #1, 양 #2 및 양 #3에서 노출후 48 시간째에 림프내 α1AT의 레벨을 0.3 nM(0.014 ㎍/㎖)에서 각각 5.8 nM(0.29 ㎍/㎖), 12.2 nM(0.61 ㎍/㎖) 및 29.4 nM(1.47 ㎍/㎖)로 증가시켰고, 혈액 α1AT 레벨을 0.6 nM(0.03 ㎍/㎖)에서 각각 1.9 nM(0.093 ㎍/㎖), 4.3 nM(0.217 ㎍/㎖) 및 7.6 nM(0.38 ㎍/㎖)로 증가시켰다. 도 1 참조.

<76> 전술한 바와 같이, 자발 호흡 방법에 의해 α1AT 에어로졸에 먼저 노출시키고 50 시간 후 정압 흡입(600 ㎖/호흡, 이완제 없음)에 의해 다시 노출시킨 양 #2에서는, 두 번째 노출후 α1AT의 림프 레벨이 두 번째 노출후 5 시간 이내에 0.61 ㎍/㎖에서 0.92 ㎍/㎖로 상승하였다.

<77> 상피 내층 유체("ELF", epithelial lining fluid)내 α1AT 레벨은 양 #1(노출 50 시간후 세척됨)에서는 0.4 μM, 양 #3(노출 72 시간 후에 세척됨)에서는 1.3 μM이었다. 초기 노출 후 50 시간째에 두 번째로 노출시킨 양 #2에서, ELF내 α1AT 레벨은 2.9 μM였다(두번째 노출후 5 시간째에 세척된 것). 이들 값은 20 ㎖의 ELF로 추정되는 세척액으로부터 계산하였다.

<78> 양 #3에 사용된 PPMR 기술은 α1AT의 최대 림프 레벨을 제공하였으며, 후속 실시예에 사용하기 위해 선택하였다.

<79> **실시예 3-양에서 침착된 용량의 측정**

<80> 전술한 PPIMR 방법에 따라 3 마리의 양에게 α1AT 건조 분말을 폐 투여하였다. 에어로졸 투여 직후에 폐를 세척하였다. 평균 침착 용량은 세척액중 α1AT의 농도를 세척액의 부피와 곱하여 계산하였다. 평균 침착 용량은 7.2 ± 3.1 mg으로 계산되었다. 이것은 양 노출 시스템의 경우 약 8%의 침착 효율로 나타난다. 각각의 양에 대한 자료는 하기 표 3에 제시되어 있다.

[표 3]

양 #	회수된 세척액(㎖)		세척액내 α1AT(㎍/㎖)		침착된 용량
	우	좌	우	좌	
5	850	825	1.53	12.8	10.6
8	950	930	0.10	4.83	4.6
9	925	950	2.80	3.85	6.3
평균 ± STD					7.2 ± 3.1

<82> 전술한 PPIMR 기법을 사용하여 폐 투여된 건조 분말 α1AT의 폐 흡수를 시험하였다. 다시 3 마리의 양에게 각각 0 시간, 24 시간 및 48 시간에 3회 α1AT 건조 분말 에어로졸을 투여하였다. α1AT 레벨은 림프, 혈장, 및 '연구 말미'에 상피 내층 유체(ELF)에서 측정하였다.

<83> 양의 폐에 침착된 α1AT 건조 분말은 외래 α1AT의 림프 레벨을 142 ± 73 nM(7.4 ± 3.8 ㎍/㎖)의 평균 최대 레벨로 증가시켰다. 도 3은 개개의 양의 림프 프로필을 나타내는데, 평균 프로필은 도 4(○)에 도시되어 있다. 농도/시간 곡선은 연장된 흡수 프로필을 나타냈다(도 3 및 4). 림프에 의해 제거된 α1AT의 총량은 농도 프로필의 곡선하 면적(AUC)을 평균 림프 유속과 곱하여 계산하였다(표 4 참조).

<84> 혈장중 외래 α1AT의 레벨은 36.2 nM(1.9 ± 0.1 ㎍/㎖)의 평균 레벨로 증가하였다. 시간에 따른 α1AT의 평균 혈장 레벨은 도 4(●)에 도시되어 있다. 폐로부터 순환계내로 흡수된 α1AT의 양은 혈장 분포 체적과 곱해진 최대 농도이다(양 혈장의 분포의 정상 상태 체적은 방사성 표지된 α1AT의 정맥내 주사에 의해 측정한 경우 109 ± 16 ㎖/체중kg이다); Smith 등, J. Clin. Invest. 84:1145-1154 (1989). 혈장내에서 발견되는 α1AT의 양은 표 4에 도시되어 있다.

<85> 혈장 및 림프 레벨의 작용이 부가됨으로써 침착된 용량의 55 ± 13%와 동등한 12.0 ± 2.9 ㎎의 총 회수율이 얻어진다(표 4 참조).

[표 4]

번호	AUC	평균 림프 유속(㎖/시)	제거량(㎎)		총 제거량	흡수된 분율(%)
			림프에 의한	혈장에 의한		
4	0.402	6.5±2.6	2.6	6.1	8.7	40
6	0.712	9.2±3.6	6.6	7.4	14.0	65
7	0.795	7.9±3.2	6.3	6.6	13.2	61
평균	0.636±0.207	7.8±3.2	5.2±2.2	6.7±0.6	12.0±2.9	55±13

<87> 상피 내층 유체(ELF) 체적은 문헌[Peterson 등, Am. Rev. Respir. Dis. 141:314-320 (1990)]에 개시된 방법으로 측정하여 38 kg의 양에서 11.4 ㎖로 측정되었다. α1AT의 ELF 레벨을 측정하기 위해, 평균 중량이 29 kg인 양을 사용하였다. 29 kg의 양에서, ELF 체적은 약 10 ㎖ 또는 5 ㎖/폐로 가정되었다. ELF내 α1AT 레벨은 각 폐로부터의 세척액에 의해 회수된 양을 5 ㎖로 나누어 결정하였다,

<88> 표 5는 에어로졸 투여 횟수, 최종 투여 후의 세척 시간 및 각 폐내의 α1AT의 계산된 ELF 레벨을 나타낸다. ELF중 α1AT의 보호 레벨(1.7 μM)은 최종 투여 후 3일째에 세척할 때조차도 흡수 실험에서 연구한 모든 양에서 쉽게 달성되었다. 또한, 흡수 연구에서 사용된 3 마리 양(양 4, 6 및 7)의 세척액에서 회수된 α1AT의 양은 13.4 ± 7.3 ㎎, 또는 침착된 용량의 약 62%로 측정되었다.

<89> 상기 모델에서의 침착 효율은 다소 낮지만(8%), 에어로졸화 장치가 환기 장치에 연결되는 경우 에어로졸화 장치의 비효율성의 원인이 되는 것으로 보인다. 특히, 환기 장치를 사용한 낮은 흡입 체적과 내기관 튜브로 유도하는 배관에 의한 손실은, 재료가 다량 손실되는 원인이 된다. 또한, 내기관 튜브의 주변에 점액이 부착되면 기관이 좁아지고 기류 패턴이 차단되어 배관 및 장치내의 침착을 증가시킨다.

[표 5]

양 번호	투여 횟수	최종 투여후 세척 시간(hr)	ELF내 α1AT 레벨(mg)		세척에 의해 회수된 양 (mg)
			우측 폐	좌측 폐	
1	1	52	1.5	2.7	1.1
2	2	51	10.0	9.4	5.0
3	1	52	5.0	2.5	2.0
4	3	72	6.1	11.8	13.2
5	3	96	24.4	55.8	20.8
6	3	72	12.3	9.3	6.2
7	1	<1	5.4	45.8	10.6
8	1	<1	0.4	17.3	4.6
9	1	<1	10.0	14.1	6.3

<91> **실시예 4-간질의 α1AT의 평가**

<92> 전술한 실험들은 에어로졸로 투여된 건조 분말 α1AT가 폐포 표면으로부터 폐로 흡수된다는 것을 예시한다. 간질에 존재하는 경우, α1AT는 혈액내로 직접 흡수되거나 림프관내로 확산될 수 있다(도 5 참조).

<93> 상기 실험들에서, 흡입된 α1AT의 대부분은 간질을 통해 혈액내로 직접 이행된다. 나머지는 림프관 여과에 의해 순환계내로 이송되었다. Staub 등, J. Surg. Res. 19:315 (1975). 이러한 양 모델에서, 1회의 에어로졸 투여 후 림프에 의해 24 시간내에 제거된 α1AT의 평균량은 혈장에서 발견된 양의 대략 1/6이었다(표 6 참조). 유사한 양 모델에서, Smith 등[J. Clin. Invest. 84:1145- 1154(1989)]은, 폐로부터 수송된 α1AT의 총 비율의 16.1 ± 10.4%에서 폐로부터 α1AT의 제거율을 계산하였다. 이것은 본 결과와 일치하는 것이다(표 6 참조). 혈장 및 림프 레벨은 유사한 프로필을 나타냈다(도 4 참조). 따라서, 림프에 의해 제거된 각각의 α1AT 분자에 대해 6개의 분자가 내피 장벽을 통해 혈류내로 수송되는 것으로 생각할 수 있다. 비림프 제거를 고려하면, 간질 유체내 α1AT의 농도는 림프에서 측정된 것의 약 7배가 된다(도 5 참조).

[표 6]

양 번호	림프(μg)	혈장(μg)	혈장/림프
1	32.4	239	7.4
2	73.2	631	8.6
3	144.6	752	5.2
4	278	2200	7.9
6	757	3100	4.1
7	489	1300	2.7
			평균 6.0±2.4

<95> 폐포 간질 유체 외에도, 림프관은 폐포벽의 외부 혈관에서 유래한 상당량의 중격외(extraseptal) 여과액을 함유한다. 이는 Nicolaysen 등[Microvasc. Res. 9:29-37(1975)]에 의해 예시되었는데, 그는 에반스 블루로 표지한 알부민을 주사하여, 폐 간질에서 염료를 출현시켰다. 염료는 10분 내에 림프관에서

관찰된 반면, 간질 내에서의 염료의 출현은 대략 2배 정도 시간이 걸렸는데, 이것은 비폐포 여과의 존재를 제시하는 것이다. Gropper 등[Federation Proc. 43:1032 (1984)]은 총 폐 림프 여과액의 최소 40%가 비폐포 기원인 것으로 추정하였다. 따라서, 림프의 비폐포 희석률을 계산하기 위해서는, 간질 유체내 농도에 1.7을 곱한다. 표 7은 40%의 중격외 기여율 및 84%의 혈장 제거율을 고려한 α1AT의 계산된 간질 레벨을 제시한다.

[표 7]

양 번호	계산된 최대 간질 레벨
4	1.3
6	1.5
7	3.2
평균	2.0±1.0

<97> **실시예 5-양의 데이터로부터 사람 용량의 추정**

<98> 전술한 바와 같이 α1AT의 침착된 용량 실험 및 흡수 실험의 결과는, 간질유체내 α1AT의 사람에 대한 보호 레벨(대략 6M, 즉 324 g/mℓ)이 건조 분말 α1AT의 폐 투여법을 사용하여 사람에서 달성될 수 있음을 나타낸다. 특히, 양의 데이터에 의거하여 사람의 경우를 추정하면, 결핍 개체의 α1AT의 간질 레벨을 보호 레벨로(즉 결핍 개체 중 3.4 M에서 대략 6 M로) 증대시키기 위해서는 70 kg의 사람은 3일 동안 하루에 약 20~60 mg의 α1AT를 흡입할 필요가 있음을 알 수 있다. 3일 처치 후에, 환자는 폐로부터 수송된 α1AT를 대체하고 보호 레벨을 유지하기 위해 1일 10~20 mg을 흡입할 수 있다. 이는 1일 200 mg의 액체 에어로졸 형태로 투여된 용량으로부터 실질적으로 감소된 것이다(Hubbard and Crystal, Lung Suppl:565-578 (1990) 참조). 이렇게 추정된 용량은 평균 데이터를 기준으로 근사치화된다. 적절한 용량은 α1AT 결핍증의 성질, 즉 후천성 또는 유전성, 뿐만 아니라 개인의 기초 레벨에 따라 개인마다 다를 것이다.

<99> 이상, 명확한 이해를 위해 다소 상세히 본 발명을 기술하였지만, 당업자에게는 본 명세서의 개시 사항으로부터 본 발명의 진정한 범위를 벗어나지 않으면서 형식과 세부 사항에 대해 다양한 변형을 가할 수 있음은 명백할 것이다. 본원에 인용된 모든 공개문헌 및 특허 문서는, 이들이 개별적으로 표시되어 있는 것과 동일한 범위로 전체적으로 본원에서 참고로 인용되었다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

α1-안티트립신 조성물을 단위 투여용기에 내장된 건조분말 조성물로서 제공하는 단계를 포함하는, 후속 흡입용으로 적절한 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 α1-안티트립신이 건조분말 조성물내에 거의 비결정 형태로 존재하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계에서, 조성물의 α1-안티트립신 농도가 약 50중량% 이상인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계에서, 조성물의 α1-안티트립신 농도가 약 90중량% 이상인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계에서, 조성물의 α1-안티트립신 농도가 약 95중량% 이상인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계에서, 조성물의 α1-안티트립신 농도가 약 99 중량% 이상인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계는 α1-안티트립신 건조분말

조성물을 평균 입도가 약 1 ㎛ ~ 약 5 ㎛인 미립자의 응집체 형태로, 또 상기 응집체는 평균 크기가 약 50 ㎛ ~ 약 600 ㎛이고, 취성 지수(friability index)가 약 10~약 60 상태로 제공하는 단계를 포함하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 8

제7항에 있어서, 응집체의 형상이 구형인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 9

제7항에 있어서, 응집체가 비수성 용매 결합액을 이용하여 형성되는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 비수성 용매 결합액이 플루오로카본 액을 포함하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 플루오로카본 액이 퍼플루오로데칼린 및 퍼플루오로옥틸 브로마이드로 구성된 군에서 선택되는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 12

제7항에 있어서, 상기 α1-안티트립신의 건조 분말 조성물이 약 70~약 90 중량%의 α1-안티트립신을 포함하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 13

일정량의 단위 투여용기에 내장된 α1-안티트립신 건조 분말 조성물을 함유하는 챔버가 배치된 하우징:

건조 분말 조성물을 에어로졸화 하기 위해 챔버에 유동 가능하게 연결되어, 기류를 상기 챔버로 전달하는 가스압 공급원; 및

챔버에 유동 가능하게 연결되어, 에어로졸화 된 건조 분말 조성물을 환자가 흡입하도록 전달하는 전달수단

을 포함하는, 환자에게 α1-안티트립신을 폐 투여하기 위한 장치.

청구항 14

α1-안티트립신 입자를 포함하고, 또 단위투여용기에 내장된 흡입용으로 적합한 호흡성 α1-안티트립신 건조분말 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 α1-안티트립신이 건조분말 조성물내에 거의 비결정 형태로 존재하는 흡입용으로 적합한 호흡성 α1-안티트립신 건조분말 조성물.

청구항 16

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 건조분말 조성물중의 α1-안티트립신이 약 90 중량% 이상인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 17

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 건조분말 조성물중의 α1-안티트립신이 약 95 중량% 이상인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 18

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 건조분말 조성물중의 α1-안티트립신이 약 99 중량% 이상인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 19

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 입자의 평균 입자가 약 1~5 미크론인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 20

제14항 또는 제15항에 있어서, 건조분말 조성물의 괴상체(mass)의 약 98% 이상이 직경 약 10 미크론 이하의 입자인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 21

제14항 또는 제15항에 있어서, 분말 조성물이 분무 건조되는 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 22

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 입자의 응집체를 포함하는 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 23

제14항 또는 제15항의 α1-안티트립신 분말 조성물로부터 제조된 에어로졸형 건조분말 조성물.

청구항 24

분말 조성물을 공기기류에서 유동화시켜서 환자가 흡입하여 환자의 폐에 α1-안티트립신을 전달하기에 적절한 에어로졸화 된 조성물을 형성하는 수단을 보유하는, 단위투여용기에 내장된 α1-안티트립신 건조분말 조성물을 환자의 폐에 투여하기 위한 흡입 장치.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 α1-안티트립신이 건조분말 조성물내에 거의 비결정 형태로 존재하는 흡입 장치.

청구항 26

제24항 또는 제25항에 있어서, 단위투여용기가 블리스터 팩키지인 흡입 장치.

청구항 27

제24항 또는 제25항에 있어서, 단위투여용기가 카트리지인 흡입 장치.

청구항 28

제1항 또는 제2항에 있어서, 일정량의 α1-안티트립신 건조분말 조성물을 가스 기류에 분산시켜 에어로졸을 형성하는 단계를 추가로 포함하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 29

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계에서, 조성물의 α1-안티트립신 농도가 약 30중량% 이상인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 30

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계에서, 건조분말 조성물 입자의 괴상체(mass)의 대부분이 약 5 미크론 이하의 기체역학적 직경(aerodynamic diameter)을 갖는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 31

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 α1-안티트립신 조성물을 제공하는 단계는 α1-안티트립신을 포함하는 수용액을 분무 건조시켜서 α1-안티트립신을 약 30 중량% 이상 함유하는 건조분말 조성물을 제공하는 단계를 포함하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 32

제1항 또는 제2항에 있어서, 단위투여용기가 블리스터 팩키지인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 33

제1항 또는 제2항에 있어서, 단위투여용기가 카트리지인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 34

제28항에 있어서, 에어로졸을 챔버에서 포획(capturing)하는 단계를 추가로 포함하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 35

제28항에 있어서, 상기 가스 기류가 공기 기류를 포함하는 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 36

제34항에 있어서, 상기 분산단계에서 형성된 에어로졸 형 조성물의 분산도가 63 ± 3%인 α1-안티트립신 조성물의 제조방법.

청구항 37

제14항 또는 제15항에 있어서, 상기 건조분말 조성물중의 α1-안티트립신이 약 50 중량% 이상인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 38

제14항 또는 제15항에 있어서, (i) 상기 미립자의 평균 입도가 약 1 ㎛ ~ 약 5 ㎛이고, (ii) 상기 응집체의 평균 크기가 약 50 ㎛ ~ 약 600 ㎛이며, 또 (iii) 상기 응집체의 취성 지수(friability

index)가 약 10~약 60인 미립자의 응집체를 함유하는 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 39

제14항 또는 제15항에 있어서, 조성물내 입자 괴상체(mass)의 대부분이 약 5 미크론 이하의 기체역학적 직경(aerodynamic diameter)을 갖는 입자 괴상체를 함유하는 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 40

제14항 또는 제15항에 있어서, 분산도(dispersibility)가 63 ± 3%인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 41

제14항 또는 제15항에 있어서, 단위투여용기가 블리스터 팩키지인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 42

제14항 또는 제15항에 있어서, 단위투여용기가 카트리지인 흡입용으로 적절한 호흡성 α1-안티트립신 분말 조성물.

청구항 43

제13항에 있어서, 상기 α1-안티트립신이 건조분말 조성물내에 거의 비결정 형태로 존재하는 환자에게 α1-안티트립신을 폐 투여하기 위한 장치.

청구항 44

제13항 또는 제43항에 있어서, 단위투여용기가 블리스터 팩키지인 환자에게 α1-안티트립신을 폐 투여하기 위한 장치.

청구항 45

제13항 또는 제43항에 있어서, 단위투여용기가 카트리지인 환자에게 α1-안티트립신을 폐 투여하기 위한 장치.

요약

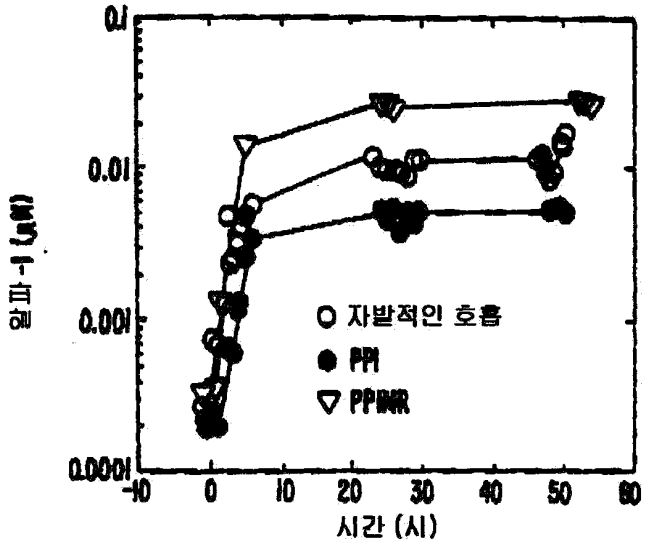
α1-안티트립신 건조 분말을 환자에게 폐 투여하는 방법을 제공하는 것이 본 발명의 일반적인 목적이다. 본 발명의 방법은 일반적으로 하부 호흡 기관의 중요 조직에서의 α1-안티트립신의 지속을 향상시킨다. 상기 방법은 일반적으로 α1-안티트립신 결핍증 및 기종의 기능 이상의 치료에 유용하다.

대표도

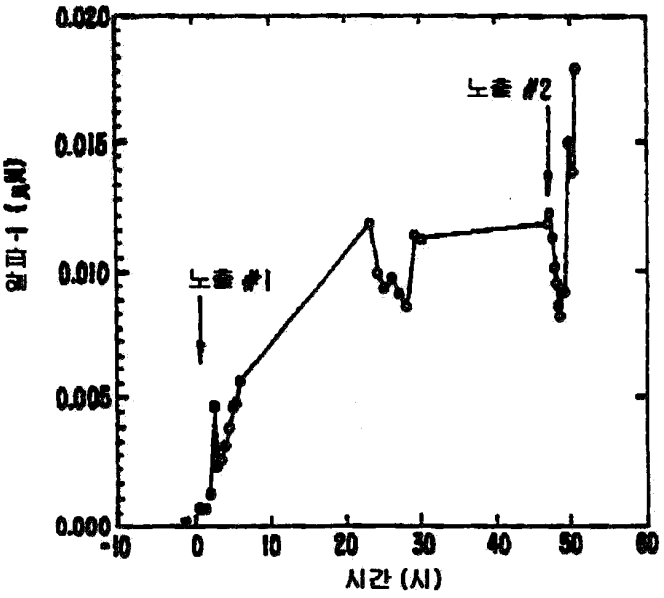
도5

도면

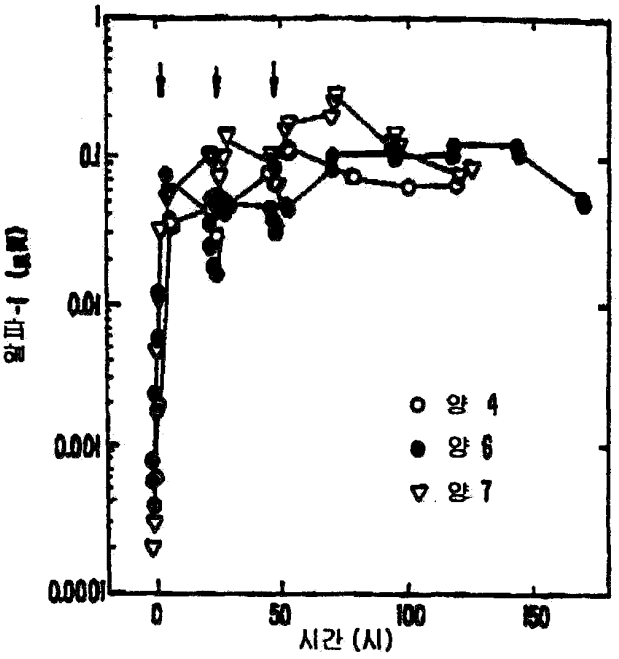
도면1



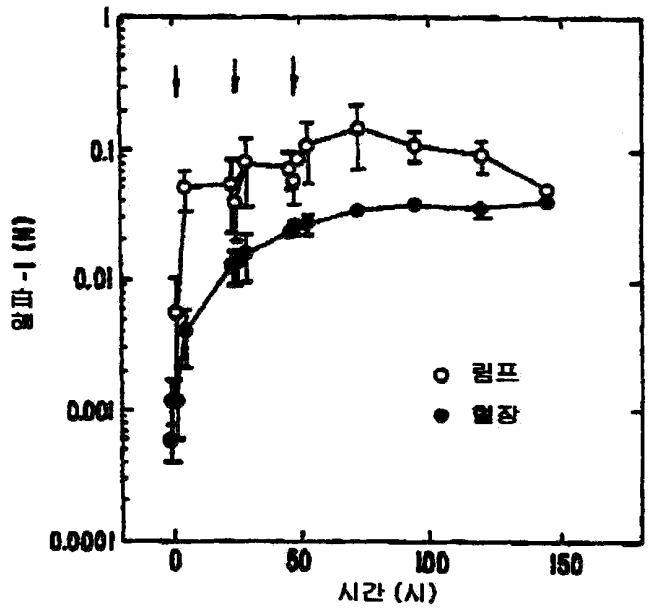
도면2


0.020
0.015
0.010
0.005
0.000
-10
0
10
20
30
40
50
60
노출 #1
노출 #2
시간 (시)

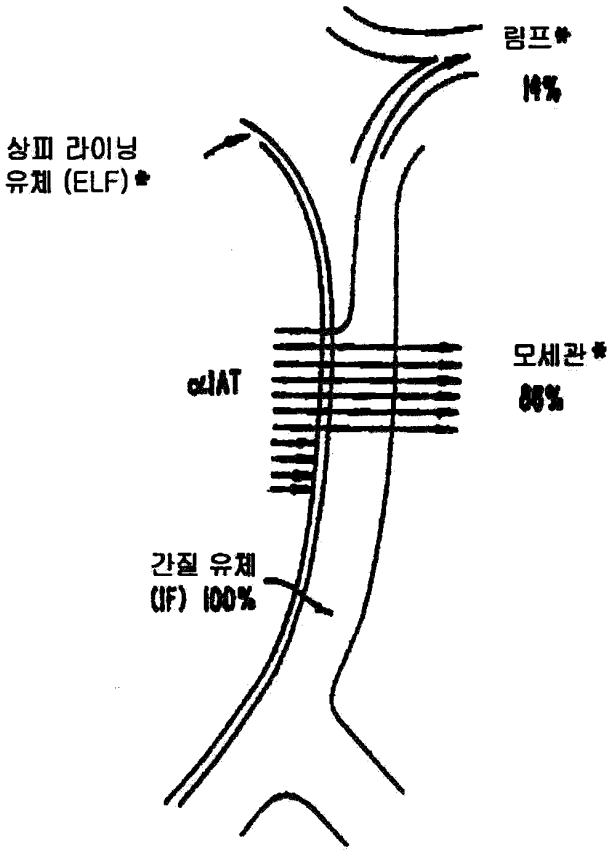
도면3


1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0
50
100
150
시간 (시)
양 4
양 6
양 7

도면4



도면5



* 양에서 샘플 위치